

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU**

Seleção e Melhoramento em Populações Clonais de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden

IZABEL CHRISTINA GAVA DE SOUZA

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas-Genética.

**Botucatu
2016**

IZABEL CHRISTINA GAVA DE SOUZA
Engenheira Florestal e Mestre em Ciências Florestais

Seleção e Melhoramento em Populações Clonais de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden

ORIENTADOR: PROF. DR. CELSO LUIS MARINO

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas-Genética.

Botucatu
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Souza, Izabel Christina Gava de.

Seleção e melhoramento em populações clonais de
Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden / Izabel Christina
Gava de Souza. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Celso Luis Marino
Capes: 20203004

1. *Eucalyptus grandis* - Plantio. 2. Melhoramento
genético. 3. Células clonais. 4. Florestas. 5. Genética de
populações.

Palavras-chave: Cruzamento controlado; *Eucalyptus grandis*;
Irmãos completos; Plantio multiclonal; Seleção em
população clonal.

Dedicatória

*A Deus pela vida,
Ao meu marido Paulino pelo apoio,
Aos meus filhos Rafael e Isabela,
Aos meus pais Izabel e Ferminio (in memoriam),
Aos meus irmãos José Luiz, Cesar (in memoriam), Márcio
e Marco, minhas primas irmãs, Maria Inez e Rosa Maria, e
Sobrinhos.*

Agradecimentos

A UNESP pela oportunidade;

Ao Prof. Celso Luis Marino pela amizade, orientação, incentivo e aprendizado;

Ao Prof. Alexandre Magno Sebbenn pela amizade, co-orientação, incentivo e aprendizado;

Ao Eng. Shinitiro Oda, Consultor da empresa Suzano Papel e Celulose S.A., pela idealização deste trabalho, amizade, incentivo, sugestões e aprendizado;

A empresa Suzano Papel e Celulose S.A. pela oportunidade e liberação para realizar o curso de doutorado;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Genética, funcionários da pós-graduação e do departamento de genética;

Aos Professores Mario Luiz Teixeira de Moraes e Ivan de Godoy Maia pelas correções e sugestões;

Aos colegas de trabalho da Suzano Papel e Celulose S.A., Esteban Roberto Gonzalez e Leandro de Siqueira pelo incentivo e sugestões; Valter Roberto Colombo, Edson Diniz da Fonseca, Juliana Tiburcio, Maria Odete Matias Colombo e Rafael Machado Porto (estagiário - ano 2014) pela ajuda no trabalho de campo; Carla Mendonça Lara pela ajuda no trabalho de inventário;

A colega da Pós-Graduação, Dra Karine Kettener pela amizade, colaboração e apoio;

Aos colegas da Pós-Graduação, Dra Lídia Carolina Arneiro e Dra Maria Cecilia Perantoni Funchs;

A todos que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos

"Feliz é o dia em que aprendemos algo de novo"

(Henrique Bergamim Filho)

***"O importante não é progredir depressa, é não cessar de ir sempre
adiante"***

(Plutarco)

Sumário

Lista de Tabelas	8
Lista de Figuras	10
Lista de Quadros	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo Geral	16
2.2. Objetivos Específicos	16
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1. O <i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden	17
3.2. Melhoramento Genético dos Eucaliptos	19
3.3. Marcadores Moleculares – uso no Melhoramento Genético dos Eucaliptos	24
3.4. Seleção de materiais genéticos para plantio operacional	26
3.5. Gemonia do Eucaliptos	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. Material	29
4.1.1. Material Genético	29
4.1.2. Localização das áreas de plantio do material genético em estudo	30
4.2. Métodos	32
4.2.1. Experimentação	32
4.2.2. Avaliação dos caracteres silviculturais.....	34
4.2.3. Determinação do perfil genético a partir de marcadores moleculares microsatélites	35
4.2.4. Análises dos dados	37
4.2.4.1. Estimativas dos valores de IMA7 (Incremento Médio Anual aos 7 anos) e Ganhos em produtividade com a seleção dentro da população clonal inicial.....	37
4.2.4.2. Caracterização do perfil genético dos clones por meio de marcadores moleculares microsatélites – nível de seleção 40%.....	37
4.2.4.3. Correlação linear entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e dados silviculturais por local.....	37
4.2.4.4. Interação clones x local	38
4.2.4.5. Variabilidade genética em diferentes níveis de seleção dentro da população clonal inicial	38
4.2.4.6. Caracterização do perfil genético dos clones por meio de marcadores moleculares microsatélites – 15% inferiores	38
4.2.4.7. Estudo dos clones: coeficiente de coancestria entre os clones genitores, endogamia e heterozigosidade de todos os clones (genitores e clones que	

compõem a população clonal inicial) a partir dos marcadores moleculares microssatélites	39
4.2.4.8. Avaliação do comportamento dos clones que compõem o material genético em teste clonal delineado	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Ganhos em produtividade com a seleção dentro da população clonal inicial.....	40
5.2. Caracterização do perfil genético dos clones	45
5.2.1. Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas por parcela / Local.....	46
5.2.2. Clones presentes nos 40% das árvores selecionados por local	49
5.2.3. Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas no geral	50
5.3. Correlação linear entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e dados silviculturais por local.....	51
5.4. Interação clones x local	51
5.5. Variabilidade genética em diferentes níveis de seleção dentro da população clonal inicial	56
5.6. Caracterização dos clones por meio de marcadores moleculares microssatélites – 15% inferiores	59
5.7. Estudo dos clones: coeficiente de coancestria entre os clones genitores, endogamia e heterozigosidade de todos os clones (genitores e clones que compõem a população clonal inicial) a partir dos marcadores moleculares microssatélites	61
5.8. Comportamento dos clones que compõem o material genético em teste clonal delineado.....	64
6. CONCLUSÕES.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

Lista de Tabelas

Tabela 1: Informações dos locais em estudo.....	30
Tabela 2: Dados silviculturais médios por parcela e locais 1, 2 e 3.....	40
Tabela 3: Dados silviculturais médios da seleção dos 40% das árvores por parcela e locais 1, 2 e 3.....	41
Tabela 4: Percentual de ganho na seleção para DAP, altura e volume árvore por parcela e locais 1, 2 e 3.....	41
Tabela 5: Estimativas de Incremento Médio Anual com casca aos 7 anos de idade ($m^3/ha/ano$) por parcela e locais 1, 2 e 3 avaliados e percentual de ganho na seleção dentro da população clonal inicial.....	42
Tabela 6: Material genético da população clonal inicial e clones detectados no campo por meio da análise do perfil genético.....	45
Tabela 7: Clones na seleção por parcela e total de clones presentes por locais 1, 2 e 3.....	46
Tabela 8: Participação dos clones da seleção por parcela no local 1.....	47
Tabela 9: Participação dos clones por parcela na seleção no local 2.....	48
Tabela 10: Participação dos clones por parcela na seleção no local 3.....	48
Tabela 11: Participação dos clones por locais 1, 2 e 3.....	49
Tabela 12: Participação dos clones no geral.....	50
Tabela 13: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre percentual de participação dos clones e dados silviculturais por locais 1, 2 e 3.....	51
Tabela 14: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre percentual de participação dos clones comuns x local.....	52
Tabela 15: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre locais para os caracteres silviculturais.....	52
Tabela 16: Comparação do ordenamento dos clones local 1 x local 2.....	53
Tabela 17: Comparação do ordenamento dos clones local 1 x local 3.....	54
Tabela 18: Comparação do ordenamento dos clones local 2 x local 3.....	55
Tabela 19: Número de clones na seleção por local para diferentes níveis de seleção.....	56
Tabela 20: Estimativas de Incremento Médio Anual (IMA7) com casca aos 7 anos de idade para os locais 1, 2 e 3 nos diferentes níveis de seleção na população clonal inicial.....	57

Tabela 21: Comparação de estimativas de Incremento Médio Anual (IMA7) com casca aos 7 anos de idade para os locais 1, 2 e 3 nos diferentes níveis de seleção na população clonal inicial com a seleção do melhor clone.....	58
Tabela 22: Material genético da população clonal inicial e clones detectados no campo por meio da análise do perfil genético (seleção 40% e 15% inferiores)	59
Tabela 23: Clones presentes nos 15% das árvores inferiores em comparação com os clones presentes na seleção 40% para os locais 1, 2 e 3.....	59
Tabela 24: Valores médios de DAP (cm) na População inicial, Seleção 40% e nos 15% Inferiores.....	60
Tabela 25: Valores de índice de fixação (F) dos clones da população clonal inicial e dos genitores.....	61
Tabela 26: Valores de heterozigosidade observada (Ho) dos clones da população clonal inicial e dos genitores.....	63
Tabela 27: Valores médios obtidos para DAP (cm) no teste clonal delineado aos 5 anos de idade e nos 40% de seleção aos 3,5 anos de idade.....	64

Lista de Figuras

Figura 1: Área de ocorrência do <i>Eucalyptus grandis</i> na Austrália.....	17
Figura 2: Fluxograma do melhoramento genético sexuado como suporte à seleção de clones (PA- polinização aberta; PC- polinização controlada).....	21
Figura 3: Exemplo da seleção recorrente em diferentes populações de gerações avançadas de melhoramento.....	22
Figura 4: Localização das parcelas no local 1.....	32
Figura 5: Localização das parcelas no local 2.....	32
Figura 6: Localização das parcelas no local 3.....	33
Figura 7: Localização dos locais de amostragem.....	33
Figura 8: Parcelas marcadas no plantio operacional do material genético.....	34
Figura 9: Árvores selecionadas marcadas nas parcelas.....	35
Figura 10: Comparação entre o Método tradicional para obtenção de clones e o Método Seleção em populações clonais.....	44

Lista de Quadros

Quadro 1: Descrição dos marcadores moleculares microssatélites EMBRA.....	36
Quadro 2: Comparação entre os métodos tradicional e seleção em populações clonais.....	43

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo propor um novo método de melhoramento para *Eucalyptus* visando obter materiais genéticos para plantio operacional, por meio dos seguintes estudos: a) avaliar o ganho em produtividade volumétrica de madeira na seleção aplicada numa população clonal de *Eucalyptus grandis* oriunda da mistura de clones selecionados em progênies de polinização controlada (irmãos completos); b) avaliar a variabilidade genética a partir de marcadores moleculares microssatélites na população clonal selecionada, quando submetida a diferentes condições ambientais e níveis de seleção. Com as sementes obtidas no cruzamento controlado foi instalado um plantio experimental na Fazenda Ribeirão Grande (município de Salesópolis/SP) de propriedade da Suzano Papel e Celulose no ano de 2001. Aos 6 anos de idade foi realizada a seleção de árvores superiores (clones) com base nos caracteres silviculturais e densidade básica da madeira. Foram selecionados 57 clones (irmãos completos), os quais foram propagados vegetativamente, misturados para a formação do minijardim clonal e posterior produção de mudas para plantio operacional na empresa. Este material genético foi recomendado para plantio em 2010. Para este trabalho foram selecionadas três áreas de plantio operacional desse material genético, denominado aqui população clonal inicial com idade de 3,3 a 3,5 anos. Em cada local foram estabelecidas 3 parcelas de 100 árvores e realizada a avaliação silvicultural das árvores. Com os dados de DAP foi feita a ordenação dos valores (maior para o menor) e selecionadas as 40 árvores com maiores valores de DAP e boa forma do tronco, e as 15 árvores com menores valores de DAP totalizando 405 árvores. O perfil genético por meio de marcadores moleculares microssatélites foi realizado para as árvores selecionadas, clones que formam a população clonal inicial e clones genitores. O Incremento Médio Anual com casca aos 7 anos de idade (IMA7; m³/ha/ano) foi estimado por parcela e níveis de seleção de 10%, 20%, 30% e 40%. Com o perfil genético das 40 árvores selecionadas por parcela obteve-se os clones presentes na seleção, como também, os clones presentes nas 15 árvores de comportamento silvicultural inferior. Os resultados mostram que o método de seleção e melhoramento em populações clonais de *E. grandis* é promissor, diminuindo o tempo de obtenção de materiais genéticos para plantio operacional. Os níveis de seleção de 30% e 40% são os mais indicados para conservar um bom número de clones e obter ganhos em produtividade em curto prazo.

Palavras-chave: cruzamento controlado, *Eucalyptus grandis*, irmãos completos, plantio multiclonal, seleção em população clonal.

ABSTRACT

The objective of this work was to propose a new method for breeding to *Eucalyptus* in order to obtain genetic material for commercial planting by the following studies: a) evaluate the gain, in wood volumetric productivity, in the selection applied to a clonal population of *Eucalyptus grandis* coming from a selected clonal mixture obtained in cross-pollinated progenies (full sibling); b) evaluate the genetic variability using microsatellite markers obtained in a selected clonal population when subjected to different environmental conditions and levels of selection. Using the seeds obtained in the hand pollination, an experimental plantation was established, in 2001, at the Ribeirão Grande Farm in the municipality of Salesópolis, State of São Paulo, Brazil, owned by Suzano Pulp and Paper. At the age of 6 years old, a selection of superior trees (clones) was carried out based on silvicultural traits and wood density. Fifty-seven clones (full-siblings) were selected, propagated using vegetative technique and used for mixed plantation in a clonal garden to subsequent production of seedlings for commercial planting. This genetic material (initial clonal population) was recommended for planting in 2010. For this study, three commercial areas planted with these genetic materials at ages ranging from 3.3 to 3.5 years old were selected. On each site, 3 plots of 100 trees were established and the silvicultural evaluation of trees was made. The trees were ordered using the diameter at breast height (DBH) data (highest to lowest) and the 40 trees with the highest DBH values and good shape of the trunk were selected, and the 15 trees with lower DBH values, totaling 360 trees. The genetic profile through microsatellite markers was conducted for selected trees, for clones that form the initial clonal population and for parental clones. The Annual Average Increase in shell to the 7 years old (IMA7; m³ / ha.year) was estimated per plot and 10, 20, 30 and 40% selection of levels. Throughout the genetic profile of the 40 selected trees per plot, the presented clones in the selection were obtained, but also, the clones present in 15 trees with lower silvicultural behavior. The results show that the method selection and improvement in clonal populations of *E. grandis* is promising, decreasing the time for obtaining genetic materials for commercial plantation. Check levels of 30 and 40% are the most suitable to preserve a good number of clones and to obtain short-term productivity gains.

Keywords: controlled crossing, *Eucalyptus grandis*, full sibling, multiclonal planting, selection in clonal population.

1. INTRODUÇÃO

A importância do setor florestal para a sociedade brasileira em termos econômicos, sociais e ambientais pode ser mensurada pela avaliação de seus principais indicadores: a área de florestas plantadas, o valor bruto da produção, a geração de impostos, o valor das exportações, empregos gerados e mantidos pelo setor em geral, e os investimentos na área de responsabilidade social e ambiental realizados pelas empresas de base florestal (Abraf, 2012). Em 2013, a área ocupada por plantios florestais atingiu 7,6 milhões de ha, sendo 72% deste total correspondente à área de plantios de *Eucalyptus* e 20,7% aos plantios de *Pinus* (Ibá, 2014). A área de plantios de *Eucalyptus* apresentou um crescimento de 3,2% frente ao indicador de 2012, sendo o principal fator que alavancou esse crescimento foi o estabelecimento de novos plantios devido à demanda futura dos projetos industriais do segmento de papel e celulose.

O eucalipto pertence à divisão *Angiosperma*, classe *Dicotyledonea*, ordem *Myrtales*, família *Myrtaceae* e gênero *Eucalyptus*. Muitas espécies do gênero têm sido intensivamente utilizadas nos programas de florestamento e reflorestamento, tanto no Brasil como em outras partes do mundo. O gênero é nativo da Austrália, exceto para o *Eucalyptus urophylla*, espécie nativa da Indonésia (em sete Ilhas: Adorata, Alor, Flores, Lomblen, Pantar, Timor e Wetar), *Eucalyptus deglupta*, espécie nativa da Ilha de Papua Nova Guiné, *E. tereticornis*, *E. pellita* e *E. brassiana* que ocorrem na Austrália e também em Papua Nova Guiné (Fonseca et al., 2010).

Muitas espécies se adaptaram de forma positiva as condições edafoclimáticas do Brasil. A produtividade nacional média atingiu 45 (m³/ha/ano) de madeira, cerca de 55% superior à existente no início da década de 80. Este aumento na produtividade deve-se ao emprego de técnicas de melhoramento genético e ao desenvolvimento de novas tecnologias de manejo silvicultural. Dentre as diferentes espécies de *Eucalyptus* utilizadas no setor florestal, o *Eucalyptus grandis* é uma das espécies do gênero de grande interesse silvicultural e econômico para as empresas florestais do setor de celulose e papel.

A seleção dos materiais genéticos superiores, em programas de melhoramento florestal, tem sido feita visando os caracteres silviculturais de interesse, como volume de madeira, forma do tronco da árvore, qualidade da madeira para usos múltiplos e tolerância a pragas e doenças. Esses materiais genéticos devem garantir a sustentabilidade dos plantios comerciais e a continuidade do programa de melhoramento mediante a seleção feita em gerações avançadas de árvores e clones superiores.

