

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

FELIPE DE OLIVEIRA DIAS

**MODELAGEM DE TENDÊNCIAS ESPACIAIS NA SELEÇÃO DE LINHAGENS DE
TOMATEIRO RESISTENTES À *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY**

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2020

FELIPE DE OLIVEIRA DIAS

**MODELAGEM DE TENDÊNCIAS ESPACIAIS NA SELEÇÃO DE LINHAGENS DE
TOMATEIRO RESISTENTES À *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Carlos Nick Gomes

Coorientador: Pedro C. Souza Carneiro

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2020

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

D541m
2020
Dias, Felipe de Oliveira, 1995-
Modelagem de tendências espaciais na seleção de
linhagens de tomateiro resistentes à *Phytophthora infestans*
(Mont.) de Bary / Felipe de Oliveira Dias. – Viçosa, MG, 2020.
47 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Carlos Nick Gomes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Tomate - Melhoramento genético. 2. Requeima. 3.
Solanum lycopersicum. 4. Análise espacial (Estatística).

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 635.6422

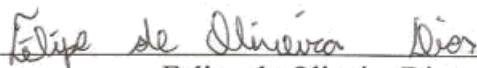
FELIPE DE OLIVEIRA DIAS

**MODELAGEM DE TENDÊNCIAS ESPACIAIS NA SELEÇÃO DE LINHAGENS DE
TOMATEIRO RESISTENTES À *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

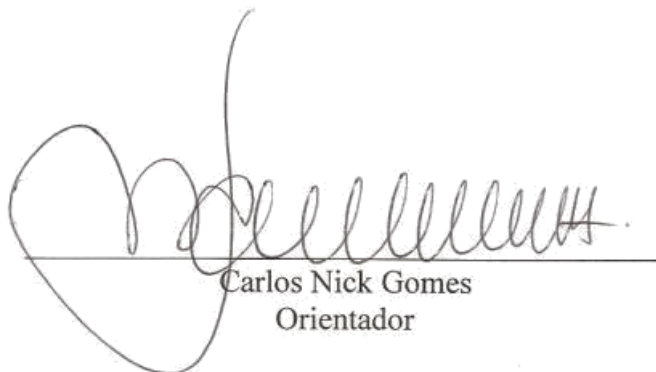
APROVADA: 02 de março de 2020.

Assentimento:



Felipe de Oliveira Dias

Autor



Carlos Nick Gomes

Orientador

*Aos meus pais Osvando e Terezinha;
Aos meus irmãos Silvano, Eliana, Elizângela, Geovani, Rosa Mística, Renata, Fabiana,
Tatiana e Bruna;
Aos meus afilhados Alice e Tiago;
Aos meus sobrinhos Lucas, Gustavo, Fernanda, Júlia, Miguel e José.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Onde estaria se não estivessem comigo tantos que me ajudaram chegar até aqui? Por isso, agradeço:

A Deus, que me fez perseverar naquilo que Ele me permitiu sonhar: “sem Ele nada poderia fazer!” (João 15, 5);

A minha Mãezinha do Céu, a quem sempre recorro: Nossa Senhora das Mercês ou simplesmente Nossa Senhora;

A todos os meus familiares;

Aqueles que lembraram de mim em suas orações;

Aos tantos amigos e estagiários, sem os quais seria impossível a execução desse trabalho;

Aos funcionários da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão “Horta Velha” pelo auxílio prestado nas atividades de campo;

Aos amigos do Ministério Universidades Renovadas (MUR) e do Grupo de Oração Cenáculo do Senhor;

A Universidade Federal de Viçosa que com grande empenho continuou minha formação;

Ao Departamento de Agronomia que cedeu a estrutura necessária para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Olericultura por todo conhecimento compartilhado;

A FAPEMIG por me conceder a bolsa de estudos para o mestrado;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), que apoiou a realização do presente trabalho – Código de Financiamento 001;

Ao João Rocha que muito contribuiu com as análises;

A Mariane Copati que suspeito ser um anjo em minha vida;

Aos professores Adriano Nesi e Derly Silva que me cederam as sementes das linhagens utilizadas neste trabalho;

Ao meu coorientador Pedro Carneiro pelo empenho em compartilhar o conhecimento;

Ao meu orientador Carlos Nick pela confiança depositada em mim e por todo auxílio ao longo deste trabalho;

Agradeço também a tantos outros que por falha minha podem não estar sendo lembrados;

A todos, o meu Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

Felipe de Oliveira Dias é o décimo filho de Osvando Dias e Terezinha Cezaria de Oliveira Dias. Nasceu no município de Mercês, Estado de Minas Gerais, em 10 de maio de 1995.

Ingressou em fevereiro de 2010 no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba – onde formou-se Técnico em Florestas, em dezembro de 2012, na área profissional de agropecuária.

Em maio de 2013 iniciou os estudos no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) - Campus Viçosa, MG – colando grau como Engenheiro Agrônomo em janeiro de 2018.

Em março deste mesmo ano, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFV, submetendo-se a defesa de dissertação em março de 2020.

“All models are wrong, but some are useful”

(George Box, 1976)

RESUMO

DIAS, Felipe de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2020. **Modelagem de tendências espaciais na seleção de linhagens de tomateiro resistentes à *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.** Orientador: Carlos Nick Gomes. Coorientador: Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Este trabalho teve o objetivo de ajustar modelos estatísticos com resíduos espacialmente dependentes e independentes para predição dos valores genotípicos, identificando o modelo de melhor ajuste para selecionar as linhagens de tomateiro mais resistentes à *Phytophthora infestans*. Para isso, 71 linhagens de introgressão de *Solanum pennellii* foram avaliadas quanto a essa característica em campo, com inoculação artificial, em ensaio com testemunhas intercalares. As testemunhas utilizadas foram as seguintes: a cultivar M82 e o acesso LA 716, parentais das linhagens de introgressão; a cultivar Santa Clara, padrão de suscetibilidade; e as cultivares NC 25P e NC 1 CEL BR, resistentes à *P. infestans*. As plantas receberam notas, a cada três dias, de acordo com a severidade da doença, que posteriormente foram utilizadas para a obtenção da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foram ajustados 25 modelos para análise, sendo o mais adequado selecionado pelos critérios de informação de Akaike (AIC) e de Schwarz (BIC). Criou-se os intervalos de confiança com nível de confiança de 95% ($IC(\mu)_{0,95}$) para os parâmetros ajustados nos modelos. Foram estimadas a herdabilidade e a acurácia dos modelos, além dos valores genéticos de cada linhagem via melhor preditor linear não viesado (BLUP). As análises estatísticas foram realizadas no software ASReml e Programa Genes. O modelo mais adequado foi um dos modelos espaciais, que difere do modelo tradicional por apresentar dois tipos de erro: o resíduo aleatório “nugget” e o erro correlacionado. As estimativas de herdabilidade e acurácia deste modelo foram menores em relação ao modelo tradicional. Os parâmetros espaciais ajustados tiveram sua significância comprovada pelo IC. O ranqueamento das linhagens selecionadas pelo modelo mais adequado e pelo tradicional teve ordenamento diferente em ambos, levando a seleção de diferentes linhagens por cada modelo. As linhagens que tiveram os menores valores genéticos preditos do modelo selecionado devem continuar no programa de melhoramento do tomateiro para obtenção de cultivares resistentes à *P. infestans*.

Palavras-chave: Melhoramento. Requeima. *Solanum lycopersicum*. Análise espacial.

ABSTRACT

DIAS, Felipe de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2020. **Modelling spatial trends to select tomato lines resistant to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.** Adviser: Carlos Nick Gomes. Co-adviser: Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

This work aimed to adjust statistical models with spatially dependent and independent residues to predict genotypic values, identifying the fittest model to select tomato lines resistant to *Phytophthora infestans*. For this, 71 introgression lines (IL's) of *Solanum pennellii* were assessed for *P. infestans* resistance in the field. Plants were inoculated artificially. Genotype treatments were arranged according to an intercalary control experimental scheme. The parental lines (M82 and the accession LA 716), the susceptible fresh market tomato cultivar Santa Clara, and the resistant tomato cultivars NC 25P and NC 1 CEL BR were used as control. Tomato plants were scored for *P. infestans* resistance, every three days, according to a disease severity scale. Disease severity scores were later used to obtain the area under the disease progress curve (AUDPC). Twenty-five models were adjusted for analysis, and the most suitable was selected by the Akaike (AIC) and Schwarz (BIC) information criteria. Confidence intervals were created with a 95% confidence level (CI (μ)_{0.95}) for the parameters adjusted in the models. Were estimated heritability and accuracy of the models, beyond genetic values of each IL using the best linear unbiased predictor (BLUP). Statistical analyzes were performed using the ASReml software and the Genes Program. The most suitable model was one of the spatial models, which differs from the traditional model for having two types of error: the random residue “nugget” and the correlated error. Heritability and accuracy estimates for this model were lower compared to the traditional model. Adjusted spatial parameters had their significance confirmed by the CI. Genotype ranking obtained by the traditional model differed from the genotype ranking obtained by the selected spatial model, leading to selection of different IL's on each model. IL's showing the lowest predicted genetic values on the selected model must continue in the tomato breeding program to obtain cultivars resistant to *P. infestans*.

Keywords: Tomato breeding. Late blight. *Solanum lycopersicum*. Spatial analysis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. A cultura do tomateiro	13
2.2. A doença e o patógeno	15
2.3. <i>Solanum pennellii</i> como fonte de resistência a <i>Phytophthora infestans</i>	17
2.4. Análise estatística espacial.....	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
4. CAPÍTULO 1: Modelagem de tendências espaciais na seleção de linhagens de tomateiro resistentes à <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary.....	25
4.1. Introdução	28
4.2. Material e métodos.....	29
4.2.1. Material genético	29
4.2.2. Local e condições experimentais.....	29
4.2.3 Delineamento experimental.....	30
4.2.4 Característica avaliada	31
4.2.5 Análise estatística	33
4.2.6 Escolha do modelo mais adequado.....	34
4.2.7 Herdabilidade.....	35
4.2.8 Acurácia.....	35
4.2.9 Eficiência da análise espacial	35
4.2.10 Ganho com a seleção	35
4.2.11 Eficiência da seleção	36
4.2.12 Software.....	36
4.3 Resultados	36
4.4 Discussão	44
4.5 Conclusões	46
4.6 Referências.....	47

1. INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Solanum lycopersicum* L., conhecida popularmente como tomateiro ou simplesmente tomate, é uma das hortaliças mais consumidas mundialmente com volume de produção chegando a 242 milhões de toneladas em 2017, de acordo com dados da FAOSTAT (2019). O tomate é considerado um alimento funcional por desempenhar importante papel na prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de cânceres no organismo, além de ser fonte de vitaminas e minerais (ALVARENGA; COELHO, 2013).

A tomaticultura é uma atividade que possui relevante importância social, gerando inúmeros empregos diretos e indiretos. De acordo com a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM, 2019), a horticultura emprega 3,5 trabalhadores por hectares, sendo estimado para a cadeia produtiva do tomate um total de 300 mil empregos, movimentando o valor de R\$280 milhões anuais apenas com a mão de obra.

Contudo, a tomaticultura é considerada uma atividade de alto risco econômico devido a inúmeros fatores, dentre os quais as pragas e doenças que acometem a cultura são um dos principais problemas enfrentados pelo setor. A requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, é uma das doenças mais destrutíveis do tomateiro, podendo em poucos dias destruir todo o campo de produção (DUARTE; ZAMBOLIM; RODRIGUES, 2007). Atualmente, um dos métodos mais utilizados para o controle dessa doença é a aplicação de fungicidas ao longo do ciclo do tomateiro, sendo esta uma prática que onera muito os custos de produção do tomate, estimado entre 15 e 20% do total (ZANOTTA *et al.*, 2016).

A resistência das cultivares de tomateiro a *P. infestans* é a alternativa mais favorável para o controle da doença por diversos motivos como: maior preocupação com a contaminação do alimento e do ambiente em decorrência do uso de agrotóxicos; das restrições ao uso destes pesticidas; além do desenvolvimento de formas mais virulentas do patógeno que confere resistência aos produtos químicos utilizados para seu controle (PARK *et al.*, 2005).

O estudo da resistência do tomateiro a requeima em experimentos de campo normalmente são analisados por meio de modelos estatísticos tradicionais, que levam em consideração algumas pressuposições para análise. Alguns exemplos desses estudos são os trabalhos de Abreu *et al.* (2004), que utilizou o modelo tradicional do delineamento inteiramente casualizado e o trabalho de Li *et al.*, (2011), que utilizou o modelo tradicional do delineamento em blocos casualizados.

