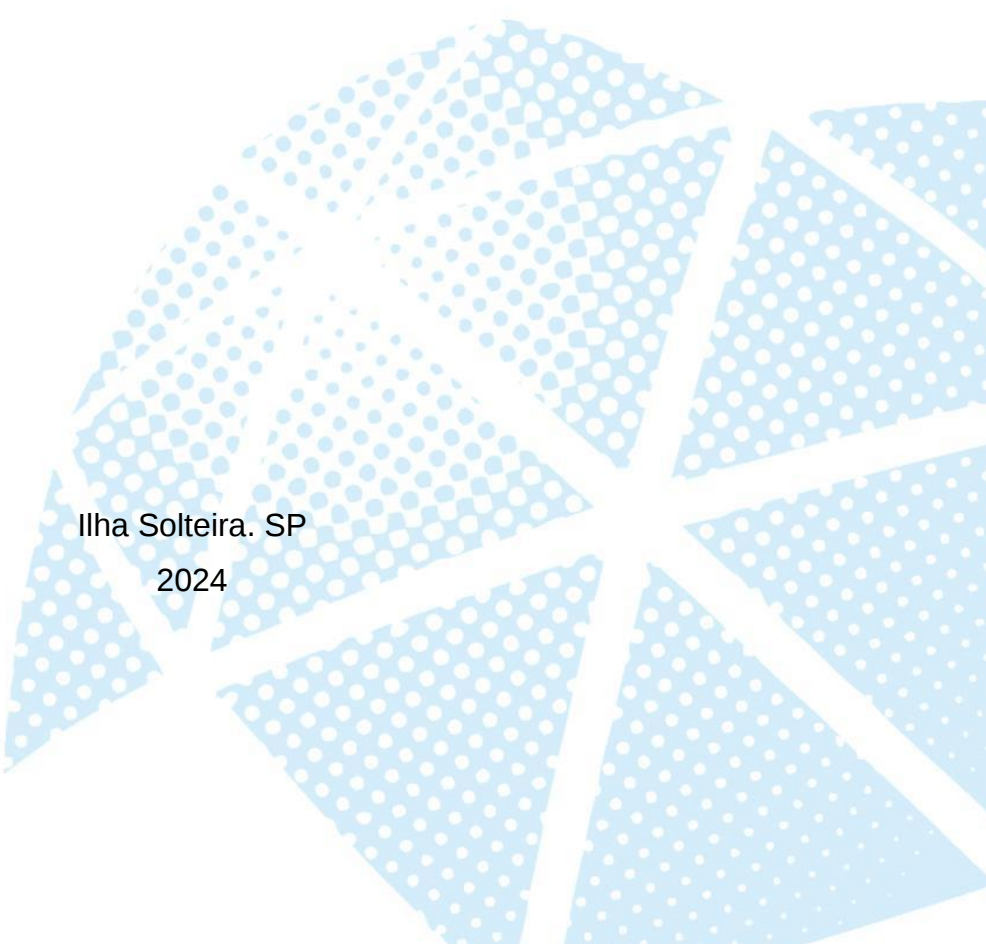


**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

RODOLFO MANOEL LEMES DA COSTA

**COMO OS TESTES DE PROGÊNIES CLONADAS IMPACTAM O
MELHORAMENTO DE *Eucalyptus* spp.?**

Ilha Solteira. SP
2024



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RODOLFO MANOEL LEMES DA COSTA

**COMO OS TESTES DE PROGÊNIES CLONADAS IMPACTAM O
MELHORAMENTO DE *Eucalyptus* spp.?**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Sistemas de Produção.

Orientador: Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes

Ilha Solteira - SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

C837c Costa, Rodolfo Manoel Lemes da.
Como os testes de progênies clonadas impactam o melhoramento de *Eucalyptus* spp.? / Rodolfo Manoel Lemes da Costa. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2024
68 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2024

Orientador: Mário Luiz Teixeira de Moraes
Inclui bibliografia

1. Teste de progênies clonadas. 2. Matrizes de parentesco. 3. Melhoramento florestal. 4. *Eucalyptus* spp. 5. Seleção genômica.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esse é o primeiro trabalho que se tem relato da implantação de teste de progênies clonadas em campo no melhoramento de *Eucalyptus* spp. Essa experimentação mais robusta tem potencial de acelerar o programa de melhoramento, reduzindo etapas de experimentação, e tornar a seleção mais assertiva por potencialmente aumentar as estimativas de acurácias e herdabilidades, com isso impactando positivamente o programa de melhoramento florestal que demanda muitos anos e investimentos para o avanço das gerações. Outro elemento importante e que vem sendo discutido na literatura é a utilização de informação de marcadores moleculares para corrigir os *pedigrees* dos materiais genéticos envolvidos nas recombinações, trazendo assim uma maior assertividade na elaboração da estrutura da população alvo de melhoramento, consequentemente gerando melhores estimativas de parâmetros genéticos, contribuindo também para a maior eficiência do melhoramento florestal.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This is the first reported study on the implementation of cloned progeny testing in field trials for *Eucalyptus* spp. breeding. This more robust experimentation has the potential to accelerate the breeding program reducing experimental steps and enhancing selection accuracy through potentially increasing estimates of accuracies and heritabilities. Consequently, this could positively impact the forestry breeding program, which traditionally requires many years and investments to advance generations. Another important element discussed in the literature is the use of molecular marker information to correct pedigrees of genetic materials involved in recombination. This approach aims to increase accuracy in structuring the target population for breeding, thereby improving estimates of genetic parameters and contributing to greater efficiency in forestry breeding.

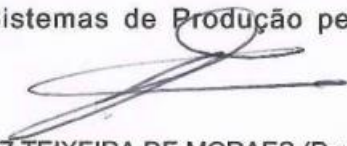
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Como os testes de progênies clonadas impactam o melhoramento de *Eucalyptus* spp.?

AUTOR: RODOLFO MANOEL LEMES DA COSTA

ORIENTADOR: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia, especialidade: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES (Participação Virtual)

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Socio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. BRUNO ETTORE PAVAN (Participação Virtual)

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA (Participação Virtual)

Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP

Pesquisadora Dra. IZABEL CHRISTINA GAVA DE SOUZA (Participação Virtual)

Pesquisa e Biotecnologia Florestal / Suzano Papel e Celulose

Pesquisador Dr. AURELIO MENDES AGUIAR (Participação Virtual)

Suzano S.A.

Ilha Solteira, 20 de agosto de 2024

DEDICO:

Aos meus pais José Luiz e Maria Ligia, à minha irmã Louise e minha esposa Cléa. Nos momentos que eu penso em desistir, tenho em vocês mais um pouco de energia para continuar tentando e seguindo em busca dos meus sonhos. Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida. Por sempre colocar no meu caminho pessoas maravilhosas, que me acolhem, me ensinam e me ajudam nessa jornada.

Aos meus pais José Luiz e Maria Ligia, pelo exemplo de humanidade, honestidade, valores e amor. Muito obrigado por terem me possibilitado sonhar e buscar as nossas conquistas por meio da educação.

À minha irmã Louise, você também é motivação para que eu busque melhores oportunidades.

À Clea, difícil traduzir o quanto você é importante e como você mudou a minha vida, você me motiva a tentar evoluir todos os dias. Eu te amo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, por todos os ensinamentos, a paciência, atenção e contribuição na minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Edson Seizo Mori, que me ensinou, ajudou e incentivou no início da minha caminhada no melhoramento florestal.

Ao Teotônio Assis, um grande mestre que tenho muito orgulho de chamar de amigo, você impacta minha vida de uma maneira muito positiva, obrigado por todas as oportunidade e ensinamentos.

Aos Dr. Aurelio Mendes Aguiar e Dra. Izabel Christina Gava de Souza pela participação e contribuição na banca da defesa e por serem referências para a minha vida profissional.

Aos Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula e Prof. Dr. Bruno Ettore Pavan pela participação e contribuição na banca de defesa.

Aos Prof. Dr. Celso Marino e Prof. Dr. João Andrade pela participação e contribuição na banca de qualificação.

À UNESP de Ilha Solteira e a todos os professores que tive contato durante o meu curso de doutorado.

Aos José Wilacildo e Thiago Benatti, profissionais da Suzano que me incentivaram a iniciar o Doutorado e me apoiaram durante todo esse processo.

À empresa Suzano por disponibilizar os dados para execução desse trabalho.

Ao Dr. André Nascimento, Dr. Yuri Utsunomiya e Prof. Dr. José Fernando Garcia pela contribuição na análise e interpretação dos dados.

À toda a equipe do CRC do MS, pessoas que cuidam com muito carinho e atenção do programa de melhoramento e pesquisa da Suzano.

Ao Leandro Siqueira, Donizete Dias, Regiane Estopa, Fabricio Biernaski, Eduardo Henriques, pessoas que me propiciaram diversas oportunidades profissionais e que são minhas referências.

Aos grandes amigos da Suzano, Aline, Mateus, José Luiz, Gabriela, Fabiana, Gustavo, Everton, cada um à sua maneira, contribuíram para essa e outras realizações na minha vida.

Ao Gustavo, meu psicólogo, por me ajudar a lidar com o que estava vivendo e sentindo durante a finalização desse trabalho.

Aos meus familiares, Tia Adelaide, Tio Nelson (*in memoriam*), Luciana, Tia Vania, obrigado por tudo que vocês fazem e fizeram por nós.

Aos meus grandes amigos de Barra Bonita, da época de república na universidade e todos os amigos que conheci ao longo dessa jornada. Em especial Fernando, Leal, Rogerio, Cinthia, Ingrid, Eduardo, Erica, Anderson, Fred, Danillo.

À memória dos meus avós Francisca, Lindolfo, Conceição, Manoel, que me incentivam a buscar minhas realizações.

Ao Prof. Dr. Evandro Tambarussi e ao Dr. Filipe Ferreira pelo apoio na elaboração, correções e melhorias do artigo proveniente desses dados.

À Raiane Santos, Erika Lomba e equipe da biblioteca da FEIS/UNESP pela correção e normatização da tese.

E como um grande amigo certa vez escreveu: “Tenho muito a agradecer, muitas pessoas não foram citadas, mas pela grandiosidade de seus corações, nem se importam com isso”.

“Além de um ato de conhecimento, a educação é também um ato político”

Paulo Freire

RESUMO

O desenvolvimento e uso de novas ferramentas buscando aumentar a eficiência dos programas de melhoramento são extremamente relevantes, dada à importância estratégica para os negócios florestais. O teste de progênies clonadas (TPC) reduz o tempo para a seleção e pode gerar estimativas dos parâmetros genéticos mais assertivas potencializando os ganhos com a seleção e, associado à matrizes de parentescos mais informativas, podem se tornar uma ferramenta robusta no melhoramento florestal. O objetivo do presente estudo foi demonstrar o impacto da utilização do TPC e de diferentes matrizes de parentesco no melhoramento de *Eucalyptus*. Foram utilizados dois TPCs com 3142 clones, provenientes de 58 famílias, das quais 47 são de polinização aberta (meios-irmãos) e 11 de polinização controlada (irmãos completos). Os experimentos foram instalados em alpha-lattice, com cinco repetições e parcelas de uma planta ("single tree plot"). Seis clones operacionais foram utilizados como testemunhas. Foram avaliadas três diferentes matrizes de parentesco construídas via pedigree e marcadores moleculares e, conseqüentemente, a contribuição do TPC associado às matrizes de parentesco no programa de melhoramento da Suzano. As estimativas de herdabilidade e acurácias aumentaram em função do número de repetições utilizado na análise. Quando utilizada uma planta, as matrizes de parentesco baseadas em *pedigree* demonstraram uma superestimativa dos parâmetros genéticos, quando comparadas à matriz construída com os marcadores moleculares. Os ganhos na seleção seguiram o mesmo padrão, e os maiores valores foram alcançados quando foi utilizado TPC e a matriz de parentesco com informação genômica. Conclui-se que o uso de teste de progênies clonadas no melhoramento de *Eucalyptus* apresenta um grande potencial, diminuindo o ciclo entre gerações e o tempo para a seleção de clones para testes clonais ampliados, melhorando as estimativas de parâmetros genéticos e, conseqüentemente, os ganhos com a seleção. Além disso o TPC demonstra ser uma experimentação robusta para a fenotipagem das populações, com isso se complementa muito bem com a utilização de ferramentas como a seleção genômica.

Palavras-chave: teste de progênies clonadas; matrizes de parentesco; melhoramento florestal; *Eucalyptus* spp; seleção genômica.

ABSTRACT

The development and use of new tools aiming to increase the efficiency of breeding programs are extremely relevant, given their strategic importance for forestry businesses. Clonal progeny trial (CPT) reduces the time required for selection and can yield more accurate estimates of genetic parameters, enhancing the gains from selection. When combined with more informative kinship matrices, CPT can become a robust tool in forest improvement. The objective of this study was to demonstrate the impact of using CPT and different kinship matrices in the improvement of *Eucalyptus*. Two CPTs involving 3142 clones from 58 families were utilized, of which 47 were from open pollination (half-siblings) and 11 from controlled pollination (full siblings). The experiments were designed in an alpha-lattice design, with five replications and single tree plots. Six operational clones served as controls. Three different kinship matrices were constructed using pedigree information and molecular markers, allowing us to assess the contribution of CPT associated with kinship matrices in the Suzano breeding program. Estimates of heritability and accuracies increased with the number of replications used in the analysis. When using single trees, the pedigree-based kinship matrices showed an overestimation of genetic parameters compared to the matrix constructed with molecular markers. The selection gains followed the same pattern, with the highest values achieved when using CPT alongside the kinship matrix that incorporated genomic information. It can be concluded that the use of clonal progeny testing in the improvement of *Eucalyptus* presents significant potential, reducing the generation cycle and the time required for selecting clones for expanded clonal tests, thereby improving the estimates of genetic parameters and, consequently, the gains from selection. Additionally, CPT proves to be a robust methodology for phenotyping populations, complementing well the use of tools such as genomic selection.

Keywords: clonal progeny trial; relationship matrices; forest breeding; *Eucalyptus* spp; genomic selection.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Setor florestal no mundo e no Brasil	15
2.2	<i>Eucalyptus</i> spp	16
2.3	Melhoramento Genético	17
2.4	Teste de Progenies Clonadas (TPC)	19
2.5	Matrizes de parentesco	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1	População de Melhoramento e Teste de Progenies Clonadas.	23
3.2	Locais e delineamento experimental	23
3.3	Mensurações e estimativas	24
3.4	Genótipos	25
3.5	<i>Pedigree</i> corrigido	26
3.6	Análise Estatística	26
3.6.1	ABLUP	27
3.6.2	<i>ssGBLUP</i>	27
3.7	<i>Heatmap</i>	29
3.8	Estimativa da herdabilidade	29
3.9	Seleção	30
3.9.1	<i>Comparação entre o ranqueamento utilizando as diferentes matrizes de parentesco.....</i>	<i>30</i>
3.9.2	<i>Ganhos com a seleção</i>	<i>30</i>
4	RESULTADOS.....	31
4.1	Matrizes de Parentesco	31
4.2	Estimativas de herdabilidade no sentido restrito	33
4.3	Efeito do número de repetições e da matriz de parentesco na acurácia	34
4.4	Seleção	39
4.4.1	Ranqueamento comparando as diferentes matrizes de parentesco....	39
4.4.2	<i>Ganhos com a seleção</i>	<i>42</i>
5	DISCUSSÃO	43
5.1	Efeito do uso de teste de progenies clonadas e matrizes de parentesco	43

5.2	Implicações para o programa de melhoramento de espécies florestais.....	46
6	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	APÊNDICE A: GENITORES QUE CONTRIBUÍRAM PARA A FORMAÇÃO DAS PROGÊNIES UTILIZADAS NOS TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS.....	67
	APÊNDICE B: ESQUEMA PARA A OBTENÇÃO DOS CLONES PROVENIENTES DAS 58 FAMILIAS AVALIADAS NO TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS.....	68
	APÊNDICE C: ILUSTRAÇÃO DO DESIGN EXPERIMENTAL EM BLOCOS INCOMPLETOS DO TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS.....	69
	APÊNDICE D: ESTIMATIVAS DE VARIÂNCIAS GENÉTICAS (σ_a^2) E RESIDUAIS (σ_r^2) OBTIDAS PELA MATRIZ-A (A), MATRIZ-Ac (Ac) E MATRIZ HÍBRIDA (H) EM TRÊS IDADES NO TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS EM EUCALYPTUS SPP., NA REGIÃO DE TRÊS LAGOAS, MS.....	70

1 INTRODUÇÃO

É cada vez mais evidente que não é possível haver uma economia saudável com a deterioração do nosso planeta. As alterações climáticas, perdas de biodiversidade, aparecimento de novas doenças são sintomas do declínio ambiental que estamos vivendo. Nesse cenário, o setor florestal pode e vem contribuindo para a construção de novas alternativas, desempenhando um papel crucial na resposta a estas crises e no desenvolvimento de um modelo econômico de menor emissão de carbono e utilização mais consciente dos recursos do ambiente (FAO, 2022). Destaca-se a utilização sustentável das florestas e construção de cadeias de valor verde que irão atender a demanda crescente de materiais renováveis, causados pelo aumento populacional, reduzindo os impactos ambientais (FAO, 2022). Estima-se que a área total de florestas no mundo seja de 4,06 bilhões de hectares e a que a área com florestas plantadas seja de 294 milhões de hectares, o que representa 7,2% da área total das florestas do mundo (FAO, 2020; Seng Hua *et al.*, 2024).

No Brasil, onde o setor florestal é referência de desenvolvimento e atuação, a sua importância é evidenciada pela geração de empregos, divisas, desenvolvimento regional, investimentos sejam nas fábricas e operações, mas também em pesquisa e desenvolvimento, conservação das florestas nativas que circundam os empreendimentos florestais e disponibilização de diversos produtos que contribuem para a mitigação dos efeitos das mudanças climáticas (IBA, 2023).

O país vem seguindo uma tendência de expansão das áreas de florestas plantadas para atender a indústria, principalmente de celulose, com isso alguns estados têm recebido grandes investimentos (IBA, 2023). Em algumas situações essas fronteiras estão sendo expandidas para regiões que apresentam diversos desafios bióticos e abióticos (Reis *et al.*, 2021), com isso o melhoramento genético florestal se mostra um fator estratégico para a manutenção e evolução da produtividade, qualidade de madeira, aumentando o valor econômicos das florestas plantadas (Grattapaglia, 2021).

Os programas de melhoramento genético vêm contribuindo de forma inquestionável para a evolução da produtividade das florestas de eucalipto no Brasil (Rezende *et al.*, 2019). No entanto, é importante ressaltar que o melhoramento florestal demanda tempo para a obtenção de genótipos superiores específicos para

essas novas condições ambientais enfrentadas, assim se faz necessária o desenvolvimento de ferramentas que tornem os programas de melhoramento mais assertivos, eficientes e que reduzam o tempo de desenvolvimento das populações de melhoramento e dos genótipos a serem plantados operacionalmente (Santantonio *et al.*, 2020; Grattapaglia, 2021; Borthakur *et al.*, 2022).