O programa de melhoramento genético com os eucaliptos é dividido em uma parte sexuada considerada como melhoramento clássico (envolve estudos de materiais genéticos propagados via sementes) e uma parte assexuada (envolve estudos de materiais genéticos

via propagação vegetativa). O programa de melhoramento genético clássico deve ser a base para a aplicação de técnicas de propagação clonal e a seleção de clones.

As pesquisas na área de melhoramento genético buscam obter materiais genéticos produtivos em curto e médio prazo. A empresa Suzano Papel e Celulose vem desenvolvendo pesquisas neste sentido. O plantio de monoprogênies de *E. grandis*, utilizado pela empresa, é um método de se obter alta produtividade volumétrica no plantio seminal. Os dados de inventário florestal mostram que o Incremento Médio Anual (IMA) obtidos destes plantios podem ser superiores aos obtidos nos plantios clonais de *E. grandis*. A monoprogênie é a mistura de sementes coletadas nos ramets do mesmo ortet (clone) no Pomar de Sementes Clonal, ou seja, são sementes coletadas no mesmo clone materno. O plantio operacional das monoprogênies apresentam boa forma do tronco das árvores e alta produtividade volumétrica. Outro método que foi estudado na empresa é a obtenção de progênies híbridas obtidas no cruzamento controlado entre matrizes com alta Capacidade Geral de Combinação (CGC) e a multiplicação vegetativa em minijardim clonal das mudas obtidas. O plantio multiclonal apresentou bom desenvolvimento e boa produtividade volumétrica.

Com base nestes estudos surge a ideia da formação da população clonal como um material genético para plantio operacional e, ao mesmo tempo, realizar a seleção e melhoramento dentro desta população. Neste método, a população clonal é formada pela mistura de clones que podem ser irmãos completos selecionados dentro de cruzamentos controlados entre genitores testados no programa de melhoramento, clones selecionados em plantios oriundos de monoprogênies (clones meios-irmãos) ou clones selecionados da mesma espécie /híbrido com algum ou nenhum grau de parentesco. Como os clones são selecionados dentro dos materiais genéticos que fazem parte do programa de melhoramento, ou seja, são genitores testados, os clones selecionados para formar a população clonal não passam por testes clonais, o que proporciona redução de tempo na obtenção de materiais genéticos para o plantio operacional.

Quando comparado ao plantio monoclonal, plantios multiclonais proporcionam maior estabilidade no plantio operacional com relação a segurança a pragas e doenças e menor estresse ambiental (funciona como se fosse uma população de sementes melhorada), e atende a certificação florestal, garantindo diversidade genética nos extensos plantios de eucaliptos. Sendo um novo método tornam-se importantes estudos para avaliar os ganhos que podem ser obtidos e a variabilidade genética quando são aplicados diferentes níveis de seleção dentro da população clonal.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo propor um novo método de melhoramento genético para *Eucalyptus*, visando obter materiais genéticos para plantio operacional.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Avaliar o ganho em produtividade volumétrica de madeira na seleção aplicada numa população clonal de *Eucalyptus grandis* oriunda da mistura de clones selecionados em progênies de polinização controlada (irmãos completos);
- b) Avaliar a variabilidade genética por meio de marcadores moleculares microssatélites na população clonal selecionada, quando submetida a diferentes condições ambientais e níveis de seleção.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden

O *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden ocorre naturalmente na Austrália, ao norte do Estado de New South Wales, ao sul de Queensland (próximo à região costeira e na parte central e ao norte de Queensland em áreas de altitude (300 a 900 metros). A ocorrência principal situa-se de 26° a 32° S de latitude. Na região central de Queensland situa-se a 22° S e ao norte de Queensland a 17° S de latitude. A precipitação pluviométrica varia de 1.000 a 1.750 mm, predominantemente no verão. Estação seca não ultrapassa três meses. Geadas ocasionais ocorrem nas regiões mais interiores da área de ocorrência natural. Temperatura média das máximas do mês mais quente compreendida entre 29 a 32° C, e a média das mínimas do mês mais frio entre 5 a 6° C (Fao, 1979).

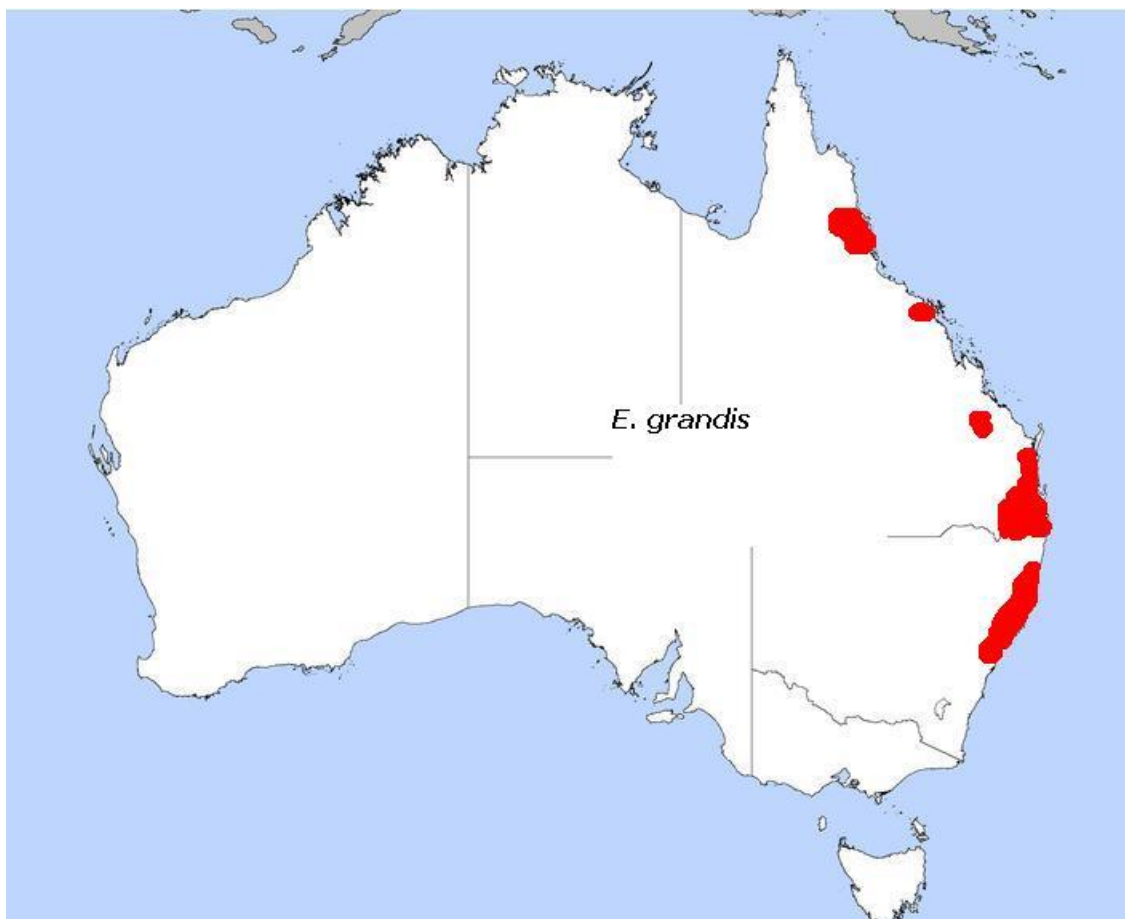


Figura 1: Área de ocorrência do *Eucalyptus grandis* na Austrália (Wikipédia, 2014).

O *E. grandis* é uma das espécies do Gênero de grande interesse silvicultural e econômico para as empresas florestais do setor de celulose e papel. Além do plantio da espécie, podemos citar os híbridos nos quais a espécie está envolvida como *E. grandis* x *E. urophylla*, *E. grandis* x *E. dunnii*, *E. grandis* x *E. smithii*, *E. grandis* x *E. camaldulensis* entre outros.

A introdução da espécie e o início do programa de melhoramento da espécie na empresa Suzano Papel e Celulose ocorreu por volta do ano de 1969. O plantio da espécie na empresa ocorre em diferentes condições edafoclimáticas. São plantadas extensas áreas da espécie via sementes melhoradas obtidas no pomar de sementes clonal (monoprogênis) e de clones altamente produtivos em volume de madeira e com qualidade da madeira desejáveis.

3.2. Melhoramento Genético dos Eucaliptos

O melhoramento genético de espécies florestais teve maior desenvolvimento a partir de 1950 (Wright, 1976; Zobel e Talbert, 1984). No Brasil, o melhoramento florestal cresceu a partir de 1967 com a implantação da Lei dos Incentivos Fiscais ao Reflorestamento (Ferreira, 1983). Muitas espécies do Gênero *Eucalyptus* têm sido intensivamente utilizadas nos programas de florestamento e reflorestamento, tanto no Brasil como em outras partes do mundo. A obtenção de materiais genéticos (sementes e clones) adaptados e produtivos é importante para suprir tais necessidades.

Um programa de melhoramento genético deve ter suas estratégias bem definidas, planejadas em curto e longo prazos, visando obter materiais genéticos melhorados para caracteres desejáveis. A seleção dos materiais genéticos superiores, em programas de melhoramento florestal, tem sido feita visando os caracteres silviculturais de interesse, como volume de madeira, forma do tronco da árvore, qualidade da madeira para usos múltiplos e resistência a pragas e doenças. Esses materiais genéticos devem garantir a sustentabilidade dos plantios comerciais e a continuidade do programa de melhoramento mediante a seleção feita em gerações avançadas de árvores e clones superiores. O melhorista deve conhecer os fatores que podem diminuir os ganhos genéticos esperados e como intervir dentro das estratégias de melhoramento, buscando minimizar estas perdas.

Ferreira e Santos (1997) discorrem sobre o melhoramento genético florestal dos *Eucalyptus* no Brasil – breve histórico e perspectivas com base nos acontecimentos anteriores e posteriores a 1960. Os autores citam que em torno do ano de 1990 as pesquisas básicas em melhoramento genético florestal deixam de ser prioridade, passando a ser prioridade a árvore, como unidade de propagação clonal, sendo que milhares de árvores foram selecionadas nas populações existentes e propagadas para inclusão nos testes clonais e plantios comerciais. Os autores citam ainda que naquela época, muitas pesquisas do programa de melhoramento (seleção de espécies, procedências, pomares de sementes, hibridação e testes de progênies) foram desativadas ou reduzidas. Atualmente as empresas buscam resgatar as populações-base e/ou introduzir novos materiais genéticos com a importação de espécies de interesse, como também na participação de programas cooperativos com institutos de pesquisas e universidades.

As estratégias de melhoramento genético de espécies florestais exóticas têm sido baseadas na seleção de espécies/procedências e na seleção individual dentro de populações-base, explorando-se a variabilidade natural existente entre populações e entre indivíduos (Ferreira, 1992). A pesquisa de procedências é fundamental para o melhoramento de espécies florestais, pois fornece condições para a escolha correta das melhores fontes de sementes, permitindo a identificação dos componentes genéticos e ambientais da variação fenotípica

entre árvores de diferentes origens geográficas (Torggler, 1987). A formação de populações-base a partir dos estudos de procedências permite conhecer adequadamente as variações inter e intraprocedências quanto ao comportamento silvicultural, às características de adaptação, variações devidas a hibridações, variações clonais e ecotípicas e problemas ligados à amostragem populacional. A população base estabelecida fornece sementes recombinadas com qualidades genéticas e fisiológicas adequadas para a continuidade ao programa de melhoramento clássico, como também para os plantios comerciais.

Definida a população base, pode-se manejá-la a fim de formar população de conservação e ou de melhoramento. Para a formação da população de melhoramento, a população base pode ser trabalhada com seleção intrapopulacional por meio de seleção massal e seleção individual. Assim, podem-se formar áreas de coleta de sementes (ACS) e áreas de produção de sementes (APS), que constituem métodos de produção de sementes no melhoramento de populações submetidas à seleção massal. Os pomares de sementes clonais e os formados por mudas são métodos de melhoramento nos quais se utiliza a seleção individual. Neste caso, selecionam-se indivíduos de uma família, ou de uma população de árvores, pelo seu próprio mérito, para constituírem genitores ou bases para clones (Ferreira, 1980).

O programa de melhoramento genético com os eucaliptos pode ser dividido em uma parte sexuada considerado como melhoramento clássico (envolve estudos de materiais genéticos propagados via sementes) e uma parte assexuada (envolve estudos de materiais genéticos via propagação vegetativa).

O programa de melhoramento clássico deve ser a base para a aplicação de técnicas de propagação clonal e seleção de clones potenciais (Figura 2).

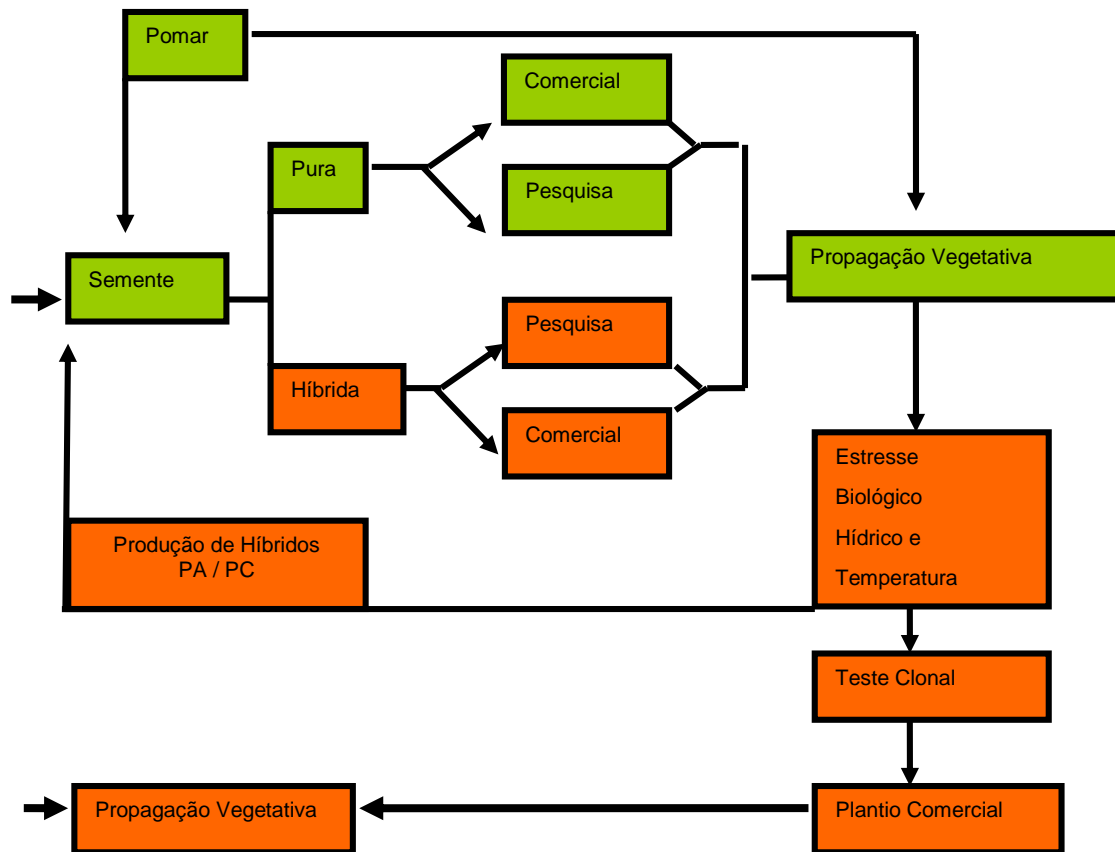


Figura 2: Fluxograma do melhoramento genético sexuado como suporte à seleção de clones (PA- polinização aberta; PC- polinização controlada).
Fonte: Oda et al. (2007).

O melhorista atua na seleção de indivíduos na população base para obter a população de cruzamentos e no controle dos cruzamentos entre indivíduos da população de cruzamentos para originar a nova população base (Higa et al., 1991). De acordo com os autores, as combinações de diferentes métodos de seleção e delineamentos de cruzamentos são chamadas de estratégias de melhoramento. Mori (2005) apresenta os esquemas das estratégias utilizadas no programa de melhoramento florestal: tradicional, condução de genótipos estáveis, multipopulações e múltiplas populações endogâmicas. A estratégia de multipopulações é dada por Namkoong e Barnes (1983), e a de múltiplas populações endogâmicas, por McKeand e Beineke (1980).

As estratégias de melhoramento florestal devem considerar os efeitos da interação genótipo x ambiente (GxA), visando maior produtividade do material genético, utilizando aqueles com maior capacidade de adaptação em diferentes locais. Segundo Mori et al. (1986), a produtividade da floresta está diretamente relacionada à qualidade do material genético utilizado, tendo sua produtividade maximizada quando bem adaptada às condições ecológicas locais.

Como exemplo ilustrativo, verifica-se ganhos na média de volume de madeira a partir da seleção recorrente, nas gerações avançadas da população por sementes (Figura 3), como também ganhos contínuos em seleções de clones nas gerações recorrentes avançadas (Oda et al., 2007).

