

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

“Avaliação da variabilidade genética em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. para fins de conservação e melhoramento genético”

JANETE MOTTA DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes

Coorientador: Prof. Dr. Edson Seizo Mori

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia -
UNESP – Campus de Ilha Solteira, para
obtenção do título de Doutora em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

S586a

Silva, Janete Motta da.

Avaliação da variabilidade genética em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. para fins de conservação e melhoramento genético / Janete Motta da Silva. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2010
153 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2010

Orientador: Mario Luiz Teixeira de Moraes
Coorientador: Edson Seizo Mori

1. Genética quantitativa. 2. Genética molecular. 3. Seleção de plantas - Melhoramento genético. 4. Desbastes florestal. 5. Madeira – Densidade.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

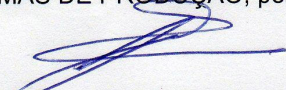
TÍTULO: Avaliação da variabilidade genética em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, para fins de conservação e melhoramento genético

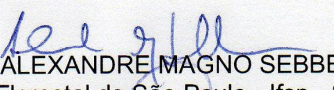
AUTORA: JANETE MOTTA DA SILVA

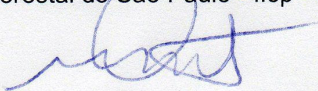
ORIENTADOR: Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

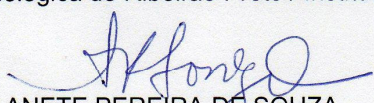
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. EDSON SEIZO MORI

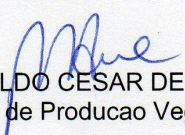
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN
Instituto Florestal de São Paulo - Ifsp - Secret. do Meio Ambiente / Instituto de Botânica


Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS
Estação Ecológica de Ribeirão Preto / Instituto Florestal de São Paulo


Profa. Dra. ANETE PEREIRA DE SOUZA
Departamento de Bio Vegetal / Universidade Estadual de Campinas


Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 21 de maio de 2010.

DEDICATÓRIA

*Aos meus amados pais, Moacir e Fátima,
por fazerem parte de minhas alegrias, e estarem
sempre ao meu lado na superação das dificuldades.*

*“A sabedoria educa os seus filhos e cuida daqueles que a procuram.
Quem tem amor a ela, ama a vida, e os que madrugam para procurá-la,
ficarão cheios de alegria.” Eclesiástico 4,11-12*



Eucalyptus camaldulensis, em Selvíria, MS. Fotos: Janete Motta da Silva.

AGRADECIMENTOS

Sem dúvida, agradeço em primeiro lugar a DEUS, que é a luz em meus caminhos, meu refúgio, minha fortaleza, meu Senhor, que traz maravilhas e bênçãos na minha vida, todos os dias.

Este trabalho para se concretizar recebeu a colaboração de muitas pessoas. Com certeza as experiências vivenciadas com todos durante este trabalho, além de deixarem conhecimento e aperfeiçoamento profissional, trouxeram contribuições pessoais que somente na escola da vida é possível adquirir. A todas vocês, meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, pela orientação desde 2000, pela riqueza de ensinamentos, oportunidades, amizade, respeito e muita paciência. Seu exemplo de competência depositada à pesquisa ensina seus orientados a darem valor à ciência e trabalhar com amor, por mais difícil que seja a pesquisa realizada.

Ao Prof. Dr. Edson Seizo Mori, que gentilmente me coorientou mesmo a distância, trouxe valiosas colaborações no desenvolvimento deste trabalho, além da amizade sincera.

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn agradeço por contribuir com seu grande conhecimento de genética de populações, por todas as vezes que esclareceu minhas dúvidas “moleculares”, com muita dedicação e responsabilidade.

Ao Prof. Dr. Marcos Deon Vilela de Resende (EMBRAPA Florestas) pelas colaborações e esclarecimentos de genética quantitativa, imprescindíveis para conclusão deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Anete Pereira de Souza (CBMEG/UNICAMP), pela valiosa colaboração, fundamental para a caracterização molecular, e especialmente por todo apoio e carinho com que me recebeu em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Antonio Rioyei Higa (UFPR), que contribuiu para o fornecimento das sementes das 25 matrizes da população base pelo Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (CNPQ) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

À banca examinadora: Dr. Alexandre Magno Sebbenn, Dr^a. Anete Pereira de Souza, Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, Dr. Miguel Luiz Menezes Freitas e Dr. Rinaldo César de Paula, por participarem desta etapa tão importante de minha formação, oferecendo especiais contribuições ao trabalho.

Ao Instituto Florestal de São Paulo (IF), em especial ao Dr. Alexandre Magno Sebbenn, Dr. Miguel Luiz Menezes Freitas e Dr^a. Sandra Monteiro Borges Florsheim, pela colaboração oferecida ao projeto.

Ao Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), pela coleta de sementes da população base, em especial ao diretor científico Prof. Dr. Luiz Ernesto George Barrichelo e o MSc. Israel Gomes Vieira e sua equipe.

À Votorantim (FIBRIA), Unidade Três Lagoas, MS, pela formação das mudas, em especial ao MSc Edimar Scarpinati e ao Enilton Fialho dos Reis, pelo apoio e colaboração.

À Fazenda Experimental do Departamento de Ciências Florestais, ESALQ/USP, Itatinga, SP, pela doação de material de 25 espécies de *Eucalyptus* para validação dos *primers*.

À Selma Maria Bozzite de Moraes, pelo carinho e amizade de longa data, pela colaboração constante no trabalho, sempre oferecendo apoio e atenção durante todos os anos de convivência.

À Dr^a Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva, pela orientação e colaboração nas etapas iniciais da caracterização molecular e do curso de doutorado, e pela oportunidade de aprendizado.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da FEIS/UNESP, em especial a Alexandre Marques da Silva, Alonso A. da Silva, César Seleguin, José Cambuim, Juliano Borges de Abreu, Manoel F. R. Bonfim, Odorico S. da Silva, pela colaboração na pesquisa de campo, pelas experiências vividas e pelo carinho e respeito que sempre me tratam.

Aos técnicos agrícolas César Seleguin, Lillian Michely Q. de Souza, João Antônio Q. de Souza, Juliano B. de Abreu, que além da grande colaboração técnica nas atividades de campo (FAPESP – TT2), não deixaram faltar respeito, alegria e descontração em nossa convivência no trabalho.

Aos estagiários do curso técnico NEP, Lilian Cristina C. Santos, Júlio César N. Andrade e Gilberto B. Pereira, pela colaboração nas avaliações da população base no primeiro ano do projeto.

Aos colegas que estão no Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura, ou que passaram por ele, em especial: Alexandre, Ana Paula, Ana Cristina, Carla, Carlos, Cecília Luzia, Cecília, Christian, Cidinei, Daniela, Deise, Ellen, Emerson, Érica Bueno, Erica Santos, Fernando, Flávio, Francimary, Helena, Hélio, Izabel, Juliana, Laila, Lorraine, Marcela, Mariana, Michele, Patrícia, Paula, Ricardo, Rômulo, Simas, Sirlene, Thaisa, Tiago, Vinicius, pelo feliz convívio e contribuições durante o doutorado.

Aos queridos amigos, com presença especial, apoio e companheirismo: Ana Paula Gaino, Cecília Khusala Verardi, Elza Militão, Flávio C. Arantes, Gislane Araújo, Izabel Afonso, Patrícia F. Alves, Ricardo Manoel.

Aos colegas de pós-graduação, Alexandra S. Maeda, Célia J.P. Freitas, Fabiana S. Campos, Francisco G. Gomes Junior, Graciela B. Rodrigues, Helena M. Simidu, Lauro Kenji Komuro, Lillian Souza, Marcelo R.R. Silva, Rafael Montanari, Renato A.M. Franco, pela presença especial durante o doutorado.

Agradeço aos colegas da Unicamp, em especial à Bianca Vigna, Cristina Baldauf, Danilo Sforça, Elisa, Fernanda Cidade, Gustavo, Maisa Ciampi, Marcos José, Prianda Laborba, Tatiana Campos; aos funcionários Carlos, Juverlande, Patrícia, Solange; as queridas “agregadas” Luana Takuatiá e Lili: pela agradável acolhida e convivência! À amiga Adna Cristina Barbosa Sousa, que

com seu carinho e paciência, compartilhou comigo seus conhecimentos de genética molecular, e que tenho muita satisfação de receber seu apoio e amizade!

Agradeço especialmente aos meus amados pais Moacir e Fátima, e aos meus irmãos Bruno e Simone: especiais na educação, nas lições de vida, nas belas expressões de amor e respeito, até mesmo por nunca esquecerem os “puxões de orelha”. Por todo incentivo, dedicação e participação na minha formação pessoal e profissional, dedico todos os aspectos positivos deste trabalho.

Ao querido Ronaldo Luiz Gonzaga, por amparar esta etapa da minha vida com amor, companheirismo, apoio, principalmente compreensão nos momentos difíceis.

Agradeço de coração meus tios Ivani e Leonelson, Armino (*in memoriam*) e Tereza, que sempre participam de minha vida, com muito apoio e carinho.

Às companheiras de república, Ana Carolina, Bruna L. Rosa, Cecília S. Castro, Elza Militão, Luciana Bedore, Mirla Janaina, Simone Oliveira, Tatiane Sano, agradeço pelo carinho, paciência nas horas de estresse, apoio principalmente quando estava longe de vocês, e por tornarem nosso convívio inesquecível.

Aos Engenheiros Florestais Cristiano Bueno de Moraes, Evandro Vagner Tambarussi e Rodrigo de Andrade Furlan, colegas que de forma gentil me apresentaram a técnica dos marcadores moleculares. Agradeço por me ensinarem o quanto devemos ser perseverantes na genética molecular, e no cuidado especial com o DNA das árvores.

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, pela oportunidade de realização do doutorado.

Aos professores da Graduação e Pós-Graduação em Agronomia, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, pelos ensinamentos durante minha formação acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro (Processo nº 2005/59217-2).

BIOGRAFIA DO AUTOR

JANETE MOTTA DA SILVA, filha de Fátima Aparecida Motta da Silva e Moacir Neves da Silva, nasceu dia 28 de fevereiro de 1980, em Pereira Barreto, São Paulo.

Concluiu o primeiro grau em dezembro de 1997, pela Escola Estadual de Primeiro e Segundo Grau “Orestes Ferreira de Toledo”, em Palmeira D’Oeste, São Paulo.

Em março de 1998 ingressou no Curso de Agronomia na Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, UNESP, Ilha Solteira, São Paulo, concluindo-o em 4 de dezembro de 2002. O grau de Engenheiro Agrônomo foi conferido em 24 de janeiro de 2003.

Ingressou em março de 2003 no Curso de Mestrado em Agronomia, Linha de Pesquisa em Genética e Melhoramento de Plantas, na UNESP, Ilha Solteira, São Paulo. Defendeu dissertação em 26 de julho de 2005 e o recebeu em 13 de dezembro de 2005 o título de Mestre em Agronomia, Especialidade em Sistemas de Produção.

Ingressou em março de 2006 no Curso de Doutorado em Agronomia, Linha de Pesquisa em Genética e Melhoramento de Plantas, na UNESP, Ilha Solteira, São Paulo, defendendo a tese em 21 de maio de 2010.

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO BASE DE *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. PARA FINS DE CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO

Discente: JANETE MOTTA DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

RESUMO

O *Eucalyptus camaldulensis*, espécie nativa da Austrália, é plantada com sucesso em vários países em função da sua superioridade na produção de madeira, em relação a outras espécies sob condições ambientais adversas, com destaque para tolerância ao déficit hídrico e à alta temperatura. Em abril de 1986 instalou-se uma população base de *Eucalyptus camaldulensis*, em Selvíria-MS, na Fazenda de Ensino e Pesquisa e Extensão - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP, constituída por 25 matrizes, sendo 13 (Lote 14517) procedentes da região de Nott's Crossing, Katherine River, Austrália, e as 12 restantes pertencentes ao lote 13923 da CSIRO. O objetivo principal deste trabalho foi investigar a variabilidade genética da população base e do teste de progênies, baseado na caracterização molecular (locos microssatélites) e quantitativa (caracteres quantitativos DAP, altura, forma do fuste, volume, brotação, densidade básica da madeira e resistência à penetração), para fins de conservação e melhoramento genético. Os caracteres quantitativos foram avaliados dos 20 aos 23 anos após a instalação da população base, sendo que aos 21 anos desbastou-se 83,33% da população base, baseado no índice multi-efeitos, transformando-se em uma população de melhoramento ou pomar de sementes. Em outubro de 2008 instalou-se um teste de progênies a partir de sementes de 136 árvores oriundas da população de melhoramento, e avaliou-se altura total de plantas aos seis meses após instalação do teste de progênies. A caracterização molecular ocorreu em 250 indivíduos da população de melhoramento e em 500 indivíduos do teste de progênies. A população base e o teste de progênies possuem alta variabilidade genética para os caracteres avaliados, mesmo após o desbaste seletivo. Existe seleção para heterozigotos entre a fase de progênies e a fase adulta, sendo que a espécie apresenta sistema misto de reprodução, produzindo sementes pela combinação de cruzamentos com autofecundações, mas com predomínio de cruzamentos. A população de melhoramento está isolada em termos de fluxo gênico, pois todas as progênies avaliadas tinham um possível parente paterno dentro da área da população. Para obterem-se lotes de sementes com tamanho efetivo de variância de 150, é necessário coletar sementes de pelo menos 128 árvores matrizes, a partir das estimativas obtidas na caracterização molecular, e considera-se que houve sucesso na formação do teste de progênies, pois ocorreu a partir de 136 árvores.

Palavras-chave: análise de paternidade, tamanho efetivo, índice multi-efeitos, locos microssatélites, REML/BLUP, desbaste.

GENETIC VARIABILITY EVALUATION IN A BASE POPULATION OF *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. FOR PURPOSES OF GENETIC CONSERVATION AND BREEDING

Student: JANETE MOTTA DA SILVA

Advisor: Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

ABSTRACT

Eucalyptus camaldulensis is Australian specie that is planted successfully in many countries in function of its superiority in production of wood in relation to other species in adverse environmental conditions, emphasis by tolerance to drought and high temperature. In April 1986 established a base population of *Eucalyptus camaldulensis* in Selvíria-MS in Experimental Research Station, Engineer School of Ilha Solteira, UNESP, with 25 seed-trees, 13 (lot 14517) coming from region of Nott's Crossing, Katherine River, Australia, and 12 belong to the lot 13923 CSIRO. The main objective of this study was to investigate the genetic variability of the base population and the progeny test based on molecular characterization (microsatellite loci) and quantitative (quantitative traits DBH, height, stem shape, volume, sprouting, wood basic density and penetration resistance), for purposes of genetic conservation and breeding. The quantitative traits were evaluated from 20 to 23 years after installation of the base population, and logging up 83,33% of the base population with 21 years, based multi-effect index selection, turning into a breeding population or seed orchard. In October 2008 it was installed a test progeny from seed of 136 trees coming from the breeding population, and evaluated total height at six months after installation of the progeny test. There was a molecular characterization in 250 individuals of the improvement population and in 500 individuals from progeny test. The base population and progeny test are highly variable genetic traits, even after selective thinning. There is selection for the heterozygous between progeny and adult phase, and the species has a mixed mating system, producing seeds by a combination of crosses with self pollination, with a predominance of crosses. The improvement population is isolated in terms of gene flow, because all the progenies had a possible paternal relative in the area of population. To obtain seed lots with variance effective size of 150, it is necessary to collect seeds from 128 main trees, based on estimates of the molecular characterization, and it is considered that there was success in the formation of progeny test, since occurred from 136 trees.

Keywords: analysis of paternity, effective size, multi-effect index selection, microsatellite loci, REML / BLUP, selective thinning.

LISTA DE FIGURAS

Página

1. Distribuição natural do *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. na Austrália continental. Fonte: <http://www.google.com.br> e <http://www.anbg.gov> 21
2. Representação esquemática das etapas metodológicas do programa de conservação e melhoramento genético realizado no *Eucalyptus camaldulensis*, estabelecido em Selvíria, MS. Os quadros em destaque representam as etapas da caracterização molecular 50
3. Frequência de distância na dispersão efetiva de pólen e frequência de distância entre todas as 250 árvores do pomar em relação as 25 árvores matrizes de *Eucalyptus camaldulensis* .. 80
4. Localização geográfica da população base e do teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis*, na FEPE/FEIS/UNESP, em Selvíria, MS (Fonte: <http://www.gogle.com.br>) 89
5. Representação esquemática das etapas metodológicas do programa de conservação e melhoramento genético realizado no *Eucalyptus camaldulensis*, estabelecido em Selvíria, MS. Os quadros em destaque representam as etapas da caracterização quantitativa 90

LISTA DE TABELAS

Página

1. Estimativas de alguns parâmetros genéticos estimados com a metodologia REML/BLUP, coeficiente de variação genética (CV_g); herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2); herdabilidade no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2); acurácia de seleção (\hat{f}_{aa}), para caracteres quantitativos de espécies perenes 27
2. Características de 14 locos microssatélite para *Eucalyptus camaldulensis*, nome dos locos, número de acesso no GenBank, motivo, TD – Touchdown PCR (60-45°C), sequência do *primer forward* (F) e *reverse* (R), número de alelos (k), tamanho do produto em pares de bases, conteúdo de polimorfismo (PIC), capacidade de discriminação (PD) de cada *primer*, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e valor de P para teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).
* Estatisticamente significativo para HWE a ($P: (5\%) \leq 0,0038$) depois da correção de Bonferroni .. 42
3. Transferibilidade de 14 locos microssatélites de *Eucalyptus camaldulensis* para outras 25 espécies de *Eucalyptus*. (+) indica ocorrência de amplificação e (-) ausência de amplificação 43
4. Representantes das 25 matrizes da população base de *Eucalyptus camaldulensis* que compõe a população de melhoramento (pomar de sementes) e que formaram descendentes para o teste de progênies, estabelecidos em Selvíria, MS 51
5. Testes para hipótese de segregação regular (G) de 11 locos microssatélites em *Eucalyptus camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; $G1$ é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ij} = n_{ii} + n_{jj}$; $G2$ é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ik} = n_{jk}$; $n_{T1} = n_{ij} + n_{ii} + n_{jj}$; $n_{T2} = n_{ik} + n_{jk}$ 60
6. Desequilíbrio de ligação entre os locos em diferentes fases ontogênicas de *Eucalyptus camaldulensis*. Os valores na tabela são as probabilidades após 1,000 permutações. O valor limite de significância após correção de Bonferroni é 0,0003 65
7. Resultados da diversidade genética, índice de fixação para a amostra total do pomar e do teste de progênies de *E. camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; k é o número total de alelos em cada loco e para todos os locos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação 66
8. Resultados da diversidade genética, índice de fixação e poder de exclusão do segundo parente em uma população base e em 25 progênies de polinização aberta (originadas de matrizes selecionadas da população base) de *E. camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; k é o número total de alelos em cada loco e para todos os locos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação; $P_{2^\circ \text{ parente}}$ é o probabilidades de excluir o segundo parente (quando um dos parentes é conhecido) 68
9. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 250 matrizes selecionadas do pomar de sementes e 25 progênies de um teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis*, instalados em Selvíria, MS 72
10. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 25 matrizes de uma população base de *Eucalyptus camaldulensis*, instalada em Selvíria-MS. t_m é a taxa de cruzamento multilocos; $t_m - t_s$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocus de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênies; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da matriz; média \pm erro padrão da média 95% de probabilidade 73
11. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 25 matrizes de uma população base de *Eucalyptus camaldulensis*, instalada em Selvíria-MS. t_m é a taxa de cruzamento multilocos; $t_m - t_s$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocus de paternidade; $r_{p(s)} - r_{p(m)}$ mede a ocorrência de parentesco entre as polinizadoras efetivas; N_{ep} é o número efetivo de polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênies; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da matriz; média \pm erro padrão da média 95% de probabilidade 74

12. Estimativa do fluxo de pólen e da estrutura genética dentro de progênies de uma população de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> . F_m é o coeficiente de endogamia das árvores maternas; s é a taxa de autofecundação; N_{ep} é o número efetivo de árvores polinizadoras, calculados apenas contando o número detectado de doadores de pólen e pelo método de Nielsen et al. (2003); r_p é correlação de paternidade; Θ é a coancestria dentro de progênies; N_e é o tamanho efetivo da progênie; δ é a distância de dispersão de pólen (média \pm desvio padrão da média); A_{ep} é a área de vizinhança de polinização	78
13. Estimativa da distância, da coancestria e do coeficiente de endogamia entre árvores parentes que se cruzaram e estimativa da endogamia em progênies de autofecundação. (F_{m-ts} é o índice de fixação por cruzamento entre parentes; F_s é o índice de fixação por autofecundação)	79
14. Estrutura genética do conjunto das 25 progênies de polinização aberta de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	80
15. Tamanho de amostra e caracteres quantitativos estudados (X) em cada situação	92
16. Escala de notas e descrição da classe de forma do fuste das árvores (Adaptado de Kageyama, 1980).	92
17. Estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e F, para os caracteres quantitativos avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , dos 20 aos 23 anos após instalação (anos 2006 a 2009, respectivamente), em Selvíria, MS	106
18. Estimativa de alguns parâmetros genéticos para os caracteres quantitativos: coeficiente de variação genética individual e de progênies (CV_{gi} e CV_{gp}), coeficiente de variação relativa (CV_r), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela, com ajuste pelo parentesco dentro das progênies ($\hat{h}_{r_{xy}}^2$), herdabilidade, no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2), acurácia de seleção (\hat{f}_{aa}), avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , dos 20 aos 23 anos após instalação (anos 2006 a 2009), em Selvíria, MS	109
19. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 20 anos após instalação (ano 2006), em Selvíria, MS	111
20. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 21 anos após instalação, na Situação A (ano 2007), em Selvíria, MS	112
21. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 21 anos após instalação, na Situação B (ano 2007), em Selvíria, MS	112
22. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS	113
23. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 22 anos após instalação, na Situação D (ano 2008), em Selvíria, MS	113
24. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , aos 23 anos após instalação, na Situação E (ano 2009), em Selvíria, MS	113
25. Estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e teste F, para os caracteres quantitativos das brotações, avaliados na população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , um ano após o desbaste (ano 2008) em Selvíria, MS	115

26. Estimativa de alguns parâmetros genéticos para os caracteres quantitativos das brotações: coeficiente de variação genética individual e genética de progênie (CV_{gi} e CV_{gp}), coeficiente de variação relativa (CV_r), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2), herdabilidade no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2), acurácia de seleção (\hat{r}_{aa}), avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, um ano após o desbaste (ano 2008) em Selvíria, MS 116
27. Estimativas do coeficiente de trilha: desdobramento das correlações fenotípicas em caracteres de efeitos diretos e indiretos sobre o volume de madeira, avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS 117
28. Seleção pelo Índice Multi-efeitos (IME), para o caráter DAP (cm), avaliado aos 20 anos após instalação da população base de *Eucalyptus camaldulensis* (2006), em Selvíria, MS, em condições de: 250 indivíduos da população de melhoramento (PM); 136 matrizes da população de melhoramento que originaram os indivíduos do teste de progênie (TP); 136 melhores indivíduos da população base 121
29. Estimativas dos parâmetros estatístico-genéticos para altura total de progênie de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., com seis meses de idade. Selvíria, MS, 2009 124

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. OBJETIVOS	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. O <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	20
2.2. Populações base e teste de progênies em espécies florestais	22
2.3. Emprego de marcadores moleculares no estudo de espécies florestais	29
3. CAPÍTULO I: Desenvolvimento e caracterização de 14 locos microssatélites a partir de biblioteca genômica enriquecida de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	36
RESUMO	37
ABSTRACT	37
3.1. INTRODUÇÃO	38
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.4. CONCLUSÕES	43
4. CAPÍTULO II: Diversidade genética e sistema de reprodução em duas gerações de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	44
RESUMO	45
ABSTRACT	46
4.1. INTRODUÇÃO	47
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	50
4.2.1 Amostragem	50
4.2.2. Análise de segregação dos locos SSR	52
4.2.3. Análise de desequilíbrio de ligação	53
4.2.4. Análise da diversidade genética e do índice de fixação	53
4.2.5. Sistema de reprodução	54
4.2.6. Análise de paternidade	55
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.3.1. Herança dos locos SSR	59
4.3.2. Desequilíbrio de ligação	64
4.3.3. Diversidade genética da amostra total	66
4.3.4. Diversidade genética e índice de fixação	67
4.3.5. Sistema de reprodução	69
4.3.6. Análise do fluxo gênico contemporâneo	74
4.4. CONCLUSÕES	81
5. CAPÍTULO III: Variabilidade genética e ganhos na seleção em duas gerações de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh. para fins de conservação e melhoramento genético	82

RESUMO	83
ABSTRACT	84
5.1. INTRODUÇÃO	85
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	88
5.2.1. Material	88
5.2.2. Métodos : População base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	88
5.2.2.1. Instalação do ensaio	88
5.2.2.2. Coleta de dados quantitativos	90
5.2.2.3. Estimativa de parâmetros genéticos e estatísticos	95
5.2.2.4. Ganho na seleção pelo método do Índice Multi-efeitos	98
5.2.2.5. Análise do coeficiente de trilha	99
5.2.3. Métodos: Teste de Progênies de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	100
5.2.3.1. Instalação do ensaio	100
5.2.3.2. Coleta de dados quantitativos	101
5.2.3.3. Estimativa de parâmetros genéticos e estatísticos	101
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	103
5.3.1. Desenvolvimento da população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	103
5.3.2. Variação genética	107
5.3.3. Estimativas das correlações genéticas e fenotípicas entre os caracteres silviculturais	110
5.3.4. Desenvolvimento das brotações da população base de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	114
5.3.5. Análise multivariada: Estudo do coeficiente de caminhamento - trilha (<i>path coefficient analysis</i>)	116
5.3.6. Ganho na seleção, tamanho efetivo e diversidade genética	118
5.3.7. Desenvolvimento do teste de progênies de <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	122
5.4. CONCLUSÕES	125
REFERÊNCIAS	126
APÊNDICE	142

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* foi descrito pelo botânico francês Charles Louis L'Héritier de Brutelle, em 1788 (ELDRIDGE et al., 1993). Natural da Austrália, foi introduzido, provavelmente, no Brasil no início do século XIX, inicialmente para fins ornamentais (MOURA et al., 1980; MARTINI, 2004), depois assumindo finalidades produtivas, demandando critérios experimentais (MARTINI, 2004).

A importância econômica que assume a cultura do gênero *Eucalyptus* no Brasil e no mundo decorre em função de seu rápido crescimento e produção de madeira, da própria multiplicidade de seus usos e empregos de suas diferentes espécies, aliado ainda à expressiva área de florestas implantadas existentes. Segundo o Anuário Estatístico da Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF, 2010), a área coberta por florestas plantadas no Brasil corresponde aproximadamente a 6,5 milhões de hectares, sendo 4,2 milhões de hectares de *Eucalyptus*, 1,9 milhões de hectares de *Pinus* e 456 mil hectares com outras espécies (acácia, seringueira, paricá, teca, araucária, populus, outras). A maior parte dessas áreas está nos estados de Minas Gerais, Bahia e São Paulo. Dentre as espécies de *Eucalyptus*, pode-se destacar: *E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. saligna*, *E. urophylla*, *Corymbia citriodora*, bem como diversos híbridos (GARCIA; PIMENTEL-GOMES, 1992).

As florestas plantadas com o gênero *Eucalyptus* merecem destaque no setor florestal brasileiro, visto que a silvicultura alcançou alto nível de desenvolvimento tecnológico, e nesse avanço destaca-se o melhoramento genético, que propiciou ganhos de grande magnitude, principalmente na produtividade volumétrica (CAIXETA et al., 2003). Apesar deste destaque, o *Eucalyptus* encontra-se ainda em estágios iniciais de melhoramento, de tal forma que as principais modificações genéticas que se seguem ao período de domesticação ainda não foram realizadas (GRATTAPAGLIA, 2004), cujo principal motivo está relacionado aos programas de melhoramento genético de eucalipto serem recentes, estando agora na segunda geração de melhoramento, somado ao fato de que poucas populações segregantes para características de interesse florestal eram disponíveis no início do estabelecimento dos programas (MARINO, 2008).

As populações de *Eucalyptus* introduzidas no Brasil são alvo de alguns questionamentos quanto à sua origem e ao conhecimento de sua divergência genética, pois estes materiais foram introduzidos a partir de populações naturais da Austrália, podendo ou não ter ocorrido um processo de redução dessa diversidade em razão de cruzamento entre

indivíduos aparentados ou do pequeno número efetivo de indivíduos utilizados nos locais de coleta de sementes (CAIXETA et al., 2003).

Os estudos genéticos de populações base são fundamentais para responder a tais questionamentos. As ferramentas disponíveis ao melhorista florestal para traçar as estratégias de melhoramento florestal são a genética molecular e a genética quantitativa. Para esquematizar ou associar as estratégias e ferramentas necessárias ao programa de melhoramento, considera-se basicamente a infra-estrutura, os recursos financeiros disponíveis, assim como a dimensão e os objetivos do programa, os aspectos biológicos da espécie, dentre outros. O ideal é a associação dos recursos oferecidos pela genética molecular e genética quantitativa.

Espécies do gênero *Eucalyptus* são melhoradas por várias empresas florestais privadas, que via de regra estão associadas a indústrias de papel e celulose, de móveis, siderúrgicas, dentre outras. Também várias universidades e instituições públicas e privadas colaboram de algum modo para o melhoramento do *Eucalyptus* (RESENDE, 1999). Estas empregam, em grande parte, a genética quantitativa para realizar seus programas de melhoramento florestal.

Segundo Marino (2008), as primeiras aplicações de marcadores moleculares em espécies florestais foram na avaliação da base genética de populações base de melhoramento, identificação de contaminantes em viveiros de mudas clonais, identificação de irmãos completos, avaliação da eficiência de métodos de polinização controlada, caracterização de clones para a construção de mosaico policlonal e na construção dos primeiros mapas moleculares.

As pesquisas com o *Eucalyptus* não devem ter somente objetivos voltados para o melhoramento genético, mas também, para avaliar e garantir a conservação genética de recursos florestais do gênero. Segundo Eldridge et al. (1993), o Brasil possui uma das maiores coleções de germoplasma e um dos mais avançados programas de melhoramento genético de *Eucalyptus* do mundo, o que aumenta a responsabilidade dos melhoristas florestais em conservar tais coleções genéticas, de forma a garantir o sucesso dos programas de melhoramento e conservação genética em longo prazo.

O emprego de análises estatísticas de caracteres quantitativos e moleculares da população base de *E. camaldulensis* de procedência australiana, instalada em Selvíria-MS, além de indicar qual o método de seleção mais adequado para se explorar a variabilidade genética existente, permitiu o conhecimento de sua estrutura genética.

1.1. Objetivos

Os objetivos deste estudo foram investigar a variabilidade genética, o sistema de reprodução, o parentesco, o tamanho efetivo, a taxa de imigração e a distância de dispersão de pólen em uma população base e em um teste de progênes originado da população de melhoramento de *Eucalyptus camaldulensis*, visando conservação e melhoramento genético da espécie.

Objetivos específicos:

1. Realizar a caracterização molecular (locos microssatélites - SSR) e quantitativa da população base (nas diferentes etapas do programa de melhoramento) e do teste de progênes;

2. Estimar parâmetros do sistema de reprodução, como taxas de autofecundação, taxas de cruzamento, cruzamento entre parentes, tamanho efetivo de vizinhança reprodutiva e cruzamentos correlacionados no pomar e no teste de progênes;

3. Estimar e comparar os níveis de diversidade genética entre árvores do pomar e suas progênes;

4. Quantificar o tamanho efetivo populacional das árvores adultas e das progênes e determinar o número de árvores matrizes para a coleta de sementes para fins de conservação e melhoramento genético da espécie;

5. Verificar os níveis de endogamia no pomar e no teste de progênes;

6. Determinar a taxa de imigração e a distância e os padrões de dispersão de pólen e dentro do pomar de sementes, usando análise de paternidade;

7. Estimar possíveis ganhos na seleção a partir da utilização do Índice Multi-efeitos, analisando o efeito do desbaste em *Eucalyptus camaldulensis*;

8. Investigar o desenvolvimento das brotações e do teste de progênes de *E. camaldulensis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

O gênero *Eucalyptus* L'Héritier é originalmente australiano, onde se concentra o maior número de espécies, aparecendo também em Timor e algumas ilhas adjacentes como Flores, Alor, Solor e Wetar. Pertence à família Myrtaceae, apresentando cerca de 600 espécies, muitas variedades e híbridos (PIGATO; LOPES, 2001b, NIETO; RODRIGUEZ, 2003). O genoma de *Eucalyptus* tem entre 500 e 650 Mbp, distribuídos em 22 cromossomos pequenos na maior parte das espécies (GRATTAPAGLIA; BRADASHAW, 1994).

A introdução do eucalipto para fins produtivos no Brasil aconteceu em 1904 pelo Engenheiro Agrônomo Edmundo Navarro de Andrade, que trouxe uma coleção de espécies e variedades do gênero e iniciou os reflorestamentos experimentais com intenção de produção de lenha e dormentes para a Companhia Paulista de Estradas de Ferro, onde era funcionário. Este material representa o mais completo banco de germoplasma do gênero no Brasil e se encontra na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade (FEENA), na cidade de Rio Claro, São Paulo (MARTINI, 2004).

A espécie do gênero mais distribuída naturalmente na Austrália continental e também uma das mais variáveis é o *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., subgênero *Symphyomyrtus*, sendo encontrada em todos os estados, com exceção da Tasmânia. Sua ocorrência natural vai desde formações vegetais tropicais secas até floresta úmida; varia de regiões com 250 a 625 mm de precipitação, suporta estação seca de 4 a 8 meses, em temperaturas de 20 a 28 °C e altitudes que vão desde o nível do mar até 1.000 m. Na Colômbia a espécie foi plantada em locais com precipitações variando entre 600 e 2900mm (LIMA, 1984, FERREIRA et al., 1987, NIETO; RODRIGUEZ, 2003).

O *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. foi um dos primeiros *Eucalyptus* a ser plantado com sucesso fora da Austrália. De janeiro de 1985 a 1987 o CSIRO (*Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization*) da *Australian Tree Seed Centre* de Canberra enviou 71 kg de *E. camaldulensis* para 348 pesquisadores em 79 países. Cerca de 30% dos 1700 pacotes de sementes foi para a Índia, Nepal e Zimbábue (ELDRIDGE et al., 1993).

O sucesso dos plantios de *E. camaldulensis* como espécie exótica é atribuído a sua superioridade em produção de madeira em relação a outras espécies em condições

ambientais adversas. Os motivos são vários, que levam a benefícios em curto prazo: a espécie se desenvolve em locais secos e estéreis, apresenta tolerância à seca e alta temperatura, rápido crescimento e boa capacidade de rebrota, a tolerância a inundações periódicas ou encharcamento de 4 a 5 meses, tolerância a salinidade do solo, alguma tolerância de geada, e da utilidade da madeira (ELDRIDGE et al., 1993, MORAES et al., 1997). Também cresce em solos compactados por pastejo excessivo, ou com baixa umidade anual. Porém nestes locais o crescimento não é ótimo (NIETO; RODRIGUEZ, 2003).

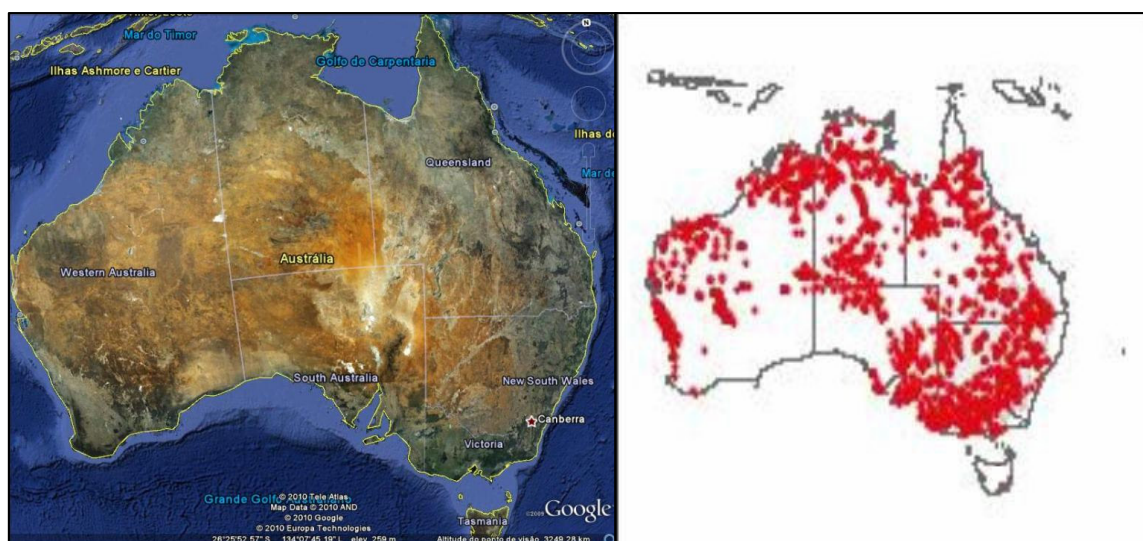


Figura 1. Distribuição natural do *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. na Austrália continental. Fonte: <http://www.google.com.br> e <http://www.anbg.gov>.

A ocorrência do *E. camaldulensis* em condições ambientais adversas e o consequente sucesso de plantios como espécie exótica é explicado pela ampla distribuição natural da espécie, que possibilita grande plasticidade de adaptação a diferentes condições ambientais, além de ressaltar a existência de grande variabilidade genética na espécie.

É uma árvore de crescimento rápido, possui forma reta, atinge de 25 a 30 m de altura e 1 m de diâmetro, possuindo também uma copa muito densa. O sistema radicular é bastante poderoso pela presença de lignotubérculos, o que explica sua resistência ao frio e à seca, chegando a suportar uma temperatura mínima de $-6,7^{\circ}\text{C}$ e máxima de $52,8^{\circ}\text{C}$. Apresenta grande resistência ao vento e do ponto de vista ornamental é excelente, sobretudo a variedade *pendula* (PRYOR, 1976, NIETO; RODRIGUEZ, 2003).

As sementes são diminutas e possuem alta porcentagem de germinação (maior que 90%), podem ser armazenadas por até nove anos desde que mantidas em recipientes

herméticos em temperatura de 3 a 5 ° C e umidade de 5,5 a 10%. É possível produzir 60.000 a 100.000 plântulas a partir de 1 kg de sementes. O crescimento das plântulas é rápido, num período de 16 a 18 semanas estão com 40 a 50 cm, porém os ponteiros devem ser podados para induzir mais lignificação (ELDRIDGE et al., 1993, NIETO; RODRIGUEZ, 2003, INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS - IPEF, 2010).

A madeira de *E. camaldulensis* é dura, com densidade básica de 0,68 g/cm³ (STURION et al., 1987), possibilita ampla utilização em construções pesadas e de interiores, rolos de madeira, papel e celulose, marcenaria, carpintaria, postes, lenha, carvão e dormentes. A espécie também é plantada com a finalidade de quebra-ventos, sombreamento, assim como para a produção de mel muito apreciado (ELDRIDGE et al., 1993, LIMA, 1984, RESENDE, 1999, NIETO; RODRIGUEZ, 2003).

No Brasil, cresce o interesse pela utilização do *E. camaldulensis* para fins de melhoramento genético, que objetivam introduzir características interessantes da espécie em seus híbridos e, posteriormente, garanti-las em seus clones. Este fato leva a uma demanda proporcional de estudos de caracterização e conservação genética da espécie.

2.2. Populações base e teste de progênies em espécies florestais

Segundo Oda et al. (1989), o objetivo fundamental do melhoramento florestal é garantir o aumento da produtividade e da qualidade de matéria-prima a cada ciclo de seleção, de modo a manter a base genética da população, para possíveis programas de melhoramento a médio e longo prazo. Paralelamente, outros objetivos são almejados, como melhoria de adaptação das espécies, qualidades físicas e mecânicas apropriadas, a tolerância a pragas e doenças, assim como a manutenção da variabilidade genética (MORI, 1988, MORI, 1993, PIGATO; LOPES, 2001b).

Muitas características de interesse no melhoramento florestal, como adaptação, crescimento, forma e qualidade da madeira, são avaliadas a partir de caracteres quantitativos, pois são herdadas pela ação de muitos genes de efeito aditivo, de forma que cada um contribui para a herança dos caracteres, sendo de ação complexa. Nos programas de melhoramento, as árvores desejáveis são escolhidas fenotipicamente para o caráter enfocado, porém, esta aparência interessante pode ser consequência de um bom genótipo,

de um bom ambiente, ou ser resultado da interação de ambos, do genótipo x ambiente (PATIÑO-VALERA, 1986, MORI et al., 1986, MORI et al., 1988).

Para o estabelecimento de um programa de melhoramento, atenção especial deve ser dada em relação ao material genético (espécies e populações) que será utilizado. Para isso, é importante que se faça uma amostragem correta dos genótipos visando coletar o máximo possível da variabilidade alélica da população (VENCOVSKY, 1969, OLIVEIRA, 1994), além de obter material com baixa carga genética, bom desempenho e boa adaptação (CRUZ, 2005).

A definição dos conceitos de população base, população de melhoramento e população de produção é imprescindível para elaboração de estratégias de melhoramento, pois esses três tipos de populações genéticas compõem de forma distinta a estrutura geral dos programas de melhoramento florestal (ZOBEL; TALBERT, 1984, RESENDE, 1999, RESENDE, 2001, CRUZ, 2005):

a) Fase inicial - formação da população base (ou população experimental): constitui-se por uma etapa primordial, seu estabelecimento tem origem a partir de matrizes escolhidas para posterior seleção da próxima geração de melhoramento. Essas populações são obtidas de populações naturais ou plantações não melhoradas, manejadas de tal forma que possuam tamanho efetivo suficientemente adequado, como uma reserva estratégica de toda variação genética possível para que seja mantido um padrão mínimo de variabilidade genética, como suporte adequado a programas de melhoramento. Nesta população, a seleção deve ser realizada em diferentes intensidades, visando à constituição das populações de produção e de melhoramento.

b) Fase intermediária - formação da população de melhoramento: em que há preocupação na condução das famílias segregantes que permitam maximizar os ganhos diretos, indiretos ou simultâneos em características de importância. São obtidas a partir de testes genéticos mais informativos, como por exemplo, teste de progênies de matrizes selecionadas. Visam ao melhoramento genético em longo prazo, ao aumento contínuo e progressivo da frequência dos alelos favoráveis, a partir da realização de vários ciclos reprodutivos.

c) Fase final - população de produção: em que se dispõe de material genético melhorado e procura-se recomendá-los para regiões amplas ou específicas, o que torna fundamentais os estudos de interação genótipo x ambiente e de estabilidade e adaptabilidade. As populações de produção podem ser constituídas por pomares de sementes, jardins clonais ou pomares biclonais, conforme interesse do melhorista.

A partir da definição do material genético a ser estudado é necessário dimensionar o tamanho da população base inicial a ser trabalhada. Segundo Resende (1999), a população base deve conter variabilidade genética suficiente para o melhoramento genético em curto e longo prazo. É a ferramenta chave para traçar as estratégias, tanto para fins de conservação quanto de melhoramento genético.

Existem várias considerações para a definição do tamanho adequado da população base. Resende (1999) explica que o ideal é começar com número elevado de famílias, a fim de permitir altas intensidades de seleção já nas primeiras gerações e, simultaneamente, manter o tamanho efetivo compatível com o melhoramento em longo prazo. Assim, para melhoramento, um número acima de 20 famílias seria adequado para representar uma população. Entretanto, o início de um programa de melhoramento com um número de famílias desta magnitude (20 a 50) compromete, em muito, sua eficiência. Mori (1993) enfatiza ainda a importância do acompanhamento desta base genética, pois podem ocorrer perdas excessivas de variabilidade, o que compromete os objetivos do programa de melhoramento.