Uma das pressuposições dos modelos tradicionais de análise é a independência dos erros, ou seja, é considerado que as parcelas experimentais vizinhas são não correlacionadas

(RESENDE; STURION, 2003). Entretanto, as variações ambientais encontradas no campo experimental podem comprometer essa pressuposição. Essas variações ou tendências espaciais decorrem de características locais como topografia, fertilidade e estrutura do solo, além de outros fatores bióticos e abióticos (SINGH *et al.*, 2003). Essas tendências devem, portanto, serem consideradas no modelo de análise, modeladas através do ajuste de parâmetros espaciais, para anular a correlação espacial (GRONDONA *et al.*, 1996).

Nesse sentido, esse estudo buscou modelar tendências espaciais na seleção de linhagens de introgressão de tomateiro, derivadas de *S. pennellii*, avaliadas em condições de campo quanto a resistência a *P. infestans* em ensaio com testemunhas intercalares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do tomateiro

A família das solanáceas possui muitos táxons de importância agrônômica e medicinal, como por exemplo a batateira (*Solanum tuberosum* L.) e o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) respectivamente. Estimativas apontam que esta família possui entre 9000 e 10000 espécies, sendo que 2000 pertencem ao gênero cosmopolita *Solanum* (KNAPP, 2002). Dentre essas, a espécie *Solanum lycopersicum* L., conhecida popularmente como tomateiro ou simplesmente tomate, é uma das hortaliças mais cultivadas mundialmente, que teve volume de produção chegando a 242 milhões de toneladas em 2017, sendo que dentre as hortaliças mais cultivadas esse volume foi menor apenas que a produção da batata com 487 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019). De acordo com dados da FAOSTAT (2019), os países maiores produtores mundiais de tomate são China, Índia e Turquia com volume de produção aproximado igual a 119, 21 e 13 milhões de toneladas, respectivamente. A produção destes três países corresponde a 63 % do total, sendo que apenas a China produz quase 50 % desse volume. O Brasil é o décimo maior produtor mundial, com produção igual a 4,23 milhões de toneladas, que corresponde a quase 2 % do total mundial.

S. lycopersicum L. possui como sinônimo *Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. e tem como centro de diversidade a América do Sul, mais especificamente a região compreendida por Colômbia, Equador, Peru, Bolívia e Chile (BAI; LINDHOUT, 2007). A espécie é diploide com $2n = 2X = 24$ cromossomos. A domesticação do tomateiro ocorreu em duas etapas: inicialmente na região Andina e finalizada na América Central (NICK; SILVA, 2018). Ao longo deste processo, a seleção de um baixo número de indivíduos com base nas características desejadas e a autogamia da espécie, fez com que o tomateiro perdesse grande parte de sua variação

genética (BAI; LINDHOUT, 2007). Estima-se que o tomateiro apresenta menos de 5% da variação genética encontrada em seus parentes silvestres (MILLER; TANKSLEY, 1990; BAI; LINDHOUT, 2007). Algumas das características pelas quais o tomateiro foi selecionado ao longo da domesticação são o hábito de crescimento, a altura e arquitetura da planta, tamanho e morfologia do fruto (FRARY; DOGANLAR, 2003).

Botanicamente o tomateiro é classificado como uma planta perene, porém cultivada como anual; de porte arbustivo mas que pode se desenvolver como rasteira, semiereta ou ereta; o hábito de crescimento pode ser determinado ou indeterminado; o sistema radicular é axial; o caule é herbáceo com ramos hirsutos; as folhas são compostas, alternas e hirsutas; a inflorescência é do tipo cacho com flores pentâmeras, hermafroditas, isostêmone, com um ovário bi ou plurilocular, autógamas; o fruto é carnoso do tipo baga e climatério (ALVARENGA, 2013).

O tomate é um alimento com baixo poder calórico e baixo teor de matéria seca, constituído pelas vitaminas A, B1, B2, B5 e C; pelos minerais cálcio, potássio, fósforo, enxofre, magnésio, além de outros microminerais como o ferro, cobre e zinco; e considerado como um alimento funcional pelo seu alto teor de licopeno que está associada a prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de cânceres (ALVARENGA; COELHO, 2013).

No Brasil, de acordo com o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (IBGE, 2017), as regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul são as principais produtoras de tomate, com participação respectivamente igual a 44,8; 29,7 e 13,1 % da produção nacional, estimada em 4,37 milhões de toneladas. Os estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais são os principais produtores, correspondendo a 28,9; 21,5 e 15,5 % do volume produzido em 2017, respectivamente. Ainda segundo este levantamento, a área plantada com tomate no Brasil entre os anos de 2007 a 2011 aumentou de 58 mil para 71 mil hectares, ocorrendo uma diminuição para 64 mil hectares em 2016, com produção crescente igual a 3,43 milhões de toneladas em 2007 para 4,42 milhões de toneladas em 2011 e ligeira redução nos anos subsequentes, chegando a 4,17 milhões de toneladas em 2016. Houve aumento no rendimento entre os anos de 2007 e 2011, passando de 58 mil para 61 mil kg/ha, chegando a 65 mil kg/ha em 2016 (IBGE, 2017). Estes dados ressaltam o desenvolvimento da tomaticultura no Brasil nestes últimos anos, que demonstrou bom desempenho principalmente pela produtividade crescente de tomate.

2.2. A doença e o patógeno

A requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, é a doença mais agressiva do tomateiro podendo causar grandes devastações em seu cultivo em todo mundo onde é cultivado (RUBIN; COHEN, 2004; IRZHANSKY; COHEN, 2006). As condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença requerem um conjunto de fatores associados, como temperaturas amenas (entre 12 e 20 °C) e alta umidade relativa do ar (acima de 85 %) podendo esta ser alcançada por neblinas, chuvas, orvalho e até mesmo pela irrigação (DUARTE; ZAMBOLIM; RODRIGUES, 2007). Entretanto, a doença pode ocorrer também em locais com temperaturas mais altas se as noites forem frias e úmidas, sendo que em temperaturas constantes superiores a 30 °C o desenvolvimento da doença é inviabilizado mas o oomiceto permanece viável provocando a doença quando as condições forem favoráveis (LOPES; ÁVILA, 2005).

O oomiceto pode infectar as folhas, caule, inflorescência e frutos do tomateiro, tendo preferência pelos tecidos mais jovens da planta. Os sintomas iniciais da doença nas folhas são como manchas verdes pálidas a marrom com aspecto de encharcamento na face adaxial, que desenvolvem-se rapidamente sob as condições favoráveis ao patógeno, tornando-se marrom-escuras e disseminam-se para os tecidos adjacentes até a necrose completa da folha levando a uma desfolha total da planta em poucos dias. Nas situações em que a umidade relativa do ar permanecer alta por muito tempo é possível ver uma massa branca pulverulenta na face abaxial da folha, constituída de estruturas do oomiceto. No caule, os sintomas são lesões de coloração preta, podendo levar a quebra da parte superior e morte do ápice da planta, enquanto que nos frutos a doença é caracterizada por podridão de cor pardo escura (VALE; LOPES; ALVARENGA, 2013).

O manejo da requeima requer a utilização de diversas técnicas, sendo as seguintes citadas por Vale, Lopes e Alvarenga (2013):

- Evitar o plantio em locais muito úmidos e sombreados;
- Utilizar mudas saudáveis e bem nutridas;
- Evitar irrigação por aspersão;
- Pulverizar as lavouras com fungicidas protetores alternando com os sistêmicos preventivamente;
- Fazer o plantio de modo a permitir maior ventilação entre as plantas;
- Fazer adubação equilibrada evitando deficiência ou excesso de nitrogênio;
- Eliminar restos culturais;
- Fazer rotação de cultura com gramíneas por pelo menos um ano;
- Evitar plantio escalonado na mesma propriedade;
- Usar variedades resistentes se disponível.

Dentre as técnicas de controle da requeima a aplicação de fungicidas é a mais utilizada onerando ainda mais a produção. Estimativas apontam que mundialmente são gastos em torno de sete bilhões de dólares para o controle desta doença, sendo que no Brasil estima-se que o controle da requeima corresponde entre 15 e 20% dos custos de produção (ZANOTTA *et al.*, 2016).

Com dois grupos de compatibilidade, A1 e A2, o oomiceto *P. infestans* é um organismo heterotático que pode se reproduzir sexuadamente se houver cruzamento entre o micélio dos isolados de ambos os grupos (GOODWIN, 1997; COHEN *et al.*, 1997). Na reprodução sexuada, o micélio diploide de cada grupo, através da meiose, forma o anterídeo e a oogonia (haploides) que se fundem formando o oósporo diploide (FOOLAD; MERK; ASHRAFI, 2008). Estes oósporos podem sobreviver em condições ambientais adversas em um longo período de tempo sem precisar da planta hospedeira viva, podendo germinar liberando os esporângios que por sua vez liberam os zoósporos se as condições ambientais forem adequadas e continuam a infecção (FOOLAD; MERK; ASHRAFI, 2008). A reprodução sexual de *P. infestans* permite a recombinação gênica deste organismo gerando variabilidade com a possibilidade que os novos isolados sejam mais agressivos, dificultando ainda mais o manejo da doença (NOWICKI *et al.*, 2012; GOODWIN, 1997).

Além do ciclo sexual, *P. infestans* também pode se reproduzir assexuadamente com a emissão do esporangióforo via estômato da planta infectada, que esporulam formando os esporângios que por sua vez germinam e liberam os zoósporos que são disseminados e dão sequência ao ciclo da doença (FOOLAD; MERK; ASHRAFI, 2008).

Os esporângios germinam na presença de água livre no hospedeiro e podem liberar até oito zoósporos biflagelados. Os zoósporos perdem os flagelos e produzem tubos germinativos que se diferenciam em apressórios. Estes apressórios penetram o hospedeiro através da cutícula, sendo menos comum a infecção via estômatos. As hifas se desenvolvem no espaço intercelular do hospedeiro e formam os haustórios para a alimentação biotrófica do patógeno (FOOLAD; MERK; ASHRAFI, 2008).

No Brasil, Brommonschenkel (1988) relatou pela primeira vez os dois grupos de compatibilidade de *P. infestans* e verificou que o grupo A1 ocorre principalmente nos cultivos de tomate enquanto o grupo A2 ocorre principalmente nos cultivos de batata. Este autor ainda concluiu que apesar de haver ambos os grupos de compatibilidade não foi constatado a reprodução sexuada deste patógeno no país. As duas linhagens presentes no Brasil são US-1 e BR-1, compostas por indivíduos dos grupos de compatibilidade A1 e A2, respectivamente

(SUASSUNA; MAFFIA; MIZUBUTI, 2004; REIS *et al.*, 2003). Depois de mais de dez anos de coexistência dos dois grupos de compatibilidade de *P. infestans* no Brasil, Reis *et al.* (2003), com o objetivo de estudar as possíveis mudanças na estrutura populacional deste patógeno verificaram que mesmo após esse tempo, não houve a reprodução sexual, as populações permaneceram clonais e com alta especificidade ao hospedeiro.

2.3. *Solanum pennellii* como fonte de resistência a *Phytophthora infestans*

Solanum pennellii Correll é uma espécie endêmica da região andina na América do Sul, que evolutivamente se adaptou aos ambientes áridos com solos arenosos e rochosos, ocorrendo naturalmente do Norte do Peru ao Norte do Chile (WARNOCK, 1991; BOLGER *et al.*, 2014; MOYLE, 2008). A planta é perene, herbácea, com crescimento indeterminado chegando a alcançar um metro de altura; possui frutos verdes pubescentes medindo de 1 a 1,3 centímetros; os folíolos são arredondados, densamente pubescentes com tricomas curtos; flores ligeiramente zigomorfas, auto incompatíveis (MOYLE, 2008).

S. pennellii é semelhante as plantas xerófitas, possuindo por exemplo folhas suculentas e raízes superficiais (RICK, 1973; MOYLE; MUIR, 2010). Bolger *et al.* (2014) identificaram um grupo de genes nesta espécie codificando para proteínas transportadoras de acilo, ligadas a produção de lipídeos, podendo por sua vez ser um mecanismo responsável pela adaptação de *S. pennellii* a ambientes desérticos, uma vez que a hidrofobicidade da cutícula minimiza a transpiração e as perdas de água. Outro fator ligado a esta adaptação da espécie aos ambientes secos é a menor área e maior espessura foliar, menor densidade e abertura estomática (KEBEDE *et al.*, 1994).

Características como maior adensamento de tricomas e maior espessura cuticular são relatadas como características que conferem maior resistência das plantas a pragas e fitopatógenos (KUNST; SAMUELS, 2009; LEE *et al.*, 2014; TAFOLLA-ARELLANO; BÁEZ-SAÑUDO; TIZNADO-HERNÁNDEZ, 2018).