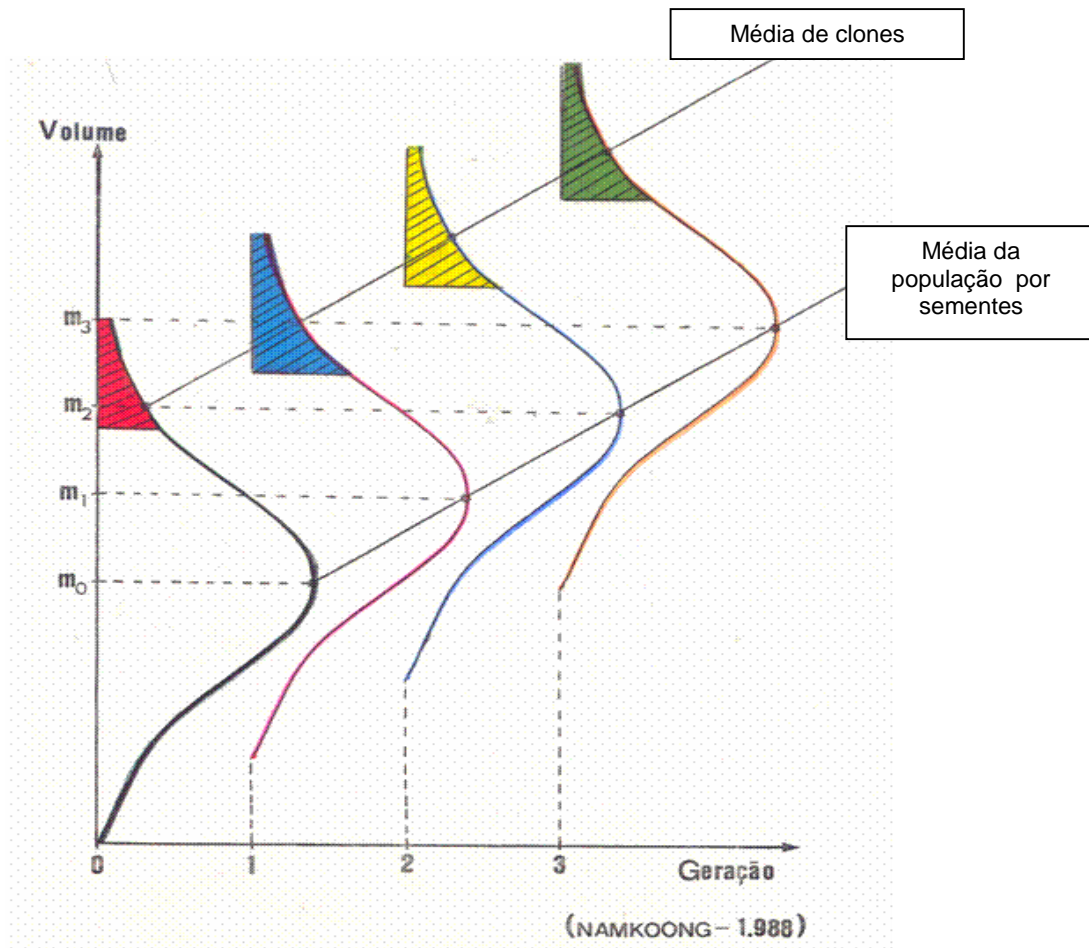


Figura 3: Exemplo da seleção recorrente em diferentes populações de gerações avançadas de melhoramento.

Fonte: Oda et al. (2007).

Cotterill et al. (1989) propõem a estratégia de “núcleos de melhoramento” e citam exemplos de trabalhos com *Pinus radiata* na Austrália e *E. globulus* em Portugal. No Brasil, os núcleos de melhoramento têm sido utilizados em trabalhos com *E. grandis* nas empresas Cia Suzano Papel e Celulose, Votorantim, Eucatex e Duratex. Nesta estratégia, a população tradicional usada no melhoramento florestal é dividida em duas estruturas, a saber: população principal de melhoramento, a qual é melhorada lentamente, para garantir a continuidade dos ganhos genéticos no futuro, com seleção menos intensiva, a fim de se manter ampla base genética; e população-núcleo composta com 10 a 20 famílias selecionadas da população principal. Segundo Oda et al. (2007) a partir da população-núcleo, o programa de

melhoramento pode ser conduzido com seleção direcionada para caracteres específicos, formando-se uma população de base genética de duas a cinco famílias, com progênies obtidas por meio da polinização controlada, a qual os autores denominaram de população-núcleo. De acordo com os autores, essa estratégia, em médio e longo prazo, vem ao encontro da necessidade do uso de espécies puras com alta capacidade geral de combinação e de linhagens endógamas S_1 e S_2 , visando à síntese de híbridos.

Recentemente tem sido enfatizada a utilização da Seleção Genômica Ampla (SGA) nos programas de melhoramento com eucaliptos, com o intuito de reduzir o tempo de seleção de materiais genéticos. Fonseca et al. (2010) citam que a SGA pode conduzir a aumento da ordem de 100% na eficiência seletiva, podendo ser aplicada vantajosamente em qualquer geração de melhoramento. Os autores também citam que as tecnologias de modificação genética via transgenia podem ser uma ferramenta complementar importante para o melhoramento genético de *Eucalyptus*. Em 2015, ocorreu a liberação comercial do primeiro clone transgênico de eucalipto no mundo.

3.3. Marcadores Moleculares – uso no Melhoramento Genético dos Eucaliptos

Marcadores genéticos são quaisquer características, processos bioquímicos ou fragmentos de DNA que permitem a distinção de indivíduos geneticamente diferentes (Borém e Miranda, 2009). Os autores citam que quatro tipos de marcadores genéticos têm sido utilizados em plantas: morfológicos, citológico, bioquímico e molecular. Dentre os marcadores moleculares, os microssatélites são usados mais extensamente em estudos de genética, com diversas aplicações, incluindo a conservação genética, sistema de reprodução, testes de paternidade e também para o estudo de populações de plantas florestais (Oliveira et al., 2006).

O microssatélite é uma classe de sequências de DNA repetitivo que ocorre em todos os organismos. É constituído de repetições de sequências geralmente de dois a seis nucleotídeos, ocupando uma extensão de até 100 pares de bases (Ramalho et al., 2012). Os microssatélites possuem herança codominante, o que torna um marcador mais informativo do que os marcadores dominantes, principalmente quando se analisa vários genótipos diferentes e pode-se identificar vários alelos (Ramalho et al., 2012).

Atualmente, as pesquisas com marcadores moleculares contribuem no melhoramento genético das plantas cultivadas. Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), a aplicação dos marcadores moleculares, a médio e longo prazo, poderia ser extremamente útil para o desenvolvimento de linhagens em espécies florestais. De acordo com os autores, a endogamia em diferentes níveis como mecanismo de fixação de alelos favoráveis e remoção de carga genética, começou a ser utilizada no melhoramento florestal, como o trabalho de Mckeand e Bridgwater (1992) com *Pinus taeda*.

De acordo com Guimarães e Moreira (1999) como os marcadores moleculares possibilitam análises genéticas mais detalhadas, podem oferecer oportunidade de utilização no melhoramento genético de plantas, como: no melhoramento assistido por marcadores em programas de introgressão de genes por retrocruzamento; na detecção e no mapeamento de QLTs (“Quantitative Trait Loci”) para o melhoramento de plantas; na avaliação da diversidade genética com aplicações filogenéticas e evolutivas; mapeamento genético na clonagem de genes; caracterização de variedades, linhagens ou híbridos por meio de marcadores de DNA na proteção do direito intelectual do melhorista nos países que já vigoram as leis de proteção de cultivares. No Brasil, no processo de proteção de clones de eucaliptos, os marcadores moleculares são descritores complementares, sendo sua apresentação não obrigatória.

Estudos da variabilidade isoenzimática nos Eucaliptos foram realizados por Mori (1993) em *E. grandis* e Martins-Corder (1994) em *E. grandis* e *E. urophylla*. Sato e Mori (1996) aplicaram a técnica de eletroforese de isoenzimas para detectar o nível de endogamia em lote de sementes de um Pomar de sementes comerciais de *E. grandis*. Pigato (2000) estimou a

variabilidade genética para quatro gerações de melhoramento de *Eucalyptus urophylla* de polinização aberta por meio do uso de marcadores moleculares RAPD. A autora verificou que o monitoramento do nível de variabilidade genética presente nas quatro gerações de *E. urophylla* foi eficientemente realizado por meio do marcador molecular.

Junghans (2000) identificou um gene de resistência à ferrugem em uma progênie de *E. grandis* constituída de 994 indivíduos segregantes para resistência à ferrugem. Foram identificados seis marcadores RAPD ligados ao gene denominado *Ppr1* (*Puccinia psidii* resistance, gene 1), que confere resistência à ferrugem. O marcador AT9/917 foi constatado apenas nas plantas resistentes. Segundo Di Ciero e Amaral (2002), no setor florestal, as novas ferramentas biotecnológicas devem combinar o desenvolvimento de árvores superiores com métodos clássicos de melhoramento, possibilitando a multiplicação em larga escala do material genético melhorado.

Fuchs (2014) cita que o desenvolvimento de marcadores moleculares podem ser ferramentas eficazes na identificação de alelos recessivos deletérios e, conseqüentemente, eliminar genótipos com alelos desfavoráveis nos programas de melhoramento, evitando danos na produção e atrasos no desenvolvimento de genótipos elites. Tambarussi (2006) identificou uma marca molecular pela técnica de RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) relacionada com a anomalia detectada nos indivíduos do cruzamento controlado de *E. grandis*, progênie da Suzano Papel e Celulose, que apresentou no viveiro a anomalia com segregação mendeliana de 3 (normais): 1 (anormais). As plântulas anômalas morrem em poucos meses e diferem em algumas características morfológicas como altura, diâmetro da base do caule, dimensões e forma do limbo foliar e número de ramificações laterais. Segundo Tambarussi (2006) a marca esteve presente em todos os 50 indivíduos anômalos e apenas em 31% dos 200 indivíduos normais avaliados. Fuchs (2014) identificou e caracterizou os genes envolvidos nessa anomalia, em fase inicial de desenvolvimento das mudas. A autora verificou que genes e vias metabólicas, diferentemente expressos entre os fenótipos contrastantes, demonstraram elevada atividade em processos relacionados à resposta de defesa nas plantas anormais, sugerindo que a anomalia é causada pela ativação inadequada do sistema imune da planta associado a incompatibilidade genética.

3.4. Seleção de materiais genéticos para plantio operacional

Ferreira (1996), abordando sobre a história da propagação clonal na silvicultura brasileira, cita que o fato de um mourão de *E. trabutii*, após ter sido fixado ao solo ter enraizado, dando origem a uma árvore, despertou o interesse na utilização de métodos de propagação assexuado nos eucaliptos. Outros fatos que contribuíram para acelerar os estudos dos métodos assexuados foram: as geadas na região sul e sudeste do Brasil em 1975 mostraram que a propagação vegetativa permitia selecionar árvores híbridas potenciais resistentes a geadas; a ocorrência de cancro do eucalipto nas plantações localizadas nas regiões tropicais do Brasil; no ano de 1976 pesquisadores franceses na República Popular do Congo estabeleceram as bases para o enraizamento de estacas de brotações das cepas de árvores adultas, tecnologia introduzida no Brasil pela Aracruz Florestal SA; neste mesmo ano pesquisadores da ESALQ juntamente ao IPEF começam a estabelecer as bases da micropropagação; em 1979, a Aracruz estabeleceu a primeira plantação clonal do Brasil. O período de 1986 a 1990, caracterizou pelo fim do subsídio para o setor florestal e a busca da árvore ideal concentrando-se as pesquisas sobre estaquia (Ferreira, 1996; Ferreira e Santos, 1997).

De acordo com Ferreira (1996) a filosofia operacional da silvicultura clonal é trabalhar com o menor número de clones possível, que os mesmos não interajam com o ambiente, sejam poucos exigentes quanto a nutrientes e tratos culturais, não sejam susceptíveis a pragas e doenças, e que tenham qualidades silviculturais e da madeira desejáveis. Assim, segundo o autor, são aplicadas altas intensidades de seleção, buscando indivíduos superiores fenotipicamente, os quais são propagados vegetativamente visando à instalação de bancos clonais, testes clonais e jardins clonais, sendo os clones selecionados propagados vegetativamente, dando origem aos plantios clonais comerciais. Ferreira (1992) aborda sobre a origem e evolução da silvicultura intensiva no Brasil e os reflexos nos programas de melhoramento.

Os clones selecionados devem ser submetidos a testes clonais, visando confirmar a superioridade do material genético, em diversas situações ambientais que possibilitem a seleção para resistência as pragas e doenças (Alfenas et al., 2004). Segundo Silva et al. (2003), as etapas de avaliação e seleção são as mais caras e demoradas do programa de melhoramento, o que dificulta a elaboração e a execução de extensos programas de seleção clonal. Detalhes da clonagem e doenças do eucalipto são dados em Alfenas et al. (2004). Segundo os autores, o processo de clonagem envolve as fases de seleção, resgate e ampliação do material genético (matrizes selecionadas e multiplicadas assexuadamente passam a constituir os clones), testes clonais, plantio-piloto e multiplicação comercial de matrizes superiores, seja por macroestaquia, miniestaquia e microestaquia.

Gonçalves et al. (2001), avaliando o progresso genético por meio da seleção de clones de eucalipto em plantios comerciais, verificaram que o progresso genético foi superior a 2,5% ao ano. Os autores ressaltam que a continuidade dos progressos depende da condução de programas de melhoramento sexuado, ampliando e gerando novas combinações genotípicas superiores.

A obtenção de clones para plantio operacional dentro do programa de melhoramento pode ter a duração de 15 a 20 anos de pesquisas. A propagação vegetativa pode ser considerada como uma ferramenta de difusão do progresso genético obtido pela seleção, quer seja no programa de melhoramento clássico, no programa de híbridos ou na multiplicação de indivíduos superiores puros ou híbridos (Menck et al., 1988). O programa de melhoramento genético deve ser a base para a aplicação de técnicas de propagação clonal e a seleção de clones.

Segundo Xavier et al. (2009) após a seleção dos clones para implantação da floresta pode-se decidir dentre as várias modalidades de distribuição dos clones no plantio comercial, sendo de maior aplicação no setor florestal o plantio monoclonal e o plantio multiclonal. O plantio multiclonal consiste na mistura aleatória ou sistemática de vários clones para compor o plantio. As vantagens apontadas em relação ao plantio monoclonal são similaridade a uma floresta seminal, possibilidade de mistura de clones e sementes no plantio de mesma espécie ou de espécies diferentes e questões políticas ambientais. Como desvantagens, os autores citam as diferenças no desenvolvimento dos clones, havendo necessidade de avaliar as combinações de diferentes clones e o processo de produção de mudas de vários clones. Os autores também citam o Mix clonal e a clonagem de famílias selecionadas: o Mix clonal é uma alternativa no qual no plantio seminal de uma espécie pura ou híbrida são selecionadas árvores superiores fenotipicamente e essas árvores são propagadas vegetativamente para compor o novo plantio; já a clonagem de famílias selecionadas em testes de progênes busca maximizar a produção deste material selecionado com base genética conhecida.

Martins (2012) estudou o comportamento silvicultural de seis clones de eucalipto (cinco clones de *E. urophylla* e um de *E. grandis* x *E. urophylla*) quando plantados numa mistura de clones. Foram estimados parâmetros associados à capacidade de exercer e tolerar a competição de clones e o comportamento silvicultural em auto e alocompetição, visando prever o sucesso da adoção de mistura de clones. O autor concluiu que o desempenho da alocompetição é semelhante ao da autocompetição, o que indica que a mistura dos clones pode ser realizada sem prejuízo no volume de madeira produzida.

3.5. Gemoma do Eucaliptos

O sequenciamento completo do genoma do eucalipto foi publicado por Myrburg et al. (2014). O projeto sequenciou e montou mais de 94% dos 640 milhões de pares de bases do genoma do *E. grandis*, que resultou na identificação de todos os 36.276 genes. O trabalho iniciou-se em 2008 pela rede internacional Eucagen (*Eucalyptus Genome Network*), liderada pelo Brasil, África do Sul e Estados Unidos, com o objetivo da colaboração internacional para a pesquisa genômica do eucalipto. A rede Eucagen contou com a participação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, além de 82 organizações públicas e privadas de 18 países, reunindo mais de 140 pesquisadores (Embrapa, 2007).

Os projetos de pesquisa como o genoma de *Eucalyptus* spp realizados no Brasil, Forests (iniciado em 2000) e Genolyptus (iniciado em 2002), contribuíram com dados de mapeamento genético e físico para o trabalho de sequenciamento completo do DNA. O programa Forests – *Eucalyptus* Genome Project Consortium – é um programa de Inovação Tecnológica em Empresas. A primeira etapa do programa Forests resultou o sequenciamento de 120.000 ESTs de eucalipto e na organização de um dos maiores bancos de genes do mundo da espécie (Fapesp, 2003). O Projeto Genolyptus, com a participação de 12 empresas do setor de papel e celulose, sete universidades e a Embrapa, teve como objetivos descobrimento, sequenciamento, mapeamento e determinação de função de genes de importância econômica em espécies de *Eucalyptus* spp, visando incorporar tecnologias de genética genômica nos programas de melhoramento (Borém, 2003).

