

CARLA APARECIDA DE OLIVEIRA CASTRO

**ACELERAÇÃO DO FLORESCIMENTO EM GENÓTIPOS
AUTOFECUNDADOS E FLORESCIMENTO ULTRA-PRECOCE DE MUDAS
JOVENS DE *Eucalyptus* POR *TOP GRAFTINGS***

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

Orientador: Marcos Deon Vilela de Resende

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

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

T

C355a
2020
Castro, Carla Aparecida de Oliveira, 1993-
Aceleração do florescimento em genótipos autofecundados
e florescimento ultra-precoce de mudas jovens de *Eucalyptus* por
top graftings / Carla Aparecida de Oliveira Castro. – Viçosa,
MG, 2020.

148f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Marcos Deon Vilela de Resende.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Florestas - Melhoramento genético. 2. Linhagens.
3. Eucalipto. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Engenharia Florestal. Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento. II. Título.

CDO adapt. CDD 634.91653

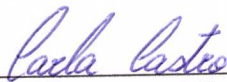
CARLA APARECIDA DE OLIVEIRA CASTRO

**ACELERAÇÃO DO FLORESCIMENTO EM GENÓTIPOS
AUTOFECONDADOS E FLORESCIMENTO ULTRA-PRECOCE DE MUDAS
JOVENS DE *Eucalyptus* POR TOP GRAFTINGS**


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

APROVADA: 18 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Carla Aparecida de Oliveira Castro
Autora



Marcos Deon Vilela de Resende
Orientador

Aos meus pais, Marli e Reginaldo, por todo o amor, ensinamentos, valores e por terem me dado o suporte necessário para que eu pudesse concluir esta etapa. Aos meus irmãos, Igor e Lara, por serem meus companheiros de vida e dividirem comigo as lágrimas e os sorrisos. Minha eterna gratidão à família maravilhosa que Deus me concedeu. É por eles que eu busquei esta conquista.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder uma vida com saúde e boas oportunidades. Agradeço também pela calma e sabedoria que me conferiu nas orações que fiz, durante as dificuldades que surgiram em minha jornada até este momento.

Aos meus pais, Marli e Reginaldo, por todo o apoio em cada caminho que eu optei por trilhar. Toda esta caminhada foi mais fácil por ter vocês sempre comigo. Também agradeço aos meus irmãos Igor e Lara e aos meus familiares, em especial, ao Rodrigo, Imaculada, Thiago e Júlia, por serem o meu alicerce.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por toda a estrutura disponibilizada. Em minha infância, estudar na UFV foi um sonho a se concretizar e hoje, este é o meu maior orgulho. Sou grata pela oportunidade que tive de ser “filha desta casa” e por todo aprendizado adquirido durante a graduação e o mestrado.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Florestal e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da UFV, os quais me proporcionaram auxílio quando necessário, para que eu conquistasse essa realização.

Ao Viveiro de Pesquisas do Departamento de Engenharia Florestal da UFV, pelas estruturas disponibilizadas e pelo apoio dos funcionários no desenvolvimento das minhas pesquisas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

À empresa de celulose Nipo-Brasileira (CENIBRA S.A.) pelo apoio financeiro e disponibilidade para a execução da pesquisa na região de Guanhães.

À Sociedade de Investigações Florestais pelo apoio logístico para a execução da pesquisa.

Ao meu orientador Marcos Deon Vilela de Resende, pessoa pela qual tenho imensa admiração, pela orientação, ensinamentos, amizade e paciência. Agradeço também pela confiança em minhas decisões.

Ao meu coorientador Glêison Augusto dos Santos por ter me dado a oportunidade de trabalhar neste e em outros projetos durante o mestrado. Além disso, agradeço pelos ensinamentos que foram além da academia, e que me fizeram crescer pessoal e profissionalmente. Serei eternamente grata pelas experiências que pude ter como sua orientada.

À especialista em Melhoramento Genético da CENIBRA S.A., Elizabete Keiko Takahashi, por ter conferido o suporte necessário e permitido que eu realizasse o projeto em parceria com sua equipe. Agradeço também pelas conversas e conselhos durante este período de convivência.

À toda a equipe de Pesquisa da CENIBRA S.A. que trabalhou em conjunto comigo durante a realização deste projeto (Everton, João Edésio, Cláudio, Agnaldo, Jaci, Jovair e Guilherme). Foi um enorme prazer poder compartilhar conhecimentos e aprender com este grupo, que se empenhou e prezou pela obtenção de bons resultados a todo momento.

Ao Andrei e à Genaina, pelo auxílio durante a escrita da dissertação, por todos os ensinamentos e pela paciência. Agradeço também ao Wilton, por ter se disponibilizado a ajudar na formatação das figuras utilizadas neste trabalho.

À CPPI, em especial à Yara, pelo suporte durante os trâmites burocráticos no processo de solicitação da patente, relacionada a este projeto, perante o INPI.

Aos companheiros de trabalho do Grupo de Genética e Melhoramento Florestal (GenMFlor), pela troca de experiências, companheirismo e amizade (em especial aos Alexandre, Michelle, Guilherme, Thales e Caio).

A todos os meus amigos de academia e de vida (em especial, às minhas amigas Mirele, Naira, Déborah, Luana, Larissa e Iara), que estiveram comigo em todos os momentos importantes, mesmo quando distantes.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão de mais esta etapa, meus sinceros agradecimentos!

MUITO OBRIGADA!

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer.