Na literatura é possível encontrar trabalhos que têm em comum o objetivo de orientar quanto aos critérios necessários para estabelecimento de populações genéticas, pois são nelas que será possível encontrar a variabilidade necessária para os programas de melhoramento genético. Alguns deles são listados a seguir.

Eldridge et al. (1993) especificam aspectos importantes sobre a formação de populações base de *Eucalyptus* e da importância da pesquisa em avaliar e descrever a variabilidade existente e capaz de ser utilizada imediatamente para o ganho genético rápido, a um custo relativamente baixo. Salientam que, uma vez que a variabilidade natural da maioria dos eucaliptos é enorme, a pesquisa de procedência é o primeiro passo no estabelecimento do eucalipto como cultura exótica em diversos países.

Ferreira e Araújo (1981) descrevem os procedimentos e recomendações de formação das populações para as necessidades dos programas de melhoramento, como a estratégia a ser adotada para escolha de árvores e localidades para coleta de sementes, os procedimentos de amostragem e delineamento experimental, coleta de dados e análise, de modo didático e informativo.

Vencovsky (1987) publicou a aplicação da expressão do tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de espécies alógamas, como forma de orientação para que estas atividades compensem a velocidade das perdas de genes em condições naturais.

Sebbenn (2002, 2003a, 2003b) descreve em seus trabalhos, abordagens como as estratégias da determinação do número de plantas por progênie, o número de progênies necessárias para conservação *in situ* e *ex situ* de população de espécies arbóreas, enfocando detalhes importantes sobre conceitos genéticos e informações sobre o sistema de reprodução, como no caso de espécies com sistema misto de reprodução (SEBBENN, 2003b).

Resende (1999) explica que a adequada estruturação da população permite a conservação de recursos genéticos (associados à população inicial) dentro do próprio programa de melhoramento, visando dar mais flexibilidade ao melhoramento em gerações avançadas, possibilitando maximizar os ganhos genéticos e a acurácia seletiva (RESENDE, 1999).

Em seguida ao dimensionamento da população base de genótipos, a estratégia de amostragem consiste em dela obter indivíduos com certo grau de parentesco, e da covariância entre estes indivíduos aparentados são estimadas variâncias genéticas da população base, ou seja, a estimativa dos parâmetros genéticos de interesse (VENCOVSKY, 1969).

A amostragem de parentes de mesma geração, especificamente progênies de meios-irmãos e/ou irmãos completos, é um esquema que tem se mostrado eficiente para as estimativas de parâmetros genéticos (VENCOVSKY, 1969). Os testes ou ensaios de progênies representam uma das mais úteis ferramentas para o melhorista florestal (KAGEYAMA, 1980). São formados a partir de sementes oriundas tanto de árvores de polinização livre como de cruzamentos controlados.

Os testes de progênies possibilitam a manutenção de amostras representativas de populações, que após a caracterização genética, podem estar disponíveis ao melhoramento genético. Representam uma alternativa para conservação genética de populações, possibilitam estimar a estrutura genética de populações, assim como selecionar indivíduos superiores como fonte de produção de sementes, a partir da transformação em pomares de sementes por mudas ou clonal e da determinação do valor genotípico selecionado (KAGEYAMA, 1980, SHIMIZU et al., 1982).

Em programas de melhoramento florestal, os testes de progênies são amplamente empregados. Nos experimentos genéticos florestais, os testes de progênies de polinização livre são os mais utilizados para estimar parâmetros genéticos. Suas vantagens em comparação aos testes de progênies de polinização controlada são os custos menores,

além de atenderem aos objetivos de determinação da capacidade geral de combinação (SHIMIZU et al., 1982, SAMPAIO et al., 2000).

Como descrito anteriormente, as características de interesse no melhoramento florestal são avaliadas por meio de caracteres quantitativos. Nos estudos dos caracteres quantitativos, os métodos estatístico-genéticos levam em consideração a existência de variação contínua (às vezes descontínuas), o efeito pouco pronunciado de cada gene e o efeito muitas vezes grande do ambiente (VENCOVSKY, 1969, CRUZ, 2005). Um dos aspectos mais importantes da genética quantitativa é a descrição e explicação da variabilidade genotípica de um caráter de interesse, em termos de parâmetros genéticos e baseado nas leis mendelianas, decompondo a variância genética com base no conhecimento dos processos genéticos envolvidos na herança dos caracteres (VENCOVSKY et al., 2001, CRUZ, 2005).

Dentre os parâmetros genéticos quantitativos que mais interessam ao melhorista e que são objeto de estudos em testes de progênies, se destacam as variâncias e os coeficientes de variação genética; a herdabilidade no sentido amplo e restrito; a repetibilidade; a estabilidade, adaptabilidade e produtividade; o ganho genético; as correlações genética e fenotípica; a acurácia seletiva; o valor genético dos indivíduos, entre outros (RESENDE, 2002, CRUZ, 2005).

Os procedimentos de predição de valores genéticos exigem a prévia estimação de componentes de variância e de parâmetros genéticos, que pode ser realizada pelo método de quadrados mínimos ordinários (OLS), se os dados são balanceados, e pelo método de máxima verossimilhança restrita (REML), se os dados são desbalanceados. A predição de valores genéticos propriamente dita pode ser realizada a partir de procedimentos “melhor predição” (BP), “melhor predição linear” (BLP) e “melhor predição linear não viciada” (BLUP) (RESENDE, 1999). Anteriormente, as covariâncias entre parentes eram estimadas e interpretadas em termos de suas esperanças matemáticas (igualando-as aos seus valores esperados), gerando os componentes de variância. Atualmente, os componentes de variância podem ser estimados diretamente como as variâncias dos efeitos aleatórios do modelo linear misto (RESENDE et al., 1996, RESENDE, 1999, RESENDE; FERNANDES, 1999).

A metodologia REML/BLUP é empregada com sucesso como ferramenta para estimar os parâmetros genéticos e estatísticos de interesse no melhoramento florestal de várias espécies, possibilitando estimativas de alta precisão, como nos trabalhos de Resende; Fernandes (1999); Sturion et al. (1999); Costa et al. (2000b; 2000c); Kalil Filho et al.

(2000); Resende; Dias (2000); Resende et al. (2000); Farias Neto; Resende (2001); Sturion; Resende (2001a; 2001b); Abad (2003); Pinto Júnior et al. (2006); Resende; Barbosa (2006); Moraes et al. (2007a); Resende; Duarte (2007); Farias Neto et al. (2008); Scarpinati et al. (2009).

A metodologia REML/BLUP e suas aplicações são descritas em Resende (2001), Resende (2007a; 2007b). Na tabela 1 estão algumas estimativas de parâmetros genéticos baseados na metodologia REML/BLUP, para várias espécies perenes, obtidas em literatura.

Tabela 1. Estimativas de alguns parâmetros genéticos estimados com a metodologia REML/BLUP, coeficiente de variação genética (CV_g); herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2); herdabilidade no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2); acurácia de seleção (\hat{r}_{aa}), para caracteres quantitativos de espécies perenes.

Espécie	Caráter	CV_g (%)	\hat{h}^2	\hat{h}_m^2	\hat{r}_{aa}	Referência
<i>Acacia mearnsii</i>						
(Fazenda D. Ana, RS)	Altura (m)	5,96	0,27	0,67	-	Resende et al. (1992)
	DAP (cm)	9,37	0,31	0,74	-	
	Sobrevivência (%S)	6,98	-	0,55	-	
(Fazenda Guararapes, RS)	Altura (m)	6,63	0,34	0,71	-	
	DAP (cm)	10,30	0,37	0,70	-	
	Sobrevivência (%S)	5,76	-	0,47	-	
<i>Archontophoenix</i>						
	Altura (m)	-	0,98	0,99	1,00	Bovi et al. (2003)
	Diâmetro (cm)	-	0,49	0,94	0,81	
	Altura (m)	19,12	0,26	0,75	0,69	Bovi et al. (2004)
	Diâmetro (cm)	13,50	0,26	0,79	0,70	
<i>Coffea arabica</i>						
	Altura (cm)	5,37	0,03	0,26	0,51	Resende et al. (2001)
	Diâmetro 20 cm (mm)	9,72	0,06	0,58	0,76	
<i>Dipteryx alata</i>						
	Altura (m)	-	0,26	-	0,77	Rocha et al. (2009a)
<i>Eucalyptus spp.</i>						
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,46	-	-	Garcia; Nogueira (2005)
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>						
	Altura (m)	3,36	-	0,73	0,85	Moraes et al. (2007a)
	DAP (cm)	5,39	-	0,72	0,85	
	Forma	8,80	-	0,80	0,89	
<i>Eucalyptus cladocalyx</i>						
(Caracas, Chile)	Altura (m)	-	0,48	-	-	Mora (2006)
	Diâmetro (cm)	-	0,28	-	-	
(Tunga, Chile)	Altura (m)	-	0,48	-	-	
	Diâmetro (cm)	-	0,28	-	-	
<i>Eucalyptus grandis</i>						
	Altura (m)	-	0,06	0,44	-	Resende; Higa (1994a)
	DAP (cm)	-	0,04	0,47	-	
	Altura (m)	-	0,24	0,49	-	Resende; Higa (1994b)
	DAP (cm)	-	0,14	0,53	-	
	Altura (m)	-	0,19	0,53	-	Resende et al. (1994)
	DAP (cm)	-	0,21	0,64	-	
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,20	0,61	-	
(Mogi Guaçu, SP)	DAP (cm)	-	0,25	-	-	Pinto Júnior et al. (2005)
(Boa Esperança do Sul, SP)	DAP (cm)	-	0,21	-	-	
(Caçapava, SP)	DAP (cm)	-	0,22	-	-	

Continua...

Tabela 1. ...continuação

Espécie	Caráter	CV_g (%)	\hat{h}^2	\hat{h}_m^2	\hat{r}_{aa}	Referência
<i>Eucalyptus grandis</i>	Altura (m)	8,67	0,28	-	-	Rocha et al. (2006a)
	DAP (cm)	12,65	0,22	-	-	
	Volume (m ³)	26,89	0,21	-	-	
	Altura (m)	8,89	0,28	-	-	Rocha et al. (2007)
	DAP (cm)	12,54	0,22	-	0,53	
	Volume (m ³ /árv.)	24,30	0,21	-	-	
<i>Eucalyptus urophylla</i>	(TP-68) DAP (cm)	-	0,47	0,87	0,93	Rocha et al. (2006b)
	(TP-71) DAP (cm)	-	0,64	0,93	0,96	
	Altura (m)	9,57	0,37	0,92	-	Rocha et al. (2007)
	DAP (cm)	12,68	0,28	0,92	0,61	
	Volume (m ³ /árv.)	32,97	0,31	0,93	-	
	Altura (m)	13,51	0,20	-	0,14	
	DAP (cm)	12,66	0,12	-	0,17	
	Volume (m ³ /árv.)	37,80	0,17	-	0,16	
	Altura (m)	-	0,26	0,58	-	Rosado et al. (2009)
	DAP (cm)	-	0,19	0,59	-	
	Volume (m ³)	-	0,24	0,63	-	
	<i>Euterpe oleracea</i>	Altura (m)	7,39	0,12	0,28	0,53
Diâmetro (cm)		1,64	0,01	-	-	
<i>Hevea brasiliensis</i>	Circunferência (cm)	0,35	0,32	0,89	0,56	Costa et al. (2000a)
	Circunferência (cm)	16,92	0,33	0,87	0,45	Costa et al. (2000d)
	Altura (m)	-	0,51	-	-	Furlani et al. (2005)
	Circunferência (cm)	-	0,43	-	-	
	Altura (m)	11,35	0,19	0,34	-	Costa et al. (2008)
	Diâmetro colo (mm)	16,42	0,18	0,41	-	
	(Colina, SP) Altura (m)	8,56	0,17	0,55	0,74	Arantes (2010)
	Diâmetro 50 cm	6,05	0,10	0,43	0,65	
	Forma	2,75	0,03	0,15	0,39	
	(Votuporanga, SP) Altura (m)	4,17	0,06	0,31	0,56	
	Diâmetro 50 cm	2,49	0,03	0,19	0,43	
	Forma	0,30	4x10 ⁻³	0,03	0,17	
	(Selvíria, MS) Altura (m)	6,69	0,22	0,61	0,78	
	Diâmetro 50 cm	9,69	0,33	0,78	0,88	
	Forma	4,55	0,03	0,21	0,46	
(Jaú, SP) Perímetro caule (cm)	32,17	0,74	0,88	0,94	Verardi (2010)	
(Pindorama, SP) Perímetro caule (cm)	28,58	0,59	0,87	0,93		
(Votuporanga, SP) Perímetro caule (cm)	25,27	0,56	0,89	0,94		
<i>Ilex paraguariensis</i>	(Ivaí, PR) Peso massa foliar (kg)	31,30	0,15	-	-	Simeão et al. (2002)
	(Guarapuava, PR) Peso massa foliar (kg)	73,41	0,62	-	-	
	(Rio Azul, PR) Peso massa foliar (kg)	44,74	0,23	-	-	
	Altura (m)	14,00	0,05	0,59	0,78	Costa et al. (2005)
	Diâmetro (mm)	62,19	0,04	0,54	0,78	
	Peso massa foliar (kg)	-	0,05	0,47	0,69	
<i>Malpighia emarginata</i>	Altura (m)	-	0,19	0,44	-	Paiva et al. (2002)
	Diâmetro (cm)	-	0,19	0,40	-	
<i>Mimosa scabrella</i>	(Bocaiúva do Sul, PR) Altura (m)	-	0,03	0,07	0,20	Sturion et al. (1994)
	DAP (cm)	-	0,10	0,36	0,39	
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,26	0,70	0,59	
	(Campo Largo, PR) Altura (m)	-	0,19	0,46	0,49	
	DAP (cm)	-	0,27	0,76	0,41	
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,15	0,56	0,31	

Continua...

Tabela 1. ...continuação

Espécie	Caráter	CV_g (%)	\hat{h}^2	\hat{h}_m^2	\hat{r}_{aa}	Referência
<i>Myracrodruon urundeuva</i>						
(Selvíria, MS)	Altura (m)	8,04	0,11	0,28	0,53	Guerra et al. (2009)
	DAP (cm)	15,24	0,27	0,58	0,76	
(Aramina, SP)	Altura (m)	2,99	0,02	0,06	0,24	
	DAP (cm)	1,59	0,00	0,01	0,12	
<i>Pinus caribaea</i> var. <i>caribaea</i>						
	Altura (m)	0,91	0,01	0,01	0,10	Silva (2005)
	DAP (cm)	3,44	0,05	0,11	0,33	
	Volume (m ³ /árv.)	9,58	0,07	0,15	0,39	
<i>Pinus caribaea</i> var. <i>bahamensis</i>						
	Altura (m)	3,73	0,12	-	-	Missio et al. (2004)
	DAP (cm)	9,64	0,20	-	-	
	Volume (m ³ /árv.)	22,60	0,21	-	-	
<i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>						
(Poptún, Guatemala)	Altura (m)	-	0,25	0,68	-	Sampaio et al. (2000)
	DAP (cm)	-	0,25	0,74	-	
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,38	0,80	0,57	
(Isla de Guanaja, Honduras)	Altura (m)	-	0,19	0,67	-	
	DAP (cm)	-	0,16	0,67	-	
	Volume (m ³ /árv.)	-	0,22	0,75	0,53	
	Altura (m)	5,44	0,26	0,27	0,52	Moraes et al. (2007b)
	DAP (cm)	7,51	0,22	0,43	0,66	
	Volume (m ³ /árv.)	22,29	0,33	0,46	0,68	
<i>Pinus kesyia</i>						
	Altura (m)	9,82	0,23	0,39	0,63	Missio et al. (2005)
	DAP (cm)	17,89	0,36	0,58	0,76	
	Forma	11,33	0,53	0,66	0,81	
<i>Pinus oocarpa</i>						
	Forma	-	0,94	0,95	-	Sampaio et al. (2002)
	Volume (m ³)	-	0,11	0,73	0,50	
	DBM (g/cm ³)	-	0,15	0,48	-	
<i>Schizolobium amazonicum</i>						
	Altura (m)	20,89	0,29	0,95	-	Rocha et al. (2009b)
	DAP (cm)	6,98	0,05	0,69	-	
	Volume (m ³)	25,99	0,11	0,78	-	
<i>Spondias tuberosa</i>						
	Maior diâm. da copa	-	0,14	-	0,97	Oliveira et al. (2004)
	Menor diâm. da copa	-	0,08	-	0,82	

2.3. Emprego de marcadores moleculares no estudo de espécies florestais

O melhoramento genético, embora efetivo, é relativamente lento por se basear em vários ciclos de recombinação, avaliação e seleção, e os problemas como suscetibilidade a pragas e doenças, arquitetura da planta, ou introgressão de genes de interesse, demoram anos para serem resolvidos (SOUZA, 2001). Os estudos de variação genética pelos métodos tradicionais exigem mais recursos de tempo, de espaço em campo ou casa de vegetação, e assistência técnica para manutenção e manipulação das populações de ensaio (TORGGLER et al., 1995).

Espécies florestais têm ciclos de produção longos, com uma extensa fase vegetativa variando de uma até várias décadas. Isso pode representar uma limitação no desenvolvimento de programas de melhoramento genético, mas a longa vida pode oferecer

oportunidades únicas para estudar a genética de células somáticas, a expressão de gene em longo prazo e evolução molecular de organismos de vida longa (AHUJA et al., 2001).

Os *Eucalyptus* são plantas perenes que tem a característica de rápido crescimento, e apesar disso, o longo ciclo de seleção ainda é um dos fatores limitantes dentro dos programas de melhoramento florestal. Segundo Grattapaglia et al. (2004), o crescente aumento da demanda tem forçado as companhias florestais a uma rápida expansão nas áreas de plantio e o estabelecimento de programas de parcerias com proprietários rurais. Nos últimos 30 anos, a indústria florestal investiu intensamente em melhoramento genético do eucalipto com objetivo de produzir materiais genéticos mais adaptados e produtivos. O resultado deste investimento foi aumento de 20 m³.ha⁻¹.ano⁻¹ e oito árvores para compor 1 m³ de madeira para 50 m³.ha⁻¹.ano⁻¹ e 3,1 árvores para cada m³, tornando o Brasil o maior produtor mundial de celulose e papel utilizando eucalipto como matéria-prima (MARINO, 2008).

O aumento de produtividade e as melhorias na qualidade dos produtos florestais têm se tornado cada vez mais importantes, é neste sentido que a genômica pretende fornecer ferramentas adicionais para ajudar os produtores a aumentarem e acelerarem os ganhos. Apesar dos progressos significativos que geraram conhecimento do genoma de árvores, abrangendo a função de um grupo ainda relativamente pequeno de genes, principalmente envolvidas na biossíntese de lignina, tornou-se claro que vários desafios ainda permanecem, especialmente para o eucalipto (GRATTAPAGLIA, 2004).

Ferramentas moleculares baseadas na identificação direta de variações úteis do DNA fornecem novas oportunidades para a manipulação genética do crescimento, forma e propriedades de madeira de árvores cultivadas (GRATTAPAGLIA, 2001). Os ganhos genéticos adicionais exigirão, cada vez mais, um melhor conhecimento da biologia das espécies, bem como, da resposta à seleção ao nível genotípico, ou seja, molecular (SOUZA, 2001).

Tais ferramentas moleculares são definidas como marcadores genéticos, que são quaisquer características, processos bioquímicos ou fragmentos de DNA que permitem distinção de indivíduos geneticamente diferentes (BORÉM, 1998). Souza (2001) explica que qualquer forma alélica originada de um genoma que pode ser utilizada como marcador genético, podendo ser esta um dado fenótipo, uma proteína ou um fragmento de DNA que codifica ou não um gene, possuindo uma sequência repetida ou única no genoma. Os marcadores genéticos podem ser: a) fenotípicos, correspondem ao produto de expressão de um ou mais genes, podendo ser influenciados pelo ambiente e/ou pela ação de outros

genes; *b*) moleculares, também chamados de marcadores genômicos ou genotípicos, detectam o polimorfismo diretamente ao nível do DNA, sem qualquer tipo de influência ambiental ou gênica.

Os marcadores moleculares surgiram como uma grande contribuição para o desenvolvimento das técnicas moleculares que permitem a análise do genoma (SOUZA, 2001). A partir deles é possível analisar cada genótipo de interesse, fornecendo informações relativas à variabilidade existente; resolver questões de identificação de genótipos ou genes específicos, visando, por exemplo, a proteção varietal ou investigações de paternidade em sistemas de polinização aberta; e associação entre marcadores moleculares e características fenotípicas (SOUZA, 2001, KIRST et al., 2005).

A isoenzima é um dos marcadores genéticos fenotípicos, podendo ser empregada nos estudos genéticos desde que comprovada sua herança genética mendeliana. Seu emprego foi um marco importante para os estudos de genética de populações e de evolução, porque além de iniciar a era da genética molecular, forneceu um meio direto de avaliação da variação genética. Isoenzimas são formas diferentes de uma mesma enzima que ocorrem numa mesma espécie como resultado da presença de mais de um gene codificando cada uma das enzimas (ALFENAS et al., 1991, TORGGLER et al., 1995).

O emprego desta técnica tem potencial para desenvolvimento de diversas áreas, que incluem os estudos de genética de populações florestais: estimativa de níveis de variabilidade genética em populações naturais, certificação e identificação de parentais, clones de árvores e híbridos; certificação e identificação de lotes de sementes; determinação da validade de cruzamentos controlados; estudos sobre a eficiência genética de pomares de sementes; determinação da eficácia de polinização massal suplementar; correlação entre características de importância econômica e genótipo-isoenzima (PIMENTEL, 1988). Algumas limitações da técnica: algumas isoenzimas não mostram herança codominante, ou seja, apresentam modificações pós tradução; variação das isoenzimas na sua especificidade a substratos, o que pode gerar comprometimento na discriminação das variantes alélicas de um loco (TORGGLER et al., 1995); necessidade de usar um grande número de sistemas enzimáticos, o que torna a técnica mais cara (PIMENTEL, 1988).

Alguns exemplos do emprego da eletroforese de isoenzimas em espécies florestais estão a seguir: em casos para a investigação da herança e o desequilíbrio de ligação em locos isoenzimáticos polimórficos de *Caesalpinia echinata* (GIUDICE-NETO et al., 2004), *Eremanthus erythropappus* (BARREIRA et al., 2005), *Esenbeckia leiocarpa*

(SEOANE; SEBBENN, 2004), *Genipa americana* (SEBBENN, 2004), *Myracrodruon urundeuva* (MORAES et al., 2004b), *Trema micrantha* (RIBAS; SEBBENN, 2004). Outra aplicação da técnica é no estudo da diversidade isoenzimática para detectar existência de variações genéticas, associadas ao grau de perturbação de populações de *Myracrodruon urundeuva* (LACERDA et al., 1999); ou ainda no estudo da variabilidade genética intra e interpopulacional e o fluxo gênico interpopulacional de populações de *Copaifera langsdorffii* (PINTO et al., 2004). Moraes et al. (2004a) investigaram o sistema de reprodução de duas populações de *Myracrodruon urundeuva*, a fim de estimar os níveis de correlação de paternidade.

No *Eucalyptus camaldulensis*, James e Kennington (1993) investigaram evidências para o sistema de seleção de sementes pós-zigóticas provenientes de progênies autofecundadas e de fecundação cruzada, a partir da eletroforese de isoenzimas, a fim de eliminar indivíduos homozigotos originados por autofecundação. Determinaram também a intensidade de seleção de frutos de tamanhos diferentes para testar o funcionamento do sistema de controle materno. Martins-Corder et al. (1996) quantificaram a variabilidade isoenzimática de *Eucalyptus urophylla* visando florescimento precoce. Barbour et al. (2002) avaliaram o fluxo gênico entre plantações introduzidas de *E. nitens* e espécies nativas da Tasmânia, das quais o *E. nitens* é capaz de hibridizar com outras 17 espécies.

Outro marcador molecular que também foi empregado em estudos de espécies florestais é o RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*), que são pequenos iniciadores aleatórios oligonucleotídicos na reação em cadeia da DNA polimerase (PCR) (BORÉM, 1998). Os marcadores RAPD têm contribuído significativamente para o desenvolvimento rápido de mapas genômicos e análise de variabilidade e *fingerprinting* (ou “impressão digital” do DNA) em *Eucalyptus* e árvores em geral (GRATTAPAGLIA et al., 1996, GRATTAPAGLIA, 2001, VARSHNEY et al., 2005). A principal limitação dos marcadores RAPD é seu baixo conteúdo informativo por loco, pois estes marcadores exibem herança dominante e tecnicamente detectam apenas um alelo por loco, sendo que todos os outros alelos são agrupados em uma única classe caracterizada pela ausência de amplificação de banda (GRATTAPAGLIA, 2001).

Para exemplificar a funcionalidade dos marcadores moleculares RAPD em espécies florestais, segue a descrição sucinta de alguns trabalhos disponíveis em literatura.

Grattapaglia et al. (1996) apresentaram uma análise de mapeamento de locos de características quantitativas (QTL – *Quantitative Trait Locus*), em *E. grandis*, a fim de

localizar regiões genômicas que controlam o crescimento e as características de qualidade da madeira, assim como abordagens da técnica para diferentes gerações da espécie.

Verhaegen et al. (1997) determinaram a genética das características de valor comercial de *E. grandis* e *E. urophylla* por QTLs, avaliando a segregação, a estabilidade e a expressão dos QTLs nas diferentes idades de progênies híbridas interespecíficas estudadas. Pigato; Lopes (2001a, 2001b) estimaram a variabilidade genética para quatro gerações de melhoramento de *E. urophylla* de polinização aberta, a fim de subsidiar o programa de melhoramento genético da espécie. Também investigaram a variabilidade genética, dados silviculturais e botânicos em teste de progênies de *E. urophylla*, a fim de estabelecer programa de cruzamentos controlados entre progênies selecionadas. Leite et al. (2002) investigaram a base genética de uma população de produção de *E. urophylla*, para fornecer informações sobre os cruzamentos baseados nesta população em programas de melhoramento genético da espécie. Caixeta et al. (2003) avaliaram a variabilidade genética e identificaram genitores divergentes para cruzamentos preferenciais na geração de híbridos em programas de melhoramento genético, em 44 híbridos naturais de *Eucalyptus*. Leite et al. (2008) estudaram a variabilidade genética em população base de *E. grandis*, a fim de investigar a base genética da população base e montar um banco de dados marcadores moleculares da população em análise. Tais estudos também têm sido conduzidos com espécies nativas, como *Tabebuia impetiginosa*, *Trichilia pallida*, *Amburana cearensis*, *Myracrodruon urundeuva*, *Schinopsis brasiliensis*, entre outras (CIAMPI et al., 2003, ZIMBACK et al., 2004, SANTOS et al., 2007).

Os marcadores moleculares da classe loco-específicos codominantes mais empregados em plantas são aqueles denominados de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e SSR (*Simple Sequence Repeats*, conhecidos também como locos microssatélites). Ambos são espécie-específicos e codominantes, ou seja, ambos os alelos de um mesmo loco do indivíduo são visualizados ao mesmo tempo (SOUZA, 2001). Os marcadores RFLP tiveram origem pela utilização de fragmentos de DNA como marcadores genéticos para monitoramento da segregação cromossômica, sendo que são caracterizados pela variação do tamanho dos fragmentos obtidos de diferentes indivíduos, após a digestão com as enzimas de restrição (BOTSTEIN et al., 1980, citados por BORÉM, 1998). A descrição da metodologia empregada para obtenção das sondas e detecção do polimorfismo de fragmentos de restrição esclarece que, embora os marcadores RFLP sejam altamente eficientes e tenham sido muito utilizados no estudo de inúmeras espécies vegetais e animais, eles são dispendiosos em tempo e dinheiro (SOUZA, 2001).

Os marcadores SSR são repetições de sequências di, tri, tetra ou penta nucleotídicas, comuns nos genomas de eucariotos, muito empregados como marcadores codominantes em plantas (TÓTH et al., 2000). São muito úteis quando o intuito é diferenciar genótipos de materiais muito similares, devido a sua alta frequência de heterozigiosidade e sua característica multialélica, propiciando discriminação mais precisa (KIRST et al., 2005). Segundo Grattapaglia (2001) a grande desvantagem do marcador baseado em SSR é o custo relativamente alto e a necessidade de conhecimento e infraestrutura em biologia molecular para o desenvolvimento de sequências específicas de *primers*. Apesar disso, o elevado custo é facilmente recompensado pela ampla gama de potencialidades de pesquisa e desenvolvimento que se abrem ao se possuir tal tecnologia para uma determinada espécie.

As aplicações da técnica podem ser confirmadas pelo número e variedade de trabalhos publicados, que asseguram que a disponibilidade de marcadores SSR para várias espécies, especialmente para o *Eucalyptus*, se tornou fundamental nos estudos realizados no melhoramento florestal. Algumas pesquisas baseadas em marcadores moleculares SSR, RFLP, RAPD, bem como o uso combinado deles, estão a seguir.

Gaiotto et al. (1997) empregaram marcadores RAPD e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) para estimar taxas de cruzamento e a frequência relativa entre cruzamentos e autopolinização, em populações de *E. urophylla*, assim como determinaram o número adequado de locos marcadores dominantes necessários para realizar estimativas de taxa de cruzamento. Brondani et al. (1998) desenvolveram *primers* flangeadores de SSR e o mapa de ligação desses SSR em *E. grandis* e *E. urophylla*, para entendimento e adequada manipulação da variação alélica dos QTLs em seleção assistida por marcadores moleculares. Agrama et al. (2002) desenvolveram o mapa do genoma do *E. camaldulensis* utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD, RFLP e SSR, a fim de localizar genes e QTLs que controlam qualidade do óleo e da madeira. Rocha et al. (2002) realizaram a caracterização de um conjunto de marcadores moleculares RAPD e SSR, capazes de identificar 15 híbridos de *E. grandis* e *E. urophylla*; determinaram a divergência genética para recomendação de futuros cruzamentos e avaliaram a manutenção da variabilidade genética ao longo do programa de melhoramento.

Kirst et al. (2005) caracterizaram a partir de marcadores SSR uma população de *E. grandis*, de modo a quantificar a variabilidade genética e *fingerprint* dos indivíduos. Jones et al. (2008) estudaram o fluxo gênico em uma população de melhoramento de *E. grandis*, a fim de resolver questões de paternidade, a partir de marcadores SSR. Butcher et

al. (2009) avaliaram os padrões de variação genética a partir da distribuição geográfica de *E. camaldulensis*, e determinaram a variação genética associada com a variação de parâmetros ambientais, a partir de marcadores SSR.

Os marcadores SSR têm sido empregados com sucesso em espécies florestais como ferramenta de estudo de estrutura genética de populações e sistema de reprodução. Chaix et al. (2003) investigaram questões relacionadas à taxa de cruzamento e ao fluxo gênico em pomar de sementes de *E. grandis*. Butcher et al. (2005) quantificaram a divergência genética e parentesco, a fim de avaliar os índices de endogamia e fluxo gênico em populações remanescentes de *E. benthamii*. Hong-Xin et al. (2008) estimaram taxas de cruzamento e fluxo de pólen, a fim de abordar questões como seleção precoce e contaminação por pólen em um arboreto de *E. globulus*.

Resende (2007a) detalha a utilização e aplicação da seleção genômica ampla (GWS – *Genetic Wide Selection*), ferramenta que pode ser aplicada em todas as famílias em avaliação nos programas de melhoramento genético de espécies alógamas. A GWS atua em todo o genoma sem a necessidade prévia de identificar os marcadores com efeitos significativos e de mapear QTLs, atuando mais proximamente aos QTNs (nucleotídeos de características quantitativas) ou sobre marcadores fortemente ligados a esses. A GWS proporciona predições derivadas de dados fenotípicos e de genótipos baseados em caracterização molecular por marcadores do tipo SSR ou SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), cujas predições são usadas para obtenção dos valores genéticos genômicos dos indivíduos de qualquer geração subsequente, tendo por base seus próprios genótipos marcados. Recursos computacionais para resolução das equações são necessários para que o emprego da GWS seja ampliado a diversas situações, e no momento, tem-se disponível o programa Selegen-Genômica-REML/BLUP/GWS para processamento de análises deste tipo.

Grattapaglia e Kirst (2008) apresentam uma revisão das atuais práticas existentes e das emergentes ferramentas de genômica para o *Eucalyptus*, assim como aplicativos atuais da biologia molecular utilizando os marcadores moleculares como apoio. Nesta revisão abordaram questões como o emprego dos QTLs, seleção assistida com marcadores moleculares, pesquisas genômicas envolvendo dados de sequências expressas em determinados tecidos e idades da espécie em estudo (ESTs), representando uma importante fonte de informação para o desenvolvimento dos programas de melhoramento genético.

3. CAPÍTULO I

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE 14 LOCOS
MICROSSATÉLITES A PARTIR DE BIBLIOTECA GENÔMICA ENRIQUECIDA
DE *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. ***

***Artigo publicado:**

SILVA, J.M.; SOUSA, A.C.B.; SOUZA, A.P.; MORI, E.S.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M.; MORAES, M.L.T. Development and characterization of 14 microsatellite loci from an enriched genomic library of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. **Conservation Genetics Resources**, Netherlands, v.1, n.1, p.465–469, 2009.

RESUMO

Eucalyptus camaldulensis Dehnh. é uma espécie arbórea da Austrália que ocorre em diferentes formações climáticas e condições ambientais e mostra ampla diversidade genética. Vinte e cinco marcadores microsatélites foram desenvolvidos a partir de biblioteca genômica enriquecida CT₈-GT₈ de *Eucalyptus camaldulensis*. O número de alelos variou de 4 a 13 (média de 8). O conteúdo de informação de polimorfismo (*PIC*) e poder de discriminação (*PD*) de cada *primer* foi de 0,37 a 0,88 (média de 0,72) e 0,48 a 0,99 (média de 0,84), respectivamente. A heterozigosidade observada e esperada foi de 0,28 a 0,84 e 0,25 a 0,90, respectivamente. Quatro locos mostraram significância estatística para o equilíbrio de Hardy-Weinberg com correção de Bonferroni (*P*, (5%)/0,0038). Todos marcadores polimórficos foram testados para transferabilidade em 25 espécies de *Eucalyptus*. Estes locos microsatélites serão úteis para investigar questões de diversidade e estrutura genética, fluxo gênico, sistema de reprodução e conservação genética *ex situ* de *E. camaldulensis*.

ABSTRACT

Eucalyptus camaldulensis Dehnh. is an Australian tree species which occurs in various climatic and environmental conditions and show large genetic diversity. Twenty five microsatellite markers were developed from a CT₈-GT₈ enriched genomic library of *Eucalyptus camaldulensis*. The number of alleles ranged from 4 to 13 (average of 8). The polymorphism information content (*PIC*) and the discriminating power (*PD*) of each primer ranged from 0.37 to 0.88 (average of 0.72) and 0,48 to 0,99 (average of 0.84), respectively. The observed and expected heterozygosities ranged from 0.28 to 0.84 and 0.25 to 0.90, respectively. Four loci showed statistically significant from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction (*P*, (5%)/0.0038). All polymorphic markers were tested for cross-amplification in 25 *Eucalyptus* species. Those microsatellite loci will be useful to investigate questions of genetic diversity and structure, gene flow, mating system and *ex situ* genetic conservation of *E. camaldulensis*.

3.1. INTRODUÇÃO

Eucalyptus camaldulensis Dehnh. é uma das espécies de *Eucalyptus* mais amplamente distribuídas na Austrália, ocorrendo em todos os estados exceto na Tasmânia (BUTCHER et al., 2002). A espécie apresenta plasticidade em termos de adaptação a diferentes condições ambientais, ocorrendo em formação vegetal tropical e subtropical, evidenciando que existe grande variabilidade genética (PRYOR, 1976, NIETO; RODRIGUEZ, 2003). O *E. camaldulensis* é importante para estabilização de margem de rios e habitats de fauna, frequentemente utilizado como árvore dominante em comunidades ripárias (BUTCHER et al., 2009). A viabilidade de populações naturais no sudeste da Austrália está ameaçada por alterações nos regimes hídricos associado com a estabilidade de rios (DEXTER et al., 1986). É uma das espécies de madeira pesada mais amplamente plantadas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (ELDRIDGE et al., 1993), apresenta alta densidade da madeira, tolerância à seca e salinidade, sendo sua madeira usada para construções, carvão, polpa e papel, dormentes (NIETO; RODRIGUEZ, 2003).

Os níveis de diversidade e diferenciação genética entre populações de *E. camaldulensis* são altos (BUTCHER et al., 2002), indicando potencial para ampla exploração de recursos genéticos deste táxon. Dados genéticos e morfológicos indicam que *E. camaldulensis* mostra estar longe de uma simples variação de táxon. Diferenças genéticas e morfológicas entre as variedades devem ser consideradas para futuros programas de conservação e restauração (BUTCHER et al., 2009). Os marcadores moleculares são úteis como uma ferramenta auxiliar em caracterização genética e produção, assim como mapeamento, filogenia (BRONDANI et al., 1998), sistema de reprodução e estudos de fluxo gênico.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver locos microssatélites para *E. camaldulensis* a fim de facilitar e detalhar estudos de diversidade e estrutura genética, fluxo gênico e sistema de reprodução. Investigou-se também a transferabilidade destes locos em 25 outras espécies de *Eucalyptus*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O germoplasma estudado é composto por 40 genótipos diplóides, sendo 15 de uma população base de *E. camaldulensis*, estabelecida em Selvíria-MS (Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão – FEPE, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista – FEIS/UNESP) e 25 espécies de *Eucalyptus* de Itatinga-SP, que foram cedidas pela Fazenda Experimental do Departamento de Ciências Florestais, ESALQ/USP.

O DNA genômico foi extraído de folhas frescas usando o protocolo de extração CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990). Uma biblioteca genômica enriquecida foi construída utilizando a metodologia descrita por Billotte et al. (1999). O DNA extraído foi digerido com enzima de restrição *RsaI*, e os fragmentos digeridos foram ligados a adaptadores *RsaI*. A biblioteca foi enriquecida com sequências de dinucleotídeos usando *primers* biotinilados (CT)₈ e (GT)₈, em seguida capturados com sondas magnéticas cobertas de partículas de streptavidina (*MagneSphere Magnetic Separation Products, Promega*).

Os fragmentos contendo microssatélites foram selecionados e amplificados via reação de polimerase em cadeia (PCR) usando *primers* com adaptadores e depois ligados a vetores pGEM-T (Promega). Para realização da clonagem foi utilizada linhagem de células XL-1 Blue de *Escherichia coli*. As células transformadas foram cultivadas em placas contendo agar, 100 g.ml⁻¹ de ampicilina, 50 g.ml⁻¹ de X-galactosidade e Isopropyl b-d-1-thiogalactopyranoside (IPTG). As colônias brancas foram selecionadas e estocadas em freezer a -80 °C. Das colônias recombinantes obtidas, 96 foram sequenciadas utilizando o kit de sequenciamento *Big Dye* versão 3.1 (*Applied Biosystems*) no sequenciador ABI PRISM 377 (*Applied Biosystems*).

As sequências *forward* e *reverse* foram analisadas e editadas no programa *Seqman* (DNASar). As regiões repetitivas foram identificadas usando *Simple Sequence Repeat Identification Tool – SSRIT* (TEMNYKH et al., 2001). Trinta e seis clones continham microssatélites. Vinte e cinco pares de *primers* foram desenhados usando o *Primer Select* (DNASar), com as seguintes condições: tamanho do fragmento de 150 a 300 pb; conteúdo de GC entre 40 e 60 %; temperatura de anelamento entre 45 e 60 °C; tamanho do *primer* entre 18 e 22 pb; ausência de *hairpins* ou dímeros.

As reações de PCR foram realizadas para um volume final de 25 µl contendo 4,0 ng de DNA, 0,8M de *primer forward* e *reverse*, 100 M de cada dNTP, 1,5 mM de

MgCl₂, 10mM de Tris HCl, 50mM KCl e 0,5 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen). As reações foram submetidas a um programa *Touchdown PCR* (DON et al., 1991) com base no gradiente de temperatura variando entre 60 a 45 °C e a uma temperatura de anelamento de 48 °C para reduzir produtos inespecíficos. Os produtos amplificados foram analisados por meio de eletroforese em (a) géis de agarose 3 % contendo 0,1 mg de brometo de etídeo.ml⁻¹ em tampão TBE 1x (89 mL de Tris-borate, 2mM EDTA, pH 8,0), e (b) géis de poliacrilamida 6 % em tampão TBE 1x, usando como padrão de peso molecular o ladder 10 pb (Invitrogen). Depois de cada corrida, os géis foram corados com prata de acordo com Creste et al. (2001).

O conteúdo de polimorfismo (*PIC* – *Polymorphism information content*) foi calculado a partir da estimativa do número e da frequência alélica (CORDEIRO et al., 2000). Para comparar a eficiência dos marcadores na identificação varietal, foi estimada a capacidade de discriminação (*PD*) de cada loco (TESSIER et al., 1999). As heterozigosidades esperadas e observadas foram analisadas utilizando o programa GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2002). O desequilíbrio de ligação entre os locos e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimados por permutação e aplicação da correção de Bonferroni por múltiplas comparações. Com exceção do P_{excl} , que foi estimado com o programa CERVUS 3.0 (KALINOWSKI et al., 2007), os outros parâmetros foram estimados utilizando o programa FSTAT (GOUDET, 1995).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quatorze dos vinte e cinco microsatélites desenvolvidos foram polimórficos e o número de alelos por loco variou de 4 a 13 alelos, com média de 8 alelos por loco (Tabela 2). O valor de *PIC* variou de 0,37 a 0,88, com média de 0,72. O maior *PIC* (0,88) foi encontrado no loco ECc1 que apresentou o maior número de alelos (13). O valor de *PD* variou de 0,48 (ECc46.6 – 5 alelos) a 0,99 (ECc38.1 – 7 alelos), com média de 0,84. As heterozigosidades observada (H_o) e esperada (H_e) variaram, respectivamente, de 0,28 a 0,84 (média de 0,56) e de 0,25 a 0,90 (média de 0,73). Quatro locos (ECc1, ECc2, ECc3.1 e ECs89) mostraram significância estatística para HWE com correção de Bonferroni ($P, (5\%) \leq 0,0038$). Não houve significância para desequilíbrio de ligação entre os locos. O poder de exclusão do conjunto de 14 locos, de excluir um candidato a pai de um indivíduo, quando este candidato não é o verdadeiro pai, é alto ($P_{excl} = 0,999024$), e por isso, o

respectivo conjunto de locos tem alto poder de resolução e pode ser usado para estudos de diversidade e estrutura genética, fluxo gênico e sistema de reprodução.

Todos os marcadores polimórficos foram testados quanto à transferabilidade em 25 espécies de *Eucalyptus*. Quatorze locos microssatélites foram amplificados em todas as espécies (Tabela 3). Dois locos (ECc4 e ECs11) foram amplificados com sucesso em todas as espécies. Os resultados do desenvolvimento de locos microssatélites para *Eucalyptus* indicam alto potencial de serem utilizados em estudos comparativos e filogenia.

Tabela 2. Características de 14 locos microsatélite para *Eucalyptus camaldulensis*, nome dos locos, número de acesso no GenBank, motivo, TD – Touchdown PCR (60-45°C), sequência do *primer forward* (F) e *reverse* (R), número de alelos (k), tamanho do produto em pares de bases, conteúdo de polimorfismo (PIC), capacidade de discriminação (PD) de cada *primer*, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e valor de *P* para teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). * Estatisticamente significativo para HWE a ($P: (5\%) \leq 0,0038$) depois da correção de Bonferroni.