O clone de eucalipto, denominado BRASUZ1, cujo genoma passou a representar o chamado “genoma de referência”, é da espécie *E. grandis*. Este material genético derivado de uma geração de autofecundação foi desenvolvido pelo programa de melhoramento genético da empresa Suzano Papel e Celulose.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Material Genético

Os clones presentes na população clonal inicial foram selecionados num plantio experimental formado com sementes obtidas por meio de cruzamento controlado, instalado na Fazenda Ribeirão Grande (município de Salesópolis/SP) de propriedade da Suzano Papel e Celulose no ano de 2001.

Os genitores do cruzamento controlado pertencem ao programa de melhoramento genético da empresa. A seguir é apresentado o histórico de obtenção dos 57 clones que formam a população clonal inicial:

- ✓ 1982 – Instalação do Pomar de Sementes Clonal de *E. grandis* (origem Coff's Harbour / Austrália), localizado na Fazenda Morrinhos, município de Itatinga / SP (Pomar denominado 15J1). O Pomar é composto por 15 clones selecionados em testes de progênies. O clone genitor masculino denominado EGR27J1 faz parte do Pomar.
- ✓ 1987 – Instalação do Pomar de Sementes Clonal de *E. grandis* (procedências Austrália, Rio Claro/SP, Zimbábue) localizado na Fazenda Ariona, município de Itatinga / SP (Pomar denominado 15D2). O Pomar é composto por 39 clones selecionados em teste de progênies. O clone genitor feminino EGR26D2 faz parte do Pomar (clone de procedência Rio Claro/SP – ex- Coff's Harbour).
- ✓ 2000 – Polinização controlada realizada entre os clones genitores EGR26D2 x EGR27J1.
- ✓ 2001 – Com as sementes obtidos a partir da polinização controlada foi instalado um plantio experimental de área aproximada de 3,5 ha na Fazenda Ribeirão Grande – município de Salesópolis/SP.
- ✓ 2007/2008 – aos seis anos de idade foi realizada a seleção de árvores superiores (clones) com base nos caracteres silviculturais (forma do tronco e volume das árvores) e densidade básica da madeira. Foram selecionadas 300 árvores, das quais foram coletados discos de madeira no DAP (Diâmetro a Altura do Peito) para determinação da densidade básica da madeira (método da balança hidrostática).
- ✓ 2009 – Com os dados obtidos para densidade básica da madeira foram coletadas as brotações somente das árvores matrizes (clones) que apresentaram valores de densidade básica da madeira maior que 430 kg/m³ (média de 450 kg/m³ dos clones selecionados). Foram obtidos 57 clones, propagados vegetativamente e misturados (de forma proporcional) para a formação do minijardim clonal visando à produção de

mudas para o plantio operacional. Os plantios comerciais formam a população clonal inicial em estudo, formada por clones irmãos completos.

O minijardim do material genético em estudo foi formado da seguinte forma: a) produção de mudas das brotações provenientes do campo separadamente por clone; b) plantio de no mínimo 24 cepas no minijardim clonal pesquisa de cada clone; c) coletas de miniestacas e acompanhamento do desenvolvimento das mudas; d) organização das bandejas com as mudas de todos os clones na sequência por bandeja (bandeja com 176 mudas); e) instalação do minijardim clonal operacional de acordo com a disposição das mudas nas bandejas.

4.1.2. Localização das áreas de plantio do material genético em estudo

O material genético em estudo foi recomendado para plantio operacional a partir do ano de 2010. Para o estudo foram selecionadas três áreas de plantio operacional de diferentes tipos de solos (Unidades de Manejo diferentes) (Tabela 1).

Tabela 1: Informações dos locais em estudo.

Local	Unidade de Produção	Fazenda / Município	Data do Plantio	Área de plantio	Espaçamento de plantio (metros)	Idade da avaliação (anos)
1	52B216	Bom Conselho / Sarapuí / SP	21/07/2010	30,7 ha	3 x 2,2	3,5
2	52I129	São Miguel / São Miguel Arcanjo/SP	13/10/2010	15,0 ha	3 x 2,2	3,3
3	52K003	Boa Vista II / Capão Bonito / SP	18/11/2010	31,4 ha	3 x 2,2	3,3

Local 1: Latitude de 23° 40' S, longitude de 47° 44' 58" W, altitude de 600 metros; Solos – Predomínio de Cambissolos, Distróficos, de textura argilosa. São solos de menor profundidade e que podem apresentar seixos (pedras) no perfil. Podem apresentar transição, tendendo para o caráter latossólico ou argissólico. São solos que apresentam alta retenção de umidade, porém, com menor capacidade de disponibilizar água em função de sua menor profundidade efetiva. Apresentam risco à compactação quando trafegados, notadamente sob condições de excesso de umidade. E apresentam risco à erosão, tanto laminar quando de sulco; Clima: Cwa (classificação de Köppen – clima sub tropical úmido, mesotérmico, com

verão chuvoso e sem estiagem no inverno), temperatura média anual de 20,9° C, precipitação anual de 1133,8 mm.

Local 2: Latitude de 23° 53' 59" S, longitude de 47° 55' 48" W, altitude de 600 metros; Solos – Predomínio de Latossolos, Distróficos, de textura argilosa. São solos bem drenados, uniformes em profundidade, estrutura em microagregados, e ocorrem em relevo plano a suave ondulado. A microestrutura favorece o pleno enraizamento, propiciando grande volume de raízes. Densidade do solo é em torno de 1 g/cm³. São solos com alto potencial edáfico de produção, desde que corrigidos quimicamente, em função dos excelentes atributos físicos de microagregação, e profundidade efetiva superior a 2 m. São solos com eleva susceptibilidade à compactação tanto em implementos como de tráfego de máquinas e caminhões. O teor de água disponível não é grande ainda que os solos sejam argilosos e, desta forma podem secar rapidamente. Exigem preparo profundo, uma vez que já tenham sido cultivados com eucalipto, devido a eventuais danos por compactação; Clima: Cwa (classificação de Köppen), temperatura média anual de 20,4° C, precipitação anual de 1395,7 mm.

Local 3: Latitude de 23° 03' 35" S, longitude de 48° 03' 32" W, altitude de 700 metros; Solos – Predomínio de Latossolos, Distróficos, de textura média. São solos bem drenados, uniformes em profundidade, e ocorrem em relevo plano a suave ondulado. A microestrutura favorece o pleno enraizamento, propiciando grande volume de raízes. Densidade do solo é em torno de 1,1 -1,2 g/cm³. São solos com médio a alto potencial edáfico de produção, desde que corrigidos quimicamente, em função dos excelentes atributos físicos de microagregação, e profundidade efetiva superior a 2 m. São solos que apresentam risco de erosão laminar. Em relação à mesma classe de textura argilosa são menos susceptíveis à compactação, retém menor quantidade de água e exigem preparo menos profundo; Clima: Cwa (classificação de Köppen), temperatura média anual de 22,2° C, precipitação anual de 1221,6 mm.

4.2. Métodos

4.2.1. Experimentação

Nos três locais (Unidades de Produção) com o plantio operacional do material genético em estudo foram marcadas três parcelas quadradas contendo 100 árvores / parcela (10 linhas x 10 plantas) (Figuras 4, 5, 6, 7, 8).

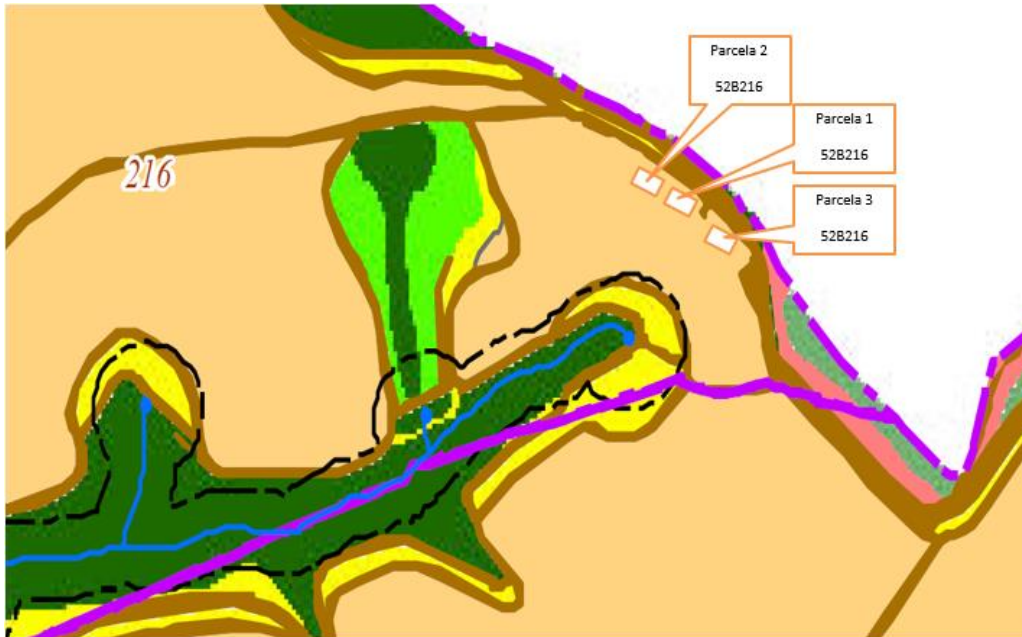


Figura 4: Localização das parcelas no local 1.

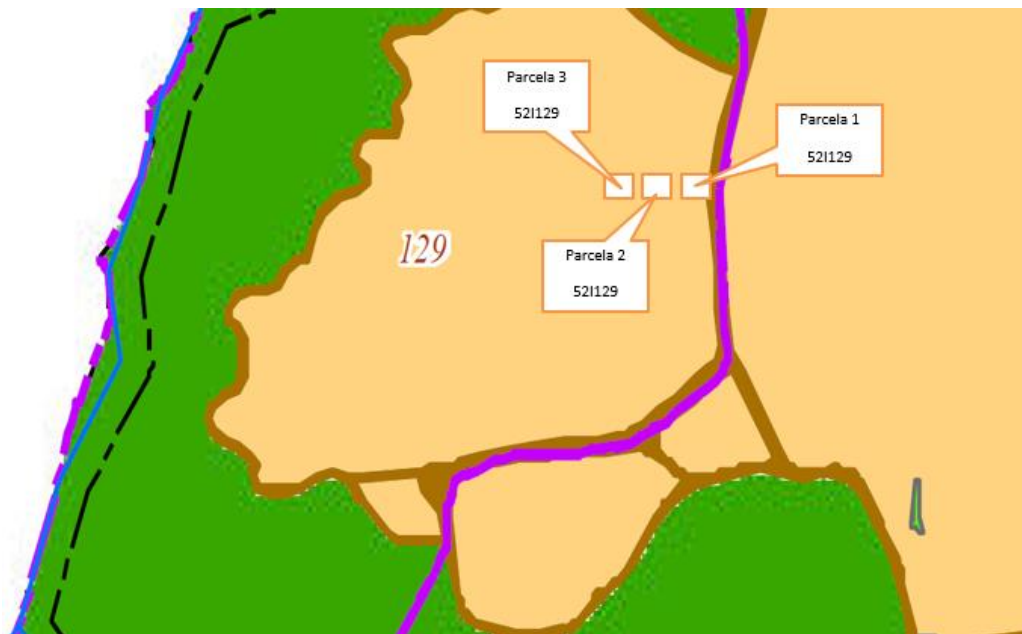


Figura 5: Localização das parcelas no local 2.

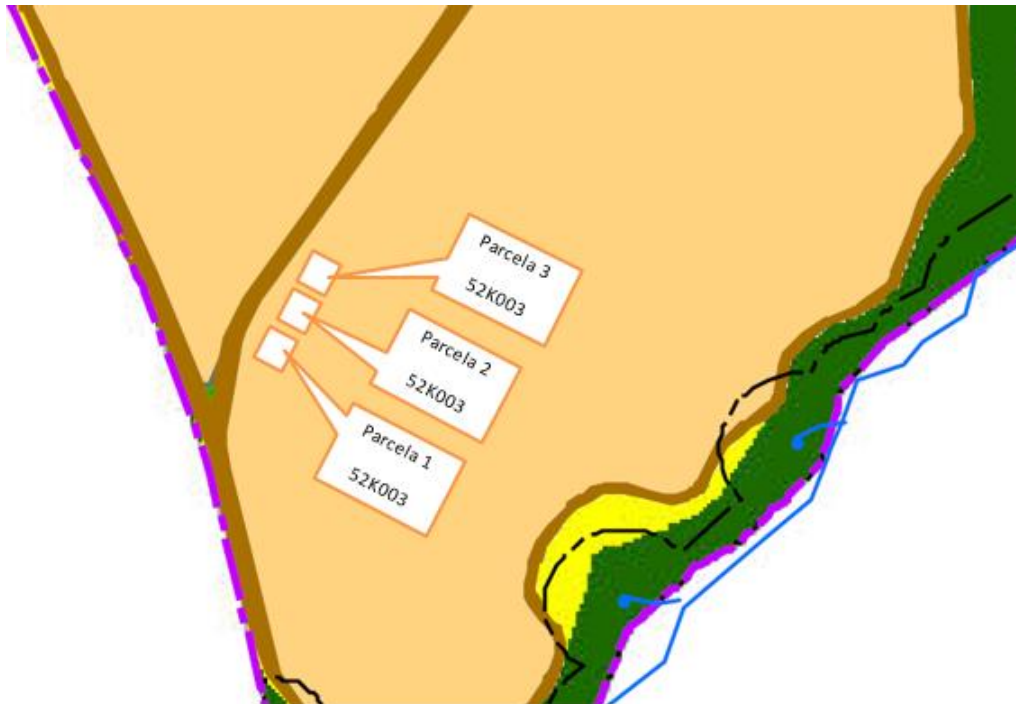


Figura 6: Localização das parcelas no local 3.



Figura 7: Localização dos locais de amostragem.



Figura 8: Parcelas marcadas no plantio operacional do material genético.

4.2.2. Avaliação dos caracteres silviculturais

Nas parcelas marcadas, totalizando 900 árvores (300 árvores / local), foi realizado o inventário medindo-se o CAP (cm; Circunferência a Altura do Peito) e altura comercial das árvores (metros; altura até 6 cm de diâmetro do fuste). A forma do tronco das árvores foi avaliada de acordo com a tortuosidade do tronco: reta, leve tortuosidade, torta. O DAP (cm; Diâmetro a Altura do Peito) foi obtido por meio da fórmula $CAP/3,1416$. O volume (m^3 de madeira) de cada árvore foi determinado utilizando-se das medições de DAP (cm) e altura (metros) a partir de equação de inventário. Os equipamentos utilizados nas medições foram fita métrica para CAP e hipsômetro para altura das árvores.

Com os dados de DAP foi feito o ordenamento dos valores (maior para o menor). Assim, tem-se as 40 árvores das 100 árvores da parcela que apresentam maiores valores de volume de madeira. Estas árvores selecionadas foram marcadas (Figura 9). O total de árvores selecionadas foi de 360 (40 árvores /parcela; 120 árvores / local). O nível de seleção de 40% foi determinado buscando-se obter ganhos em produtividade e uniformidade de plantio sem perder muito na variabilidade genética. Também, foram marcadas as 15 árvores das 100 árvores da parcela que apresentam menores valores de DAP na parcela 1 de cada local.



Figura 9: Árvores selecionadas marcadas nas parcelas.

4.2.3. Determinação do perfil genético a partir de marcadores moleculares microssatélites

O DNA genômico foi obtido a partir de folhas coletadas da ponta dos ramos da copa das árvores. Para a análise do perfil genético por meio de marcadores moleculares microssatélites foi realizada a coleta de folhas de cada árvore selecionada (total de 360 amostras de folhas), dos genótipos individuais que formaram a população clonal inicial (dos 57 clones foram genotipados 55 clones; dois clones não foram encontrados nos testes clonais) e dos clones genitores. Um total de 417 indivíduos foram genotipados. Também foi realizada a análise do perfil genético das 15 árvores que apresentaram os menores valores de DAP na parcela 1 de cada local, totalizando 45 indivíduos genotipados. O estudo do perfil genético das árvores inferiores foi realizado com o objetivo de verificar se estes indivíduos estão presentes no nível de seleção de 40%.

Para a coleta das folhas foi realizada a escalada das árvores até aproximadamente 75% da altura das mesmas. Com o auxílio de um gancho foram cortados ramos da copa. Desses foram colhidas as folhas das pontas dos ramos (em torno de 10 folhas) e armazenadas em sacos de papel identificados e enviados ao laboratório.

As amostras foram numeradas da seguinte forma: maiores valores de DAP: 1 a 120 para local 1; 121 a 240 para local 2; 241 a 360 para local 3; 361 a 415 – clones que compõem o material genético (55 clones genotipados); 416 e 417 – clones genitores; menores valores de DAP: 500 a 514 para local 1, 515 a 529 para local 2 e 530 a 544 para local 3.