Novas ferramentas vêm sendo propostas para aceleração dos programas de melhoramento, como o uso de marcadores moleculares, que com tecnologias recentes disponibiliza informações mais fidedignas dos indivíduos das populações de melhoramento, para a reconstrução do *pedigree* e das relações de parentesco entre os indivíduos, contribuindo para melhor estimativa dos parâmetros genéticos e consequentemente dos ganhos obtidos na seleção (Bush *et al.*, 2011; Bush *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2024). Em passos mais avançados essas informações podem ser utilizadas para a predição do desempenho dos indivíduos, reduzindo os ciclos de melhoramento (Grattapaglia *et al.*, 2018).

A experimentação, também, é um elemento de extrema relevância, com isso é necessário utilizar experimentos cada vez mais robustos dentro dos programas de melhoramento, proporcionando estimativas de herdabilidade e de valores genéticos preditos mais assertivos, consequentemente, melhorando a predição do ganho genético com a seleção (Gezan *et al.*, 2006).

Com isso, uma alternativa que vem sendo discutida é o uso de teste de progênies clonadas (TPC), que segundo Resende (2002) nada mais é do que um teste de progênies com os indivíduos sendo repetidos por meio da clonagem. Essa abordagem experimental vem demonstrando potencial de utilização em espécies florestais, contribuindo para uma melhor avaliação dos indivíduos presentes no teste de progênies, devido a clonagem e repetição de cada indivíduo dentro do experimento (Ramalho *et al.*, 2023), sendo uma excelente alternativa para a implementação de estratégias mais complexas, como a seleção genômica, e por unir duas etapas do melhoramento florestal acaba contribuindo para a redução dos ciclos de seleção, com isso impactando a assertividade e eficiência dos programas de melhoramento (Grattapaglia, 2022).

Assim, o objetivo do presente estudo foi demonstrar qual o impacto da utilização do teste de progênies clonadas (TPC) e de diferentes matrizes de parentesco no melhoramento de *Eucalyptus*, buscando tornar o programa de

melhoramento mais assertivo e eficiente, melhorando as estimativas dos parâmetros genéticos e acurácias, reduzindo o tempo para obtenção dos clones e dos genitores para a recombinação e consequentemente aumentando os ganhos obtidos com a seleção por unidade de tempo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Setor florestal no mundo e no Brasil

O mundo necessita de soluções em grande escala e que sejam equitativas para enfrentar diversos problemas, como os efeitos ainda causados por uma pandemia que impactaram a saúde e a economia de diversos locais, insegurança alimentar, pobreza, alterações climáticas, degradação da terra e da água e a perda de biodiversidade (FAO, 2022). Nesse contexto, o setor florestal mundial terá cada vez mais importância para mitigar esses problemas, diminuindo o desmatamento e a pressão sobre as florestas nativas, restaurando e utilizando áreas degradadas, consequentemente gerando valor às essas áreas e contribuindo para o desenvolvimento sustentável local, disponibilizando matéria prima de origem renovável e ajudando a reduzir os impactos ambientais do aumento da população mundial (Carle *et al.*, 2020; FAO, 2022; Ruseva, 2023).

Há uma expectativa de aumento na demanda de madeira, impulsionada principalmente, pelos setores de construção e embalagens, além de uma transição para um uso mais eficiente e circular de biomateriais de maior valor agregado, garantindo economias cada vez mais inclusivas e sustentáveis. Nesse cenário as empresas de base florestal terão um papel essencial na construção da bioeconomia, disponibilizando uma nova gama de produtos, aumentando a eficiência de seus processos e mitigando os efeitos do carbono da atmosfera (FAO, 2022; Ruseva, 2023). Estima-se que mais da metade do produto interno bruto mundial dependa dos serviços ecossistêmicos provenientes das florestas e o setor florestal contribui diretamente com mais de 1,52 bilhão de dólares para o PIB mundial e 33 milhões de pessoas empregadas (FAO, 2022).

No Brasil, o setor vive um momento de expansão, investimento e contribuição para economia. A área ocupada por florestas plantadas chegou a 9,94 milhões de hectares, ocupando principalmente áreas que antes eram paisagens degradadas. Até o ano de 2028 estão em andamento R\$62 bilhões de aportes em florestas, pesquisa e desenvolvimento e novas fábricas. Além de contribuir com diversos benefícios para a sociedade, gerando mais de 2,6 milhões de empregos diretos e indiretos, desenvolvendo regiões que em sua maioria são distantes de grandes centros,

impactando positivamente o IDH dessas localidades, arrecadando cerca de R\$25,3 bilhões de impostos estaduais e federais e trazendo importantes divisas na ordem de US\$14,3 bilhões (IBA, 2023).

Toda essa contribuição para o desenvolvimento ainda vem associada a diversos benefícios ambientais. As empresas do setor preservam cerca de 6,7 milhões de hectares de áreas nativas que são extremamente importantes para a conservação de diversas espécies da fauna e flora. E cerca de 88% da energia utilizada em suas indústrias é proveniente de fontes renováveis, mostrando que o setor é um case de sucesso em relação ao desenvolvimento sustentável. Além dessas contribuições, o setor florestal vem disponibilizando matéria prima para diversas indústrias, o que reflete em uma gama de produtos que vem substituindo fontes não renováveis (Seng Hua *et al.*, 2022; IBA 2023; Valente *et al.*, 2024).

2.2 *Eucalyptus spp*

No ano de 2023, o Brasil alcançou os 10,23 milhões de hectares de florestas plantadas, ultrapassando pela primeira vez os dois dígitos de milhões em total de área plantada, o que corresponde a um crescimento de 3% em relação ao ano anterior (IBA, 2024). Desse total, 76% correspondem a plantios de eucalipto, totalizado 7,8 milhões de hectares plantados, o que representa um crescimento de 41% nos últimos 10 anos, demonstrando a grande importância da espécie para o setor florestal e economia brasileira (IBA, 2024).

O gênero *Eucalyptus* pertence à família *Myrtaceae*, sendo reconhecidas cerca de 800 espécies (Booker, 2002; Flores *et al.*, 2016) e é a principal base para o abastecimento de diversas indústrias, como as que produzem papel e celulose, siderurgia por meio do carvão vegetal, painéis de madeira, além de outras finalidades como madeira serrada, postes, bioenergia, cercas, etc., sendo que vivemos um cenário de aumento de demanda e produção nos últimos anos (Assis; Resende, 2011; Lima *et al.*, 2019; Jurcic *et al.*, 2021; Reis, *et al.*, 2021; FAO, 2022). Esse gênero teve grande destaque no Brasil por apresentar grande adaptação a diversas condições edafoclimáticas, rápido crescimento, elevada produtividade e aptidão de uso para diversas finalidades (Tambarussi *et al.*, 2017; Binkley *et al.*, 2017).

As produtividades alcançadas atualmente no Brasil pelas espécies de *Eucalyptus* se devem a diversos fatores, como os grandes avanços tecnológicos alcançados na área de manejo florestal, mas também em grande parte ao melhoramento genético para as diferentes condições ambientais brasileiras, obtendo assim florestas de alto desempenho produtivo, adaptadas as diversas regiões, que suprem as diversas industriais que utilizam madeira como matéria prima (Martins *et al.*, 2005; Freitas *et al.*, 2009). No entanto, nos últimos anos houve uma estagnação dos ganhos em produtividade das florestas plantadas brasileiras, provavelmente devido a expansão do setor florestal para novas regiões de menor tradição florestal, manejo inadequado, impacto de estresses bióticos como novas pragas e doenças, mas também por uma falta de conhecimento na alocação de genótipos e também pouca quantidade de clones adaptados as condições edafoclimáticas encontradas nessas novas fronteiras florestais (Araujo *et al.*, 2019; Cunha *et al.*, 2021).

Outro fator que gera preocupação são as mudanças climáticas, diversos são os cenários elaborados em função das expectativas dessas mudanças no Brasil, de maneira geral há uma indicação de aumento na temperatura e variação na precipitação em relação ao histórico, sendo que algumas regiões tendem a ficar mais secas e outras tendem a ter chuvas irregulares (Brasil, 2016; Assad *et al.*, 2021). A produtividade das florestas é influenciada por diversos fatores como clima, manejo e material genético (Stape *et al.*, 2010; Binkley *et al.*, 2017; Elli *et al.*, 2019), no entanto o clima é o único fato que os silvicultores têm pouca ou nenhuma influência, com isso a condução de programas de melhoramento buscando a seleção e recomendação correta dos genótipos adaptados as condições edafoclimáticas é um dos principais fatores de sucesso da silvicultura.

As referências indicam que os programas de melhoramento com espécies de *Eucalyptus* no Brasil foram iniciados na década de 40 e foram intensificados principalmente a partir de 1967, principalmente devido a Lei de Incentivos Fiscais ao plantio de florestas, que contribuiu para o aumento das áreas de florestas plantadas (Leão, 2000; Pereira *et al.*, 2015; Castro *et al.*, 2016; Nogueira *et al.*, 2019).

2.3 Melhoramento Genético

Grande parte do sucesso na evolução da produtividade das culturas se deve ao melhoramento genético de plantas, que é um processo contínuo de seleção e recombinação de genótipos superiores (Zobel; Talbert, 1984; Walker *et al.*, 2022). Assim, pode-se observar que na “equação do melhorista” $R = \frac{ir\sigma_a}{L}$ os fatores que influenciam a resposta na seleção (R) são: intensidade de seleção (i) acurácia seletiva (r), e a variância genética aditiva, que pode ser mensurada em desvio padrão genético aditivo (σ_a), durante um intervalo (L) de gerações (Lush, 1936; Isik *et al.*, 2017; Walsh and Lynch, 2018; Santantonio *et al.*, 2020). Com esse conhecimento os melhoristas devem delinear as estratégias do programa de melhoramento visando atuar sobre esses fatores, buscando sempre entregar genótipos superiores para o uso comercial (Cobb *et al.*, 2019).

Tendo bem definidos os objetivos, os critérios de seleção, o germoplasma a ser utilizado e os ambientes que posteriormente serão plantados os experimentos e os genótipos gerados, o sucesso do programa de melhoramento dependerá da alocação dos recursos disponíveis para maximizar os ganhos na seleção (Rutkoski, 2019). Com isso se torna importante desenvolver e utilizar novas tecnologias para acelerar as etapas do melhoramento genético florestal, consequentemente impactando a resposta a seleção (Santantonio *et al.*, 2020; Borthakur *et al.*, 2022).

O melhoramento genético florestal é um elemento competitivo de extrema relevância para as operações industriais em todo o mundo, fornecendo clones e sementes geneticamente superiores que irão produzir florestas plantadas de alto valor econômico agregado. No entanto, independentemente de qual espécie alvo e os objetivos industriais, os programas de melhoramento enfrentam um grande desafio que é a duração de um ciclo de melhoramento, podendo levar vários anos ou até mesmo décadas para o desenvolvimento dos genótipos que serão plantados comercialmente, contrastando com um dos principais objetivos do melhoramento que é maximizar a resposta a seleção por unidade de tempo (Grattapaglia, 2021).

No melhoramento genético florestal, os demorados testes de procedências e progênes e os testes clonais, são os principais gargalos para a obtenção de clones superiores (Grattapaglia, 2022). Temos diversos desafios para acelerar o progresso no melhoramento florestal, dentre eles as razões biológicas, pois algumas espécies florescem de maneira tardia, e o ciclo florestal, pois os experimentos são avaliados e os materiais genéticos são selecionados em uma determinada idade (Borthakur *et al.*,

2022). Outro fator que demanda atenção é a baixa correlação entre o desempenho das árvores em teste de progênies (TP) e o desempenho em teste clonal (Reis *et al.*, 2011), que impacta diretamente o sucesso da seleção indivíduos para a clonagem, mas que ainda não existem evidências que explicam esse problema. A coincidência entre o desempenho dos indivíduos em um TP e seu respectivos clones em TC muitas vezes é baixa, com isso a estratégia de avaliação e seleção em teste de progênies pode ser revista, visando estabelecer uma estratégia que minimize o tempo de teste do material proveniente de sementes (Van den Berg *et al.*, 2015), instalando áreas de seleção sem delineamento experimental complexo, com o objetivo de reduzir o tempo para avaliação e seleção das melhores árvores provenientes das famílias de sementes de polinização aberta ou controlada.

Desde o seu início na década de 1950, os programas mundiais de melhoramento florestal seguem o esquema de seleção recorrente, envolvendo ciclos repetidos de seleção, recombinação e testes, e permanecem nesse formato tendo sido feita poucas alterações buscando acelerar o processo (Allard 1960; White *et al.* 2007; El-Kassaby *et al.*, 2024). Esse formato proporcionou ganhos substanciais em todo o mundo, no entanto, é um processo de longo prazo, o que pode vir a ser um problema pensando na necessidade de adaptação às mudanças climáticas (Wheeler *et al.* 2015; Matallana-Ramirez *et al.* 2021; El-Kassaby *et al.*, 2024).

Esses desafios demandam métodos de avaliação genética mais rápidos e eficientes que aproveitem novas tecnologias, como as ferramentas genômicas, integradas aos programas tradicionais de melhoramento (Grattapaglia *et al.* 2018). Para mitigar esses problemas e possibilitar a seleção de genótipos de maneira mais acurada e em menos tempo possível, faz-se necessário o desenvolvimento e utilização de novos procedimentos no melhoramento florestal, para tornar o programa mais eficiente, como diferentes tipos de experimentação, que é o caso do TPC, e novas tecnologias, como a seleção genômica, que podem proporcionar ganhos em competitividade.

2.4 Teste de Progênies Clonadas (TPC)

Uma das ferramentas que pode ser melhorada é a experimentação. Em Ramalho *et al.* (2023) é apresentado um histórico sobre o teste de progênies clonadas

(TPC), que é um tipo de experimentação mais robusta onde as mudas originadas de sementes obtidas das recombinações entre os melhores genitores nos programas de melhoramento são clonadas após a germinação e os diversos clones obtidos das progênies são avaliados com repetições (Resende, 2002; Ramalho *et al.*, 2021).

Resende (2002) e Ramalho *et al.* (2023) ainda citam Burdon e Shelbourne (1974) como os autores que sugeriram essa abordagem com o objetivo de melhorar as estimativas de parâmetros genéticos em dados simulados. Quando se tem dois ou mais propágulos do mesmo indivíduo é esperado que haja uma estimativa mais eficiente e precisa das variâncias fenotípicas, genética e das covariâncias, quando comparadas com mudas provenientes de sementes (Burdon; Shelbourne, 1974).

Os mesmos autores descrevem também a vantagem de possibilitar um melhor conhecimento da interação genótipos x ambientes devido a possibilidade de repetir os clones em diversos locais citando que o ambiente pode exercer uma grande influência na estimativa dos valores genéticos. Após alguns anos dessa proposta, Foster e Shaw (1988) demonstraram o uso de maneira prática em *Populus deltoides*, onde foi utilizado um delineamento com estrutura de famílias e a repetição dos indivíduos por meio da clonagem com o objetivo de estimar de maneira mais eficiente os efeitos genéticos aditivos e não aditivos.

Shelbourne (1992) simulou a estimativa do ganho com a seleção em progênies de polinização aberta, polinização controlada em um TP convencional e o uso de progênies de polinização aberta, mas com os indivíduos sendo avaliados entre quatro e 10 repetições clonadas por indivíduo e 10 clones dentro de cada família. Os resultados demonstraram que os ganhos com a seleção foram maiores quando se utilizou a clonagem, o que hoje chamamos de TPC, em relação ao TP convencional com o mesmo número de indivíduos dentro da família.

Dessa forma, o uso de teste de progênies clonadas é uma alternativa para o melhoramento de espécies florestais, pois apresentam uma vantagem em relação ao sistema convencional, unificando os testes de progênies (TP) e teste clonal (TC) em apenas um experimento (Walker *et al.*, 2022). Na transição do TP para o TC muitos indivíduos podem ser perdidos devido ao baixo enraizamento ou outros problemas fisiológicos, com isso o TPC se encaixa na estratégia de propagação vegetativa em larga escala e recombinação de indivíduos dentro de populações sintéticas, já realizando uma seleção indireta para os clones de melhor enraizamento, que nada

mais é que selecionar clones de excelente performance para recombinar e dar origem a nova população que será alvo da seleção (Ramalho *et al.*, 2023).

Dessa forma, espera-se que as estimativas dos valores genéticos dos indivíduos e de seus genitores sejam mais acuradas quando comparadas ao teste de progênie convencional, podendo reduzir uma das etapas do programa de melhoramento (Ramalho *et al.*, 2021). Com isso, há uma redução no tempo para obter genótipos para a avaliação em testes clonais ampliados e o problema da baixa correlação entre o desempenho das duas etapas de experimentação é mitigado.

2.5 Matrizes de parentesco

A chave para o entendimento das relações entre os indivíduos de uma população está no estabelecimento acurado da sua matriz de parentesco, que envolve estes indivíduos, sendo proposta por Henderson (1976) e modificada por Lynch e Walsh (1998) citados por Resende (2015), em que são apresentados exemplos de construção e de aplicações de matriz de parentesco no melhoramento, envolvendo efeitos aditivos, de dominância e epistáticos.

As informações obtidas por meio dos marcadores moleculares, principalmente SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) e informações de *pedigree* podem ser utilizadas no programa de melhoramento, otimizando ainda mais a obtenção do ganho com a seleção, como tem sido mostrado em vários estudos com espécies florestais como em *Pinus taeda* (Zapata-Valenzuela *et al.*, 2013; Muñoz *et al.* 2014) *Picea* spp. (Beaulieu *et al.*, 2014; Gamal El-Dien *et al.* 2015, 2018) e *Eucalyptus* spp. (Resende *et al.*, 2012; Cappa *et al.*, 2017; Resende *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 2018; Pupin *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2019; Simiqueli *et al.*, 2023).

A predição dos valores genéticos dos indivíduos é realizada a partir de uma relação de parentesco esperada entre eles, dando origem ao ABLUP ou *pedigree*-BLUP (Crossa *et al.*, 2010). Este método consiste em utilizar o *pedigree* para calcular uma matriz de parentesco esperado (Matriz-A) para prever os valores genéticos com base no modelo aditivo infinitesimal (Fisher, 1918; Paludeto *et al.*, 2021). Contudo, quando utilizamos progênie de polinização aberta em espécies com o sistema misto de reprodução, algumas incertezas relacionadas ao número efetivo de genitores que contribuem com pólen na população são incorporadas, e não desvendam o

parentesco já existente dentro da população, o que é chamado de relacionamento críptico. Negligenciar esse conhecimento pode inflacionar a variância genética aditiva e afetar a acurácia dos parâmetros genéticos estimados, como valores genéticos e herdabilidades (Squillace, 1974; Namkoong *et al.*, 1988; Tambarussi *et al.*, 2018; Klápště *et al.*, 2018).