BIOGRAFIA

CARLA APARECIDA DE OLIVEIRA CASTRO, filha de Marli Maria de Oliveira e Carlos Raimundo da Silva Castro, nasceu em 20 de janeiro de 1993, em Viçosa, Minas Gerais.

Concluiu o 2º grau em 2010, no Colégio Equipe, em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2011, ingressou no curso de bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa – UFV, *campus* de Viçosa, Minas Gerais. No início do ano de 2013 transferiu para Engenharia Florestal na mesma instituição, concluindo o curso em janeiro de 2018.

Em março de 2018, ingressou no programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa – UFV, *campus* Viçosa, Minas Gerais. Concluiu os requisitos necessários à obtenção de título de *Magister Scientiae* em fevereiro de 2020.

RESUMO

CASTRO, Carla Aparecida de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Aceleração do florescimento em genótipos autofecundados e florescimento ultra-precoce de mudas jovens de *Eucalyptus* por *top graftings***. Orientador: Marcos Deon Vilela de Resende.

Processos inovadores de aceleração do florescimento de espécies de *Eucalyptus* por *top graftings* (enxertias de topo), incluem a possibilidade de redução do tempo dos ciclos no melhoramento florestal. Esta metodologia tende a permitir a produção de linhagens florestais e a tornar o uso da Seleção Genômica Ampla operacional. Desta forma, o objetivo foi estabelecer metodologias padronizadas para a realização de *top graftings* em genótipos autofecundados e de mudas juvenis, do gênero *Eucalyptus*, visando a indução precoce de florescimento. As avaliações dos *top graftings* vivos foram realizadas a cada 3 meses após as enxertias. Com base nos valores relativos ao florescimento, taxas de sobrevivência e nas mensurações relacionadas ao crescimento da área de copa, foram definidos os melhores padrões a serem empregados durante as enxertias. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se a máxima verossimilhança restrita/ melhor preditor linear não viesado (REML/BLUP) e o método Scott-Knott. Desta forma, foram determinados os efeitos dos tratamentos (genótipos, épocas de realização da enxertia, aplicação de paclobutrazol e idade das mudas) sobre as variáveis avaliadas. Neste sentido, constatou-se que a predisposição dos *top graftings* à enxertia varia de acordo com o material genético utilizado. A quantidade de botões florais e frutos produzidos pelos *top graftings* foi satisfatória para atestar sobre a eficiência da metodologia. O florescimento permitiu que o segundo ciclo de autofecundação fosse realizado e que pólen e frutos fossem coletados, para serem utilizados em cruzamentos. Levando em consideração o desempenho dos enxertos para florescimento, a melhor época para realização de *top graftings* varia de acordo com a sua finalidade, sendo que para a enxertia de genótipos autofecundados, o ideal é a época de 3 meses antes do florescimento. Já para a enxertia de mudas jovens, os *top graftings* de 6 meses antes apresentam melhores resultados para florescimento e crescimento de área de copa. Além disso, recomenda-se o uso de mudas jovens de 150-180 dias para a realização de enxertias. Em relação às taxas de sobrevivência dos *top graftings*, melhores resultados são obtidos para a época de 3 meses antes do florescimento, independente do seu tipo. Ou seja, se o enxerto é advindo de genótipos autofecundados ou de mudas jovens. Considerando as duas épocas de enxertia,

a aplicação de paclobutrazol favorece o florescimento dos *top graftings*. No entanto, a aplicação do regulador não afeta a taxa de sobrevivência e o seu efeito varia em relação ao desenvolvimento de área de copa. Assim, para *top graftings* de genótipos autofecundados, a sua aplicação não acarreta valores de área com diferença significativa, segundo Scott-Knott, em relação aos *top graftings* sem paclobutrazol. Por outro lado, o paclobutrazol afeta negativamente o desenvolvimento da copa dos *top graftings* de mudas jovens. Assim, concluímos que a técnica é viável para *Eucalyptus* e pode ser replicada para as espécies do gênero, seguindo os procedimentos recomendados.

Palavras-chave: Melhoramento florestal. Linhagens. Seleção Genômica Ampla.

ABSTRACT

CASTRO, Carla Aparecida de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Acceleration of flowering in self-pollinated genotypes and ultra-early flowering of young seedlings of *Eucalyptus* by top graftings.** Advisor: Marcos Deon Vilela de Resende.

Innovative processes for accelerating the flowering of *Eucalyptus* species by top graftings, include the possibility of reducing cycle times in forest breeding. This methodology tends to allow the production of forest lines and to make the use of the Genome-Wide Selection operational. Thus, the objective was to establish standardized methodologies for making top graftings in self-pollinated genotypes and juvenile seedlings, of the genus *Eucalyptus*, aiming at the early induction of flowering. The evaluations of the alive top graftings were performed every 3 months after grafting. Based on the flowering values, survival rates and measurements related to the growth of the area, the best standards to be used during grafting were defined. Statistical analyzes were performed using the maximum restricted likelihood/ best unbiased unbiased predictor (REML / BLUP) and the Scott-Knott method. Thus, the effects of treatments (genotypes, season of grafting, application of paclobutrazol and age of seedlings) on the variables evaluated were determined. In this sense, it was found that the predisposition of top graftings to grafting varies according to the genetic material used. The amount of flower buds and fruits produced by the top graftings was satisfactory to attest to the efficiency of the methodology. Flowering allowed the second cycle of self-pollination to be carried out and pollen and fruits to be collected, to be used in crossings. Considering the performance of grafts for flowering, the best time to perform top graftings varies according to their purpose. For self-pollinated genotypes, the ideal time to graftings is 3 months before flowering. As for the grafting of young seedlings, the top graftings of 6 months before, presented better results for flowering and growth of canopy area. In addition, the use of young seedlings of 150-180 days is recommended. Regarding the survival rates of the top graftings, better results are obtained for the time of 3 months before flowering, regardless of its type that is, whether it comes from self-pollinated genotypes or from young seedlings. Considering the two grafting seasons, the application of paclobutrazol favors the flowering of the top graftings. However, the application of the regulator does not affect the survival rate and its effect varies in relation to the development of the area. Thus, for top graftings of self-pollinated genotypes, its application does not result in significant area values, according to Scott-Knott, in relation