As análises do perfil genético foram realizadas pela Genomax (Heréditas Tecnologia em Análise de DNA Ltda / Brasília /DF), utilizando marcadores microssatélites. Os marcadores microssatélites, por serem marcadores co-dominantes com o mais alto poder informativo para

discriminação individual, são os mais indicados para a análise de identidade genética. De acordo com a proposta de análise foram utilizados marcadores microssatélites altamente polimórficos validados e utilizados internacionalmente para este fim com banco de dados construído; os dados são registrados automaticamente a partir dos eletroinjeções em sequenciador automático capilar por pelo menos dois técnicos independentes e em seguida utilizados em análises estatísticas; para a análise somente são registrados polimorfismos claramente interpretáveis e replicáveis em análises sucessivas. Os locos microssatélites para a determinação de perfis genéticos foram: EMBRA02, EMBRA28, EMBRA03, EMBRA44, EMBRA11, EMBRA10, EMBRA63, EMBRA12, EMBRA157, EMBRA204, EMBRA219, EMBRA128, EMBRA206, EMBRA681 (desenvolvidos e publicados por Brondani et al.(2006) e Faria et al. (2010, 2011) (Quadro1).

Quadro 1: Descrição dos marcadores moleculares microssatélites EMBRA.

Microssatélite	Tamanho (pares de bases)	Sequência 5'-3' do iniciador direto	Sequência 5'-3' do iniciador reverso	Grupo de ligação
EMBRA02	121	CgTgACACCAggACATTAC	ACAAATgCAAATTCAAATgA	11
EMBRA03	123	gATCggATTggAggAgAC	AATTCAATTCATCCAAAgC	8
EMBRA10	95	gTAAAgACATAgTgAAgACATTCC	AgACAgTACgTTCTCTAgCTC	10
EMBRA11	97	gCTTAgAATTTgCCTAAACC	gTAAAATCCATgggCAAg	1
EMBRA12	98	AggATTTgTggggCAAgT	gTTCCCCATTTTCATgTCC	1
EMBRA28	178	CAAgACATgCATTTCgTAgT	ACTCTTgATgTgACgAgACA	6
EMBRA44	208	ggggTTTgTTCTgCTTAg	CAAAAgAgTTCAgCTgTg	4
EMBRA63	201	CATCTggAgATCgAggAA	gAgAgAAggATCATgCCA	2
EMBRA128	110	CCAAGTTTCgAgTggTgA	CAAATgTCTTCTCCAACCAC	7
EMBRA157	150	TgCCAgAATgTATCgTCC	TCTggCTTCTTTCTTgTTg	8
EMBRA204	147	CTCgTgTggTTATgTgAACT	gCTTgTCTACTATgCACATgA	9
EMBRA206	136	gAACAgCTACTCgTCgATTC	gTAACCAggCTTggACgAT	1
EMBRA219	268	gATTCCACTgCggCCAgACA	CgAACgTAAgACTAggTCCgAAgA	1
EMBRA681	175 - 279	GAGTTCATCGCCGAAGAGAG	TGGTTGACAAAGAACAGCCA	11

4.2.4. Análises dos dados

4.2.4.1. Estimativas dos valores de IMA7 (Incremento Médio Anual aos 7 anos) e Ganhos em produtividade com a seleção dentro da população clonal inicial

Utilizando-se das equações de inventário para cada local (Unidade de Produção) foi estimado o Incremento Médio Anual com casca aos 7 anos de idade (IMA7; m³/ha/ano) para cada parcela com as 100 árvores e com a seleção silvicultural de 40% das melhores árvores. Estimou-se os ganhos em produtividade obtidos na seleção:

- a) Ganho em volume (m³/ha/ano) = IMA7 40 árvores selecionadas – IMA7 100 árvores;
- b) Ganho em percentual (%) = (Ganho em volume / IMA7 100 árvores) x 100.

4.2.4.2. Caracterização do perfil genético dos clones por meio de marcadores moleculares microssatélites – nível de seleção 40%

Os dados dos perfis genéticos a partir dos marcadores moleculares microssatélites foram utilizados para identificar nas 40 árvores selecionadas por parcela quais são os clones presentes (clones que compõem o material genético operacional). Com estes dados foram obtidos:

- a) Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas por parcela / local;
- b) Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas local;
- c) Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas no geral.

4.2.4.3. Correlação linear entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e dados silviculturais por local

Para verificar a magnitude da relação linear entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e os caracteres silviculturais foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. A correlação de Spearman é dada por (Dias e Barros, 2009):

$$\rho_s = 1 - \frac{6 \sum_i^n d_i^2}{(n^3 - n)}$$

Onde: n é o número de pares X e Y; d_i é a diferença de postos entre X e Y. Se os valores de X e Y estão ordenados na mesma ordem dos valores Y então $\sum_i d_i^2 = 0$ e $\rho_s = 1$. As hipóteses testadas para o ρ_s são: H₀: $\rho_s = 0$ (não há associação entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e os caracteres silviculturais) versus H₁: $\rho_s \neq 0$ (há associação entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e os caracteres

silviculturais). A significância do valor observado de ρ_s foi obtida por meio da expressão do teste t de Student:

$$t = \rho_s \sqrt{\frac{n-2}{1-\rho_s^2}}$$

Em que t tem n-2 graus de liberdade e o nível de significância (1% e 5%). Os coeficientes de correlação foram obtidos por meio do programa de planilhas eletrônicas Excel.

4.2.4.4. Interação clones x local

A interação entre os clones presentes nos 40% de seleção e locais (local 1 x local 2; local 1 x local 3; local 2 x local 3) foi avaliada a partir do coeficiente de correlação de Spearman, descrito em 4.2.4.3., para verificar a magnitude da relação linear entre:

- a) percentual de participação dos clones entre os locais;
- b) comportamento silvicultural por meio do DAP entre os locais.

A significância do coeficiente de correlação foi obtida pelo teste t (Student). Os coeficientes foram obtidos a partir do programa de planilhas eletrônicas Excel.

4.2.4.5. Variabilidade genética em diferentes níveis de seleção dentro da população clonal inicial

O número de clones presentes na seleção e o ganho em produtividade ($m^3/ha/ano$) foram determinados, também, para os níveis de seleção de 10%, 20% e 30% dentro da população clonal inicial.

4.2.4.6. Caracterização do perfil genético dos clones por meio de marcadores moleculares microssatélites – 15% inferiores

Os dados dos perfis genéticos de marcadores moleculares microssatélites foram utilizados para identificar os clones presentes (clones que compõem o material genético operacional) e verificar se os mesmos não ocorrem no nível de seleção de 40%.

4.2.4.7. Estudo dos clones: coeficiente de coancestria entre os clones genitores, endogamia e heterozigosidade de todos os clones (genitores e clones que compõem a população clonal inicial) a partir dos marcadores moleculares microssatélites

O Índice de Fixação de Wright (F) e o coeficiente de coancestria entre os clones genitores foram determinados pelo programa SPAGeDI (Hardy e Vekemans, 2002). A heterozigosidade individual observada dos clones da população clonal inicial e clones genitores foi determinada da seguinte forma: número de locos heterozigotos / 14 locos.

4.2.4.8. Avaliação do comportamento dos clones que compõem o material genético em teste clonal delineado

Um teste clonal com o material genético em estudo foi instalado em julho/2010 com 46 tratamentos, a saber: 43 clones presentes na população clonal inicial, dois tratamentos referentes a população clonal inicial (mistura de 57 clones), e um tratamento com uma testemunha clonal.

O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso com cinco repetições e 46 tratamentos, com parcelas quadradas de 9 plantas. O espaçamento entre plantas foi de 3 x 2,2 metros.

A medição do teste clonal foi realizada em julho/2015 aos cinco anos de idade. Foram obtidos valores médios de DAP por tratamento. Foi realizada a comparação do ordenamento para valores de DAP dos clones no teste clonal e dos mesmos presentes nos 40% superiores (média geral) e nos 15% inferiores (média geral).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Ganhos em produtividade com a seleção dentro da população clonal inicial

Observa-se que existe variação dentro da população clonal inicial para DAP, Altura e volume árvore, o que permite realizar a seleção silvicultural dentro da população (Tabela 2). O percentual de falhas pode ser considerado baixo mostrando que o plantio está sendo bem manejado e o material genético bem adaptado aos locais de plantio. No geral, a forma do tronco das árvores é retilínea, apresentando baixo percentual de árvores com leve tortuosidade.

Tabela 2: Dados silviculturais médios por parcela e locais 1, 2 e 3.

Local	Idade (anos)	Parcela	Média DAP (cm)	CV (%)	Média altura comercial (m)	CV (%)	Média volume árvore (m ³)	CV (%)	Falha (%)	Tronco com forma retilínea (%)	Tronco com tortuosidade leve (%)
1	3,5	1	13,8	15,7	22,6	9,3	0,14	38,0	3,8	98,0	2,0
		2	13,6	22,4	21,8	15,7	0,14	49,1	3,0	98,0	2,0
		3	13,8	21,6	22,7	14,5	0,15	47,0	3,0	97,0	3,0
	Média		13,7	19,9	22,4	13,2	0,14	44,7	3,3	97,7	2,3
2	3,3	1	14,8	14,3	22,3	10,4	0,16	33,4	5,9	96,0	4,0
		2	14,4	16,4	22,5	10,4	0,15	36,6	3,0	96,0	4,0
		3	14,3	18,6	21,9	13,4	0,15	38,2	4,0	97,0	3,0
	Média		14,5	16,4	22,2	11,4	0,15	36,1	4,3	96,3	3,7
3	3,3	1	14,1	21,0	18,5	17,6	0,12	50,8	3,0	97,0	3,0
		2	13,6	21,9	17,9	18,7	0,11	55,7	0,0	96,0	4,0
		3	13,5	22,3	17,8	16,8	0,11	56,3	3,0	97,0	3,0
	Média		13,7	21,7	18,1	17,7	0,11	54,3	2,0	96,7	3,3

DAP – Diâmetro a Altura do Peito; C.V. (%) – Coeficiente de Variação; Tamanho da parcela -100 árvores.

A seleção das 40 melhores árvores dentro de cada parcela foi realizada pelos valores de DAP, considerando a forma retilínea do tronco das árvores.

Tabela 3: Dados silviculturais médios da seleção dos 40% das árvores por parcela e locais 1, 2 e 3.

Local	Parcela	Média DAP (cm)		Média altura comercial (m)		Média volume árvore (m ³)	
		Média DAP (cm)	CV (%)	(m)	CV (%)	árvore (m ³)	CV (%)
1	1	15,7	6,3	24,1	4,2	0,19	16,8
	2	16,2	7,7	24,0	4,2	0,20	20,1
	3	16,3	7,3	24,8	3,4	0,22	19,6
	Média	16,1	7,1	24,3	3,9	0,20	18,8
2	1	16,5	6,0	23,7	3,0	0,21	15,4
	2	16,3	6,6	24,0	3,0	0,21	17,7
	3	16,4	5,7	23,6	3,2	0,21	14,8
	Média	16,4	6,1	23,8	3,1	0,21	16,0
3	1	16,7	7,4	20,8	5,6	0,18	21,7
	2	16,4	7,2	20,7	5,7	0,18	21,1
	3	16,3	7,7	20,3	5,2	0,17	21,9
	Média	16,5	7,4	20,6	5,5	0,18	21,6

DAP – Diâmetro a Altura do Peito; C.V. (%) – Coeficiente de Variação; Tamanho da parcela - 40 árvores.

Formando-se um novo material genético com as 40 árvores selecionadas, proporciona ganhos de 16,6, 9,8 e 43,3%, respectivamente, para DAP, altura e volume árvore (Tabela 4). Para formar o novo material genético é necessário cortar as árvores selecionadas, aguardar a coleta de brotação e formar novo jardim clonal.

Tabela 4: Percentual de ganho na seleção para DAP, altura e volume árvore por parcela e locais 1, 2 e 3.

Local	Parcela	DAP (cm)			Altura comercial (m)		Volume árvore (m ³)		Ganho (%) na seleção	
		DAP 100 árvores	DAP 40 árvores	Ganho (%) na seleção	comercial 100 árvores	comercial 40 árvores	Ganho (%) na seleção	100 árvores		40 árvores
1	1	13,8	15,7	13,9	22,6	24,1	6,6	0,14	0,19	37,4
	2	13,6	16,2	18,8	21,8	24,0	10,1	0,14	0,20	46,4
	3	13,8	16,3	18,2	22,7	24,8	9,2	0,15	0,22	44,1
2	1	14,8	16,5	11,5	22,3	23,7	6,2	0,16	0,21	29,6
	2	14,4	16,3	13,5	22,5	24,0	6,6	0,15	0,21	37,9
	3	14,3	16,4	14,8	21,9	23,6	7,6	0,15	0,21	37,4
3	1	14,1	16,7	18,1	18,5	20,8	12,3	0,12	0,18	47,7
	2	13,6	16,4	20,2	17,9	20,7	15,1	0,11	0,18	55,5
	3	13,5	16,3	20,6	17,8	20,3	14,2	0,11	0,17	54,0
Média		14,0	16,3	16,6	20,9	22,9	9,8	0,14	0,20	43,3

Ganho (%) na seleção = 100 - (média seleção 40 árvores*100 / média parcela 100 árvores).

Voltando no plantio seminal no qual foram selecionados os clones que compõem a população clonal inicial, o qual apresentou Incremento Médio Anual com casca aos 7 anos de idade (IMA7) de 55 (m³/ha/ano). Na seleção dos clones na população seminal a estimativa de ganho em volume para intensidade de seleção de 1:20 foi de 12,2%. A população clonal inicial apresenta IMA7 médio de 66,4 (m³/ha/ano), mostrando ganho de 20,7% em volume em relação população seminal (Tabela 5).

Os resultados mostram que a seleção de 40% dos melhores indivíduos apresenta ganhos em Incremento Médio Anual aos 7 anos (IMA7) de 16,9, 14,1 e 23,2% para os Locais 1, 2 e 3, respectivamente. Na média geral o ganho foi de 18,0%. Além do ganho em produtividade espera-se ter aumento no valor da densidade básica da madeira (obter 430-450 kg/m³), uma vez que os clones também foram selecionados para densidade básica da madeira.

Tabela 5: Estimativas de Incremento Médio Anual com casca aos 7 anos de idade (m³/ha/ano) por parcela e locais 1, 2 e 3 avaliados e percentual de ganho na seleção dentro da população clonal inicial.

Local	Parcela	IMA7 parcela - 100 árvores	IMA7 - seleção 40%	Ganho em IMA7	Ganho (%)
1	1	65,1	73,4	8,3	12,7
	2	63,8	76,4	12,5	19,6
	3	69,2	81,8	12,6	18,2
	Média	66,0	77,2	11,1	16,9
2	1	76,0	87,0	11,0	14,4
	2	78,0	88,3	10,3	13,2
	3	74,8	85,7	10,9	14,6
	Média	76,3	87,0	10,7	14,1
3	1	54,1	71,4	17,3	32,0
	2	58,7	69,2	10,5	17,8
	3	57,7	69,1	11,4	19,7
	Média	56,9	69,9	13,0	23,2
Média geral		66,4	78,0	11,6	18,0

Novas populações clonais selecionadas podem ser formadas a partir das árvores selecionadas em cada local ou somente uma população clonal pode ser formada para os três locais. O estudo da interação genótipo x ambiente deve direcionar a formação das novas populações clonais. As árvores selecionadas devem ser cortadas e propagadas vegetativamente e novo minijardim clonal deve ser formado. Porém, antes do corte das árvores selecionada, podemos analisar o perfil genético das árvores selecionadas por meio de marcadores moleculares microssatélites com o objetivo de avaliar a variabilidade genética dentro da população clonal selecionada quando submetida a diferentes condições ambientais em diferentes níveis de seleção.

O Quadro 2 mostra a linha do tempo para obtenção de materiais genéticos pelo método tradicional, passando por testes clonais até obter clones para o plantio monoclonal, em comparação com o método proposto de seleção dentro da população clonal. De modo geral, observamos que podemos obter um material genético produtivo no 3º ano após a seleção de clones no plantio seminal pelo novo método e no 9º já podemos iniciar o plantio operacional da população clonal melhorada. Já no método tradicional a seleção pode levar de 15 a 17 anos (Figura 10).

Quadro 2: Comparação entre os métodos tradicional e seleção em populações clonais.