Com o maior acesso a tecnologias de genotipagem, surge a seleção genômica como uma alternativa de acelerar os programas de melhoramento, potencializando os ganhos genéticos obtidos e suas aplicações no melhoramento (Meuwissen *et al.*, 2001; Resende, 2008; Peixoto *et al.*, 2022). Utilizando marcadores SNPs, é possível reconstruir o parentesco com alta precisão, mesmo envolvendo muitos genitores potenciais (Grattapaglia, 2021). Assim, é possível estimar de maneira mais precisa o parentesco entre os indivíduos, nascendo o método GBLUP (Grattapaglia *et al.*, 2018). Com essa abordagem, é construída uma matriz de parentesco genômico, onde é efetivamente estimando o parentesco realizado entre indivíduos, substituindo a matriz de relacionamento esperado, também chamada de matriz do numerador do coeficiente de parentesco, com isso espera-se estimar com maior acurácia as variâncias aditivas das não-aditivas e, assim, obter os parâmetros genéticos com herdabilidade e contribuições relativas das duas classes de variâncias genéticas de maneira mais fidedigna (VanRaden, 2008; Grattapaglia *et al.*, 2018).

Uma abordagem alternativa utilizando as informações de indivíduos não genotipados foi proposta Misztal *et al.* (2009), Aguilar *et al.* (2010), Christensen e Lund (2010) e que foi chamada de *Single Step Genomic Best Linear Unbiased Prediction* ou ssGBLUP. Esse método usa todos os dados de *pedigree* e fenotípicos para prever o valor genético de árvores não genotipadas, e não apenas dados fenotípicos de indivíduos genotipados (Cappa *et al.*, 2019) e vem demonstrando bom potencial de utilização nos programas de melhoramento (Ratcliffe *et al.*, 2017; Cappa *et al.*, 2019; Paludeto *et al.*, 2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 População de Melhoramento e Teste de Progênies Clonadas.

A população de melhoramento foi obtida de genitores provenientes do programa de melhoramento da Suzano S.A. no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os clones utilizados são das espécies *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e híbridos das duas espécies, selecionados pela elevada produtividade em Incremento Médio Anual em volume (IMA $m^3 ha^{-1} ano^{-1}$). Esses genitores foram plantados em um pomar de recombinação em campo, no qual foram obtidas 47 famílias de polinização aberta (estrutura de meios-irmãos).

Algumas dessas progênies também foram recombinadas via polinização controlada, obtendo mais 11 famílias (estrutura de irmãos completos), totalizando 58 famílias nos experimentos, após a reconstrução de *pedigree* foi observada a contribuição de 67 genitores nas 58 famílias utilizadas nos experimentos (Apêndice A). Após a germinação das sementes foram separadas 60 mudas de cada família, sendo escolhidas as mudas de melhor qualidade, sem a presença de problemas fitossanitários, as quais foram plantadas em jardim clonal para obtenção dos clones via mini estaquia. Após o processo de clonagem foram obtidos 3.142 clones provenientes das 58 progênies, dando origem aos testes de progênies clonadas (TPC) (Apêndice B).

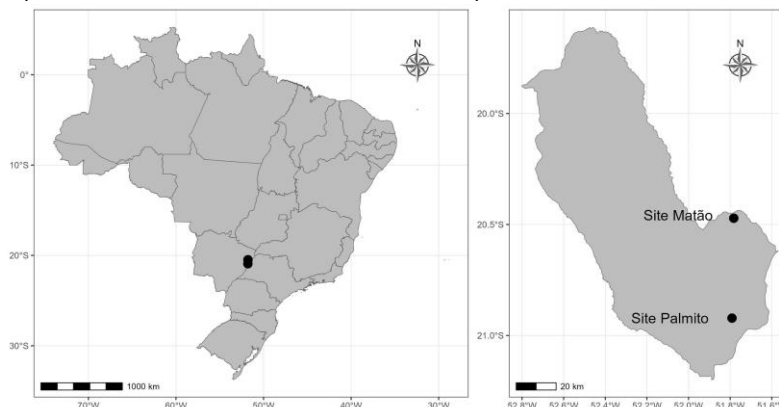
3.2 Locais e delineamento experimental

Dois testes de progênies clonadas (TPC) foram instalados em dois locais distintos (Figura 1). No local 1 (Site Matão), o experimento foi subdividido em 11 testes e no local 2 (Site Palmito) o teste foi subdividido em 12 testes, sendo que cada teste continha 250 clones, variando entre cinco e seis clones de cada progênie, e seis tratamentos controles (clones comerciais). O número total de plantas foi de 14.080 (Matão) e 15.360 (Palmito).

Os testes foram instalados em delineamento de blocos incompletos *alpha-lattice* em parcelas de plantas únicas em modelo de *Single Tree Plot* (STP), com cinco repetições de cada clone (Apêndice C), no espaçamento de 3,60 x 2,50 metros. Os

experimentos foram instalados de agosto a setembro de 2018 na região de Três Lagoas, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Figura 1. Localização dos Teste de Progênes Clonadas de *Eucalyptus* no município de Três Lagoas, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil.



Fonte: Produção do próprio autor.

O clima da região é caracterizado como Tropical com inverno seco (Aw), com precipitação histórica, variando de 1.250 até 1.350 mm anuais, segundo a classificação climática de Köppen (Alvares *et al.*, 2013) (Tabela 1). O manejo das áreas foi o mesmo utilizado pela empresa Suzano S.A., no qual foram aplicados 1.800 kg de corretivo, adubação base de 400 kg de NPK 12-20-16, adubação de cobertura de 280 kg de NPK 10-00-27 e os testes foram conduzidos na ausência de matocompetição.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS DOS LOCAIS DOS EXPERIMENTOS, NA REGIÃO DE TRÊS LAGOAS, MS.

Local	Altitude m	Clima ¹	Tipo de Solo ²	Textura	Longitude W	Latitude S
1. Matão	382	Aw	Latossolo Vermelho-Amarelo	Média	-51,7822	-20,4734
2. Palmito	345	Aw	Neossolo Quartizarênico	Arenoso	-51,7904	-20,9223

Fonte: Produção do próprio autor.

Notas: ¹Classificação de Köppen; ²Santos *et al.* (2018).

3.3 Mensurações e estimativas

Os testes foram avaliados aos 12, 24 e 36 meses após o plantio. Os caracteres avaliados foram: Circunferência à altura do peito (CAP, cm), altura total (ALT, m) e

volume (VOL, $m^3 ar v^{-1}$). Para a mensuração do CAP foi utilizada fita métrica marca Vonder, e a Altura foi medida com o clinômetro eletrônico marca Haglöf. A partir destas informações estimou-se o volume com casca, por meio do modelo desenvolvido para os plantios florestais no Mato Grosso do Sul (Eq. 1):

$$VOL = \frac{CAP^2}{40000 \cdot \pi} \cdot ALT \cdot FF \quad (1)$$

em que: VOL é o volume individual com casca; CAP: circunferência a altura do peito; π : valor de pi, ALT: altura total; FF: Fator de forma (0,45).

No total foram realizadas 249.621 mensurações fenotípicas de CAP, ALT e VOL de 3.148 clones nos dois locais durante os três anos de avaliação. Foram removidas do conjunto de dados as observações de árvores com as seguintes condições: bifurcadas, com anomalias (torta, quebrada, dominada, tombada, morta etc.) e com possível erro de identificação, devido a diferença entre o genótipo do indivíduo e seus parentes. Para obter homogeneidade dos efeitos ambientais, foram compostos grupos (combinação de local, teste, repetição e bloco), sendo que apenas os grupos que tinham cinco ou mais observações foram mantidos. Após o processo de filtragem, restaram 196.515 mensurações de 3.015 genótipos, sendo 65.505 observações por caráter.

3.4 Genótipos

Dos 3.148 clones distribuídos entre famílias, genitores e testemunhas do experimento, foram genotipados 2.495 (79.4%). Destes, 1.964 foram genotipados utilizando o painel Axiom Euc72K da Thermo Fisher Scientific (Santa Clara, CA, USA) que contém sondas para 68.055 marcadores moleculares, e os 531 genótipos restantes, foram genotipados com painel EuCHIP60K (Silva Júnior *et al.*, 2015) da GENESEEK Inc. (Lincoln, NE, EUA) para 64.639 SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polimorphism*).

Foi realizada a filtragem dos genótipos e amostras de baixa qualidade, a fim de evitar a inclusão de viés nas análises subsequentes. A parte de viés de predição também é abordada por Resende *et al.* (2014). Dessa forma, o controle de qualidade dos genótipos foi conduzido com os seguintes critérios de exclusão de marcadores moleculares: não autossômicos, com posição duplicada, *call rate* < 90% (taxa de

determinação de genótipos) e $MAF < 1\%$ (do inglês, *minor allele frequency*), e amostras com *call rate* $< 80\%$.

O controle de qualidade foi realizado no Plink v.1.9 (Chang *et al.*, 2015) de forma individualizada para cada painel e ao final do processo, os conjuntos de dados foram agrupados, sendo mantidos apenas os SNPs em comum. Após o processamento, obteve-se um *dataset* com 2.495 amostras e 15.490 SNPs.

3.5 Pedigree corrigido

A expectativa da proporção do genoma que é idêntica por descendência (IBD) entre pais e filhos é de 50%. Assim, para os indivíduos genotipados foram estimados os valores de IBD entre progênie e genitores com o *software* Plink v.1.9 (Chang *et al.*, 2015). As relações de parentesco foram avaliadas com a função “*ghap.relfind*” do pacote GHap v3.0.0 (Utsunomiya *et al.*, 2016) no *software* R (R Core Team, 2022).

Tendo em vista que os métodos de genotipagem massiva são inevitavelmente susceptíveis a erros na determinação do genótipo devido a fatores instrumentais, condições do material biológico e/ou processamento da amostra (Saunders *et al.*, 2007), o erro de genotipagem foi considerado. Dessa forma, foi aceito uma taxa de erro mendeliano (ME) de até 1%. O ME é caracterizado pela observação de variantes nas progênie que estão ausentes nos genitores, de modo que biologicamente não deveriam ter segregado e, portanto, podem indicar artefatos do processo de genotipagem.

A correção do *pedigree* foi realizada a partir da combinação dos resultados do “*ghap.relfind*” e filtragem para ME. Sendo que o processo foi executado em dois passos: 1) Exclusão de paternidade e 2) Atribuição de possível genitor. Ao final foi gerado um novo arquivo *pedigree* e este serviu como base para construção da matriz de *pedigree* corrigida (Ac).

3.6 Análise Estatística

A título de comparação as análises estatísticas foram realizadas utilizando de uma até cinco plantas por clone. A ordem utilizada foi de acordo com a disposição no campo, ou seja, a análise da primeira repetição foi utilizada para obter os resultados

de uma planta, as repetições um e dois foram utilizadas para obter os resultados de duas plantas e assim respectivamente.

Três métodos foram comparados em termos de acurácia de predição, sendo eles: ABLUP convencional, ABLUP corrigido e o ssGBLUP (Melhor Previsão Linear Imparcial Genômica de etapa única). O ABLUP convencional foi conduzido utilizando a matriz de *pedigree* (A) informada no pomar de recombinação e na polinização controlada; o ABLUP corrigido usou a matriz Ac; e o ssGBLUP utilizou a matriz de parentesco híbrida (H), no qual 80% da população tem parentesco definido via marcadores moleculares e nos outros 20% foram utilizadas as informações do *pedigree*.

O software BLUPF90 (Misztal *et al.*, 2014; Lourenço *et al.*, 2020) foi utilizado para estimar os valores genéticos (EBV) e erros-padrão (σ). Os valores de acurácia de predição foram obtidos com base em Misztal *et al.* (2014) (Eq. 2):

$$r = \sqrt{1 - \frac{PEV}{(1+Fj)\sigma_a^2}} \quad (2)$$

em que: r é a acurácia de predição; PEV : (do inglês, *prediction error variance*) variância do erro de predição; Fj : coeficiente de endogamia para o indivíduo j (assumido como zero para fins de estimativa); σ_a^2 : variância genética aditiva.

3.6.1 ABLUP

Os métodos ABLUP convencional e corrigido empregaram o seguinte modelo misto (Eq. 3) para estimação dos valores genéticos baseados no *pedigree* para cada árvore e caráter avaliado:

$$y = X\beta + Za + e \quad (3)$$

em que: y : dados fenotípicos de árvores para os caracteres de crescimento; β : vetor de efeitos fixos (local, teste, repetição e bloco); a : vetor de efeitos genéticos aditivos aleatórios de árvores individuais (valores genéticos); e : vetor de resíduos aleatórios; X e Z : matrizes de incidência relacionando as observações (y) e aos efeitos do modelo β e a , respectivamente.

3.6.2 ssGBLUP

O modelo para o método ssGBLUP pode ser descrito pela seguinte equação de modelos mistos (Eq. 4):

$$y = X\beta + Zu + e \quad (4)$$

em que: y é o vetor da característica observada, β é o vetor de efeitos fixos, u é o vetor de efeitos aleatórios com distribuição $u \sim N(0, \sigma_u^2)$, X e Z são matrizes de incidências que ligam os efeitos fixos e aleatórios à variável resposta e e é o vetor residual. Para a variância residual assumiu-se independência dos resíduos e homogeneidade de variância, sendo $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$, sendo que: I é uma matriz identidade multiplicada pela constante da variância do resíduo σ_e^2 .

Para esse modelo é assumido que não existe covariância entre os efeitos genéticos (u) e os desvios residuais (e). Dessa forma, o sistema de equações do modelo misto (EMM) proposto por Henderson (1985), que possibilita a obtenção simultânea do preditor para os efeitos aleatórios ($\hat{u}$) e a estimativa dos efeitos fixos ($\hat{\beta}$), pode ser matricialmente expresso da seguinte maneira (Eq. 5):

$$\begin{bmatrix} X'R^{-1}X & X'R^{-1}Z \\ Z'R^{-1}X & X'R^{-1}Z + K^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'R^{-1}y \\ Z'R^{-1}y \end{bmatrix} \quad (5)$$

em que: K^{-1} representa a inversa da matriz de parentesco utilizada no modelo (A ou H) e R^{-1} a inversa da matriz de covariância do efeito residual, em que foi assumido $I\sigma_e^2$.

O modelo adotado para o ssGBLUP foi o mesmo utilizado no ABLUP, com exceção da matriz A que foi substituída pela matriz H , que combina o *pedigree* (matriz A) e o relacionamento genômico, que se fundamenta nos marcadores SNPs (matriz G). A matriz G foi estimada seguindo o método proposto por VanRaden (2008) (Eq. 6):

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum p_i(1-p_i)} \quad (6)$$

em que: Z é uma matriz de dimensão m por n (sendo m o número de marcadores e n o número de indivíduos), derivada da centralização da matriz genotípica aditiva codificada como 0, 1 e 2 para os genótipos dos SNPs; p_i é a frequência alélica atual (ou observada) dos indivíduos genotipados para o marcador i .

Em virtude da estrutura do conjunto de dados, em que o número de indivíduos é superior ao número de SNPs, ou devido à similaridade entre indivíduos (por exemplo, clones), a matriz G se torna singular e não é inversível (Lourenço *et al.*, 2020). Para contornar este problema, é comum a matriz G ser combinada com a

porção da matriz de *pedigree* correspondente aos indivíduos genotipados (A_{22}) (Eq. 7):

$$G^* = \alpha G + \beta A_{22} \quad (7)$$

em que: α e β são parâmetros de mistura das matrizes G ; e A_{22} , respectivamente. Foram adotados os valores de $\alpha = 0,95$ e $\beta = 0,05$. Assim, a matriz G ajustada (G^*) corresponde à combinação de 95% da G com 5% da A_{22} .

Uma vez obtida a matriz G , a etapa seguinte foi agrupá-la com a matriz A em uma única matriz de parentesco (matriz H), que contempla indivíduos genotipados e não genotipados, tendo assim, dimensão n por n (sendo n o número de indivíduos). Dada a complexidade da matriz H , o mais simples e comumente realizado é a construção direta da sua matriz inversa (H^{-1}) (Aguilar *et al.*, 2010) (Eq. 8):

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix} \quad (8)$$

em que: A^{-1} e G^{-1} são matrizes inversas de parentesco por *pedigree* e genômico, respectivamente; A_{22}^{-1} : submatriz da A^{-1} com a porção correspondente aos indivíduos genotipados, de modo que a A_{22}^{-1} é subtraída para evitar a dupla contabilização das informações advindas do *pedigree* e dos genótipos (Lourenço *et al.*, 2020).

3.7 Heatmap

A função “*heatmap.2*” do pacote *gplot* V2.17.0 (Warnes *et al.*, 2015) foi utilizada para gerar gráficos do tipo *heatmap* (mapa de calor) para cada uma das matrizes de parentesco (A , A_c e H). A proposta deste tipo de gráfico é avaliar a esparsidade, e comparar a densidade e complexidade das matrizes.

3.8 Estimativa da herdabilidade

As herdabilidades no sentido restrito foram estimadas no conforme Isik *et al.* (2017) (Eq. 9):

$$\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2} \quad (9)$$

em que: $\hat{h}_a^2$ é a estimativa da herdabilidade no sentido restrito; $\hat{\sigma}_a^2$: variância genética aditiva associada à matriz de parentesco; $\hat{\sigma}_e^2$: variância residual.

3.9 Seleção

3.9.1 Comparação entre o ranqueamento utilizando as diferentes matrizes de parentesco

Após as estimativas do BLUPs, utilizando as três matrizes de parentesco, foi simulada a seleção dos 100 melhores clones para a comparação dos efeitos das diferentes matrizes de parentesco (Matriz-A, Matriz-Ac e Matriz-H) no ranqueamento dos clones selecionados com o intuito de verificar se pode haver diferenças entre os clones selecionados, o que pode impactar a assertividade da seleção.