Uma população de 50 linhagens de introgressão (IL's), derivadas do cruzamento entre *S. lycopersicum*, cultivar M82, e *S. pennellii*, acesso LA 0716, foi produzida para a identificação e mapeamento preciso de QTL's associados a diversas características (ESHED; ZAMIR, 1994; ESHED; ZAMIR, 1995). Estas IL's são quase isogênicas a cultivar M82, diferindo por apresentar cada uma um fragmento cromossômico diferente do parental LA 0716. O conjunto das 50 linhagens cobre todo o genoma de *S. pennellii* em *S. lycopersicum*. Smart *et al.* (2007),

avaliaram essa população de IL's e relataram a existência de um QTL identificado na IL 6-2, localizado no cromossomo 6, que confere resistência parcial ao patógeno *P. infestans*.

Uma segunda geração de IL's foi gerada, composta por 76 linhagens com os mesmos parentais da primeira geração (LIU; ZAMIR, 1999). Da mesma forma que a primeira, essa segunda geração de linhagens é quase isogênica à cultivar M82, com um fragmento cromossômico distinto de *S. pennelli* cada e incluem as chamadas sub IL's. Essas sub IL's apresentam fragmentos cromossômicos mais curtos que o da população original do parental LA 0716, totalizando 26 sub IL's.

Com exceção do trabalho realizado por Smart *et al.* (2007), a literatura é escassa de trabalhos que relatem a resistência de *S. pennelli* a *P. infestans*.

2.4. Análise estatística espacial

Os delineamentos utilizados nos experimentos de campo possuem um modelo padrão para análise. Nesta análise, algumas pressuposições são tomadas como por exemplo pressuposição da independência de erros, ou seja, considera-se que as parcelas experimentais vizinhas são não correlacionadas (RESENDE; STURION, 2003). Entretanto, as condições ambientais do campo experimental podem ser bastante diversas e de difícil controle para garantir tal pressuposição. Variações sistemáticas ao longo da área experimental podem ser controladas por meio de blocagem (SINGH *et al.*, 2003; SARKER; SINGH, 2015). Mas os blocos podem ser ineficientes para o controle de variações ou tendências espaciais locais que contribuem para a autocorrelação espacial (RESENDE; STURION, 2003). Grondona *et al.* (1996), destaca que os modelos estatísticos de análise espacial garantem maior eficiência para anular a correlação espacial.

As tendências espaciais, local ou global, decorrem de fatores bióticos como microrganismos e microfauna do solo, e abióticos como a fertilidade, acidez, umidade, textura, estrutura e profundidade do solo, além da orientação do vento e práticas culturais (GILMOUR; CULLIS; VERBYLA, 1997; SINGH *et al.*, 2003; SARKER; SINGH, 2015). Esses fatores contribuem para a dependência dos erros e não são considerados nas análises clássicas tradicionais (SARKER; SINGH, 2015).

Considerando o posicionamento das parcelas em coordenadas de linha e coluna em um experimento com formato retangular, é possível modelar a autocorrelação espacial. Gleeson e Cullis (1987), desenvolveram um procedimento onde o erro de dados de experimentos de campo é modelado por processo autorregressivo integrado de médias móveis. A metodologia

proposta por estes autores é um processo unidimensional, ou seja, considera a autocorrelação espacial em apenas uma direção: linha ou coluna. Devido às limitações desse método, Cullis e Gleeson (1991) estenderam essa metodologia de modelagem do erro para processo autorregressivo bidimensional, considerando a autocorrelação espacial nas duas direções: linha e coluna. Nestas metodologias, o modelo pode considerar o erro de tendência local espacialmente dependente mais o erro independente, podendo também considerar um, mas desconsiderar o outro erro (RESENDE; STURION, 2003).

Nesta perspectiva, os modelos autorregressivos separáveis de primeira ordem são sugeridos como abordagem geral para a modelagem do erro espacialmente dependente na análise espacial (GILMOUR; CULLIS; VERBYLA, 1997). Devido a flexibilidade desses modelos é possível ajustar parâmetros de tendência global ao longo da área experimental (RESENDE; STURION, 2003). Nos modelos estatísticos espaciais, as tendências globais do campo experimental podem ser modeladas através do ajuste de splines de suavização, que são fragmentos de polinômios, geralmente cúbicos, unidos por pontos chamados de nós (VERBYLA *et al.*, 1999; VELAZCO *et al.*, 2017).

Os parâmetros espaciais ajustados no modelo são estimados por máxima verossimilhança restrita, podendo sua significância ser testada pelo teste da razão de verossimilhança ou pelo intervalo de confiança (RESENDE; SILVA; AZEVEDO, 2014). O teste da razão de verossimilhança se baseia na mudança no logaritmo da função de verossimilhança maximizada comparado com o valor de qui-quadrado, enquanto o intervalo de confiança calcula os possíveis valores que o parâmetro pode assumir dentro de um nível de confiança.

Para se comparar a qualidade do ajuste dos diferentes modelos, espaciais e não espacial, existem alguns critérios que podem ser empregados entre modelos que envolvem diferentes números de parâmetros (SINGH *et al.*, 2003). O critério de informação de Akaike - AIC (AKAIKE, 1974) define o modelo mais bem ajustado como sendo aquele que fornece o menor valor de AIC. Entretanto, não existe um valor máximo de AIC pelo qual um modelo é rejeitado (EMILIANO, 2009). Outro critério que também pode ser usado é o Critério de Informação Bayesiano – BIC (SCHWARZ, 1978) que também classifica os modelos sendo considerado o melhor modelo ajustado aquele com menor valor de BIC dentre o conjunto.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, F. B.; SILVA, D. J. H.; CORTI, I. B.; ROCHA, P. R. R.; MOREIRA, T. H. P.; JUHASZ, A. C. P.; MASSONI, G.; MIZUBUTI, E. S. G.; CRUZ, C. D. Controle genético da resistência a requeima em tomateiro. *In: Anais do 44º Congresso Brasileiro de Olericultura*. Campo Grande – MS: Horticultura Brasileira, v. 22, 2004.
- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Trans Autom Control**, v. 19, p. 716–723, 1974.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. *In: ALVARENGA, M. A. R. Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia*. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 11-21.
- ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Valor nutricional. *In: ALVARENGA, M. A. R. Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia*. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 23-29.
- BAI, Y.; LINDHOUT, P. Domestication and Breeding of Tomatoes : What have We Gained and What Can We Gain in the Future ? **Oxford Journals**, v. 100, p. 1085–1094, 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE COMÉRCIO DE MUDAS E SEMENTES. **Tomaticultura: valioso segmento do agronegócio nacional**. Campinas, SP: ABCSEM, [201-]. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/releases/2420/tomaticultura-valioso-segumento-do-agronegocio-nacional>. Acesso em junho de 2019.
- BOLGER, A.; SCOSSA, F.; BOLGER, M. E.; LANZ, C.; MAUMUS, F.; TOHGE, T.; QUESNEVILLE, H.; ALSEEKH, S.; SORENSEN, I.; LICHTENSTEIN G.; FICH, E. A.; CONTE, M.; KELLER, H.; SCHNEEBERGER, K.; SCHWACKE, R.; OFNER, I.; VREBALOV, J.; XU, Y.; OSORIO, S.; AFLITOS, S. A.; SCHIJLEN, E.; JIMÉNEZ-GOMÉZ, J. M.; RYNGAJLLO, M.; KIMURA, S.; KUMAR, R.; KOENIG, D.; HEADLAND, L. R.; MALOOF, J. N.; SINHA, N.; VAN HAM, R. C. H. J.; LANKHORST, R. K.; MAO, L.; VOGEL, A.; ARSOVA, B.; PANSTRUGA, R.; FEI, Z.; ROSE, J. K. C.; ZAMIR, D.; CARRARI, F.; GIOVANNONI, J. J.; WEIGEL, D.; USADELL, B.; FERNIE, A. R. The genome of the stress-tolerant wild tomato species *Solanum pennellii*. **Nature Genetics**, v. 46, n. 9, p. 1034–1038, 2014.
- BROMMONSCHENKEL, S. H. **Patogenicidade, Compatibilidade, Citogenética e Padrões Isoenzimáticos de Isolados de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary do Brasil**. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.
- COHEN, Y.; FARKASH, S.; RESHIT, Z.; BAIDER, A. Oospore Production of *Phytophthora infestans* in Potato and Tomato Leaves. **Phytopathology**, v. 87, n. 2, p. 191–196, 1997.
- CULLIS, B. R.; GLEESON, A. C. Spatial Analysis of Field Experiments – Na Extension to Two Dimensions. **Biometrics**, v. 47, p. 1449-1460, 1991.

DUARTE, H. S. S.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. Á. Controle da requeima em tomateiro industrial com fungicidas e silicato de potássio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 257–260, 2007.

EMILIANO, P. C. **Fundamentos e aplicações dos critérios de informação: Akaike e Bayesiano**. Dissertação do Programa de Pós-graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2009.

ESHED, Y.; ZAMIR, D. A genomic library of *Lycopersicon pennellii* in *L. esculentum*: A tool for fine mapping of genes. **Euphytica**, v. 79, p. 175–179, 1994.

ESHED, Y.; ZAMIR, D. An Introgression Line Population of *Lycopersicon pennellii* in the Cultivated Tomato Enables the Identification and Fine Mapping of Yield-Associated QTL. **Genetics**, v. 141, p. 1147–1162, 1995.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Data**. FAOSTAT, 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em março 2019.

FOOLAD, M. R.; MERK, H. L.; ASHRAFI, H. Genetics , Genomics and Breeding of Late Blight and Early Blight Resistance in Tomato. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n. 2, p. 75–107, 2008.

FRARY, A.; DOGANLAR, S. Comparative Genetics of Crop Plant Domestication and Evolution. **Turk Journal Agriculture and Forestry**, v. 27, p. 59–69, 2003.

GILMOUR, A. R.; CULLIS, B. R.; VERBYLA, A. P. Accounting for Natural and Extraneous Variation in the Analysis of Field Experiments. **Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics**, v. 2, n. 3, p. 269-293, 1997.

GLEESON, A. C.; CULLIS, B. R. Residual maximum likelihood (REML) estimation of a neighbour model for field experiments. **Biometrics**, v. 43, p. 277-288, 1987.

GOODWIN, S. B. The Population Genetics of Phytophthora. **Phytopathology**, v. 87, n. 4, p. 462–473, 1997.

GRONDONA, M. O.; CROSSA, J.; FOX, P. N.; PFEIFFER, W. H. Analysis of variety yield trials using two-dimensional separable ARIMA processes. **Biometrics**, v. 52, p. 763-770, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. 82p.

IRZHANSKY, I.; COHEN, Y. Inheritance of resistance against *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pimpnellifolium* L3707. **Euphytica**, v. 149, n. 3, p. 309–316, 2006.

KEBEDE, H. et al. Leaf Anatomy of Two *Lycopersicon* Species with Contrasting Gas Exchange Properties. **Crop Science**, v. 34, p. 108–113, 1994.

KNAPP, S. Tobacco to tomatoes : a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. **Journal Experimental Botany**, v. 53, n. 377, p. 2001–2022, 2002.

KUNST, L.; SAMUELS, L. Plant cuticles shine : advances in wax biosynthesis and export. **Plant Biology**, v. 12, p. 721–727, 2009.

LEE, S. B. et al. Overexpression of *Arabidopsis* MYB96 confers drought resistance in *Camelina sativa* via cuticular wax accumulation. **Plant Cell Reports**, v. 33, p. 1535–1546, 2014.

LI, J.; LIU, L.; BAI, Y.; FINKERS, R.; WANG, F.; DU, Y.; YANG, Y.; XIE, B.; VISSER, R. G. F.; HEUSDEN, A. W. Identification and mapping of quantitative resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in *Solanum habrochaites* LA1777. **Euphytica**, v. 179, p. 427–438, 2011.

LIU, Y.-S.; ZAMIR, D. Second generation *L. pennellii* introgression lines and the concept of bin mapping. In: **Report of the Tomato Genetics Cooperative**. Ithaca: 1999, n° 49, p. 26–30.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. DE. Requeima ou Mela. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. (Eds.). **Doenças do Tomateiro**. 2ª ed. Brasília: Athalaia Gráfica e Editora, 2005. p. 25–27.

MILLER, J. C.; TANKSLEY, S. D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 80, p. 437–448, 1990.

MOYLE, L. C. Ecological and evolutionary genomics in the wild tomatoes (*Solanum* sect. *Lycopersicon*). **Evolution**, v. 62, n. 12, p. 2995–3013, 2008.