Loco SSR	Nº Acesso no GenBank	Motivo	TD (°C)	Sequências dos Primers (5' – 3')	k	Tamanho dos alelos (pb)	PIC	PD	H_o	H_e	P – (HWE)
ECc1	GQ302860	(TC) ₁₈	60 - 45	F: 5' AGCATTCCCTTGTTCCCTTCT 3' R: 5' GATACTGGTCCCTCCGATTGAG 3'	13	157-192	0,88	0,93	0,49	0,90	0,0036*
ECc2	GQ302861	(GA) ₉ TATA(GA) ₆	60 - 45	F: 5' GATCGGTCCCTTTTGCTTCTTT 3' R: 5' TTTTCTTGCCCCCAGTTCT 3'	11	238-255	0,83	0,88	0,42	0,85	0,0036*
ECc3.1	GQ302862	(TC) ₂₁	60 - 45	F: 5' CTCAAAATGAGCACTCTTCTCA 3' R: 5' TAATCATACTGCCACA AAC 3'	7	160-258	0,81	0,92	0,44	0,85	0,0036*
ECc4	GQ302863	(CT) ₂₀	60 - 45	F: 5' CAGGGTTGAGATGGGTAATA 3' R: 5' AACGGTCTTGACTTGA 3'	6	196-235	0,68	0,77	0,73	0,74	0,5143
ECs11	GQ302864	(CT) ₁₃ CA(TG) ₁₆	60 - 45	F: 5' AATCTTCTTCTCTACTTTG 3' R: 5' ATGGCGACACATTTACT 3'	9	133-174	0,85	0,89	0,84	0,87	0,3357
ECc27.2	GQ302865	(TA) ₃ ...(CT) ₄	60 - 45	F: 5' CAAATGCTCCGAACCCAAATGT 3' R: 5' GGAACGAGGGGAGAATAATG 3'	6	358-383	0,52	0,75	0,38	0,53	0,0179
ECc31.2	GQ302866	(GA) ₁₅	60 - 45	F: 5' CCCCCGTACTTCTA 3' R: 5' TTCGCTTCTTCTTCTAA 3'	7	359-388	0,79	0,83	0,83	0,83	0,6000
ECc33	GQ302867	(CT) ₂₀	60 - 45	F: 5' ACTCGTTCCTTTTACAT 3' R: 5' ACACCCATCCTCCTC 3'	9	55-95	0,76	0,98	0,63	0,80	0,0393
ECc38.1	GQ302868	(CT) ₉ G(CT) ₉	60 - 45	F: 5' ACTTCTTCTGGTCCCTTCT 3' R: 5' TTCCATAAATCTTTGACATCT 3'	7	290-325	0,68	0,99	0,73	0,72	0,6250
ECc44	GQ302869	(GA) ₁₇	60 - 45	F: 5' CATCTTCTTCTTCTTCT 3' R: 5' GGGGGCAATGTTACTTTG 3'	9	57-90	0,62	0,74	0,48	0,58	0,0893
ECc46.6	GQ302870	(AAAAAT) ₃	60 - 45	F: 5' ATTAATTTCTTTTATTTTATCTA 3' R: 5' GTCCTTTTCTAATTTCAACT 3'	5	86-100	0,37	0,48	0,28	0,25	1,0000
ECc64	GQ302871	(AC) ₇	60 - 45	F: 5' CCGCACAACTTCCAATGAGA 3' R: 5' TGGCAATGCACACAAGAATAC 3'	5	134-147	0,65	0,77	0,45	0,67	0,0107
ECs89	GQ302872	(CA) ₁₈	60 - 45	F: 5' AAGGTTAGTAGGGTATTTTC 3' R: 5' GGGATTCATGTTAGGTA 3'	9	84-119	0,79	0,94	0,48	0,83	0,0036*
ECs91	GQ302873	(TC) ₂₁	60 - 45	F: 5' CATCTGCTCACATTTTIG 3' R: 5' TATTGAGGAGGCTATTGAA 3'	10	135-176	0,78	0,92	0,72	0,78	0,1964

Tabela 3. Transferabilidade de 14 locos microssatélites de *Eucalyptus camaldulensis* para outras 25 espécies de *Eucalyptus*. (+) indica ocorrência de amplificação e (-) ausência de amplificação.

<i>Eucalyptus</i> sp	ECc1	ECc2	ECc3.1	ECc4	ECs11	ECc27.2	ECc31.2	ECc33	ECc38.1	ECc44	ECc46.6	ECc64	ECs89	ECs91
<i>E. barrigensis</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>E. benthamii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. botryoides</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>C. citriodora</i>	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>E. cloeziana</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
<i>E. deanei</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
<i>E. dorrigoiensis</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>E. dunnii</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>E. globulus</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. grandis</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-
<i>C. maculata</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. microcorys</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. paniculata</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+
<i>E. pellita</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. phaeotricha</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>E. pilulares</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. propingua</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>E. resinifera</i>	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+
<i>E. robusta</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
<i>E. saligna</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>E. tereticornis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>E. toreliana</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>E. umbra</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. urophylla</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>E. viminalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-

3.4. CONCLUSÕES

Foram desenvolvidos e caracterizados 14 marcadores moleculares microssatélites para *Eucalyptus camaldulensis*.

Os 14 locos SSR desenvolvidos para *E. camaldulensis* foram amplificados nas 25 espécies de *Eucalyptus* estudadas.

Os marcadores SSR desenvolvidos neste trabalho são altamente variáveis e suficientemente importantes para investigar questões de diversidade e estrutura genética, fluxo gênico e sistema de reprodução de *E. camaldulensis*.

4. CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA E SISTEMA DE REPRODUÇÃO EM DUAS GERAÇÕES DE *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH.

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram investigar a diversidade genética e o sistema de reprodução em duas gerações de polinização aberta de *Eucalyptus camaldulensis*, utilizando locos microssatélites. O estudo foi conduzido com base em um censo em um pomar de sementes com 250 árvores e em uma amostra de 500 progênies descendentes do pomar, estabelecidos em Selvíria-MS na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP. Os *primers* amplificam locos moleculares com herança genética mendeliana esperada 1:1. Dos onze locos SSR utilizados, o ECc44 e ECs91 segregam alelos nulos com frequência maior que 10%, assim foram excluídos das análises de diversidade genética, sistema de reprodução e dispersão de pólen. Dois pares de locos (ECc2xECc44 e ECs11xECs89) estavam em desequilíbrio de ligação. Na amostra total (adultos + progênies) foram observados 118 alelos, com número médio de alelos por loco variando de 3 a 18, média de 10,7 alelos. Com a exclusão dos locos ECc44 e ECs91, um mesmo número total de alelos (87) e número médio de alelos por loco (9,20) foi observado nos adultos e progênies, indicando que todos os alelos presentes na população parental foram herdados pela geração descendente. Houve redução da diversidade genética entre as gerações, pois a heterozigosidade observada foi significativamente maior nos adultos ($\hat{H}_o=0,730$) do que nas progênies ($\hat{H}_o=0,662$). A endogamia média estimada para adultos difere significativamente (-0,067) da média estimada para progênies (-0,003), o que sugere a ocorrência de seleção para heterozigotos entre a fase de progênies e a fase adulta. A espécie apresenta sistema misto de reprodução, produzindo sementes pela combinação de cruzamentos com autofecundações, mas com predomínio de cruzamentos. Não houve contaminação de pólen no pomar de sementes, pois todas as sementes coletadas tinham um possível parente paterno dentro do pomar. O pólen foi disperso a longas distâncias dentro da população base (média de 84 m), e 92 % do pólen foi disperso dentro da distância de 200 m. Para obterem-se lotes de sementes com tamanho efetivo de 150, é necessário coletar sementes de pelo menos 128 árvores matrizes, o que indica que o teste de progênies tem tamanho efetivo adequado.

Palavras-chave: segregação, parentesco, coeficiente de coancestria, tamanho efetivo, fluxo pólen.

GENETIC DIVERSITY AND MATING SYSTEM IN TWO GENERATIONS OF *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH.

ABSTRACT

The aims of this study were to investigate the genetic diversity and mating system in two open-pollinated generations of *Eucalyptus camaldulensis*, using microsatellite loci. The study was conducted based on a census of a seed orchard of 250 trees and a sample of 500 offspring from a progeny test, originated from this orchard, established in Selvíria-MS, at Experimental Research Station, Engineer School of Ilha Solteira, UNESP. The primers amplify molecular loci with genetic Mendelian inheritance expected 1:1. Of the eleven SSR loci used, the ECc44 and ECs91 segregate null alleles with a frequency greater than 10%, thus were excluded from the analysis of genetic diversity, reproduction system and pollen dispersal. Two pairs of loci (ECc2xECc44 e ECs11xECs89) were in linkage disequilibrium. In total samples (adults + progenies) were observed 118 alleles, with the average number of alleles per locus ranged 3-18, mean of 10.7 alleles. With the exclusion of loci ECc44 and ECs91 the same total number of alleles (87) and average number of alleles per locus (9.20) was observed in adults and progenies, indicating that all alleles present in the parental population were inherited by the offspring generation. There was a reduction of genetic diversity between generations, because the observed heterozygosity was significantly higher in adults ($\hat{H}_o = 0.730$) than in the progenies ($\hat{H}_o = 0.662$). The average inbreeding coefficient estimated for adults differs significantly (-0,067) of the estimated average for progenies (-0.003), suggesting that the occurrence of selection for heterozygotes between the progenies and adults stage. The *Eucalyptus camaldulensis* has a mixed reproduction system, producing seeds by a combination of crosses with self pollinations, but with a predominance of crosses. There was no contamination of pollen in the seed orchard, because all collected seed were a possible paternal parent in the orchard. The pollen was dispersed over long distances within the base population (average 84 m), and 92% of pollen was dispersed within the distance of 200 m. To get lots of seeds with an effective size of 150, it is necessary to collect seeds from at least 128 mother trees, indicating that the formation of progeny test has right effective size.

Keywords: segregation, kinship, coancestry coefficient, effective size, pollen flow.

4.1. INTRODUÇÃO

A conservação e o melhoramento genético de uma espécie requerem o conhecimento de seu sistema de reprodução, variabilidade e estrutura genética (GIUDICE NETO et al., 2004). O desconhecimento em termos da origem e da divergência genética de populações de *Eucalyptus* introduzidas no Brasil gera questionamentos na execução dos programas de melhoramento genético do gênero, pois na introdução pode ou não ter ocorrido um processo de redução desta diversidade, em razão de cruzamento entre indivíduos aparentados ou do pequeno número efetivo de indivíduos utilizados nos locais de coleta de sementes (CAIXETA et al., 2003).

Para implantação de programas de melhoramento genético a partir de populações de *Eucalyptus* torna-se imprescindível conhecer a divergência genética, com os objetivos de identificar clones ou genótipos para instalação de pomares de sementes clonais; maximizar a distância genética pela recombinação de genes ou complexos gênicos em novas combinações favoráveis; e fazer uma seleção indireta e precoce para características da madeira, para avaliar as propriedades físicas, mecânicas, químicas e anatômicas e tornar a seleção precoce mais eficiente, aumentando o ganho genético por unidade de tempo (CAIXETA et al., 2003).

Tais estudos podem ser eficientemente realizados com base em dados de marcadores moleculares, como os marcadores microssatélites (SSR). A disponibilidade de marcadores moleculares tem contribuído consideravelmente para a análise genética em espécies florestais (AHUJA, 2001). Os marcadores moleculares são muito úteis quando o intuito é diferenciar genótipos de materiais muito similares, devido a sua alta frequência de heterozigosidade e sua característica multialélica, propiciando discriminação mais precisa (KIRST et al., 2005).

As aplicações dos marcadores SSR podem ser particularmente úteis em espécies de *Eucalyptus* para as quais vários programas de melhoramento genético ainda estão em fases iniciais de estabelecimento. Tecnologias de marcadores moleculares de alto desempenho permitem uma amostragem muito eficiente do genoma e uma estimativa precisa de divergência genética, variabilidade e discriminação entre genótipos (GRATTAPAGLIA, 2001).

Um sistema de monitoramento genético baseado em marcadores para acompanhar os níveis de variabilidade genética ao longo dos diferentes ciclos de um

programa de melhoramento poderia ser muito útil, uma vez que permitiria flexibilidade maior durante o processo de seleção e auxiliaria no controle da taxa de incremento da endogamia (GRATTAPAGLIA, 2001). O emprego dos marcadores possibilita ainda a caracterização de populações quanto aos níveis e organização da variabilidade genética dentro e entre subpopulações, grupos de reproduções e progênies, práticas fundamentais em programas de melhoramento genético.

Considerando que a prática do melhoramento florestal com controle de ambos os sexos é difícil e demorado em espécies de *Eucalyptus*, a determinação do sistema de reprodução e da paternidade em populações de melhoramento é essencial para manutenção de níveis adequados de variabilidade genética para ganhos contínuos (GRATTAPAGLIA, 2001). Tais estimativas são empregadas em espécies florestais, a fim de fornecer informações genéticas sobre hibridação inter e intra específica, fluxo gênico de pólen e de sementes, número de matrizes para seleção, entre outras (GAIOTTO et al., 1997, GRATTAPAGLIA et al., 2004, BUTCHER et al., 2005, BARBOUR et al., 2006, BARBOUR et al., 2008, HONG-XIN et al., 2008, SAMPSON; BYRNE, 2008, HORSLEY et al., 2010).

A abordagem genômica para uma análise mais detalhada proporciona compreensão de importantes processos metabólicos e fisiológicos que resultam, por exemplo, em formação da madeira, bem como a identificação dos genes que determinam as principais características de interesse. Mesmo com ferramentas poderosas que permitem uma visão global e integrada dos processos de genética, a genômica só conseguirá contribuir para o desenvolvimento do eucalipto melhorado, se eles estiverem profundamente interligados com trabalho de campo intensivo e reprodução (GRATTAPAGLIA et al., 2004).

Os objetivos deste capítulo foram investigar a diversidade genética e o sistema de reprodução em duas gerações de *E. camaldulensis*, utilizando locos microssatélites. O estudo foi conduzido com base em censo em um pomar de sementes e em uma amostra realizada em um teste de progênies originado do respectivo pomar.

Assim, as seguintes questões foram abordadas:

- i)* a diversidade genética é maior no pomar de sementes ou no teste de progênies?
- ii)* existe endogamia no pomar de sementes e no teste de progênies?
- iii)* qual é o tamanho efetivo do pomar de sementes e do teste de progênies?
- iv)* qual a taxa de cruzamento, cruzamento entre parentes e cruzamentos correlacionados no pomar de sementes e no teste de progênies?

- v) existe variação na taxa de cruzamento individual?
- vi) existe contaminação por pólen externo no pomar de sementes?
- vii) qual a distância de dispersão de pólen no pomar de sementes?
- viii) qual é o número médio de árvores doadoras de pólen, as proporções de diferentes parentescos e o coeficiente médio de coancestria no pomar de sementes?

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostragem

A caracterização molecular foi realizada em indivíduos amostrados de duas gerações de *Eucalyptus camaldulensis* estabelecidas na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – FEIS/UNESP. As duas gerações correspondem a população de melhoramento (pomar de sementes por mudas) e o teste de progênie, e fazem parte do programa de conservação e melhoramento genético da espécie realizado no presente estudo (Figura 2, Tabela 4). Maiores detalhes sobre o estabelecimento do programa estão no item 5.2.

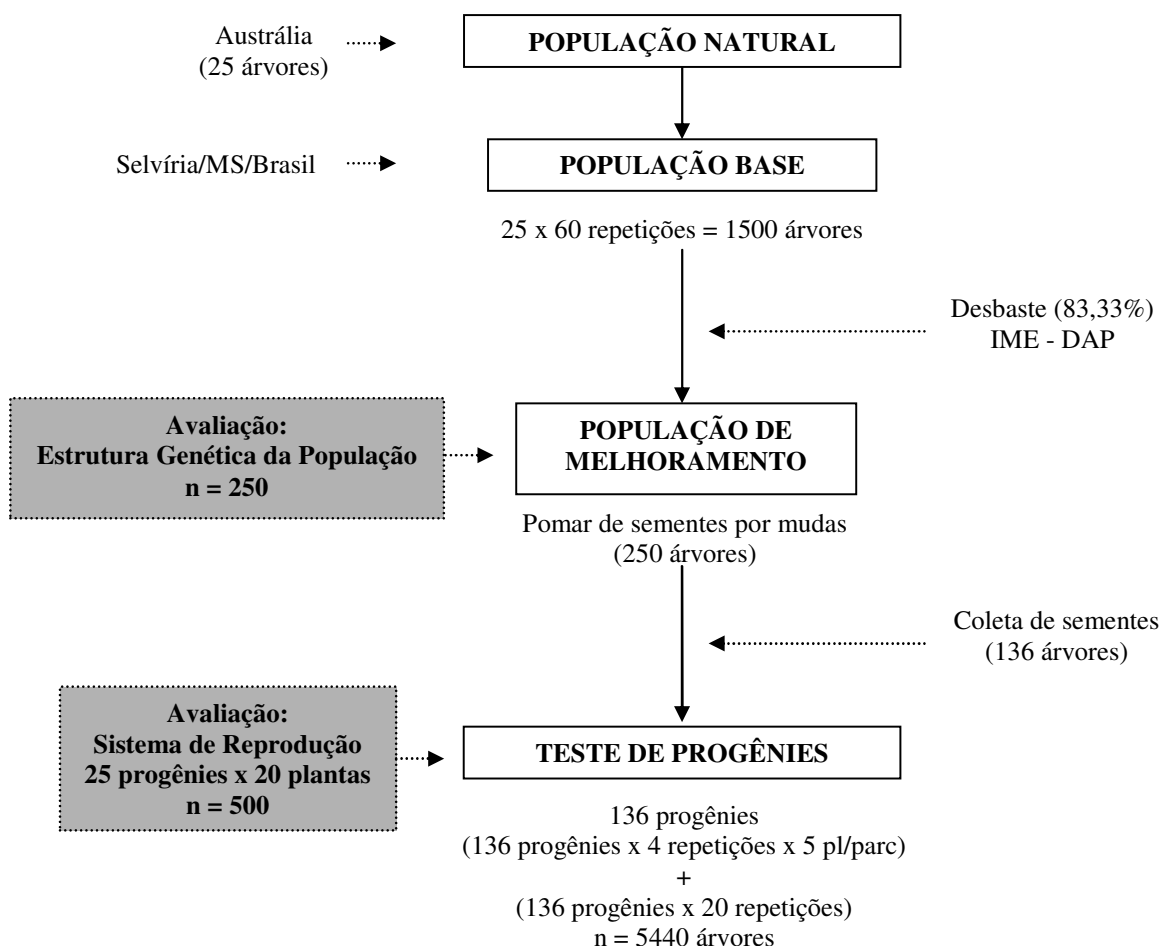


Figura 2. Representação esquemática das etapas metodológicas do programa de conservação e melhoramento genético realizado no *Eucalyptus camaldulensis*, estabelecido em Selvíria, MS. Os quadros em destaque representam as etapas da caracterização molecular.

Tabela 4. Representantes das 25 matrizes da população base de *Eucalyptus camaldulensis* que compõe a população de melhoramento (pomar de sementes) e que formaram descendentes para o teste de progênies, estabelecidos em Selvíria, MS.

250 indivíduos (PM)		136 indivíduos (TP)	
Matriz	k_f	Matriz	k_f
1	3	1	1
2	5	2	4
3	10	3	6
4	11	4	8
5	3	5	2
6	5	6	3
7	5	7	3
8	4	8	4
9	7	9	6
10	9	10	6
11	29	11	17
12	8	12	4
13	5	13	3
14	3	14	1
15	4	15	3
16	15	16	6
17	9	17	4
18	16	18	6
19	10	19	2
20	19	20	6
21	22	21	14
22	18	22	11
23	15	23	9
24	11	24	4
25	4	25	3
N	250		136
N_f	25		25

k_f : número de indivíduos selecionados por matriz; N : n^o de indivíduos selecionados; N_f : n^o de famílias selecionadas.

A amostragem para a caracterização molecular de *Eucalyptus camaldulensis* foi realizada totalizando 750 indivíduos genotipados:

a) 250 árvores do pomar de sementes. Esses indivíduos foram utilizados no estudo da estrutura genética da população;

b) 500 progênies (25 progênies x 20 plantas = 500 progênies). Entre as 250 árvores selecionou-se o melhor indivíduo de cada uma das 25 famílias, onde foram coletadas sementes e formaram-se as progênies para conhecimento do sistema de reprodução da população, e também para estabelecimento de um teste de progênies. Por motivo de falhas de amplificação, alguns indivíduos foram excluídos das estimativas, sendo que o número total de progênies considerado para análises foi 485.

Dessa forma, caracterizaram-se 735 indivíduos (250 + 485), a partir de marcadores moleculares do tipo microsatélite, desenvolvidos como parte do presente trabalho (SILVA et al., 2009).

Foram utilizadas folhas para a extração do DNA. As folhas das 250 árvores do pomar de sementes foram coletadas a partir de escalada nas árvores, com auxílio de podador telescópico. As folhas das 500 progênies foram coletadas manualmente direto na planta, aos seis meses após a instalação do teste de progênies. Em seguida as amostras vegetais foram colocadas em sacos de papel, identificadas e acondicionadas em caixas de plástico com sílica e transportadas até o Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura (LGPS), do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia (DFTASE, FEIS/UNESP), onde foram armazenadas até o momento da extração, trocando sempre a sílica quando hidratada. A coleta de folhas foi bastante criteriosa, e buscou-se dentro possível, utilizar as que não apresentassem estágio de maturidade demasiadamente avançado e nem sinais de herbivoria. Apenas no momento das extrações estas folhas foram maceradas em N₂ líquido.

As condições de genotipagem (extração e quantificação de DNA, produção de perfis SSR), seguiram os procedimentos otimizados no desenvolvimento e caracterização dos *primers* microsatélites EC (SILVA et al., 2009). Foram utilizados os 11 *primers* mais polimórficos entre os 14 desenvolvidos, sendo eles ECc2, ECc3, ECc4, ECs11, ECc27, ECc31, ECc44, ECc46, ECc64, ECs89 e ECs91.

4.2.2. Análise de segregação dos locos SSR

O estudo da herança dos locos SSR em *E. camaldulensis* foi realizado com base no método de análise descrito por Gillet e Hattermer (1989), que compara o genótipo de uma árvore materna heterozigota com a segregação de suas progênies de polinização aberta. Assume-se que os locos que apresentam segregação regular de seus genes estão sob a clássica herança Mendeliana, atendendo três requerimentos básicos: *i*) apresentam uma segregação meiótica regular durante a produção dos óvulos; *ii*) apresentam uma fertilização aleatória dos óvulos para cada tipo de pólen; *iii*) que entre o evento de fertilização e o momento de genotipagem das sementes, não ocorreu seleção devido a diferenças na viabilidade. Assumindo-se também que existe uma relação de co-dominância entre todos os alelos, o método prevê que as seguintes condições sejam satisfeitas: a) Toda

progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe; b) Em casos de uma árvore mãe heterozigota (ex. A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i ou A_j ; ii) o número de progênies heterozigotas A_iA_j (n_{ij}) é esperado ser igual a soma das progênies homozigotas A_iA_i (n_{ii}) A_jA_j (n_{jj}), $n_{ij} = n_{ii} + n_{jj}$; iii) o número de progênies heterozigotas A_iA_k (n_{ik}) é esperado ser igual ao número de progênies heterozigotas A_jA_k (n_{jk}), $n_{ik} = n_{jk}$, com $k \neq i, j$. Com base neste modelo e utilizando-se as progênies de polinização aberta amostradas das 25 árvores maternas procedeu-se a comparação dos fenótipos observados em cada progênie de árvore materna heterozigota, para um dado loco, com o esperado pela hipótese de segregação regular mendeliana 1:1. A hipótese de segregação regular foi aceita ou descartada com base em um teste G padrão realizado para cada progênie.

4.2.3. Análise de desequilíbrio de ligação

O teste de desequilíbrio gamético foi realizado para adultos e progênies utilizando-se o programa FSTAT (GOUDET, 1995). A hipótese $H_0: \Delta_{ij} = 0$ foi testada e a probabilidade do teste utilizada para determinar o desequilíbrio entre todos os pares de locos. Para evitarem-se falsos positivos, utilizou-se uma correção de Bonferroni para o nível de significância de 95% de probabilidade ($\alpha=0,05$). Adicionalmente, como este teste é sensível ao tamanho amostral, no caso das progênies, como o tamanho da amostra era grande (485 plantas), reamostrou-se aleatoriamente 250 plantas (corresponde ao tamanho amostral da população parental – pomar de sementes) e o teste foi repetido.

4.2.4. Análise da diversidade genética e do índice de fixação

A diversidade genética foi caracterizada para a população parental do pomar de sementes ($n=250$) e para as progênies amostradas do teste de progênies ($n=485$). A diversidade genética das amostras foi caracterizada pelos índices: número médio de alelos por loco (A), número efetivo de alelos por locos (A_e), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada segundo as proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e). O índice de fixação (F) foi estimado para se inferir os níveis de endogamia nas amostras. Para verificar se o índice de fixação era significativamente diferente de zero foi utilizada

permutação (10000) de genótipos. Os índices de diversidade, o índice de fixação e as permutações foram calculados utilizando-se o programa FSTAT (GOUDET, 1995). Para verificar se estes índices diferiam entre as amostras foi calculado o erro padrão da média a 95% de probabilidade com base em reamostragem *jackknife* sobre locos. Para verificar o poder de resolução dos locos para análise de paternidade, estimou-se a probabilidade de não exclusão de paternidade (probabilidade de não excluir o verdadeiro parente) do segundo parente, quando um dos parentes é conhecido, no presente caso a árvore materna [$Pr(Ex_2)$] e a probabilidade de identidade entre os genótipos adultos do pomar, utilizando o programa CERVUS 3.0 (MARSHALL et al. 1998, KALINOWSKI et al. 2007).

4.2.5. Sistema de reprodução

O sistema de reprodução do evento reprodutivo das populações australiana que deram origem ao pomar de sementes e deste pomar de sementes foi caracterizado pelos modelos misto de reprodução e de cruzamentos correlacionados (RITLAND; JAIN, 1981, RITLAND, 1989), utilizando o programa MLTR (RITLAND, 2002). Os parâmetros estimados foram: a) taxa de cruzamento multiloco (t_m); b) taxa de cruzamento uniloco (t_s); c) taxa de cruzamento entre aparentados ($t_m - t_s$); d) correlação de autofecundação, que em termos práticos mede a variação individual na taxa de cruzamento ou a probabilidade de se amostrar duas sementes de uma árvore matriz e ambas serem irmãos de autofecundação (r_s) e; e) a correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). O erro padrão dos parâmetros foi estimado por 1000 reamostragens *bootstrap*. Estas análises foram conduzidas em nível de população e de árvores matrizes, com exceção da correlação de autofecundação que foi estimada apenas em nível de população.

Da estimativa dos parâmetros do sistema de reprodução foram estimados outros parâmetros genéticos como: número efetivo de árvores polinizadoras, $\hat{N}_{ep} = 1/r_{p(m)}$; proporção de pares de irmãos de autofecundação dentro de progênies. Também foi estimado o coeficiente médio de coancestria (Θ) entre plantas dentro de progênies e o tamanho efetivo de variância (N_e). O coeficiente médio de coancestria dentro de progênies foi estimado em nível de população utilizando-se a expressão derivada por Ritland (1989):

$\Theta = 0,125(I + F_p)[4s + (t_m^2 + sr_s t_m^2)(I + r_p)]$, sendo: F_p = coeficiente de endogamia da geração parental e s = taxa de cruzamento.

Já em nível de progênies, a coancestria foi estimada utilizando a expressão:

$$\Theta = 0,125(1 + F_p)[4s + t_m^2(1 + r_p)]$$

O tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) médio das progênies e individual por progênies foi calculado da variância amostral das frequências alélicas e utilizando uma população idealizada (infinitamente grande e panmítica, sem endogamia, seleção, mutação e migração) como referência:

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+F_p}{2n}} \quad (\text{COCKERHAM, 1969}),$$

em que n é o tamanho da amostra das progênies e F_{prog} é o coeficiente de endogamia nas progênies.

O número de árvores matrizes necessário para a coleta de sementes foi calculado utilizando-se a expressão:

$$\hat{m} = N_{e(referência)} / \hat{N}_{e(v)} \quad (\text{SEBBENN, 2003b}),$$

em que $N_{e(referência)}$ é o tamanho efetivo de referência ou que se pretende reter na amostra das sementes. Esta estimativa é baseada em duas pressuposições: *i*) que as árvores matrizes onde será feita a coleta de sementes não são parentes entre si; *ii*) que as árvores matrizes amostraram um conjunto de pólen não sobreposto. Neste cálculo utilizou-se como tamanho efetivo de referência o valor de 150.

4.2.6. Análise de paternidade

As análises de paternidade das progênies foram realizada utilizando-se o método de máxima verossimilhança (MEAGUER, 1986, MEAGHER; THOMPSON, 1987), comparando o genótipo das árvores adultas do pomar e as sementes de árvores maternas conhecidas, utilizando o programa CERVUS 3.0 (MARSHALL et al., 1998, KALINOWSKI et al., 2007). A paternidade de cada semente foi determinada pela estatística Δ , que é a diferença entre o LOD do candidato a pai mais provável, menos o segundo mais provável candidato a pai. Para encontrar o valor crítico de Δ foram conduzidas simulações, usando 50.000 repetições, 0,01 como a proporção com locos com erro e todas as árvores adultas reprodutivas ($n=250$) como candidatos a parental paterno. Foram utilizados os níveis de confiabilidade de 95% como restrito e de 80% como relaxado, conforme sugestão de Marshall et al. (1998). Se um candidato a pai de uma

semente tinha um valor de Δ maior que o valor crítico de Δ , calculado das simulações, este foi considerado o verdadeiro pai. Se uma mesma árvore materna foi encontrada como o provável parental paterno, esta semente foi considerada como advinda de autofecundação. Assim, a estimativa da taxa de autofecundação (s) foi calculada como o número de progênies autofecundadas (n_{selfed}), dividido pelo número total de progênies amostradas (n): $\hat{s} = n_{selfed} / n$. Sementes que não tiveram nenhuma árvore identificada dentro da parcela como parental paterno foram assumidas como imigrantes e o verdadeiro pai deve estar fora da parcela. A probabilidade de determinar erroneamente um pai de uma semente dentro da parcela, quando o verdadeiro pai está fora da parcela (fluxo gênico crítico) foi calculada como descrito em Dow e Ashley (1996); $P = 1 - (1 - P)^n$. A taxa de imigração de pólen na parcela (m) foi calculada como a proporção de sementes que não tiveram um parente paterno determinado dentro da parcela ($n_{immigrant}$) relativamente a número de sementes amostradas (n_{total}) (BURCZYK et al., 1996). Da análise de paternidade, a distância de dispersão de pólen foi calculada com base na posição da árvore matriz e do potencial parente dentro do pomar. Para determinar se a polinização é uma função da distância entre as árvores matrizes e os potenciais polinizadores, foram comparadas as curvas de frequência de distância entre todas as árvores potenciais polinizadoras em relação a 25 árvores matrizes com a curva de frequência de distância da dispersão de pólen, usando o teste Kolmogorov-Smirnov (SOKAL; ROHLF, 1995). A área de vizinhança de polinização foi estimada com base em Levin (1988): $A_{ep} = 2\pi\sigma^2$, em que σ^2 é a variância na dispersão de pólen.

Dos resultados da análise de paternidade também foi estimado para cada progênie o número efetivo de doadores de pólen (\hat{N}_{ep}) simplesmente pela contagem do número de parentais paternos contribuindo para as progênies e pelo método não viciado (N_{ep}), como definido por Nielsen et al. (2003):

$$\hat{N}_{ep} = \frac{(n-1)^2}{\sum_{i=1}^{k_o} \hat{p}_i^2 (n+1)(n-2) + (3-n)}$$

em que p_i^2 é a frequência observada de progênies filhas do pai i ($p_i = x_i / n$), x_i é o número de sementes filhas do pai i , e n é o tamanho da amostra. Do parâmetro N_{ep} foi calculado a correlação de paternidade como: $\hat{r}_p = 1 / \hat{N}_{ep}$. De posse da taxa de autofecundação e da

correlação de paternidade, foi estimado também o coeficiente de coancestria e o tamanho efetivo de variância como previamente descrito na análise do sistema de reprodução.

O coeficiente médio de coancestria dentro de progênes foi estimado em nível de população utilizando-se a expressão derivada por Ritland (1989):

$$\Theta = 0,125(1 + F_p)[4s + t_m^2(1 + r_p)]$$

sendo: F_p = coeficiente de endogamia da geração parental e s = taxa de cruzamento.

O tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) médio das progênes e individual por progênes foi calculado da variância amostral das frequências alélicas e utilizando uma população idealizada (infinitamente grande e panmítica, sem endogamia, seleção, mutação e migração) como referência:

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+F_p}{2n}} \quad (\text{COCKERHAM, 1969}),$$

em que n é o tamanho da amostra das progênes, e F_{prog} é o coeficiente de endogamia nas progênes.

O número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes foi calculado utilizando-se a expressão:

$$\hat{m} = N_{e(\text{referência})} / \hat{N}_{e(v)} \quad (\text{SEBBENN, 2003b}),$$

em que $N_{e(\text{referência})}$ é o tamanho efetivo de referência ou que se pretende reter na amostra das sementes. Esta estimativa é baseada em duas pressuposições: i) que as árvores matrizes onde será feita a coleta de sementes não são parentes entre si; ii) que as árvores matrizes amostraram um conjunto de pólen não sobreposto. Neste cálculo utilizou-se como tamanho efetivo de referência o valor de 150.

Dos resultados da análise de paternidade foi também calculado o coeficiente médio de coancestria total para o conjunto das progênes (Θ_t):

$$\hat{\Theta}_t = \frac{0,5n_t + \sum_{l=1}^m (0,5n_{ss} + 0,25n_{fs} + 0,125n_{hs} + 0,25n_{so}) + 0,125n_{phs} + 0,25n_{pfs}}{n_t^2 - n_t}$$

em que, n_t é o número total de sementes amostradas no conjunto das progênes; n_{ss} , n_{fs} , n_{hs} e n_{so} são o número de irmãos de autofecundação, irmãos completos, meios irmãos e irmãos de cruzamento e autofecundação:

$$n_{ss} = n_s(n_s - 1), \quad n_{fs} = \sum_{i=1}^k n_i(n_i - 1), \quad n_{hs} = 2 \sum_{i=1}^k n_i \sum_{j \neq i}^k n_j \quad \text{e} \quad n_{so} = 2n_s n_o.$$

Nestes cálculos, n_s e n_o são o número de sementes de autofecundação e de cruzamento, respectivamente ($n_o = n_t - n_s$); $\sum_{i=1}^k$ é a soma sobre todos os pais; n_i e n_j são o número de sementes do pai i e j , respectivamente; n_{phs} é o número de meios-irmãos paternos: $n_{phs} = 2 \sum_{i=1}^m \sum_{j \neq i}^m n_{ij} n_{ik}$; n_{ij} e n_{ik} são o número de sementes do pai i com as mães j e k , respectivamente; n_{pfs} é o número de irmãos completos entre progênes: $n_{pfs} = 2 \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m n_{ij} n_{ji}$ ($i \neq j$), n_{ij} é o número de sementes da árvore matriz j que foram polinizadas pela árvore matriz i e n_{ji} é o número de sementes da árvore matriz i polinizadas pela árvore matriz j . Deste coeficiente de coancestria médio total, foi calculado o tamanho efetivo, de acordo com a prévia expressão de Cockerham (1969) apresentada acima. O número de árvores matrizes para a coleta de sementes foi calculado para o conjunto das progênes com uma simples regra de três. Se m_s progênes representam o tamanho efetivo total de $N_{e(t)}$, então m árvores matrizes serão necessárias para a amostra do conjunto das progênes representarem o tamanho efetivo de referencia ($n_{e(reference)}=150$):

$$\hat{m} = \frac{m_s N_{e(reference)}}{\hat{N}_{e(t)}}.$$

Adicionalmente, estimou-se o índice de fixação das progênes que foram detectadas por análise de paternidade por terem sido geradas por autofecundação e cruzamento entre parentes. Este índice foi estimado em nível de plantas individuais utilizando o programa Spagedi (HARDY; VEKEMANS, 2002). A endogamia esperada em uma planta gerada por autofecundação é de 50% e em plantas geradas pelo cruzamento entre parentes é igual ao coeficiente de coancestria entre os pais cruzados. Com era conhecido o *pedigree* das plantas do pomar de sementes, estimou-se o coeficiente de coancestria entre os indivíduos parentes do pomar, também utilizando o programa Spagedi. Esta coancestria é esperada assumir valores de 0,125 no caso de meios-irmãos e de 0,250 no caso de irmãos-completos.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Herança dos locos SSR

A análise da segregação detectou a presença de alelos nulos nos locos ECs11, ECc44 e ECc91 (Tabela 1). No loco ECs11, seis árvores maternas tinham descendentes homocigotos para alelos diferentes dos maternos, o que supostamente indica que as árvores maternas e estes descendentes possuem um alelo nulo. Um alelo nulo (denominado de nul) foi adicionado a essas seis árvores matrizes e as progênies homocigotas para alelos não maternos. A análise da segregação após a adição do alelo nulo detectou desvios em duas das seis progênies (Tabela 5). Os locos ECc44 e ECs89 também apresentaram indícios de alelos nulos em quatro e oito das 25 árvores maternas, respectivamente. O mesmo procedimento adotado para o loco ECs11 foi adotado e um alelo nulo foi adicionado às árvores matrizes homocigotas e para as progênies homocigotas para alelos não maternos. Após a adição dos alelos nulos aos locos ECc44 e ECc91, a análise de segregação detectou desvios de segregação em duas e uma progênies, respectivamente. Contudo, para a análise de paternidade, nestes três locos, todas as plantas homocigotas dentro das progênies que apresentaram desvios de segregação e em todas as árvores homocigotas do pomar foi adicionado um alelo nulo. Este procedimento evita que o verdadeiro parental paterno seja excluído como o verdadeiro parente (DOW; ASHLEY, 1996). Entretanto, como alelos nulos em alta frequência podem gerar erros de determinação de parentesco, os locos ECc44 e ECs91 que apresentaram alta frequência de alelos nulos ($>0,1$) foram excluídos das análises definitivas de diversidade genética, sistema de reprodução e dispersão de pólen, como será apresentado posteriormente.

Dos 256 testes de segregação realizados (Tabela 5), apenas três foram significativos após a correção de Bonferroni ($G1 > 10,83$), o que indica que os respectivos pares de *primers* amplificam locos moleculares com herança genética mendeliana de acordo com as proporções esperadas 1:1.

Tabela 5. Testes para hipótese de segregação regular (G) de 11 locos microssatélites em *Eucalyptus camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; G_1 é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ij} = n_{ii} + n_{jj}$; G_2 é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ik} = n_{jk}$; $n_{T1} = n_{ij} + n_{ii} + n_{jj}$; $n_{T2} = n_{ik} + n_{jk}$).

Loco	Genótipo	n	$n_{ij} : n_{ii} + n_{jj}$	n_{T1}	$n_{ik} : n_{jk}$	n_{T2}	G1	G2
ECc2								
577_162_8	212220	16	4:7	11	1:4	5	0,83	1,93
246_10_9	220234	19	8:6	14	4:1	5	0,29	1,93
677_235_21	214220	13	3:4	7	4:2	6	0,14	0,68
656_214_2	220226	20	5:9	14	4:2	6	1,16	0,68
518_150_20	220222	19	4:8	12	4:3	7	1,36	0,14
288_26_6	220228	20	6:7	13	3:4	7	0,08	0,14
434_115_10	220226	20	5:7	12	8:0	8	0,33	-
497_139_18	220228	20	7:5	12	4:4	8	0,33	-
414_93_14	216220	18	5:4	9	1:8	9	0,11	6,20
372_73_12	220224	18	8:0	8	1:9	10	-	7,36
596_165_22	220228	18	4:4	8	7:3	10	-	1,65
636_205_4	220228	19	3:5	8	5:6	11	0,51	0,09
393_79_3	214216	20	2:6	8	8:4	12	2,09	1,36
715_243_23	220222	18	1:4	5	13:0	13	1,93	-
330_55_19	212218	20	4:2	6	8:6	14	0,68	0,29
557_157_11	218226	19	2:3	5	6:8	14	0,20	0,29
351_67_25	220226	19	2:1	3	5:11	16	0,34	2,31
538_152_7	224228	17	0:1	1	2:14	16	-	10,12
ECc3								
267_15_1	270292	20	5:5	10	1:9	10	-	7,36
246_10_9	294296	20	3:1	4	6:10	16	1,05	1,01
677_235_21	280304	11	2:0	2	1:8	9	-	6,20
518_150_20	308320	19	1:6	7	12:0	12	3,96	-
288_26_6	294314	20	2:0	2	11:7	18	-	0,90
617_195_16	300318	16	2:3	5	5:6	11	0,20	0,09
434_115_10	294300	19	3:0	3	5:11	16	-	2,31
414_93_14	294296	19	1:4	5	7:7	14	1,93	-
372_73_12	268294	19	5:3	8	5:6	11	0,51	0,09
596_165_22	292308	15	0:4	4	5:6	11	-	0,09
636_205_4	286308	19	2:0	2	6:11	17	-	1,49
393_79_3	294314	20	4:2	6	7:7	14	0,68	-
695_239_24	290320	18	6:1	7	7:4	11	3,96	0,83
330_55_19	308314	20	3:4	7	7:6	13	0,14	0,08
557_157_11	284290	19	1:0	1	13:5	18	-	3,68
538_152_7	270300	18	2:1	3	8:7	15	0,34	0,07
226_9_15	290314	18	5:8	13	4:5	5	0,70	1,93
309_44_13	292314	20	3:0	3	11:6	17	-	1,49
455_133_17	286292	19	0:2	2	8:9	17	-	0,06
476_134_5	280290	20	2:0	2	11:7	18	-	0,90

Continua...