3.9.2 Ganhos com a seleção

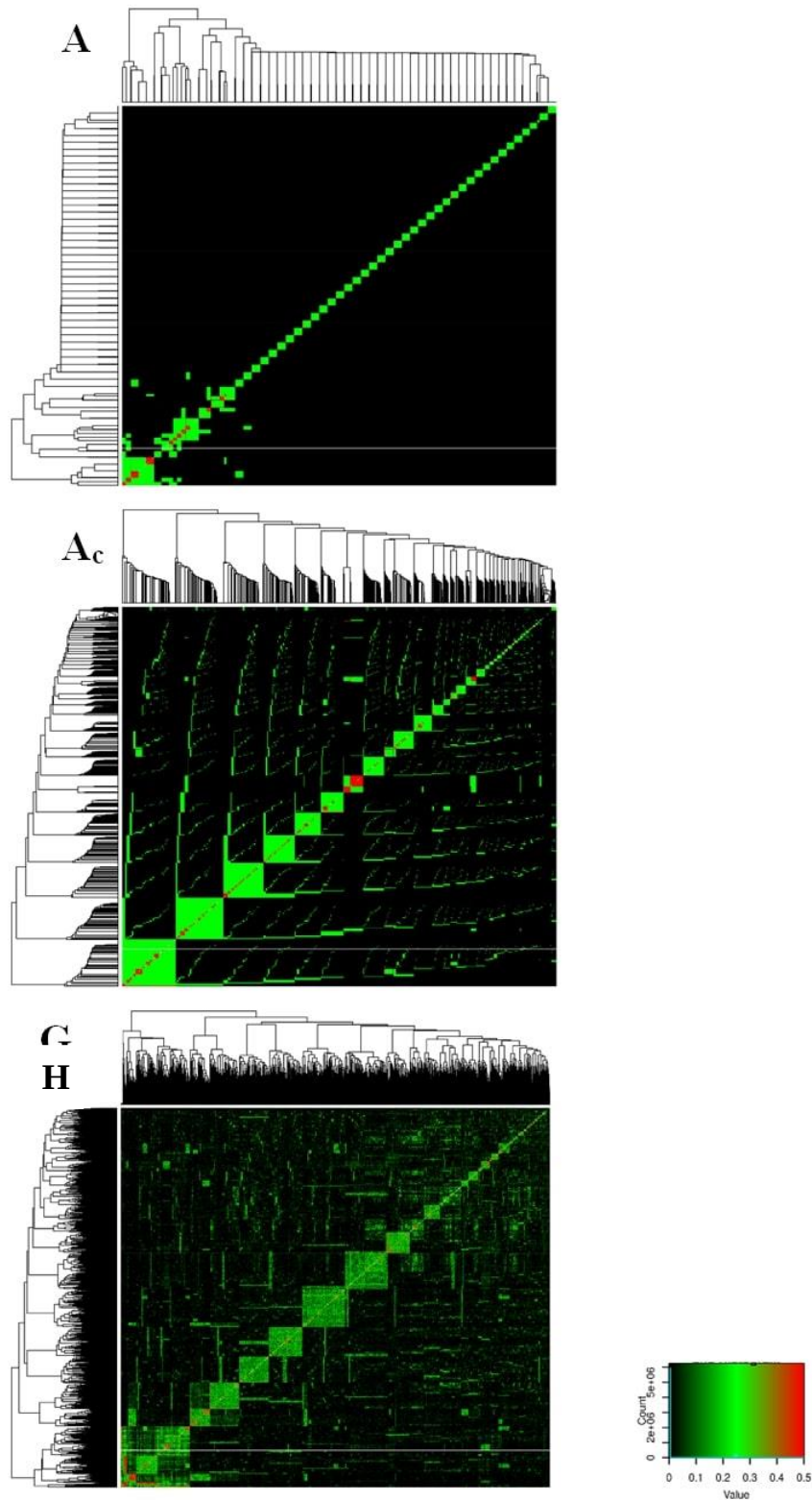
Utilizando os elementos da equação do melhorista $R = \frac{ir\sigma_a}{L}$, obtidos nas análises estatísticas, foi simulada a diferença em ganho genético entre o método convencional utilizando TP+TC e o TPC para avaliar e selecionar os 100 melhores clones para a característica volume. Para isso, foram utilizados os valores de intensidade de seleção (i), fixo para as duas abordagens, acurácia (r) dos clones selecionados, desvio padrão genético aditivo (σ_a) obtidos nas análises estatísticas realizadas utilizando a matriz-A e uma das repetições do experimento (TP+TC), similar ao que seria um TP convencional, e as matrizes A, Ac e H com cinco repetições clonais, o que seria considerada a abordagem utilizando o TPC. Já o intervalo entre as gerações (L) foi utilizado o valor do ciclo convencional (13 anos) e ciclo utilizando o TPC (nove anos), essa redução foi devida a união das etapas de TP e TC em apenas um experimento que é o TPC.

4 RESULTADOS

4.1 Matrizes de Parentesco

Devido ao parentesco parcialmente desconhecido de muitas plantas (2.491), a matriz-A (Figura 2) foi considerada dispersa, pois as progênies eram de polinização aberta, e apenas as mães eram conhecidas. Na matriz-Ac (Figura 2), foi possível identificar e validar o parentesco materno e paterno utilizando os marcadores moleculares SNPs para reconstruir o *pedigree*. Se comparada à matriz-A, houve o aumento da densidade e uma esparsidade moderada, semelhante ao que acontece com progênies de polinização controlada. Porém, em nenhum dos casos foi possível identificar o parentesco que existia entre os indivíduos. A matriz-H, que representa a união da matriz de parentesco obtida da genotipagem dos clones e o *pedigree* informado para os clones que não foram genotipados, apresentou alta densidade, sendo possível capturar as relações presentes na matriz-Ac, resgatar a amostragem mendeliana e o parentesco críptico, ou seja, aquele que não era evidente no *pedigree* informado, entre cada um dos indivíduos genotipados (Figura 2).

Figura 2: *Heatmap* das relações em progênies de polinização aberta de *Eucalyptus* entre o parentesco esperado e o genotípico, considerando: Matriz-A (*pedigree* informado); Matriz-Ac (*pedigree* corrigido) e Matriz-H (relação genômica estimada com o uso de marcadores SNPs).



Fonte: Produção do próprio autor.

4.2 Estimativas de herdabilidade no sentido restrito

Os coeficientes de herdabilidade, no sentido restrito (h_a^2), foram estimados nas três diferentes idades (um, dois e três anos), para os três caracteres de crescimento (Circunferência à altura do peito, Altura e Volume) e utilizando as três diferentes matrizes de parentesco (matriz-A, matriz-Ac e matriz-H) (Tabela 2).

Quando foi utilizada apenas uma das repetições clonais para a estimativa, assim como acontece em um teste de progênies convencional, a matriz-Ac apresentou os maiores valores de h_a^2 , variando de 0,511 para o CAP a um ano de idade, até 0,627 para a ALT aos três anos de idade. Seguidos pela matriz-A, onde os valores de h_a^2 variaram de 0,474 para o CAP a um ano de idade, até 0,596 para a ALT aos três anos de idade. Os menores valores de h_a^2 foram obtidos utilizando a matriz-H, variando de 0,391 para o CAP a um ano de idade, até 0,487 para a ALT aos dois anos de idade.

Com o aumento no número de repetições clonais utilizado para a estimativa de h_a^2 , a matriz-H apresentou sempre os maiores valores estimados, chegando ao valor máximo de 0,876 para a ALT aos três anos de idade. Independentemente da matriz utilizada e o caráter analisado, todas as estimativas seguiram a tendência e foram superiores, conforme o aumento do número de repetições clonais.

Com relação aos caracteres, as maiores estimativas de h_a^2 foram obtidos para ALT, seguido por CAP e VOL. Com o avanço da idade, houve uma tendência de aumento dos valores estimados de h_a^2 para os três caracteres, matrizes e número de repetições clonais utilizados, sendo que os maiores valores foram obtidos aos três anos de idade, utilizando a matriz-H e cinco repetições clonais do Teste de Progênies Clonadas. Observando as estimativas em relação ao número de repetições clonais, as maiores evoluções nos valores estimados de h_a^2 , foram obtidas entre um e três repetições clonais, sendo que houve tendência de estabilização dos valores entre três e cinco repetições, para todos os caracteres e matrizes utilizadas.

Tabela 2: Estimativas de herdabilidade no sentido restrito (h_a^2) e desvio padrão ($\pm$) para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em função da matriz de parentesco (A, Ac e H), em três idades no teste de progênie clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS.

Idade	Caráter	REP	A	Ac	H
1 ano	CAP	1	0.474 (0.007)	0.511 (0.008)	0.391(0.016)
		2	0.504 (0.006)	0.542 (0.006)	0.546(0.009)
		3	0.527 (0.005)	0.564 (0.005)	0.637(0.007)
		4	0.535 (0.005)	0.571 (0.005)	0.677(0.006)
		5	0.537 (0.005)	0.574 (0.005)	0.691(0.006)
	ALT	1	0.525 (0.006)	0.557 (0.006)	0.425(0.015)
		2	0.570 (0.005)	0.604 (0.005)	0.628(0.007)
		3	0.591 (0.005)	0.625 (0.005)	0.717(0.005)
		4	0.602 (0.005)	0.636 (0.005)	0.753(0.005)
		5	0.603 (0.005)	0.637 (0.005)	0.762(0.004)
	VOL	1	0.483 (0.007)	0.513 (0.008)	0.406(0.015)
		2	0.509 (0.005)	0.544 (0.006)	0.565(0.009)
		3	0.529 (0.005)	0.564 (0.005)	0.647(0.007)
		4	0.535 (0.005)	0.570 (0.005)	0.680(0.006)
		5	0.536 (0.005)	0.570 (0.005)	0.690(0.006)
2 anos	CAP	1	0.563 (0.005)	0.601 (0.005)	0.467(0.014)
		2	0.616 (0.004)	0.653 (0.004)	0.701(0.006)
		3	0.629 (0.004)	0.663 (0.004)	0.765(0.004)
		4	0.631 (0.004)	0.664 (0.004)	0.781(0.004)
		5	0.628 (0.005)	0.660 (0.004)	0.785(0.004)
	ALT	1	0.572 (0.004)	0.613 (0.004)	0.487(0.013)
		2	0.636 (0.004)	0.675 (0.004)	0.734(0.005)
		3	0.662 (0.004)	0.697 (0.004)	0.806(0.004)
		4	0.672 (0.004)	0.705 (0.004)	0.826(0.003)
		5	0.672 (0.004)	0.705 (0.004)	0.831(0.003)
	VOL	1	0.551 (0.005)	0.587 (0.005)	0.468(0.014)
		2	0.599 (0.004)	0.638 (0.004)	0.684(0.006)
		3	0.613 (0.004)	0.649 (0.004)	0.749(0.005)
		4	0.615 (0.005)	0.649 (0.004)	0.765(0.004)
		5	0.612 (0.005)	0.646 (0.005)	0.770(0.004)
3 anos	CAP	1	0.573 (0.004)	0.607 (0.005)	0.439(0.015)
		2	0.632 (0.004)	0.669 (0.004)	0.724(0.005)
		3	0.647 (0.004)	0.682 (0.004)	0.793(0.004)
		4	0.651 (0.004)	0.685 (0.004)	0.813(0.003)
		5	0.650 (0.004)	0.684 (0.004)	0.818(0.003)
	ALT	1	0.596 (0.004)	0.627 (0.004)	0.429(0.016)
		2	0.679 (0.003)	0.715 (0.003)	0.781(0.004)
		3	0.701 (0.004)	0.737 (0.003)	0.854(0.003)
		4	0.712 (0.004)	0.746 (0.003)	0.874(0.002)
		5	0.709 (0.004)	0.744 (0.004)	0.876(0.002)
	VOL	1	0.565 (0.004)	0.598 (0.005)	0.460(0.014)
		2	0.604 (0.004)	0.642 (0.004)	0.689(0.006)
		3	0.620 (0.004)	0.657 (0.004)	0.763(0.004)
		4	0.623 (0.004)	0.659 (0.004)	0.784(0.004)
		5	0.622 (0.005)	0.658 (0.004)	0.791(0.004)

Fonte: Produção do próprio autor.

4.3 Efeito do número de repetições e da matriz de parentesco na acurácia

Independentemente da matriz de parentesco, houve o aumento da acurácia e redução da variação entre os valores mínimos e máximos com o aumento do número de repetições clonais (Tabela 3; Figura 3). O ganho mais expressivo foi observado entre uma e duas repetições clonais, a partir da terceira até a quinta repetições clonais os valores de acurácia tiveram uma tendência de estabilizar (Figura 3).

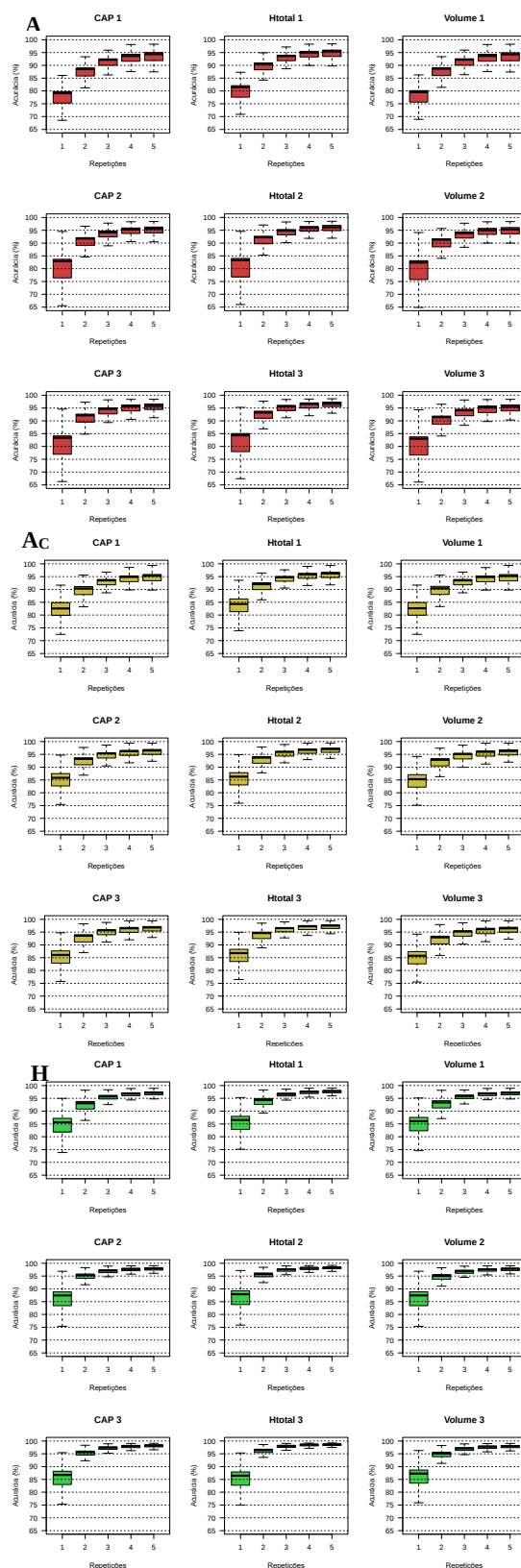
Os maiores valores de acurácia foram observados na matriz-H, seguido pela matriz-Ac e matriz-A para todas os caracteres, idade e repetições clonais avaliados (Figura 4). Os menores valores de acurácia foram observados quando utilizado apenas uma repetição clonal para estimativa, situação semelhante ao teste de progênie convencional. Assim como observado para os valores de h_a^2 os maiores valores de acurácia foram observados para o caráter ALT, para todas as idades, repetições clonais e matrizes de parentesco (Tabela 3).

Tabela 3: Estimativas de acurácia e de desvio padrão (valores entre parênteses) obtidas em função da matriz de parentesco (A, Ac e H), para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em três idades no teste de progênie clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS.

Caráter	REP	1 Ano			2 Anos			3 Anos		
		A	Ac	H	A	Ac	H	A	Ac	H
CAP	1	0.7663 (0.0635)	0.8131 (0.0613)	0.8331 (0.0641)	0.8026 (0.0667)	0.8411 (0.0635)	0.8518 (0.0622)	0.8072 (0.0644)	0.8436 (0.0615)	0.8447 (0.0628)
	2	0.8657 (0.0477)	0.8885 (0.0488)	0.9174 (0.0372)	0.8997 (0.0456)	0.9165 (0.0455)	0.9420 (0.0342)	0.9052 (0.0425)	0.9210 (0.0438)	0.9460 (0.0329)
	3	0.9064 (0.0375)	0.9215 (0.0395)	0.9485 (0.0279)	0.9300 (0.0338)	0.9409 (0.0373)	0.9634 (0.0247)	0.9346 (0.0298)	0.9451 (0.0338)	0.9669 (0.0238)
	4	0.9239 (0.0343)	0.9358 (0.0373)	0.9605 (0.0246)	0.9427 (0.0289)	0.9511 (0.0343)	0.9701 (0.0235)	0.9468 (0.0255)	0.9549 (0.0321)	0.9735 (0.0230)
	5	0.9303 (0.0347)	0.9410 (0.0376)	0.9644 (0.0242)	0.9465 (0.0294)	0.9542 (0.0346)	0.9723 (0.0235)	0.9510 (0.0259)	0.9583 (0.0323)	0.9755 (0.0229)
ALT	1	0.7885 (0.0643)	0.8290 (0.0609)	0.8428 (0.0617)	0.8062 (0.0669)	0.8452 (0.0635)	0.8569 (0.0611)	0.8167 (0.0647)	0.8502 (0.0615)	0.8418 (0.0634)
	2	0.8876 (0.0456)	0.9054 (0.0474)	0.9320 (0.0329)	0.9055 (0.0449)	0.9219 (0.0449)	0.9472 (0.0332)	0.9186 (0.0409)	0.9324 (0.0427)	0.9551 (0.0313)
	3	0.9228 (0.0340)	0.9346 (0.0373)	0.9589 (0.0253)	0.9373 (0.0319)	0.9473 (0.0360)	0.9685 (0.0236)	0.9461 (0.0266)	0.9552 (0.0318)	0.9743 (0.0225)
	4	0.9383 (0.0298)	0.9475 (0.0346)	0.9686 (0.0225)	0.9501 (0.0260)	0.9577 (0.0325)	0.9747 (0.0226)	0.9574 (0.0214)	0.9643 (0.0299)	0.9797 (0.0220)
	5	0.9432 (0.0301)	0.9517 (0.0348)	0.9715 (0.0223)	0.9541 (0.0261)	0.9609 (0.0326)	0.9767 (0.0226)	0.9605 (0.0217)	0.9668 (0.0301)	0.9809 (0.0220)
VOL	1	0.7701 (0.0636)	0.8138 (0.0612)	0.8373 (0.0631)	0.7973 (0.0665)	0.8365 (0.0634)	0.8520 (0.0622)	0.8038 (0.0643)	0.8406 (0.0615)	0.8505 (0.0615)
	2	0.8673 (0.0476)	0.8892 (0.0487)	0.9209 (0.0361)	0.8948 (0.0462)	0.9127 (0.0459)	0.9393 (0.0347)	0.8970 (0.0435)	0.9143 (0.0445)	0.9404 (0.0341)
	3	0.9069 (0.0374)	0.9215 (0.0395)	0.9498 (0.0276)	0.9263 (0.0347)	0.9380 (0.0379)	0.9614 (0.0252)	0.9285 (0.0313)	0.9402 (0.0348)	0.9632 (0.0245)
	4	0.9241 (0.0342)	0.9355 (0.0374)	0.9607 (0.0245)	0.9394 (0.0301)	0.9486 (0.0349)	0.9685 (0.0239)	0.9415 (0.0274)	0.9506 (0.0331)	0.9704 (0.0235)
	5	0.9299 (0.0348)	0.9403 (0.0377)	0.9642 (0.0243)	0.9437 (0.0306)	0.9520 (0.0352)	0.9709 (0.0238)	0.9462 (0.0278)	0.9544 (0.0334)	0.9729 (0.0235)