to top graftings without paclobutrazol. On the other hand, paclobutrazol negatively affects the development of the top graftings crown of young seedlings. Thus, we conclude that the technique is viable for *Eucalyptus* and can be replicated for species of the genus, following the recommended procedures.

Keywords: Forest breeding. Inbred lines. Genome-Wide Selection.

PREÂMBULO

O presente trabalho de mestrado está organizado em 05 seções, com os seguintes tópicos:

- 1) Introdução geral: contextualização sobre o setor florestal e a importância do trabalho para o avanço em pesquisas relacionadas ao uso de *top graftings* em espécies florestais, com ênfase no gênero *Eucalyptus*;
- 2) Revisão Bibliográfica: Abordagem sobre as principais pesquisas relacionadas às técnicas de enxertia e de *top graftings*, além de relatar outras formas de indução de florescimento precoce. Por fim, foram realizadas as revisões acerca do uso de Seleção Genômica Ampla e da produção de linhagens pelo melhoramento;
- 3) Capítulos:
 - Aceleração do florescimento em genótipos autofecundados de *Eucalyptus* por *top graftings*;
 - Florescimento ultra-precoce de mudas jovens de *Eucalyptus* por *top graftings*;
- 4) Conclusões gerais: análise final das diferentes seções, ressaltando os principais pontos relevantes do trabalho, de acordo com os objetivos propostos;
- 5) Material suplementar para suportar informações mais detalhadas sobre os capítulos 1 e 2.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	16
REVISÃO DE LITERATURA	19
1. Enxertia.....	20
2. <i>Top grafting</i>	21
3. Indução de florescimento precoce	23
4. Seleção Genômica Ampla	25
5. Linhagens autofecundadas	26
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 1.....	34
RESUMO	34
ABSTRACT	36
1. Introdução.....	38
2. Material e métodos	40
2.1. Condições ambientais e material genético	40
2.2. Delineamento experimental.....	42
2.3. Processos de aceleração do florescimento	43
2.3.1. <i>Top graftings de genótipos autofecundados</i>	43
2.3.2. <i>Aplicação de paclobutrazol</i>	45
2.4. Coleta de dados	47
2.5. Análises estatísticas.....	49
2.5.1. <i>Modelo estatístico para análise individual</i>	49

2.5.2.	<i>Modelo estatístico para análise conjunta</i>	50
3.	Resultados	51
3.1.	Análise do florescimento	51
3.2.	Análise da sobrevivência dos <i>top graftings</i>	56
3.3.	Influência do PBZ sobre a sobrevivência e área de copa dos <i>top graftings</i>	57
3.4.	Parâmetros genéticos da análise individual.....	58
3.5.	Parâmetros genéticos da análise conjunta para a variável área de copa ...	60
4.	Discussão	62
4.1.	Análise do florescimento e da influência do paclobutrazol sobre o desenvolvimento dos <i>top graftings</i>	62
4.2.	Análise dos parâmetros genéticos	71
5.	Conclusões	74
6.	Referências	75
CAPÍTULO 2		81
RESUMO		81
ABSTRACT		83
1.	Introdução	85
2.	Material e métodos	87
2.1.	Condições ambientais e materiais genéticos	87
2.2.	Delineamento experimental.....	89
2.3.	Processos de aceleração do florescimento	90
2.3.1.	<i>Top graftings de mudas jovens</i>	90
2.3.2.	<i>Aplicação de paclobutrazol</i>	93
2.4.	Coleta de dados	94

2.5.	Análises estatísticas.....	95
3.	Resultados	96
3.1.	Análise do florescimento.....	96
3.2.	Interação entre os tratamentos em relação à sobrevivência dos <i>top graftings</i>	98
3.3.	Efeito simples dos tratamentos em relação ao crescimento da área de copa dos <i>top graftings</i>	101
3.4.	Interação entre os tratamentos em relação ao crescimento da área de copa dos <i>top graftings</i>	103
4.	Discussão	105
4.1.	Análise do florescimento.....	105
4.2.	Análise dos efeitos dos tratamentos e de suas interações em relação à sobrevivência e ao crescimento de copa dos <i>top graftings</i>	110
5.	Conclusões.....	113
6.	Referências.....	115
	CONCLUSÕES GERAIS.....	120
	APÊNDICES	123
	APÊNDICE – Capítulo 1.....	124
	APÊNDICE – Capítulo 2.....	139

SEÇÃO 1
INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

Devido à sua elevada produtividade de madeira e por exercer uma atuação pautada pela sustentabilidade e inovação, o setor florestal brasileiro é considerado como referência no mercado global (Ibá, 2019). A partir dos 7,83 milhões de hectares de reflorestamento, o país é capaz de produzir diferentes produtos de qualidade como celulose, papel, carvão vegetal, resina, *pellets*, laminados e compensados, que são consumidos direta e/ou indiretamente na rotina da população (Ibá, 2019). As espécies do gênero *Eucalyptus*, que são naturalmente advindas da Austrália e Indonésia, apresentam grande destaque neste cenário, por serem as mais plantadas no país. Os plantios com *Eucalyptus* constituíram um percentual de 72,4% em relação aos outros gêneros e uma área de 5,67 milhões de hectares no ano de 2018 (Ibá, 2019).