Tabela 5. ...continuação

Loco	Genótipo	<i>n</i>	$n_{ij} : n_{ii} + n_{ij}$	n_{T1}	$n_{ik} : n_{jk}$	n_{T2}	G1	G2
ECc4								
267_15_1	230266	20	11:5	16	4:0	4	2,31	-
246_10_9	230248	19	10:9	19	0:0	0	0,05	-
656_214_2	230260	20	4:14	18	2:0	2	5,88	-
518_150_20	230266	19	6:9	15	4:0	4	0,60	-
617_195_16	230260	16	3:10	13	3:0	3	3,98	-
434_115_10	230248	19	6:5	11	8:0	8	0,09	-
497_139_18	224230	20	4:11	15	0:5	5	3,40	-
414_93_14	230248	15	8:8	15	0:0	0	0,07	-
372_73_12	230246	17	5:12	17	0:0	0	2,97	-
596_165_22	230248	19	3:16	19	0:0	0	9,77	-
393_79_3	230248	20	8:9	17	3:0	3	0,06	-
695_239_24	230260	18	4:14	18	0:0	0	5,88	-
715_243_23	216230	18	12:4	16	2:0	2	4,19	-
330_55_19	230246	20	7:8	15	2:3	5	0,07	0,20
226_9_15	230260	19	8:4	12	0:7	7	1,36	-
309_44_13	230246	20	9:3	12	7:1	8	3,14	5,06
ECs11								
267_15_1	206220	20	6:8	14	4:2	6	0,29	0,68
577_162_8	202220	15	3:6	9	1:5	6	1,02	2,91
246_10_9	218232	20	0:7	7	6:7	13	-	0,08
677_235_21	206236	13	1:5	6	2:5	7	2,91	1,33
656_214_2	212228	16	4:6	10	1:5	6	0,40	2,91
288_26_6	206212	20	2:14	16	0:4	4	10,12	-
617_195_16	212nul	15	1:2	3	4:8	12	0,34	1,36
497_139_18	206212	20	6:2	8	2:10	12	2,09	5,82
414_93_14	202nul	16	2:0	2	2:12	14	-	7,92
372_73_12	202214	20	5:8	13	5:2	7	0,70	1,33
596_165_22	202nul	18	0:2	2	7:9	16	-	0,25
636_205_4	214232	19	2:3	5	8:6	14	0,20	0,29
393_79_3	206212	20	5:4	9	3:8	11	0,11	2,36
695_239_24	202nul	17	1:5	6	6:5	11	2,91	0,09
351_67_25	202206	19	3:8	11	1:7	8	2,36	5,06
538_152_7	206nul	17	4:4	8	5:4	9	-	0,11
309_44_13	216232	20	1:4	5	8:7	15	1,93	0,07
455_133_17	214nul	24	6:6	12	1:11	12	-	9,75
476_134_5	224232	21	2:0	2	4:15	19	-	6,78
ECc27								
577_162_8	246248	18	15:3	18	0:0	0	8,73	-
518_150_20	246248	19	12:7	19	0:0	0	1,33	-
288_26_6	246248	17	8:9	17	0:0	0	0,06	-
617_195_16	246248	17	8:9	17	0:0	0	0,06	-
434_115_10	246248	20	11:9	20	0:0	0	0,20	-
497_139_18	246248	20	12:8	20	0:0	0	0,81	-
372_73_12	246248	19	8:11	19	0:0	0	0,48	-
596_165_22	246248	19	12:7	19	0:0	0	1,33	-
695_239_24	246248	18	10:8	18	0:0	0	0,22	-
715_243_23	246248	20	11:9	20	0:0	0	0,20	-
330_55_19	246248	20	14:6	20	0:0	0	3,29	-
557_157_11	246248	19	11:8	19	0:0	0	0,48	-
538_152_7	246248	18	10:8	18	0:0	0	0,22	-
455_133_17	246248	20	11:9	20	0:0	0	0,20	-

Continua...

Tabela 5. ...continuação

Loco	Genótipo	<i>n</i>	$n_{ij} : n_{ii} + n_{ij}$	n_{T1}	$n_{ik} : n_{jk}$	n_{T2}	G1	G2
ECc31								
577_162_8	186204	17	2:4	6	6:5	11	0,68	0,09
246_10_9	188200	20	3:4	7	5:8	13	0,14	0,70
677_235_21	188190	11	2:3	5	3:3	6	0,20	-
656_214_2	190200	15	4:7	11	2:2	4	0,83	-
518_150_20	188200	19	5:7	12	3:4	7	0,33	0,14
288_26_6	190200	20	6:5	11	5:4	9	0,09	0,11
617_195_16	188190	18	6:3	9	7:2	9	1,02	2,94
434_115_10	192200	20	10:4	14	2:4	6	2,66	0,68
497_139_18	190192	20	5:8	13	0:7	7	0,70	-
414_93_14	188192	17	3:1	4	7:6	13	1,05	0,08
372_73_12	190196	19	6:3	9	5:5	10	1,02	-
596_165_22	188200	16	3:6	9	4:3	7	1,02	0,14
393_79_3	190200	20	5:5	10	6:4	10	-	0,40
695_239_24	186190	16	3:4	7	3:6	9	0,14	1,02
715_243_23	192200	17	2:2	4	7:6	13	-	0,08
557_157_11	188190	19	5:2	7	8:4	12	1,33	1,36
351_67_25	188200	19	7:7	14	2:3	5	-	0,20
538_152_7	188200	18	4:7	11	3:4	7	0,83	0,14
226_9_15	190198	19	0:2	2	3:14	17	-	7,72
309_44_13	190196	20	4:6	10	8:10	10	0,40	3,85
455_133_17	188190	18	3:6	9	5:4	9	1,02	0,11
476_134_5	188200	20	3:2	5	11:4	15	0,20	3,40
ECc44								
246_10_9	208240	8	2:5	7	0:1	1	1,33	-
518_150_20	208240	18	12:0	12	1:5	6	-	2,91
288_26_6	228250	20	2:2	4	11:5	16	-	2,31
617_195_16	208240	16	4:10	14	1:1	2	2,66	-
434_115_10	228234	20	1:13	14	2:4	6	12,20	0,68
497_139_18	200nul	15	0:8	8	3:4	7	-	0,14
596_165_22	226nul	15	0:6	6	1:8	9	-	6,20
636_205_4	246nul	9	1:4	5	0:4	4	1,93	-
393_79_3	228234	19	0:16	16	1:2	3	-	0,34
695_239_24	208240	16	10:5	15	1:0	1	1,70	-
715_243_23	208240	15	3:8	11	0:4	4	2,36	-
330_55_19	254nul	10	0:2	2	2:6	8	-	2,09
351_67_25	228234	18	2:13	15	2:1	3	9,01	0,34
226_9_15	208240	19	13:5	18	1:0	1	3,68	-
476_134_5	218228	15	7:5	12	0:3	3	0,33	-
ECc46								
518_150_20	196214	19	8:5	13	0:6	6	0,70	-
695_239_24	212214	18	13:5	18	0:0	0	3,68	-
715_243_23	212214	19	14:5	19	0:0	0	4,44	-
309_44_13	212214	20	16:4	20	0:0	0	7,71	-
455_133_17	212214	19	15:4	19	0:0	0	6,78	-

Continua...

Tabela 5. ...continuação

Loco	Genótipo	<i>n</i>	$n_{ij} : n_{ii} + n_{ij}$	n_{T1}	$n_{ik} : n_{jk}$	n_{T2}	G1	G2
ECc64								
267_15_1	218220	20	6:7	13	4:3	7	0,08	0,14
246_10_9	218220	20	9:7	16	0:4	4	0,25	-
677_235_21	218220	17	6:8	14	0:3	3	0,29	-
656_214_2	220222	18	8:3	11	6:1	7	2,36	3,96
288_26_6	218222	20	7:3	10	5:5	10	1,65	-
617_195_16	218220	15	10:3	13	2:0	2	3,98	-
497_139_18	218222	20	3:2	5	8:7	15	0,20	0,07
372_73_12	220222	20	9:3	12	3:5	8	3,14	0,51
596_165_22	216218	18	3:7	10	4:4	8	1,65	-
636_205_4	220222	19	11:2	13	5:1	6	6,86	2,91
393_79_3	218220	20	12:3	15	3:2	5	5,78	0,20
695_239_24	216218	20	4:4	8	7:5	12	-	0,33
715_243_23	218220	20	3:13	16	0:4	4	6,74	-
330_55_19	218220	20	11:3	14	6:0	6	4,86	-
557_157_11	216220	19	7:2	9	3:7	10	2,94	1,65
351_67_25	216222	20	8:3	11	4:5	9	2,36	0,11
226_9_15	220222	18	3:2	5	9:4	13	0,20	1,97
309_44_13	216218	20	0:1	1	9:10	19	-	0,05
455_133_17	218220	19	7:4	11	0:8	8	0,83	-
476_134_5	216220	20	7:6	13	5:2	7	0,08	1,33
ECs89								
267_15_1	216240	21	5:2	7	7:7	14	1,33	-
577_162_8	228232	18	1:0	1	12:5	17	-	2,97
246_10_9	224232	20	3:4	7	6:7	13	0,14	0,08
656_214_2	230234	18	3:3	6	7:5	12	-	0,33
518_150_20	222230	17	0:0	0	12:5	17	-	2,97
288_26_6	220232	20	2:0	2	8:10	18	-	0,22
617_195_16	214232	16	1:5	6	4:6	10	2,91	0,40
434_115_10	222226	19	2:6	8	4:7	11	2,09	0,83
497_139_18	222224	20	3:0	3	9:8	17	-	0,06
414_93_14	216224	19	8:5	13	2:4	6	0,70	0,68
372_73_12	216226	20	4:1	5	9:6	15	1,93	0,60
596_165_22	228230	18	5:0	5	6:7	13	-	0,08
636_205_4	216234	20	1:0	1	9:10	19	-	0,05
393_79_3	216228	20	3:1	4	0:16	16	1,05	-
715_243_23	226228	20	9:0	9	1:10	11	-	8,55
330_55_19	228230	20	7:5	12	5:3	8	0,33	0,51
351_67_25	212240	20	0:2	2	3:15	18	-	8,73
226_9_15	222224	18	10:0	10	8:0	8	-	-
309_44_13	230240	20	3:2	5	11:4	15	0,20	3,40
455_133_17	224232	20	1:2	3	9:8	17	0,34	0,06
ECs91								
267_15_1	282nul	15	0:8	8	3:4	7	-	0,14
246_10_9	278nul	4	1:3	4	0:0	0	1,05	-
656_214_2	280290	17	1:15	16	0:1	1	14,70	-
617_195_16	254280	13	4:9	13	0:0	0	1,97	-
497_139_18	278nul	12	6:2	8	0:4	4	2,09	-
372_73_12	254nul	12	2:1	3	0:9	9	0,34	-
393_79_3	254272	15	1:10	11	1:3	4	8,55	1,05
695_239_24	280nul	10	1:6	7	0:3	3	3,96	-
330_55_19	272nul	17	2:7	9	2:6	8	2,94	2,09
351_67_25	268nul	19	3:7	10	4:5	9	1,65	0,11
309_44_13	272nul	18	3:2	5	1:12	13	0,20	10,97
455_133_17	256278	18	4:10	14	1:3	4	2,66	1,05

Probabilidade para a correção de Bonferroni ($\alpha = 0,05/256 = 0,0002$).

4.3.2. Desequilíbrio de ligação

A análise do desequilíbrio de ligação, após a correção de Bonferroni detectou desequilíbrio gamético em dois dos 55 pares de locos simultaneamente nas árvores adultas do pomar e nas progênes (ECc2xECc44 e ECs11xECs89). Nas progênes também foram observados indícios de desequilíbrio de segregação em 26 outros pares de locos. Contudo, como o teste de desequilíbrio de ligação é altamente sensível a grandes tamanhos amostrais, uma sub-amostra de 250 genótipos foi retirada aleatoriamente da amostra de progênes e o teste foi feito (Tabela 6). A sub-amostra detectou desequilíbrio em 30 pares de locos, inclusive para os mesmos dois que mostraram desequilíbrio de ligação nas árvores adultas. O desequilíbrio de ligação não implica obrigatoriamente na ligação física dos locos, ou em outros termos de que estes se encontram dentro do mesmo grupo de ligação, mas sim que certas combinações de alelos aparecem mais frequentemente do que esperado pelo acaso. O desequilíbrio gamético pode ser causado por fatores como deriva genética, efeito fundador, efeito gargalo genético e pelo sistema de reprodução a partir de autofecundações, cruzamentos entre parentes e cruzamentos correlacionados. A população do pomar definitivamente representa um forte efeito fundador, visto que foi originada de descendentes de apenas 25 matrizes australianas de polinização aberta. Estas matrizes da população do pomar foram submetidas a uma seleção desbalanceada dentro de progênes (foram selecionadas de 3 a 29 plantas de cada progênie), as quais, após a recombinação deram origem as respectivas progênes. Como será visto na análise do sistema de reprodução e dispersão de pólen, ocorreram autofecundações, cruzamentos entre parentes e cruzamentos correlacionados e esta é provavelmente a principal causa do desequilíbrio de ligação observado.

Tabela 6. Desequilíbrio de ligação entre os locos em diferentes fases ontogênicas de *Eucalyptus camaldulensis*. Os valores na tabela são as probabilidades após 1.000 permutações. O valor limite de significância após correção de Bonferroni é 0,0003.

Pares de locos	Adultos do pomar	Progênes (n=485)	Progênes (n=250)
ECc2XECc3	0,30273	0,00030	0,00030
ECc2XECc4	0,23576	0,00818	0,00576
ECc2XECs11	0,63485	0,00061	0,00030
ECc2XECc27	0,13394	0,09273	0,16485
ECc2XECc31	0,01424	0,00030	0,00030
ECc2XECc44	0,00030	0,00030	0,00030
ECc2XECc46	0,50970	0,21121	0,09606
ECc2XECc64	0,65455	0,00030	0,00030
ECc2XECs89	0,00848	0,00182	0,00030
ECc2XECs91	0,98667	0,00030	0,00030
ECc3XECc4	0,47061	0,00030	0,00030
ECc3XECs11	0,13818	0,00030	0,00030
ECc3XECc27	0,29242	0,26152	0,50545
ECc3XECc31	0,51424	0,00030	0,00030
ECc3XECc44	0,04091	0,00030	0,00030
ECc3XECc46	0,54121	0,10758	0,00273
ECc3XECc64	0,42697	0,01485	0,04970
ECc3XECs89	0,36364	0,00030	0,00030
ECc3XECs91	0,15121	0,00030	0,00030
ECc4XECs11	0,18848	0,00030	0,00030
ECc4XECc27	0,54667	0,29636	0,06758
ECc4XECc31	0,41212	0,00061	0,00030
ECc4XECc44	0,22121	0,00485	0,00030
ECc4XECc46	0,95818	0,27212	0,54818
ECc4XECc64	0,98303	0,01091	0,16848
ECc4XECs89	0,24939	0,00030	0,00030
ECc4XECs91	0,55788	0,00030	0,00030
ECs11XECc27	0,66788	0,21788	0,51121
ECs11XECc31	0,62061	0,00030	0,00030
ECs11XECc44	0,00545	0,00030	0,00030
ECs11XECc46	0,73909	0,02576	0,00818
ECs11XECc64	0,17242	0,00030	0,00333
ECs11XECs89	0,00030	0,00030	0,00030
ECs11XECs91	0,20939	0,00030	0,00030
ECc27XECc31	0,18576	0,36424	0,12758
ECc27XECc44	0,45273	0,05424	0,00182
ECc27XECc46	0,36818	0,48848	0,19061
ECc27XECc64	0,40758	0,26758	0,08848
ECc27XECs89	0,73485	0,06879	0,00545
ECc27XECs91	0,84394	0,00061	0,00030
ECc31XECc44	0,08818	0,00030	0,00030
ECc31XECc46	0,75394	0,37242	0,26333
ECc31XECc64	0,80091	0,00515	0,00727
ECc31XECs89	0,32667	0,00030	0,00030
ECc31XECs91	0,93333	0,00030	0,00030
ECc44XECc46	0,66455	0,06636	0,07394
ECc44XECc64	0,27576	0,00030	0,00576
ECc44XECs89	0,25515	0,00030	0,00030
ECc44XECs91	0,74970	0,00030	0,00030
ECc46XECc64	0,79000	0,34909	0,27758
ECc46XECs89	0,56121	0,00030	0,02455
ECc46XECs91	0,45879	0,03121	0,02333
ECc64XECs89	0,15455	0,00030	0,00030
ECc64XECs91	0,20576	0,00030	0,00333
ECs89XECs91	0,28606	0,00030	0,00030

4.3.3. Diversidade genética da amostra total

Na amostra total de 735 indivíduos (adultos+progênes), após a adição de alelos nulos aos locos ECs11, ECc44 e ECs91 foram observados 116 alelos (Tabela 7). O número de alelos por locos foi relativamente alto, variando de 3 a 18, com média de 10,5 alelos. O número efetivo de alelos por locos foi muito menor do que o número de alelos nos locos, o que indica que embora existam muitos alelos nos locos, muitos tem baixa frequência. A heterozigosidade observada foi alta, variando de 0,414 a 0,928, com média de 0,692. A heterozigosidade esperada foi igualmente alta, variando de 0,340 a 0,928, com média de 0,724. O índice de fixação variou de -0,218 a 0,319, com média de 0,044. Os dois locos com maior índice de fixação (ECc44 e ECs91) também apresentaram a maior estimativa da frequência de alelos nulos ($>0,1$), mesmo após a adição de um novo alelo nulo aos locos ECs11, ECc44 e ECs91. Como alelos nulos em frequências altas podem gerar erros na análise de parentesco (maternidade e paternidade), e como os locos ECc44 e ECs91 tinham aparentemente tais alelos em frequência superior a 10%, optou-se por sua exclusão.

Tabela 7. Resultados da diversidade genética, índice de fixação para a amostra total do pomar e do teste de progênes de *E. camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; k é o número total de alelos em cada loco e para todos os locos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação.

Loco	n	k	A_e	H_o	H_e	F	Alelos nulos
ECc2	699	13	3,85	0,734	0,740	0,008	0,0052
ECc3	705	18	13,89	0,901	0,928	0,029	0,0145
ECc4	709	8	1,87	0,508	0,466	-0,090**	-0,0731
ECs11	698	12	7,46	0,769	0,866	0,112***	0,0627
ECc27	715	3	1,86	0,517	0,462	-0,119**	-0,0566
ECc31	697	9	4,78	0,770	0,791	0,026	0,0110
ECc44	583	15	9,80	0,678	0,898	0,245***	0,1388
ECc46	718	3	1,52	0,414	0,340	-0,218***	-0,1101
ECc64	720	4	3,16	0,796	0,684	-0,164***	-0,0837
ECs89	719	16	10,64	0,928	0,906	-0,024	-0,0133
ECs91	595	15	8,77	0,603	0,886	0,319***	0,1755
Média	--	10,5	6,15	0,692	0,724	0,044	
Total	735	116					

4.3.4. Diversidade genética e índice de fixação

Excluindo os locos ECc44 e ECs91, nenhum alelo exclusivo foi observado no pomar de sementes e nem na amostra do teste de progênies, sugerindo ausência de imigração de alelos (pólen). Um mesmo número total de alelos (87) e média de alelos por locos (9,20) foi observado no pomar de sementes e no teste de progênies (Tabela 8), o que indica que todos os alelos presentes na população parental (pomar de sementes) foram transmitidos para a geração descendente (teste de progênies), independentemente de sua frequência. O número efetivo de alelos por locos foi sempre menor do que o número médio de alelos por locos, o que novamente indica que embora existam muitos alelos nos locos a grande maioria tem baixa frequência. Contudo, de acordo com o intervalo de confiança a 95%, calculado via reamostragem *jackknife*, o número efetivo de alelos por locos não foi diferente entre adultos e progênies. Por outro lado, a heterozigosidade observada foi significativamente maior nos adultos ($\hat{H}_o=0,730$) do que nas progênies ($\hat{H}_o=0,662$), sugerindo uma redução na diversidade genética entre as gerações. A heterozigosidade esperada, por sua vez, também não foi diferente entre adultos ($\hat{H}_e=0,700$) e progênies ($\hat{H}_e=0,657$), embora o valor estimado para os adultos também tenha sido maior. Nos adultos, o índice de fixação foi negativo em todos os nove locos, sugerindo excesso de heterozigotos. Já nas progênies, o índice de fixação apresentou valores variando entre locos de negativos a positivos, sugerindo em alguns casos, excesso de heterozigotos e em outros de homozigotos. Por sua vez, a média entre locos foi negativa, em adultos e progênies, o que indica ausência de endogamia, mas significativamente diferente de zero apenas para adultos. Entretanto, a média estimada para adultos difere significativamente da média estimada para progênies, o que sugere a ocorrência de seleção para heterozigotos entre a fase de progênies e a fase adulta.

A probabilidade combinada de não exclusão estimada para as árvores do pomar (Tabela 8), ou em outros termos o poder de não excluir o verdadeiro parental paterno de uma planta amostrada foi extremamente baixo (0,0002), o que indica que o conjunto dos nove locos tem alto poder de resolução para análise de paternidade. Em concordância, a probabilidade combinada de identidade para os adultos do pomar, que é a probabilidade que o genótipo de um indivíduo ser idêntico ao genótipo de outro indivíduo (Marshall et al., 1998), foi também extremamente baixa ($1,11^{-10}$), o que indica que todos os 250

genótipos do respectivo pomar eram únicos. Isso é favorável a análise de paternidade por poder evitar ambigüidades durante a mesma.

Tabela 8. Resultados da diversidade genética, índice de fixação e poder de exclusão do segundo parente em uma população base e em 25 progênies de polinização aberta (originadas de matrizes selecionadas da população base) de *E. camaldulensis*. (n é o tamanho da amostra; k é o número total de alelos em cada loco e para todos os locos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação; $P_{2^\circ \text{ parente}}$ é o probabilidades de excluir o segundo parente (quando um dos parentes é conhecido).

Loco	n	k	A_e	H_o	H_e	F	$P_{2^\circ \text{ parente}}$
Adultos							
ECc2	236	13	5,29	0,843	0,811	-0,039	0,658
ECc3	241	18	14,71	0,934	0,932	-0,002	0,858
ECc4	242	8	2,19	0,628	0,544	-0,154*	0,356
ECs11	242	13	8,40	0,926	0,881	-0,051	0,763
ECc27	245	3	1,92	0,473	0,479	0,012	0,199
ECc31	240	9	4,69	0,821	0,787	-0,043	0,585
ECc46	233	3	1,42	0,343	0,297	-0,155*	0,149
ECc64	245	4	2,97	0,796	0,663	-0,201*	0,409
ECs89	245	16	10,87	0,963	0,908	-0,061*	0,811
Média		9,7	5,83	0,747	0,700	-0,067	
Total	250	87	--	--	--	--	0,0002
-EP(95%)		9,20	5,45	0,730	0,682	-0,083	
+EP(95%)		10,13	6,20	0,765	0,718	-0,071	
Progênies							
Loco	n	k	A_e	H_o	H_e	F	
ECc2	445	13	3,30	0,670	0,697	0,039	
ECc3	445	18	13,16	0,897	0,924	0,029	
ECc4	448	8	1,67	0,431	0,400	-0,077	
ECs11	437	13	7,14	0,684	0,860	0,205 *	
ECc27	451	3	1,81	0,525	0,447	-0,174 *	
ECc31	438	9	4,74	0,737	0,789	0,066	
ECc46	466	3	1,56	0,451	0,360	-0,253 *	
ECc64	457	4	3,27	0,792	0,694	-0,141 *	
ECs89	456	16	10,31	0,906	0,903	-0,003	
Média	466	9,7	5,22	0,677	0,675	-0,003	
Total	485	87					
-EP(95%)		9,20	4,88	0,662	0,657	-0,014	
+EP(95%)		10,13	5,56	0,692	0,693	0,009	

* $P < 0,05$.

4.3.5. Sistema de reprodução

Parâmetros dos sistemas de reprodução foram estimados após a seleção dentro de progênies no pomar de sementes e para as progênies oriundas do cruzamento entre as árvores remanescentes, após a seleção no pomar de sementes (Tabelas 9, 10 e 11). No pomar de sementes, a estimativa da taxa populacional de cruzamento multilocos foi igual à unidade ($t_m = 1$), a diferença entre a taxa de cruzamento multilocos e unilocos não foi diferente de zero ($t_m - t_s = 0$), sugerindo ausência de cruzamentos entre parentes e a correlação multilocos de paternidade não foi estatisticamente diferente de zero ($r_{p(m)} = 0$), sugerindo que as progênies são meios-irmãs. De acordo com estes resultados as árvores do pomar foram todas geradas por cruzamentos (t_m) entre indivíduos não parentes e todas tiveram um diferente parental paterno, ou seja, são meios-irmãs. Contudo, as estimativas da taxa de cruzamento multilocos, em nível de plantas individuais (Tabela 10), variou entre 0,937 a 0,999, sendo significativamente diferente da unidade em 24 das 25 progênies, indicando que ocorreram algumas autofecundações. A estimativa da diferença $t_m - t_s$ em nível de progênies foi significativamente diferente de zero em todas as progênies, sugerindo que ocorreram cruzamentos entre parentes. A estimativa da correlação multilocos de paternidade foi também significativamente diferente de zero em 19 progênies, com valores variando de 0,006 a 0,099, o que indica que algumas das plantas selecionadas dentro das progênies eram parentes como irmãs completas. O número efetivo de doadores de pólen foi alto ($N_{ep} = 76,92$) e o coeficiente de coancestria dentro de progênies em nível populacional foi próximo ao esperado em progênies de meios-irmãos ($\Theta = 0,126$). Entretanto, em nível de plantas individuais, o número de doadores de pólen variou entre 7,69 a 166,67 e o coeficiente de coancestria variou entre 0,127 a 0,152. Portanto, embora as estimativas multilocos sugiram que a variância genética entre progênies no respectivo pomar estima aparentemente $\frac{1}{4}$ da variância genética aditiva, quando se observa os valores em nível de plantas, conclui-se que isso não é verdadeiro e a variância genética entre progênies estima menos variância genética aditiva. Por isso, sugere-se neste caso utilizar o máximo coeficiente de coancestria para obter-se uma estimativa conservadora da covariância genética aditiva dentro de progênies (coeficiente de parentesco, \hat{r}_{xy}), ou seja, utilizar o valor de 0,152, o que resulta no valor 0,304 para a correlação de parentesco dentro de progênies.

Em consequência da ocorrência de autofecundações e cruzamentos correlacionados, o tamanho efetivo de variância variou entre progênes de 3,30 a 3,93 (Tabela 10), com média de 3,59 (Tabela 9). Portanto, o tamanho efetivo foi menor do que esperado em progênes de populações panmíticas.

É importante ressaltar que estes parâmetros do sistema de reprodução, estimado para as árvores do pomar de sementes não correspondem aos verdadeiros valores de cruzamento e cruzamentos correlacionados que ocorreram durante o processo de reprodução nas populações parentais Australianas, visto que foram estimados em árvores adultas, que possivelmente tenham sofrido seleção natural, entre o momento da fertilização e o momento de análise dos marcadores, além da seleção artificial favorecendo as árvores com maiores valores genéticos para caracteres de crescimento e forma. Por outro lado, estes resultados também sugerem que árvores de autofecundação e de cruzamentos entre parentes apresentam fenótipo inferior a árvores de cruzamentos entre indivíduos não parentes, e por isso, não foram selecionadas para comporem o pomar de sementes.

Por outro lado, a análise do evento reprodutivo no pomar de sementes após a seleção das árvores superiores (Tabela 9) detectou taxa populacional de cruzamento multilocos significativamente diferente da unidade ($\hat{t}_m=0,952$), o que mostra que ocorreram autofecundações. Em concordância, a taxa de cruzamento multilocos estimada em nível de progênes variou de 0,737 a 0,988 (Tabela 11), sendo significativamente diferente da unidade em todas as 25 progênes, o que confirma que algumas plantas dentro das progênes foram geradas por autofecundações e que a espécie *E. camaldulensis* apresenta um sistema misto de reprodução, combinando autofecundações com cruzamentos.

A diferença entre a estimativa da taxa de cruzamento multilocos e unilocos nas progênes foi significativamente diferente de zero ($\hat{t}_m - \hat{t}_s=0,070$), o que indica que ocorrem cruzamentos entre indivíduos parentes. Este resultado foi confirmado pela estimativa da diferença $t_m - t_s$ em nível de plantas individuais (Tabela 11), quando se observou valores significativamente diferentes de zero em 17 das 25 progênes, com valores variando de 0,047 a 0,101. Este resultado era esperado, visto que no pomar de sementes permanece um grande número de indivíduos parentes (3 a 29 indivíduos por progênie). Portanto, parte das plantas do teste de progênes apresenta endogamia, ou devido autofecundações ($\hat{F}_s=0,5$) ou devido ao cruzamento entre parentes ($\hat{F}_{m-s}=0,125$,

visto que foi observado que as plantas dentro das progênies do pomar eram parentes como meios-irmãos).

A estimativa da correlação multilocos de paternidade em nível populacional (Tabela 9) foi relativamente baixa ($r_{p(m)}=0,089$), mas significativamente diferente de zero ($P<0,05$), indicando que parte das progênies são parentes no grau de irmãos-completos. Já a estimativa em nível de plantas individuais, variou de 0,037 a 0,267, sendo significativamente diferente de zero em todas as 25 progênies, confirmando a presença de certa proporção de irmãos-completos dentro das progênies.

A diferença entre a estimativa da correlação unilocos e multilocos de paternidade foi significativamente diferente de zero em 12 das 25 progênies (Tabela 11), indicando que algumas das árvores polinizadoras que fecundaram as árvores matrizes onde foram coletadas sementes eram parentes entre si. Este resultado, da mesma forma como eram esperados cruzamentos entre parentes devido existir uma estrutura de progênies no pomar, o cruzamento entre irmãos com a mesma árvore matriz também era esperado. Isto implica no aumento da proporção de alelos paternos idênticos por descendências dentro das progênies e afeta o tamanho efetivo dentro das mesmas.

O número efetivo de árvores polinizadoras foi alto e estimado em nível de progênies entre 3,74 a 27,02, com média populacional de 11,24. Por sua vez, as autofecundações e os cruzamentos correlacionados geraram um coeficiente de coancestria dentro de progênies variando entre árvores matrizes de 0,134 a 0,232, com média de 0,154, o que implica na utilização do coeficiente de parentesco de 0,308 para estimar a variância genética aditiva no respectivo teste de progênies. O tamanho efetivo dentro das progênies foi igualmente menor do que o esperado em populações panmíticas (variando de 2,03 a 3,27), com média populacional de 3,02. Em consequência disso, para reter amostras de progênies com tamanho efetivo de 150, seria necessário, coletar sementes de pelo menos 50 árvores matrizes.

Tabela 9. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 250 matrizes selecionadas do pomar de sementes e 25 progênies de um teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis*, instalados em Selvíria, MS.

Parâmetro	Pomar de Sementes	Progênies
Número de árvores matrizes	25	25
Número total de descendentes: n	3 - 29	18 - 20
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	1 (1-1)	0,952 (0,925-0,974)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,996 (0,995-1)	0,882 (0,855-0,919)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,004 (0-0,005)	0,070 (0,055-0,070)
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,013 (0-0,025)	0,089 (0,057-0,111)
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	76,92 (40-infinito)	11,24 (9,00-17,54)
Coancestria média dentro de progênies: Θ	0,126 (0,125-0,128)	0,154 (0,152-0,158)
Parentesco dentro das progênies: \hat{r}_{xy}	0,253 (0,250-0,256)	0,308 (0,303-0,317)
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	3,59 (3,56-3,64)	3,02 (2,97-3,06)
Número de matrizes: m	42 (41-42)	50 (49-51)

Sendo: m é o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter o tamanho efetivo de 150; IC=95%.

Tabela 10. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 25 matrizes de uma população base de *Eucalyptus camaldulensis*, instalada em Selvíria-MS. t_m é a taxa de cruzamento multilocus; $t_m - t_s$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocus de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênies; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da matriz; média \pm erro padrão da média 95% de probabilidade.

Matriz	t_m	$t_m - t_s$	$r_{p(m)}$	N_{ep}	Θ	$N_{e(v)}$
1	0,937 \pm 0,016	0,027 \pm 0,012	0,095 \pm 0,004	10,53	0,152	3,30
2	0,954 \pm 0,016	0,039 \pm 0,012	0,099 \pm 0,062	10,10	0,148	3,38
3	0,979 \pm 0,008	0,059 \pm 0,020	0,046 \pm 0,016	21,74	0,136	3,68
4	0,982 \pm 0,006	0,064 \pm 0,032	0,130 \pm 0,140	7,69	0,145	3,44
5	0,937 \pm 0,016	0,035 \pm 0,026	0,094 \pm 0,004	10,64	0,152	3,30
6	0,954 \pm 0,016	0,036 \pm 0,014	0,083 \pm 0,012	12,05	0,146	3,42
7	0,954 \pm 0,016	0,040 \pm 0,016	0,081 \pm 0,012	12,35	0,146	3,43
8	0,945 \pm 0,016	0,042 \pm 0,034	0,101 \pm 0,016	9,90	0,150	3,32
9	0,966 \pm 0,012	0,044 \pm 0,016	0,090 \pm 0,054	11,11	0,144	3,47
10	0,975 \pm 0,008	0,040 \pm 0,012	0,051 \pm 0,016	19,61	0,137	3,64
11	0,999 \pm 0,002	0,023 \pm 0,010	0,015 \pm 0,024	66,67	0,127	3,93
12	0,971 \pm 0,012	0,039 \pm 0,012	0,077 \pm 0,040	12,99	0,141	3,54
13	0,954 \pm 0,016	0,039 \pm 0,026	0,081 \pm 0,012	12,35	0,146	3,43
14	0,937 \pm 0,016	0,044 \pm 0,030	0,094 \pm 0,004	10,64	0,152	3,30
15	0,946 \pm 0,016	0,043 \pm 0,028	0,091 \pm 0,008	10,99	0,149	3,35
16	0,990 \pm 0,002	0,051 \pm 0,026	0,023 \pm 0,010	43,48	0,130	3,84
17	0,975 \pm 0,008	0,032 \pm 0,010	0,057 \pm 0,018	17,54	0,138	3,62
18	0,992 \pm 0,004	0,040 \pm 0,014	0,016 \pm 0,020	62,50	0,129	3,88
19	0,979 \pm 0,008	0,050 \pm 0,022	0,060 \pm 0,044	16,67	0,137	3,64
20	0,995 \pm 0,002	0,025 \pm 0,010	0,023 \pm 0,024	43,48	0,129	3,87
21	0,997 \pm 0,002	0,061 \pm 0,028	0,013 \pm 0,022	76,92	0,127	3,93
22	0,994 \pm 0,004	0,031 \pm 0,012	0,006 \pm 0,002	166,67	0,127	3,93
23	0,990 \pm 0,002	0,069 \pm 0,038	0,032 \pm 0,034	31,25	0,131	3,80
24	0,946 \pm 0,016	0,021 \pm 0,012	0,088 \pm 0,008	11,36	0,149	3,36
25	0,982 \pm 0,006	0,048 \pm 0,010	0,051 \pm 0,038	19,61	0,136	3,68

Tabela 11. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em 25 matrizes de uma população base de *Eucalyptus camaldulensis*, instalada em Selvíria-MS. t_m é a taxa de cruzamento multilocus; $t_m - t_s$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocus de paternidade; $r_{p(s)} - r_{p(m)}$ mede a ocorrência de parentesco entre as polinizadoras efetivas; N_{ep} é o número efetivo de polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênies; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da matriz; média \pm erro padrão da média 95% de probabilidade.

Matriz	t_m	$t_m - t_s$	$r_{p(m)}$	$r_{p(s)} - r_{p(m)}$	N_{ep}	Θ	$N_{e(v)}$
226_9_15	0,943 \pm 0,038	0,010 \pm 0,031	0,267 \pm 0,079	-0,113 \pm 0,056	3,74	0,185	2,49
246_10_9	0,946 \pm 0,040	0,079 \pm 0,033	0,045 \pm 0,013	0,047 \pm 0,011	22,22	0,151	2,97
267_15_1	0,737 \pm 0,084	-0,064 \pm 0,053	0,060 \pm 0,013	0,038 \pm 0,011	16,67	0,232	2,04
288_26_6	0,905 \pm 0,055	0,008 \pm 0,041	0,081 \pm 0,029	0,020 \pm 0,024	12,35	0,172	2,65
309_44_13	0,988 \pm 0,000	0,077 \pm 0,015	0,039 \pm 0,014	0,045 \pm 0,013	25,64	0,134	3,27
330_55_19	0,904 \pm 0,055	0,019 \pm 0,039	0,037 \pm 0,011	0,051 \pm 0,009	27,03	0,166	2,74
351_67_25	0,946 \pm 0,037	0,057 \pm 0,028	0,091 \pm 0,034	0,011 \pm 0,028	10,99	0,158	2,86
372_73_12	0,905 \pm 0,057	0,047 \pm 0,038	0,054 \pm 0,017	0,037 \pm 0,014	18,52	0,168	2,71
393_79_3	0,988 \pm 0,000	0,101 \pm 0,021	0,055 \pm 0,027	0,033 \pm 0,024	18,18	0,136	3,23
414_93_14	0,953 \pm 0,036	0,065 \pm 0,034	0,071 \pm 0,031	0,018 \pm 0,024	14,08	0,152	2,95
434_115_10	0,904 \pm 0,056	0,038 \pm 0,041	0,080 \pm 0,029	0,017 \pm 0,023	12,50	0,172	2,65
455_133_17	0,946 \pm 0,038	0,050 \pm 0,026	0,069 \pm 0,021	0,033 \pm 0,016	14,49	0,155	2,91
476_134_5	0,946 \pm 0,041	0,031 \pm 0,030	0,082 \pm 0,031	0,015 \pm 0,025	12,19	0,157	2,88
497_139_18	0,988 \pm 0,000	0,085 \pm 0,017	0,062 \pm 0,024	0,029 \pm 0,018	16,13	0,137	3,21
518_150_20	0,943 \pm 0,038	0,055 \pm 0,025	0,181 \pm 0,057	-0,064 \pm 0,049	5,52	0,172	2,65
538_152_7	0,985 \pm 0,003	0,060 \pm 0,012	0,092 \pm 0,032	0,009 \pm 0,024	10,87	0,142	3,12
557_157_11	0,943 \pm 0,040	0,031 \pm 0,026	0,042 \pm 0,014	0,045 \pm 0,011	23,81	0,152	2,95
577_162_8	0,985 \pm 0,003	0,086 \pm 0,017	0,160 \pm 0,064	-0,044 \pm 0,056	6,25	0,151	2,96
596_165_22	0,988 \pm 0,000	0,081 \pm 0,016	0,043 \pm 0,011	0,051 \pm 0,009	23,26	0,135	3,26
617_195_16	0,851 \pm 0,070	-0,029 \pm 0,051	0,090 \pm 0,030	0,008 \pm 0,024	11,11	0,195	2,38
636_205_4	0,986 \pm 0,000	0,071 \pm 0,014	0,128 \pm 0,051	-0,008 \pm 0,038	7,81	0,147	3,04
656_214_2	0,988 \pm 0,000	0,109 \pm 0,018	0,056 \pm 0,016	0,034 \pm 0,013	17,86	0,137	3,23
677_235_21	0,977 \pm 0,003	0,062 \pm 0,010	0,093 \pm 0,039	0,007 \pm 0,033	10,75	0,146	3,06
695_239_24	0,974 \pm 0,012	0,056 \pm 0,014	0,074 \pm 0,022	0,023 \pm 0,019	13,51	0,144	3,08
715_243_23	0,982 \pm 0,004	0,085 \pm 0,017	0,140 \pm 0,062	-0,035 \pm 0,051	7,14	0,150	2,99

4.3.6. Análise do fluxo gênico contemporâneo

A probabilidade de fluxo gênico crítico teórico no pomar foi estimado em apenas 4,8%, o que sugere que poucas plantas ($485 \times 0,048 = 23$) podem ter o parental paterno determinado erroneamente. Todas as 485 sementes coletadas tinham um possível parente paterno dentro do pomar de sementes, o que indica ausência de contaminação de

pólen externo (Tabela 12). Das 485 sementes coletadas no pomar, 437 (90%) tiveram o pai determinado com uma confiança de 95% de probabilidade e as demais com 80%. Estas progênes parecem ter sido polinizadas por 194 (78%) das 250 árvores do pomar. Cada um destes putativos parentes paternos foi pai de pelo menos uma semente, sendo que um indivíduo foi aparentemente o pai de 13 sementes. Dezesete plantas tiveram também a mesma árvore materna determinada como parental paterno, portanto representam plantas de autofecundação (3%).

O índice de fixação foi estimado para as árvores matrizes (Tabela 12) com o intuito de estimar o coeficiente de coancestria. Valores negativos foram assumidos como zero, visto que o estimador de coancestria foi derivado para incluir o coeficiente de endogamia das árvores maternas e não o índice de fixação. Cinco das 25 matrizes apresentavam aparentemente endogamia, variando de 0,068 a 0,189.

O número efetivo de doadores de pólen (Tabela 12) foi estimado diretamente, contando o número de árvores polinizadoras que fertilizaram cada árvore matriz e utilizando o estimador não viesado de Nielsen et al. (2003). A estimativa direta detectou de 4,46 a 19 doadores de pólen por árvore matriz, com média de 13,81 doadores de pólen. A estimativa não viesada, por sua vez, indicou um número muito maior, variando de 5,37 a 171, com média de 47,75 doadores de pólen. Estes resultados indicam que grande número de árvores cruzaram com cada uma das árvores matrizes, visto que foram avaliadas 20 sementes por árvore matriz. Em consequência disso, a correlação de paternidade estimada do número de doadores de pólen não viesado foi relativamente baixo, variando de 0,006 a 0,186, com média de 0,136. Estes resultados são mais conservadores do que os estimado diretamente via modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989).

O coeficiente de coancestria estimado dentro das progênes variou de 0,126 a 0,272, com média de 0,149. Consequentemente, o tamanho efetivo de variância variou de 1,77 a 3,45, com média de 3,06. Estes valores são inferiores aos estimados via parâmetros do sistema de reprodução, sugerindo que as estimativas diretas possam ser mais conservadoras que estimativas indiretas. Entretanto, alguns parâmetros mostraram forte associação entre os valores estimados pelos dois métodos. Por exemplo, o número efetivo de doadores de pólen estimado via parâmetros do sistema de reprodução e diretamente da análise de paternidade e em relação ao método não viesado, tiveram ambos correlação de 0,66. A correção entre a correlação de paternidade, estimada via modelo de cruzamentos correlacionados e análise de paternidade apresentou correlação de alta ($r=0,78$, $P<0,05$), da

mesma forma que o coeficiente de coancestria ($r=0,80$, $P<0,05$) e o tamanho efetivo ($r=0,70$, $P<0,05$).

O pólen foi disperso relativamente a grandes distâncias dentro do pomar de sementes. A distância média e mediana de dispersão de pólen foi 84 m, com mínimo de 3 m, excluindo autofecundações e máximo de 238 m. Entre matrizes, a distância média de dispersão de pólen variou de 35 a 115 m. No total, 50% do pólen foi disperso dentro da distância de 100 m e 92% dentro da distância de 200 m. A comparação da curva de frequência efetiva de dispersão de pólen e a curva de frequência de distâncias entre as árvores do pomar em relação às 25 árvores matrizes (Figura 3) não foi significativamente diferente pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ($D = 0,053$), o que indica que a distância entre as árvores explica o padrão de dispersão de pólen observado.

Por sua vez, a área efetiva de vizinhança de polinização (A_{ep}) dentro do pomar de sementes variou de 0,71 a 3,74 ha, com média de 1,74 ha (Tabela 12). Este resultado mostra que a área de atuação dos polinizadores, no caso abelhas é grande dentro do pomar o que é altamente favorável à recombinação da diversidade genética da população selecionada.

Como o pedigree da população que compõe o pomar era conhecida, visto tratar-se de um teste de progênes que foi transformado em um pomar de sementes por mudas, foi possível estimar diretamente os níveis de endogamia gerados por autofecundação e por cruzamentos entre parentes. Assim, estimou-se o coeficiente de coancestria entre os parentes, que deveria ser de no mínimo 0,125, no caso de progênes de meios irmãos e que deve corresponder ao coeficiente de endogamia estimado nas plantas do teste de progênes. O coeficiente de coancestria entre os parentes do pomar de sementes variou de -0,100 a 0,293, com média de 0,095. O índice de fixação dos descendentes de cruzamentos entre parentes variou entre -0,219 a 0,472, com média de 0,087.

Igualmente, a estimativa do coeficiente de endogamia nas progênes devido autofecundação (Tabela 13), que deveria ser de pelo menos 0,5, a partir da estimativa do índice de fixação variou de 0,017 a 0,703, com média de 0,326. As grandes diferenças entre os valores observados e os esperados se devem a dificuldades em estimar medidas de parentesco e de endogamia de dados genéticos moleculares. Estimativas próximas a valores esperados podem ser obtidas com a utilização de grande número de locos (>20).