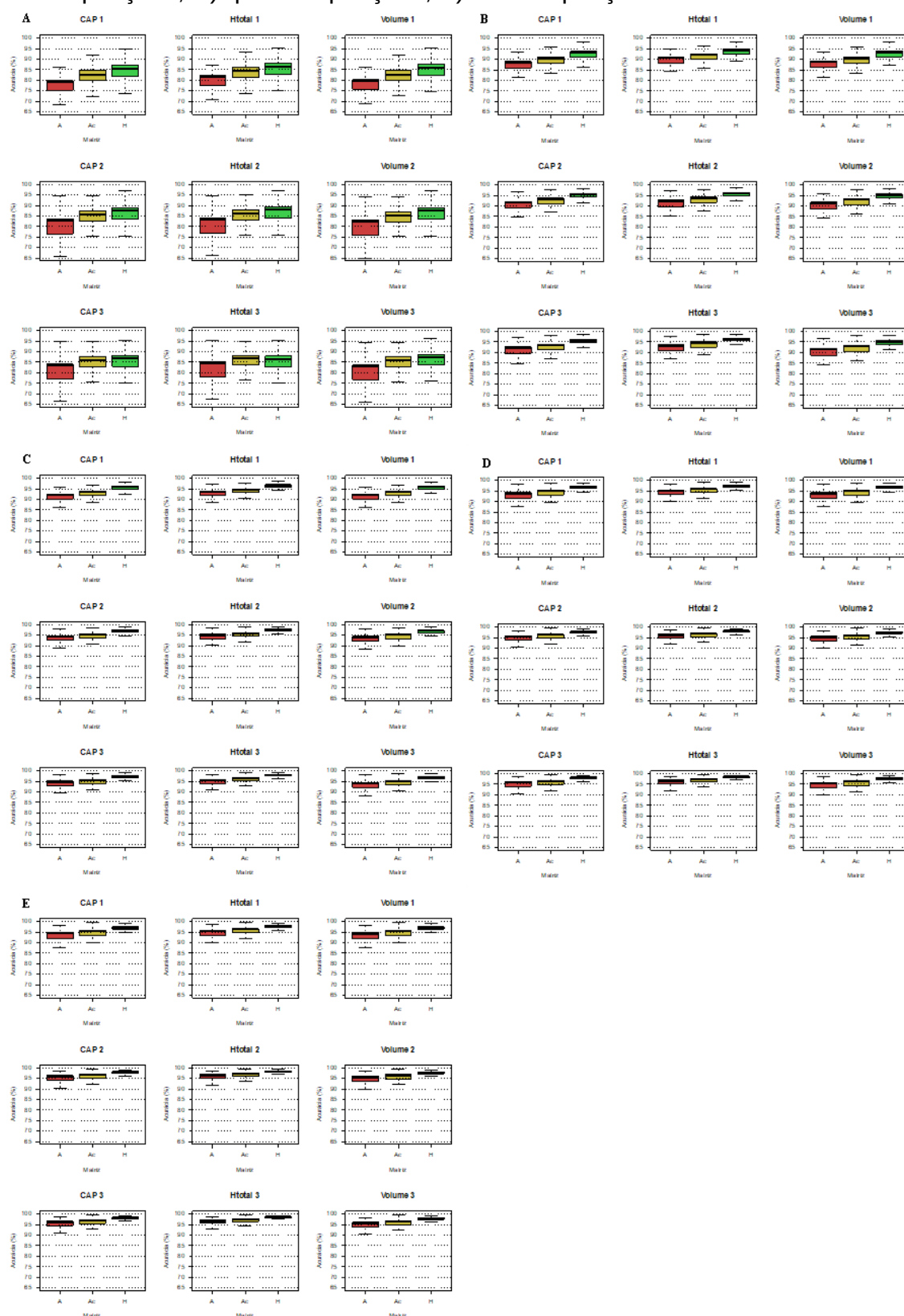
Fonte: Produção do próprio autor.

Figura. 3: Evolução da Acurácia em função do aumento do número de repetições clonais dentro de cada uma das matrizes de parentesco: A (Matriz-A), Ac (Matriz-Ac) e H (Matriz-H), para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em três idades no teste de progênie clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 4: Evolução da acurácia em função das matrizes de parentesco e repetições clonais, para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em três idades no teste de progênies clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS. A) uma repetição; B) duas repetições; C) três repetições; D) quatro repetições; E) cinco repetições.



Fonte: Produção do próprio autor.

4.4 Seleção

Dos clones presentes nos experimentos, foram selecionados os 100 melhores clones segundo o ranqueamento obtidos por meio dos BLUPs, para o caráter volume individual, representando uma intensidade de seleção de 3,2%. Não foi levado em consideração a estrutura de famílias, ou seja, algumas famílias podem ter sido representadas em maior quantidade de indivíduos selecionados. Após identificados os clones selecionados foram realizadas as seguintes comparações a partir do uso dos três tipos de matriz de parentesco: Matriz-A x Matriz-H e Matriz-Ac x Matriz-H. Como a maior parte da população (79,26%) foi genotipada, espera-se que a Matriz-H represente o mais próximo possível do parentesco realizado entre os clones.

4.4.1 Ranqueamento comparando as diferentes matrizes de parentesco

Os clones foram ranqueados em gráficos, considerando as matrizes de parentesco: A (eixo X) e H (eixo Y), utilizando de um a cinco repetições clonais do TPC, sendo que a faixa verde dos gráficos representa os 100 clones selecionados (Figura 5). Em destaque no canto superior esquerdo e inferior direito tem-se o número de clones que não estão presentes no Top-100 da outra matriz que está sendo comparada (Figura 5). Por exemplo, para o CAP1 na análise utilizando uma repetição clonal, 64 clones seriam ranqueados entre os Top-100 utilizando a matriz-A, mas quando se utiliza a matriz-H eles não teriam mérito para serem selecionados e estariam fora do Top-100, ou seja, há uma superestimativa dos valores genéticos desses clones. O inverso também acontece, se for utilizada a matriz-A, 63 clones deixariam de ser selecionados por uma subestimativa dos seus valores genéticos. Esse mesmo padrão ocorre para todos os caracteres e o efeito das repetições reduziu a divergência entre o ranqueamento das duas matrizes, chegando ao menor valor quando se utiliza as cinco repetições na análise. O mesmo padrão apresentado, pode ser observado no ranqueamento dos clones quando se utiliza as matrizes de parentesco Ac e H nos eixos X e Y, respectivamente (Figura 6). Os gráficos A, B, C, D e E, representam a análise utilizando uma, duas, três, quatro e cinco repetições clonais do TPC (Figura 6), respectivamente. No entanto, os possíveis erros de

ranqueamento destacados anteriormente foram reduzidos, apresentando menos indivíduos com divergência de ranqueamento entre matrizes Ac e H (Figura 6).

Figura 5: Comparação entre o ranqueamento utilizando a Matriz-H (eixo y) e Matriz-A (eixo x), para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em três idades no teste de progênies clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS. A) uma repetição; B) duas repetições; C) três repetições; D) quatro repetições; E) cinco repetições.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 6: Comparação entre o ranqueamento utilizando a Matriz-H (eixo y), e Matriz-Ac (eixo x), para circunferência a altura do peito (CAP), altura total (ALT) e Volume (VOL), em três idades no teste de progênies clonadas em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS. A) uma repetição; B) duas repetições; C) três repetições; D) quatro repetições; E) cinco repetições.

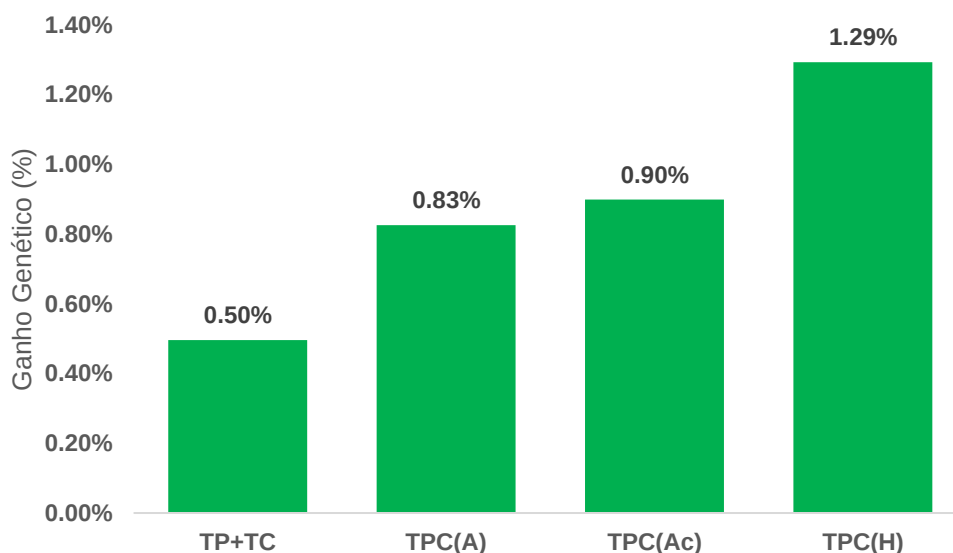


Fonte: Produção do próprio autor.

4.4.2 Ganhos com a seleção

Os ganhos com a seleção dos TOP100 clones para o caráter volume individual estimados utilizando a equação do melhorista $R = \frac{ir\sigma_a}{L}$, proporcionaram a comparação entre os ganhos com a seleção obtidos por meio do método tradicional utilizando Teste de Progenie + Teste Clonal e Teste de Progenies Clonadas com a utilização das matrizes de parentesco: A, Ac e H (Figura 7). A utilização do TPC propiciou melhores estimativas da acurácia, variação genética e a redução do intervalo entre as gerações, com isso houve um grande impacto na simulação do ganho quando foi comparado ao método tradicional. Utilizando TP+TC os ganhos esperados por ano foram de 0,50%. Quando se utilizou o TPC, os ganhos esperados por ano variaram de 0,83% até 1,29%, demonstrando que uma melhor estimativa dos parâmetros genéticos obtida por meio do TPC pode trazer muito mais eficiência ao programa de melhoramento de *Eucalyptus* spp.

Figura 7: Potencial ganho anual com a seleção para o caráter volume individual utilizando a equação do melhorista e parâmetros obtidos pelas análises estatísticas aos três anos de idade em *Eucalyptus* spp. na região de Três Lagoas, MS.



Fonte: Produção do próprio autor.

5 DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro relato de um teste de progênie clonada para o gênero *Eucalyptus* spp. utilizando dados reais de campo. O estudo avaliou o potencial de utilização do uso do TPC associados a matrizes de parentesco em programas de melhoramento envolvendo as espécies *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e híbridos.

5.1 Efeito do uso de teste de progênes clonadas e matrizes de parentesco

Das progênes utilizadas nesse estudo, 19% são provenientes de polinização controlada em pomar de cruzamentos em vasos (11 famílias) e 81% são provenientes de polinização aberta em pomar de recombinação dos melhores clones da Suzano (47 famílias). A recombinação nesse tipo de pomar é uma etapa de grande importância para o melhoramento florestal (Martins, 2023). Na formação dos pomares podem ocorrer erros de identificação (Slavov *et al.*, 2005; Kaya; Isik 2010; Przybylski *et al.* 2019). Com isso o uso de marcadores moleculares pode ser uma ferramenta interessante para o controle de qualidade da identidade genética dos genótipos utilizados na formação do pomar (White *et al.*, 2007; Martins 2023). Outra vantagem do uso dos marcadores moleculares foi a reconstrução do *pedigree*, determinando uma relação mais precisa do parentesco entre os clones avaliados no experimento, o que resulta em melhores estimativas dos parâmetros genéticos (Martins *et al.*, 2024), que será discutida ao longo desse estudo.

Os valores estimados de h_a^2 para os três caracteres de crescimento avaliados, foram classificados de acordo com Ziegler e Tambarussi (2022). Todos os valores foram considerados de alta a muito alta magnitude, no entanto houve diferenças entre as matrizes de parentesco utilizadas nas estimativas das h_a^2 . Assim, para o caráter CAP, a matriz-A proporcionou valores considerados de alta magnitude a um ano de idade e uma e duas repetições clonais utilizadas na estimativa, todos os outros valores foram considerados de muito alta magnitude. A matriz-Ac proporcionou valor considerado de alta magnitude a um ano de idade e uma repetição clonal utilizada na estimativa e todos os outros valores foram considerados de alta magnitude. A matriz-H proporcionou padrão diferente,

sendo que em todas as situações os valores obtidos utilizando apenas uma repetição clonal do experimento foram considerados de alta magnitude e os demais valores foram considerados de muito alta magnitude.

Para o caráter ALT, as matrizes A e Ac apresentaram valores considerados de muito alta magnitude, independentemente da idade e número de repetições clonais utilizados na estimativa. Com a matriz-H, obteve-se o mesmo padrão observado para o CAP e todos os valores obtidos utilizando apenas uma repetição clonal do experimento foram considerados de alta magnitude e os demais valores foram considerados muito alta magnitude.

Para o caráter VOL, houve pequenas diferenças em relação aos demais caracteres, sendo que com a matriz-A a um ano de idade e utilizando entre uma e três repetições clonais na estimativa os valores obtidos foram considerados de alta magnitude e todos os demais valores foram considerados de muito alta magnitude. Para as matrizes Ac e H, apenas as estimativas obtidas com um ano de idade e utilizando uma repetição clonal foram considerados de alta magnitude, todos os demais valores foram considerados de magnitude muito alta. Esses valores aumentaram à medida que o número de repetições clonais também aumentou, desta forma, a h_a^2 foi maior quando atribuído cinco repetições clonais na análise do experimento. Nesse sentido, o TPC demonstrou elevada eficiência, pois a clonagem dos indivíduos dentro das progênie tende a reduzir o efeito do ambiente sobre a média do clone (Walker *et al.*, 2022; Ramalho *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2024), impactando numa melhor estimativa das herdabilidades, o que potencialmente aumenta os ganhos obtidos com a seleção independentemente da fase do programa de melhoramento.

Quando utilizada apenas uma das repetições clonais do experimento para a estimativa, o que seria a situação equivalente ao teste de progênie convencional utilizado no melhoramento florestal, as informações de *pedigree* (matriz A) e de *pedigree* corrigido (matriz Ac) proporcionaram herdabilidades superiores a matriz de parentesco que utiliza as informações genômicas (matriz H). Este mesmo padrão foi observado por outros autores em estudos com diversas espécies florestais, como *Eucalyptus* spp. (Muller *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2019; Paludeto *et al.*, 2021), *Pinus* spp. (Calleja-Rodriguez *et al.*, 2020; Walker *et al.*, 2022), *Picea* spp. (Beaulieu *et al.*, 2014; Lenz *et al.*, 2017; 2019; 2020) e híbridos de *Populus* spp. (Pégard *et al.*, 2020). No entanto, esses valores de herdabilidade podem estar superestimados (Beaulieu *et al.*, 2022), pois para

uma estimativa mais precisa é necessário levar em consideração o parentesco que existe entre os indivíduos das progênies, uma vez que em progênies de polinização aberta assume-se que não haja parentesco entre os pais (Lima *et al.*, 2019) e nem erros advindos do *pedigree* informado, isso pode produzir estimativas inflacionadas de ganhos de seleção (Bush *et al.*, 2011; Tambarussi *et al.*, 2018; Beaulieu *et al.*, 2022). Porém, ao utilizar a matriz-H construída por meio dos marcadores moleculares SNPs, foi possível acessar o parentesco entre os indivíduos por meio de uma matriz de parentesco genômico (Hayes *et al.*, 2009), implicando em uma estimativa não viesada dos parâmetros genéticos e ganhos com a seleção (Grattapaglia, 2022).

Vários estudos têm relatado pequenas variações nas estimativas de h_a^2 ao usar relações genômicas; às vezes maiores, considerando o DAP e a altura de *Eucalyptus pellita* (Thavamanikumar *et al.*, 2020) e *Pinus taeda* (Walker *et al.*, 2022), e às vezes menores para o grau de desfolhamento e fração de folhagem adulta no dossel de *E. globulus* (Quezada *et al.*, 2022). Nesse contexto o método ssGBLUP (matriz-H), demonstra ser mais eficiente quando comparado ao ABLUP (matriz-A) para diâmetro à altura do peito (DAP) e retilinearidade do caule em *Eucalyptus dunni* (Jurcic *et al.*, 2021) e para DAP, altura, volume e outros cinco caracteres de híbridos de *Eucalyptus* (Cappa *et al.*, 2019). Portanto, esse método tem sido cada vez mais utilizado e se mostrou promissor para avaliar as herdabilidades das espécies florestais. No entanto, vários estudos observaram mudanças na magnitude da variância genética aditiva quando as informações genômicas foram incluídas, o que pode ser explicada pela estrutura da população. Por exemplo, em populações de polinização aberta a suposição de que as famílias sejam de meios-irmãos não é apropriada, pois as estimativas da variância genética aditiva pode mudar com a inclusão de informações genômicas (Gamal El-Dien *et al.*, 2018; Klápště *et al.*, 2018; Walker *et al.*, 2022). Para o sucesso da seleção, é necessário que as estimativas dos parâmetros genéticos e do valor genético dos indivíduos sejam realizadas com a maior acurácia possível (Santos *et al.*, 2024). Ficou evidente que a utilização do TPC impactou de maneira positiva as estimativas de acurácia, pois com o aumento do número de repetições, houve também um aumento das estimativas obtidas. Santos *et al.* (2024) observaram o mesmo padrão de comportamento nas estimativas da acurácia quando se aumenta o número de repetições para avaliação dos clones em teste clonal. Stejskal *et al.* (2022) utilizando dados

simulados, demonstraram que o aumento da repetição clonal em testes de progênies, contribui significativamente para o aumento da acurácia, tendo efeito na precisão da seleção. Walker *et al.* (2022) demonstraram que as estimativas de acurácia obtidas por meio de ssGBLUP foram maiores do que aquelas obtidas com o ABLUP e no mesmo estudo também foi possível observar que com o aumento do número de repetições/ramets por clone, houve um incremento na estimativa de acurácia. Esses estudos corroboram com os resultados obtidos e apresentados.

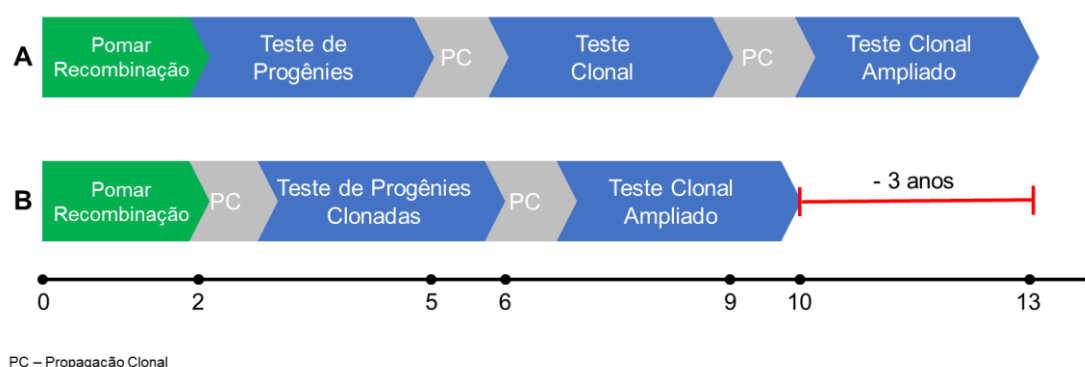
Como já observado, a correlação de performance entre os indivíduos nos testes de progênies e posterior desempenho em testes clonais é muito baixa (Reis *et al.*, 2011; Furtini *et al.*, 2012; Shalizi *et al.*, 2020). Observando os resultados obtidos nos ranqueamento dos 100 melhores clones dentro do TPC, cria-se a hipótese que um dos motivos possa ser possíveis erros no *pedigree* e/ou cálculos do valor genético dos indivíduos, conforme já foi citado anteriormente. No entanto, assim como as estimativas de herdabilidade e acurácias foram superiores quando se utiliza mais repetições clonais para obtê-las, observa-se que o ranqueamento também apresentou maior semelhança entre as matrizes baseadas em *pedigree* (A e A_c) e a matriz que utiliza informação de genômica (H). A partir desses resultados, é possível inferir que a utilização do TPC se torna uma ferramenta poderosa na seleção, mesmo quando não se tem informações genômicas disponíveis.