A importância do gênero, principalmente das espécies *E. urophylla*, *E. grandis* e de seus híbridos, aumentou de forma considerável desde a sua introdução no país. O desempenho satisfatório das espécies de *Eucalyptus* e a sua fácil adaptação às diferentes regiões do Brasil garantem elevados índices de produtividade florestal, bem como ciclos de corte relativamente curtos em relação a outros países do mundo. A boa adaptação é justificável devido às semelhanças de condições climáticas e de latitude entre os locais de plantio e os centros de origem das espécies de *Eucalyptus* na Austrália (Fonseca et al., 2010; Flores et al., 2016). Isto acarretou o interesse das empresas florestais por estes materiais genéticos e por investir em pesquisas, objetivando o aprimoramento do melhoramento e das técnicas de propagação e da biotecnologia (Castro et al., 2016). Neste cenário, o melhoramento passou a garantir maior produtividade aos plantios e qualidade à madeira, que é utilizada na fabricação de produtos pela indústria, além de reduzir impactos ambientais (Golle et al., 2009; Fonseca et al., 2010).

A realização de cruzamentos estratégicos entre genitores superiores de *Eucalyptus* é uma etapa fundamental nos programas de melhoramento e deve ser planejada criteriosamente. Desta forma, torna-se possível ampliar a frequência de alelos de interesse na população e como consequência, são obtidos indivíduos superiores a cada geração (Pires et al., 2011). As espécies de *Eucalyptus* foram inicialmente recombinadas entre si no Brasil em meados de 1970, visando a formação de híbridos com maior produção de madeira e tolerância a doenças (Assis, 1987; Martins & Ikemori, 1987). A técnica de hibridação evoluiu de forma considerável durante o tempo, até o surgimento da Protoginia Artificialmente Induzida, que aumentou a efetividade dos cruzamentos (Assis et al.,

2005). Além disso, a implementação de testes de progênies como método de avaliação dos genitores e de seleção dos melhores indivíduos oriundos destas recombinações também vem sendo comumente empregada no melhoramento (Castro et al., 2016).

A realização de recombinações para a obtenção de botões florais, flores e frutos, é necessária para a formação de sementes melhoradas de *Eucalyptus* e promover o avanço de gerações. Entretanto, os indivíduos arbóreos de interesse normalmente necessitam de

1 a 12 anos para crescerem e adquirirem maturidade fisiológica para florescerem naturalmente (Jordan et al., 2000; Golle et al., 2009). Visando contornar o problema, são utilizados pomares de hibridação, em que plantas do gênero são cultivadas em vasos e têm seu florescimento induzido de forma precoce (Golle et al., 2009).

Outra maneira de garantir a obtenção de floração precoce é conhecida como propagação vegetativa. Espécies agrônomicas, frutíferas, ou mesmo, florestais dos gêneros *Pinus* e *Araucaria*, já demonstraram ser aptas aos procedimentos de enxertia convencional ou *top grafting*, sendo que a segunda se baseia na realização de enxertia no topo de árvores adultas (Jacomino et al., 2000; Floriano, 2004; Gaspar, 2017; Pérez-Luna et al., 2019). A vantagem do uso dos *top graftings* para indução do florescimento, é o fato de esta utilizar matrizes que estejam florescendo para serem porta-enxertos (Almqvist, 2013). Isso acelera ainda mais a obtenção do resultado desejado. A utilização de novos processos visando a aceleração do florescimento por *top graftings* traz como possibilidade, portanto, reduzir consideravelmente, o tempo de cada ciclo de melhoramento em espécies de *Eucalyptus*. Esta técnica pode ser aprimorada, a partir da criação de uma nova metodologia para ser realizada em espécies deste gênero e aumentar a sua efetividade.

A inclusão dos *top graftings* de *Eucalyptus* no melhoramento oferece novas possibilidades, como a criação de linhagens puras e o uso operacional da Seleção Genômica Ampla (SGA). Contudo, atualmente ainda não existe um processo que torne esta técnica usual para o gênero e que seja utilizada em grande escala pelas empresas florestais e centros de pesquisas. Assim, o objetivo foi estabelecer e avaliar novas metodologias de *top graftings*, que tornem o seu uso factível, visando o florescimento precoce de espécies de eucalipto para estas finalidades.

SEÇÃO 2
REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

1. Enxertia

A enxertia é uma técnica de macropropagação assexuada, que consiste em unir duas partes de plantas (enxerto e porta-enxerto), tornando-as apenas um indivíduo de mesma constituição genética do material utilizado como enxerto (Mudge et al., 2009; Nanda & Melnyk, 2018; Perez-Luna et al., 2019). O enxerto é constituído por um ramo caulinar da planta de interesse, que irá desenvolver folhagens e realizar a fotossíntese (Goto et al., 2003). O porta-enxerto é obtido por meio da condução de mudas de genótipo com familiaridade, preferencialmente, próxima ao do enxerto (Darikova et al., 2011). Ele pode ser manejado durante o período de 6 meses, para que seja mantido em pequeno porte, que é a condição apta para a enxertia. A influência do porta-enxerto sobre o enxerto se baseia no desenvolvimento do sistema radicular, visto que representa a base da planta formada (Franzon et al., 2008). Esta é uma característica importante, pois são as raízes que direcionam à parte aérea a água e os sais minerais necessários ao crescimento da copa.