Finalmente, foi estimado o coeficiente de coancestria para o conjunto das 485 progênes e o seu respectivo tamanho efetivo (Tabela 14). O coeficiente de coancestria foi

relativamente alto, 0,01603, o que se traduziu no tamanho efetivo de 29,41, ou seja, as 485 progênies das 25 árvores matrizes, devido ao parentesco entre pais, autofecundações, cruzamentos correlacionados, presença de irmãos paternos, além dos maternos correspondem a apenas 30 árvores não parentes e não endogâmicas. Portanto, se objetivo fosse obter um lote de sementes ou implantar um teste de progênies como tamanho efetivo de 150, seria necessário coletar sementes de pelo menos 128 árvores do respectivo pomar de sementes. Em suma, pode-se afirmar que as 136 progênies amostradas no pomar, que formaram o teste de progênies, correspondem a um tamanho efetivo de 150.

Tabela 12. Estimativa do fluxo de pólen e da estrutura genética dentro de progênie de uma população de *Eucalyptus camaldulensis*. F_m é o coeficiente de endogamia das árvores maternas; S é a taxa de autofecundação; N_{ep} é o número efetivo de árvores polinizadoras, calculados apenas contando o número detectado de doadores de pólen e pelo método de Nielsen et al. (2003); r_p é correlação de paternidade; Θ é a coancestria dentro de progênie; N_e é o tamanho efetivo da progênie; δ é a distância de dispersão de pólen (média \pm desvio padrão da média); A_{ep} é a área de vizinhança de polinização.

Matriz	F_m	n	Fluxo gênico		s	N_{ep}	N_{ep} Nielsen	r_p	Θ	N_e	δ (\pm SD) (m)	A_{ep} (ha)
			Dentro	Fora								
226_9_15	0,083	19	19	0	0 (0,00)	4,46	5,37	0,186	0,161	2,80	61 \pm 76	3,59
246_10_9	0,000	20	20	0	1 (0,05)	15,70	50,97	0,020	0,152	2,95	83 \pm 53	1,76
267_15_1	0,000	20	20	0	6 (0,30)	8,91	14,20	0,070	0,272	1,77	35 \pm 39	0,97
288_26_6	0,000	20	20	0	1 (0,05)	14,44	39,34	0,025	0,153	2,94	51 \pm 39	0,95
309_44_13	0,000	20	20	0	0 (0,00)	18,18	95,25	0,010	0,126	3,45	77 \pm 39	0,96
330_55_19	0,000	20	20	0	1 (0,05)	15,70	50,97	0,020	0,152	2,95	82 \pm 51	1,61
351_67_25	0,000	20	20	0	0 (0,00)	13,33	31,81	0,031	0,129	3,39	109 \pm 77	3,74
372_73_12	0,000	20	20	0	0 (0,00)	18,18	95,25	0,010	0,126	3,45	82 \pm 37	0,87
393_79_3	0,000	19	19	0	0 (0,00)	14,44	42,94	0,023	0,128	3,39	103 \pm 57	2,03
414_93_14	0,000	19	19	0	0 (0,00)	15,70	57,22	0,017	0,127	3,41	73 \pm 38	0,89
434_115_10	0,000	20	20	0	2 (0,10)	14,73	41,65	0,024	0,177	2,59	79 \pm 49	1,50
455_133_17	0,000	20	20	0	0 (0,00)	12,50	27,27	0,037	0,130	3,38	80 \pm 45	1,27
476_134_5	0,084	20	20	0	1 (0,05)	9,76	16,60	0,060	0,170	2,68	84 \pm 64	2,56
497_139_18	0,000	20	20	0	0 (0,00)	12,50	27,27	0,037	0,130	3,38	68 \pm 34	0,71
518_150_20	0,000	19	19	0	0 (0,00)	10,31	19,10	0,052	0,132	3,31	115 \pm 62	2,42
538_152_7	0,189	18	18	0	0 (0,00)	11,57	25,64	0,039	0,154	2,88	66 \pm 48	1,46
557_157_11	0,000	19	19	0	0 (0,00)	19,00	171,00	0,006	0,126	3,44	109 \pm 64	2,54
577_162_8	0,129	18	18	0	0 (0,00)	11,57	25,64	0,039	0,147	3,01	75 \pm 35	0,79
596_165_22	0,000	19	19	0	0 (0,00)	17,19	85,75	0,012	0,126	3,42	73 \pm 34	0,73
617_195_16	0,000	18	18	0	2 (0,11)	12,80	33,03	0,030	0,183	2,50	76 \pm 53	1,77
636_205_4	0,068	19	19	0	0 (0,00)	8,80	14,33	0,070	0,143	3,09	104 \pm 62	2,45
656_214_2	0,000	20	20	0	1 (0,05)	18,38	70,22	0,014	0,150	2,99	113 \pm 72	3,27
677_235_21	0,000	19	19	0	0 (0,00)	14,44	42,94	0,023	0,128	3,39	91 \pm 55	1,93
695_239_24	0,000	19	19	0	1 (0,05)	15,70	57,22	0,017	0,153	2,92	103 \pm 54	1,84
715_243_23	0,000	20	20	0	1 (0,05)	16,96	52,69	0,019	0,151	2,98	93 \pm 38	0,91
Média	0,022 \pm 0,049	--	--	--	--	13,81 \pm 3,56	47,75 \pm 35,44	0,036 \pm 0,036	0,149 \pm 0,031	3,06 \pm 0,44	84 \pm 55	1,74 \pm 0,90
Total		485	485	0	17 (0,03)	--	--	--	--	--	--	--

Tabela 13. Estimativa da distância (δ), da coancestria (θ_{xy}) e do coeficiente de endogamia entre árvores parentes que se cruzaram e estimativa da endogamia em progênie de autofecundação. (F_{tm-ts} é o índice de fixação por cruzamento entre parentes; F_s é o índice de fixação por autofecundação).

Progênie	Matriz	Candidato a pai	δ (m)	θ_{xy}	F_{tm-ts}	Progênie	Matriz	F_s
9_15_19	9_15	97_15	50	0,162	0,019	10_9_13	10_9	0,338
10_9_4	10_9	33_9	84	0,071	0,253	15_1_6	15_1	0,526
10_9_19	10_9	145_9	58	0,168	0,159	15_1_16	15_1	0,334
10_9_20	10_9	145_9	58	0,168	0,157	15_1_17	15_1	0,051
15_1_9	15_1	136_1	95	0,063	0,183	15_1_18	15_1	0,703
44_13_14	44_13	244_13	93	0,020	-0,138	15_1_19	15_1	0,180
55_19_11	55_19	29_19	164	0,029	-0,018	15_1_20	15_1	0,334
79_3_19	79_3	240_3	210	0,110	-0,068	26_6_14	26_6	0,217
133_17_9	133_17	217_17	51	0,157	0,281	55_19_8	55_19	0,655
133_17_16	133_17	135_17	36	0,084	0,472	73_12_6	73_12	0,592
150_20_4	150_20	108_20	89	0,085	0,109	73_12_15	73_12	0,017
150_20_9	150_20	108_20	89	0,085	0,196	115_10_2	115_10	0,318
150_20_11	150_20	108_20	89	0,085	-0,219	115_10_5	115_10	0,313
150_20_17	150_20	108_20	89	0,085	0,059	134_5_15	134_5	0,174
150_20_3	150_20	204_20	97	0,102	0,220	195_16_6	195_16	0,418
150_20_10	150_20	65_20	40	0,076	0,153	195_16_19	195_16	0,364
152_7_12	152_7	242_7	36	-0,037	0,183	214_2_11	214_2	0,265
157_11_6	157_11	206_11	238	0,145	-0,014	239_24_7	239_24	0,065
157_11_8	157_11	83_11	98	0,007	-0,122		Média	0,326
157_11_5	157_11	168_11	205	0,100	-0,128		DP	0,199
162_8_19	162_8	198_8	59	0,206	0,130			
165_22_18	165_22	233_22	37	-0,100	-0,008			
165_22_19	165_22	58_22	109	-0,020	0,246			
214_2_12	214_2	96_2	70	0,293	0,270			
235_21_8	235_21	219_21	111	0,182	0,238			
235_21_5	235_21	4_21	147	0,084	-0,068			
243_23_13	243_23	91_23	90	0,166	-0,207			
			Média	0,095	0,087			
			DP	0,080	0,171			

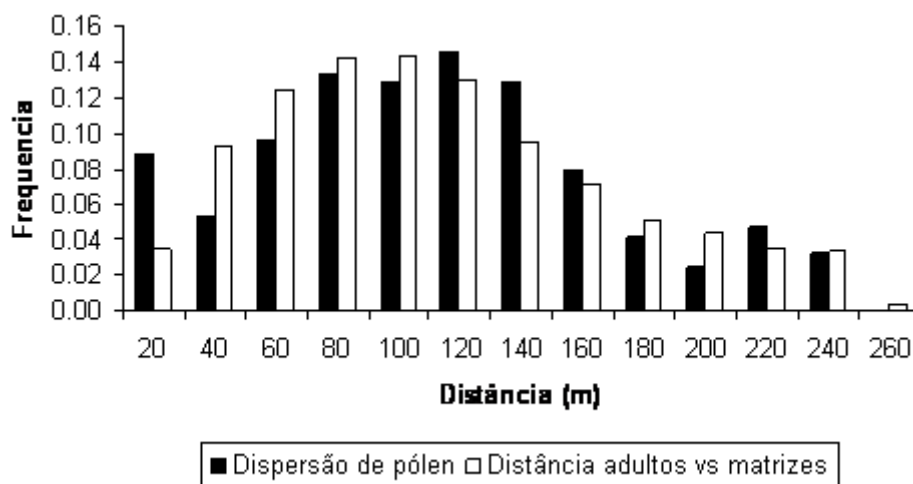


Figura 3. Frequência de distância na dispersão efetiva de pólen e frequência de distância entre todas as 250 árvores do pomar em relação as 25 árvores matrizes de *Eucalyptus camaldulensis*.

Tabela 14. Estrutura genética do conjunto das 25 progênes de polinização aberta de *Eucalyptus camaldulensis*.

	Estimativa
Número de árvores matrizes: m_s	25
Número de sementes: n	485
Coefficiente de coancestria médio total: Θ_t	0,01603
Tamanho efetivo de variância total das progênes: $N_{e(t)}$	29,41
Número de árvores matrizes para a coleta de sementes: \hat{m}	128

4.4. CONCLUSÕES

1. Nos locos ECs11, ECc44 e ECs91 segregam alelos nulos e como nos dois últimos locos, a frequência destes alelos é maior do que 10%, eles devem ser excluídos das análises de diversidade genética, sistema de reprodução e dispersão de pólen;
2. Os pares de locos ECc2xECc44 e ECs11xECs89 estão em desequilíbrio de ligação;
3. O pomar de sementes está aparentemente isolado em termos de fluxo gênico, o que é um bom resultado para o programa de melhoramento da espécie;
4. Os adultos apresentam mais heterozigotos do que as progênies;
5. A espécie apresenta sistema misto de reprodução, produzindo sementes pela combinação de cruzamentos com autofecundações, mas com predomínio de cruzamentos;
6. O número de árvores polinizando as árvores matrizes é alto, mas como a base da população é restrita (25 progênies australianas), embora dentro das progênies a maioria das plantas são parentes como meios-irmãos, existe parentesco entre plantas de diferentes progênies (meios-irmãos paternos e irmãos-completos) o que reduz o tamanho efetivo do conjunto de progênies do teste;
7. O pólen foi disperso a grandes distâncias dentro do pomar de sementes;
8. A distância entre as árvores explica o padrão de dispersão de pólen observado.

5. CAPÍTULO III

**VARIABILIDADE GENÉTICA E GANHOS NA SELEÇÃO EM DUAS
GERAÇÕES DE *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. PARA FINS DE
CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar a variabilidade genética, a partir da caracterização quantitativa, de uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* originária da Austrália, e de um teste de progênies originado da população base, ambos instalados em Selvíria-MS. Na população base, dos 20 aos 23 anos após a instalação, avaliou-se caracteres quantitativos DAP, altura, forma do fuste, volume, brotação, densidade básica da madeira e resistência à penetração. No teste de progênies avaliou-se a altura de plantas aos seis meses. Desbastou-se 83,33% da população base aos 21 anos após a instalação, baseado no índice multi-efeitos, transformando-se em uma população de melhoramento ou pomar de sementes. O crescimento médio (31,65 m de altura, 36,02 cm de DAP) e a sobrevivência (83,31% aos 20 anos) indicam que a espécie adaptou-se bem às condições edafo-climáticas e experimentais da região de Selvíria, MS. A brotação da cepa é excelente (98%), e a densidade básica de 0,71 g/cm³ classifica a madeira como muito pesada. A acurácia na seleção de progênies foi de alta magnitude em todos os caracteres estudados, exceto altura total, dois anos após o desbaste da população base (0,30 na Situação E). Houve redução das estimativas de herdabilidade individual após o ajuste das variâncias, na população de melhoramento, e em maior proporção no teste de progênies, porém sem alteração da amplitude de variação das herdabilidades. Os caracteres DAP e volume possuem alta correlação genética, e direciona estratégias de seleção quando se objetiva ganhos genéticos em um desses caracteres. A população base possui alta variabilidade genética, e ao se transformar em população de melhoramento, manteve a variabilidade genética, que proporcionou 5,01% de ganhos genéticos na seleção para o caráter DAP, com diversidade genética de 69%. A população de melhoramento, com 250 indivíduos, e o teste de progênies com 136 indivíduos, tem diversidade genética de 69,29% e 67,14%, respectivamente. O teste de progênies possui boa performance e precisão de condições experimentais para o caráter altura de plantas (média de 3,12 m), na região de Selvíria, MS, o que possibilita selecionar progênies melhor adaptadas para plantios na região.

Palavras-chave: índice multi-efeitos, desbaste seletivo, REML/BLUP, teste de progênies, variância aditiva.

GENETIC VARIABILITY AND GENETIC GAINS IN THE SELECTION IN TWO GENERATIONS OF *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. FOR PURPOSES OF GENETIC CONSERVATION AND IMPROVEMENT.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the genetic variability, from the quantitative characterization of a base population of *Eucalyptus camaldulensis* originated from Australia, and a progeny test originated from the base population, both located in Selvíria-MS. In the base population, from 20 to 23 years after installation, evaluated quantitative traits DBH, height, stem shape, volume, coppicing, wood basic density and penetration resistance. In the progeny test evaluated the plant height at six months. Thinning 83.33% of base population on 21 years after installation, based on the index multi-effects, turning into a improvement population or seed orchard. The medium growth (31.65 m of height, 36.02 cm of DBH) and survival (83.31% at 20 years) indicate that the species has adapted well to the conditions soil and climate and experimental of Selvíria, MS. The coppicing is excellent (98%), and basic density of trees of 0.71 g/cm³ classified as very heavy wood. The accuracy in the progenies selection was of high magnitude in all studied traits except total height, two years after thinning at base population (0.30 in situation E). There was a reduction of the individual heritability estimates after adjusting for variances in the improvement population and in greater proportion in the progeny test, but without changing the amplitude of variation in heritability. The trait DBH and volume have high genetic correlation, and directs the selection strategies when objective genetic gains in one of these traits. The base population has high genetic variability, and when to become a breeding population has maintained the genetic variability, provided 5.01% of genetic gain in selection based on the trait DBH, with genetic diversity of 69%. The improvement population, with 250 individuals, and the progeny test with 136 families, has genetic diversity at 69.29% and 67.14%, respectively. The progeny test has good performance and accuracy of experimental conditions for the trait plant height (means of 3.12 m) at Selvíria-MS, which allows select progenies better adapted for planting in the region.

Key words: multi-effect index selection, selective thinning, REML/BLUP, progeny test, additive variance.

5.1. INTRODUÇÃO

A variabilidade genética natural manifesta-se em níveis moleculares, de indivíduos dentro de populações, de populações dentro da espécie, da espécie e do ecossistema. O conhecimento do nível da variação genética e da sua distribuição entre e dentro de populações de plantas assume importância por permitir direcionar as estratégias do melhoramento, de modo a maximizar os ganhos genéticos a partir dos ciclos de seleção (DIAS, 1998).

A possibilidade de prever ganhos é considerada uma das maiores contribuições da genética quantitativa para o melhoramento. Quando diferentes critérios de seleção são considerados, a predição de ganhos referentes a cada critério tem grande importância, pois orienta os melhoristas sobre como utilizar o material genético disponível da melhor maneira possível, visando à obtenção de ganhos máximos para as características de interesse (PAULA et al., 2002).

Normalmente, o melhorista vive o dilema de obter ganhos em curto prazo, reduzindo a base genética, e, ao mesmo tempo, deve manter a variabilidade para promover ganhos continuamente em gerações avançadas. Um bom programa deve permitir a manutenção da variabilidade em longo prazo, tão grande quanto possível, sacrificando o mínimo de resultados de curto prazo (PAULA, 2005).

Nenhuma estratégia de melhoramento é adequada para todas as situações. Deve-se ter em mente que a escolha da melhor estratégia é condicionada por uma série de fatores, entre os quais cita-se a dimensão do empreendimento, recursos disponíveis, objetivos do programa, aspectos biológicos da espécie etc. Em certos casos, o empreendimento não comporta a adoção de programas complexos e deve-se utilizar estratégias mais simples. Por seu turno, programas florestais que produzem matéria-prima ou insumos energéticos, para indústrias de grande porte, justificam a adoção de estratégias mais complexas e mais eficientes (PAULA, 2005).

Graças às restrições impostas ao uso de madeira proveniente de florestas naturais, como fonte de matéria-prima, as indústrias madeireiras e moveleiras têm recorrido a alternativas que consideram, invariavelmente, o plantio de florestas de rápido crescimento, sobretudo com espécies de *Eucalyptus* (ASSIS, 2009), pelo seu grande potencial adaptativo e diversidade de usos da sua madeira.

A grande variabilidade de características químicas, físicas e mecânicas observadas na madeira de árvores do gênero *Eucalyptus*, tanto ao nível de espécies, procedências, progênies ou clones, tem como um forte componente da sua expressão a constituição genética dos indivíduos. Dessa forma, a seleção de características industriais desejáveis pode promover sua incorporação às florestas comerciais com relativa rapidez, uma vez que quanto mais alto é o controle genético da característica, mais facilmente se consegue o melhoramento (ASSIS, 2009).

Os programas de melhoramento genético de *Eucalyptus* no Brasil têm se baseado, principalmente, na seleção entre e dentro de progênies de polinização aberta. No entanto, é de conhecimento dos melhoristas florestais, a existência de indivíduos excepcionais em famílias que não foram selecionadas (famílias intermediárias e inferiores), e também que, dentre as famílias selecionadas, o melhor indivíduo de uma determinada família muitas vezes é inferior ao segundo, terceiro ou quarto melhores indivíduos de outras famílias. Este fato sugere que uma seleção mais efetiva poderia ser realizada ponderando os valores individuais e os valores das suas respectivas famílias. Neste método, a seleção é baseada em medidas genéticas (valores genéticos líquidos) e não fenotípicas, dos candidatos à seleção (RESENDE; HIGA 1994a).

Para implantação de programas de melhoramento genético a partir de *Eucalyptus* torna-se imprescindível conhecer a divergência genética, com os objetivos de identificar clones ou genótipos para instalação de pomares de sementes clonais; maximizar a distância genética pela recombinação de genes ou complexos gênicos em novas combinações favoráveis; e fazer uma seleção indireta e precoce para características da madeira, para avaliar as propriedades físicas, mecânicas, químicas e anatômicas e tornar a seleção precoce mais eficiente, aumentando o ganho genético por unidade de tempo.

O *Eucalyptus camaldulensis* possui rápido crescimento, madeira de qualidade para papel, celulose, movelaria e construção civil, além de plasticidade a diferentes condições ambientais. Dessa forma, o produto deste trabalho terá influência positiva não apenas na ampliação de áreas reflorestadas na região de estudo, como também contribuirá fornecendo informações a respeito da genética de caracteres quantitativos de interesse econômico na espécie.

Sendo assim, os objetivos do presente estudo foram:

a) Realizar a caracterização quantitativa da população base (nas diferentes etapas do programa de melhoramento) e do teste de progênies, estimando variabilidade genética para caracteres de crescimento e densidade básica da madeira;

b) Verificar o efeito do desbaste seletivo e sua inferência na estimativa de parâmetros genéticos, de modo a manter a variabilidade genética de *E. camaldulensis* ao longo do programa de melhoramento genético;

c) Investigar os ganhos na seleção empregando o índice multi-efeitos, visando transformar a população base em população de melhoramento;

d) Investigar o desenvolvimento das brotações e do teste de progênies de *E. camaldulensis*.

e) Ajustar os componentes de variação genética (a variância genética aditiva, $\hat{\sigma}_a^2$) de acordo com o sistema de reprodução, tanto nas árvores adultas quanto no teste de progênies.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Material

O trabalho foi realizado numa população base de *E. camaldulensis*, originária da Austrália. As sementes que constituem a população base foram fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (CNPFF) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). A população base é constituída por 25 matrizes, sendo 13 matrizes (Lote 14517) procedentes da região de Nott's Crossing – Katherine River, estado de Queensland, Austrália, e as 12 matrizes restantes pertenciam ao lote 13923 da CSIRO.

5.2.2. Métodos : População base de *Eucalyptus camaldulensis*

5.2.2.1. Instalação do ensaio

A população base de *E. camaldulensis* foi instalada em 26/4/1986, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira (FEPE/FEIS/UNESP), localizada no município de Selvíria, MS. As mudas das matrizes foram produzidas no viveiro da Companhia Energética de São Paulo (CESP), em Ilha Solteira, SP (Figura 4).

A localização geográfica aproximada da área do experimento está na latitude de 20°20' S, longitude de 51°23' O e altitude de 370 metros. O relevo é caracterizado como moderadamente plano e ondulado. O clima do local é do tipo Aw, pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 24,5 ° C, umidade média anual de 64,8%, precipitação média anual de 1232,2 mm e insolação média de 7,3 horas/dia (HERNANDEZ et al., 1995). O solo local foi classificado por Demattê (1980) e reclassificado segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA, 1999), como LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico argiloso, A moderado, hipidistrófico, álico, caulínítico, férrico, compactado, muito profundo, moderadamente ácido (LVd).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com 25 tratamentos (matrizes), 60 repetições, totalizando 1500 indivíduos, sendo que cada parcela foi representada por uma árvore, no espaçamento de 4 x 4 metros (Apêndice 1).

Após 21 anos de plantio, foi realizado um desbaste (com intensidade de 83,33%), permanecendo dessa forma, 250 indivíduos, ou seja, entre 3 e 29 melhores indivíduos de cada uma das 25 matrizes que constituem a população de melhoramento (Tabela 4). Um ano após o desbaste houve coleta de sementes na população de melhoramento, então caracterizada como pomar de sementes por mudas, e deram origem ao teste de progênes (Figura 5). Detalhes sobre a formação do teste de progênes estão no item 5.2.3.



Figura 4. Localização geográfica da população base e do teste de progênes de *Eucalyptus camaldulensis*, na FEPE/FEIS/UNESP, em Selvíria, MS (Fonte: <http://www.google.com.br>).

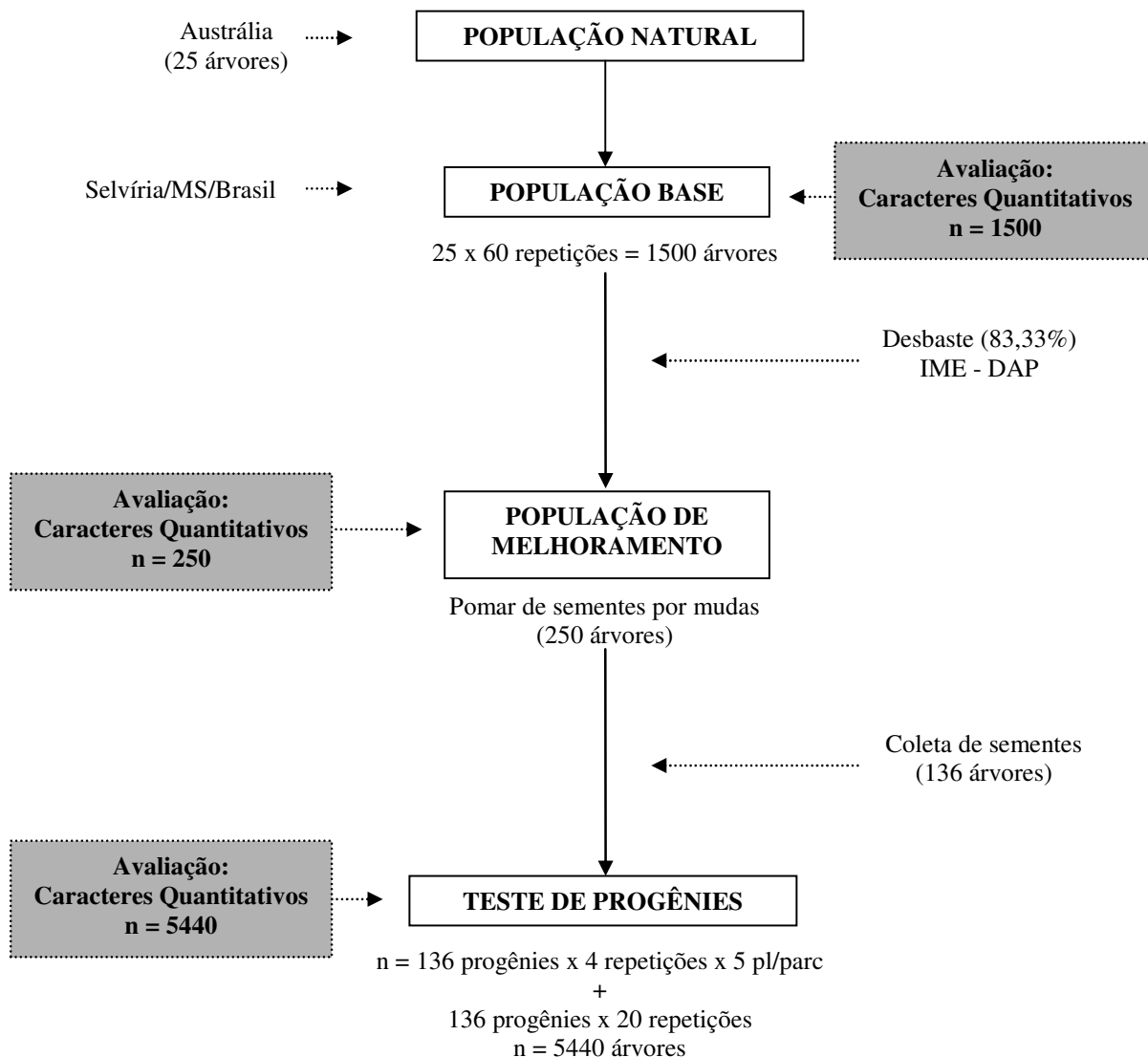


Figura 5. Representação esquemática das etapas metodológicas do programa de conservação e melhoramento genético realizado no *Eucalyptus camaldulensis*, estabelecido em Selvíria, MS. Os quadros em destaque representam as etapas da caracterização quantitativa.

5.2.2.2. Coleta de dados quantitativos

A coleta de dados, referentes aos caracteres quantitativos, foi realizada em quatro anos:

a) aos 20 anos após a instalação da população base (2006), para realizar as estimativas dos parâmetros estatísticos genéticos que fundamentaram a seleção de indivíduos para o desbaste;

b) aos 21 anos (2007), em três situações - A (antes do desbaste), B (árvores desbastadas), C (árvores remanescentes ao desbaste);

c) aos 22 anos (2008), Situação D, um ano após o desbaste;

d) aos 23 anos (2009), Situação E, dois anos após o desbaste.

Os caracteres quantitativos analisados no período foram:

a) altura total de plantas (ALTT, m);

b) altura comercial de plantas (ALTC, m);

c) altura de bifurcação (ALTB, m);

d) diâmetro à altura do peito (DAP, cm);

e) forma do fuste das árvores (FOR);

f) volume (VOL, m³/árvore);

g) densidade básica da madeira na altura do DAP (DBM, g/cm³);

h) resistência à penetração da madeira (RPE, mm);

i) sobrevivência (SOB, %).

Avaliou-se a brotação das cepas um ano após o desbaste da população base (2008):

a) área basal da cepa (ABC, cm²);

b) brotação (BRO, %);

c) número total de brotos por cepa (NBr);

d) altura total dos três brotos principais (ALTBr, m).

Foram realizadas as análises estatísticas genéticas dos caracteres. As situações, em que os caracteres quantitativos foram analisados, estão descritas na Tabela 15, e a descrição da coleta de dados está a seguir.

Tabela 15. Tamanho de amostra e caracteres quantitativos estudados (X) em cada situação.

CARÁTER	2006	2007			2008	2009
		A	B	C	D	E
Altura total (m)	X	X	X	X	X	X
Altura comercial (m)	-	-	X	-	-	-
Altura de bifurcação (m)	-	X	X	X	-	-
DAP (cm)	X	X	X	X	X	X
Forma do fuste	X	-	-	-	-	-
Volume (m ³)	X	X	X	X	X	X
DBM (g/cm ³)	-	-	X	-	-	-
Resistência à penetração da madeira (mm)	-	X	X	X	-	-
Sobrevivência (%)	X	X	-	-	-	X
Área basal da cepa (cm ²)	-	-	-	-	X	-
Brotação	Brotação (%)	-	-	-	X	-
(n = 995)	Nº brotos/cepa	-	-	-	X	-
	Altura de brotos (m)	-	-	-	X	-
Tamanho da Amostra	1.500	1.500	1.250	250	250	250

A, B, C, D, E: situações de cada ano da pesquisa.

Ano 2006 (um ano antes do desbaste, correspondendo aos 20 anos):

Foram avaliadas todas as plantas de cada bloco um ano antes do desbaste (n=1500 plantas), com relação aos seguintes caracteres: a) ALTT (m); b) DAP (cm); c) VOL (m³/árvore); d) SOB (%); e) FOR, sendo esta obtida com base na escala de notas adaptada de Kageyama (1980) (Tabela 16). A avaliação aos 20 anos da população base possibilitou realização das estimativas dos parâmetros estatísticos genéticos que fundamentaram a seleção de indivíduos para o desbaste.

Tabela 16. Escala de notas e descrição da classe de forma do fuste das árvores (Adaptado de Kageyama, 1980).

Nota	Descrição da classe de forma do fuste
1	Tronco com defeito muito grave; tronco muito tortuoso
2	Tronco com defeito grave; tronco com tortuosidade acima da média
3	Tronco com defeito bastante visível; tronco com tortuosidade média (até 3,5m)
4	Tronco com defeito pouco visível; tronco com tortuosidade abaixo da média (até 4,5 m)
5	Tronco sem defeito; tronco tendendo à retidão ou reto (> 4,5m)

Ano 2007 (Situação A: antes do desbaste, correspondendo aos 21 anos):

Foram avaliadas todas as plantas de cada bloco antes do desbaste (n=1500 plantas), com relação aos seguintes caracteres: a) ALTT (m); b) ALTB (m); c) DAP (cm); d) VOL (m³/árvore); e) RPE (mm); f) SOB (%).

Obs.: as avaliações de RPE foram realizadas com a utilização do *Pilodyn Wood Tester* (fabricado por *Proceq S/A*), emprestado junto ao Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP com apoio da Seção de Madeira do Instituto Florestal de São Paulo.

As avaliações com o *Pilodyn* consistiram na penetração de um pino de aço de 2,5 mm de diâmetro, na superfície do tronco, impulsionada por uma mola com força constante de 6 joules. Avaliaram-se três pontos (repetições) por árvore, inserindo o pino no tronco da árvore, a cada ângulo de 120°, na altura do DAP. Depois de encostado ao tronco, dispara-se o gatilho do aparelho e mede-se a penetração do pino no visor do mesmo, em milímetros, possibilitando verificar a resistência da madeira à penetração.

Ano 2007 (Situação B: árvores desbastadas, 21 anos):

Após a realização da situação A, foi feito um desbaste com intensidade de 83,33% das plantas, em todo experimento, com base no Índice Multi-efeitos estimado para o caráter DAP. Nesta situação foram avaliadas as árvores desbastadas. Foram retirados dois discos por árvore desbastada, sendo um na altura do DAP e outro na metade da altura comercial da árvore, para obtenção do quociente de forma (\bar{q}) de cada árvore. Os discos foram cortados com espessura média de 6 cm.

Nas árvores desbastadas realizou-se a determinação dos seguintes caracteres: a) ALTT (m); b) ALTC (m) - estabeleceu-se como altura comercial o ponto de bifurcação ou onde foi possível retirar um disco com até 8 cm de diâmetro; c) ALTB (m); d) DAP (cm); e) VOL (m³/árvore); f) RPE (mm); g) DBM (g/cm³).

Para a determinação da densidade básica da madeira (DBM) utilizou-se o método da balança hidrostática, conforme metodologia proposta por Foelkel et al. (1971). Os discos de madeira retirados na altura do DAP das árvores desbastadas foram utilizados para determinação da DBM, conforme procedimento a seguir:

- ↳ Os discos foram levados para o laboratório e colocados em tanques com água para saturação até ficarem totalmente submersos;

- ↳ Após a saturação, os discos foram retirados do tanque e preparados, descartando-se a casca e lavando-os, de modo que só retirasse do tanque a quantidade que seria pesada em tempo hábil, evitando que perdessem água;
- ↳ Determinou-se o peso imerso (P_i) de cada disco em balança hidrostática;
- ↳ Deixou-se o excesso de água do disco escorrer e determinou-se o peso úmido (P_u);
- ↳ Os discos foram levados para estufa a temperatura $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até secarem completamente;
- ↳ Depois de sete dias, em média, os discos foram retirados da estufa completamente secos e imediatamente determinou-se o peso seco (P_s);
- ↳ Para determinação da DBM utilizou-se a seguinte expressão (FOELKEL et al., 1971):

$$DBM = \frac{P_s}{P_u - P_i} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

em que: DBM: densidade básica da madeira (g/cm^3); P_s : massa da madeira (g) a 0% de umidade; P_u : massa de madeira (g) úmida (saturada); P_i : massa da madeira (g) imersa.

Ano 2007 (Situação C: árvores remanescentes ao desbaste, 21 anos):

Esta situação refere-se a árvores não desbastadas, que constituem a população de melhoramento ($n=250$), envolvendo os seguintes caracteres: a) ALTT (m); b) ALTB (m); c) DAP (cm); d) VOL ($\text{m}^3/\text{árvore}$); e) RPE (mm). Foi utilizada a seguinte expressão para a estimativa do volume ($\text{m}^3/\text{árvore}$):

$$V = \frac{\pi}{4} \cdot (DAP)^2 \cdot H \cdot \bar{q}$$

em que:

V= volume de madeira ($\text{m}^3/\text{árvore}$);

DAP = diâmetro à altura do peito;

H = altura total da árvore;

\bar{q} = quociente de forma obtido para cada uma das árvores (Tabela A1), tomando como

base os discos retirados nas árvores desbastadas, dado por: $q = \frac{D(1/2)HC_{c/c}}{DAP_{c/c}}$

$D(1/2)HC_{c/c}$ = medida do diâmetro do disco retirado na metade da altura comercial da árvore, com casca.

$DAP_{c/c}$ = medida do diâmetro do disco, com casca, a altura de 1,30 m do solo.

Ano 2008 (Situação D: um ano após o desbaste: 22 anos):

Esta situação refere-se a avaliações na população de melhoramento em 2008, um ano após o desbaste, na idade de 22 anos (n=250). Os seguintes caracteres foram avaliados: a) ALTT (m); b) DAP (cm); c) VOL (m³/árvore). Avaliou-se a brotação das cepas um ano após o desbaste: a) NBr; b) ABC; c) ALTBr (m); d) BRO (%). Foram realizadas as análises estatísticas genéticas dos mesmos.

Ano 2009 (Situação E: dois anos após o desbaste: 23 anos):

Esta situação refere-se a avaliações na população de melhoramento em 2009, dois anos após o desbaste, na idade de 23 anos (n=250). Os seguintes caracteres foram avaliados nesta situação: a) ALTT (m); b) DAP (cm); c) VOL (m³/árvore).

5.2.2.3. Estimativas de parâmetros genéticos e estatísticos

As estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita e melhor predição linear não viciada (REML/BLUP), a partir de dados desbalanceados, empregando-se o programa genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP, desenvolvido por Resende (2007b). Para utilizar os modelos propostos pelo programa, foi preciso assumir que as matrizes de polinização livre de *E. camaldulensis* são de meios-irmãos. Para a avaliação individual foram utilizados os modelos estatísticos 19, 95, 102 e 105 deste programa. O ajuste das variâncias foi realizado com o valor do parentesco dentro das progênes, obtido a partir da caracterização molecular, e então, foram reestimadas as herdabilidades, no sentido restrito, de indivíduo na parcela, com ajuste pelo parentesco dentro das progênes (\hat{h}_{rxy}^2).

Modelo estatístico 19: blocos ao acaso, progênes de meios irmãos, uma planta por parcela.

O modelo 19 aplica-se aos testes de progênes de meios-irmãos, com delineamento de blocos ao acaso, uma planta por parcela, um só local e uma única população. Este modelo faz a análise de variância e genética, além de classificar os indivíduos pelos seus respectivos valores genéticos preditos. As variáveis foram analisadas

pela metodologia do modelo linear misto (aditivo univariado)-REML/BLUP, seguindo o procedimento proposto por Resende (2007a):

$$y = Xb + Za + e$$

em que:

y = vetores de dados;

b = vetores dos efeitos de blocos (fixos);

a = vetores dos efeitos genéticos aditivos (aleatórios);

e = vetores dos efeitos de erros aleatórios.

X, Z = matrizes de incidência para b e a , respectivamente.

As distribuições e estruturas da média e variâncias são:

$$y|b, V \sim N(Xb, V)$$

$$a|A, \sigma_a^2 \sim N(0, A, \hat{\sigma}_a^2)$$

$$e|\hat{\sigma}_e^2 \sim N(N, I, \hat{\sigma}_e^2)$$

$COV(a, e') = 0$; ou seja, as covariâncias entre todos os efeitos aleatórios do modelo são consideradas nulas. Assim:

$$E \begin{bmatrix} y \\ a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Xb \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad e \quad Var \begin{bmatrix} y \\ a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} V & ZG & R \\ GZ' & G & 0 \\ R & 0 & R \end{bmatrix}, \text{ em que:}$$

$$G = A\hat{\sigma}_a^2$$

$$R = I\hat{\sigma}_e^2$$

$$V = ZA\hat{\sigma}_a^2Z' + I\sigma_e^2 = ZGZ' + R.$$

As equações de modelo misto são:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\lambda_l \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix} \text{ em que:}$$

$$\lambda_l = \frac{\hat{\sigma}_e^2}{\hat{\sigma}_a^2} = \frac{1 - \hat{h}^2}{\hat{h}^2};$$

$$\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2} : \text{herdabilidade individual no sentido restrito, no bloco.}$$

$\hat{\sigma}_a^2$: variância genética aditiva.

$\hat{\sigma}_e^2$: variância residual (ambiental + não aditiva).

A: matriz de correlação genética aditiva entre os indivíduos em avaliação.

Os estimadores iterativos dos componentes de variância por REML, via algoritmo EM (Expectation-Maximization), são:

$$\hat{\sigma}_e^2 = [y'y - \hat{b}' X'y - \hat{a}' Z'y / [N - r(x)]]$$

$$\hat{\sigma}_a^2 = [\hat{a}' A^{-1} \hat{a} + \hat{\sigma}_e^2 \text{tr}(A^{-1} C^{22})] / q$$

C^{22} advêm de:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} \\ C_{21} & C_{22} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} \\ C^{21} & C^{22} \end{bmatrix}$$

C= matriz dos coeficientes das equações de modelo misto.

tr = operador traço matricial.

$r(x)$ = posto da matriz X.

n = número total de dados;

q = número de indivíduos;

Demais estimativas de variâncias e parâmetros genéticos processados pelo programa:

$$\hat{r}_{\hat{a}a} = \sqrt{\hat{h}_{mp}^2} : \text{acurácia de seleção de progênie};$$

$$\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2 : \text{variância fenotípica individual};$$

$$\hat{h}_{mp}^2 = \frac{[1 + (n-1)\hat{r}_{xy}] \hat{h}^2}{1 + (n-1)(\hat{r}_{xy} \hat{h}^2)} : \text{herdabilidade da média de progênie, em que:}$$

\hat{r}_{xy} = correlação genética entre os indivíduos do tipo de progênie considerada ($\hat{r}_{xy} = 1/4$ para meios-irmãos);

n = número total de indivíduos por progênie = b.

$$\hat{h}_{ad}^2 = \frac{(1 - \hat{r}_{xy}) \hat{\sigma}_a^2}{[(1 - \hat{r}_{xy}) \hat{\sigma}_a^2] + \hat{\sigma}_e^2} : \text{herdabilidade aditiva dentro de parcelas};$$

$$CV_{gi} = \frac{100 \cdot \sqrt{\hat{\sigma}_a^2}}{\hat{m}} : \text{coeficiente de variação genético entre indivíduos};$$

$$CV_{gp} = \frac{100 \cdot \sqrt{\hat{r}_{xy} \hat{\sigma}_a^2}}{\hat{m}} : \text{coeficiente de variação genético entre progênie};$$

$$CV_e = \frac{100 \cdot \sqrt{QM_{res}}}{\hat{m}} : \text{coeficiente de variação experimental.}$$

A sequência de dados para a análise empregando o modelo 19, no programa computacional SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2007b) foi a seguinte:

Indivíduo, Progênie, Repetição, Árvore, Variáveis

Modelo estatístico 95 – análise de variância (ANOVA)

Este modelo foi aplicado para realização da análise de variância (ANOVA) aos testes de progênies de meios-irmãos, com delineamento de blocos ao acaso, uma planta por parcela, um só local e uma única população.

A sequência de dados para a análise empregando o modelo 95, no programa computacional SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2007b) foi a seguinte:

Indivíduo, Progênie, Repetição, Árvore, Variáveis

Modelo estatístico 102 – correlações genéticas

Este modelo foi aplicado para obtenção das estimativas de correlações genéticas, e utilizou os arquivos de resultados já processados pelas análises individuais pelos modelos 19 ou 95.

Modelo estatístico 105 – correlações fenotípicas

Este modelo foi aplicado para obtenção das estimativas de correlações fenotípicas, e utilizou os arquivos de resultados já processados pelas análises individuais pelos modelos 19 ou 95.

5.2.2.4. Ganho na seleção pelo método do Índice Multi-efeitos

A estimativa de ganhos na seleção foi realizada objetivando a seleção dos melhores indivíduos, com base no DAP e empregando o Índice Multi-efeitos, segundo metodologia proposta por Resende (2002).

Uma das vantagens da seleção pelo método multi-efeito é a redução do peso dado à média geral das matrizes, permitindo assim uma melhor distribuição dos indivíduos selecionados nas várias matrizes. O Índice Multi-efeitos (IME) possui a expressão:

$$\hat{I} = \hat{b}_1 Y_{ijk} + (\hat{b}_2 - \hat{b}_3) \bar{Y}_{i..} + (\hat{b}_3 - \hat{b}_1) \bar{Y}_{ij.} - \hat{b}_3 \bar{Y}_{.j.} + (\hat{b}_3 - \hat{b}_2) \bar{Y}_{...}$$

em que: $\bar{Y}_{...}$: média geral do ensaio; Y_{ijk} : valor individual;

$\bar{Y}_{i..}$: média da matriz no ensaio;

$\bar{Y}_{ij.}$: média da matriz em determinado bloco (média da parcela);

$\bar{Y}_{.j.}$: média do bloco;

$\hat{b}_1 = \hat{h}_d^2$: herdabilidade, no sentido restrito, dentro de parcelas: $\hat{h}_d^2 = \frac{(3/4) \cdot \hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_d^2}$;

$\hat{b}_2 = \hat{h}_m^2$: herdabilidade, no sentido restrito, de matrizes: $\hat{h}_m^2 = \frac{[(3+n.b)/(4.n.b)] \cdot \hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_p^2 + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{b} + \frac{\hat{\sigma}_d^2}{n.b}}$;

$\hat{b}_3 = \hat{h}_p^2$: herdabilidade, no sentido restrito, de parcelas: $\hat{h}_p^2 = \frac{[3/(4.n)] \cdot \hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_e^2 + \frac{\hat{\sigma}_d^2}{n}}$.