5.2 Implicações para o programa de melhoramento de espécies florestais

Considerando o uso do TPC, vários elementos da "equação do melhorista" podem ser influenciados positivamente, impactando os ganhos obtidos com a seleção. Um dos maiores problemas observados pelos melhoristas florestais, é sem dúvida, o longo tempo de espera entre os testes de melhoramento em campo. Há muito tempo vem se pensando formas de reduzir esse tempo. O uso do TPC pode ser uma ferramenta utilizada com esse intuito, pois já propicia uma aceleração do programa de melhoramento, reduzindo uma das etapas do *pipeline* que consiste na avaliação de indivíduos em teste de progênies, pois o TPC reúne o teste de progênie e o teste clonal em um único experimento, reduzindo assim, o tempo para obtenção dos ganhos genéticos.

Segundo Resende *et al.* (2012), um programa de melhoramento convencional de *Eucalyptus* spp. demanda cerca de 18 anos para obter um clone para plantio em escala comercial. Se o programa de melhoramento utilizar seleção precoce, aos três anos de idade, o tempo para obtenção de um clone comercial poderá ser reduzido para 13 anos (Figura 8 – A). Assim, os resultados do presente estudo mostraram um potencial redução de mais quatro anos no ciclo para obtenção dos clones operacionais (Figura 8 - B). Outra informação extremamente relevante, é que o uso do TPC também propiciou a redução dos possíveis erros no ranqueamento dos indivíduos que impactam diretamente no sucesso do melhoramento florestal.

Figura 8: Esquema comparando o tempo (y = anos) necessário para desenvolver um clone operacional por meio do melhoramento convencional (A), e melhoramento utilizando o TPC (B) em *Eucalyptus* spp.



Fonte: Produção do próprio autor.

Além do tempo, outros elementos como a acurácia são influenciados pelo uso do TPC, pois o aumento da acurácia irá propiciar uma seleção muito mais assertiva e confiável, permitindo a utilização de maiores intensidade de seleção. As estimativas de variância também são mais precisas com o a utilização do TPC, resultando em estimativas de herdabilidades de maior magnitude, devido a menor influência do ambiente nos experimentos. Assim como a acurácia, com estimativas de herdabilidades maiores, o melhorista pode utilizar maiores intensidades de seleção para obter ganhos de seleção ainda maiores. Nesse estudo foi observado que o uso do TPC propiciou ganhos de maiores magnitudes com a seleção quando comparados ao que seria um teste de progênes convencional, saindo de 0,5% e alcançando 0,92%, 1,00% e 1,44% ao ano para o TPC associado a matriz-A, matriz-Ac e matriz-H, respectivamente. Visto que o

melhoramento genético é uma das etapas mais estratégicas para um negócio florestal (Rezende *et al.*, 2019), os ganhos obtidos por meio do uso do TPC podem significar um aumento no retorno econômico da empresa que utilizar essa ferramenta para incrementar a produtividade florestal. Essa tendência de aumento nos ganhos com a seleção também foi observada em modelos de simulação por Stejskal *et al.* (2022) e Ramalho *et al.* (2023) e em *Pinus taeda* por Walker *et al.* (2022) em experimentos semelhantes ao TPC.

Do ponto de vista prático, o uso do TPC pode mitigar o problema de baixa correlação entre o desempenho dos indivíduos em teste de progênies (TP) e teste clonal (TC), que é verificado por diversos autores (Reis *et al.*, 2011; Furtini *et al.*, 2012; Shalizi *et al.*, 2020). Por causa deste problema, muitas vezes o melhorista não pode aplicar grandes intensidades de seleção na primeira etapa do programa de melhoramento, pois pode descartar bons genótipos, e isso pode acarretar uma diminuição no ganho genético e sucesso na obtenção de novos clones. Dessa forma, a baixa correlação de desempenho entre os indivíduos no TP e no TC com a baixa quantidade de indivíduos por progênies, sejam os grandes problemas a serem sanados nos experimentos.

Pensando no contexto do melhoramento florestal, a seleção genômica tem grande potencial de aumentar a taxa de ganho anual, pois é possível selecionar os melhores genitores em plantas jovens, sem esperar a expressão do seu fenótipo que dependendo da espécie podem levar diversos anos (McKeand; Bridgwater 1998, Isik; McKeand 2019). A estratégia clássica para iniciar os trabalhos de seleção genômica, seria genotipar uma população em teste de progênies que já foi fenotipada para o treinamento do modelo e aplicar esse modelo a uma nova população criada por meio da recombinação dos indivíduos selecionados na população de treinamento (Isik, 2014; Resende *et al.*, 2017). No entanto é possível usufruir de uma oportunidade que algumas vezes é negligenciada nessa estratégia: o conhecimento das relações genômicas proporcionam o aumento imediato no ganho genético, pois melhora a precisão da seleção na população de treinamento. Esta descoberta sugere que o esforço de genotipagem nas fases iniciais de uma estratégia de seleção genômica deve ocorrer antes da seleção da descendência da população de formação para obter um retorno imediato do investimento na seleção genômica (Walker *et al.*, 2022).

A união de TPC e seleção genômica tem potencial para tornar-se uma poderosa ferramenta para obtenção de ganhos de alta magnitude no melhoramento, pois esse tipo de experimento pode impactar positivamente diversos elementos que são importantes para o sucesso da seleção genômica. No treinamento dos modelos de seleção é preciso um empenho efetivo na fenotipagem dos caracteres que serão alvo de predição nos indivíduos candidatos a seleção que não serão fenotipados (Grattapaglia, 2022). Portanto, sempre que possível, o ideal é que a população de treinamento seja propagada via clonagem, e assim forneça uma precisão adicional nas obtenções dos BLUPs, pois assim, é possível propagar uma grande quantidade de plantas e distribuí-las em diferentes ambientes alvos do melhoramento, gerando assim, modelos que contemplem a interação genótipos x ambientes e/ou modelos específicos para cada condição (Durán *et al.*, 2017; Grattapaglia, 2022; Beaulieu *et al.*, 2022).

O TPC pode mitigar o problema da necessidade de recalibrar os modelos de seleção genômica, que ocorre com o avanço das gerações de recombinação nos programas de melhoramento, o qual causa a redução da eficiência da capacidade de predição (Grattapaglia, 2022). Os genótipos selecionados para o *pipeline* por meio da seleção genômica, podem ser levados para um novo TPC, o qual será uma fonte de dados para a recalibração do modelo. Os benefícios advindos do uso do TPC associado a seleção genômica, pode otimizar ainda mais a integração de novas tecnologias, como ambiente e fenotipagem de alto rendimento. Essas novas rotinas inseridas ao *pipeline*, irão reduzir o tempo dos programas de melhoramento e disponibilizar novos cultivares com ótimo desempenho em campo. Em meio aos desafios causados pelas mudanças climáticas, e o aumento da ocorrência de estresses bióticos e abióticos (Crossa *et al.*, 2010), o uso do TPC associado a seleção genômica pode gerar uma ferramenta robusta e assertiva frente a esses desafios.

Esses resultados demonstram a eficiência e viabilidade do uso do TPC nos programas de melhoramento de espécies florestais que podem ser clonadas, aumentando assim, sua eficiência no momento da avaliação e seleção dos melhores indivíduos. O TPC também apresenta a vantagem de realizar duas etapas importantes e demoradas em apenas um teste. Isso irá impactar significativamente nos programas de melhoramento reduzindo tempo na seleção dos melhores genótipos que serão clonados, e dos genitores que serão

recombinados para a obtenção da próxima população que será alvo da seleção (Walker *et al.*, 2022; Ramalho *et al.*, 2024).

Ambas as técnicas (Seleção Genômica Ampla + TPC) se aplicadas conjuntamente podem acelerar a taxa anual do ganho genético em espécies florestais pois, ajudam na redução do ciclo reprodutivo (Walker *et al.*, 2022). Com a utilização do TPC e de marcadores moleculares para obtenção de valores genéticos genômicos, é possível selecionar indivíduos jovens para serem usados como pais na próxima geração, bem como obter os resultados dos testes clonais, sem ter que esperar pela manifestação do seu fenótipo. Dessa forma, a utilização do TPC e da matriz de parentesco mais informativa (matriz-H), nesta pesquisa em *Eucalyptus* spp., evidenciaram maior acurácia na estimativa dos parâmetros genéticos e uma maior precisão dos ganhos na seleção.

Independentemente da espécie, erros de *pedigree* estão presentes em programas de melhoramento florestal (Beaulieu *et al.*, 2022), plantações (Yabe *et al.*, 2018) e em gado (Nwogwugwu *et al.*, 2020). Assim essa abordagem utilizando as matrizes de parentesco para reconstrução de *pedigree* podem ser utilizadas também para mitigar esses possíveis erros (Martins *et al.*, 2024). A aplicação de cinco repetições clonais aumentou significativamente a acurácia de todos os caracteres avaliados. Essa alta magnitudes podem justificar o trabalho extra com a clonagem das mudas e com a genotipagem das árvores, uma vez que o objetivo é selecionar indivíduos com alto desempenho que irão compor os plantios operacionais. O que ainda pode e deve ser avaliado com maior cuidado é o custo para a propagação dos genótipos, no entanto, esta ferramenta será utilizada nas populações de melhoramento mais importantes das empresas, sendo assim é válido um maior investimento para que se obtenha ganhos mais expressivos. Com isso é possível explorar também outros métodos de propagação que possam ser mais eficientes na obtenção de maior quantidade de mudas para a instalação dos TPC, como é o caso da micropropagação.

Ainda se faz necessário estudos mais aprofundados em relação aos efeitos de dominância e epistasia que podem ser estimados com as matrizes de parentesco mais informativas obtidas por meio dos marcadores SNPs. No entanto, esse foi um primeiro trabalho com dados obtidos dos experimentos implantados nas áreas da Suzano SA, que demonstram o grande potencial de obtenção de ganhos que podem impulsionar a produtividade no setor florestal.

6 CONCLUSÃO

A utilização do teste de progênie clonadas (TPC) associada à matrizes de parentesco, obtidas a partir de marcadores moleculares, em programas de melhoramento de *Eucalyptus* spp. apresenta viabilidade e vantagens por: i) reduzir o tempo do ciclo de melhoramento em até três anos, por unir duas etapas da experimentação em apenas uma, mais robusta e que apresenta resultados mais satisfatórios, contribuindo para uma seleção mais assertiva dos clones e genitores dentro do programa de melhoramento florestal; ii) diminuir o efeito ambiental sobre os indivíduos avaliados nos testes de progênie, melhorando e aumentando as estimativas dos valores de herdabilidade, acurácia e os ganhos obtidos na seleção; iii) a utilização da matriz-H demonstrou ser mais eficiente devido a melhores estimativas das herdabilidades, das acurácias e por corrigir possíveis erros *pedigree* que podem acontecer no programa de melhoramento; iv) no entanto o uso do TPC reduz a diferença entre as matrizes obtidas por meio do *pedigree* (Matriz-A e Ac) e dos marcadores moleculares (Matriz-H); v) por ser uma experimentação mais robusta, o que permite a sua utilização com novas tecnologias, que vem sendo empregadas no melhoramento florestal como a seleção genômica ampla; vi) ainda são necessários estudos mais elaborados para entender os efeitos não aditivos, que podem ser melhor estimados por meio do uso dos marcadores moleculares.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 93, p. 743-752, 2010. DOI: 10.3168/jds.2009-2730.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507.
- ARAUJO, M.J., PAULA, R.C., CAMPOE, O.C., CARNEIRO, R.L. Adaptability and stability of eucalypt clones at different ages across environmental gradients in Brasil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 454, n.117631, p.1-12, 2019.
- ASSAD, E.D., MONTEIRO, J.E.B.A., PUGLIERO, V.S. Mudanças do clima e a cultura do eucalipto. *In*: OLIVEIRA E. B., PINTO-JUNIOR, J. E. **O eucalipto e a Embrapa**: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento. Brasília: Embrapa, 2021. p. 357-396.
- ASSIS, T. F., RESENDE, M. D. V. Genetic improvement of forest tree species. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v.11, p. 44-49, 2011.
- BEAULIEU, J., DOERKSEN, T., CLÉMENT, S., MACKAY, J.; BOUSQUET, J. Accuracy of genomic selection models in a large population of open-pollinated families in white spruce. **Heredity**, London, v. 113, p. 342-352, 2014.
- BEAULIEU, J.; LENZ, P.; BOUSQUET, J. Metadata analysis indicates biased estimation of genetic parameters and gains using conventional pedigree information instead of genomic-based approaches in tree breeding. **Scientific Reports**, London, v. 12, p. 3933, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-07991-0.
- BINKLEY, D.; CAMPOE, O.C.; ALVARES, C.; CARNEIRO, R.L. CEGATTA, I.; STAPE, J.L. The interactions of climate, spacing and genetics on clonal eucalyptus plantation across Brazil and Uruguay. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 405, p. 271-283, 2017.
- BOOKER, I. Botany of eucalyptus. *In*: COPPEN, JJW. **Eucalyptus**: the genus eucalyptus. London: Taylor & Francis, 2002. p. 3-35.
- BORTHAKUR, D.; BUSOV, V.; CAO, X. H.; DU, Q.; GAILING, O.; ISIK, F.; KO, J.-H.; LI, C.; LI, Q.; NIU, S.; QU, G.; VU, T. H. G.; WANG, X.-R.; WEI, Z.; ZHANG, L.; WEI, H. Current status and trends in forest genomics. **Forest Research**, Seoul, v. 2, p. 1-22, 2022. DOI: 10.48130/FR-2022-0011.
- BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Secretaria de Políticas e Programas de Pesquisa e Desenvolvimento. Coordenação-Geral de Mudanças

Globais de Clima. **Terceira comunicação nacional do Brasil à Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre mudança do clima**: sumário executivo. Brasília, DF: BRASIL, 2016. 45 p.

BURDON, R. D.; SHELBOURNE, C. J. A. The use of vegetative propagules for obtaining genetic information. **New Zealand Journal of Forestry Science**, Rotorua, v. 4, p. 418-425, 1974.

BUSH, D.; KAIN, D.; KANOWSKI, P.; MATHESON, C. Genetic parameter estimates informed by a marker-based pedigree: a case study with *Eucalyptus cladocalyx* in southern Australia. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 11, p. 1-16, 2015. DOI: 10.1007/s11295-014-0798-x.

BUSH, D.; KAIN, D.; MATHESON, C.; KANOWSKI, P. Marker-based adjustment of the additive relationship matrix for estimation of genetic parameters: an example using *Eucalyptus cladocalyx*. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 7, n.1, p. 23-35, 2011. DOI: 10.1007/s11295-010-0312-z.

CALLEJA-RODRIGUEZ, A.; PAN, J.; FUNDA, T.; CHEN, Z.; BAISON, J.; ISIK, F.; ABRAHAMSSON, S.; WU, H. X. Evaluation of the efficiency of genomic versus pedigree predictions for growth and wood quality traits in Scots pine. **BMC Genomics**, London, v. 21, n. 796, p. 1-17, 2020. DOI: 10.1186/s12864-020-07188-4.

CAPPA, E. P.; DE LIMA, B. M.; DA SILVA-JUNIOR, O. B.; GARCIA, C. C.; MANSFIELD, S. D.; GRATTAPAGLIA, D. Improving genomic prediction of growth and wood traits in eucalyptus using phenotypes from non-genotyped trees by single-step GBLUP. **Plant Science**, Shannon, v. 284, p. 9-15, 2019. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.03.017.

CAPPA, E. P.; EL-KASSABY, Y. A.; MUÑOZ, F.; GARCIA, M. N.; VILLALBA, P. V.; KLÁPSTE, J.; MARCUCCI POLTRI, S. N. Improving accuracy of breeding values by incorporating genomic information in spatial-competition mixed models. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 37, n. 125, p. 1-13, 2017. DOI: 10.1007/s11032-017-0725-6.

CARLE, B. J.; DUVAL, A.; ASHFORD, S. The future of planted forests. **The International Forestry Review**, Craven Arms, v. 22, n. 1, p. 65-80, 2020. DOI: 10.1505/146554820829523970.

CASTRO, C.A.O.; RESENDE, R.T.; BHERING, L.L.; CRUZ, C.D. Brief history of eucalyptus breeding in Brasil under perspective of biometric advances. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n.9, p.1585-1593, 2016.

CHANG, C. C.; CHOW, C. C.; TELLIER, L. C.; VATTIKUTI, S.; PURCELL, S. M.; LEE, J. J. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. **GigaScience**, Oxford, v. 4, n.1, p. 1-16, 2015. DOI: 10.1186/s13742-015-0047-8.

CHRISTENSEN, O.F.; LUND, M.S. Genomic prediction when some animals are not genotyped. **Genetics Selection Evolution**, London, v. 42, n. 2, p. 1-8, 2010.

COBB, J. N.; JUMA, R. U.; BISWAS, P. S.; ARBELAÉZ, J. D.; RUTKOSKI, J.; ATLIN, G.; HAGEN, T.; QUINN, M.; NG, E. H. Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: lessons from the breeder's equation. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 132, p. 627-645, 2019. DOI: 10.1007/s00122-019-03317-0.

CROSSA, J.; LOS CAMPOS, G. de; PÉREZ, P.; GIANOLA, D.; BURGUEÑO, J.; ARAUS, J. L.; MAKUMBI, D.; SINGH, R. P.; DREISIGACKER, S.; YAN, J.; ARIEF, V.; BANZIGER, M.; BRAUN, H.-J. Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding using pedigree and molecular markers. **Genetics**, Cary, v. 186, n. 2, p. 713–724, 2010. DOI: 10.1534/genetics.110.118521.

CUNHA, T. Q. G. DA; SANTOS, A. C.; NOVAES, E.; HANSTED, A. L. S.; *et al.* Eucalyptus expansion in Brazil: Energy yield in new forest frontiers. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 144, n. 105900, p. 1-8, 2021. DOI: 10.1016/j.biombioe.2020.105900

DURÁN, R.; ISIK, F.; ZAPATA-VALENZUELA, J.; BALOCCHI, C.; VALENZUELA, S. Genomic predictions of breeding values in a cloned Eucalyptus globulus population in Chile. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 13, n. 74, p. 1-11, 2017. DOI: 10.1007/s11295-017-1158-4.