O uso desta técnica foi iniciado há milhares de anos e a partir disso, novas metodologias foram criadas para que pudesse ser empregada em outras culturas (Yin et al., 2012). O procedimento passou então a ser praticado na horti e fruticultura, em diferentes partes do mundo, mas apesar disso, o seu uso no Brasil começou a ser expandido recentemente (Jacomino et al., 2000; Franzon et al., 2008). Os principais tipos de enxertia existentes são a encostia, a garfagem, a sobre-enxertia e a borbúlia (Floriano, 2004). Ao se executar a enxertia, o tipo a ser realizado deve ser compatível com as plantas envolvidas. A execução da enxertia é efetiva quando há habilidade por parte do enxertador e o material utilizado é adequado, isto porque, estes fatores podem interferir no pegamento dos enxertos (Higa et al., 1978; Jacomino et al., 2000).

Além disso, o sucesso das enxertias depende de outros aspectos, como a compatibilidade genética, que não sendo adequada, pode causar desde a morte prematura do enxerto, até atrofia e incapacidade de frutificar. A época ideal para se realizar a enxertia também deve ser considerada. A escolha do momento a se enxertar depende da espécie e do tipo de enxerto que é efetuado, mas de forma geral, recomenda-se realizar a técnica em época de dormência fisiológica das espécies (Franzon et al., 2008). Neste período, há diminuição das taxas de crescimento dos porta-enxertos, por coincidir com a época de estiagem chuvosa. A realização de enxertias nessa época evita encharcamento e apodrecimento dos enxertos antes que estes se estabeleçam e facilita o arranque inicial

das brotações. Quando o período chuvoso se inicia, os enxertos tendem a se encontrar propícios ao pegamento e se desenvolvem de forma mais acelerada. O material vegetal deve ser sadio e deve-se evitar as condições ambientais extremas (Perez-Luna et al., 2019). Tecidos jovens, com caules de mesmo diâmetro e de grau de maturação semelhantes são mais eficientes, pois enxertos e porta-enxertos devem constituir uma combinação harmônica. A idade e o tamanho do porta-enxerto também têm relação direta com o pegamento.

A efetividade da enxertia é possível, pois as plantas possuem grande capacidade de se regenerarem a partir da reconstituição dos tecidos (Stegemann & Bock, 2009; Yin et al., 2012). Esta capacidade de fusão das zonas cambiais é conhecida como totipotência e permite que a enxertia resulte na formação de calos. A reprodução somática ocorre a partir da divisão mitótica das células e a regeneração dos tecidos da planta adulta, a partir da organogênese. Além disso, os fitohormônios também atuam de forma significativa neste processo de desenvolvimento e diferenciação dos tecidos (Nanda & Melnyk, 2018).

Os principais objetivos da enxertia são a manutenção de genótipos em suas fases maduras de desenvolvimento, para acelerar o seu florescimento, frutificação e produção de maior quantidade de sementes (Franzon et al., 2008; Mitani et al., 2008; Darikova et al., 2011). Adicionalmente, pode-se incorporar resistência às enfermidades e pragas, reduzir o porte das plantas, restaurar indivíduos já em produção e que estão perdendo a vitalidade, assim como, criar variedades (Wendling et al., 2014b). Por meio da enxertia espera-se, portanto, a precocidade associada ao desenvolvimento e florescimento dos enxertos. O resultado obtido a partir da técnica depende de fatores tanto internos das duas partes a serem unidas (fisiológicos, histológicos etc.), como de ambientais, relacionados à umidade e temperatura do meio (Nanda & Melnyk, 2018; Perez-Luna et al., 2019).

2. *Top grafting*

A técnica conhecida como *top grafting* permite que indivíduos com características botânicas, morfológicas ou ecológicas de interesse sejam preservados, propagados e induzidos a florescer com maior facilidade e precocemente (Almqvist, 2013). O *top grafting* consiste em aproveitar a copa de árvores adultas, já fisiologicamente maduras, para a realização da técnica de enxertia, permitindo, portanto, a otimização de um porta-enxerto já desenvolvido que esteja disponível (Pinheiro et al., 1988; Gaspar et al., 2017). Assim, a partir deste tipo de enxertia é possível obter redução no tempo de cada ciclo de

melhoramento (Li & Dungey, 2018). A realização da técnica neste caso, também necessita de atenção e cuidado, para que seja possível obter boas taxas de pegamento e florescimento.

O *top grafting*, assim como a enxertia convencional, é uma associação entre partes de duas plantas distintas (enxerto e porta-enxerto) que, após unidas, continuam com seu desenvolvimento como uma única planta. Os tecidos das plantas utilizadas durante o *top grafting* não se unem completamente e cada parte da planta possui o seu genótipo conservado e individualizado. Apesar disso, a seiva e os fitohormônios conseguem circular entre as duas partes, quando a união entre os câmbios vasculares é realizada de forma adequada, permitindo que se mantenham de forma conjunta e saudável (Nanda & Melnyk, 2018).