A diversidade genética (D), após a seleção, foi quantificada conforme Wei e Lindgren (1996), citados por Resende (2002): $D = N_{ef} / N_{fo}$, em que $0 < D \leq 1$; N_{fo} = número original de matrizes, que no presente trabalho corresponde a 25; N_{ef} = número efetivo de matrizes selecionadas, sendo dado por: $N_{ef} = \left(\sum k_f \right)^2 / \sum k_f^2$.

5.2.2.5. Análise do coeficiente de trilha

A partir das correlações genéticas entre os caracteres estudados, foi possível conhecer os efeitos diretos e indiretos das variáveis: altura, DAP e resistência da penetração da madeira sobre o volume, a partir de estimativas do coeficiente de trilha (*path analysis*), conforme metodologia descrita por Vencovsky e Barriga (1992) e Cruz e Regazzi (2001). As estimativas foram obtidas com o uso do programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

5.2.3. Métodos: Teste de Progênes de *Eucalyptus camaldulensis*

5.2.3.1. Instalação do ensaio

Após um ano do desbaste, realizou-se a coleta de frutos provenientes de polinização livre entre as 250 árvores da população de melhoramento, então caracterizada por pomar de sementes por mudas. A coleta foi realizada de modo a garantir que dentre as 250 matrizes remanescentes, todas as 25 matrizes originais fossem representadas com suas progênes (Tabela 4). Entre as 250 árvores, 136 possuíam frutos em ponto de coleta, e foi possível manter a representatividade de todas as 25 matrizes originais da população base. Após a coleta, os frutos foram secos ao ar livre para liberação das sementes. Beneficiaram-se os frutos com peneiras, e as sementes foram armazenadas em sacos de papel até a semeadura; depois acondicionadas em sacos de plástico e levadas à câmara fria. A formação de mudas foi realizada pela Votorantim (FIBRIA), unidade de Três Lagoas, MS, de 6/6/2008 a 11/9/2008.

Com as mudas das 136 progênes instalou-se um teste de progênes na FEPE/UNESP, no município de Selvíria, MS. A instalação do teste de progênes ocorreu numa área experimental de 3,18 ha, de 9 a 14/10/2008, seguindo dois modelos experimentais, utilizando bordadura identificada: *a*) delineamento blocos casualizados, quatro repetições, cinco plantas por parcela, 136 tratamentos (progênes), espaçamento 3,0 x 1,8m; *b*) delineamento blocos casualizados, 20 repetições, uma planta por parcela, 136 tratamentos (progênes), espaçamento 3,0 x 1,8m (Apêndice 2; Figura 3).

Instituições de pesquisa, tanto públicas quanto privadas, se interessaram pelo material melhorado, as 136 progênes de *E. camaldulensis*, a fim de desenvolverem programas de melhoramento genético florestal, conservação genética e futuros reflorestamentos com a espécie. O material melhorado foi disponibilizado para as instituições a seguir:

Empresas:

- ↵ VOTORANTIM CELULOSE E PAPEL – VCP (FIBRIA), Três Lagoas - MS;
- ↵ FLORÁGUA – Andradina – SP;

Proprietário Rural:

- ↵ Damião Peres Florido - Fazenda Vale Florido - Inscr. Est. nº 28.658.131-0, Paranaíba, MS; localização próxima à divisa entre os Estados de Mato Grosso do Sul e Goiás.

Universidades:

- ↪ Prof. Dr. Edson Seizo Mori - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, FCA/UNESP – Botucatu, SP;
- ↪ Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, ESALQ/USP – Piracicaba – SP; instalação do teste de progênies na região do Pontal do Paranapanema, SP;
- ↪ Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa - Faculdade de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Mato Grosso, FENF/UFMT – Cuiabá, MT;
- ↪ Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes – Universidade Estadual Paulista, FEIS/UNESP – Ilha Solteira, SP; local de instalação – Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, em Selvíria, MS. Instalou-se o teste no local de desenvolvimento da presente pesquisa, para ser referência aos demais.

5.2.3.2. Coleta de dados quantitativos

Aos seis meses após a instalação do teste de progênies, foram avaliadas todas as plantas de cada parcela, com relação ao caráter altura total de plantas (m), utilizando régua graduada em centímetros.

5.2.3.3. Estimativa de parâmetros genéticos e estatísticos

As estimativas dos componentes de variância e parâmetros genéticos foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita e melhor predição linear não viciada (REML/BLUP), empregando-se o programa computacional genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP, desenvolvido por Resende (2007b). Para utilizar os modelos propostos pelo programa, foi preciso assumir que as progênies de polinização livre de *E. camaldulensis* são de meios-irmãos. Para a avaliação individual foi utilizado o modelo estatístico 6 deste programa. O ajuste das variâncias foi realizado com o valor do parentesco entre as progênies (\hat{r}_{xy}), obtido a partir da caracterização molecular, e então, foram reestimadas as herdabilidades, no sentido restrito, de indivíduo na parcela, com ajuste pelo parentesco dentro das progênies ($\hat{h}_{r_{xy}}^2$).

Modelo estatístico 6: blocos incompletos, progênies de meios-irmãos, várias observações por parcela

O modelo 6 realiza avaliação de indivíduos em progênies de meios-irmãos, com várias observações por parcela, delineamentos em blocos incompletos. A tomada de dados foi realizada ao nível de indivíduos dentro de parcelas, gerando várias observações por parcela, e a análise considerou conjuntamente os dados dos dois modelos experimentais do teste de progênies - delineamento de blocos ao acaso com uma planta/parcela e cinco plantas/parcela. A variável foi analisada pela metodologia do modelo linear misto (aditivo univariado)-REML/BLUP, seguindo o procedimento proposto por Resende (2007a):

$$Y = Xr + Za + Wp + Tb + e$$

em que:

Y = vetor de dados;

r = vetos dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral;

a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios);

p é o vetor dos efeitos de parcela (assumidos como aleatórios);

b é o vetor dos efeitos de blocos (assumidos como aleatórios);

e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios);

as letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

A sequência dos dados para a análise empregando o modelo 6, no programa computacional SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2007b) foi a seguinte:

Indivíduo, Progênie, Experimento, Parcela, Bloco, Árvore, Variável

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1. Desenvolvimento da população base de *Eucalyptus camaldulensis*

As estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e F estão na Tabela 17, para os caracteres avaliados do ano 2006 a 2009, respectivamente, dos 20 aos 23 anos após a instalação da população base de *E. camaldulensis*. As estimativas dos quadrados médios estão nas Tabelas A2 a A7.

Existem diferenças significativas entre as matrizes (estimativa de F, 1% de probabilidade), para todos os caracteres quantitativos, nos quatro anos de avaliações, exceto para o caráter ALTT (2009). Esta observação indica que existe variabilidade genética na população base, e que esta variabilidade foi preservada ao longo do programa de melhoramento da população. A ausência de diferenças significativas em 2009 para ALTT provavelmente aconteceu pela menor variabilidade do material remanescente, que pode ser observada pelo valor do teste F.

A população teve SOB de 83,31% em 2006 (20 anos) e de 83,08% em 2007 (21 anos). Após o desbaste seletivo não ocorreu morte de árvores na população de melhoramento, com 100% de sobrevivência até 2009. Durante as avaliações antes do desbaste, observou-se que a morte de árvores na população base ocorreu por causas naturais, como decorrência de raios ou ventos que levaram à quebra de ponteiros e galhos e conseqüentemente a morte das mesmas. A sobrevivência das matrizes de *E. camaldulensis* da população base em Selvíria, MS, indica que o estabelecimento da espécie neste local como exótica foi superior que em outros locais, como no Moçambique, com SOB de 72,30% aos 10 anos após a instalação (BILA; ISSUFO, 1994); e no Paquistão, onde até os 5 anos após a instalação a SOB era de 74% (MAHMOOD et al., 2003).

O crescimento médio anual das matrizes foi bom, com Incremento Médio Anual (IMA) favorecido após o desbaste, passando de 1,08 m (2006) a 1,38 m (2009) para ALTT; 1,26 cm (2006) a 1,57 cm (2009) para DAP; 0,05 m³/árvore (2006) a 0,13 m³/árvore (2009) para VOL. O desbaste proporcionou maior crescimento nas árvores, pois diminuiu a competição no espaço vertical e horizontal por nutrientes, água, além de favorecer a entrada de luz na copa das árvores. A ALTC e ALTB tiveram bons resultados, 10,15 ± 0,19 m de ALTC, e 8,20 ± 0,17 m de ALTB, indicando que é possível retirar da árvore, após o corte, respectivamente cerca de 5 e 4 toras de 2 m de comprimento.

O crescimento médio e a sobrevivência da espécie avaliados nos quatro anos, do presente trabalho, indicam que a espécie adaptou-se bem às condições edafo-climáticas e experimentais da região de Selvíria, MS. A existência de diferenças significativas entre as matrizes confere um potencial para estudos de seleção de indivíduos melhor adaptados e com possibilidades de melhores ganhos com a seleção.

De maneira geral, as matrizes demonstraram desempenho regular para o caráter FOR (nota $3,83 \pm 0,03$), ou seja, tronco com defeito bastante visível e tortuosidade média. A forma tortuosa se dá em função do próprio material genético, das condições edafo-climáticas da área experimental, assim como a interação de fatores genótipo x ambiente. O tipo predominante de forma do fuste é muito importante, principalmente para o transporte e desdobramento da madeira.

Quanto à RPE, os valores médios foram 22,12, 21,46, e 24,90 mm (Situação A, B e C, respectivamente). A avaliação com o aparelho *Pilodyn* infere que a profundidade de penetração do pino na casca da árvore é, em princípio, inversamente proporcional à densidade da madeira. Além de ser um método não destrutivo, apresenta ainda as vantagens de rapidez, isenção de erros amostrais por parte do operador, a não necessidade de extração de amostras de madeira com sondas e custos inferiores a outros métodos. Apesar da determinação da DBM ser realizada em apenas uma das situações, observa-se que o menor valor de resistência à penetração da madeira ocorreu na Situação B ($21,46 \pm 0,15$ mm), em que se avaliou a DBM ($0,71 \pm 0,002$). Alguns autores utilizaram o *Pilodyn* para determinar a resistência à penetração da madeira, como Silva Júnior et al. (1993) em híbridos de *E. grandis* x *E. camaldulensis*; Vale et al. (1995) em *E. grandis*; Wei e Borralho (1997) em *E. urophylla*. É conveniente realizar outros estudos no *E. camaldulensis* a partir dos valores de RPE e DBM, para determinar a existência ou não de correlação genética e fenotípica entre esses caracteres.

A DBM ($0,71 \pm 0,002$ g/cm³) obtida para o *E. camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, permite classificar a madeira como muito pesada, segundo *Forest Products Laboratory* (1973; citado por BARRICHELO, 1980). O resultado está de acordo com os obtidos em literatura para a espécie, em relação à idade: aos 10,5 anos, DBM de 0,683g/cm³, em Uberaba-MG (STURION et al., 1987); aos 67 meses, DBM de $0,594 \pm 0,021$ em Paraopeba, MG (PAULA, 1995); e maiores que outras espécies: clones de *E. grandis* (0,46 g/cm³), *E. saligna* (0,47 g/cm³) e *E. grandis* x *urophylla* (0,49 g/cm³), aos

oito anos de idade (ALZATE et al., 2005); 25 clones de *Eucalyptus* spp., 0,511 g/cm³, aos 80 meses de idade, em Guatapar, SP (TOLFO et al., 2005).

O *E. camaldulensis* tem sido considerado uma das espécies doadoras de pólen em programas de melhoramento genético de empresas produtoras de papel e celulose, juntamente com *E. globulus*, com a finalidade de explorar o caráter DBM em busca de heterose, tendo como espécies base *E. grandis* e *E. urophylla*. Considerando que o objetivo desses programas é DBM ideal, cujos valores estejam entre 0,52 e 0,53 g/cm³, o *E. camaldulensis* da presente população é um potencial doador de pólen, pois possui DBM média de $0,71 \pm 0,002$ g/cm³.

Os coeficientes de variação experimental (CV_{exp}) foram de médios a altos, para todos os caracteres analisados, e teve valores reduzidos após o desbaste. O volume teve os maiores CV_{exp} , com média de 73,20% (2006) a 44,22% (2009), o que era esperado, pois o caráter é composto basicamente pelo produto das variáveis ALTT e DAP, e também em função das condições de variabilidade existente entre as matrizes. Segundo Houle (1992), caracteres compostos apresentam maior coeficiente de variação.

Tabela 17. Estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e teste F , para os caracteres quantitativos avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, dos 20 aos 23 anos após instalação (anos 2006 a 2009, respectivamente), em Selvíria, MS.

Caracteres	2006			2007 (Situação A)			2007 (Situação B)		
	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F
ALTT (m)	21,58 ± 0,15	24,29	4,34**	22,82 ± 0,17	24,50	5,19**	21,69 ± 0,18	25,19	3,94**
ALTC (m)	-	-	-	-	-	-	10,15 ± 0,19	57,04	3,38**
ALTB (m)	-	-	-	9,08 ± 0,16	57,78	5,31**	8,20 ± 0,17	61,77	3,93**
DAP (cm)	25,24 ± 0,23	31,24	5,58**	25,81 ± 0,24	31,12	5,71**	23,97 ± 0,24	31,14	4,31**
FOR	3,83 ± 0,03	26,91	4,25**	-	-	-	-	-	-
VOL (m ³ /árv.)	1,05 ± 0,02	73,20	5,70**	1,16 ± 0,03	74,42	6,07**	0,94 ± 0,02	74,10	4,67**
RPE (mm)	-	-	-	22,12 ± 0,14	20,61	5,60**	21,46 ± 0,15	21,31	5,00**
DBM (g/cm ³)	-	-	-	-	-	-	0,71 ± 0,00	7,59	8,30**
SOB (%)	83,31 ± 0,01	43,89	2,92**	83,08 ± 0,01	44,28	3,19**	-	-	-

Caracteres	2007 (Situação C)			2008 (Situação D)			2009 (Situação E)		
	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F
ALTT (m)	27,73 ± 0,22	11,96	1,80**	29,34 ± 0,24	12,22	1,94**	31,65 ± 0,29	13,92	1,10 ^{ns}
ALTC (m)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ALTB (m)	12,60 ± 0,31	37,61	2,45**	-	-	-	-	-	-
DAP (cm)	33,53 ± 0,39	17,14	7,12**	34,69 ± 0,41	17,66	6,81**	36,02 ± 0,42	17,76	6,30**
FOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOL (m ³ /árv.)	2,09 ± 0,06	42,46	6,38**	2,38 ± 0,07	43,97	5,99**	2,77 ± 0,08	44,22	5,25**
RPE (mm)	24,90 ± 0,27	13,88	18,47**	-	-	-	-	-	-
DBM (g/cm ³)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOB (%)	-	-	-	-	-	-	100	-	-

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP; SOB: sobrevivência; Situação A: análise antes do desbaste, ano 2007 (n=1500); Situação B: análise nas árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250); Situação C: análise nas árvores remanescentes, ano 2007 (n=250); Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250); Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

5.3.2. Variação genética

As estimativas dos parâmetros genéticos estão na Tabela 18, e as estimativas das variâncias que permitiram a obtenção dos parâmetros, estão na Tabela A9.

De modo geral, as estimativas do coeficiente de variação genética individual (CV_{gi}) foram maiores que genética de progênies (CV_{gp}), para todos caracteres em todas as situações estudadas. O menor valor de CV_{gi} (1,13%) e CV_{gp} (0,56%) foi para o caráter ALTT (2009), e o maior valor de CV_{gi} (43,29%) e CV_{gp} (21,64%) foi para o caráter VOL.

Os resultados dos CV_g obtidos para *E. camaldulensis* no presente estudo estão de acordo com as estimativas obtidas para espécies arbóreas, que estão na Tabela 1. Comparando com outras espécies de *Eucalyptus*, a magnitude das estimativas *E. camaldulensis* atingiu valores superiores.

Em relação aos coeficientes de variação relativa (CV_r), variaram de baixa magnitude 0,04% (ALTT, Situação E) a média magnitude 0,54 (RPE, Situação C). O caráter DAP foi utilizado como objeto de seleção na população base ($CV_r = 0,28$), o maior valor observado nesta situação, assim como o VOL, porém este último não é indicado por se tratar de um caráter composto por dois caracteres, ALTT e DAP. O DAP teve valores de CV_r de magnitude média em todas situações, variou de 0,23 (situação B) a 0,32 (situação C). O valor alto de CV_r para RPE é interessante, considerando que o caráter é de determinação rápida e prática, oferece possibilidade de uma alternativa como objeto de seleção da espécie. Segundo Vencovsky e Barriga (1992), quanto maior o valor do CV_r (alta magnitude), o controle genético dos caracteres é alto e pouco influenciado por fatores ambientais.

As estimativas de herdabilidade individual, no sentido restrito (\hat{h}^2), foram de magnitude baixa a média para o caráter ALTT, de modo geral, segundo interpretação proposta por Resende (1995) (herdabilidades de 0,01 a 0,15 como baixas; de 0,15 a 0,50 são medianas; e acima de 0,50 são altas). O DAP teve estimativas de herdabilidade medianas, variando de $0,21 \pm 0,08$ na situação B a $0,37 \pm 0,22$ na situação C. Os caracteres DBM ($\hat{h}^2 = 0,43 \pm 0,13$, média magnitude, situação B) e RPE ($\hat{h}^2 = 0,90 \pm 0,34$, alta magnitude, Situação C) tiveram as maiores herdabilidades, o que indica que podem ter respectivamente, 57% e 10% da expressão fenotípica dos caracteres por influência ambiental. Considerando a herdabilidade média de progênie (\hat{h}_m^2), a magnitude foi de baixa

a média apenas para ALTT (0,09, Situação E a 0,48, Situação D). Todos os demais caracteres nos quatro anos avaliados tiveram alta magnitude de \hat{h}_m^2 .

As estimativas de \hat{h}_{xy}^2 foram obtidas a partir do ajuste de componentes de variação genética (a variância genética aditiva, $\hat{\sigma}_a^2$) de acordo com o valor do parentesco entre as progênies (\hat{r}_{xy}), obtido a partir da caracterização molecular, de modo que a estimativa considerasse exatamente os processos genéticos envolvidos na herança dos caracteres. Sendo assim, o ajuste considerou $\hat{r}_{xy} = 0,253$, valor muito próximo ao assumido para as estimativas de \hat{h}^2 , que é de $\hat{r}_{xy} = 0,250$, e indica parentesco de meios-irmãos. Sendo assim, os valores das estimativas de \hat{h}_{xy}^2 foram menores, porém sem alteração da magnitude das herdabilidades, de modo geral. A estimativa de \hat{h}_{xy}^2 é muito útil, pois possibilita aumentar a precisão da estimativa da herdabilidade.

A acurácia na seleção de progênies foi de alta magnitude em todos os caracteres estudados, exceto ALTT (0,30 na Situação E). A variação de \hat{r}_{aa} para os demais caracteres foi de 0,67 (ALTT, Situação C) a 0,94 (RPE, Situação C), indicando reais possibilidades de altos ganhos genéticos e precisão na seleção de matrizes superiores. Recomenda-se que o caráter DAP seja utilizado na seleção dos melhores indivíduos, aliado ao fato de que as estimativas obtidas foram de alta acurácia e a praticidade de obtenção da mensuração, além de ser diretamente relacionado com a produção volumétrica de madeira. O caráter RPE apresentou as maiores \hat{r}_{aa} , tornando-o, mais uma vez, um caráter alternativo como objeto de seleção, porém carece de estudos mais detalhados sobre sua relação com a DBM para a espécie. Segundo Resende (1995), quanto maior a acurácia, maior a precisão da seleção e, conseqüentemente, maior o ganho genético, afirmando mais uma vez a opção do caráter DAP como objeto de seleção.

O caráter ALTT apresentou redução da variação genética após o desbaste, mais acentuadamente no ano 2009. Sugere-se que o caráter DAP seja empregado como objeto de seleção, em continuidade ao programa de melhoramento, e na hora da seleção seja considerada também a forma do fuste e sanidade.

Tabela 18. Estimativa de alguns parâmetros genéticos para os caracteres quantitativos: coeficiente de variação genética individual e genética de progênes (CV_{gi} e CV_{gp}), coeficiente de variação relativa (CV_r), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela, com ajuste pelo parentesco dentro das progênes (\hat{h}_{xy}^2), herdabilidade, no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2), acurácia de seleção (\hat{r}_{aa}), avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, dos 20 aos 23 anos após instalação (anos 2006 a 2009), em Selvíria, MS.

Situação	Caracteres	CV_{gi} (%)	CV_{gp} (%)	CV_r	\hat{h}^2	\hat{h}_{xy}^2	\hat{h}_m^2	\hat{r}_{aa}
2006	ALTT (m)	11,46	5,73	0,24	$0,21 \pm 0,07$	0,21	0,77	0,88
	DAP (cm)	17,25	8,63	0,28	$0,28 \pm 0,09$	0,28	0,82	0,91
	FOR	12,53	6,26	0,23	$0,21 \pm 0,07$	0,20	0,76	0,87
	VOL (m ³ /árvore)	40,98	20,49	0,28	$0,29 \pm 0,09$	0,29	0,82	0,91
	SOB (%)	15,71	7,85	0,18	$0,12 \pm 0,05$	0,12	0,66	0,81
2007 (A)	ALTT (m)	12,96	6,48	0,26	$0,26 \pm 0,08$	0,26	0,81	0,90
	ALTB (m)	30,97	15,49	0,27	$0,27 \pm 0,08$	0,27	0,81	0,90
	DAP (cm)	17,43	8,72	0,28	$0,29 \pm 0,09$	0,29	0,82	0,91
	VOL (m ³ /árvore)	43,29	21,64	0,29	$0,31 \pm 0,09$	0,31	0,84	0,91
	RPE (mm)	11,42	5,71	0,28	$0,29 \pm 0,09$	0,28	0,82	0,91
	SOB (%)	16,91	8,45	0,19	$0,14 \pm 0,05$	0,14	0,69	0,83
2007 (B)	ALTT (m)	11,16	5,58	0,22	$0,19 \pm 0,08$	0,15	0,75	0,86
	ALTC (m)	22,70	11,35	0,20	$0,15 \pm 0,07$	0,12	0,70	0,84
	ALTB (m)	27,29	13,64	0,22	$0,19 \pm 0,08$	0,14	0,75	0,86
	DAP (cm)	14,62	7,31	0,23	$0,21 \pm 0,08$	0,16	0,77	0,88
	VOL (m ³ /árvore)	36,67	18,34	0,25	$0,23 \pm 0,09$	0,18	0,79	0,89
	RPE (mm)	11,00	5,50	0,26	$0,25 \pm 0,09$	0,20	0,80	0,89
	DBM (g/cm ³)	5,30	2,65	0,35	$0,43 \pm 0,13$	0,36	0,88	0,94
2007 (C)	ALTT (m)	2,76	1,38	0,12	$0,05 \pm 0,08$	0,04	0,44	0,67
	ALTB (m)	11,69	5,85	0,16	$0,09 \pm 0,11$	0,07	0,59	0,77
	DAP (cm)	10,95	5,47	0,32	$0,37 \pm 0,22$	0,30	0,86	0,93
	VOL (m ³ /árvore)	25,44	12,72	0,30	$0,33 \pm 0,21$	0,27	0,84	0,92
	RPE (mm)	14,98	7,49	0,54	$0,90 \pm 0,34$	0,87	0,95	0,97
2008 (D)	ALTT (m)	3,05	1,53	0,12	$0,06 \pm 0,09$	0,05	0,48	0,70
	DAP (cm)	10,99	5,49	0,31	$0,35 \pm 0,21$	0,29	0,85	0,92
	VOL (m ³ /árvore)	25,36	12,68	0,29	$0,31 \pm 0,20$	0,25	0,83	0,91
2009 (E)	ALTT (m)	1,13	0,56	0,04	$0,01 \pm 0,03$	$5 \cdot 10^{-3}$	0,09	0,30
	DAP (cm)	10,55	5,28	0,30	$0,32 \pm 0,20$	0,26	0,84	0,92
	VOL (m ³ /árvore)	23,55	11,77	0,27	$0,26 \pm 0,18$	0,21	0,81	0,90

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP; SOB: sobrevivência; Situação A: análise antes do desbaste, ano 2007 (n=1500); Situação B: análise nas árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250); Situação C: análise nas árvores remanescentes, ano 2007 (n=250); Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250); Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

5.3.3. Estimativas das correlações genéticas e fenotípicas entre os caracteres silviculturais

As estimativas de correlações genotípicas e fenotípicas estão nas Tabelas 19 a 24 (2006 e Situações A a E). As estimativas de covariâncias estão nas Tabelas A11 a A16.

As correlações genéticas e fenotípicas foram de magnitude média a alta em 2006 (Tabela 19), variando de $r_f = 0,48$ e $r_g = 0,56$ (entre DAP e FOR) a $r_f = 0,92$ e $r_g = 0,98$ (DAP e VOL). As menores correlações foram verificadas quando se correlaciona o caráter FOR com os demais caracteres. As estimativas de correlações obtidas entre DAP e VOL são semelhantes às obtidas por Sampaio et al. (2000), para *P. caribaea* var. *hondurensis*, e por Sampaio et al. (2002), para *Pinus oocarpa*.

Para os caracteres avaliados na situação A (Tabela 20), observa-se alta correlação genética (0,98) e fenotípica (0,93) entre DAP e VOL; entre DAP e ALTT ($r_g = 0,93$ e $r_f = 0,67$); e entre ALTT e VOL ($r_g = 0,93$ e $r_f = 0,73$). Observa-se que as maiores correlações são verificadas quando os caracteres ALTT, DAP e VOL são correlacionados, pois são caracteres diretamente responsáveis pela produção de madeira. A RPE possui r_g negativa e r_f baixa com ALTB ($r_g = -0,19$; $r_f = 0,25$), o que significa que o melhoramento em um caráter tem efeito inverso sobre o outro.

Na situação B (Tabela 21), verificou-se que o DAP teve altas correlações com o VOL ($r_g = 0,98$ e $r_f = 0,92$) e com ALTT ($r_g = 0,87$ e $r_f = 0,68$). Em relação à DBM, o DAP apresentou médias correlações com DBM ($r_g = 0,46$ e $r_f = 0,61$). A r_g entre RPE e ALTC e entre RPE e ALTB foram negativas, nos valores de -0,05 e -0,31, respectivamente. Considerando as correlações entre alturas, todas possuem correlações positivas, sendo a correlação entre ALTB e ALTC as maiores, $r_g = 0,78$ e $r_f = 0,58$, sendo interessante do ponto de vista comercial, pois quanto mais alta a bifurcação, maior será a altura comercial e maior quantidade de toras será possível de se desdobrar da árvore. Em contraste, Moura e Vale (2002), avaliando procedências de *Pinus tecunumanii*, relataram que as correlações entre densidade e caracteres de crescimento tiveram sempre tendências positivas, sendo mais expressiva a correlação genética entre altura e densidade.

Considerando as árvores remanescentes ao desbaste (situação C), houve redução das correlações genéticas entre todos caracteres (Tabela 22) quando comparadas aos resultados antes do desbaste e de árvores desbastadas (Situações A e B). Correlações baixas e negativas são observadas quando se correlaciona ALTB com os demais caracteres,

sendo a maior delas entre ALTB e RPE ($r_g = -0,57$). Assim como nas demais situações, o DAP e o VOL possuem as maiores correlações, $r_g = 0,97$ e $r_f = 0,95$, representando que os caracteres estão correlacionados entre si geneticamente, independentemente se considerasse árvores desbastadas ou árvores remanescentes, o que sugere que progressos genéticos podem ser obtidos com a seleção indireta entre esses caracteres.

Considerando ainda as árvores remanescentes, um e dois anos após o desbaste (Situações D e E), houve redução das correlações genéticas entre todos caracteres (Tabelas 23 e 24) quando comparadas aos resultados das árvores desbastadas (Situações C). Assim como nas demais situações, o DAP e o VOL possuem as maiores correlações, $r_g = 0,97$ e $r_f = 0,95$ (Situação D) e $r_g = 0,96$ e $r_f = 0,94$ (Situação E), indicando que o melhoramento com base na seleção no caráter DAP tem ganhos positivos sobre o caráter volume, tanto genética quanto fenotipicamente.

De modo geral, as correlações entre os caracteres de crescimento e DBM tiveram magnitudes de baixa a média. Em concordância com o trabalho de Moraes (1987), com *E. grandis*. Em estudo de clones de *Eucalyptus* spp., Tolfo et al. (2005) concluíram que as estimativas de correlação entre os caracteres de crescimento e produção com os tecnológicos da madeira foram, em geral, de pequena magnitude, indicando a expectativa de pequenos progressos genéticos pela seleção indireta baseada nestes caracteres.

Tabela 19. Estimativas das correlações genóticas (r_g) e fenóticas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 20 anos após instalação (ano 2006), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	FOR	VOL (m ³ /árv.)
DAP (cm)	r_g	0,89	0,56	0,98
	r_f	0,65	0,48	0,92
ALTT (m)	r_g		0,64	0,91
	r_f		0,51	0,73
FOR	r_g			0,55
	r_f			0,45

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira.

Tabela 20. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação A (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv)	RPE (mm)
ALTB (m)	r_g	0,47	0,45	0,38	-0,19
	r_f	0,40	0,29	0,27	0,25
ALTT (m)	r_g		0,93	0,93	0,44
	r_f		0,67	0,73	0,48
DAP (cm)	r_g			0,98	0,48
	r_f			0,93	0,66
VOL(m ³ /árv)	r_g				0,48
	r_f				0,57

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação A: avaliação de todas as árvores antes do desbaste no ano 2007 (n=1500).

Tabela 21. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação B (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv)	RPE (mm)	DBM (g/cm ³)
ALTC (m)	r_g	0,60	0,78	0,47	0,40	-0,05	0,17
	r_f	0,55	0,58	0,28	0,21	0,31	0,28
ALTT (m)	r_g		0,24	0,88	0,87	0,47	0,50
	r_f		0,34	0,60	0,68	0,48	0,51
ALTB (m)	r_g			0,15	0,08	-0,31	0,16
	r_f			0,20	0,16	0,24	0,11
DAP (cm)	r_g				0,98	0,52	0,46
	r_f				0,92	0,66	0,61
VOL (m ³ /árv)	r_g					0,51	0,41
	r_f					0,59	0,56
RPE (mm)	r_g						0,26
	r_f						0,41

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP. Situação B: avaliação de árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250).

Tabela 22. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv)	RPE (mm)
ALTB (m)	r_g	-0,09	-0,09	-0,14	-0,57
	r_f	0,11	-0,04	-0,01	-0,06
ALTT (m)	r_g		0,71	0,83	0,24
	r_f		0,52	0,69	0,06
DAP (cm)	r_g			0,97	0,49
	r_f			0,95	0,46
VOL (m ³ /árv)	r_g				0,47
	r_f				0,37

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação C: avaliação de árvores remanescentes no ano 2007 (n=250).

Tabela 23. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 22 anos após instalação, na Situação D (ano 2008), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	VOL (g/cm ³)
DAP (cm)	r_g	0,64	0,97
	r_f	0,54	0,95
ALTT (m)	r_g		0,79
	r_f		0,71

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250).

Tabela 24. Estimativas das correlações genotípicas (r_g) e fenotípicas (r_f), entre os caracteres avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 23 anos após instalação, na Situação E (ano 2009), em Selvíria, MS.

Caracteres	Correlação	ALTT (m)	VOL (g/cm ³)
DAP (cm)	r_g	0,62	0,96
	r_f	0,50	0,94
ALTT (m)	r_g		0,80
	r_f		0,70

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

5.3.4. Desenvolvimento das brotações de *Eucalyptus camaldulensis*

Aos 22 anos de plantio da população base, um ano após o desbaste seletivo, além das avaliações silviculturais na população de melhoramento, avaliou-se a brotação das cepas. Determinou-se o número total de brotos em cada cepa (NBr) e os três brotos mais vigorosos foram deixados para condução da brotação, cortando-se os demais. Determinou-se, então, a altura total dos três brotos (ALTBr, m); a área basal da cepa (ABC, cm²) e a porcentagem de brotação (BRO, %).

Os resultados referentes às estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e teste F estão na Tabela 25, para os caracteres quantitativos das brotações de *E. camaldulensis*. As estimativas dos quadrados médios estão na Tabela A8.

A espécie *Eucalyptus camaldulensis* teve 98,14% de brotação, um ano após o desbaste na população base. Não há diferenças significativas entre as matrizes para esse caráter, o que sugere que as brotações aconteceram uniformemente no experimento. São vários os fatores que afetam a brotação do eucalipto, o que torna difícil precisar as verdadeiras causas de falhas na brotação, assim como é pouco conhecido o quanto um determinado fator pode afetar a capacidade de brotação de uma dada espécie num dado local (HIGA; STURION, 1997). Observou-se que as falhas nas brotações foram em parte decorrência de ataque de formigas e abafamento das cepas por presença de galhos.

A capacidade e o desenvolvimento da brotação foram bons, considerando os resultados obtidos: NBr foi de $4,60 \pm 0,25$, ALTBr foi de $3,71 \pm 0,05$ m, e ABC foi de $1026,65 \pm 18,81$ cm². Existem diferenças significativas entre as matrizes para todos esses caracteres, o que afirma a idéia de que existem diferenças na capacidade de brotação, tanto entre espécies como dentro de uma mesma espécie de eucalipto. Os coeficientes de variação experimental variaram de magnitude baixa, 13,48% (BRO), a alta, 55,95% (ABC).

Observou-se que o desbaste favoreceu o crescimento da copa das árvores remanescentes, que respondem bem às condições de luz, formando um grande dossel na população de melhoramento, mas que não inibiu ou dificultou a brotação das cepas.

Tabela 25. Estimativas de média [$\hat{m} \pm s(\hat{m})$], coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e teste F , para os caracteres quantitativos das brotações de *Eucalyptus camaldulensis*, um ano após o desbaste (ano 2008) em Selvíria, MS.

Caracteres	Brotações (2008)		
	$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	CV_{exp} (%)	F
ABC (cm ²)	1026,65 ± 18,81	55,95	4,78 **
BRO (%)	98,14 ± 0,00	13,48	1,03 ^{ns}
NBR	4,60 ± 0,25	39,90	4,45 **
ALTBr(m)	3,71 ± 0,05	39,55	3,17 **

ABC: área basal da cepa; BRO: brotação da cepa; NBR: número total de brotos por cepa; ALTBr: altura total dos três brotos principais. $s(\hat{m})$: desvio padrão da média (\hat{m}); CV_{exp} (%): coeficiente de variação experimental; **: Valor significativo ($Pr < 0,01$); ^{ns}: valor não significativo estatisticamente.

As estimativas dos parâmetros genética estão na Tabela 26. As estimativas das variâncias que permitiram a obtenção dos parâmetros genéticos estão na Tabela A10.

Os coeficientes de variação genética individual (CV_{gi}) foram maiores que o genética de progênes (CV_{gp}), para todos caracteres da brotação. O CV_{gi} variou de magnitude baixa, 0,65% (BRO) a média, 28,07% (ABC). Os caracteres tiveram a mesma tendência de magnitude para o CV_{gp} , de baixa, 0,32% (BRO), a média, 14,03% (ABC). A magnitude de variação genética dos caracteres da brotação indica que existe variabilidade genética mediana na espécie, nas condições experimentais do presente trabalho.

Entre os caracteres da brotação, a ABC apresentou o maior coeficiente de variação relativa ($CV_r = 0,25$), e BRO teve menor $CV_r = 0,02$, ambos valores de baixa magnitude (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992), evidenciando que o controle genético dos caracteres é baixo e influenciado por fatores ambientais. Assim, os caracteres de brotação não devem ser utilizados como fonte de seleção, pois segundo Vencovsky (1978) é recomendável que CV_r apresente estimativas próximos a 1.

Entre os quatro caracteres avaliados nas brotações, a BRO teve as menores herdabilidades: de indivíduo na parcela ($\hat{h}^2 = 2 \times 10^{-3} \pm 0,01$) e de média de progênie ($\hat{h}_m^2 = 0,03$), e a ABC as maiores: $\hat{h}^2 = 0,24 \pm 0,09$ e $\hat{h}_m^2 = 0,79$. A \hat{h}_m^2 teve magnitude baixa somente para BRO, e alta para os demais caracteres.

A acurácia de seleção foi baixa para a BRO ($\hat{r}_{aa} = 0,18$) e alta para os demais caracteres. Isso significa que, apesar de alta variação experimental (altos CV_{exp} , Tabela 25), existe precisão na determinação dos caracteres.

Tabela 26. Estimativa de alguns parâmetros genéticos para os caracteres quantitativos das brotações: coeficiente de variação genética individual e genética de progênes (CV_{gi} e CV_{gp}), coeficiente de variação relativa (CV_r), herdabilidade, no sentido restrito, de indivíduo na parcela (\hat{h}^2), herdabilidade no sentido restrito, de média de progênie (\hat{h}_m^2), acurácia de seleção (\hat{r}_{aa}), avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, um ano após o desbaste (ano 2008) em Selvíria, MS.

Caracteres	CV_{gi} (%)	CV_{gp} (%)	CV_r (%)	\hat{h}^2	\hat{h}_m^2	\hat{r}_{aa}
ABC (cm ²)	28,07	14,03	0,25	0,24 ± 0,09	0,79	0,89
BRO (%)	0,65	0,32	0,02	2x10 ⁻³ ± 0,01	0,03	0,18
NBR	19,14	9,57	0,24	0,22 ± 0,08	0,78	0,88
ALTBr(m)	15,06	7,53	0,19	0,14 ± 0,07	0,68	0,83

ABC: área basal da cepa; BRO: brotação da cepa; NBR: número total de brotos por cepa; ALTBr: altura total dos três brotos principais.

5.3.5. Análise multivariada: Estudo do coeficiente de caminhamento - trilha (*path coefficient analysis*)

As estimativas do coeficiente de caminhamento estão na Tabela 27, Situação C. A matriz das correlações fenotípicas necessárias para processamento das análises no programa GENES está na Tabela A17.

O coeficiente de caminhamento (análise de trilha) foi empregado com objetivo de detalhar os efeitos entre os caracteres de crescimento e a RPE, na população de melhoramento, na situação C. Esta análise possibilitou determinar os efeitos diretos e indiretos dos caracteres sobre a variável principal, VOL, de grande interesse econômico no melhoramento florestal.

Baseado nos resultados obtidos da análise de trilha, na realização de seleção indireta do VOL recomenda-se que o objeto de seleção seja baseado no DAP, que possui as maiores correlações indiretas e direta em relação ao VOL.

Observa-se que ALTT e ALTB tiveram baixa influência direta e indireta na formação do VOL, sendo que os efeitos diretos da ALTB sobre o VOL são negativos e de baixa magnitude (-0,0085). A RPE apresenta efeito direto negativo (-0,0263) ou próximo

de zero sobre o VOL. O coeficiente de determinação foi alto ($R^2 = 0,9603$), indicando precisão das estimativas. De modo geral, a partir dessas estimativas é possível verificar que, para a formação do VOL, seja de modo direto ou indireto, o DAP é o caráter que mais contribui, e a RPE é o caráter que menos contribui. Observa-se também que, quando o foco é o DAP, o efeito é positivo sobre o VOL e também sobre ALTT.

Esses resultados colaboram com a escolha de estratégias de melhoramento genético na espécie, quando esclarecem quais são os caracteres que possuem ou não certo grau de associação genética. Influencia na determinação da variação genética de dois caracteres quantitativos na população, sendo que estes podem ser afetados pelo mesmo gene, ou seja, correlacionados direta ou indiretamente.

Tabela 27. Estimativas do coeficiente de trilha: desdobramento das correlações fenotípicas em caracteres de efeitos diretos e indiretos sobre o volume de madeira, avaliados na população de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Efeito	Correlação
ALTT	Efeito direto sobre VOL	0,2651
	Efeito indireto via ALTB	-0,0009
	Efeito indireto via DAP	0,4281
	Efeito indireto via RPE	-0,0015
	Total	0,6908
ALTB	Efeito direto sobre VOL	-0,0085
	Efeito indireto via ALTT	0,0282
	Efeito indireto via DAP	-0,0336
	Efeito indireto via RPE	0,0017
	Total	-0,0123
DAP	Efeito direto sobre VOL	0,8264
	Efeito indireto via ALTT	0,1373
	Efeito indireto via ALTB	0,0003
	Efeito indireto via RPE	-0,0121
	Total	0,9520
RPE	Efeito direto sobre VOL	-0,0263
	Efeito indireto via ALTT	0,0148
	Efeito indireto via ALTB	0,0005
	Efeito indireto via DAP	0,3784
	Total	0,3674
Coefficiente de determinação (R^2)		0,9603
Efeito da variável residual		0,1993

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação C: avaliação de árvores remanescentes no ano 2007 (n=250).

5.3.6. Ganho na seleção, tamanho efetivo e diversidade genética

O Índice Multi-Efeitos (\hat{a} = IME) foi empregado para realizar seleção na população base de *E. camaldulensis* em 2006, aos 20 anos após a instalação. O caráter DAP teve o maior valor de coeficiente de variação relativa (Tabela 18) na avaliação realizada, portanto este caráter foi empregado como objeto de seleção na população base.

Resende e Higa (1994a) explicam que o IME possibilita explorar frações da variância genética aditiva que não são consideradas na seleção entre e dentro de progênies, e sugerem que uma seleção mais efetiva poderia ser realizada ponderando os valores individuais e os valores das suas respectivas famílias. Neste método, a seleção é baseada em medidas genéticas (valores genéticos líquidos) e não fenotípicas, dos candidatos à seleção.

O IME foi estimado para a seleção dos indivíduos indicados ao desbaste, que foi realizado na população base de *E. camaldulensis* aos 21 anos (2007). Foi empregada intensidade de 83,33% de seleção, resultando em 250 indivíduos remanescentes no experimento, formando a população de melhoramento. As estimativas do IME, para os 250 indivíduos da população de melhoramento, e para as 136 matrizes que originaram os indivíduos do TP, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, estão respectivamente nas Tabelas A18 e A19.

É importante esclarecer que os 250 melhores indivíduos selecionados pelo IME, não são os mesmos 250 efetivamente remanescentes ao desbaste, existentes no campo e que agora constituem a população de melhoramento. Estabeleceu-se o seguinte critério para considerar árvore remanescente: caso a matriz selecionada pelo IME apresentasse bifurcação, galhos quebrados, ou alguma outra injúria, selecionava-se outra matriz para substituição, na mesma linha dentro do bloco em que esta se encontra, de acordo com o IME, em último caso em outra linha do bloco, de modo que garantisse a representatividade de todas as 25 matrizes originais.

Na Tabela 28 estão as estimativas referentes aos seguintes parâmetros: \hat{a} : efeito genético aditivo = IME; Índice Multi-efeito; \hat{G}_s : Ganho na seleção; E_f : eficiência do IME em relação à Seleção entre e dentro de progênies e a \hat{D} : Diversidade genética para a população base. As estimativas destes parâmetros são referentes a três situações:

- ↳ Situação real – 250 indivíduos (PM), referente aos 250 da população de melhoramento e atual área de produção de sementes;

- ↳ Situação real – 136 indivíduos (TP), referente a 136 matrizes do pomar de sementes que originaram os indivíduos do teste de progênie;
- ↳ Situação 136 indivíduos (melhores) - se refere aos 136 melhores indivíduos da população base.