MOYLE, L. C.; MUIR, C. D. Reciprocal insights into adaptation from agricultural and evolutionary studies in tomato. **Evolutionary Applications**, v. 3, p. 409–421, 2010.

NICK, C.; SILVA, D. J. H. A cultura. In: NICK, C.; SILVA, D.; BORÉM, A. **Tomate: do plantio a colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2018. p 9-20.

NOWICKI, M.; FOOLAD, M. R.; NOWAKOWSKA, M.; KOZIK, U. Potato and Tomato Late Blight Caused by *Phytophthora infestans*: An Overview of Pathology and Resistance Breeding. **Plant Disease**, v. 96, n. 1, p. 4–17, 2012.

PARK, T. H.; VLEESHOUWERS¹, V. G. A. A.; HUTTEN, R. C. B.; VAN ECK, H. J.; VAN DER VOSSEN, E.; JACOBSEN, E.; VISSER, R. G. F. High-resolution mapping and analysis of the resistance locus Rpi-abpt against *Phytophthora infestans* in potato. **Molecular Breeding**, v. 16, p. 33–43, 2005.

REIS, A.; SMART, C. D.; FRY, W. E.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Characterization of Isolates of *Phytophthora infestans* from Southern and Southeastern Brazil from 1998 to 2000. **Plant Disease**, v. 87, n. 8, p. 896–900, 2003.

- RESENDE, D.V.; SILVA, F. F.; AZEVEDO, C. F. **Estatística Matemática, Biométrica e Computacional: Modeos Mistos, Multivariados, Categóricos e Generalizados (REML/BLUP), Interência Bayesiana, Regressão Aleatória, Seleção Genômica, QTL-GWAS, Estatística Espacial e Temporal, Competição, Sobrevivência.** Viçosa - MG: Suprema, 2014.
- RESENDE, M.D.V.; STURION, J.Á. Análise Estatística Espacial de Experimentos Via Modelos Mistos Individuais Com Erros Modelados Por Processos ARIMA Em Duas Dimensões. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 21, n. 1, p. 7-33, 2003.
- RICK, C. M. Potential Genetic Resources in Tomato Species : Clues from Observations in Native Habitats. *In*: SRB, A. M. (Ed.). . **Genes, Enzymes and Populations**. Boston: Springer, 1973. p. 255–269.
- RUBIN, E.; COHEN, Y. Oospores associated with tomato seed may lead to seedborne transmission of *Phytophthora infestans*. **Phytoparasitica**, v. 32, n. 3, p. 237–245, 2004.
- SARKER, A.; SINGH, M. Improving breeding efficiency through application of appropriate experimental designs and analysis models: A case of lentil (*Lens culinaris* Medikus subsp. *culinaris*) yield trials. **Field Crops Research**, v. 179, p. 26-34, 2015.
- SCHWARZ, G. Estimating the Dimension of a Model. **Ann Stat**, v. 6, p. 461 – 464, 1978.
- SINGH, M.; MALHOTRA, R. S.; CECCARELLI, S.; SARKER, A.; GRANDO, S.; ERSKINE, W. Spatial Variability Models to Improve Dryland Field Trials. **Expl Agric**, v. 39, p. 151-160, 2003.
- SMART, C. D.; TANKSLEY, S. D.; MAYTON, H.; FRY, W. E. Resistance to *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pennellii*. **Plant Disease**, v. 91, p. 1045–1049, 2007.
- SUASSUNA, N. D.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, v. 53, p. 405–413, 2004.
- TAFOLLA-ARELLANO, J. C.; BÁEZ-SAÑUDO, R.; TIZNADO-HERNÁNDEZ, M. E. The cuticle as a key factor in the quality of horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 145–152, 2018.
- VALE, F.X.R.; LOPES, C.A.; ALVARENGA, M.A.R. Doenças fúngicas, bacterianas e causadas por nematóides. *In*: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 13-21.
- VERBYLA, A. P; CULLIS, B. R.; KENWARD, M. G.; WELHAM, S. J. The analyses of designed experiments and longitudinal data using smoothing splines. **Appl. Statist.**, v. 48, p. 269-311, 1999.
- VELAZCO, J.G.; RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, M. X.; BOER, M.P.; JORDAN, D. R.; EILERS, P. H. C; MALOSSETTI, M.; EEUWIJK, F. A. Modelling spatial trends in sorghum breeding field trials using a two-dimensional P-spline mixed model. **Theor Appl Genet**, v. 130, n. 7, p. 1375-1392, 2017.

WARNOCK, S. J. Natural Habitats of *Lycopersicon* Species. **HortScience**, v. 26, n. 5, p. 466–471, 1991.

ZANOTTA, S.; SALAS, F. J. S.; TÖFOLI, J. G.; MIZUBUTI, E. S. G.; TERÇARIOL, I. M. L.; FERRARI, J. T.; DOMINGUES, R.; HARAKAVA, R. Requeima: Novos Desafios. **Revista Batata Show**, n. 46, p. 28–32, 2016.

4. CAPÍTULO 1: Modelagem de tendências espaciais na seleção de linhagens de tomateiro resistentes à *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

Modelagem de tendências espaciais na seleção de linhagens de tomateiros resistentes à *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

Felipe de Oliveira Dias¹; João Romero do Amaral Santos de Carvalho Rocha²; Pedro Crescêncio Souza Carneiro²; Carlos Nick Gomes¹

¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36570-900, Viçosa, MG 36570-900, Brasil.

²Departamento de Biologia, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36570-900, Viçosa, MG 36570-900, Brasil.

RESUMO: Este trabalho teve o objetivo de selecionar linhagens de tomateiro mais resistentes à *Phytophthora infestans* e estimar ganhos de seleção a partir de um ensaio com testemunhas intercalares e modelos estatísticos com resíduos espacialmente dependentes e independentes. Para isso, 71 linhagens de introgressão de *Solanum pennellii* foram avaliadas quanto a essa característica em campo, com inoculação artificial, em ensaio com testemunhas intercalares. As testemunhas utilizadas foram as seguintes: a cultivar M82 e o acesso LA 716, parentais das linhagens de introgressão; a cultivar Santa Clara, padrão de suscetibilidade; e as cultivares NC 25P e NC 1 CEL BR, resistentes à *P. infestans*. As plantas receberam notas, a cada três dias, de acordo com a severidade da doença, que posteriormente foram utilizadas para a obtenção da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foram ajustados vinte e cinco modelos para análise, sendo o mais adequado selecionado pelos critérios de informação de Akaike (AIC) e de Schwarz (BIC). Foram estimadas a herdabilidade e a acurácia dos modelos, além dos valores genotípicos de cada tratamento via melhor preditor linear não viesado (BLUP). Criou-se os intervalos de confiança com nível de confiança de 95% ($IC(\mu)_{0.95}$) para os parâmetros ajustados nos modelos. As análises estatísticas foram realizadas no software ASReml e Programa Genes. O modelo mais adequado foi um dos modelos espaciais, que difere do modelo tradicional por apresentar dois tipos de erro: o resíduo aleatório “nugget” e o erro correlacionado. As estimativas de herdabilidade e acurácia deste modelo foram menores em relação ao modelo tradicional. Os parâmetros espaciais ajustados tiveram sua significância comprovada pelo IC. O ranqueamento das linhagens selecionadas pelo modelo mais adequado e pelo tradicional teve ordenamento diferente em ambos, levando a seleção de diferentes linhagens por cada modelo. As linhagens que tiveram os menores valores genéticos preditos do

modelo selecionado devem continuar no programa de melhoramento do tomateiro para obtenção de cultivares resistentes à *P. infestans*.

Palavras-chave: Melhoramento, requeima, *Solanum lycopersicum*, análise espacial, splines, modelos autoregressivos de primeira ordem, testemunhas intercalares.

Abstract: This work aimed to adjust statistical models with spatially dependent and independent residues to predict genotypic values, identifying the fittest model to select tomato lines resistant to *Phytophthora infestans*. For this, 71 introgression lines (IL's) of *Solanum pennellii* were assessed for *P. infestans* resistance in the field. Plants were inoculated artificially. Genotype treatments were arranged according to an intercalary control experimental scheme with no replicates. The parental lines (M82 and the accession LA 716), the susceptible fresh market tomato cultivar Santa Clara, and the resistant tomato cultivars NC 25P and NC 1 CEL BR were used as control. Tomato plants were scored for *P. infestans* resistance, every three days, according to a disease severity scale. Disease severity scores were later used to obtain the area under the disease progress curve (AUDPC). Twenty-five models were adjusted for analysis, and the most suitable was selected by the Akaike (AIC) and Schwarz (BIC) information criteria. Confidence intervals were created with a 95% confidence level ($CI(\mu)_{0.95}$) for the parameters adjusted in the models. Were estimated heritability and accuracy of the models, beyond genetic values of each IL using the best linear unbiased predictor (BLUP). Statistical analyzes were performed using the ASReml software and the Genes Program. The most suitable model was one of the spatial models, which differs from the traditional model for having two types of error: the random residue “nugget” and the correlated error. Heritability and accuracy estimates for this model were lower compared to the traditional model. Adjusted spatial parameters had their significance confirmed by the CI. Genotype ranking obtained by the traditional model differed from the genotype ranking obtained by the selected spatial model, leading to selection of different IL's on each model. IL's showing the lowest predicted genetic values on the selected model must continue in the tomato breeding program to obtain cultivars resistant to *P. infestans*.

Keywords: Tomato breeding, late blight, *Solanum lycopersicum*, spatial analysis.

4.1. Introdução

A espécie *Solanum lycopersicum* L., conhecida popularmente como tomateiro ou simplesmente tomate, é uma das hortaliças mais consumidas mundialmente com volume de produção chegando a 242 milhões de toneladas em 2017, de acordo com dados da FAOSTAT (2019). O tomate é considerado um alimento funcional por desempenhar importante papel na prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de cânceres no organismo, além de ser fonte de vitaminas e minerais (Alvarenga e Coelho, 2013).

A tomaticultura é considerada uma atividade de alto risco econômico devido a inúmeros fatores, dentre os quais as pragas e doenças que acometem a cultura são um dos principais problemas enfrentados pelo setor. Dentre as doenças, a requeima, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, é uma das doenças mais destrutíveis do tomateiro, podendo em poucos dias destruir todo o campo de produção (Duarte *et al.*, 2007). Atualmente, o método mais utilizado para o controle dessa doença é a aplicação de fungicidas ao longo do ciclo do tomateiro. Esta prática onera muito os custos de produção do tomate, o qual é estimado entre 15 e 20% do total (Zanotta *et al.*, 2016).

A utilização da resistência genética a *P. infestans* é a alternativa mais favorável e promissora para o controle da doença, visto que existe atualmente maior preocupação com a contaminação alimentar e ambiental em decorrência do uso de agrotóxicos e das restrições ao uso destes. Ademais, o desenvolvimento de formas mais virulentas do patógeno que confere resistência aos produtos químicos inviabiliza sua utilização para o controle (Park *et al.*, 2005).

De modo geral, o sucesso dos programas de melhoramento genético está ligado ao número de genótipos avaliados nas etapas iniciais, sendo muitas vezes inviável o uso de delineamentos regulares com repetição por falta de recursos financeiros, humanos ou da própria disponibilidade do material de propágulo da cultura com a qual se trabalha (Souza *et al.*, 2000). Assim, alternativas como o uso de delineamentos menos convencionais como o de blocos aumentados ou ensaios com testemunhas intercalares devem ser consideradas por permitirem a avaliação dos genótipos sem a necessidade de repetição (Cruz *et al.*, 2014).

Entretanto, mesmo com as vantagens da utilização de delineamentos alternativos, seu uso pode comprometer a precisão e acurácia experimental, pois as estimativas das variações ambientais são baseadas unicamente nas testemunhas, podendo levar a estimativas viesadas dos parâmetros genéticos (Faleiro *et al.*, 2002). Além disso, a análise dos modelos tradicionais dos experimentos de campo pressupõe que os erros incidentes sobre os tratamentos são independentes e igualmente distribuídos.

Para contornar os problemas decorridos das variações espaciais, faz-se necessário o uso de metodologias adequadas de análise em experimentos de campo, aliada a delineamentos apropriados, para melhorar a interpretação dos dados do fenômeno estudado (Singh *et al.*, 2003; Resende e Sturion, 2003). Nesse sentido, Resende e Sturion (2003) relatam que a análise espacial é uma ferramenta que garante aos experimentadores áreas homogêneas, tornando as condições ambientais iguais para todas as parcelas, via ajuste de parâmetros espaciais no modelo.