O enxerto é caracterizado por ser parte das plantas que apresentam características de interesse, ou seja, *rametes* do terço médio da copa. Nesta região das matrizes estão presentes folhas e ramos totalmente desenvolvidos, porém ainda juvenis, facilitando a indução do florescimento por este material. Geralmente, opta-se por enxertos de genótipos que demandam muito tempo para apresentarem o primeiro ciclo natural de florescimento, tornando o uso da técnica mais efetivo. Este critério de escolha é importante, pois a incapacidade das plantas juvenis de florescerem não indica necessariamente que elas não irão reagir de forma positiva sob condições induzidas (Wendling et al., 2014a). A partir do crescimento de folhagens na copa do enxerto este passa a ser responsável, portanto, pela absorção de luz e carbono para a realização de fotossíntese, que é essencial para o ciclo de vida da planta após a realização dos *top graftings*.

O porta-enxerto é o que diferencia o *top grafting* dos demais tipos de enxertia, pois podem ser usadas matrizes que atuam como suporte, possuem folhagem abundante, sistema radicular desenvolvido e asseguram a nutrição mineral para o enxerto, a partir da absorção de água e nutrientes do solo (Almqvist, 2013, Gaspar, 2018). Este deve estar em estágio de maturidade avançada e que seja propício para enviar compostos fisiológicos ao enxerto, relativos ao florescimento e, assim, induzir a formação de botões florais. O porta-enxerto pode ser originado de sementes ou propagação vegetativa e desenvolvido em vasos de maior capacidade volumétrica (superior a 30 litros) ou em campo, durante o tempo mínimo de 3 anos. Por meio do manejo adequado, é possível garantir que se tornem plantas com baixa estatura e copa ampla, o que facilita a realização dos *top graftings* e dos futuros cruzamentos.

Sabe-se que em plantas lenhosas, o aumento do diâmetro do tronco das plantas, assim como, a lignificação do lenho, prejudicam a união e cicatrização da *top grafting*. A oxidação de compostos fenólicos também afeta este processo (Fachinello et al., 2005). Desta forma, o uso de galhos de porta-enxertos adultos facilita a obtenção de bons resultados com o *top grafting*, visto que estes apresentam pouca maturidade, diâmetro reduzido e com menor oxidação. Além disso, outros fatores devem ainda ser considerados para se obter resultados satisfatórios por *top graftings*, como a identificação de qual é a idade do enxerto e do porta-enxerto. Isso irá interferir na maturidade fisiológica de cada componente da enxertia e havendo grande diferença entre eles, poderá haver incompatibilidade.

O período durante do ano em que cada espécie deve apresentar florescimento também é importante para detectar o seu comportamento geral e determinar a melhor época para enxertá-la. Assim, sabendo-se o período do ano em que o porta-enxerto irá florescer, torna-se possível programar a realização das enxertias para meses anteriores. Desta forma, as brotações e ramos dos enxertos se desenvolvem em época de menor atividade fisiológica das matrizes e se encontram aptos a florescerem quando o porta-enxerto atinge a época natural de florescimento. Estes aspectos são relevantes durante a escolha de quais materiais genéticos serão utilizados para *top graftings* e qual a melhor época do ano para se realizar as enxertias.

3. Indução de florescimento precoce

O florescimento é um processo complexo que envolve interações de fatores ambientais, de desenvolvimento e genéticos (Ha, 2014). A indução precoce deste fenômeno em plantas, possibilita a diminuição da duração dos ciclos de melhoramento, devido a rápida obtenção de sementes que darão origem a indivíduos superiores a cada geração. A indução pode ocorrer por meio da aplicação de um regulador de crescimento, conhecido como paclobutrazol (PBZ). Este regulador, que pertence à família dos triazóis, tem a capacidade de modificar o balanço hormonal das plantas e é comumente utilizado como retardante de crescimento para facilitar o manejo destas (Soumya et al., 2017; Griffin et al., 1993). A aplicação do PBZ acarreta a produção de flores, devido à sua ação na inibição da biossíntese de um fitohormônio, conhecido como giberelina (Kishore et al., 2015). A ausência de giberelina direciona carboidratos, antes disponíveis para o crescimento vegetativo, para a produção de gemas florais e flores (Upreti et al., 2014).

O PBZ mostra-se como um tratamento efetivo para indução do florescimento quando aplicado em espécies temperadas de *Eucalyptus* (Auras, 2001), podendo ser citadas como exemplos as espécies *E. globulus* e *E. smithii* (Hasan & Reid, 1995; Gardner et al., 2016). Este regulador de crescimento também é amplamente empregado em frutíferas, culturas agrônomicas e apresenta de maneira geral, benefícios como a antecipação da fase adulta das plantas, redução da altura, o aumento de floração e, em alguns casos, pode proteger contra diferentes tipos de estresses (Williams et al., 1999; Soumya et al., 2017).

Outra forma de induzir o florescimento precoce é a utilização de adubação nitrogenada (Sedgley & Griffin, 1989; Williams et al., 2003). O uso deste tipo de fertilizante é comum no cultivo do milho e do feijoeiro e vem sendo responsável por aumentos de produtividade (Lima et al., 2001; Araújo et al., 2004). A presença de nitrogênio afeta a síntese de clorofila, que está envolvida na fotossíntese e, conseqüentemente, no desenvolvimento das plantas. O aumento deste elemento acarreta a expansão da área foliar, a produção de mais matéria seca e a produtividade de grãos (Araújo et al., 2004). A adubação nitrogenada deve ser realizada de modo a propiciar boa nutrição da planta no período em que ainda é possível aumentar o número de brotações, isto é, antes do período de florescimento (Rosolem, 1996).