Nas situações reais, a seleção ocorreu objetivando ganhos e representatividade, ou seja, garantir a base genética dos indivíduos, apesar de, com isso, os ganhos serem menores do que se a seleção ocorresse somente com objetivo de obter ganhos. Isso ocorreu porque um dos objetivos do presente estudo foi de que ocorresse a manutenção da base genética da população inicial, ou seja, que as perdas da variabilidade fossem mínimas. Sugere-se que a maximização de ganhos ocorra no teste de progênie, num momento futuro, de acordo com os objetivos da condução do programa de melhoramento.

A condição de seleção dos 136 melhores indivíduos da população base é uma das alternativas de estratégia de seleção, porém quando o objetivo é apenas obtenção de ganhos genéticos. Outra alternativa é proposta por Resende (2002), que recomenda quando aplicar o IME e também tiver a preocupação de manter a diversidade genética razoável, de estabelecer um k_f máximo.

Com a utilização do IME, observou-se que o menor número de matrizes selecionadas ($N_f = 16$), das 25 existentes na população base, ocorre na situação em que se considera 136 indivíduos (melhores). Já nas situações reais, referentes aos 250 indivíduos da PM e 136 indivíduos do TP, utilizaram-se todas as 25 matrizes da população base. O número médio de indivíduos por progênie foi menor na situação dos 136 indivíduos (TP) ($\bar{k}_f = 5,44$), do que na situação dos 136 indivíduos (melhores) ($\bar{k}_f = 8,50$), entretanto a variação do número de indivíduos foi maior na segunda situação.

A população de melhoramento é composta de 250 indivíduos, 25 matrizes originais, e a seleção foi conduzida para manter a representatividade das 25 matrizes, com $\bar{k}_f = 10$; possui \hat{G}_s de 5,01%, e \hat{D} de 0,693.

Os ganhos e a eficiência na seleção foram maiores nos 136 indivíduos (melhores) ($\hat{G}_s = 9,64\%$, $Ef = 93,29\%$) do que a seleção nos 136 indivíduos (TP) ($\hat{G}_s = 5,43\%$, $Ef = 8,92\%$). Entretanto, houve redução da diversidade genética, considerando os 136 indivíduos (melhores) ($\hat{D} = 0,246$), em relação aos 136 indivíduos (TP) ($\hat{D} = 0,671$), além de poder gerar mais endogamia. Portanto, a condição de seleção 136 indivíduos (TP) consegue associar eficiência no ganho na seleção, representatividade, mantendo a

diversidade genética em níveis compatíveis com a seleção dos 250 indivíduos (PM), ou seja, promove a manutenção da variabilidade na população. Para a obtenção de ganhos genéticos ressalta-se a importância do monitoramento da base genética, a fim de evitar perdas excessivas de variabilidade, o que compromete os objetivos do programa de melhoramento (MORI, 1993).

Tabela 28. Seleção pelo Índice Multi-efeitos (IME), para o caráter DAP (cm), avaliado aos 20 anos após instalação da população base de *Eucalyptus camaldulensis* (2006), em Selvíria, MS, em condições de: 250 indivíduos da população de melhoramento (PM); 136 matrizes da população de melhoramento que originaram os indivíduos do teste de progênies (TP); 136 melhores indivíduos da população base.

250 indivíduos (PM)		136 indivíduos (TP)		136 indivíduos (Melhores)	
Matriz	k_f	Matriz	k_f	Matriz	k_f
1	3	1	1	3	15
2	5	2	4	4	1
3	10	3	6	6	1
4	11	4	8	8	1
5	3	5	2	10	8
6	5	6	3	11	11
7	5	7	3	12	1
8	4	8	4	15	1
9	7	9	6	16	8
10	9	10	6	17	2
11	29	11	17	18	4
12	8	12	4	19	1
13	5	13	3	20	13
14	3	14	1	21	44
15	4	15	3	22	19
16	15	16	6	23	6
17	9	17	4		
18	16	18	6		
19	10	19	2		
20	19	20	6		
21	22	21	14		
22	18	22	11		
23	15	23	9		
24	11	24	4		
25	4	25	3		
N	250	136		136	
N_{fo}	25	25		25	
N_f	25	25		16	
\bar{k}_f	10,00	5,44		8,50	
$\sigma_{k_f}^2$	46,1667	15,0900		123,0667	
μ (cm)	32,68	33,81		35,55	
\hat{a} (cm)	1,2657	1,3786		2,4465	
\hat{G}_S (%)	5,01	5,46		9,69	
$Ef.$ (%)	---	8,92		93,29	
\hat{D}	0,693	0,671		0,246	

N : nº de indivíduos selecionados; N_{fo} : nº de matrizes originais da população base; N_f : nº de matrizes selecionadas; k_f : nº de indivíduos selecionados por matriz; \bar{k}_f : nº médio de indivíduos selecionados por matriz; $\sigma_{k_f}^2$: variância do nº de indivíduos selecionados por matriz; μ : média geral; \hat{a} : efeito genético aditivo = IME: Índice Multi-efeito; \hat{G}_S : Ganho na seleção; $Ef.$: eficiência do IME em relação à seleção nos 250 indivíduos da população de melhoramento; \hat{D} : Diversidade genética.

5.3.7. Desenvolvimento do teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis*

Muito mais do que o objetivo de garantir material vegetal para a caracterização molecular das progênies, a formação do teste de progênies constitui-se em uma fase intermediária do programa de melhoramento genético da espécie. O teste de progênies promove a condução das famílias segregantes que permitam maximizar os ganhos diretos, indiretos ou simultâneos em características de importância, visando melhoramento genético em longo prazo.

Os resultados referentes às estimativas de parâmetros estatísticos e genéticos estão na Tabela 29, para o caráter altura total de plantas, avaliado aos seis meses após a instalação do teste de progênies de *E. camaldulensis*.

A altura média das progênies teve boa performance, $3,13 \pm 0,008$ m, aos seis meses de idade. Coutinho et al. (2004), avaliando o desempenho de diferentes espécies de eucalipto na Zona da Mata pernambucana, também obtiveram estimativas de altura consideradas de boa performance para *E. camaldulensis* (5,97m), *C. citriodora* (6,35m), *E. urophylla* (6,32m), *E. saligna* (5,98m) e *E. grandis* (5,85m), aos 12 meses de idade. Mahmood et al. (2003) obtiveram estimativas de altura média de *E. camaldulensis*: 4,6 m e 8,7 m, aos 23 e 60 meses de idade, respectivamente.

A partir dos valores obtidos de baixo coeficiente de variação experimental ($CV_{exp} = 6,16\%$) e alto coeficiente de variação relativa ($CV_r = 1,37\%$), observa-se que existem precisão e qualidade experimentais. A alta magnitude do CV_r , segundo Vencovsky e Barriga (1992) evidencia também que o controle genético do caráter é alto e pouco influenciado por fatores ambientais, uma boa estimativa, considerando-se que o teste de progênies possui apenas seis meses de idade. Os coeficientes de determinação dos efeitos de parcela e de bloco foram baixos, respectivamente, $\hat{c}_p^2 = 0,1050$ e $\hat{c}_b^2 = 0,0421$, ótimos resultados, inferindo que o delineamento experimental empregado foi ótimo, que proporcionou homogeneidade ambiental, tanto de parcela quanto de bloco, além de maximizar da acurácia seletiva ($\hat{r}_{aa} = 0,8890$). Esses valores são positivos no que diz respeito ao emprego da seleção precoce no teste de progênies.

Os coeficientes de variação genética (CV_{gi} e CV_{gp}) indicam que existe variabilidade genética no teste de progênies de magnitude mediana, para o caráter altura total.

As estimativas de herdabilidade individual, no sentido restrito ($h_a^2=0,79 \pm 0,07$), e herdabilidade média de progênies ($h_{mp}^2 = 0,7904$) foram de alta magnitude, segundo interpretação proposta por Resende (1995). As estimativas de $\hat{h}_{r_{xy}}^2$ foram obtidas a partir do ajuste de componentes de variação genética (a variância genética aditiva, $\hat{\sigma}_a^2$) de acordo com o valor de parentesco entre as progênies (\hat{r}_{xy}) obtido a partir da caracterização molecular. Sendo assim, o ajuste considerou $\hat{r}_{xy} = 0,3079$, valor que indica parentesco entre meios irmãos (0,250) e irmão completos (0,5). A estimativa de \hat{h}^2 foi reduzida, passou de $\hat{h}^2=0,7926$ para $\hat{h}_{r_{xy}}^2=0,6436$, sem deixar de ser considerada alta, porém ajustada. Observa-se que o ajuste do estimador aumentou a precisão da herdabilidade ao considerar o real parentesco da espécie, nas condições experimentais do presente estudo, e será empregado nos programa de melhoramento que prosseguirá envolvendo o teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis*.

Tabela 29. Estimativas dos parâmetros estatístico-genéticos para altura total (m) de progênes de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., com seis meses de idade. Selvíria, MS, 2009.

PARÂMETRO	ALTURA TOTAL (m)
$\hat{\sigma}_a^2$	0,2791
$\hat{\sigma}_{ar,xy}^2$	0,2266
$\hat{\sigma}_c^2$	0,0370
$\hat{\sigma}_b^2$	0,0148
$\hat{\sigma}_e^2$	0,0212
$\hat{\sigma}_f^2$	0,3521
CV_{exp} (%)	6,16
CV_{gi} (%)	16,91
CV_{gp} (%)	8,46
CV_r	1,37
\hat{c}_p^2	0,1050
\hat{c}_b^2	0,0421
\hat{h}^2	0,79 ± 0,07
$\hat{h}_{r,xy}^2$	0,64
\hat{h}_m^2	0,79
\hat{r}_{aa}	0,8890
$\hat{m} \pm s(\hat{m})$	3,13 ± 0,008

$\hat{\sigma}_a^2$: variância genética entre progênes; $\hat{\sigma}_{ar,xy}^2$: variância genética com ajuste pelo parentesco dentro das progênes; $\hat{\sigma}_c^2$: variância ambiental entre parcelas; $\hat{\sigma}_b^2$: variância ambiental entre blocos; $\hat{\sigma}_e^2$: variância residual; $\hat{\sigma}_f^2$: variância fenotípica individual; CV_{exp} : coeficiente de variação experimental; CV_{gi} : coeficiente de variação genética individual; CV_{gp} : coeficiente de variação genética de progênes; CV_r : coeficiente de variação relativa; \hat{c}_p^2 : coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; \hat{c}_b^2 : coeficiente de determinação dos efeitos de bloco; \hat{h}^2 : herdabilidade individual no sentido restrito; $\hat{h}_{r,xy}^2$: herdabilidade individual, no sentido restrito, com ajuste pelo parentesco dentro das progênes; \hat{h}_m^2 : herdabilidade média de progênes; \hat{r}_{aa} : acurácia da seleção de progênes; $\hat{m} \pm s(\hat{m})$: média geral ± desvio padrão (m).

5.4. CONCLUSÕES

1. A população base de *E. camaldulensis* tem bom desenvolvimento na região de Selvíria, MS, em relação aos caracteres quantitativos avaliados, e pode ser recomendada para plantios na região.
2. A população base, mesmo após a transformação em população de melhoramento, possui alta variabilidade genética.
3. O caráter altura total de plantas não é indicado como objeto de seleção na população base por apresentar redução na acurácia seletiva após o desbaste.
4. A alta densidade básica da madeira estimada na população de *E. camaldulensis* indica este material para uso em serraria e energia, além de doador de pólen para programas de melhoramento genético do *Eucalyptus* que objetivem aumento deste caráter.
5. O desbaste seletivo proporcionou a exploração da variabilidade genética da espécie e abriu perspectivas para exploração da população de melhoramento como área de produção de sementes.
6. As correlações entre os caracteres DAP e volume foram altas, e a resistência a penetração da madeira possui baixa correlação com os caracteres de crescimento. A análise de trilha evidenciou que a formação do volume é influenciada em maior proporção, direta e indiretamente, pelo caráter DAP, e em menor proporção pelo caráter resistência a penetração da madeira.
7. A população base possui alta capacidade e qualidade de brotação. As poucas falhas de brotação foram por causas ambientais, como formigas e pouca luz solar.
8. A seleção pelo índice multi-efeitos aplicado ao caráter DAP em 2006, na situação em que se consideram as 136 matrizes que originaram os indivíduos do teste de progênies, proporcionou resultados melhores que as 136 melhores matrizes da população base, em termos de manutenção da variabilidade genética.
9. O teste de progênies de *E. camaldulensis* possui boa performance e precisão de condições experimentais para o caráter altura de plantas, na região de Selvíria, MS, o que possibilita selecionar progênies melhor adaptadas para plantios na região.-
10. As progênies de *E. camaldulensis* possuem alta variabilidade genética para o caráter altura de plantas, com alta acurácia seletiva e precisão experimental.
11. As estimativas de herdabilidade individual foram reduzidas com o ajuste das variâncias aditivas, sem alteração da magnitude de variação, de modo geral. Porém estimaram com precisão a herdabilidade em função do sistema de reprodução da espécie.

REFERÊNCIAS

- ABAD, J.I.M. **Diversidade genética por meio de marcadores moleculares e predição de ganhos em *Eucalyptus* spp.** 2003. 98 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2003.
- AGRAMA, H.A.; GEORGE, T.L.; SALAH, S.F. Construction of genome map for *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.51, n.5/6, p.201-206, 2002.
- AHUJA, M.R. Recent advances in molecular genetics of forest trees. **Euphytica: Netherlands Journal of Plant Breeding**, Wageningen, v.121, n.2, p.173–195, 2001.
- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforeses de proteínas e isoenzimas de fundos e essências florestais.** Viçosa, MG: UFV, 1991. 242p.
- ALZATE, S.B.A.; TOMAZELLO FILHO, M.; PIEDADE, S.M.S. Variação longitudinal da densidade básica da madeira de clones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, *E. saligna* Sm. e *E. grandis* x *urophylla*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.68, p.87-95, 2005.
- ARANTES, F.C. **Adaptabilidade e estabilidade de progênies de *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell.- Arg. em três diferentes regiões do estado de São Paulo.** 2010. 62 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira. 2010.
- ASSIS, T.F. **Melhoramento genético do eucalipto.** Disponível em: <http://www.celsofoelkel.com.br/artigos_outros2.html>. Acesso em: 19 mar. 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF, 2009.** Disponível em: <http://www.abraflor.org.br/estatisticas.asp>. Acesso em 28 jan. 2010.
- BARBOUR, R.C.; POTTS, B.M.; VAILLANCOURT, R.R.; TIBBITS, W.N.; WILTSHIRE, R.J.E. Gene flow between introduced and native *Eucalyptus* species. **New Forests**, Dordrecht, v.23, n.3, p.177–191, 2002.
- BARBOUR, R.C.; POTTS, B.M.; VAILLANCOURT, R.E. Gene flow between introduced and native *Eucalyptus* species: Early-age selection limits invasive capacity of exotic *E. ovata* x *nitens* F₁ hybrids. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.228, n.1-3, p.206–214, 2006.
- BARBOUR, R.C.; CRAWFORD, A.C.; HENSON, M.; LEE, D.J.; POTTS, B.M.; SHEPHERD, M. The risk of pollen-mediated gene flow from exotic *Corymbia* plantations into native *Corymbia* populations in Australia. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.256, n.1-2, p.1–19, 2008.
- BARREIRA, S.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Herança genética e desequilíbrio de ligação em nove locos isoenzimáticos de *Eremanthus erythropappus*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.17, n.2, p.183-193, 2005.

BARRICHELO, L.E.G. *Pinus caribaea* var. *hondurensis* – principais características da madeira sob o ponto de vista tecnológico. **Circular Técnica IPEF**, Piracicaba, n.85, p.1-10, 1980.

BILA, A.; ISSUFO, A.A.K. Teste de procedências de *Eucalyptus camaldulensis* na região Norte e Sul de Moçambique. **IPEF**, Piracicaba, n.47, p.50-55, 1994.

BILLOTTE, N.; LAGODA, P.J.R.; RISTERUCCI, A.M.; BAURENS, F.C. Microsatellite enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. **Fruits**, Paris, v.54, n.4, p.277–288, 1999.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 1998. 453p.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using RFLP. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.32, n.3, p.314-331, 1980.

BOVI, M.L.A.; RESENDE, M.D.V.; SÁES, L.A.; UZZO, R.P. Genetic analysis for sooty mold resistance and heart of palm yield in *Archontophoenix*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.61, n.2, p.178-184, 2004.

BOVI, M.L.A.; RESENDE, M.D.V.; SPIERING, S.H. Genetic parameters estimation in King palm through a mixed mating system model. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.21, n.1, p.93-98, 2003.

BRONDANI, R.P.V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research**, Berlin, v.97, n.5-6, p.816–827, 1998.

BURCZYK, J.; ADAMS, W.T.; SHIMIZU, J.Y. Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon) stand. **Heredity: An International Journal of Genetics**, London, v.77, n.3, p.251-260, 1996.

BUTCHER, P.A.; McDONALD, M.W.; BELL, J.C. Congruence between environmental parameters, morphology and genetic structure in Australia's most widely distributed eucalypt, *Eucalyptus camaldulensis*. **Tree Genetics and Genomes**, Berlin, v.5, n.1, p.189–210, 2009.

BUTCHER, P.A.; OTERO, A.; McDONALD, M.W.; MORAN, G.F. Nuclear RFLP variation in *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from northern Australia. **Heredity: An International Journal of Genetics**, London, v.88, n.5, p.402–412, 2002.

BUTCHER, P.A.; SKINNER, A.K.; GARDINER, C.A. Increased inbreeding and inter-species gene flow in remnant populations of the rare *Eucalyptus benthamii*. **Conservation Genetics**, Netherlands, v.6, n.2, p.213-226, 2005.

CAIXETA, R.P.; CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S.; TRUGILHO, P.F. Variações genéticas em populações de *Eucalyptus* spp. detectadas por meio de marcadores moleculares. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.27, n.3, p.357-363, 2003.

CHAIX, G.; GERBER, S.; RAZAFIMAHARO, V.; VIGNERON, P.; VERHAEGEN, D. HAMON, S. Gene flow estimation with microsatellites in a Malagasy seed orchard of *Eucalyptus grandis*. **Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research**, Berlin, v.107, n.4, p.705–712, 2003.

CIAMPI, A.Y.; AZEVEDO, V.C.R.; SILVA, V.P. **Análise genética populacional de *Tabebuia impetiginosa* utilizando marcadores moleculares RAPD**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 18p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 55).

COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v.23, n.1, p.72-84, 1969.

CORDEIRO, G.M.; TAYLOR, G.O.; HENRY, R.J. Characterization of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* sp.), a highly polyploidy species. **Plant Science**, Limerick, v.155, n.2, p.161–168, 2000.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J.; GONÇALVES, P.S.; BORTOLETTO, N. Seleção combinada univariada e multivariada aplicada ao melhoramento genético da seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.35, n.2, p.381-388, 2000a.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J.; GONÇALVES, P.S.; HIGA, A.R. Selection and genetic gain in rubber tree (*Hevea*) populations using a mixed mating system. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.3, p.671-679, 2000b.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAUJO, A.J.; GONÇALVES, P.S.; MARTINS, A.L.M. Genotype-environment interaction and the number of test sites for the genetic improvement of rubber trees (*Hevea*) in São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.179-187, 2000c.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J.; GONÇALVES, P.S.; SILVA, M.A. Maximization of genetic gain in rubber tree (*Hevea*) breeding with effective size restriction. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.2, p.457-462, 2000d.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; CONTINI, A.Z.; REGO, F.L.H.; ROA, R.A.R.; MARTINS, W.J. Avaliação genética de indivíduos de erva-mate (*Ilex paraguaiensis* St. Hil.) na região de Caarapó – MS, pelo procedimento REML/BLUP. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.1, n.4; p.371-376, 2005.

COSTA, R.B.; RESENDE, M.D.V.; GONÇALVES, P.S.; CHICHORRO, J.F.; ROA, R.A.R. Variabilidade genética e seleção para caracteres de crescimento da seringueira. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.2, p.299-305, 2008.

COUTINHO, J.L.B.; SANTOS, V.F.; FERREIRA, R.L.C.; NASCIMENTO, J.C.B. Avaliação do comportamento de espécies de *Eucalyptus* spp. na Zona da Mata pernambucana. I. Resultados do primeiro ano – 2001. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.28, n.6, p.771-775, 2004.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v.19, n.4, p.299–306, 2001.

- CRUZ, C.D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 394p.
- CRUZ, C.D. **Programa genes**: versão Windows, aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 648p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2001. 390p.
- DEMATTE, J.L.I. **Levantamento detalhado dos solos do Campus experimental de Ilha Solteira**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1980. 114p. (mimeogr.).
- DEXTER, B.D.; ROSE, H.J.; DAVIES, N. River regulation and associate forest management problems in the River Murray red gum forests. **Australian Forestry**, Queen Victoria, v.49, n.1, p.16–27, 1986.
- DIAS, L.A.S. Variância de frequências alélicas. In: ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. UFV: Viçosa, 1998. p.381-404.
- DON, R.H.; COX, P.T.; WAINWRIGHT, B.J.; BAKER, K.; MATTICK, J.S. “Touchdown” PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.19, n.14, p.4008, 1991.
- DOW, B.D.; ASHLEY, M.V. Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of sampling in bur oak, *Quercus macrocarpa*. **Molecular Ecology**, Oxford, v.5, n.5, p.615-627, 1996.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, n.1, p.13–15. 1990.
- ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; WYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Clarendon Press: Oxford, 1993. 288p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CNPQ, 1999. 412p.
- FARIAS NETO, J.T.; RESENDE, M.D.V. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) a estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.320-324, 2001.
- FARIAS NETO, J.T.; RESENDE, M.D.V.; OLIVEIRA, M.S.P.; NOGUEIRA, O.L. Estimativas de parâmetros genéticos e ganhos de seleção em progênies de polinização aberta de açaí. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.4, p.1051-1056, 2008.
- FARIAS NETO, J.T.; RESENDE, M.D.V.; OLIVEIRA, M.S.P.; SANTOS, N.S.A.; CANUTO, E.L.; NOGUEIRA, O.L.; MULLEN, A.A. Avaliação genética de progênies de polinização aberta de açaí (*Euterpe oleracea*) e estimativas de parâmetros genéticos. **CERNE**, Lavras, v. 13, p. 376-383, 2007.

FERREIRA, J.E.M.; KROGH, H.J.O.; MENCK, A.L.M.; ODA, S. Teste de procedência de *Eucalyptus* para a região subúmida do Estado do Maranhão. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, v.15, p.41-48, 1987.

FERREIRA, M.; ARAÚJO, A.J. **Procedimentos e recomendações para testes de procedências**. Curitiba. EMBRAPA – URPFCS, 1981. (Série Documentos, 6). 28p.

FOELKEL, C.E.B.; BRASIL, M.A.M.; BARRICHELA, L.G.E. Métodos para determinação da densidade básica de cavacos para coníferas e folhosas. **IPEF**, Piracicaba, n.2-3, p.65-74, 1971.

FURLANI, R.C.M.; MORAES, M.L.T.; RESENDE, M.D.V. ; FURLANI JÚNIOR, E.; GONÇALVES, P.S.; VALERIO FILHO, W.V.; PAIVA, J.R. Estimation of variance components and prediction of breeding values in rubber tree breeding using the REML/BLUP procedure. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.28, n.2, p.271-276, 2005.

GAIOTTO, F.A.; BRAMUCCI, M.; GRATTAPAGLIA, D. Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research**, Berlin, v.95, n.5-6, p.842-849, 1997.

GARCIA, C.H.; NOGUEIRA, M.C.S. Utilização da metodologia REML/BLUP na seleção de clones de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.68, p.107-112, 2005.

GARCIA, C.H.; PIMENTEL-GOMES, F. Forest outlines of Brazil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.67, n2, p.105-117. 1992.

GILLET, E.; HATTEMER, H.H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity: An International Journal of Genetics**, London, v.63, n.1, p.135-141, 1989.

GIUDICE-NETO, J.D.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Herança e ligação em locos isoenzimáticos de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.16, n.2, p.101-110, 2004.

GOUDET, J. FSTAT (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate F-statistics. **Journal of Heredity**, Washington, v.86, n.6, p.485-486, 1995.

GRATTAPAGLIA, D. Integrating genomics into *Eucalyptus* breeding. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.3, n.3, p.369-379, 2004.

GRATTAPAGLIA, D. Marcadores moleculares em espécies florestais: *Eucalyptus* como modelo. In: NASS, L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 967-994.

GRATTAPAGLIA, D.; BERTOLUCCI, F.L.G.; PENCHEL, R.; SEDEROFF, R.R. Genetic mapping of quantitative trait loci controlling growth and wood quality traits in *Eucalyptus grandis* using a maternal half-sib family and RAPD markers. **Genetics**, Austin, v.144, n.3, p.1205-1214, 1996.

GRATTAPAGLIA, D.; BRADASHAW, H.J. Nuclear DNA content of commercially important *Eucalyptus* species and hybrids. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.24, n.5, p.1074-1078, 1994.

GRATTAPAGLIA, D.; KIRST, M. *Eucalyptus* applied genomics: from gene sequences to breeding tools. **New Phytologist**, Cambridge, v.179, n.4, p.911-929, 2008.

GRATTAPAGLIA, D.; RIBEIRO, V.J.; REZENDE, G.D.S.P. Retrospective selection of elite parent trees using paternity testing with microsatellite markers: an alternative short term breeding tactic for *Eucalyptus*. **Theoretical and Applied Genetics**: international journal of plant breeding research, Berlin, v.109, n.1, p.192-199, 2004.

GUERRA, C.R.S.B.; MORAES, M.L.T.; SILVA, C.L.S.P.; CANUTO, D.S.O.; ANDRADE, J.A.C.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M. Estratégias de seleção dentro de progênies em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.81, p.79-87, 2009.

HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDI: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.2, n.4, p.618-620, 2002.

HERNANDEZ, F.B.T.; LEMOS FILHO, M.A.F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, 1995. 45p. (Série Irrigação, 1).

HIGA, R.C.V.; STURION, J.A. Capacidade de brotação em subgêneros e espécies de *Eucalyptus*. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v.11, n.30, p.23-30, 1997.

HONG-XIN, R.; PATTERSON, B.; POTTS, B.; VAILLANCOURT, R. A microsatellite study on outcrossing rates and contamination in an *Eucalyptus globulus* breeding arboretum. **Journal of Forestry Research**, Tokyo, v.19, n.2, p.136-140, 2008.

HORSLEY, T.N.; JOHNSON, S.D.; MYBURG, A.A. Comparison of different control-pollination techniques for small-flowered eucalypts. **New Forests**, Dordrecht, v.39, n.1, p.75-88, 2010.

HOULE, D. Comparing evolvability and variability of quantitative traits. **Genetics**, Austin, v.130, n.1, p.195-204, 1992.

INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS - IPEF. **Lista de Sementes de *Eucalyptus* e *Pinus***. Disponível em: <http://www.ipef.br/sementes/eucapinus.asp> Acesso em: 28 jan. 2010.

JAMES, S.H.; KENNINGTON, J. Selection against homozygotes and resource allocation in the mating system of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v.41, n.3, p.381-391, 1993.

JONES, M.E.; SHEPHERD, M.; HENRY, R.; DELVES, A. Pollen flow in *Eucalyptus grandis* determined by paternity analysis using microsatellite markers. **Tree Genetics and Genomes**, Berlin, v.4, n.1, p.37-47, 2008.

KAGEYAMA, P.Y. **Variação genética em progênes de uma população de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden**. 1980. 125 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.

KALIL FILHO, A.N.; RESENDE, M.D.V.; KALIL, G.P.C. Componentes de variância e predição de valores genéticos em seringueira pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.35, n.9, p.1883-1887, 2000.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, n.5, p.1099-1106, 2007.

KIRST, M.; CORDEIRO, C.M.; REZENDE, G.D.S.P.; GRATTAPAGLIA, D. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding populations. **Journal of Heredity**, Washington, v.96, n.2, p.161–166, 2005.

LACERDA, C.M.B.; KAGEYAMA, P.Y.; FERRAZ, E.Z. Diversidade isoenzimática em *Myracrodruon urundeuva* em duas situações antrópicas no semi-árido. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.55, p.89-95, 1999.

LEITE, S.M.M.; BONINE, C.A.V.; MORI, E.S.; VALLE, C.F.; MARINO, C.L. Genetic variability in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* S.T.Blake. **Silvae Genetica**, Frankfurt, n.51, n.5-6, p.253-256, 2002.

LEITE, S.M.M.; MORI, E.S.; VALLE, C.F.; BONINE, C.A.V.; MARINO, C.L. RAPD analysis of genetic variability in a multiprovenance base population of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.32, n.6, p.961-967, 2008.

LEVIN D.A. The paternity pool plants. **The American Naturalist**, Chicago, v.132, p.309-317, 1988.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. Genetic data analysis (GDA): computer program for the analysis of allelic data (software). Version 1.1 (d12). 2002. Disponível em: <<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>>. Acesso em: 04 jul. 2005.

LIMA, P.C.F. Espécies potenciais para reflorestamento em regiões semiáridas. **Silvicultura**, São Paulo, v.10, n.37, p.28-32, 1984.

MAHMOOD, K.; MARCAR, N.E.; NAQVI, M.H.; ARNOLD, R.J.; CRAWFORD, D.F.; IQBAL, S.; AKEN, K.M. Genetic variation in *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. for growth and stem straightness in a provenance – family trial on saltland in Pakistan. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.176, n.1-3, p.405-416, 2003.

MARINO, C.L. **Incorporação de marcadores moleculares no melhoramento de eucalipto**. 2008. 50 f. Tese (Livre Docente) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

MARSHALL, T. C.; SLATE, J.; KRUUK, L.E.B.; PEMBERTON, J. M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, n.5, p. 639-655, 1998.

MARTINI, E.J. **O plantador de eucaliptos: a questão da preservação florestal no Brasil e o resgate documental do legado de Edmundo Navarro de Andrade.** 2004. 320 f. Dissertação (Mestrado em História Social) - Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MARTINS-CORDER, M.P.; MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; LOPES, C.R. Estudo da variabilidade isoenzimática em *Eucalyptus urophylla* das Ilhas Flores. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.50, p.43-49, 1996.

MEAGHER, T.R. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. 1. Identification of most-likely male parents. **The American Naturalist**, Chicago, v.128, n.2, p.199-215, 1986.

MEAGHER, T.R.; THOMPSON, E. Analysis of parentage for naturally established seedlings of *Chamaelirium luteum* (Liliaceae). **Ecology**, Tempe, v.68, n.4, p.803-812, 1987.

MISSIO, R.F.; DIAS, L.A.S.; MORAES, M.L.T.; RESENDE, M.D.V. Selection of *Pinus caribaea* var. *bahamensis* progenies based on the predicted genetic value. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.4, n.4, p.399-407, 2004.

MISSIO, R.F.; SILVA, A.M.; DIAS, L.A.S.; MORAIS, M.L.T.; RESENDE, M.D.V. Estimates of genetic parameters and prediction of additive genetic values in *Pinus kesya* progenies. **Crop breeding and applied biotechnology**, Londrina, v.5, n.4, p.394-401, 2005.

MORA, F. Heritability and genetic value (REML/BLUP) in genotypes of an eucalypt drought tolerance, in the northern of Chile. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.16, n.2, p.145-151, 2006.

MORAES, M.A.; ZANATTO, A.C.S.; MORAES, E.; SEBBENN, A.M.; FREITAS, M.L.M. Variação genética para caracteres silviculturais em progênies de polinização aberta de *Eucalyptus camaldulensis* em Luiz Antônio-SP. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.19, n.2, p.113-118, 2007a.

MORAES, M.L.T. **Variação genética da densidade básica da madeira em progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden e suas relações com as características de crescimento.** 1987. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 1987.

MORAES, M.L.T.; HIGA, A.R.; CAVENAGE, A.; KANO, N.K. Avaliação da densidade básica da madeira e de sua relação com os caracteres de crescimento, em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. In: CONFERÊNCIA IUFRO SOBRE SILVICULTURA E MELHORAMENTO DE EUCALIPTOS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA/CNPQ, v.3, p.43-47, 1997.

MORAES, M.L.T.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Correlated matings in dioecious tropical tree, *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. **Forest Genetics**, Zvolen, v.11, n.1, p.55-61, 2004a.

MORAES, M.L.T.; MISSIO, R.F.; SILVA, A.M.; DIAS, L.A.S.; RESENDE, M.D.V. Efeito do desbaste seletivo nas estimativas de parâmetros genéticos em progênies de *Pinus*

caribaea Morelet var. *hondurensis*. **Scientia Forestalis** (IPEF), Piracicaba, v. 74, p. 55-65, 2007b.

MORAES, M.L.T.; MORAES, S.M.B.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Análise genética de fenótipos isoenzimáticos e desequilíbrio de ligação em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.16, n.2, p.83-90, 2004b.

MORAES, M.L.T.; MORI, E.S.; SILVA, A.M.; CANUTO, D.S.O.; SILVA, J.M.; GOMES, J.E.; AULER, D.S. Demonstração da utilização do software SELEGEN – “Seleção genética computadorizada” para o melhoramento de espécies perenes. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, n.12, p.1-22, 2008.

MORI, E.S. Pomares de sementes florestais. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v.5, n.16, p.1-27, 1988.

MORI, E.S. **Variabilidade genética isoenzimática em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden submetida a diferentes intensidades de seleção**. 1993. 119 f. Tese (Doutorado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1993.

MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; FERREIRA, M. Variação genética e interação progênes x locais em *Eucalyptus urophylla*. **IPEF**, Piracicaba, n.39, p.53-63, 1988.

MORI, E.S.; LELLO, L.R.B.; KAGEYAMA, P.Y. Efeitos da interação genótipo x ambiente em progênes de *Eucalyptus saligna* Smith. **IPEF**, Piracicaba, n.33, p.19-25, 1986.

MOURA, V.P.G.; CASER, R.L.; ALBINO, J.C.; GUIMARÃES, D. P.; MELO, J.T.; COMASTRI, S.A. **Avaliação de espécies e procedências de *Eucalyptus* em Minas Gerais e Espírito Santo: resultados parciais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1980. 104p. (Boletim de Pesquisa, 1).

MOURA, V.P.G.; VALE, A.T. Variabilidade genética na densidade básica da madeira de *Pinus tecunumanii* procedente do México e da América Central, no cerrado. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.62, p.104-113, 2002.

NIELSEN, R.; TARPY, D.R.; REEVE, H.K. Estimating effective paternity number in social insects and the effective number of alleles in a population. **Molecular Ecology**, Oxford, v.12, n.11, p.3157-3164, 2003.

NIETO, V.M.; RODRIGUEZ, J. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. In: VOZZO, J.A. (Ed.). **Tropical tree seed manual**. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture/Forest Service, 2003. p.466-467.

ODA, S.; MENCK, A.L.M.; VENCOSKY, R. Problemas no melhoramento genético clássico do eucalipto em função da alta intensidade de seleção. **IPEF: Instituto de pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, n.41-42, p.8-17, 1989.

OLIVEIRA, V.R. **Estudos para formação de populações base de *Eucalyptus tereticornis* Sm**. 1994. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

OLIVEIRA, V.R.; RESENDE, M.D.V.; NASCIMENTO, C.E.S.; DRUMOND, M.A.; SANTOS, C.A.F. Variabilidade genética de procedências e progênes de umbuzeiro via metodologia de modelos lineares mistos (REML/BLUP). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.53-56, 2004.

PAIVA, J.R.; RESENDE, M.D.V. ; CORDEIRO, E.R. Índice Multiefeitos e estimativas de parâmetros genéticos em aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.37, n.6, p.799-807, 2002.

PATIÑO-VALERA, F. **Variação genética em progênes de *Eucalyptus saligna* Smith e sua interação com o espaçamento**. 1986. 192 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

PAULA, R.C. **Variabilidade genética para densidade básica da madeira e para características de crescimento e de eficiência nutricional em famílias de meio-irmãos de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.** 1995. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1995.

PAULA, R.C.; PIRES, I.E.; BORGES, R.C.G.; CRUZ, C.D. Predição de ganhos genéticos em melhoramento florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.37, n.2, p.159-165, 2002.

PAULA, R.N. **Ferramentas e estratégias melhoram eucalipto**. Disponível em: <http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_capa.php?edicao=88>. Acesso em: 23 set. 2005.

PIGATO, S.M.P.C.; LOPES, C.R. Avaliação da variabilidade genética em quatro gerações de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake por meio do marcador molecular RAPD. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.60, p.119-133, 2001a.

PIGATO, S.M.P.C.; LOPES, C.R. Caracterização silvicultural, botânica e avaliação da variabilidade genética por meio de marcador molecular RAPD em um teste de progênes de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.60, p.135-148, 2001b.

PIMENTEL, A.M. Utilização da técnica da eletroforese em genética florestal. **Série Técnica IPEF** Piracicaba, v.5, n.15, p.1-27, 1988.

PINTO JÚNIOR, J.E.; STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V.; RONZELLI JÚNIOR, P. Avaliação simultânea de produtividade, adaptabilidade e estabilidade genotípica de *Eucalyptus grandis* em distintos ambientes do Estado de São Paulo. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.53, p.79-108, 2006.

PINTO JÚNIOR, J.E.; STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V.; RONZELLI JÚNIOR, P. Efeitos da correção de dados na redução da heterogeneidade das variâncias genética, ambiental e fenotípica em testes de progênes de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.51, p.75-107, 2005.

PINTO, S.I.C.; SOUZA, A.M.; CARBALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.65, p.40-48, 2004.

- PRYOR, L. D. **The biology of *Eucalyptus***. London: Edward Arnold, 1976. 83p.
- RESENDE, M.D.V. Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.19, n.4, p.479-500, 1995.
- RESENDE, M.D.V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 975p.
- RESENDE, M.D.V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007a. 561p.
- RESENDE, M.D.V. Melhoramento de espécies perenes. In: NASS, L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.357-422.
- RESENDE, M.D.V. Melhoramento de essências florestais. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p.589-647.
- RESENDE, M.D.V. **Selegen-REML/BLUP**: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Colombo: Embrapa Florestas, 2007b. 359p.
- RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J.; SAMPAIO, P.T.B.; WIECHETECK, M.S.S. Acurácia seletiva, intervalos de confiança e intervalos de ganhos genéticos associados a 22 métodos de seleção em *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Floresta**, Curitiba, v.25, n.1-2, p.3-16, 1995.
- RESENDE, M.D.V.; BARBOSA, M.H.P. Selection via simulated individual BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.41, n.3, p.421-429, 2006.
- RESENDE, M.D.V.; DIAS, L.A.S. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos aditivos e genotípicos em espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.44-52, 2000.
- RESENDE, M.D.V.; DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.37, n.3, p.182-194, 2007.
- RESENDE, M.D.V.; FERNANDES, J.S.C. Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. **Revista de Matemática e Estatística**, São Paulo, v.17, p.89-107, 1999.
- RESENDE, M.D.V.; FURLANI JÚNIOR, E.; MORAES, M.L.T.; FAZUOLI, L.C. Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. **Bragantia**, Campinas, v.60, n.3, p.185-193, 2001.
- RESENDE, M.D.V.; HIGA, A.R. Estimação de valores genéticos no melhoramento de *Eucalyptus*: seleção em um caráter com base em informações do indivíduo e de seus parentes. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.28-29, p.11-36, 1994a.

RESENDE, M.D.V.; HIGA, A.R. Maximização da eficiência da seleção em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.28-29, p.37-55, 1994b.

RESENDE, M.D.V.; HIGA, A.R. HELLER, J.B.; STEIN, P.B. Parâmetros genéticos e interação genótipo x ambiente em teste de procedências e progênies de acácia-negra (*Acacia mearnsii*). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 24/25, p.55-65, 1992.

RESENDE, M.D.V.; HIGA, A.R.; LAVORANTI, O.J. Regressão geno-fenotípica multivariada e maximização do progresso genético em programas de melhoramento de *Eucalyptus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.28-29, p.57-71, 1994.

RESENDE, M.D.V.; PRATES, D.F.; JESUS, A.; YAMADA, C.K. Estimção de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição linear não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, v.32-33, p.18-45, 1996.

RESENDE, M.D.V.; SIMEÃO, R.M.; FERNANDES, J.S.C. BLUP individual com medidas repetidas aplicado ao melhoramento de espécies perenes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.4, p.986-997, 2000.

RIBAS, L.A.; SEBBENN, A.M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.16, n.1, p.73-81, 2004.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v.43, n.4, p.848-859, 1989.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity: An International Journal of Genetics**, London, v.88, n.4, p.221-228, 2002.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity: An International Journal of Genetics**, London, v.47, n.1, p.35-52, 1981.

ROCHA, M.G.B.; PIRES, I.E.; ROCHA, R.B.R.; CRUZ, C.D. Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus grandis* por meio dos procedimentos REML/BLUP e da ANOVA. **Scientia Forestalis (IPEF)**, Piracicaba, n.71, p.99-107, 2006a.

ROCHA, M.D.B.; PIRES, I.E.; XAVIER, A.; CRUZ, C.D.; ROCHA, R.B. Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP e E(QM). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.16, n.4, p. 369-379, 2006b.

ROCHA, M.G.B.; PIRES, I.E.; ROCHA, R.B.; XAVIER, A.; CRUZ, C.D. Seleção de genitores de *Eucalyptus grandis* e de *Eucalyptus urophylla* para produção de híbridos interespecíficos utilizando REML/BLUP e informação de divergência genética. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.31, n.6, p.977-987, 2007.

ROCHA, R.B.; ABAD, J.I.M.; PIRES, I.E.; ARAÚJO, E.F. Fingerprint and genetic diversity analysis of *Eucalyptus* spp. genotypes using RAPD and SSR markers. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.62, p.24-31, 2002.

ROCHA, R.B.; ROCHA, M.G.B.; SANTANA, R.C.; VIEIRA, A.H. Estimação de parâmetros genéticos e seleção de procedências e famílias de *Dipteryx alata* Vogel (baru) utilizando metodologia de Reml/Blup e E(QM). **Cerne**, Lavras, v.15, n.3, p.331-338, 2009a.

ROCHA, R.B.; VIEIRA, A.H.; GAMA, M.M.B.; ROSSI, L.M.B. Avaliação genética de procedências de bandarra (*Schizolobium amazonicum*) utilizando REML/BLUP (Máxima verossimilhança restrita/Melhor predição linear não viciada). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.84, p.351-358, 2009b.

ROSADO, A.M.; ROSADO, T.B.; RESENDE JÚNIOR, M.F.; BHERING, L.L. CRUZ, C.D. Ganhos genéticos preditos por diferentes métodos de seleção em progênes de *Eucalyptus urophylla*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.44, n.12, p.1653-1659, 2009.

SAMPAIO, P.T.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J. Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.35, n.11, p.2243-2253, 2000.

SAMPAIO, P.T.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J. Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus oocarpa* Schiede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.37, n.5, p.625-636, 2002.

SAMPSON, J.F.; BYRNE, M. Outcrossing between an agroforestry plantation and remnant native populations of *Eucalyptus loxophleba*. **Molecular Ecology**, Oxford, v.17, n.11, p.2769-2781, 2008.

SANTOS, C.A.F.; OLIVEIRA, V.R.; KIILL, L.H.P.; SÁ, I.I.S. Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semi-árido brasileiro. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.74, p.37-44, 2007.

SCARPINATI, E.A.; PERECIN, D.; PAULA, R.C.; BONINE, C.A.V.; PAVAN, B.E.; CANDIDO, L.S. Influência do modelo de análise estatística e da forma das parcelas experimentais na seleção de clones de *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.33, n.4, 2009.