EL-KASSABY, Y.A.; CAPPA, E.P.; CHEN, C.; RATCLIFFE, B.; PORTH, I.M. Efficient genomics-based 'end-to-end' selective tree breeding framework. **Heredity**, London, v. 132, p. 98-105, 2024.

ELLI, E.F., SENTELHAS, P.C., DE FREITAS, C.H., CARNEIRO, R.L., ALVARES, C.A., Assessing the growth gaps of Eucalyptus plantations in Brazil – magnitudes, causes and possible mitigation strategies. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 451, n. 117464, p. 1-2, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Global forest resources assessment 2020**: main report. Roma: FAO, 2020. 164 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The state of the world's forests 2022**: forest pathways for green recovery and building inclusive, resilient and sustainable economies. Roma: FAO, 2022. 142 p. DOI: 10.4060/cb9360en.

FISHER, R.A. The correlation between relatives on the supposition of mendelian inheritance. **Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, Edinburgh, v. 52, p. 399-433, 1918.

FLORES, T. B., ALVARES, C. A., SOUZA, V. C., STAPE, J. L. **Eucalyptus no Brasil**: zoneamento climático e guia para identificação. Piracicaba: IPEF, 2016. 448 p.

FOSTER, G. S.; SHAW, D. V. Using clonal replicates to explore genetic variation in a perennial plant species. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 76, n. 6, p. 788-794, 1988.

FREITAS, R. G.; VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; ROSADO, A. M.; ROCHA, R. B.; TAKAMI, L. K. Predição de ganhos genéticos em progênies de polinização aberta de *Eucalyptus urograndis* cultivadas em diferentes ambientes e submetidas a diferentes procedimentos de seleção. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 2, p. 25-263, 2009.

FURTINI, I. V.; RAMALHO, M. A. P.; ABAD, J. I. M.; AGUIAR, A. M. Effect of different progeny test strategies in the performance of eucalypt clones. **Silvae Genetica**, Warsaw, v. 61, n. 3, p. 116-120, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1515/sg-2012-0014>.

GAMAL EL-DIEN, O.; RATCLIFFE, B.; KLÁPŠTE, J.; CHEN, C.; PORTH, I.; EL-KASSABY, Y. A. Prediction accuracies for growth and wood attributes of interior spruce in space using genotyping-by-sequencing. **BMC Genomics**, London, v. 16, n. 370, p. 1-16, 2015. DOI: [10.1186/s12864-015-1597-y](https://doi.org/10.1186/s12864-015-1597-y).

GAMAL EL-DIEN, O.; RATCLIFFE, B.; KLÁPŠTE, J.; PORTH, I.; CHEN, C.; EL-KASSABY, Y. A. Multienvironment genomic variance decomposition analysis of open-pollinated Interior spruce (*Picea glauca x engelmannii*). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 38, n. 26, p. 1-12, 2018. DOI: [10.1007/s11032-018-0784-3](https://doi.org/10.1007/s11032-018-0784-3).

GEZAN, S. A.; WHITE, T. L.; HUBER, D. A. Comparison of experimental designs for clonal forestry using simulated data. **Forest Science**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 108-116, 2006. DOI: [10.1093/forestscience/52.1.108](https://doi.org/10.1093/forestscience/52.1.108).

GRATTAPAGLIA, D. Twelve years into genomic selection in forest trees: climbing the slope of enlightenment of marker assisted tree Breeding. **Forests**, Basel, v. 13, n. 1554, p. 1-18, 2022. DOI: [10.3390/f13101554](https://doi.org/10.3390/f13101554).

GRATTAPAGLIA, D.; SILVA-JUNIOR, O. B.; RESENDE, R. T.; CAPP, E. P.; MÜLLER, B. S. F.; TAN, B.; ISIK, F.; RATCLIFFE, B.; EL-KASSABY, Y. A. Quantitative genetics and genomics converge to accelerate forest tree breeding. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. 1693, p. 1-10, 2018. DOI: [10.3389/fpls.2018.01693](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01693).

GRATTAPAGLIA, D. Genômica aplicada à genética e melhoramento de Eucalyptus na Embrapa: 25 anos de avanços e as perspectivas para o futuro. In: OLIVEIRA, E. B.; PINTO-JÚNIOR, J. E. (org.). **O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. Cap. 4, p. 203-267.

HAYES, B. J.; VISSCHER, P. M.; GODDARD, M. E. Increased accuracy of artificial selection by using the realized relationship matrix. **Genetics Research**, Cambridge, v. 91, n. 1, p. 47-60, 2009. DOI: [10.1017/S0016672308009981](https://doi.org/10.1017/S0016672308009981).

HENDERSON, C. R. A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values. **Biometrics**, Oxford, v. 32, n.1, p. 69-83, 1976. DOI: <https://doi.org/10.2307/2529339>.

HENDERSON, C. R. Best linear unbiased prediction using relationship matrices derived from selected base populations. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 68, n.2, p. 443-448, 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80843-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80843-2). Acesso em: 11 jul. 2024.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBA. **Relatório anual**: ano base 2022. Brasília, DF: IBA, 2023. 91 p. Disponível em: <https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2023-r.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2024.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBA. **Relatório anual**: ano base 2023. Brasília, DF: IBA, 2024. 99 p. Disponível em: <https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio2024.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2024.

ISIK, F.; HOLLAND, J.; MALTECCA, C. **Genetic data analysis for plant and animal breeding**. Cham: Springer International, 2017. 400 p.

ISIK, F.; MCKEAND, S. E. Fourth cycle breeding and testing strategy for Pinus taeda in the NC State University Cooperative Tree Improvement Program. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 15, n. 5, p. 1-12, 2019.

ISIK, F. Genomic selection in forest tree breeding: the concept and an outlook to the future. **New Forests**, Dordrecht, v. 45, p. 379-401, 2014.

JURCIC, E. J.; VILLALBA, P. V.; PATHAUER, P. S.; PALAZZINI, D. A.; OBERSCHELP, G. P. J.; HARRAND, L.; GARCÍA, M. N.; AGUIRRE, N. C.; ACUÑA, C. V.; MARTÍNEZ, M. C.; RIVAS, J. G.; CISNEROS, E. F.; LÓPEZ, J. A.; MARCUCCI POLTRI, S. N.; MUNILLA, S.; CAPP, E. P. Single-step genomic prediction of Eucalyptus dunnii using different identity-by-descent and identity-by-state relationship matrices. **Heredity**, London, v. 127, n. 2, p. 176-189, 2021. DOI: 10.1038/s41437-021-00450-9.

KAYA, N.; ISIK, K. Genetic identification of clones and the genetic structure of seed crops in a Pinus brutia seed orchard. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 34, n. 2, p. 127-134, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3906/tar-0904-11>. Acesso em: 11 jul. 2024.

KLÁPŠTĚ, J.; SUONTAMA, M.; DUNGEY, H. S.; TELFER, E. J.; GRAHAM, N. J.; LOW, C. B.; STOVOLD, G. T. Effect of hidden relatedness on single-step genetic evaluation in an advanced open-pollinated breeding program. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 109, n. 7, p. 802-810, 2018. DOI: 10.1093/jhered/esy051.

LEÃO, R.M. **A floresta e o homem**. São Paulo: EDUSP, 2000. 448 p.

LENZ, P.R.N.; BEAULIEU, J.; MANSFIELD, S.D.; CLEMENT, S.; DESPONT, M.; BOUSQUET, J. Factors affecting the accuracy of genomic selection for

growth and wood quality traits in an advanced-breeding population of black spruce (*Picea mariana*). **BMC Genomics**, London, v. 18, n. 335, p. 1-17, 2017.

LENZ, P.R.N.; NADEAU, S.; MOTTET, M.J.; PERRON, M.; ISABEL, N.; BEAULIEU, J.; BOUSQUET, J. Multi-trait genomic selection for weevil resistance, growth and wood quality in Norway spruce. **Evolutionary Applications**, Hoboken, v.13, n. 1, p. 76-94, 2019.

LENZ, P.R.N.; NADEAU, S.; AZALEZ, A.; GERARDI, S.; DESLAURIERS, M.; PERRON, M.; ISABEL, N.; BEAULIEU, J.; BOSQUET, J. Genomic prediction for hastening and improving efficiency of forward selection in conifer polycross mating designs: an example from white spruce. **Heredity**, London, n.4, v. 124, p. 562-578, 2020.

LIMA, B. M. de; CAPPA, E. P.; SILVA-JUNIOR, O. B.; GARCIA, C.; MANSFIELD, S. D.; GRATTAPAGLIA, D. Quantitative genetic parameters for growth and wood properties in *Eucalyptus "urograndis"* hybrid using near-infrared phenotyping and genome-wide SNP-based relationships. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 14, n. 6, p. 1-24, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0218747.

LOURENÇO, D.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; MASUDA, Y.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. Single-Step Genomic Evaluations from Theory to Practice: Using SNP Chips and Sequence Data in BLUPF90. **Genes**, Burlington, v. 11, n. 7, p. 1-32, 2020. DOI: 10.3390/genes11070790.

LUSH, J. L. Genetics and animal breeding. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 201-203, 1936. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a104206.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Stamford: Sinauer Associates, 1998. 980 p.

MARTINS, I. S.; CRUZ, C. D.; ROCHA, M. D. B.; REGAZZI, A. J.; PIRES, I. E. Comparação entre os processos de seleção entre e dentro e o de seleção combinada, em progênies de *Eucalyptus grandis*. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 16-24, 2005.

MARTINS, G. S.; YULIARTO, M.; YONG, W. C.; MELIA, T.; MARETHA, M. V.; SHARMA, M.; LAKEY, N.; ORDWAY, J.; ACOSTA, J. J.; HODGE, G. Estimation of additive and dominance effects in an *Acacia crassicaarpa* multi-environment progeny trial using genomic pedigree reconstruction. **Forest Science**, Oxford, v. 70, n. 2, p. 113-122, 2024.

MARTINS, G. S. **Reproductive systems in *Acacia crassicaarpa* leveraging breeding opportunities for accelerated delivery of genetic gains in important quantitative forestry traits**. Thesis (PhD in Forestry and Environmental Resources) – North Carolina State University, Raleigh. 2023. 175 p.

MATALLANA-RAMIREZ, L. P.; WHETTEN, R. W.; SANCHEZ, G. M.; PAYN, K. G. Breeding for climate change resilience: a case study of Loblolly pine (*Pinus taeda* L.) in North America. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, n. 606908, p. 1-22, 2021.

MCKEAND, S.; BRIDGWATER, F. A strategy for the third breeding cycle of loblolly pine in the southeastern US. **Silvae Genetica**, Warsaw, v. 47, n.4, p. 223-234, 1998.

MEUWISSEN, T.H.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, Cary, v. 157, n. 4, p. 1819-1829, 2001.

MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information, **Journal of Dairy Science**, New York, v. 92, p. 4648-4655, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2064>. Acesso em: 11 jul. 2024.

MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; LOURENÇO, D.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; VITEZICA, Z. **Manual for BLUPF90 family of programs**. Athens: University of Georgia, 2014. Manual para a família de programas BLUPF90.

MPHAHLELE, M. M.; ISIK, F.; MOSTERT-O'NEILL, M. M.; REYNOLDS, S. M.; HODGE, G. R.; MYBURG, A. A. Expected benefits of genomic selection for growth and wood quality traits in *Eucalyptus grandis*. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 16, n. 1, p. 49, 2020. DOI: 10.1007/s11295-020-01443-1.

MULLER, B. S. F.; NEVES, L. G.; ALMEIDA-FILHO, J. E.; RESENDE-JR, M. F. R.; MUÑOZ, P. R.; SANTOS, P. E. T.; PALUDZYSZYN-FILHO, E.; KIRST, M.; GARATTAPAGLIA, D. Genomic prediction in contrast to a genome-wide association study in explaining heritable variation of complex growth traits in breeding populations of Eucalyptus. **BMC Genomics**, London, v. 18, 524, 2017.

MUÑOZ, P. R.; RESENDE, M. F. R., Jr.; GEZAN, S. A.; RESENDE, M. D. V.; DE LOS CAMPOS, G.; KIRST, M.; HUBER, D.; PETER, G. F. Unraveling additive from nonadditive effects using genomic relationship matrices. **Genetics**, Cary, v. 198, n. 4, p. 1759-1768, 2014.

NAMKOONG, G.; KANG, H. C.; BROUARD, J. S. **Tree breeding: principles and strategies**. New York: Springer, 1988. 173 p.

NOGUEIRA, T.A.P.C., NUNES, A.C.P., SANTOS, G.A., TAKAHASHI, E.K., RESENDE, M.D.V., CORRADI, I.S. Estimativa de parâmetros genéticos em progênies de irmãos completos de eucalipto e otimização da seleção. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 47, n. 123, p. 451-462, 2019.

NWOGWUGWU, C. P.; KIM, Y.; CHUNG, Y. J.; JANG, S. B.; ROH, S. H.; KIM, S.; LEE, J. H.; CHOI, T. J.; LEE, S.-H. Effect of errors in pedigree on the accuracy of estimated breeding value for carcass traits in Korean Hanwoo cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 33, n. 7, p. 1057-1067, 2020. DOI: 10.5713/ajas.19.0021.

PALUDETO, J. G. Z.; GRATTAPAGLIA, D.; ESTOPA, R. A.; TAMBARUSSI, E. V. Genomic relationship-based genetic parameters and prospects of genomic selection for growth and wood quality traits in *Eucalyptus benthamii*. **Tree**

Genetics & Genomes, Heidelberg, v. 17, n. 1, p. 38, 2021. DOI: 10.1007/s11295-021-01516-9.

PÉGARD, M.; SEGURA, V.; MUÑOZ, F.; BASTIEN, C.; JORGE, V.; SANCHEZ, L. Favorable conditions for genomic evaluation to outperform classical pedigree evaluation highlighted by a proof of-concept study in poplar. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 581954, p. 1-20, 2020.

PEIXOTO, L. A.; BHERING, L. L.; CRUZ, C. D. **Seleção genômica aplicada ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2022. 275 p.

PEREIRA, R. C.; DAVIDE, L. C.; RAMALHO, M. A. P.; ANDRADE, H. B. Alternatives to improve hybridization efficiency in eucalyptus breeding programs. **Revista Cerne**, v. 8, n. 2, p. 60-69, 2015.

PRZYBYLSKI, P.; KOWALCZYK, J.; ODRZYKOSKI, I.; MATRAS, J. Identifying alien genotypes and their consequences for genetic variation in clonal seed orchards of *Pinus sylvestris* L. **Dendrobiology**, Kornik, v. 81, p. 40-46, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.12657/denbio.081.005>. Acesso em: 11 jul. 2024.

PUPIN, S.; SEBBENN, A. M.; CAMBUIM, J.; SILVA, A. M.; ZARUMA, D. U. G.; SILVA, P. H. M.; ROSSE, L. N.; SOUZA, I. C. G.; MARINO, C. L.; MORAES, M. L. T. Effects of pollen contamination and non-random mating on inbreeding and outbreeding depression in a seedling seed orchard of *Eucalyptus urophylla*. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, p. 272-281, 2019. DOI: 10.1016/j.foreco.2019.01.050. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.01.050>. Acesso em: 11 jul. 2024.

QUEZADA, M.; AGUILAR, I.; BALMELLI, G. Genomic breeding values' prediction including populational selfing rate in an open-pollinated *Eucalyptus globulus* breeding population. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 18, n. 1, p. 10, 2022. DOI: 10.1007/s11295-021-01534-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11295-021-01534-7>. Acesso em: 11 jul. 2024.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 11 jul. 2024.

RAMALHO, M. A. P.; MARQUES, T. L.; LEMOS, R. D. C. Plant breeding in Brazil: retrospective of the past 50 years. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Vicosa, MG, v. 21, n. 383021S3, p. 1-11, 2021. DOI: 10.1590/1984-70332021v21sa16.

RAMALHO, M. A. P.; DA SILVA SOUZA, T.; DA SILVA JUNIOR, V. P. Intrapopulation recurrent selection strategies in plant breeding. **Functional Plant Breeding Journal**, Campos dos Goytacazes, v. 5, n. 1, 2023. DOI: 10.35418/2526-4117/v5a7. Disponível em: <https://doi.org/10.35418/2526-4117/v5a7>. Acesso em: 11 jul. 2024.

RATCLIFFE, B.; EL-DIEN, O. G.; CAPP, E. P.; PORTH, I.; KLÁPŠTĚ, J.; CHEN, C.; EL-KASSABY, Y.A.; Single-step BLUP with varying genotyping effort in open-pollinated *Picea glauca*. **G3 Genes, Genomes, Genet**, v. 7, p. 935-942, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1534/g3.116.037895>. Acesso em: 11 jul. 2024.

REIS, C. A. F.; GONÇALVES, F. M. A.; ROSSE, L. N.; COSTA, R. R. G. F.; RAMALHO, M. A. P. Correspondence between performance of *Eucalyptus* spp trees selected from family and clonal tests. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 2, p. 1172-1179, 2011. DOI: 10.4238/vol10-2gmr1078. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/vol10-2gmr1078>. Acesso em: 11 jul. 2024.

REIS, C. A. F.; SANTOS, A. M.; PACHECO, A. R.; MORAES-RANGEL, A. C. Contribuições das pesquisas com eucaliptos para a expansão de fronteiras das florestas plantadas brasileiras. In: OLIVEIRA, E. B.; PINTO-JÚNIOR, J. E. (org.). **O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. p. 395-494.

RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa e de populações**. Viçosa, MG: Suprema, 2015. 463 p.

RESENDE, M. D. V. **Genômica quantitativa e seleção no melhoramento de plantas perenes e animais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 320 p.

RESENDE, M. D.; RESENDE JÚNIOR, M. F.; SANSALONI, C. P.; PETROLI, C. D.; MISSIAGGIA, A. A.; AGUIAR, A. M.; ABAD, J. M.; TAKAHASHI, E. K.; ROSADO, A. M.; FARIA, D. A.; PAPPAS JÚNIOR, G. J.; KILIAN, A.; GRATTAPAGLIA, D. Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. **New Phytologist**, Chichester, v. 194, n. 1, p. 116–128, 2012. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03990.x.

RESENDE, M. D. V.; SILVA, F. F.; AZEVEDO, C. F. **Estatística matemática, biométrica e computacional: modelos mistos, multivariados, categóricos e generalizados (REML/BLUP), inferência bayesiana, regressão aleatória, seleção genômica, QTL-GWAS, estatística especial e temporal, competição, sobrevivência**. Viçosa, MG: Suprema, 2014. 881 p.

RESENDE, R. T.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, F. F.; AZEVEDO, C. F.; TAKAHASHI, E. K.; SILVA-JUNIOR, O. B.; GRATTAPAGLIA, D. Assessing the expected response to genomic selection of individuals and families in *Eucalyptus* breeding with an additive-dominant model. **Heredity**, London, v. 119, n. 3, p. 245–255, 2017. DOI: 10.1038/hdy.2017.37.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 300 p.