Conforme relatado anteriormente, técnicas de enxertia também podem ser utilizadas para induzir o florescimento (Li et al., 2018). Existem duas formas de se realizar a enxertia, sendo a primeira por meio do método convencional e a outra, a partir de *top graftings*. Ambos os procedimentos podem ser utilizados em conjunto com a aplicação de PBZ e adubação nitrogenada, com o objetivo de fazer com que genótipos floresçam de forma mais abundante e em curtos intervalos de tempo. A união destas metodologias tem potencial de acarretar significativos ganhos de tempo e recursos financeiros ao melhoramento de espécies florestais. Além disso, há ainda a possibilidade de incluir ferramentas biotecnológicas e estatísticas avançadas ao programa de melhoramento, como é o caso da Seleção Genômica Ampla (SGA), para possibilitar o florescimento ultra-precoce das espécies.

A obtenção precoce de botões florais e flores facilita o desenvolvimento de novos clones, advindos de melhoramento genético. A partir da disponibilidade dos órgãos reprodutivos das plantas, passa a ser possível realizar recombinações entre espécies e materiais genéticos de interesse. A polinização controlada foi desenvolvida, neste sentido, para facilitar a etapa de recombinação e aumentar o vingamento das flores polinizadas.

Este método tem sido realizado há décadas e atualmente possui metodologia consolidada, conhecida como Protoginia Artificialmente Induzida (PAI), que permite obter maior produtividade e baixa porcentagem de contaminação dos cruzamentos (Assis et al., 2005). Assim, a indução de florescimento e o uso da PAI, quando integrados, aumentam ainda mais a eficiência dos programas de melhoramento e acarretam ganhos de produtividade e tempo para a obtenção de materiais superiores.

4. Seleção Genômica Ampla

A seleção de genótipos dentro dos programas de melhoramento florestal convencionais é normalmente realizada por meio da mensuração em campo de caracteres fenotípicos dos indivíduos e estimação de ganhos e parâmetros genéticos a partir de *softwares* estatísticos (Castro et al., 2016). A Seleção Genômica Ampla (SGA) foi proposta por Meuwissen et al. (2001) como um método para acelerar este processo de seleção e aumentar sua eficiência no melhoramento animal (Denis & Bouvet, 2013).

A SGA é um método que aumenta a acurácia da seleção e reduz o tempo necessário para identificar os indivíduos superiores, pois permite realizar a predição e a seleção em fases muito juvenis de plantas perenes e animais (Resende et al., 2008; Grattapaglia & Resende, 2011). Este tipo de seleção propicia uma forma de seleção precoce direta, pois atua precocemente sobre genes expressos na idade adulta. Ao contrário da seleção precoce tradicional, que atua (via avaliação fenotípica) sobre genes ativados na idade precoce, esperando que esses informem parcialmente sobre genes expressos na idade adulta (Resende et al., 2017). A predição realizada por meio da SGA considera, ainda, o real parentesco genético dos indivíduos em avaliação, em detrimento do parentesco médio esperado matematicamente (Resende, 2007).

Na prática, a SGA é iniciada com a criação de modelos preditivos, que são então usados nos ciclos de seleção genômica e atualizados de forma progressiva, com a inclusão constante de novos indivíduos de fenótipo e genótipos conhecidos. Nestes ciclos, são utilizados marcadores genômicos cujos efeitos sobre o fenótipo são estimados em uma grande “população de estimação”, que possui uma quantidade representativa de indivíduos. Por fim, uma série de candidatos a seleção são genotipados e têm seus valores genéticos e/ou genotípicos estimados usando o modelo estatístico desenvolvido durante o processo (Grattapaglia et al., 2018). As mudas selecionadas a partir dos valores genéticos podem ser utilizadas para a realização de *top graftings*, visando à indução

inicial de florescimento e para criar a próxima geração de reprodutores (Figura 1).