Método / ano	1º ano - Plantio seminal aos 6-7 anos de idade	2º ano	3º ano	6º ano	7º ano
Método tradicional para obtenção de clones	Seleção de matrizes e coleta de brotação	Obtenção de mudas para testes clonais. Instalação de testes clonais	Testes clonais em andamento	Seleção testes clonais - 4 anos	Resgate dos clones selecionados
Método seleção em populações clonais	Seleção de matrizes e coleta de brotação	Obtenção de mudas para formação do minijardim clonal. Formação do minijardim clonal	Início do plantio operacional da população clonal inicial	Seleção dentro da população clonal inicial - 4 anos	Resgate dos clones selecionados
Método / ano	8º ano	9º ano	14-15º ano	15-16º ano	17º ano
Método tradicional para obtenção de clones	Produção de mudas e instalação de testes clonais ampliados	Testes clonais em andamento	Obtenção de clones para recomendação de plantio semioperacional ou operacional. Resgate dos clones no campo	Formação do minijardim clonal	Início do plantio operacional monoclonal - semioperacional ou operacional
Método seleção em populações clonais	Produção de mudas e formação do jardim clonal com a população clonal melhorada	Início do plantio operacional da população clonal melhorada	Plantio operacional da população clonal melhorada	Plantio operacional da população clonal melhorada	Plantio operacional da população clonal melhorada

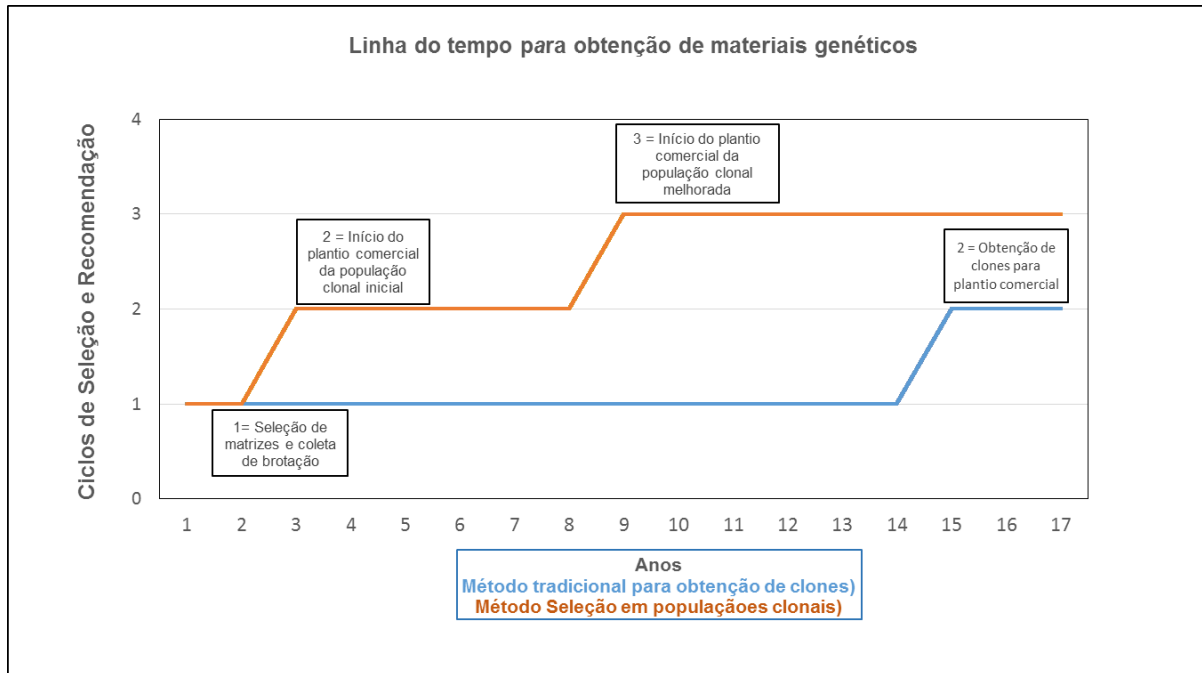


Figura 10: Comparação entre o Método tradicional para obtenção de clones e o Método seleção em populações clonais.

A proposta de seleção e melhoramento em populações clonais de *E. grandis* apresentada mostrou-se altamente promissora, diminuindo o tempo para obter materiais genéticos para plantio operacional, como também, obter materiais genéticos mais produtivos por meio da seleção dentro da população clonal inicial. Griffin (2014) aborda sobre as vantagens e desvantagens dos plantios clonais e seminais de eucalipto, citando como sendo uma opção intermediária a propagação vegetativa de progênies superiores originadas de cruzamentos controlados.

5.2. Caracterização do perfil genético dos clones

A detecção dos clones na população clonal inicial no campo nas árvores selecionadas por meio dos marcadores moleculares microssatélites é apresentada na Tabela 6. Por meio da comparação dos perfis genéticos das 360 árvores selecionadas com os clones que compõem o material genético da população clonal inicial observou-se que sete clones são repetidos, reduzindo a população clonal inicial em 48 clones genotipados. A repetição dos clones deve ter ocorrido na coleta de brotação, considerando que ao entrar no viveiro pesquisa os clones são nomeados e seguem com a mesma até a formação de mudas. Observa-se que as árvores selecionadas são do cruzamento controlado biparental.

Na seleção foram detectados 30 clones dos 48 clones confirmados. Dezoito clones não foram detectados na seleção. Embora dois clones que compõem a população inicial não tenham sido genotipados, os mesmos não foram detectados dentro das árvores selecionadas. Portanto, verificamos que dos 57 clones que compõem a população inicial, 30 clones foram detectados nos 40% das árvores selecionadas, 20 clones não foram detectados e sete clones são repetidos.

A análise dos clones genitores ajudou a organizar os clones presentes na população clonal inicial e na detecção dos clones presentes nas árvores selecionadas.

Tabela 6: Material genético da população clonal inicial e clones detectados no campo por meio da análise do perfil genético.

Descrição	Número de clones
Clones originais que compõem o material genético - genotipados	55
Clones originais repetidos	7
Clones confirmados	48
Clones não detectados no campo	18
Clones detectados no campo	30

5.2.1. Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas por parcela / Local

A Tabela 7 mostra o número de clones presentes por parcela / local nas árvores selecionadas. Já nas Tabelas de 8 a 10 são apresentados os clones presentes e o seu percentual de participação por parcela nos locais 1, 2 e 3, respectivamente. Os clones são numerados de 361 a 415.

Tabela 7: Clones na seleção por parcela e total de clones presentes por locais 1, 2 e 3.

Locais	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Clones /Local
1	19	19	15	26
2	12	14	18	23
3	12	16	13	21

Os 30 clones detectados no campo dividiram-se nas parcelas e nos locais, sendo que em nenhuma parcela e local observou-se todos os clones. Nas Tabelas de 8 a 10 temos o percentual de participação destes clones por parcela e local. Observa-se que o maior percentual de participação foi de 25% (parcela 2 – local 2 – clone 365; parcela 3 – local 3 – clone 365). Os percentuais de participação variam entre as parcelas dentro do mesmo local mostrando vários clones com a participação mínima, ou seja, um indivíduo somente na parcela. De modo geral, estes resultados mostram que podemos formar um novo material genético com ganho em produtividade e com variabilidade genética.

Considerando como percentual de participação alto acima de 10%, médio de 5 a 10%, e baixo menor que 5% verificamos que a maioria dos clones participa de forma aleatória nas parcelas e locais. No local 1 (Tabela 8) o clone 385 tem alto percentual de participação nas três parcelas. Já clone 374 tem alto percentual em somente duas parcelas e baixa participação em uma parcela. E o clone 382 tem percentual de participação médio e baixa em somente duas parcelas e não ocorre em uma parcela.

Tabela 8: Participação dos clones da seleção por parcela no local 1.

Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação
1	374	9	22,50	2	385	5	12,50	3	385	7	17,50
	385	6	15,00		413	4	10,00		365	6	15,00
	369	4	10,00		365	4	10,00		374	6	15,00
	361	2	5,00		370	3	7,50		381	4	10,00
	364	2	5,00		369	3	7,50		413	3	7,50
	365	2	5,00		368	3	7,50		363	2	5,00
	370	2	5,00		364	3	7,50		368	2	5,00
	382	2	5,00		388	2	5,00		370	2	5,00
	362	1	2,50		381	2	5,00		398	2	5,00
	367	1	2,50		366	2	5,00		369	1	2,50
	368	1	2,50		361	1	2,50		371	1	2,50
	371	1	2,50		415	1	2,50		375	1	2,50
	375	1	2,50		410	1	2,50		379	1	2,50
	376	1	2,50		382	1	2,50		387	1	2,50
	381	1	2,50		376	1	2,50		388	1	2,50
	395	1	2,50		375	1	2,50				
	402	1	2,50		374	1	2,50				
	410	1	2,50		371	1	2,50				
	415	1	2,50		367	1	2,50				
Total	19	40	100,00		19	40	100,00		15	40	100,00

Ramet – indivíduo membro de um clone oriundo de um Ortet por propagação vegetativa; Ortet – planta que deu origem a um clone.

No local 2 (Tabela 9) o clone 374 tem alto percentual de participação nas três parcelas. Já o clone 385 têm alto percentual em somente duas parcelas e baixa participação em uma parcela. E o clone 363 tem percentual de participação médio somente em uma parcela, não ocorrendo nas demais parcelas.

Tabela 9: Participação dos clones por parcela na seleção no local 2.

Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação
1	365	8	20,00	2	365	10	25,00	3	374	6	15,00
	385	7	17,50		374	7	17,50		385	5	12,50
	388	6	15,00		413	6	15,00		370	4	10,00
	374	6	15,00		369	3	7,50		365	3	7,50
	363	3	7,50		388	2	5,00		369	3	7,50
	370	3	7,50		387	2	5,00		381	3	7,50
	364	2	5,00		376	2	5,00		364	2	5,00
	413	1	2,50		361	2	5,00		387	2	5,00
	395	1	2,50		398	1	2,50		388	2	5,00
	387	1	2,50		395	1	2,50		413	2	5,00
	381	1	2,50		385	1	2,50		362	1	2,50
	369	1	2,50		371	1	2,50		367	1	2,50
					368	1	2,50		368	1	2,50
					364	1	2,50		371	1	2,50
									379	1	2,50
									393	1	2,50
									397	1	2,50
									410	1	2,50
Total	12	40	100,00	14	40	100,00		18	40	100,00	

No local 3 (Tabela 10) o clone 365 tem alto percentual de participação nas três parcelas. Já o clone 381 têm alto percentual em somente em uma parcela, ocorrendo em médio e baixo percentual em duas parcelas. E o clone 361 que ocorre em somente duas parcelas, alto e baixo percentual.

Tabela 10: Participação dos clones por parcela na seleção no local 3.

Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação	Parcela	Clone	Ramets	% Participação
1	365	9	22,50	2	365	6	15,00	3	365	10	25,00
	381	7	17,50		413	5	12,50		369	5	12,50
	369	6	15,00		374	4	10,00		370	4	10,00
	361	4	10,00		369	3	7,50		374	4	10,00
	413	4	10,00		370	3	7,50		385	3	7,50
	368	2	5,00		371	3	7,50		388	3	7,50
	374	2	5,00		385	3	7,50		363	2	5,00
	385	2	5,00		410	3	7,50		381	2	5,00
	370	1	2,50		395	2	5,00		387	2	5,00
	382	1	2,50		402	2	5,00		402	2	5,00
	387	1	2,50		361	1	2,50		386	1	2,50
	388	1	2,50		363	1	2,50		410	1	2,50
					376	1	2,50		413	1	2,50
					381	1	2,50				
					391	1	2,50				
					398	1	2,50				
Total	12	40	100,00	16	40	100,00		13	40	100,00	

5.2.2. Clones presentes nos 40% das árvores selecionados por local

Na Tabela 11 consta os clones presentes e o seu percentual de participação por local. Os clones são numerados de 361 a 415.

Tabela 11: Participação dos clones por locais 1, 2 e 3.

Local	Clone	Ramets	% Participação	Local	Clone	Ramets	% Participação	Local	Clone	Ramets	% Participação
1	385	18	15,00	2	365	21	17,50	3	365	25	20,83
	374	16	13,33		374	19	15,83		369	14	11,67
	365	12	10,00		385	13	10,83		374	10	8,33
	369	8	6,67		388	10	8,33		381	10	8,33
	370	7	5,83		413	9	7,50		413	10	8,33
	381	7	5,83		369	7	5,83		370	8	6,67
	413	7	5,83		370	7	5,83		385	8	6,67
	368	6	5,00		364	5	4,17		361	5	4,17
	364	5	4,17		387	5	4,17		388	4	3,33
	361	3	2,50		381	4	3,33		402	4	3,33
	371	3	2,50		363	3	2,50		410	4	3,33
	375	3	2,50		361	2	1,67		363	3	2,50
	382	3	2,50		368	2	1,67		371	3	2,50
	388	3	2,50		371	2	1,67		387	3	2,50
	363	2	1,67		376	2	1,67		368	2	1,67
	366	2	1,67		395	2	1,67		395	2	1,67
	367	2	1,67		362	1	0,83		376	1	0,83
	376	2	1,67		367	1	0,83		382	1	0,83
	398	2	1,67		379	1	0,83		386	1	0,83
	410	2	1,67		393	1	0,83		391	1	0,83
	415	2	1,67		397	1	0,83		398	1	0,83
	362	1	0,83		398	1	0,83				
	379	1	0,83		410	1	0,83				
	387	1	0,83								
	395	1	0,83								
	402	1	0,83								
Total	26	120	100,00		23	120	100,00		21	120	100,00

Comparando os locais temos 17 clones que ocorrem nos três locais: 361, 363, 365, 368, 369, 370, 371, 374, 376, 381, 385, 387, 388, 395, 398, 410, 413; 6 clones que ocorrem em dois locais: 362 (locais 1 e 2), 364 (locais 1 e 2), 367 (locais 1 e 2), 379 (locais 1 e 2), 382 (locais 1 e 3), 402 (locais 1 e 3); e 7 clones que ocorrem em somente um local: 366, 375 e 415 (local 1), 386 e 391 (local 3), 393 e 397 (local 2).

Os clones 365, 385, 374, 369, 370 e 413 ocorrem nos três locais e com percentual de participação acima de 5%, indicando que estes clones devem apresentar estabilidade silvicultural (maior ocorrência dentro e entre locais). Incluindo também os 11 clones restantes que ocorrem em percentual menor e variável entre os ambientes, pode-se formar um novo

material genético composto de 17 clones, a ser recomendado para locais com condições ambientais semelhantes ao estudo.

5.2.3. Clones presentes nos 40% das árvores selecionadas no geral

Na Tabela 12 consta os clones presentes e o seu percentual de participação no geral. Os clones são numerados de 361 a 415.

Tabela 12: Participação dos clones no geral.

Clone	Ramets	% Participação
365	58	16,11
374	45	12,50
385	39	10,83
369	29	8,06
413	26	7,22
370	22	6,11
381	21	5,83
388	17	4,72
368	10	2,78
364	10	2,78
361	10	2,78
387	9	2,50
371	8	2,22
363	8	2,22
410	7	1,94
402	5	1,39
395	5	1,39
376	5	1,39
398	4	1,11
382	4	1,11
375	3	0,83
367	3	0,83
415	2	0,56
379	2	0,56
366	2	0,56
362	2	0,56
397	1	0,28
393	1	0,28
391	1	0,28
386	1	0,28
Total	30	100,00

Considerando os três locais temos que o percentual dos 30 clones presentes na seleção variou de 16,11 a 0,28%. Os clones 365, 374 e 385 apresentam os maiores percentuais de participação.

5.3. Correlação linear entre o percentual de participação dos clones nos 40% de seleção e dados silviculturais por local

Observando o percentual de participação dos clones por local (Tabela 11) temos que a variação foi de 0,83 a 20,83%. Para verificar se os clones com maior participação são os mais produtivos foi estimada a correlação linear entre os dados silviculturais (DAP, altura e volume árvore) e o percentual de presença por local (Tabela 13).

Tabela 13: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre percentual de participação dos clones e dados silviculturais por locais 1, 2 e 3.

Local	DAP	Altura	Volume árvore
1	0,41*	0,17 ^{ns}	0,38 ^{ns}
2	0,42*	0,52*	0,42*
3	0,43*	0,36 ^{ns}	0,43*

* = significativo a 5% de probabilidade.
ns = não significativo (5%).

Observa-se que os coeficientes de correlação variam de baixos a médios e com significância estatística ao nível de 5%. Os clones que participam em maior porcentual há uma tendência de apresentarem maiores valores de DAP e serem mais produtivos. Isto mostra que a população clonal inicial foi formada por clones (irmãos completos) selecionados em uma progênie de bom comportamento silvicultural, proporcionando a seleção de bons clones. Assim, na seleção dentro da população clonal inicial foi possível selecionar muitos clones de comportamento silvicultural semelhante.

5.4. Interação clones x local

A interação clones comuns presentes nos 40% de seleção e locais foi estudada por meio da correlação linear de Spearman entre: a) percentual de participação dos clones entre os locais; b) caracteres silviculturais entre os locais.

Os coeficientes de correlação obtidos (Tabela 14) podem ser considerados de médio a alto mostrando que existe a tendência de que os clones que participam em maior percentual num local, também, participam no outro local (considerando a comparação dois a dois locais). Estes resultados confirmam as observações feitas no item 5.2.2.

Tabela 14: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre percentual de participação dos clones comuns x local.

Local x Local	Número de clones comuns	Coeficiente de correlação para Percentual de participação dos clones
1 x 2	21	0,77**
1 x 3	19	0,73**
2 x 3	17	0,77**

** = significativo a 1% de probabilidade.

Na Tabela 15 consta os coeficientes de correlação linear entre locais para os caracteres silviculturais. No geral, os coeficientes de correlação obtidos podem ser considerados médios e alguns apresentam significância estatística. Observa-se que há uma tendência dos melhores clones (maiores valores para os caracteres silviculturais) num local, também, serem os melhores no outro local (considerando a comparação dois a dois locais). Alguns clones ocorrem somente em um local, mas sempre em menor percentual de participação.

Tabela 15: Coeficiente de correlação linear de Spearman entre locais para os caracteres silviculturais.