Com isso, os objetivos deste trabalho foram: (i) ajustar modelos estatísticos com resíduos espacialmente dependentes e independentes, para predição dos valores genotípicos (ii) identificar o modelo de melhor ajuste (iii) selecionar as linhagens de tomateiro mais resistentes à *P. infestans*; (v) estimar ganhos com a seleção.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Material genético

O material genético consistiu de 71 genótipos da segunda geração de linhagens de introgressão (IL's) derivadas do cruzamento entre a cultivar de tomate M82, de *Solanum lycopersicum*, e o acesso silvestre LA 716 de *S. pennellii*. As linhagens são quase isogênicas a cultivar M82 e distinguem entre si por apresentar um fragmento cromossômico diferente do acesso LA 716 (Eshed e Zamir, 1995; Liu e Zamir, 1999). Além destas, as seguintes testemunhas foram utilizadas: a cultivar comercial de tomate Santa Clara, considerada padrão de suscetibilidade a *P. infestans*; a linhagem NC 25P que possui o gene *Ph-3* para resistência a *P. infestans* (Gardner e Panthee, 2010a); a linhagem NC 1 CELBR que possui os genes *Ph-2* e *Ph-3*, ambos conferindo resistência à *P. infestans* (Gardner e Panthee, 2010b); a variedade M82 e o acesso LA 716 de *S. pennellii*.

4.2.2. Local e condições experimentais

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão “Horta Velha” (UEPE Horta Velha) do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, no município de Viçosa – MG, localizado a 20° 45' 14" S e 42° 52' 53" W, a 648,74 m de altitude. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwb, mesotérmico úmido com verões chuvosos e invernos secos.

Foi realizada a análise química do solo da camada de 0 – 20 cm sendo esta utilizada para a recomendação da adubação de acordo com a 5ª aproximação (Filgueira *et al.*, 1999). A

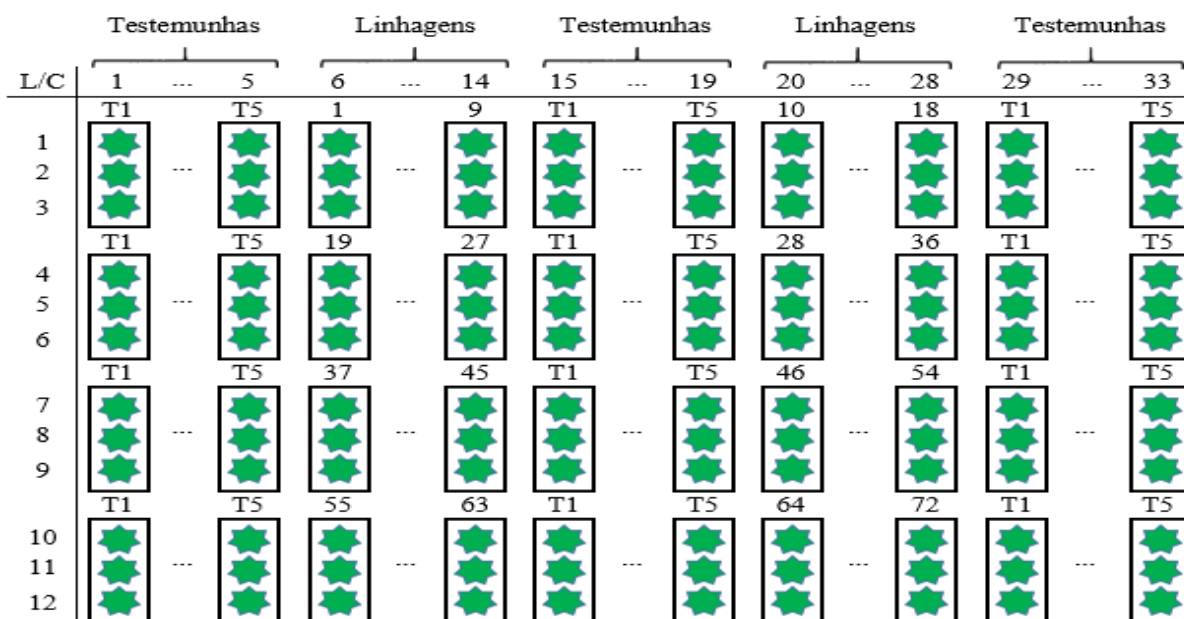
adubação foi parcelada ao longo do ciclo da cultura conforme Alvarenga *et al.* (2013). A área experimental foi arada e gradeada em área total e sulcada nas linhas de plantio para posterior transplântio das mudas.

As mudas foram produzidas em condições de ambiente protegido, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, preenchidas com substrato comercial e fertirrigadas de acordo com a recomendação proposta por Furlani *et al.* (2013) e irrigadas todos os dias conforme a necessidade. O transplântio para o campo ocorreu quando as mudas apresentavam de 4-5 folhas definitivas totalmente expandidas. O tutoramento foi realizado com uso de fitilho horizontal entrelaçado entre as plantas, sustentados por estacas de bambu e a desbrota foi realizada até o primeiro cacho.

4.2.3 Delineamento experimental

O experimento foi implantado no esquema de linhagens com testemunhas intercalares (Cruz *et al.*, 2014). A parcela experimental foi constituída de cinco plantas sendo úteis para avaliação as três centrais. As testemunhas foram identificadas como T1, T2, T3, T4 e T5 enquanto as linhagens foram identificadas de 1 a 72, sendo a parcela de número 60 constituída de uma mistura de plantas. No total o experimento foi constituído de 132 parcelas experimentais. Na figura 1 é possível visualizar o posicionamento de cada indivíduo no campo em coordenadas de linha (L), de 1 a 12, e coluna (C), de 1 a 33, sendo esta informação utilizada na abordagem de análise espacial. O espaçamento utilizado foi 1 m entre linhas e 0,6 m entre plantas.

Figura 1 - Croqui experimental com o posicionamento em linha e coluna dos indivíduos das linhagens avaliadas em ensaio com testemunhas intercalares quanto a resistência à *P. infestans*. L/C = linha e coluna, respectivamente.



As testemunhas foram identificadas de T1 a T5, enquanto as linhagens foram identificadas de 1 a 72, sendo a parcela experimental de número 60 constituída de uma mistura de plantas.

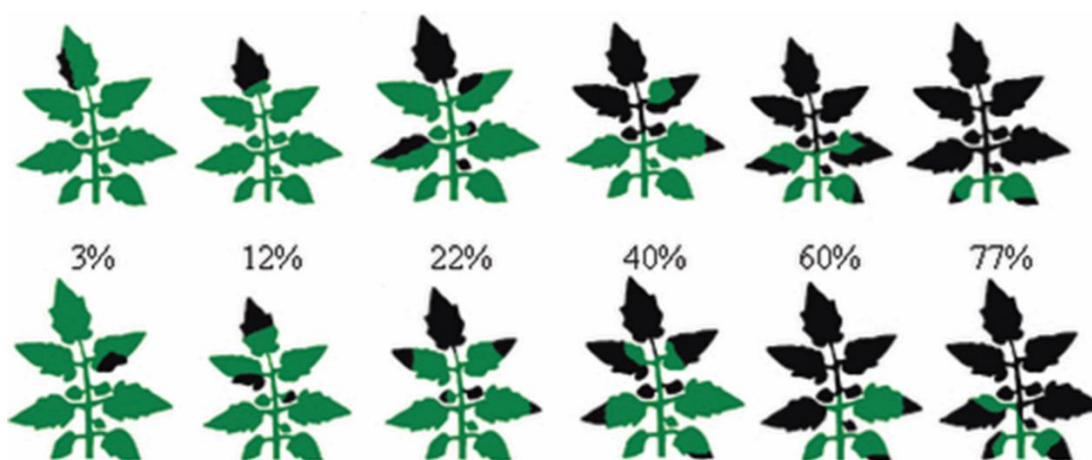
4.2.4 Característica avaliada

Os genótipos foram avaliados quanto a resistência à *Phytophthora infestans* por meio de inoculação artificial e avaliação da severidade da doença nas plantas, conforme metodologia exposta no trabalho de Abreu *et al.* (2008). Para a inoculação do patógeno na área experimental, foram coletados isolados do oomiceto no município de Coimbra - MG, destacando-se os folíolos infectados de plantas doentes e acondicionando-os em bandejas plásticas desinfetadas com álcool 70%, contendo papel toalha umedecido. Posteriormente, as bandejas foram incubadas por 24 horas, em sacos plásticos e mantidos a 18 °C para formação de câmara úmida.

Os isolados coletados foram misturados formando a solução de inóculo e utilizados na inoculação das plantas 45 dias após o transplante no campo. A concentração destes isolados foi ajustada por meio de hemacitômetro para 1×10^5 esporângios por mililitro de suspensão. Em sequência, a suspensão desta mistura foi colocada na geladeira no período de uma hora, na temperatura de cerca de 4 °C para induzir a liberação dos zoósporos, prosseguindo a inoculação no campo ao entardecer, com auxílio de pulverizador costal manual, aplicando-se aproximadamente 10 ml da solução de inóculo por planta, utilizando um dosador universal de líquido.

Na área experimental foram instalados aspersores, que foram ligados todos os dias ao entardecer, para promover o molhamento foliar para desenvolvimento da doença. A aplicação dos pesticidas agrícolas foi suspensa sete dias antes da inoculação. Após a inoculação, distintos avaliadores atribuíram notas a cada folha de cada planta útil, conforme escala diagramática proposta por Corrêa *et al.* (2009) (Figura 2).

Figura 2 - Escala diagramática para avaliação da severidade da queima, causada por *Phytophthora infestans*, em tomateiro. As lesões da queima são representadas pela cor preta. Fonte: Corrêa *et al.* (2009).



Foram realizadas seis avaliações quanto à severidade da queima, a cada três dias após a inoculação por um período de 18 dias. Essas notas foram utilizadas para determinar o índice de severidade, denominado área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculado da seguinte maneira (Campbell e Madden, 1990):

$$AACPD = \left\{ \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) \div 2] \times (t_{i+1} - t_i) \right\}$$

Onde:

y_i = porcentagem de área foliar lesionada observada na avaliação i ;

y_{i+1} = porcentagem de área foliar lesionada na avaliação seguinte $i + 1$;

n = número total de avaliações;

$t_{i+1} - t_i$ = intervalo de tempo entre as avaliações.

Foram coletados dados meteorológicos na estação automática de Viçosa afim de verificar as condições ambientais após a inoculação (Boletim meteorológico, 2019).

4.2.5 Análise estatística

Vários modelos estatísticos foram ajustados, a fim de determinar o mais adequado para a predição dos valores genotípicos das linhagens de tomateiro resistentes a requeima. O modelo linear misto tradicional para análise com testemunhas intercalares (Modelo 1) e os modelos lineares mistos espaciais (Modelos 2,3, ..., 25) estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Modelos lineares mistos ajustados aos dados de avaliação da severidade da requeima das 71 linhagens de tomateiro em experimento avaliado com 5 testemunhas intercalares.

Modelo (y)	Efeito								
	μ	G	Spl _{lin}	Spl _{col}	e	η	ξ	AR1 (ρ_{lin})	AR1 (ρ_{col})
1	x	x			x				
2	x	x					x	x	x
3	x	x					x	x	
4	x	x					x		x
5	x	x	x				x	x	x
6	x	x		x			x	x	x
7	x	x	x	x			x	x	x
8	x	x	x				x	x	
9	x	x		x			x	x	
10	x	x	x	x			x	x	
11	x	x	x				x		x
12	x	x		x			x		x
13	x	x	x	x			x		x
14	x	x				x	x	x	x
15	x	x				x	x	x	
16	x	x				x	x		x
17	x	x	x			x	x	x	x
18	x	x		x		x	x	x	x
19	x	x	x	x		x	x	x	x
20	x	x	x			x	x	x	
21	x	x		x		x	x	x	
22	x	x	x	x		x	x	x	
23	x	x	x			x	x		x
24	x	x		x		x	x		x
25	x	x	x	x		x	x		x

y é o vetor de dados fenotípicos arranjados em linhas dentro de colunas;

μ é o vetor de 1's para a média geral (efeito fixo);

g é o vetor de efeitos aleatórios de genótipos com matriz de incidência Z, $g \sim \text{NID}(0, \sigma_g^2)$,

onde σ_g^2 é a variância genotípica;

Os termos Spl_{lin} e Spl_{col} incluem a parte aleatória de splines cúbicas indexadas a posição de linha e coluna, respectivamente (Verbyla *et al.*, 1999). Estes dois termos representam tendências globais nas linhas e colunas. $lin \sim N(0, \sigma_{spl\ lin}^2)$ em que $\sigma_{spl\ lin}^2$ é a variância de splines nas linhas e $col \sim N(0, \sigma_{spl\ col}^2)$, em que $\sigma_{spl\ col}^2$ é a variância de splines nas colunas;

e é um vetor aleatório de resíduos independentes. $e \sim NID(0, \sigma_e^2)$, em que σ_e^2 é a variância do erro independente. Conforme Resende e Sturion (2003), $e = \eta + \xi$;

η é um vetor aleatório de erros independentes. Esse termo também é chamado de efeito nugget, representa o erro de mensuração de cada parcela ou ainda tendência local. $\eta \sim NID(0, \sigma_\eta^2)$, em que σ_η^2 é a variância do erro independente;

ξ é um vetor de erro aleatório espacialmente dependente nas colunas e/ou linhas. $\xi \sim N(0, R)$, a matriz $R = \sigma_\xi^2 [AR1(\rho_{lin}) \otimes AR1(\rho_{col})]$, representando processos auto-regressivos separáveis bidimensional de primeira ordem (modelos 2, 5, 6, 7, 14, 17, 18 e 19); ou $R = \sigma_\xi^2 [AR1(\rho_{lin}) \otimes ID]$, representando processos auto-regressivos separáveis unidimensional de primeira ordem na linha (modelos 3, 8, 9, 10, 15, 20, 21 e 22); ou ainda, $R = \sigma_\xi^2 [ID \otimes AR1(\rho_{col})]$, representando processos auto-regressivos separáveis unidimensional de primeira ordem na coluna (modelos 4, 11, 12, 13, 16, 23, 24 e 25); σ_ξ^2 é a variância do resíduo espacialmente dependente; \otimes representa o produto de Kronecker.