REZENDE, G. D. S. P.; LIMA, J. L.; DIAS, D. C.; LIMA, B. M.; AGUIAR, A. M.; BERTOLUCCI, F. L. G.; RAMALHO, M. A. P. Clonal composites: an alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. **Forest Ecology**

and Management, Amsterdam, v. 449, n.1, p.1-9, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378112718321807?via%3Dihub>. Acesso em: 11 jul. 2024.

RUSEVA, T. B. The governance of forest carbon in a subnational climate mitigation system: insights from a network of action situations approach. **Sustainability Science**, Tokyo, v. 18, n. 1, p. 59-78, 2023. DOI: 10.1007/s11625-022-01262-4.

RUTKOSKI, J. E. A practical guide to genetic gain. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 157, p. 217-249, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.05.001>. Acesso em: 11 jul. 2024.

SANTANTONIO, N.; ATANDA, S. A.; BEYENE, Y.; VARSHNEY, R. K.; OLSEN, M.; JONES, E.; ROORKIWAL, M.; GOWDA, M.; BHARADWAJ, C.; GAUR, P. M.; ZHANG, X.; DREHER, K.; AYALA-HERNÁNDEZ, C.; CROSSA, J.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; RATHORE, A.; GAO, S. Y.; MCCOUCH, S.; ROBBINS, K. R. Strategies for effective use of genomic information in crop breeding programs serving Africa and South Asia. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 11, n. 353, p. 1-12, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.00353.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAÚJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 353 p.

SANTOS, H. G.; LIMA, J. L.; MARÇAL, T. S.; SIQUEIRA, L.; AGUIAR, A. M.; RAMALHO, M. A. P.; GONÇALVES, F. M. A. Would it be possible to reduce the number of repetitions in the evaluation of clones in a single tree plot? **Euphytica**, Dordrecht, v. 220, n. 54, p. 1-9, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10681-024-03294-6>. Acesso em: 11 jul. 2024

SAUNDERS, I. W.; BROHEDE, J.; HANNAN, G. N. Estimating genotyping error rates from Mendelian errors in SNP array genotypes and their impact on inference. **Genomics**, Waltham, v. 90, n. 3, p. 291-296, 2007. DOI: 10.1016/j.ygeno.2007.05.011.

SENG HUA, L.; WEI CHEN, L.; ANTOV, P.; KRISTAK, L.; TAHIR, P. M. D. Engineering wood products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, London, v. 2022, n. 1, p. 1-14, 2022.

SENG HUA, L.; WEI CHEN, L.; KRISTAK, A. P.; LUBIS, L.; ADLY, M.; WIDYA, F. **Eucalyptus**: engineered wood products and other applications. Singapore: Springer Nature, 2024. DOI:10.1007/978-981-99-7919-6.

SHALIZI, M. N.; GEZAN, S. A.; MCKEAND, S. E.; SHERRILL, J. R.; CUMBIE, W. P.; ROSS, W. W.; ISIK, F. Correspondence between breeding values of the same *Pinus taeda* L. genotypes from clonal trials and half-sib seedling progeny trials. **Forest Science**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 600-611, 2020. DOI:10.1093/forsci/fxaa016

SHELBOURNE, C. J. A. Genetic gains from different kinds of breeding population and seed or plant production population. **South African Forestry Journal**, Grahamstown, v. 160, n.1, p. 49-65, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00382167.1992.9630411>. Acesso em: 11 jul. 2024.

SILVA-JUNIOR, O. B.; FARIA, D. A.; GRATTAPAGLIA, D. A flexible multi-species genome-wide 60K SNP chip developed from pooled resequencing of 240 Eucalyptus tree genomes across 12 species. **New Phytologist**, Chichester, v. 206, n. 4, p. 1527-1540, 2015. DOI: 10.1111/nph.13322.

SLAVOV, G. T.; HOWE, G. T.; ADAMS, W. T. Pollen contamination and mating patterns in a Douglas-fir seed orchard as measured by simple sequence repeat markers. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 35, n. 7, p. 1592-1603, 2005. Disponível em: <https://doi.org/doi:10.1139/x05-082>. Acesso em: 11 jul. 2024.

SIMIQUELI, G. F.; RESENDE, R. T.; TAKAHASHI, E. K.; DE SOUZA, J. E.; GRATTAPAGLIA, D. Realized genomic selection across generations in a reciprocal recurrent selection breeding program of *Eucalyptus hybrids*. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 14, n.1252504, p. 1-21, 2023. DOI: 10.3389/fpls.2023.1252504

SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. **Silvae Genetica**, Warsaw, v. 23, n. 5, p. 149-156, 1974.

STAPE, J.L., BINKLEY, D., RYAN, M. G., FONSECA, S., LOOS, R. A., TAKAHASHI, E. N., SILVA, C. R., SILVA, S. R., HAKAMADA, R. E., FERREIRA, J. M. A., LIMA, A. M.N., GAVA, J. L., LEITE, F. P., ANDRADE, H. B., ALVES, J. M., SILVA, G. G.C., AZEVEDO, M. R. The Brazil eucalyptus potential productivity project: influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 259, p. 1684-1694, 2010.

STEJSKAL, J.; KLÁPŠTĚ, J.; CEPL, J.; EL-KASSABY, Y. A.; LSTIBUREK, M. Effect of clonal testing on the efficiency of genomic evaluation in forest tree breeding. **Scientific Reports**, London, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-06952-8

TAMBARUSSI, E. V., LIMA, B. M., QUEIROZ, R. C., PERES, F. S. B., DIAS, D. C., PAGLIARINI, M. K., PEREIRA, F. B., ROSA, J. R. B. F., & REZENDE, G. D. S. P. Estimativa de parâmetros genéticos para a seleção precoce em clones de *Eucalyptus spp*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 45, n. 115, p. 507-517, 2017.

TAMBARUSSI, E. V.; PEREIRA, F. B.; DA SILVA, P. H. M.; LEE, D.; BUSH, D. Are tree breeders properly predicting genetic gain? A case study involving *Corymbia* species. **Euphytica**, Dordrecht, v. 214, n. 10, p. 150, 2018. DOI: 10.1007/s10681-018-2229-9.

TAN, B.; GRATTAPAGLIA, D.; WU, H. X.; INGVARSSON, P. K. Genomic relationships reveal significant dominance effects for growth in hybrid

Eucalyptus. **Plant Science**, Shannon, v. 267, p. 84-93, 2018. DOI: 10.1016/j.plantsci.2017.11.011.

THAVAMANIKUMAR, S.; ARNOLD, R. J.; LUO, J.; THUMMA, B. R. Genomic studies reveal substantial dominant effects and improved genomic predictions in an open-pollinated breeding population of *Eucalyptus pellita*. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 10, n. 10, p. 3751-3763, 2020. DOI: 10.1534/g3.120.401601.

UTSUNOMIYA, Y. T.; MILANESI, M.; UTSUNOMIYA, A. T. H.; AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F. GHap: an R package for genome-wide haplotyping. **Bioinformatics**, Oxford, v. 32, n. 18, p. 2861-2862, 2016. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw356.

VALENTE, I. L.; WANCURA, J. H. C.; FREITAS, A. J.; LÜTKE, S. F.; SANTOS, M. S. N.; MORI, F. A. Technology advances in the bioethanol production from *Eucalyptus* wood biomass. **BioEnergy Research**, New York, v. 17, p. 769-789, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10713-4>

VAN DEN BERG, G. J.; VERRYIN, S. D.; CHIRWA, P. W.; VAN DEVENTER, F. Genetic parameters of interspecific hybrids of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* seedlings and cuttings. **Silvae Genetica**, Warsaw, v. 64, n. 1-6, p. 291-308, 2015. DOI: 10.1515/sg-2015-0027.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 91, n. 11, p. 4414-4423, 2008. DOI: 10.3168/jds.2007-0980.

WALKER, T. D.; CUMBIE, W. P.; ISIK, F. Single-step genomic analysis increases the accuracy of within-family selection in a clonally replicated population of *Pinus taeda* L. **Forest Science**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 37-52, 2022. DOI: 10.1093/forsci/fxab054.

WALSH, B.; LYNCH, M. **Evolution and selection of quantitative traits**. Oxford: Oxford University Press, 2018.

WARNES, G. R. BOLKER, B.; BONEBAKKER, L.; GENTLEMAN, R.; HUBER, W.; LIAW, A.; LUMLEY, T.; MAECHLER, M.; MAGNUSSON, A.; MOELLER, S.; SCHWARTZ, M.; VENABLES, B.; GALILI, T. **Gplots**: various R programming tools for plotting data. R package version 2.17.0. [S. /], 2015. Software. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>. Acesso em: 16 jul. 2024.

WHEELER, N. C.; STEINER, K. C.; SCHLARBAUM, S. E.; NEALE, D. B. The evolution of forest genetics and tree improvement research in the United States. **Journal of Forestry**, Oxford, v. 113, n. 5, p. 500-510, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5849/jof.14-120>. Acesso em: 11 jul. 2024.

WHITE, T. L.; ADAMS, W. T.; NEALE, D. B. (ed.). **Forest genetics**. Wallingford: CABI, 2007.

YABE, S.; IWATA, H.; JANNINK, J. L. Impact of Mislabeling on Genomic Selection in Cassava Breeding. **Crop Science**, Hoboken, v. 58, n. 4, p. 1470-1480, 2018. DOI: 10.2135/cropsci2017.07.0442.

ZAPATA-VALENZUELA, J.; WHETTEN, R. W.; NEALE, D.; MCKEAND, S.; ISIK, F. Genomic estimated breeding values using genomic relationship matrices in a cloned population of loblolly pine. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 3, n. 6, p. 909–916, 2013. DOI: 10.1534/g3.113.005647.

ZIEGLER, A. C. D. F.; TAMBARUSSI, E. V. Classifying coefficients of genetic variation and heritability for Eucalyptus spp. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 22, n. 2, p. 1-8, 2022. DOI: 10.1590/1984-70332022v22n2a12.

ZOBEL, B.; TALBERT, J. **Applied Forest tree improvement**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

APÊNDICE A: GENITORES QUE CONTRIBUÍRAM PARA A FORMAÇÃO DAS PROGÊNIES UTILIZADAS NOS TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS.

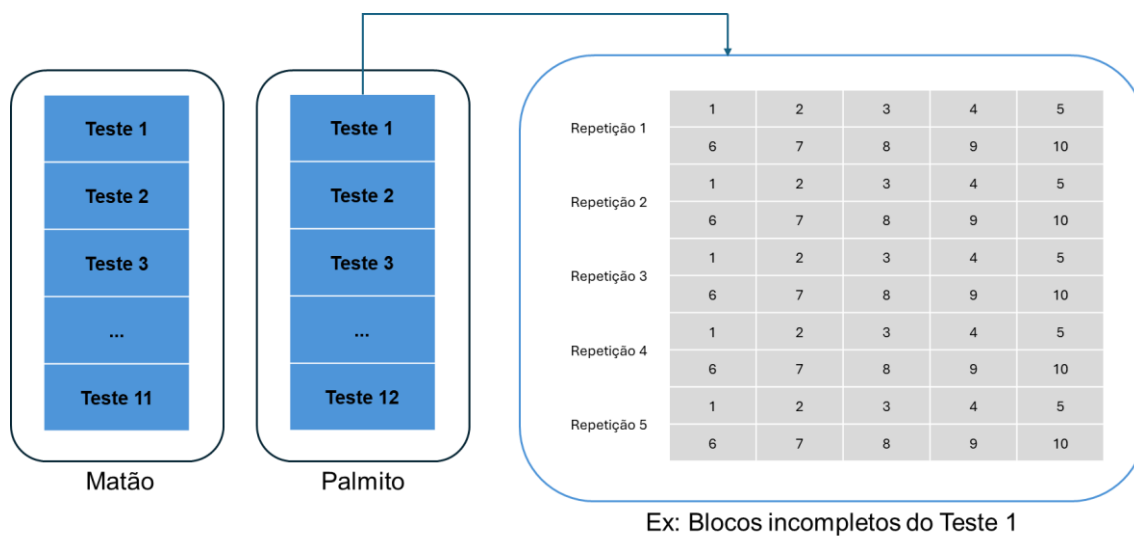
Genitor	Espécies	Procedência	Origem
1	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Aracruz, ES	Desconhecido
2	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Aracruz, ES	Desconhecido
3	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Aracruz, ES	Desconhecido
4	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	São Mateus, ES	Desconhecido
5	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
6	Eucalyptus spp.	Guataparã, SP	Desconhecido
7	Eucalyptus grandis	Guataparã, SP	Desconhecido
8	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Desconhecida	Desconhecido
9	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecido
10	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Desconhecida	Desconhecido
11	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Desconhecida	Desconhecido
12	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Aracruz, ES	Desconhecido
13	Eucalyptus urophylla	São Simão, SP	Desconhecido
14	Eucalyptus grandis	São Simão, SP	Desconhecido
15	Eucalyptus urophylla	São Simão, SP	Desconhecido
16	Eucalyptus grandis	Caravelas, BA	Desconhecido
17	Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Coffs Harbour, NSW, Austrália
18	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
19	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
20	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
21	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecido
22	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
23	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Mogi Guaçu, SP	Desconhecido
24	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Mogi Guaçu, SP	Desconhecido
25	Eucalyptus urophylla	Turmalina, MG	Ilha de Timor, Indonésia
26	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Coffs Harbour, NSW, Austrália x Ilha de Timor, Indonésia
27	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
28	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia
29	Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Coffs Harbour, NSW, Austrália
30	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
31	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
32	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia x Atherton, QLD, Austrália
33	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia x Atherton, QLD, Austrália
34	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Santa Branca, SP	Desconhecido
35	Eucalyptus spp.	Ibaté, SP	Desconhecido
36	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
37	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
38	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
39	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
40	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
41	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
42	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
43	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
44	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
45	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
46	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia
47	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia
48	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Timor, Indonésia
49	Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecida
50	Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecida
51	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Itirapina, SP	Desconhecido
52	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecido
53	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecido
54	Eucalyptus saligna	Rio Claro, SP	Desconhecido
55	Eucalyptus urophylla	Teixeira de Freitas, BA	Ilha de Flores, Indonésia
56	Eucalyptus urophylla	Turmalina, MG	Ilha de Timor, Indonésia
57	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Coffs Harbour, NSW, Austrália x Ilha de Timor, Indonésia
58	Eucalyptus grandis	Altinópolis, SP	Desconhecido
59	Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecido
60	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Coffs Harbour, NSW, Austrália x Ilha de Timor, Indonésia
61	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia x Coffs Harbour, NSW, Austrália
62	Eucalyptus grandis	Altinópolis, SP	Coffs Harbour, NSW, Austrália
63	Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis	Desconhecida	Desconhecido
64	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
65	Eucalyptus urophylla	Três Lagoas, MS	Ilha de Flores, Indonésia
66	Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecido
67	Eucalyptus urophylla	Desconhecida	Desconhecida

Observação: Genitores de 1 – 47 representam os genitores pré-informados por meio do *pedigree* no pomar de recombinação. Genitores de 48 – 67 representam os genitores confirmados por meio do uso de marcadores moleculares.

**APÊNDICE B: ESQUEMA PARA A OBTENÇÃO DOS CLONES
PROVENIENTES DAS 58 FAMÍLIAS AVALIADAS NO TESTE DE
PROGÊNIES CLONADAS.**



APÊNDICE C: ILUSTRAÇÃO DO DESIGN EXPERIMENTAL EM BLOCOS INCOMPLETOS DO TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS.



Adaptado de Costa *et al.*, 2024 (artigo em análise para publicação).

APÊNDICE D: ESTIMATIVAS DE VARIÂNCIAS GENÉTICAS (σ_a^2) E RESIDUAIS (σ_r^2) OBTIDAS PELA MATRIZ-A (A), MATRIZ-AC (AC) E MATRIZ HÍBRIDA (H) EM TRÊS IDADES NO TESTE DE PROGÊNIES CLONADAS EM *EUCALYPTUS* SPP., NA REGIÃO DE TRÊS LAGOAS, MS.

Idade	Caráter	REP	A		Ac		H	
			σ_a^2	σ_r^2	σ_a^2	σ_r^2	σ_a^2	σ_r^2
1	CAP	1	5.863	6.498	6.821	6.537	5.074	7.891
		2	6.728	6.624	7.847	6.629	8.851	7.357
		3	7.227	6.494	8.420	6.503	12.167	6.930
		4	7.314	6.369	8.497	6.377	13.944	6.643
		5	7.361	6.335	8.546	6.342	14.662	6.560
	ALT	1	0.581	0.527	0.670	0.532	0.496	0.672
		2	0.684	0.515	0.789	0.517	0.980	0.582
		3	0.729	0.505	0.842	0.506	1.362	0.538
		4	0.738	0.488	0.853	0.489	1.546	0.508
		5	0.735	0.484	0.851	0.485	1.607	0.501
	VOL	1	0.074	0.080	0.085	0.081	0.066	0.096
		2	0.083	0.080	0.096	0.080	0.113	0.087
		3	0.088	0.079	0.102	0.079	0.152	0.083
		4	0.089	0.078	0.103	0.078	0.170	0.080
		5	0.090	0.078	0.103	0.078	0.177	0.080
2	CAP	1	22.425	17.373	26.252	17.420	19.677	22.437
		2	26.186	16.351	30.663	16.301	42.388	18.082
		3	27.334	16.117	31.722	16.095	54.977	16.867
		4	27.479	16.045	31.651	16.033	59.008	16.524
		5	27.319	16.175	31.422	16.168	60.554	16.567
	ALT	1	1.926	1.441	2.288	1.442	1.788	1.886
		2	2.288	1.312	2.713	1.309	4.038	1.467
		3	2.440	1.246	2.860	1.244	5.446	1.307
		4	2.485	1.214	2.894	1.213	5.938	1.252
		5	2.485	1.211	2.889	1.211	6.122	1.242
	VOL	1	2.899	2.365	3.376	2.372	2.620	2.979
		2	3.367	2.249	3.954	2.244	5.360	2.474
		3	3.551	2.241	4.133	2.238	6.976	2.341
		4	3.565	2.234	4.125	2.232	7.486	2.297
		5	3.550	2.247	4.102	2.246	7.709	2.299
3	CAP	1	32.509	24.211	37.686	24.408	25.852	33.043
		2	38.659	22.513	45.364	22.489	66.060	25.171
		3	40.665	22.192	47.643	22.184	89.324	23.350
		4	41.125	22.076	47.940	22.078	99.020	22.786
		5	41.084	22.161	47.903	22.169	102.340	22.728
	ALT	1	3.275	2.219	3.796	2.261	2.415	3.220
		2	4.121	1.944	4.898	1.949	7.940	2.220
		3	4.395	1.870	5.241	1.872	11.484	1.971
		4	4.526	1.833	5.395	1.835	13.132	1.891
		5	4.522	1.857	5.400	1.859	13.450	1.904
	VOL	1	5.895	4.538	6.810	4.579	5.081	5.962
		2	6.688	4.381	7.847	4.379	10.770	4.854
		3	7.058	4.329	8.293	4.329	14.624	4.546
		4	7.087	4.297	8.289	4.298	16.037	4.431
		5	7.079	4.299	8.275	4.301	16.630	4.405