Local x Local	DAP	Altura	Volume árvore
1 x 2	0,54*	0,26 ^{ns}	0,49*
1 x 3	0,46*	0,66**	0,60**
2 x 3	0,75**	0,33 ^{ns}	0,57*

** = significativo a 1% de probabilidade.

* = significativo a 5% de probabilidade.

ns = não significativo (5%).

Para complementar estes resultados, as Tabelas de 16 a 18 mostram o ordenamento dos clones local 1 x local 2, local 1 x local 3, local 2 x local 3 para a característica DAP.

Tabela 16: Comparação do ordenamento dos clones local 1 x local 2.

Clone	Ramets	% participação	DAP	"Ranque" Local 1	Clone	Ramets	% participação	DAP	"Ranque" Local 2
379	1	0,83	19,3	1	379	1	0,83	17,1	3
374	16	13,33	17,0	2	374	19	15,83	16,8	5
410	2	1,67	16,9	3	410	1	0,83	17,7	1
388	3	2,50	16,4	4	388	10	8,33	16,8	6
365	12	10,00	16,4	5	365	21	17,50	16,0	13
385	18	15,00	16,3	6	385	13	10,83	15,9	16
371	3	2,50	16,2	7	371	2	1,67	16,2	9
369	8	6,67	16,2	8	369	7	5,83	15,8	18
413	7	5,83	16,2	9	413	9	7,50	17,5	2
375	3	2,50	16,1	10					
398	2	1,67	16,1	11	398	1	0,83	14,9	23
381	7	5,83	16,1	12	381	4	3,33	16,8	4
363	2	1,67	16,0	13	363	3	2,50	16,1	10
364	5	4,17	15,9	14	364	5	4,17	16,0	14
387	1	0,83	15,8	15	387	5	4,17	16,4	7
376	2	1,67	15,7	16	376	2	1,67	15,9	15
370	7	5,83	15,5	17	370	7	5,83	16,3	8
402	1	0,83	15,4	18					
368	6	5,00	15,3	19	368	2	1,67	16,1	11
361	3	2,50	15,3	20	361	2	1,67	15,3	22
362	1	0,83	15,3	21	362	1	0,83	15,4	20
395	1	0,83	15,2	22	395	2	1,67	16,0	12
382	3	2,50	15,2	23					
415	2	1,67	15,0	24					
366	2	1,67	14,7	25					
367	2	1,67	14,5	26	367	1	0,83	15,7	19
					393	1	0,83	15,3	21
					397	1	0,83	15,9	17

Tabela 17: Comparação do ordenamento dos clones local 1 x local 3.

Clone	Ramets	% participação	DAP	“Ranque” Local 1	Clone	Ramets	% participação	DAP	“Ranque” Local 3
379	1	0,83	19,3	1					
374	16	13,33	17,0	2	374	10	8,33	17,4	3
410	2	1,67	16,9	3	410	4	3,33	17,0	4
388	3	2,50	16,4	4	388	4	3,33	16,7	7
365	12	10,00	16,4	5	365	25	20,83	16,2	12
385	18	15,00	16,3	6	385	8	6,67	15,6	15
371	3	2,50	16,2	7	371	3	2,50	16,4	11
369	8	6,67	16,2	8	369	14	11,67	15,9	14
413	7	5,83	16,2	9	413	10	8,33	18,8	1
375	3	2,50	16,1	10					
398	2	1,67	16,1	11	398	1	0,83	16,6	8
381	7	5,83	16,1	12	381	10	8,33	16,8	6
363	2	1,67	16,0	13	363	3	2,50	16,8	5
364	5	4,17	15,9	14					
387	1	0,83	15,8	15	387	3	2,50	17,5	2
376	2	1,67	15,7	16	376	1	0,83	14,9	20
370	7	5,83	15,5	17	370	8	6,67	16,5	9
402	1	0,83	15,4	18	402	4	3,33	16,1	13
368	6	5,00	15,3	19	368	2	1,67	15,1	17
361	3	2,50	15,3	20	361	5	4,17	15,3	16
362	1	0,83	15,3	21					
395	1	0,83	15,2	22	395	2	1,67	15,0	19
382	3	2,50	15,2	23	382	1	0,83	16,4	10
415	2	1,67	15,0	24					
366	2	1,67	14,7	25					
367	2	1,67	14,5	26					
					386	1	0,83	14,8	21
					391	1	0,83	15,0	18

Tabela 18: Comparação do ordenamento dos clones local 2 x local 3.

Clone	Ramets	% participação	DAP	“Ranque” Local 2	Clone	Ramets	% participação	DAP	“Ranque” Local 3
410	1	0,83	17,7	1	410	4	3,33	17,0	4
413	9	7,50	17,5	2	413	10	8,33	18,8	1
379	1	0,83	17,1	3					
381	4	3,33	16,8	4	381	10	8,33	16,8	6
374	19	15,83	16,8	5	374	10	8,33	17,4	3
388	10	8,33	16,8	6	388	4	3,33	16,7	7
387	5	4,17	16,4	7	387	3	2,50	17,5	2
370	7	5,83	16,3	8	370	8	6,67	16,5	9
371	2	1,67	16,2	9	371	3	2,50	16,4	11
363	3	2,50	16,1	10	363	3	2,50	16,8	5
368	2	1,67	16,1	11	368	2	1,67	15,1	17
395	2	1,67	16,0	12	395	2	1,67	15,0	19
365	21	17,50	16,0	13	365	25	20,83	16,2	12
364	5	4,17	16,0	14					
376	2	1,67	15,9	15	376	1	0,83	14,9	20
385	13	10,83	15,9	16	385	8	6,67	15,6	15
397	1	0,83	15,9	17					
369	7	5,83	15,8	18	369	14	11,67	15,9	14
367	1	0,83	15,7	19					
362	1	0,83	15,4	20					
393	1	0,83	15,3	21					
361	2	1,67	15,3	22	361	5	4,17	15,3	16
398	1	0,83	14,9	23	398	1	0,83	16,6	8
					382	1	0,83	16,4	10
					386	1	0,83	14,8	21
					391	1	0,83	15,0	18
					402	4	3,33	16,1	13

5.5. Variabilidade genética em diferentes níveis de seleção dentro da população clonal inicial

A avaliação numérica em diferentes níveis de seleção na população clonal inicial para o caractere DAP foi realizada visando verificar como ocorre a variação no número de clones (Tabela 19). Com uma seleção de 10% temos no mínimo 10 clones presentes. Como é esperado com a diminuição no nível de seleção temos um aumento no número de clones. Estes dados são interessantes no sentido de obter um material genético produtivo e com variabilidade genética, tão importante para garantir tolerância a pragas e doenças de extensos plantios comerciais de mesmo material genético, atender mudanças ambientais, como também, as certificações na formação de plantios em mosaicos (diversidade dos plantios florestais).

Estes resultados também reforçam a importância do material genético em estudo, genitores selecionados que formam uma progênie com boa produtividade e uniformidade de plantio.

Tabela 19: Número de clones na seleção por local para diferentes níveis de seleção.

Locais	Seleção 10%	Seleção 20%	Seleção 30%	Seleção 40%
1	13	19	24	26
2	10	17	18	23
3	10	15	16	21

Podemos obter estimativas de ganho em produtividade IMA7 nos diferentes níveis de seleção para cada local dentro da população inicial (Tabela 20).

Tabela 20: Estimativas de Incremento Médio Anual (IMA7) com casca aos 7 anos de idade para os locais 1, 2 e 3 nos diferentes níveis de seleção na população clonal inicial.

Local	Seleção	IMA7 (m ³ /ha/ano) parcela -100 árvores	IMA7 (m ³ /ha/ano) - seleção	Ganho em IMA7 (m ³ /ha/ano)	Ganho (%)
1	10%	66,0	85,5	19,5	29,5
	20%	66,0	81,9	15,9	24,1
	30%	66,0	79,4	13,4	20,3
	40%	66,0	77,2	11,1	16,9
2	10%	76,3	95,1	18,8	24,6
	20%	76,3	91,4	15,1	19,8
	30%	76,3	89,0	12,7	16,6
	40%	76,3	87,0	10,7	14,1
3	10%	56,9	78,8	21,9	38,5
	20%	56,9	75,7	18,8	33,0
	30%	56,9	73,5	16,6	29,2
	40%	56,9	69,9	13,0	23,2

O melhorista deve trabalhar com estes resultados e indicar a melhor seleção para dar continuidade ao material genético. Buscando variabilidade genética e ganho, a seleção de 30 e 40% parecem ser mais indicadas, conservando um bom número de clones e proporcionando bons ganhos em produtividade.

Considerando a seleção do melhor clone dentro do nível de seleção dos 10% por local com base no valor médio de DAP, temos o clone 379 para local 1 e clone 413 para locais 2 e 3 (Tabelas 16 e 17). Pela Tabela 21 podemos comparar os valores de IMA7 obtidos nos diferentes níveis de seleção com o melhor clone por local. Ao selecionar o melhor clone temos ganho em relação ao nível de seleção de 10% de 10,5%, 2%, 4,6%, respectivamente, locais 1, 2 e 3. O maior valor de ganho para local 1 é devido ao clone 379 ser representado por somente uma árvore no nível de seleção de 10%. Já para os locais 2 e 3, o clone 413 está representado por seis e sete árvores, respectivamente.

Ressaltamos que o melhor clone não pode ser recomendado para plantio operacional monoclonal com estes resultados, pois temos que testar o seu comportamento no plantio monoclonal. Este clone deve seguir para a fase de testes clonais ampliados até a avaliação final para recomendação operacional. Assim, a população clonal inicial também pode ser considerada como teste clonal inicial. Os clones selecionados devem seguir o método de seleção clonal tradicional.

Tabela 21: Comparação de estimativas de Incremento Médio Anual (IMA7) com casca aos 7 anos de idade para os locais 1, 2 e 3, nos diferentes níveis de seleção na população clonal inicial com a seleção do melhor clone.

Local	Seleção	IMA7 (m ³ /ha/ano) - seleção
1	10%	85,5
	20%	81,9
	30%	79,4
	40%	77,2
	Melhor clone nos 10% de seleção- clone 379	94,5
2	10%	95,1
	20%	91,4
	30%	89,0
	40%	87,0
	Melhor clone nos 10% de seleção - clone 413	97,0
3	10%	78,8
	20%	75,7
	30%	73,5
	40%	69,9
	Melhor clone nos 10% de seleção - clone 413	82,4

5.6. Caracterização dos clones por meio de marcadores moleculares microssatélites – 15% inferiores

Com a caracterização do perfil genético dos 15% das árvores que apresentaram menores valores de DAP (cm), detectamos mais oito clones no campo (Tabela 22).

Tabela 22: Material genético da população clonal inicial e clones detectados no campo por meio da análise do perfil genético (seleção 40% e 15% inferiores).

Descrição	Número de clones
Clones originais que compõem o material genético - genotipados	55
Clones originais repetidos	7
Clones confirmados	48
Clones não detectados no campo	10
Clones detectados no campo – seleção 40%	30
Clones detectados no campo – 15% inferiores	8

Os clones presentes nos 15% inferiores são apresentados na Tabela 23. Observa-se temos 12 clones diferentes que se distribuem nos três locais aleatoriamente, ocorrendo cinco, dez e seis clones para os locais 1, 2 e 3, respectivamente. No local 1, uma árvore não foi identificada com um clone pertencente a população clonal inicial (planta que não pertence ao material genético em estudo).

Tabela 23: Clones presentes nos 15% das árvores inferiores em comparação com os clones presentes na seleção 40% para os locais 1, 2 e 3.

Local	Clone	Ramets	Presente na seleção 40%	Local	Clone	Ramets	Presente na seleção 40%	Local	Clone	Ramets	Presente na seleção 40%
1				2	362	1	não	3			
					363	1	sim				
	368	3	sim		368	1	sim		372	1	não
	372	3	não								
					374	1	sim				
	377	1	não		377	1	não				
					378	1	não				
					386	2	sim		386	1	sim
					390	1	não		390	3	não
	392	6	não		392	4	não		392	8	não
					393	2	não		393	1	não
	401	1	não						401	1	não
Total	5	14			10	15			6	15	

Para os locais 1 e 3 observa-se que os clones que estão presentes na seleção 40%, clone 368 para o local 1 e clone 386 para o local 3, não apresentam os maiores valores de DAP (cm) (Tabela 17, clone 368 / local 1 – 19º no ordenamento; clone 386 / local 3 – 21º no ordenamento). No local 2 temos maior número de clones presentes, como também, quatro clones que participam na seleção 40% (363, 368, 374, 386), sendo dois destes clones com bom ordenamento nos valores de DAP (cm) (Tabela 18, clone 363 / local 2 – 5º no ordenamento; clone 368 / local 2 – 17º no ordenamento; clone 374 / local 2 – 3º no ordenamento; clone 386 / local 2 – 21º no ordenamento). A presença de ramets dos clones 363 e 374 nos 15% inferiores pode estar relacionada a interferência silvicultural relacionada ao plantio destes ramets.

Os clones 362, 368, 372, 378, 386, 392, 393, 390, 401 e 377 são inferiores. De modo geral, observa-se que, os clones presentes na seleção 40% não estão presentes nos clones 15% inferiores. Isso evidencia a superioridade silvicultural dos clones selecionados.

Na Tabela 24 temos os dados médios de DAP (cm) da população inicial, seleção 40% e 15% inferiores. Observa-se que os clones inferiores apresentam comportamento silvicultural muito inferior à média geral para os 3 locais (DAP médio inferior em 16,8%, 25,5% e 27,7%, respectivamente, para os locais 1, 2 e 3), mostrando comportamento silvicultural inferior à média da população inicial e, conseqüentemente, em relação a seleção 40%.

Tabela 24: Valores médios de DAP (cm) na População inicial, Seleção 40% e nos 15% Inferiores.

Local	População	Média DAP (cm)	CV _e (%)
1	População inicial	13,7	19,9
1	Seleção 40%	16,1	7,1
1	15% Inferiores	11,4	19,6
2	População inicial	14,5	16,4
2	Seleção 40%	16,4	6,1
2	15% Inferiores	10,8	9,2
3	População inicial	13,7	21,7
3	Seleção 40%	16,5	7,4
3	15% Inferiores	9,9	18,0

CV_e (%): Coeficiente de variação experimental.

5.7. Estudo dos clones: coeficiente de coancestria entre os clones genitores, endogamia e heterozigosidade de todos os clones (genitores e clones que compõem a população clonal inicial) a partir dos marcadores moleculares microssatélites

A detecção de endogamia pode ser inferida pelo Índice de Fixação de Wright (F), sendo que: $F \leq 0$ temos ausência de endogamia; $F > 0$ temos presença de endogamia. Os clones genitores e todos os clones da população clonal inicial não apresentam endogamia, pois os valores de índice de fixação (F) são todos negativos (Tabela 25), indicando ausência de endogamia (medida da probabilidade de que dois alelos em um indivíduo são idênticos por descendência a um alelo de um antecessor recente (Sebbenn, 2006)).

Tabela 25: Valores de índice de Fixação (F) dos clones da população clonal inicial e dos genitores.

Clones	Índice de fixação (F)	Clones	Índice de fixação (F)
416 - genitor feminino	-0,252	386	-0,484
417 - genitor masculino	-0,252	387	-0,192
361	-0,437	388	-0,429
362	-0,539	389	-0,500
363	-0,354	391	-0,237
364	-0,153	392	-0,478
365	-0,233	393	-0,355
366	-0,542	394	-0,507
367	-0,173	395	-0,483
368	-0,423	397	-0,419
369	-0,483	398	-0,437
370	-0,409	400	-0,410
371	-0,429	401	-0,362
372	-0,427	402	-0,301
373	-0,346	404	-0,310
374	-0,456	405	-0,300
375	-0,439	407	-0,300
376	-0,400	408	-0,310
378	-0,293	409	-0,442
379	-0,271	410	-0,437
380	-0,437	411	-0,300
381	-0,372	412	-0,345
382	-0,424	413	-0,335
383	-0,401	414	-0,308
385	-0,416	415	-0,291

Determinação do coeficiente de coancestria entre os clones genitores: os dois clones genitores não são parentes entre si, pois o coeficiente de coancestria entre eles é negativo (-0,339). O coeficiente de coancestria é a probabilidade de dois alelos homólogos presentes em dois indivíduos serem idênticos por descendência a um alelo presente em um antecessor

recente (Sebbenn, 2006). Os clones são de procedência distintas, sendo o genitor feminino procedente de Rio Claro / SP (ex - Coff's Harbour) e o genitor masculino de Coff's Harbour/ NSW/ Austrália. Segundo Ferreira (1996), o plantio de introdução do *E. grandis* (procedência Rio Claro/SP) localizado no Horto de Rio Claro/SP é originário de Coff's Harbour (Austrália), com sementes colhidas de uma só árvore, considerada um monumento na região, pois se trata da maior árvore da espécie em sua zona de ocorrência natural. Segundo Resende e Higa (1990) a capitalização da heterose nos híbridos intraespecíficos ocorre por meio da exploração da divergência genética existente entre procedências e da utilização de indivíduos com alta frequência de alelos favoráveis como genitores.