4.2.6 Escolha do modelo mais adequado

A comparação dos modelos foi feita pelo critério de informação de Akaike (AIC) e pelo critério de informação bayesiana de Schwarz (BIC).

$$AIC = -2\text{LogL} + 2p$$

$$BIC = -2\text{LogL} + p\text{Log}[n - r(x)],$$

em que: LogL é o logaritmo do ponto de máximo da função de verossimilhança residual; p é o número de parâmetros estimados; n é o número de observações e $r(x)$ é o posto da matriz de incidência dos efeitos fixos (Akaike, 1974; Schwarz, 1978; Wolfinger, 1993).

Para testar a significância dos efeitos aleatórios dos parâmetros ajustados nos modelos, foram criados seus respectivos intervalos de confiança com nível de confiança de 95%, como se segue:

$$IC(\mu)_{0,95}: \hat{\mu} \pm 1,96xEP$$

Onde: $\hat{\mu}$ = é a média estimada do efeito aleatório do parâmetro testado;

EP = é o erro padrão da média do respectivo parâmetro.

Sob as hipóteses $H_0: \mu = 0$ e $H_a: \mu \neq 0$, conclui-se pela não rejeição de H_0 se o valor testado (zero) para o parâmetro estiver contido dentro do intervalo. Caso contrário, rejeita-se a hipótese nula.

4.2.7 Herdabilidade

A herdabilidade no sentido amplo (h_g^2) foi estimado conforme Cullis *et al.* (2006).

$$h_g^2 = 1 - \frac{\bar{v}_{BLUP}}{2\hat{\sigma}_g^2},$$

em que: \bar{v}_{BLUP} é a variância média das diferenças entre pares de BLUPs (Best Linear Unbiased Predictors) dos efeitos genéticos.

4.2.8 Acurácia

A acurácia ($r_{\hat{g}g}$) estimada como se segue:

$$r_{\hat{g}g} = \sqrt{1 - \frac{PEV}{\hat{\sigma}_g^2}},$$

em que PEV é a variância do erro de predição.

4.2.9 Eficiência da análise espacial

A eficiência da análise do modelo espacial em relação ao modelo clássico foi calculada conforme Resende e Sturion (2003) da seguinte maneira:

$$Eficiência = \frac{h_g^2 \text{ modelo espacial}}{h_g^2 \text{ modelo clássico}}$$

4.2.10 Ganho com a seleção

O ganho com a seleção (GS) em porcentagem foi calculado como segue (Cruz *et al.* 2012):

$$GS(\%) = \frac{X_s - X_o}{X_o} \times 100$$

Onde: X_s é a média dos valores genotípicos das linhagens selecionadas;

X_o é a média dos valores genotípicos do conjunto de linhagens.

4.2.11 Eficiência da seleção

A eficiência da seleção foi calculada considerando o índice de coincidência simples entre as linhagens selecionadas pelo modelo mais adequado com as linhagens selecionadas por cada um dos demais modelos.

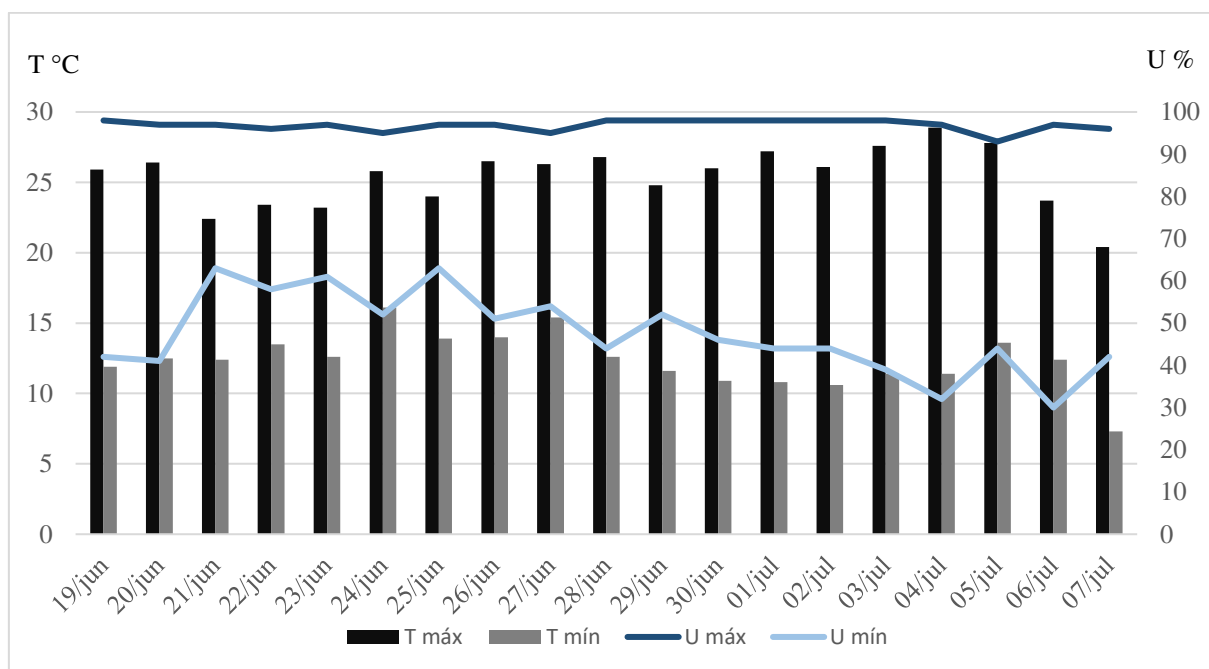
4.2.12 Software

O índice de coincidência entre os modelos foi calculado no Programa Genes (Cruz, 2016). As demais análises estatísticas foram realizadas no software ASReml (Gilmour *et al.*, 2015).

4.3 Resultados

A figura 3 apresenta a variação de temperatura (T °C) e umidade ($U\%$) a partir do dia de inoculação até o último dia de avaliação das linhagens quanto a resistência a *P. infestans*. A maior temperatura registrada no período foi de 28,9 °C em quatro de julho e a menor foi de 7,3 °C em sete de julho. Já para a umidade, a maior foi registrada nos dias 19, 28, 29 e 30 de junho e 01, 02 e 03 de julho sendo equivalente a 98 %, enquanto que a menor foi registrada no dia 06/07 igual a 30 %. A maior amplitude térmica foi encontrada no dia 04/07, com temperaturas máxima e mínima iguais a 28,9 e 11,4 °C, respectivamente. Já a maior variação de umidade foi encontrada no dia 06/07, sendo a umidade máxima igual a 97 % enquanto que a mínima foi de 30 %. Em termos médios, as temperaturas máxima e mínima foram iguais a 18,46 e 17,01 °C, respectivamente, enquanto que as umidades máxima e mínima foram 83,11 e 77, 65 %, respectivamente.

Figura 3 - Variação de temperatura e umidade ao longo da avaliação das linhagens de tomateiro quanto a resistência a *P. infestans*. Colunas: T máx = temperatura máxima; T mín = temperatura mínima. Linhas: U máx = umidade máxima; U mín = umidade mínima.



A tabela 2 apresenta os valores de AIC e BIC para os modelos ajustados no conjunto de dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), bem como valores de herdabilidade (h_g^2), acurácia (r_{gg}) e eficiência da análise (EA).

Menores valores de AIC e BIC refletem melhor ajustamento dos modelos aos dados de avaliação (Akaike, 1974; Schwarz, 1978). Por isso, a ordem dos melhores modelos para AIC é M17, M18, M19, M22, M21, M20, M15, M9, M6, M10, M7, M13, M25, M12, M24, M2, M3, M5, M8, M11, M4 e M1. Já o critério de BIC classifica os melhores modelos da seguinte maneira M17, M18, M19, M15, M21, M20, M22, M9, M6, M10, M12, M3, M13, M7, M2, M24, M8, M25, M5, M4, M1 e M11. A maioria dos piores modelos classificados por ambos os critérios, diferem basicamente dos melhores modelos pela falta de ajuste do resíduo aleatório nugget (η).

Tabela 2 - Valores dos critérios de informação de Akaike (AIC) e bayseano (BIC), herdabilidade (h_g^2), acurácia ($r_{\hat{g}g}$) e eficiência da análise (EA) dos modelos ajustados para predição dos valores genotípicos das linhagens de introgressão quanto a resistência a *P. infestans*.

Modelos	AIC	BIC	h_g^2	$r_{\hat{g}g}$	EA
M1	3598,94	3606,89	0,88	0,93	1,00
M2	3508,19	3524,10	0,75	0,86	0,85
M3	3508,82	3520,76	0,76	0,87	0,86
M4	3593,07	3605,00	0,87	0,92	0,98
M5	3509,75	3529,64	0,75	0,86	0,85
M6	3496,98	3516,88	0,76	0,87	0,87
M7	3498,21	3522,08	0,76	0,87	0,87
M8	3510,24	3526,16	0,76	0,87	0,86
M9	3496,93	3512,84	0,77	0,87	0,88
M10	3497,98	3517,87	0,77	0,87	0,88
M11	3593,02	3608,94	0,86	0,92	0,98
M12	3503,96	3519,88	0,84	0,91	0,95
M13	3501,22	3521,11	0,84	0,91	0,95
M14*	-	-	-	-	-
M15	3463,17	3479,09	0,73	0,85	0,82
M16*	-	-	-	-	-
M17	3448,17	3472,04	0,71	0,84	0,80
M18	3449,25	3473,12	0,71	0,84	0,80
M19	3449,42	3477,27	0,70	0,83	0,80
M20	3460,14	3480,04	0,72	0,84	0,82
M21	3459,30	3479,19	0,73	0,85	0,83
M22	3456,31	3480,18	0,73	0,85	0,83
M23*	-	-	-	-	-
M24	3505,96	3525,86	0,84	0,91	0,95
M25	3503,22	3527,09	0,84	0,91	0,95

* Modelos não convergentes

Os intervalos de confiança, com nível de confiança de 95%, construídos para os parâmetros ajustados nos modelos estão apresentados na tabela 3. Com exceção do M18, o efeito do erro correlacionado foi significativo para todos os modelos espaciais ajustados. Da mesma forma, o efeito do erro aleatório nugget (η) foi significativo em todos os modelos que incluem esse parâmetro, exceto para M24 e M25. O efeito de spline de coluna foi significativo apenas em quatro modelos, sendo eles M12, M13, M24 e M25. Já o efeito de spline de linha não foi significativo em nenhum modelo. Em todos os modelos foi possível detectar variabilidade genética.

Tabela 3 - Intervalo de confiança (IC) com nível de confiança de 95% para os parâmetros ajustados no modelo. H0: $\mu = 0$. LI e LS = limites inferior e superior do IC. σ^2_g = variância genotípica; σ^2_{spllin} = variância de spline na linha; σ^2_{splcol} = variância de spline na coluna; σ^2_η = variância dos resíduos não correlacionados; σ^2_ξ = variância devida a tendência.