SEBBENN, A.M. Herança e ligação em locos de isoenzimas em *Genipa americana* L. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.16, n.1, p.65-72, 2004.

SEBBENN, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.14, n.2, p.115-132, 2002.

SEBBENN, A.M. Número de populações para conservação genética *in situ* de espécies arbóreas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, n.1, p.45-51, 2003a.

SEBBENN, A.M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, p.109-124, 2003b.

SEOANE, C.E.S.; SEBBENN, A.M. Herança genética e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas em *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.16, n.1, p.57-63, 2004.

SHIMIZU, J.Y.; KAGEYAMA, P.Y.; HIGA, A.R. **Procedimentos e recomendações para estudos de progênies de essências florestais**. Curitiba: EMBRAPA - URPFCS, 1982. 33p. (Série Documentos, 11).

SILVA, J.M. **Análises genéticas em progênies de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* por caracteres quantitativos e marcadores moleculares**. 2005. 129 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2005.

SILVA, J.M.; SOUSA, A.C.B.; SOUZA, A.P.; MORI, E.S.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M.; MORAES, M.L.T. Development and characterization of 14 microsatellite loci from an enriched genomic library of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. **Conservation Genetics Resources**, Netherlands, v.1, n.1, p.465-469, 2009.

SILVA JUNIOR, F.G.; GOMES, I.M.B.; BARRICHELO, L.E.G.; ODA, S. Avaliação da qualidade da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* visando a produção de celulose. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7, 1993, Curitiba. **Anais...** São Paulo: SBS/SBEF, 1993. v.2, p.581-585.

SIMEÃO, R.M.; STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V.; FERNANDES, J.S.C.; NEIVERTH, D.D.; ULBRICH, A.L. Avaliação genética em erva-mate pelo procedimento BLUP individual multivariado sob interação genótipo x ambiente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.37, n.11, p.1589-1596, 2002.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry: principles and practices of statistics in biological research**. 3.ed. W.H. New York: Freeman and Company, 1995. 887p.

SOUZA, A.P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.939-966.

STURION, J.A.; PEREIRA, J.C.D.; ALBINO, J.C.; MORITA, M. Variação da densidade básica da madeira de doze espécies de *Eucalyptus* plantadas em Uberaba, MG. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.14, p.28-38, 1987.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V. Produção de massa foliar de três procedências de erva-mate e eficiência de seleção em dois tipos de solos na região de Ponta Grossa, PR. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.43, p.87-98, 2001a.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V. Repetibilidade da produção de massa foliar em erva-mate em dois tipos de solos na região de Ponta Grossa, PR. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.43, p.155-158, 2001b.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V. Seleção de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) para produtividade, estabilidade e adaptabilidade temporal de massa foliar. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.50, p.37-51, 2005.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V.; CARPANEZZI, A.A.; ZANON, A. Variação genética e seleção para características de crescimento em teste de progênies de *Mimosa scabrella* var. *aspericarpa*. Embrapa Florestas. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.28-29, p.73-83, 1994.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V.; CARPANEZZI, A.A. Controle genético e estimativa de ganho genético para peso de massa foliar em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.38, p.5-12, 1999.

TEMNYKH, S.; DECLERCK, G.; LUKASHOVA, A.; LIPOVICH, L.; CATINHO, S.; MCCOUCH, S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v.11, n.8, p.1441-1452, 2001.

TESSIER, C.; DAVID, J.; THIS, P.; BOURSQUOT, J.M.; CHARRIER, A. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research**, Berlin, v.98, n.1, p.171-177, 1999.

TOLFO, A.L.T.; PAULA, R.C.; BONINE, C.A.V.; BASSA, A.; VALLE, C.F. Parâmetros genéticos para caracteres de crescimento de produção e tecnológicos da madeira em clones de *Eucalyptus*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.67, p.101-110, 2005.

TORGGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B.; TORGGLER, S.P. **Isoenzimas – variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. (Série Monografias, 1). 186p.

TÓTH, G.; GÁSPÁRI, Z.; JURKA, J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v.10, n.7, p.967-981, 2000.

VALE, A.T.; MOURA, V.P.G.; MARTINS, I.S.; RESENDE, D.C.A. Densidade básica média em função da profundidade de penetração do pino do "pilodyn" e da classe diamétrica e variação axial da densidade básica em *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.19, n.1, p.80-91, 1995.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELS, M.E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.23, n.1, p.48-55, 2005.

VENCOVSKY, R. Genética quantitativa. In: KERR, W.E. (Org.). **Melhoramento e genética**. São Paulo: Edições Melhoramento, 1969. p.17-38.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (Coord.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba: Fundação Cargill. 1978. p.122-210.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. **IPEF - Instituto de pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v.35, p.79-84, 1987.

VENCOSVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.

VENCOVSKY, R.; PEREIRA, M.B.; CRISÓSTOMO, J.R.; FERREIRA, M.A.J.F. Genética e melhoramento em populações mistas. In: NASS, L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.231-282.

VERARDI, C.K. **Estimativas de parâmetros genéticos e de estabilidade em progênies de seringueira (*Hevea spp.*)**. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2010.

VERHAEGEN, D.; PLOMION, C.; GION, J.M.; POITEL, M.; COSTA, P.; KREMER, A. Quantitative trait dissection analysis in *Eucalyptus* using RAPD markers: 1. Detection of QTL in interspecific hybrid progeny, stability of QTL expression across different ages. **Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research**, Berlin, v.95, n.4, p.597-608, 1997.

WEI, R.P.; LINDGREN, D. Effective family number following selection with restrictions. **Biometrics**, Washington, v.52, n.1, p.198-208, 1996.

WEI, X.; BORRALHO, N.M.G. Genetic control of wood basic density and bark thickness and their relationships with growth traits of *Eucalyptus urophylla* in South East China. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.46, n.4, p.245-250, 1997.

ZIMBACK, L.; MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VEIGA, R.F.A.; MELLO JUNIOR, J.R.S. Estrutura genética de populações de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.65, p.114-119, 2004.

ZOBEL, B; TALBERT, J. **Applied forest tree improvement**. New York: John Wiley, 1984. 235p.

APÊNDICE

Apêndice 1. Croqui da população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., instalado em Selvíria, MS, em 1986.

4 20	11 20 21 21 15	11 20 21 4 4	21 11 3 4 4	16 3	3 11 20 4 4	15 4 11 11 15	21 4
16 3	15 16 4 3 3	21 4 11 21 21	20 16 21 20 3	20 20	4 4 11 16 20	20 20 4 4 11	3 4
11 4	4 4 16 15 20	3 16 4 15 20	11 15 4 16 4	16 3	11 15 4 20 15	3 16 3 20 21	20 4
15 15	3 3 11 11 11	16 3 15 3 15	15 4 11 3 20	15 4	15 16 3 3 3	11 11 11 16 4	20 15
11 20	20 15 3 16 16	20 21 20 16 11	16 20 20 4 16	11 16	16 20 4 4 4	16 15 20 3 11	20 11
20 16	16 21 20 20 4	4 11 16 20 3	3 3 15 11 15	3 15	21 3 16 15 16	4 3 3 21 4	11 11
3 11	21 11 15 4 21	15 15 3 11 16	4 21 16 15 11	4 11	20 21 15 11 20	20 20 4 11 20	20 20
2 4	15 3 12 13 20	1 20 16 25 8	10 1 12 11 4	16 20	20 1 13 11 11	2 11 3 17 15	15 3
3 3	18 19 4 10 22	3 15 21 4 24	20 25 13 3 9	25 22	9 15 21 4 23	11 21 16 20 2	25 4
4 2	1 4 6 2 23	4 12 6 22 18	4 21 18 4 23	23 21	10 12 2 19 6	1 23 2 15 3	21 10
11 25	7 25 11 17 16	10 11 2 4 13	21 11 11 19 22	11 20	22 18 4 3 7	13 22 16 18 10	20 11
15 21	9 21 3 8 4	17 19 23 9 7	15 6 7 16 20	10 16	25 11 17 4 16	3 6 25 2 11	16 15
16 20	7 4 8 18 11	19 18 9 23 25	13 12 4 11 10	3 15	7 10 11 16 1	3 2 20 4 23	15 16
20 16	21 24 22 23 10	2 1 6 20 4	11 23 17 11 15	2 13	11 4 3 21 12	1 15 4 13 11	11 20
21 15	20 4 25 20 15	17 11 13 22 21	4 18 9 22 7	1 21	22 15 17 19 2	18 10 3 11 20	10 21
2 11	16 15 9 2 1	12 16 3 4 16	16 3 20 19 21	25 20	20 25 4 13 23	25 21 3 11 4	4 25
3 4	4 19 3 3 17	4 11 24 10 15	6 1 4 2 25	23 19	6 18 4 11 9	17 22 19 6 16	3 2
4 3	3 11 23 20 16	12 15 24 18 2	18 20 23 1 4	22 18	11 7 3 21 11	12 13 1 11 23	2 3
11 15	7 4 17 2 15	19 23 6 11 16	11 12 24 21 13	10 16	20 15 25 16 12	6 2 19 20 15	25 4
15 3	20 21 6 24 18	4 9 21 8 3	9 6 15 21 4	3 15	19 1 6 22 4	4 11 4 25 17	21 10
16 21	22 16 12 13 4	10 4 17 22 13	22 17 25 3 10	2 13	23 11 2 13 4	22 10 11 21 3	20 11
20 20	25 1 4 10 8	1 20 7 4 25	11 4 19 16 11	1 11	17 10 4 18 9	18 16 20 4 7	16 15
21 16	19 18 9 23 25	13 12 4 8 10	7 5 8 18 11	25 20	20 11 12 1 10	4 8 3 21 4	15 16
5 15	2 1 6 20 14	24 23 17 11 15	21 24 22 23 4	23 19	22 3 13 25 17	16 17 11 25 7	11 20
3 11	17 11 13 22 21	5 18 9 22 7	20 4 25 12 15	22 18	23 4 18 2 4	23 2 6 4 1	10 21
4 4	12 8 3 5 16	16 3 20 19 21	16 13 9 2 1	21 16	9 19 24 8 21	22 10 4 19 18	4 25
11 3	4 7 24 10 15	6 1 14 2 25	4 19 3 6 17	6 15	4 16 7 6 15	20 13 12 24 15	3 2
15 2	11 10 3 24 16	15 25 21 17 11	20 1 13 11 8	3 13	7 20 23 19 17	16 6 19 22 17	21 3
16 25	5 22 12 18 19	4 23 18 1 19	9 15 21 5 23	2 11	13 4 2 11 10	4 11 12 21 25	25 4
20 21	20 17 14 4 1	9 10 12 14 22	10 12 2 19 6	1 10	18 22 6 12 4	20 8 7 10 18	23 10
21 20	9 25 15 11 21	24 3 16 2 7	22 18 4 3 7	25 20	24 4 21 15 3	24 13 4 15 1	21 11
11 16	6 2 8 23 13	20 8 4 6 13	25 24 17 14 16	23 19	8 25 16 20 1	23 4 4 2 3	20 15
3 15	7 16 12 2 17	18 20 23 1 4	3 11 23 9 19	22 18	25 4 7 20 1	11 2 25 6 7	16 16
4 11	24 25 22 9 3	11 12 24 2 13	7 5 17 2 15	21 16	13 22 17 4 10	10 18 19 22 13	15 20
11 4	11 21 10 23 20	9 6 15 21 14	20 21 6 24 18	6 15	3 8 21 4 4	12 15 4 23 1	11 21
15 3	1 4 4 3 14	22 17 25 3 10	22 16 12 13 14	3 13	16 19 6 23 19	4 20 16 21 8	10 25
16 2	8 13 15 18 19	8 5 19 16 7	25 1 4 10 8	2 11	2 18 24 15 12	4 17 3 24 4	4 2
20 25	9 22 18 2 7	12 13 1 11 23	7 10 11 16 1	1 10	3 8 21 6 23	9 18 4 10 17	3 3
21 21	23 3 5 8 6	6 2 19 20 15	24 14 3 21 12	25 20	15 13 18 7 11	4 13 2 8 23	2 4
2 20	19 4 21 25 10	4 8 14 25 17	22 15 17 19 2	23 19	17 2 24 10 16	4 22 6 1 19	25 11
3 16	14 17 13 16 20	22 10 24 21 3	20 25 4 13 23	22 18	4 19 22 25 4	12 16 25 15 20	23 15
4 15	11 3 15 1 12	18 16 9 4 7	6 18 4 8 9	21 16	12 4 20 1 9	24 21 3 7 11	21 16
11 11	10 1 12 11 4	15 24 12 13 20	15 10 24 7 4	6 15	25 2 4 1 6	17 6 3 16 4	20 20
15 4	17 25 13 3 9	18 19 4 10 22	16 4 3 8 12	3 13	21 19 20 3 16	1 2 4 13 16	16 21
16 3	5 2 18 14 23	1 5 6 2 23	21 22 13 11 17	2 11	7 22 9 18 14	15 12 25 4 20	15 25
20 2	21 8 24 19 22	7 25 11 17 16	4 20 6 1 2	1 10	15 11 17 23 24	10 23 22 24 21	11 21
21 15	15 6 7 16 20	9 21 3 8 14	25 23 9 18 19	25 20	10 8 4 12 13	11 18 8 4 7	10 3
21 21	1 20 16 25 16	3 2 9 4 23	13 23 8 2 6	23 19	13 6 4 8 20	16 4 17 24 25	4 4
3 20	3 15 21 5 24	1 15 4 13 24	21 11 15 25 9	22 18	7 2 16 3 24	7 3 4 18 22	3 11
4 16	4 12 6 22 18	18 10 7 8 20	10 4 14 17 20	21 16	22 4 12 10 9	6 19 2 12 10	2 15
11 15	10 11 2 14 13	25 21 12 11 14	19 18 12 22 5	6 15	19 1 18 23 4	23 4 21 15 4	25 16
15 11	17 19 23 9 7	17 22 19 6 16	16 24 3 10 7	3 13	11 17 21 25 15	8 11 13 1 20	23 20
16 4	12 15 24 18 2	9 24 3 17 5	19 18 15 13 8	2 11	7 16 19 4 8	8 10 4 1 25	21 21
20 3	19 23 6 11 16	8 21 16 20 14	14 6 4 5 1	1 10	10 3 25 17 22	4 13 20 16 22	20 25
11 2	4 9 21 8 3	1 23 4 15 20	20 23 10 21 11	25 20	4 21 15 6 9	18 24 6 21 20	16 2
2 25	10 14 17 22 13	13 22 19 18 10	3 9 22 25 24	23 19	13 2 24 12 11	15 2 17 4 7	15 3
3 21	1 20 7 5 25	7 6 25 2 11	17 2 12 16 7	22 20	4 1 23 20 18	19 4 23 11 3	13 4
4 20	9 1 20 14 12	11 7 3 21 24	12 1 15 3 11	21 16	7 4 9 16 18	9 8 4 18 6	11 11
11 16	5 25 22 19 4	20 15 25 16 12	20 16 13 17 14	6 15	3 21 24 10 22	23 13 4 25 20	10 15
15 15	16 10 24 2 17	19 1 6 22 14	10 25 21 4 19	3 13	17 25 4 8 4	2 19 17 15 22	4 16
16 11	11 7 18 13 15	23 8 2 13 4	6 8 5 24 23	2 11	5 20 19 2 6	12 21 3 11 24	3 20
20 4	23 6 21 8 3	17 10 5 18 9	7 2 18 22 9	1 10	23 11 1 13 12	1 16 11 10 7	2 21
21 3	1 3 10 13 16	21 23 1 3 10	13 16 21 23 3	3 10	13 16 21 23 3	3 10 13 16 21	25 15
3 21	2 4 11 15 20	22 25 2 4 11	15 20 22 25 12	4 11	15 20 3 25 2	4 11 15 20 23	1 2

Apêndice 2. Croqui do teste de progênies de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., instalado em Selvíria, MS, em 2008.

B3	B2	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	B1		
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
93	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
130	93	1	45	58	21	100	24	85	100	88	129	130	93	11	1	9	93	113	90	85	7	38	131	36	115	124	80	87	78	122	10	110	110	110	110	
49	47	54	7	69	10	109	73	134	69	131	23	114	49	77	61	84	45	74	97	44	22	83	116	81	61	105	77	85	35	110	110	110	110	110		
2	128	102	112	20	88	77	75	3	54	107	19	120	53	43	26	42	94	129	120	32	119	96	122	103	116	102	27	20	47	134	84	110	110	110	110	
71	5	34	126	61	50	15	83	108	64	110	68	123	109	118	118	59	70	4	14	108	67	17	99	26	89	106	71	73	38	47	58	117	110	110	110	
124	113	65	104	80	43	84	134	42	17	94	101	4	67	105	106	31	59	117	69	87	16	76	10	44	90	53	18	15	25	66	130	110	110	110	110	
94	117	85	132	41	125	123	4	112	76	46	21	82	89	95	24	102	105	75	2	127	63	88	71	120	33	75	96	59	126	88	52	110	110	110	110	
74	57	70	36	18	53	98	68	8	121	111	31	104	56	62	27	53	41	52	112	72	92	111	23	12	79	62	5	109	23	86	14	110	110	110	110	
119	6	42	60	25	52	129	118	16	102	83	32	97	38	57	99	15	109	131	40	77	134	82	86	64	17	56	63	135	21	65	97	110	110	110	110	
105	95	116	28	66	92	31	62	69	116	36	87	28	96	40	124	25	73	33	28	8	50	126	130	40	107	4	3	67	68	104	50	110	110	110	110	
90	29	39	17	26	87	22	97	9	122	15	33	12	44	51	2	132	30	21	128	98	24	133	116	99	112	45	19	31	113	7	48	110	110	110	110	
38	91	63	108	115	101	136	59	80	45	91	50	103	34	128	72	58	34	47	49	89	64	91	55	10	61	39	94	82	57	123	108	110	110	110	110	
120	79	11	76	9	86	114	35	20	132	117	125	35	48	6	74	95	80	19	27	39	78	101	66	49	125	95	83	30	129	60	28	110	110	110	110	
46	67	51	121	127	32	33	56	25	39	86	92	84	30	37	71	13	18	103	114	51	65	68	20	114	81	35	127	11	70	98	136	110	110	110	110	
10	44	99	64	30	72	14	89	66	7	75	52	73	59	70	47	36	121	11	79	81	43	56	29	93	32	13	132	8	118	29	41	110	110	110	110	
55	113	3	133	135	8	23	48	58	126	79	115	41	98	29	90	60	3	5	110	107	136	123	6	1	43	9	69	76	119	111	24	110	110	110	110	
103	13	37	122	131	16	110	96	78	133	55	127	14	81	113	22	104	124	48	61	37	100	46	118	100	72	92	2	55	121	54	111	110	110	110	110	
112	6	127	33	85	101	121	29	39	66	127	42	91	96	118	60	95	55	44	125	66	121	56	51	81	99	51	4	123	55	116	22	110	110	110	110	
15	102	118	55	102	86	68	82	92	99	102	135	44	75	6	118	21	66	33	90	59	91	114	57	10	3	11	82	135	66	130	106	110	110	110	110	
111	44	120	70	130	85	114	102	5	121	104	9	43	47	126	67	92	77	22	98	21	95	67	7	21	37	63	104	120	20	86	90	110	110	110	110	
108	134	69	112	75	4	49	115	119	8	116	60	76	72	37	26	69	88	11	106	36	102	82	90	22	47	39	97	114	29	23	33	110	110	110	110	
64	38	5	99	116	11	67	47	33	33	107	28	74	102	124	110	64	99	130	53	97	46	63	99	55	128	116	28	129	6	71	79	110	110	110	110	
82	68	55	5	17	75	116	13	112	23	103	111	79	70	99	79	132	111	120	110	28	84	119	40	58	126	42	12	81	118	10	107	110	110	110	110	
87	6	104	31	91	32	35	103	90	59	82	79	118	84	64	106	20	122	110	51	9	70	49	23	6	65	70	103	98	7	26	107	110	110	110	110	
129	131	47	127	122	17	71	2	95	48	101	96	77	39	7	30	73	133	90	3	133	88	13	20	105	16	85	35	59	83	135	112	110	110	110	110	
107	10	34	128	69	26	111	28	134	2	44	20	70	110	55	24	48	62	80	70	30	11	117	66	60	34	65	84	30	96	122	61	110	110	110	110	
17	25	23	49	39	46	42	38	128	57	21	16	16	86	28	61	10	45	70	136	61	30	58	15	86	86	34	73	48	12	115	125	110	110	110	110	
44	123	86	106	108	69	103	117	43	5	86	49	40	127	22	89	33	25	60	68	41	7	62	50	65	107	78	41	34	99	38	81	110	110	110	110	
116	6	24	101	34	135	77	118	6	60	113	26	57	114	43	127	11	38	50	94	132	99	115	14	109	58	102	14	44	76	104	32	110	110	110	110	
78	83	56	97	113	110	98	129	50	124	62	55	125	116	62	125	25	105	40	26	8	86	5	132	45	43	54	88	96	88	60	43	110	110	110	110	
93	104	37	89	77	87	30	40	131	92	13	27	134	92	129	35	123	131	30	25	122	4	45	8	127	51	122	23	38	111	36	72	131	110	110	110	110
100	126	80	37	11	59	19	98	96	16	77	23	131	53	89	22	135	114	20	75	34	50	35	32	4	21	133	19	56	82	13	131	110	110	110	110	
39	33	21	126	38	109	13	9	14	39	61	113	63	56	132	14	51	9	10	69	103	36	87	111	80	40	64	136	89	126	95	91	110	110	110	110	
94	134	123	121	23	132	65	41	12	84	120	123	64	107	26	120	96	101	55	19	118	60	130	46	120	136	121	68	67	133	58	103	110	110	110	110	
11	84	136	118	76	30	81	133	79	29	64	102	22	83	11	104	117	83	95	2	124	101	43	44	3	110	76	101	109	91	132	46	110	110	110	110	
64	51	7	80	7	134	97	120	27	122	83	31	46	42	24	37	111	102	4	6	128	61	123	52	128	108	23	108	23	89	89	89	89	89	89		
56	96	31	18	96	61	57	64	54	110	51	54	136	16	101	81	39	35	11	20	109	71	129	70	91	109	17	51	53	68	15	44	110	110	110	110	
109	112	13	59	50	133	51	34	21	106	118	107	89	117	135	116	114	61	43	55	135	94	29	26	135	57	28	32	49	56	53	120	110	110	110	110	
98	125	57	56	26	9	106	51	45	95	53	133	71	85	40	65	8	92	86	79	42	126	52	71	116	20	60	87	130	123	102	112	110	110	110	110	
92	115	66	47	88	41	84	3	66	69	32	39	126	88	18	29	86	123	39	81	92	103	40	59	95	15	36	33	113	46	31	64	110	110	110	110	
117	60	81	109	107	122	36	11	75	79	117	121	37	49	94	87	107	2	46	15	57	41	127	92	18	83	132	50	29	85	70	40	110	110	110	110	
24	118	9	43	125	82	29	113	94	18	2	69	68	128	50	7	6	104	68	24	105	38	39	106	74	82	40	52	6	35	84	49	110	110	110	110	
55	62	61	87	52	113	70	56	31	89	5	47	87	113	3	75	112	39	34	37	77	85	69	76	73	104	112	115	128	17	124	114	110	110	110	110	
36	69	107	95	123	8	44	26	15	19	101	37	116	57	66	46	45	34	91	54	38	105	112	61	78	56	7	127	51	16	3	122	110	110	110	110	
59	19																																			

Tabela A1. Estimativas do quociente de forma do fuste com casca médio (\bar{q}) para as matrizes da população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação (ano 2006), em Selvíria, MS.

Matriz	\bar{q}
1	0,8382
2	0,7956
3	0,8330
4	0,8620
5	0,8376
6	0,8089
7	0,8473
8	0,8108
9	0,8546
10	0,8423
11	0,8054
12	0,8110
13	0,7942
14	0,8172
15	0,8194
16	0,8196
17	0,7964
18	0,8142
19	0,7941
20	0,8252
21	0,7767
22	0,7854
23	0,7995
24	0,7772
25	0,7983
Média geral	0,8146

Tabela A2. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 20 anos após instalação (ano 2006), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO				
	ALTT (m)	DAP (cm)	FOR	VOL (m ³ /árv.)	SOB (%)
Repetição	48,2094	55,336	1,7801	0,4734	0,2194
Progênie	119,1587	346,7929	4,5114	3,3364	0,3905
Erro	27,4717	62,2006	1,0613	0,5853	0,1337

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira.

Tabela A3. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação A (ano 2007), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO					
	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)	SOB (%)
Repetição	52,0666	43,3260	53,2189	0,5644	59,6750	0,2094
Progênie	162,3927	146,1611	368,2677	4,5376	116,4222	0,4314
Erro	31,2619	27,5300	64,5325	0,7469	20,7780	0,1353

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação A: avaliação de todas as árvores antes do desbaste no ano 2007 (n=1500).

Tabela A4. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação B (ano 2007), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO						
	ALTT (m)	ALTC (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)	DBM (g/cm ³)
Repetição	66,0484	61,2737	45,6723	72,7161	0,6449	58,5505	0,0086
Progênie	117,7714	113,2439	100,8371	239,9247	2,2694	104,4937	0,0243
Erro	29,8634	33,5439	25,6767	55,7210	0,4855	20,9135	0,0029

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP. Situação B: avaliação de árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250).

Tabela A5. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO				
	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)
Repetição	107,2505	147,2337	276,6359	6,2065	185,8573
Progênie	19,7865	55,0125	235,1630	5,0511	220,6173
Erro	11,0029	22,4539	33,0281	0,7914	11,9425

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação C: avaliação de árvores remanescentes no ano 2007 (n=250).

Tabela A6. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 22 anos após instalação, na Situação D (ano 2008), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO		
	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)
Repetição	130,3420	293,7889	8,3586
Progênie	24,8960	255,4121	6,5643
Erro	12,8597	37,5156	1,0956

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250).

Tabela A7. Quadrados médios para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 23 anos após instalação, na Situação e (ano 2009), em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO		
	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)
Repetição	164,1006	292,0324	10,4236
Progênie	21,3166	257,6792	7,8829
Erro	19,3998	40,9168	1,5004

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

Tabela A8. Quadrados médios para os caracteres quantitativos das brotações, avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, um ano após o desbaste (ano 2008) em Selvíria, MS.

Fonte de variação	QUADRADO MÉDIO			
	ABC (cm ²)	BRO (%)	NBr	ALTBr (m)
Repetição	0,0050	0,0345	7,9475	21,8580
Progênie	0,0158	0,0181	14,9667	6,8436
Erro	0,0033	0,0175	3,3636	2,1568

ABC: área basal da cepa; BRO: brotação da cepa; NBR: número total de brotos por cepa; ALTBr: altura total dos três brotos principais.

Tabela A9. Estimativas das variâncias: genética aditiva ($\hat{\sigma}_a^2$), genética aditiva com ajuste do parentesco entre progênies ($\hat{\sigma}_{ar_{xy}}^2$), residual (ambiental + não aditiva) ($\hat{\sigma}_e^2$) e fenotípica individual ($\hat{\sigma}_f^2$), para os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, dos 20 aos 23 anos após instalação (anos 2006 a 2009, respectivamente), em Selvíria, MS.

Situação	Caracteres	$\hat{\sigma}_a^2$	$\hat{\sigma}_{ar_{xy}}^2$	$\hat{\sigma}_e^2$	$\hat{\sigma}_f^2$
2006	ALTT (m)	6,1125	6,0340	22,8873	28,9998
	DAP (cm)	18,9728	18,7293	47,9709	66,9438
	FOR	0,2300	0,2271	0,8888	1,1188
	VOL (m ³ /árvore)	0,1834	0,1811	0,4477	0,6311
	SOB (%)	0,0171	0,0169	0,1208	0,1380
A (2007)	ALTT (m)	8,7421	8,6299	24,7054	33,4474
	ALTB (m)	7,9087	7,8072	21,5985	29,5072
	DAP (cm)	20,2490	19,9892	49,3458	69,5948
	VOL (m ³ /árvore)	0,2527	0,2495	0,5574	0,8101
	RPE (mm)	6,3763	6,2944	15,9958	22,3721
B (2007)	SOB (%)	0,0197	0,0195	0,1205	0,1403
	ALTT (m)	5,8605	5,7853	25,4680	31,3285
	ALTC (m)	5,3133	5,2451	29,5589	34,8723
	ALTB (m)	5,0107	4,9464	21,9187	26,9294
	DAP (cm)	12,2802	12,1227	46,5108	58,7910
	VOL (m ³ /árvore)	0,1189	0,1174	0,3963	0,5153
	RPE (mm)	5,5720	5,5005	16,7345	22,3065
C (2007)	DBM (g/cm ³)	0,0014	0,0014	0,0019	0,0033
	ALTT (m)	0,5856	0,5781	10,5637	11,1493
	ALTB (m)	2,1706	2,1427	20,8259	22,9965
	DAP (cm)	13,4757	13,3027	22,9214	36,3970
	VOL (m ³ /árvore)	0,2840	0,2803	0,5784	0,8624
D (2008)	RPE (mm)	13,9117	13,7331	1,5088	15,4204
	ALTT (m)	0,8024	0,7921	12,2579	13,0603
	DAP (cm)	14,5264	14,3400	26,6208	41,1473
E (2009)	VOL (m ³ /árvore)	0,3646	0,3599	0,8222	1,1867
	ALTT (m)	0,1278	0,1261	19,3039	19,4317
	DAP (cm)	14,4508	14,2654	30,0787	44,5295
	VOL (m ³ /árvore)	0,4255	0,4200	1,1812	1,6067

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP; SOB: sobrevivência; Situação A: análise antes do desbaste, ano 2007 (n=1500); Situação B: análise nas árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250); Situação C: análise nas árvores remanescentes, ano 2007 (n=250); Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250); Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

Tabela A10. Estimativas das variâncias: genética aditiva ($\hat{\sigma}_a^2$), residual (ambiental + não aditiva) ($\hat{\sigma}_e^2$) e fenotípica individual ($\hat{\sigma}_f^2$), para os caracteres quantitativos das brotações, avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, um ano após o desbaste (ano 2008), em Selvíria, MS.

Situação	Caracteres	$\hat{\sigma}_a^2$	$\hat{\sigma}_e^2$	$\hat{\sigma}_f^2$
Brotação (2008)	NBr	0,7735	2,7834	3,5570
	ABC (cm ²)	83042,8036	267659,1963	350701,9999
	ALTBr (m)	0,3124	1,9225	2,2349
	BRO (%)	4x10 ⁻⁵	0,0175	0,0175

ABC: área basal da cepa; BRO: brotação da cepa; NBR: número total de brotos por cepa; ALTBr: altura total dos três brotos principais.

Tabela A11. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 20 anos após instalação (ano 2006), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	DAP (cm)	FOR	VOL (m ³ /árv.)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	4,3430	7,0580	0,5379	0,7179
	$C\hat{O}V_f$	29,4123	28,9274	2,9552	3,1336
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	7,0580	14,5880	0,8665	1,4159
	$C\hat{O}V_f$	28,9274	66,6791	4,2041	5,9357
FOR	$C\hat{O}V_g$	0,5379	0,8665	0,1619	0,0830
	$C\hat{O}V_f$	2,9552	4,2041	1,1362	0,3762
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	0,7179	1,4159	0,0830	0,1419
	$C\hat{O}V_f$	3,1336	5,9357	0,3762	0,6254

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; FOR: forma do fuste; VOL: volume de madeira.

Tabela A12. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação A (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	6,5767	2,9328	9,4646	1,0578	2,4851
	$C\hat{O}V_f$	33,9181	12,6463	32,4179	3,7973	13,6166
ALTB (m)	$C\hat{O}V_g$	2,9328	5,9683	4,3525	0,4128	-1,0237
	$C\hat{O}V_f$	12,6463	29,7960	13,1457	1,3252	6,7886
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	9,4646	4,3525	15,6567	1,7326	4,2046
	$C\hat{O}V_f$	32,4179	13,1457	69,1477	6,9184	26,6956
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	1,0578	0,4128	1,7326	0,1983	0,4702
	$C\hat{O}V_f$	3,7973	1,3252	6,9184	0,8022	2,5068
RPE (mm)	$C\hat{O}V_g$	2,4851	-1,0237	4,2046	0,4702	4,9057
	$C\hat{O}V_f$	13,6166	6,7886	26,6956	2,5068	23,9118

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação A: avaliação de todas as árvores antes do desbaste no ano 2007 (n=1500).

Tabela A13. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação B (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	ALTC (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)	DBM (g/cm ³)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	3,6919	1,9973	0,8176	4,7744	0,4749	1,7969	0,0318
	$C\hat{O}V_f$	31,9669	18,2869	9,9425	26,1144	2,7708	13,1037	0,1663
ALTC (m)	$C\hat{O}V_g$	1,9973	2,9973	2,3764	2,2946	0,1953	-0,1854	0,0098
	$C\hat{O}V_f$	18,2869	34,8857	17,9022	12,8021	0,8937	8,7951	0,0946
ALTB (m)	$C\hat{O}V_g$	0,8176	2,3764	3,1307	0,7719	0,0401	-1,0751	0,0094
	$C\hat{O}V_f$	9,9425	17,9022	27,0243	7,8949	0,5965	6,0582	0,0331
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	4,7744	2,2946	0,7719	8,0642	0,7883	2,8873	0,0435
	$C\hat{O}V_f$	26,1144	12,8021	7,8949	58,5103	5,0416	24,4741	0,2692
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	0,4749	0,1953	0,0401	0,7883	0,0806	0,2877	0,0039
	$C\hat{O}V_f$	2,7708	0,8937	0,5965	5,0416	0,5119	2,0501	0,0231
RPE (mm)	$C\hat{O}V_g$	1,7969	-0,1854	-1,0751	2,8873	0,2877	3,8828	0,0170
	$C\hat{O}V_f$	13,1037	8,7951	6,0582	24,4741	2,0501	23,4815	0,1154
DBM (g/cm ³)	$C\hat{O}V_g$	0,0318	0,0098	0,0094	0,0435	0,0039	0,0170	0,0011
	$C\hat{O}V_f$	0,1663	0,0946	0,0331	0,2692	0,0231	0,1154	0,0033

ALTT: Altura total (m); ALTC: altura comercial; ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira; DBM: densidade básica da madeira no DAP. Situação B: avaliação de árvores desbastadas, ano 2007 (n=1250).

Tabela A14. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	0,0532	-0,0115	0,3812	0,0626	0,1615
	$C\hat{O}V_f$	12,6503	1,8271	11,2745	2,3055	0,8412
ALTB (m)	$C\hat{O}V_g$	-0,0115	0,3265	-0,1135	-0,0269	-0,9696
	$C\hat{O}V_f$	1,8271	23,3909	-1,2055	-0,0560	-1,3031
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	0,3812	-0,1135	5,3923	0,7326	3,3654
	$C\hat{O}V_f$	11,2745	-1,2055	37,4440	5,4668	11,8523
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	0,0626	-0,0269	0,7326	0,1058	0,4573
	$C\hat{O}V_f$	2,3055	-0,0560	5,4668	0,8806	1,4586
RPE (mm)	$C\hat{O}V_g$	0,1615	-0,9696	3,3654	0,4573	8,7885
	$C\hat{O}V_f$	0,8412	-1,3031	11,8523	1,4586	17,8963

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação C: avaliação de árvores remanescentes no ano 2007 (n=250).

Tabela A15. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 22 anos após instalação, na Situação D (ano 2008), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	0,0838	0,4399	0,0823
	$C\hat{O}V_f$	14,8891	13,4655	2,9859
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	0,4399	5,6491	0,8273
	$C\hat{O}V_f$	13,4655	41,5272	6,7179
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	0,0823	0,8273	0,1301
	$C\hat{O}V_f$	2,9859	6,7179	1,2012

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação D: análise nas árvores remanescentes, um ano após o desbaste, ano 2008 (n=250).

Tabela A16. Estimativas das covariâncias genotípicas ($C\hat{O}V_g$) e fenotípicas ($C\hat{O}V_f$), entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 23 anos após instalação, na Situação E (ano 2009), em Selvíria, MS.

Caracteres	Covariância	ALTT (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)
ALTT (m)	$C\hat{O}V_g$	0,0014	0,0545	0,0112
	$C\hat{O}V_f$	20,9617	15,2252	4,0322
DAP (cm)	$C\hat{O}V_g$	0,0545	5,3371	0,8240
	$C\hat{O}V_f$	15,2252	44,0573	7,8855
VOL (m ³ /árv.)	$C\hat{O}V_g$	0,0112	0,8240	0,1380
	$C\hat{O}V_f$	4,0322	7,8855	1,5907

ALTT: Altura total (m); DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira. Situação E: análise nas árvores remanescentes, dois anos após o desbaste, ano 2009 (n=250).

Tabela A17. Estimativas das correlações fenotípicas entre os caracteres quantitativos avaliados na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 21 anos após instalação, na Situação C (ano 2007), em Selvíria, MS.

Matriz das Correlações Fenotípicas *					
	ALTT (m)	ALTB (m)	DAP (cm)	VOL (m ³ /árv.)	RPE (mm)
ALTT (m)	1,0000	0,1062	0,5180	0,6908	0,0559
ALTB (m)	0,1062	1,0000	-0,0407	-0,0123	-0,0637
DAP (cm)	0,5180	-0,0407	1,0000	0,9520	0,4579
VOL (m ³ /árv.)	0,6908	-0,0123	0,9520	1,0000	0,3674
RPE (mm)	0,0559	-0,0637	0,4579	0,3674	1,0000

ALTT: Altura total (m); ALTB: altura de bifurcação; DAP: diâmetro à altura do peito; VOL: volume de madeira; RPE: resistência à penetração da madeira. Situação C: avaliação de árvores remanescentes no ano 2007 (n=250).

Tabela A18. Estimativas do Índice Multi-efeitos (IME) com base no caráter DAP, para os 250 indivíduos da população de melhoramento, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, com k_f variável, na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 20 anos após instalação (2006), em Selvíria, MS.

Ordem	Bloco	Matriz	f	\hat{a}	$\hat{\mu} + \hat{a}$	Ganho	Nova Média	N_e	d	g
1	40	21	52,84	4,9143	30,2953	4,9143	30,2953	1,0000	1,6595	6,5738
2	41	21	43,3	3,7940	29,1750	4,2946	29,6755	2,0000	0,9126	4,7067
3	16	21	38,6	3,5471	28,9280	3,9791	29,3600	2,6667	0,7480	4,2951
4	1	21	39,3	3,5281	28,9090	3,9147	29,2956	2,8000	0,7353	4,2634
5	18	11	46,5	3,3967	28,7776	3,8499	29,2308	2,7826	1,3595	4,7562
6	15	21	36	3,3883	28,7693	3,7986	29,1796	2,7811	0,6422	4,0305
7	4	18	51,69	3,2773	28,6583	3,7465	29,1274	3,5608	1,7143	4,9916
8	9	21	37,4	3,2735	28,6544	3,7035	29,0844	3,5243	0,5656	3,8391
9	14	21	37,5	3,2229	28,6039	3,6015	28,9824	3,4336	0,5319	3,7548
10	43	3	47,5	3,2114	28,5923	3,5755	28,9564	4,0495	1,3352	4,5466
.
.
.
241	1	4	28	-0,5411	24,8398	0,8325	26,2135	71,1406	0,1982	-0,3429
242	45	4	28,2	-0,6999	24,6810	0,7606	26,1415	73,9519	0,1580	-0,5419
243	16	4	25	-0,7526	24,6283	0,7370	26,1180	74,8016	0,0572	-0,6955
244	50	25	25,6	-0,8823	24,4987	0,6808	26,0617	76,8721	0,1243	-0,7580
245	21	4	30,7	-1,2389	24,1420	0,5246	25,9055	82,5737	0,4517	-0,7873
246	8	1	35,3	-1,2558	24,1251	0,5055	25,8864	83,1155	0,8572	-0,3986
247	12	5	30,2	-1,2658	24,1151	0,5037	25,8847	83,2462	0,4337	-0,8321
248	18	5	26,7	-1,5339	23,8470	0,4028	25,7838	86,1342	0,2550	-1,2789
249	27	1	25	-2,2357	23,1452	0,2498	25,6307	89,6380	0,2039	-2,0318
250	20	1	21,2	-2,7423	22,6386	0,1742	25,5551	91,5372	-0,1338	-2,8762

k_f : número de indivíduos selecionados por matriz; f : valor genotípico individual ou medição de campo; \hat{a} : efeito genético aditivo predito; $\hat{\mu} + \hat{a}$: valor genético aditivo predito; N_e : tamanho efetivo populacional; d : efeito genético de dominância predito; $g = a + d$: efeito genotípico predito.

Tabela A19. Estimativas do Índice Multi-efeitos (IME) com base no caráter DAP, para as 136 matrizes que originaram os indivíduos do teste de progênes, evidenciando as dez primeiras e as dez últimas selecionadas, com k_f variável, na população base de *Eucalyptus camaldulensis*, aos 20 anos após instalação (2006), em Selvíria, MS.

Ordem	Bloco	Matriz	f	\hat{a}	$\hat{\mu} + \hat{a}$	Ganho	Nova Média	N_e	d	g
1	40	21	52,84	4,9143	30,2953	4,9143	30,2953	1,0000	1,6595	6,5738
2	41	21	43,3	3,7940	29,1750	4,2946	29,6755	2,0000	0,9126	4,7067
3	16	21	38,6	3,5471	28,9280	3,9791	29,3600	2,6667	0,7480	4,2951
4	1	21	39,3	3,5281	28,9090	3,9147	29,2956	2,8000	0,7353	4,2634
5	15	21	36	3,3883	28,7693	3,7986	29,1796	2,7811	0,6422	4,0305
6	4	18	51,69	3,2773	28,6583	3,7465	29,1274	3,5608	1,7143	4,9916
7	9	21	37,4	3,2735	28,6544	3,7035	29,0844	3,5243	0,5656	3,8391
8	14	21	37,5	3,2229	28,6039	3,6015	28,9824	3,4336	0,5319	3,7548
9	23	11	45,7	3,1726	28,5536	3,5503	28,9313	4,5176	1,2101	4,3828
10	43	20	36	3,1531	28,5340	3,5066	28,8876	4,3735	0,4853	3,6384
.
.
.
127	9	25	34,5	-0,1608	25,2202	1,0294	26,4103	64,3716	0,6053	0,4445
128	58	4	29,3	-0,2215	25,1594	0,9895	26,3704	65,5350	0,4770	0,2555
129	12	4	30	-0,3160	25,0650	0,9515	26,3324	67,0172	0,3483	0,0323
130	9	5	39,3	-0,4423	24,9386	0,8836	26,2645	69,2256	0,9827	0,5405
131	1	4	28	-0,5411	24,8398	0,8325	26,2135	71,1406	0,1982	-0,3429
132	45	4	28,2	-0,6999	24,6810	0,7606	26,1415	73,9519	0,1580	-0,5419
133	50	25	25,6	-0,8823	24,4987	0,6808	26,0617	76,8721	0,1243	-0,7580
134	21	4	30,7	-1,2389	24,1420	0,5246	25,9055	82,5737	0,4517	-0,7873
135	8	1	35,3	-1,2558	24,1251	0,5055	25,8864	83,1155	0,8572	-0,3986
136	18	5	26,7	-1,5339	23,8470	0,4028	25,7838	86,1342	0,2550	-1,2789

k_f : número de indivíduos selecionados por matriz; f : valor genotípico individual ou medição de campo; \hat{a} : efeito genético aditivo predito; $\hat{\mu} + \hat{a}$: valor genético aditivo predito; N_e : tamanho efetivo populacional; d : efeito genético de dominância predito; $g = a + d$: efeito genotípico predito.