Por cruzamento só pode ocorrer endogamia nos filhos se os pais são parentes. A ausência de endogamia nos clones da população clonal inicial é explicada pela ausência de parentesco entre os clones genitores.

Heterozigosidade observada de todos os clones: os clones genitores apresentaram valores iguais de heterozigosidade, 0,79. Os valores de Heterozigosidade observada dos 48 clones variaram de 0,64 a 1,0 (Tabela 26). Hedrick et al. (2015) estimaram a heterozigosidade em 28 progênies autofecundadas de *E. grandis*, obtendo valores de 0,52 a 0,79 com média de 0,655.

Tabela 26: Valores de Heterozigosidade observada (Ho) dos clones da população clonal inicial e dos genitores.

Clones genitores	Ho	Clones detectados na seleção 40%	Ho	Clone não detectados na seleção	Ho
416 - feminino	0,79	361	0,86	372	1,00
417- masculino	0,79	362	1,00	373	0,86
		363	0,79	378	0,71
		364	0,71	380	0,93
		365	0,71	383	0,86
		366	1,00	389	0,93
		367	0,64	392	0,93
		368	0,93	394	0,93
		369	0,93	400	0,86
		370	0,86	401	0,93
		371	0,93	404	0,86
		374	0,93	405	0,86
		375	0,93	407	0,86
		376	0,86	408	0,86
		379	0,86	409	0,93
		381	0,86	411	0,86
		382	0,93	412	0,86
		385	0,86	414	0,79
		386	0,93		
		387	0,71		
		388	0,93		
		391	0,79		
		393	0,86		
		395	0,93		
		397	0,93		
		398	0,93		
		402	0,86		
		410	0,93		
		413	0,86		
		415	0,86		

Estes dados mostram que no cruzamento controlado de dois genitores altamente heterozigotos, deve ter gerado uma progênie com alta heterozigosidade, dado que os clones selecionados nesta progênie são altamente heterozigotos. Estes genitores com ausência de endogamia e com alta heterozigosidade produzem uma progênie intraespecífica de maior efeito heterótico, mostrando-se bem produtiva e com homogeneidade de plantio, permitindo a seleção de clones potencias. Os clones selecionados para produtividade também apresentam valores altos de heterozigosidade.

5.8. Comportamento dos clones que compõem o material genético em teste clonal delineado

A Tabela 27 apresenta o ordenamento dos clones para os dados médios de DAP (maior para o menor) nos 40% de seleção em comparação com o teste clonal delineado.

Tabela 27: Valores médios obtidos para DAP (cm) no teste clonal delineado aos 5 anos de idade e nos 40% de seleção aos 3,5 anos de idade.

Clone	DAP (cm) seleção 40%	Ordenamento	Clone	DAP (cm) teste clonal	Ordenamento
361	15,3	25	361	13,6	21
362	15,4	23	362	14,3	10
363	16,3	8	363	13,6	22
364	15,9	15	364	12,9	34
365	16,2	10	365	15,2	4
366	14,7	30	366	14,0	13
367	15,1	26	367	13,1	33
368	15,5	21	368	12,9	35
369	16,0	13	369	14,0	15
370	16,1	12	370	15,0	6
371	16,2	9	371	13,7	19
			372	12,2	43
			373	15,4	3
374	17,1	4	374	14,3	9
375	16,1	11			
376	15,5	20	376	13,8	18
			377	11,3	44
			378	13,9	16
379	18,2	1	379	13,6	20
			380	11,2	45
381	16,5	7	381	14,5	7
382	15,8	18			
385	15,9	14	385	14,4	8
386	14,8	29	386	13,9	17
387	16,6	6	387	13,1	31
388	16,6	5	388	13,2	28
			389	12,3	41
			390	12,2	42
391	15,0	27	391	13,1	32
			392	13,5	23
393	15,3	24	393	14,1	12
			394	12,3	40
395	15,4	22	395	12,8	36
			396	13,1	30
397	15,9	16	397	14,0	14
398	15,9	17	398	15,6	1
			400	12,8	37
			401	15,1	5
402	15,8	19	402	12,6	38
			403	13,1	29
			406	12,6	39
410	17,2	3	410	15,6	2
413	17,5	2	413	13,4	25
			414	13,3	26
415	15,0	28	415	14,1	11
			População*	13,4	24
			Testemunha**	13,3	27

*população clonal inicial; **testemunha operacional (clone).

Pelo ordenamento dos clones e considerando os 12 primeiros clones, somente cinco clones apresentam comportamentos similares (365, 370, 374, 381 e 410) na seleção dos 40% e no teste clonal. Observamos que os clones 361, 367, 368, 369, 376, 391, 395 e 397 apresentam ordenamento similar na população clonal inicial e no teste clonal. Os clones 368, 372, 377, 378, 386, 390 e 392 confirmam o comportamento silvicultural inferior pelo ordenamento obtido no teste clonal. Assim, a população clonal inicial também pode ser considerada como um teste clonal. Além da seleção dentro da população clonal para se obter novos materiais genéticos, tendo os perfis genéticos dos clones mais produtivos, estes podem ser conduzidos para testes clonais e seguir a seleção clonal para obtenção de materiais genéticos para plantio operacional monoclonal.

6. CONCLUSÕES

A proposta de seleção e melhoramento em populações clonais de *E. grandis* apresentada é promissora, diminuindo o tempo para obter materiais genéticos para plantio operacional, como também, obter materiais genéticos mais produtivos por meio da seleção dentro da população clonal inicial. Novas populações clonais selecionadas podem ser formadas a partir das árvores selecionadas em cada local ou somente uma população para os três locais. Os resultados mostram que a seleção de 40% dos melhores indivíduos apresenta ganhos em Incremento Médio Anual aos 7 anos (IMA7; m³/ha/ano) de 16,9%, 14,1% e 23,2% para os locais 1, 2 e 3, respectivamente. Na média geral o ganho em produtividade é de 18,0%;

A caracterização do perfil genético dos clones selecionados apresenta diferentes números de clones para cada nível de seleção, sendo que na seleção de 10% temos no mínimo 10 clones presentes num material genético produtivo e com variabilidade genética para plantio operacional;

De modo geral, os clones presentes na seleção 40% não estão presentes nos clones 15% inferiores, evidenciando a superioridade silvicultural dos clones selecionados. A população clonal inicial pode ser considerada como um teste clonal;

A seleção de populações clonais é mais eficiente que a seleção tradicional de clones por diminuir o tempo de obtenção de clones para o plantio operacional e por garantir a tolerância a pragas, doenças e ao enfrentamento às mudanças climáticas em função da diversidade clonal presente nesse novo método de seleção, evidenciada pelo marcador genético molecular microssatélites;

Por esse método o melhorista pode indicar o melhor nível de seleção dentro da população clonal inicial para dar continuidade na seleção. Buscando variabilidade genética e ganho em produtividade, a seleção de 30 e 40% são as mais indicadas, conservando um bom número de clones e proporcionando bons ganhos em produtividade;

O estudo dos genitores, obtidos no programa de melhoramento, e das suas progênies é importante neste método de obtenção de materiais genéticos em curto prazo para plantio operacional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF 2012: ano base 2011**. Brasília: 2012. 150 p.

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.

BORÉM, A.; DEL GIÚDICE, M.; SEDYIAMA, T. **Melhoramento Genômico**. Viçosa: UFV, 2003. 224p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 2009. 529p.

BRONDANI, R.P.V.; WILLIAMS, E.R.; BRONDANI, C.; GRATTAPAGLIA, D. A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus. **BMC Plant Biology**, v. 6, n.20, p.1-16. 2006.

COTTERILL, P.; DEAN, C.; CAMERON, J.; BRINDBERGS, M. Nucleus breeding: a new strategy for rapid improvement under clonal forestry. In: Gibson, G.I.; Griffin, A.R.; Matheson, A.C. (Eds.) **Breeding tropical trees: Population structure and genetic improvement strategies in clonal and seedling forestry**. Oxford: Oxford Forestry Institute. p.39-51. 1989.

DI CIERO, L.; AMARAL, W. Árvores geneticamente modificadas na silvicultura intensiva. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. n. 29, p. 92-8, nov/dez 2002.

DIAS, L.A. S.; BARROS, W.S. **Biometria Experimental**. Viçosa: UFV, 2009. 408p.

EMBRAPA. Eucagen: o Brasil e a Embrapa na liderança da rede internacional de sequenciamento do genoma do eucalipto. Brasília: Embrapa, 2007. https://www.embrapa.br/documents/1355163/1994598/fold07-09_Eucagen.pdf/80c798f4-fede-4c3b-a03d-7077143f1c67. Acesso em: 20 jun. 2016.

FAPESP Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Programa Genoma do Eucalipto. 30/04/2003. <http://www.fapesp.br/matéria.php>. Acesso em: 26 mar. 2006.

FAO. **Eucalyptus for Planting**. Rome, 1979. 398p.

FARIA, D.A.; MANANI, E.M.C.; PAPPAS, M.R.; PAPPAS, G.J; GRATTAPAGLIA, D. A Selected Set of EST-Derived Microsatellites, Polymorphic and Transferable across 6 Species of *Eucalyptus*. **Journal of Heredity**, v. 101, n.4, p. 512-520. 2010.

FARIA, D.A.; MANANI, E.M.C.; PAPPAS, G.J; GRATTAPAGLIA, D. Genotyping systems for *Eucalyptus* based on tetra-,penta-, and hexanucleotide repeat EST microsatellites and their use for individual fingerprinting and assignment tests. **Tree Genetics & Genomes**, n. 7, p. 63-77. 2011.

FERREIRA, M. Melhoramento e a silvicultura intensiva clonal. **IPEF**, n. 45, p. 22-30. 1992.

FERREIRA, M. Silvicultura clonal: seleção clonal e identificação de clones. In: **XI Reunião Técnica de Propagação Vegetativa e I Reunião Técnica de Silvicultura Clonal**. Piracicaba: IPEF. 1996.

FERREIRA, M. **Terminologia de melhoramento genético florestal**. Brasília: Embrapa. 88p. 1980.

- FERREIRA, M.; SANTOS, P.E.T. Melhoramento genético florestal dos *Eucalyptus* no Brasil – breve histórico e perspectivas. In: IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypt. **Anais**. Colombo: Embrapa/CNPQ. v.1. p.14-34. 1997.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen. 220p. (Documentos, 20).1998.
- FONSECA, S. M.; RESENDE, M.D.V.; ALFENAS, A.C.; GUIMARÃES, L.M. S.; ASSIS, T.F.; GRATTAPAGLIA, D. **Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto**. Viçosa, UFV, 2010, 200p.
- FUCHS, M.C.P. Caracterização gênica para uma anomalia de *Eucalyptus* em fase inicial de desenvolvimento. Botucatu, 2014. 85p. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- GONÇALVES, F.M.A.; REZENDE, G.D.S.P.; BERTOLUCCI, F. L.G.; RAMALHO, M.A.P. Progresso genético por meio da seleção de clones de eucalipto em plantios comerciais. **Revista Árvore**, v. 25, n.3, p. 295-301, 2001.
- GRIFFIN, A.R. Clones or improved seedlings of Eucalyptus? Not a simple choice. **International Forestry Review**, v. 16, n. 2, p. 216-224, 2014.
- GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M.A. Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: **Melhoramento de espécies cultivadas**. A. Borém (ed.) Viçosa: UFV, 1999. p. 715-740.
- HEDRICK, P.W.; HELLSTEN, U.; GRATTAPAGLIA, D. Examining the cause of high inbreeding depression: analysis of whole-genome sequence data in 28 selfed progeny of *Eucalyptus grandis*. **New Phytologist**. p.1-12. 2015.
- HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDI 1.1b: A program for spatial pattern analysis of genetic diversity. Version for Windows 95. 2002. <http://www.ulb.ac.be/sciences/ecoevol/software.html>. Acesso em: 16 jan. 2014
- HIGA, A.R.; RESENDE, M.D.V.; SOUZA, S.M. Programas de melhoramento genético de *Eucalyptus* no Brasil. In: Simpósio Internacional: O Desafio das Florestas Neotropicais. **Anais**. Curitiba: UFPR/IUFRO, p.86-100. 1991.
- IBÁ. Industria Brasileira de Árvores. <http://www.sif.org.br/noticia/relatorio-de-indicadores-e-desempenho-do-setor-de-arvores-plantadas>. 2014. 100p.
- IPEF. Seleção massal e individual. Piracicaba: **IPEF**. p.1-14, (Circular Técnica, 21). 1977.
- JUNGHANS, D. T. Quantificação da severidade, herança da resistência e identificação de marcadores RAPD ligados à resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus grandis*. Viçosa, 2000. 44p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.
- MARTINS, G.S. Desempenho de clones de Eucalipto em auto e alocompetição. Lavras. 2012. 65p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras.
- MARTINS-CORDER, M.P. Caracterização isoenzimática de híbridos de *Eucalyptus* spp. Botucatu, 1994. 113p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista.
- MCKEAND, E.; BEINEKE, F. Subliming for Half-sib breeding populations of forest trees. **Silvae Genetica**, v.20, n. 1, p. 14-17. 1980.

- MCKEAND, S.E.; BRIDGWATER, F.E. Third-generation breeding strategy for the North Carolina State University-Industry Cooperative Tree Improvement Program. In: CONFERENCE IUFRO ON BREEDING TROPICAL TREES, Cartagena, 1992. **Proceeding**. Raleigh: Camcore, 1992. p. 234-240.
- MENCK, A.L. M.; ODA, S.; LOBOSQUE Jr.; KAGEYAMA, P.Y. Teste clonal a partir de árvores selecionadas em teste de progênie de *Eucalyptus saligna* (Resultados preliminares). **IPEF**, n.40, p. 27-31. 1988.
- MORI, E.S. Variabilidade genética isoenzimática em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden submetida a diferentes intensidades de seleção. Piracicaba, 1993. 119p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MORI, E.S. Estratégias de programas de melhoramento florestal. In: **Reunião Técnica sobre Tópicos em Conservação e Melhoramento Genético de Espécies Florestais**. Piracicaba: IPEF. [CD-ROM]. 2005.
- MORI, E.S.; LELLO, L.R.B.; KAGEYAMA, P.Y. Efeitos da interação genótipo x ambiente em progênies de *Eucalyptus saligna* SMITH. **IPEF**, n.33, p.19-25, 1986.
- MYBURG, A.; GRATTAPAGLIA, D.; TUSKAN, G.A. et al. The genome of *Eucalyptus grandis*. **Nature**, v. 19, n. 510 (7505), p. 356-62. 2014.
- NAMKOONG, G.; BARNES, R.D. Estratégias para melhoramento florestal e cooperação internacional. **Silvicultura**, v. 8, n. 32, p. 721-723. 1983.
- ODA, S.; MELLO, E.J.; SILVA, J.F.; SOUZA, I.C.G. Melhoramento Florestal. In: Borém, A. **Biotecnologia Florestal**, Viçosa, p. 123-142, 2007.
- OLIVEIRA, E.J; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, Piracicaba, v. 29, n.2, p. 294-307, 2006.
- PIGATO, S.M.P.C. Variabilidade genética de quatro gerações de *Eucalyptus urophylla* S.T. BLAKE avaliada por meio do marcador molecular RAPD e caracterização botânica e silvicultural. Botucatu, 2000. 85p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P.; SOUZA, E.A.; GONÇALVES, F.N.A.; SOUZA, J.C. **Genética na Agropecuária**. Lavras, 2012. 566p.
- RESENDE, M.D.V.; HIGA, A.R. Estratégias de melhoramento para eucaliptos visando a seleção de híbridos. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 21, p. 49-60. 1990.
- SATO, A. S.; MORI, E.S. Detecção de endogamia em sementes de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **Revista do Instituto Florestal**, v. 8, n. 1, p. 131-134, 1996.
- SEBBENN, A.M. Sistemas de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamento ambientais. In: HIGA, A. R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**, Curitiba: FUPEF, 2006. p. 183-202.
- SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Melhoramento de plantas propagadas vegetativamente. In: 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. **CBPM**, 2003. Porto Seguro: SBMP. [CD-ROM]. 2003.

SILVA, R.L.; XAVIER, A.; LEITE, H.G.; PIRES, I.E. Determinação do tamanho ótimo da parcela experimental pelos métodos da máxima curvatura modificado, do coeficiente de correlação intraclasse e da análise visual em testes clonais de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 27, n. 5, p. 669-676. 2003.

TAMBARUSSI, E.V. Associação de marcador RAPD e desenvolvimento de marcador SCAR para um tipo de anomalia de viveiro em *Eucalyptus grandis* [trabalho de conclusão de curso]. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2006.

TORGGLER, M.G.F. Variação genética entre progênies dentro de procedências de *Eucalyptus saligna* Smith. Piracicaba, 1987. 198p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

WIKIPÉDIA. 2014. https://en.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_grandis#Description. Acesso em: 10 jan. 2016.

WRIGHT, J.W. **Introduction to Forest Genetics**. New York: Academic Express, 1976. 462p.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. da. **Silvicultura Clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, UFV, 2009. 272p.

ZOBEL, B.; TALBERT, J. **Applied Forest Tree Improvement**. New York, North Carolina State University, 1984, 550p.