Modelos	IC(μ) _{0,95}									
	σ^2_g		σ^2_{spllin}		σ^2_{splcol}		σ^2_η		σ^2_ξ	
	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS
M1	3050,66	6458,60	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	2215,61	5536,83	-	-	-	-	-	-	2108,94	3343,50
M3	2439,76	5928,48	-	-	-	-	-	-	2098,58	3335,70
M4	2720,89	5893,55	-	-	-	-	-	-	1843,69	2567,09
M5	2198,29	5493,71	-34,39	52,67	-	-	-	-	2089,33	3308,57
M6	2115,05	5209,31	-	-	-256,91	623,71	-	-	1841,05	2864,05
M7	2094,01	5154,39	-33,82	56,10	-255,51	620,77	-	-	1817,03	2822,39
M8	2410,27	5862,19	-31,84	50,76	-	-	-	-	2076,89	3294,95
M9	2288,56	5506,96	-	-	-230,54	562,56	-	-	1825,13	2840,91
M10	2253,45	5426,65	-31,96	54,68	-229,85	561,71	-	-	1799,70	2794,48
M11	2684,76	5814,76	-36,72	70,50	-	-	-	-	1819,34	2532,12
M12	2973,48	6618,80	-	-	18330,22	236589,98	-	-	1125,38	1555,64
M13	2918,49	6501,29	-31,20	67,70	18869,37	238604,43	-	-	1098,86	1519,90
M15	1975,98	4988,90	-	-	-	-	871,49	1325,27	806,41	3625,75
M17	1304,23	3515,43	-41,87	78,43	-	-	948,88	1371,84	152,31	8406,41
M18	1295,93	3490,15	-	-	-1063,01	1539,63	937,37	1364,53	-515,55	9256,73
M19	1308,06	3562,42	-42,37	83,73	-795,70	1418,62	912,68	1345,68	347,31	5192,51
M20	1876,77	4774,13	-37,02	80,98	-	-	878,62	1316,24	786,27	3645,55
M21	1906,21	4770,13	-	-	-403,00	900,68	859,49	1320,91	591,07	2814,53
M22	1817,28	4575,04	-37,27	81,47	-408,75	912,95	870,02	1313,52	562,55	2807,61
M24	2973,48	6618,80	-	-	18329,63	236590,77	0,01	0,01	1125,37	1555,63
M25	2918,46	6501,30	-31,20	67,70	18865,40	238608,60	0,00	0,00	1098,86	1519,90

Considerando a classificação dos melhores modelos pelos critérios de AIC e BIC, o M15 é o primeiro modelo de ambas as classificações que apresenta todos os efeitos dos parâmetros ajustados significativos, sendo o sétimo melhor modelo para AIC e o quarto modelo mais adequado para BIC. Portanto, o M15 é o melhor modelo para predição dos valores genotípicos das linhagens de tomateiro quanto a resistência a *P. infestans*.

Maiores valores de herdabilidade e acurácia são observadas para o modelo tradicional de análise com testemunhas intercalares, correspondendo a 0,88 e 0,93 respectivamente, enquanto que o modelo mais parametrizado, M19, foi o que apresentou as menores estimativas correspondendo a 0,70 para herdabilidade e 0,83 para acurácia. Já M15 possui herdabilidade de 0,73 e acurácia de 0,85.

Nenhum modelo espacial obteve maior eficiência de análise que o modelo tradicional. Dentre os modelos espaciais os que obtiveram maior eficiência foram os modelos M4 e M11, igual a 0,98. Os modelos de menor eficiência foram M17, M18 e M19, sendo esta igual a 0,80. O M15 obteve eficiência igual a 0,83.

A tabela 4 apresenta as estimativas dos componentes de variância dos diversos modelos ajustados. A autocorrelação do modelo 15 na linha (ρ_{lin}) foi de 0,97. O modelo mais parametrizado (M19) apresentou autocorrelação na linha igual a 0,97 e na coluna igual a 0,81.

Tabela 4 - Estimativas dos componentes de variância genotípica ($\hat{\sigma}_g^2$), variância de spline na linha ($\hat{\sigma}_{spl\ lin}^2$) e coluna ($\hat{\sigma}_{spl\ col}^2$), variância residual ($\hat{\sigma}_e^2$), variância dos resíduos não correlacionados ($\hat{\sigma}_\eta^2$), variância devida a tendência ($\hat{\sigma}_\xi^2$), coeficientes de autocorrelação na linha (ρ_{lin}) e coluna (ρ_{col}), variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$).

Modelos	$\hat{\sigma}_g^2$	$\hat{\sigma}_{spl\ lin}^2$	$\hat{\sigma}_{spl\ col}^2$	$\hat{\sigma}_e^2$	$\hat{\sigma}_\eta^2$	$\hat{\sigma}_\xi^2$	ρ_{lin}	ρ_{col}	$\hat{\sigma}_f^2$
M1	4754,63	-	-	2132,36	-	-	-	-	6886,99
M2	3876,22	-	-	-	-	2726,22	0,55	0,10	6603,09
M3	4184,12	-	-	-	-	2717,14	0,56	-	6901,82
M4	4307,22	-	-	-	-	2205,39	-	0,20	6512,81
M5	3846,00	9,14	-	-	-	2698,95	0,55	0,10	6554,74
M6	3662,18	-	183,4	-	-	2352,55	0,49	0,09	6198,71
M7	3624,20	11,14	182,63	-	-	2319,71	0,48	0,08	6138,24
M8	4136,23	9,46	-	-	-	2685,92	0,56	-	6832,17
M9	3897,76	-	166,01	-	-	2333,02	0,49	-	6397,28
M10	3840,05	11,36	165,93	-	-	2297,09	0,48	-	6314,91
M11	4249,76	16,89	-	-	-	2175,73	-	0,19	6442,57
M12	4796,14	-	127460,1	-	-	1340,51	-	0,07	133596,82
M13	4709,89	18,25	128736,9	-	-	1309,38	-	0,05	134774,47
M15	3482,44	-	-	-	1098,38	2216,08	0,97	-	6797,87
M17	2409,83	18,28	-	-	1160,36	4279,36	0,99	0,79	7869,61
M18	2393,04	-	238,31	-	1150,95	4370,59	0,98	0,81	8154,68
M19	2435,24	20,68	311,46	-	1129,18	2769,91	0,97	0,67	6668,11
M20	3325,45	21,98	-	-	1097,43	2215,91	0,97	-	6661,74
M21	3338,17	-	248,84	-	1090,20	1702,8	0,95	-	6380,96
M22	3196,16	22,1	252,1	-	1091,77	1685,08	0,96	-	6248,17
M24	4796,14	-	127460,2	-	0,01	1340,5	-	0,07	133596,92
M25	4709,88	18,25	128737	-	0	1309,38	-	0,05	134774,56

A tabela 5 apresenta a eficiência e o ganho com a seleção dos modelos ajustados comparando com o modelo selecionado (M15). Os modelos que obtiveram maiores predições para redução da severidade da doença, M12, M13, M24, M25, foram os modelos que obtiveram menores eficiências na seleção. Já os modelos mais eficientes, M20, M21, M22, são aqueles que proporcionam menor redução da severidade da requeima.

Tabela 5 - Eficiência da seleção (ES) e ganho de seleção (GS) predito considerando uma taxa de 20% das linhagens avaliadas.

Modelos	ES (%)	GS (%)	Modelos	ES (%)	GS (%)
M1	78,57	-36,89	M12	64,29	-62,53
M2	71,43	-30,78	M13	64,29	-58,13
M3	71,43	-32,39	M15	100,00	-30,65
M4	78,57	-34,91	M17	64,29	-26,63
M5	71,43	-29,75	M18	64,29	-25,03
M6	71,43	-27,08	M19	71,43	-22,18
M7	71,43	-26,02	M20	92,86	-27,95
M8	71,43	-31,20	M21	100,00	-27,08
M9	78,57	-28,33	M22	92,86	-24,74
M10	78,57	-27,12	M24	64,29	-62,53
M11	78,57	-32,61	M25	64,29	-58,13

A tabela 6 apresenta os valores genéticos preditos via melhor preditor linear não viesado (BLUP) para os modelos tradicional (M1) e melhor ajustado (M15). Esta tabela demonstra a consistência destes modelos para a predição dos valores genotípicos das linhagens de tomateiro resistentes a requeima, uma vez que as testemunhas resistentes NC 25P e NC 1 CELBR apresentam os menores valores genéticos preditos, enquanto que a testemunha suscetível, cultivar Santa Clara, apresentou valores maiores.

Tabela 6 - Valores genéticos preditos via BLUP para os modelos tradicional (M1) e selecionado (M15) para a área abaixo da curva de progresso da doença.

Linhagem	M1	M15	Linhagem	M1	M15
IL 3-3	94,92	122,43	IL 7-5-5	242,61	236,79
IL 6-1	115,26	141,33	IL 8-1	175,88	200,77
IL 1-1	129,64	137,4	IL 8-1-1	213,88	222,76
IL 1-1-2	100,06	123,89	IL 8-1-3	174,13	170,78
IL 1-1-3	138,81	144,15	IL 8-2	181,22	178,11
IL 1-2	219,49	214,45	IL 8-2-1	304,1	265,07
IL 1-3	159,72	163,54	IL 8-3	177,82	167,20
IL 1-4	161,04	143,09	IL 8-3-1	278,04	239,71
IL 1-4-18	190,32	185,67	IL 9-1	229,71	197,71
IL 2-1	150,67	117,67	IL 9-1-2	243,5	195,31
IL 2-1-1	202,48	178,88	IL 9-1-3	255,29	209,60
IL 2-3	190,49	158,41	IL 9-2	252,02	228,29
IL 2-4	193,36	163,02	IL 9-2-5	251,3	229,56
IL 2-5	169,65	148,93	IL 9-3	234,94	241,54
IL 2-6	157,21	145,58	IL 9-3-1	220,04	226,15
IL 2-6-5	141,85	152,33	IL 9-3-2	307,83	256,57
IL 3-1	132,75	139,92	IL 10-1	178,67	194,41
IL 3-2	148,77	106,85	IL 10-1-1	127,32	149,05
IL 3-4	118,07	144,97	IL 10-2	140,72	137,55
IL 3-5	159,50	184,66	IL 10-2-2	160,33	186,15
IL 4-1	236,09	236,00	IL 10-3	176,51	182,22
IL 4-1-1	165,10	190,41	IL 11-2	204,31	201,81
IL 4-2	187,60	194,81	IL 11-3	285,23	245,29
IL 4-3	206,07	203,08	IL 11-4	220,24	206,53
IL 4-3-2	211,82	211,77	IL 11-4-1	299,95	255,31
IL 4-4	189,48	163,34	IL 12-1	274,37	238,55
IL 5-1	226,24	221,01	IL 12-1-1	361,19	310,44
IL 5-2	259,45	228,62	IL 12-2	309,24	262,10
IL 5-3	238,00	210,70	IL 12-3	263,64	240,90
IL 5-4	227,18	186,94	IL 12-3-1	287,22	262,59
IL 5-5	240,23	204,55	IL 12-4	204,6	210,31
IL 6-3	213,55	189,20	IL 12-4-1	143,44	151,45
IL 6-4	179,49	157,2	IL 6-2	251,19	194,23
IL 7-1	130,01	135,97	Santa Clara	174,07	170,74
IL 7-2	211,84	217,71	NC 25P	6,07	33,63
IL 7-4	342,01	299,32	NC 1 CELBR	5,73	33,33
IL 7-4-1	223,39	248,31	M82	163,16	162,23
IL 7-5	198,97	225,08	LA 0716	241,1	232,87

Considerando o ranqueamento dos menores valores genéticos preditos para os maiores, ocorre mudanças no ordenamento das linhagens, visto que os valores genéticos mudam de acordo com o modelo. A tabela 7 apresenta o ranqueamento das linhagens selecionadas usando uma taxa de seleção igual a 20% dos menores valores genéticos preditos para os modelos tradicional (M1) e selecionado (M15). O índice de coincidência é igual a 78,57%.

Tabela 7 - Ranqueamento das linhagens selecionadas pelos valores genéticos preditos de acordo com os modelos tradicional (M1) e melhor ajustado (M15).

Ordem	Linhagens selecionadas		Ordem	Linhagens selecionadas	
	M1	M15		M1	M15
1 ^a	IL 3-3	IL 3-2	8 ^a	IL 3-1	IL 3-1
2 ^a	IL 1-1-2	IL 2-1	9 ^a	IL 1-1-3	IL 6-1
3 ^a	IL 6-1	IL 3-3	10 ^a	IL 10-2	IL 1-4
4 ^a	IL 3-4	IL 1-1-2	11 ^a	IL 2-6-5	IL 1-1-3
5 ^a	IL 10-1-1	IL 7-1	12 ^a	IL 12-4-1	IL 3-4
6 ^a	IL 1-1	IL 1-1	13 ^a	IL 3-2	IL 2-6
7 ^a	IL 7-1	IL 10-2	14 ^a	IL 2-1	IL 2-5

4.4 Discussão

De acordo com Duarte *et al.* (2007), as condições ambientais ideais para o desenvolvimento da requeima em tomateiro, são dadas pela alta umidade relativa do ar superior a 85% e temperaturas amenas entre 12 e 20 °C. Pela figura 2, observa-se que a avaliação da severidade da requeima foi feita em um período altamente favorável ao progresso da doença. Apesar da expressiva variação de temperatura e umidade ao longo dos dias de avaliação, as médias dessas variáveis ficaram dentro dos padrões considerados adequados para o desenvolvimento da requeima, sendo que os períodos noturnos associavam baixas temperaturas e altas umidades.

A temperatura máxima ao longo da avaliação não ultrapassou o limite considerado inviável ao desenvolvimento da requeima, que segundo Lopes e Ávila (2005), é de temperaturas que se mantém superiores a 30 °C. Já em relação aos períodos de menor umidade relativa do ar, normalmente os períodos da tarde, a irrigação por aspersão era feita todos os dias como medida para favorecer a doença, principalmente na dispersão e germinação dos esporos de *P. infestans*.

Valores altos em magnitude, superiores a 0,60, para a autocorrelação indicam forte variação espacial, com padrões desiguais ou em manchas das condições ambientais na área experimental (Resende e Sturion, 2003; Velazco *et al.*, 2017). Essas condições desiguais fazem com que parcelas vizinhas sejam mais autocorrelacionadas entre si do que aquelas parcelas mais distantes, reflexo dos gradientes ao longo do campo experimental.

O alto valor encontrado para a autocorrelação no sentido de linha do modelo 15, reflete as tendências locais causadas por fatores não controlados ao longo do experimento. A declividade da área experimental estava no sentido das linhas, podendo ser o principal fator para a magnitude da autocorrelação encontrada neste trabalho. Outros fatores que podem contribuir para os altos valores da autocorrelação encontrada no experimento são as manchas de solo, que podem variar em termos de fertilidade natural, textura, estrutura, umidade e atividade biológica, além de fatores abióticos como as condições climáticas (Singh, 2003; Resende e Sturion, 2003).

Os maiores valores encontrados para as estimativas de herdabilidade e acurácia para o modelo clássico de avaliação com testemunhas intercalares (M1) em relação ao modelo selecionado (M15), podem refletir a superestimação da variância genética do primeiro modelo. Na presença de autocorrelação espacial, a dificuldade de distinguir claramente as variações genéticas e ambientais pode levar ao inflacionamento da variância genética, causada pela falta de ajuste das manchas irregulares no campo (Velazco *et al.*, 2017).

O resíduo aleatório nugget (η), modelado em M15, engloba efeitos genéticos não aditivos e de microambiente, além de erros de mensuração, que quando não considerado no modelo pode levar a superestimação da variância genética (Resende e Sturion, 2003). Velazco *et al.* (2017) trabalhando com modelos espaciais para análise de ensaios de melhoramento de sorgo, constataram maiores discrepâncias na variância genética entre modelos espaciais e não espacial, sendo que aqueles modelos que não levaram em consideração o efeito de η tiveram maiores valores para a variância genética.

Considerando, portanto, que a variância genética estimada pelo modelo tradicional de análise com testemunhas intercalares esteja inflacionada, é de se esperar maiores valores para herdabilidade e acurácia, uma vez que as expressões de cálculo destas variáveis resultarão em maiores valores quanto maior for a variância genética. Por esse motivo, a eficiência da análise espacial da forma como foi calculada se torna menor para M15 quando comparada com M1.

Na literatura muitos autores como Resende e Sturion (2003), Sarker e Singh (2015), vem relatando que a modelagem espacial das variações da área experimental tem melhorado efetivamente a eficiência da análise de experimentos de campo quando comparada aos modelos tradicionais, obtendo maior precisão na comparação entre genótipos.

Apesar dos modelos M4 e M11 serem os modelos espaciais que obtiveram maior eficiência na análise em relação a M1, estes não englobam o efeito do resíduo aleatório nugget (η). Dada a importância de se modelar este efeito, a variância genética destes modelos também pode estar superestimada, o que favoreceu maior eficiência para ambos os modelos.

O ranqueamento das linhagens apresenta implicações diretas na seleção, uma vez que o modelo mais adequado para a predição dos valores genéticos das linhagens classifica as mesmas de maneira diferente ao modelo tradicional de análise, demonstrando que as variações espaciais podem levar a erros na seleção quando se assume homogeneidade na área experimental. Dado que o desenvolvimento da doença depende diretamente das condições ambientais e que estas não são facilmente controláveis no campo, o modelo de análise tradicional pode levar a seleção de linhagens que não são necessariamente as mais resistentes dentre as avaliadas.

Duarte (2000), ressalta que na presença de autocorrelação espacial, a falta de ajuste dos efeitos de posição, pode levar ao comprometimento da comparação entre os genótipos avaliados, sendo preferível o uso de modelos espaciais para fins de seleção. Singh *et al.* (2003), objetivando examinar diferentes modelos estatísticos para descrever a diversidade dos padrões espaciais nos ensaios de variedades de grão-de-bico, lentilha e cevada, constataram que modelos com ajustes espaciais foram os que predominantemente melhor se ajustaram ao conjunto de dados para o rendimento de grãos. Estes autores ainda verificaram mudanças no ranqueamento dos genótipos considerando o melhor modelo e o modelo tradicional para os delineamentos utilizados em cada ensaio, diferindo, portanto, a seleção dos melhores genótipos de acordo com o melhor modelo. E concluíram que a análise espacial aumentou a eficiência da seleção para posteriores avaliações por apresentar maior eficiência na comparação dos genótipos quando padrões de variabilidade espacial são observados no campo experimental.

4.5 Conclusões

Devido as tendências espaciais locais da área experimental, a predição dos valores genotípicos das linhagens de tomateiro quanto a resistência a *P. infestans* foi melhor realizada mediante a utilização de modelo estatístico com resíduo espacialmente dependente. As

linhagens selecionadas para o melhor modelo, M15, devem prosseguir no programa de melhoramento do tomateiro para obtenção de cultivares resistentes.

4.6 Referências

- Abreu FB, Silva, DJH, Cruz CD, Mizubuti ESG (2008) Inheritance of resistance to *Phytophthora infestans* (Peronosporales, Pythiaceae) in a new source of resistance in tomato (*Solanum* sp. (formerly *Lycopersicon* sp.), Solanales, Solanaceae). *Genetics and Molecular Biology*, 31(2): 493-497.
- Akaike H (1974) A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Control* 19:716–723.
- Alvarenga MAR, Coelho FS (2013) Valor nutricional. *In: Alvarenga MAR (2013) Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras. p. 23-29*
- Alvarenga MAR, Lima LA, Faquin V, Pereira GM (2013) Irrigação e fertirrigação. *In: Alvarenga MAR (2013) Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras. p. 131-180.*
- Boletim meteorológico (2019). Universidade Federal de Viçosa – UFV. Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Climatológica Principal de Viçosa. Viçosa, 2019.
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York, NY: Wiley. 532p.
- Corrêa FM, Bueno Filho JSS, Carmo MGF (2009). Comparison of three diagrammatic keys for the quantification of late blight in tomato leaves. *Plant Pathology* 58: 1028-1033.
- Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro PCS (2012) Ganhos por Seleção. *In: Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro PCS. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético vol 1. Viçosa, Editora UFV. p. 210-235.*
- Cruz CD, Carneiro PCS, Regazzi AJ (2014) Desuniformidade no Campo Experimental - Uso de Testemunhas Intercalares. *In: Cruz CD, Carneiro PCS, Regazzi AJ (Ess). Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético vol 2. Viçosa, Editora UFV. p. 551-562.*
- Cruz, CD (2016) Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum*. 38(4): 547-552.
- Cullis BR, Smith A, Coombes N (2006) On the design of early generation variety trials with correlated data. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 11: 381–393.

- Duarte HSS, Zambolim L, Rodrigues FA (2007) Controle da requeima em tomateiro industrial com fungicidas e silicato de potássio. *Fitopatologia Brasileira* 32: 257–260.
- Duarte JB (2000) Sobre o emprego e a análise estatística do delineamento em blocos aumentados no melhoramento genético vegetal. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 293p.
- Faleiro FG, Cruz CD, Castro C, Moreira MA, Barros EG (2002) Comparação de blocos casualizados e testemunhas intercalares na estimação de parâmetros genéticos em feijoeiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 37: 1675-1680.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019). Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em março 2019.
- Filgueira FAR, Obeid PC, Moraes HJ, Santos WV, Fontes RR (1999) Tomate tutorado. *In*: Ribeiro AC, Guimarães PTG, Alvarez VHV Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª Aproximação. Viçosa, Editora SBCS. p. 187-188.
- Furlani PR, Faquin V, Alvarenga MAR, Seno S (2013) S. Produção em substratos e em hidroponia. *In*: Alvarenga MAR (2013) Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras. p. 245-273.
- Eshed Y, Zamir D (1995) An Introgression Line Population of *Lycopersicon pennellii* in the Cultivated Tomato Enables the Identification and Fine Mapping of Yield-Associated QTL. *Genetics* 141: 1147–1162.
- Gardner RG, Panthee DR (2010a) ‘Plum Regal’ Fresh-market Plum Tomato Hybrid and Its Parents, NC 25P and NC 30P. *Hort Science* 45(5): 824-825.
- Gardner RG, Panthee DR (2010b) NC 1 CELBR and NC 2 CELBR: Early Blight and Late Blight-resistant Fresh Market Tomato Breeding Lines. *Hort Science* 45(6): 975-976.
- Gilmour AR, Gogel, B.J., Cullis, B.R., Welham, S.J., Thompson, R., 2015. ASReml User Guide Release 4.1 Structural Specification. VSN International, Hemel Hempstead, UK.
- Liu YS, Zamir D (1999) Second generation *L. pennellii* introgression lines and the concept of bin mapping. Report of the Tomato Genetics Cooperative. 39: 26-30.
- Lopes CA, Ávila AC (2005) Requeima ou Mela. *In*: Lopes CA, Ávila AC (Eds.). Doenças do Tomateiro. 2a ed. Brasília: Athalaia Gráfica e Editora,. p. 25–27.
- Park TH, Vleeshouwers VGAA, Hutten RCB, van Eck HJ, van der Vossen E, Jacobsen E, Visser RGF.(2005) High-resolution mapping and analysis of the resistance locus Rpi-abpt against *Phytophthora infestans* in potato. *Molecular Breeding* 16: 33–43.
- Resende MDV, Sturion JÁ (2003) Análise Estatística Espacial de Experimentos Via Modelos

- Mistos Individuais Com Erros Modelados Por Processos ARIMA Em Duas Dimensões. *Revista de Matemática e Estatística* 21(1): 7-33.
- Sarker A, Singh M (2015) Improving breeding efficiency through application of appropriate experimental designs and analysis models: A case of lentil (*Lens culinaris* Medikus subsp. *culinaris*) yield trials. *Field Crops Research* 179: 26-34.
- Schwarz G (1978) Estimating the Dimension of a Model. *Ann Stat* 6:461–464. doi: 10.1214/aos/1176344136
- Singh M, Malhotra RS, Ceccarelli S, Sarker A., Grando S, Erskine W (2003) Spatial Variability Models to Improve Dryland Field Trials. *Expl Agric* 39: 151-160.
- Souza, E.A., Geraldi, I.O., Ramalho, M.A., 2000. Alternativas experimentais na avaliação de famílias em programas de melhoramento genético do feijoeiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 35, n. 9, p. 1765-1771.
- Velazco JG, Rodríguez-Álvarez MX, Boer MP, Jordan DR, Eilers PHC, Malossetti M, Eeuwijk FA (2017) Modelling spatial trends in sorghum breeding field trials using a two-dimensional P-spline mixed model. *Theor Appl Genet* 130(7): 1375-1392.
- Verbyla AP, Cullis BR, Kenward MG, Welham SJ (1999) The analysis of designed experiments and longitudinal data using smoothing splines (with discussion). *J R Stat Soc Ser C* 48:269–312
- Wolfinger RD (1993) Covariance structure in general mixed models. *Comm Stat Simul Comput.* 22B: 1079:1106.
- Zanotta S., Salas FJS, Töfoli JG, Mizubuti ESG, Terçariol IML, Ferrari JT, Domingues R, Harakava R (2016) Requeima: Novos Desafios. *Revista Batata Show* 46: 28–32.