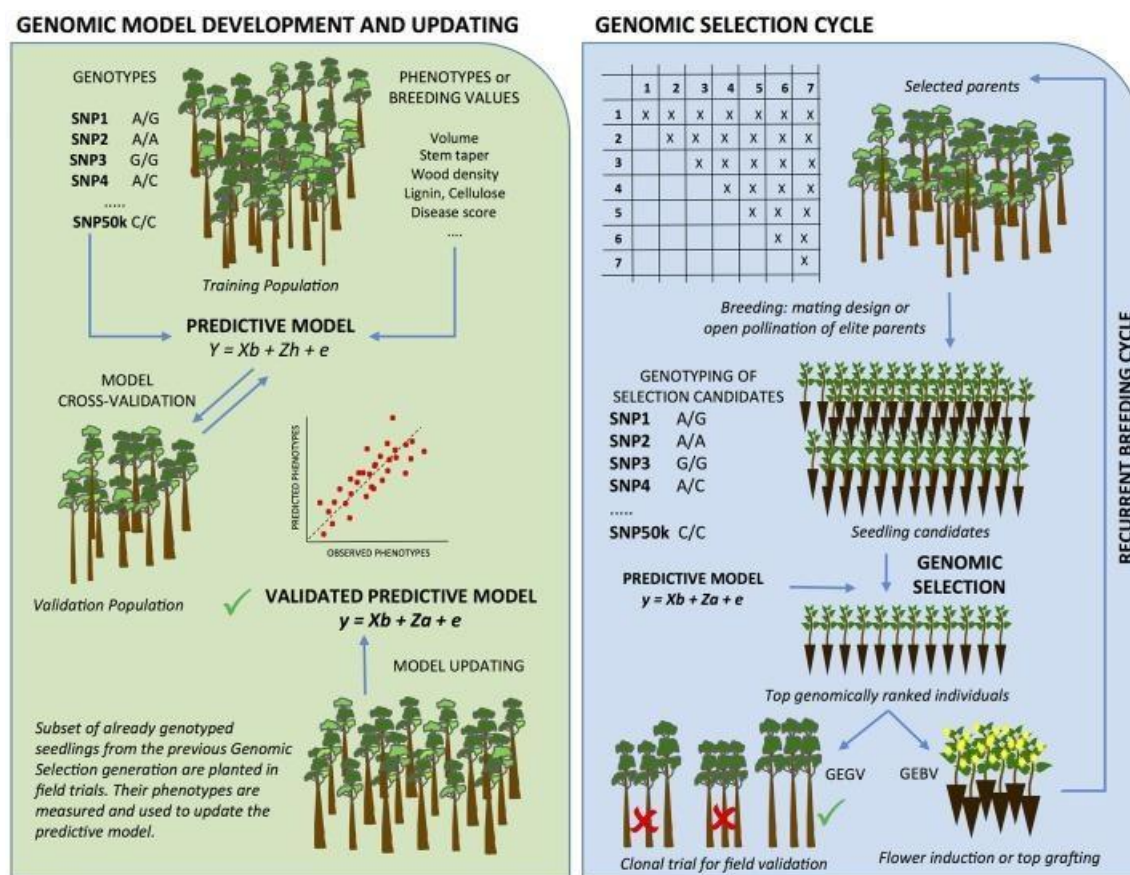


Figura 1: Demonstrativo de como é realizada a Seleção Genômica Ampla, para a seleção ultra-precoce de progênies em espécies florestais.

Fonte: Grattapaglia et al., 2018

5. Linhagens autofecundadas

A produção de linhagens por meio de ciclos consecutivos de autofecundação é uma prática comum no melhoramento de culturas autógamas (Ramalho & Araujo, 2011). O objetivo baseia-se em aumentar o grau de homozigose dos indivíduos, possibilitando a obtenção de plantios homogêneos a partir de sementes (Maia, 2010). Os melhoristas da maioria das espécies autofecundadas em desenvolvimento no país têm obtido excelentes resultados, com ganhos significativos de produtividade e sustentabilidade (Ramalho & Araujo, 2011).

No caso das alógamas de ciclo curto, como por exemplo a cultura do milho, o melhoramento também produz linhagens homozigotas a partir de autofecundações,

porém, estas devem ser contrastantes entre si. Com isso, torna-se possível realizar cruzamentos entre estas linhagens e formar híbridos com alta heterose (Paterniani et al., 2008; Baldissera et al., 2014). A melhora a produção de culturas na forma de híbridos F1 é acarretada, portanto, pela heterose, que funciona como um incremento de vigor nestas plantas (Amanullah et al., 2011). Estes híbridos apresentam superioridade sobre seus parentais, muitos locos em heterozigose e como consequência, poucos alelos deletérios sendo expressos (Li et al., 2008). Portanto, a heterose fornece a base para a exploração de combinações valiosas entre linhagens e poderá ser explorada também pelo setor florestal a partir da efetivação do uso de *top graftings*.

REFERÊNCIAS

- Araújo, L.A.N.D., Ferreira, M.E., Cruz, M.C.P.D., 2004. Adubação nitrogenada na cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(8), 771-777.
- Almqvist, C., 2013. Interstock effects on topgraft vitality and strobili production after topgrafting in *Pinus sylvestris*. *Canadian journal of forest research*, 43(6), 584-588.
- Amanullah, S.J., Mansoor, M., Khan, M.A., 2011. Heterosis studies in diallel crosses of maize. *Sarhad J. Agric*, 27(2), 207-211.
- Assis, F.T., 1987. Produção de híbridos interespecíficos em *Eucalyptus* spp. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, Piracicaba, São Paulo. *Anais...* Piracicaba: IPEF, p.2-5.
- Assis, T.F., Warburton, P., Harwood, C., 2005. Artificially induced protogyny: an advance in the controlled pollination of *Eucalyptus*. *Australian Forestry*, 68(1), 27- 33.
- Auras, N.E., 2001. Indução de florescimento precoce em angiospermas arbóreas: perspectiva de uso da técnica em espécies da Mata Atlântica. *Biotemas*, v. 14, n. 1, p. 7-18. DOI: <https://doi.org/10.5007/1983-2125x>
- Baldissera, J. N. C., Valentini, G., Coan, M. M. D., Guidolin, A. F., Coimbra, J. L. M., 2014. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 13(2), 181-189.
- Castro, C.A.O., Resende, R.T., Bhering, L.L., Cruz, C.D., 2016. Brief history of *Eucalyptus* breeding in Brazil under perspective of biometric advances. *Ciência Rural*, v 46(9), p.1585–1593.
- Darikova, J.A., Savva, Y.V., Vaganov, E.A., Grachev, A.M., Kuznetsova, G.V., 2011. Grafts of woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *Journal of the Siberian Federal University. Series: Biology*, 4(1), 54-63.
- Denis, M., Bouvet, J.M., 2013. Efficiency of genomic selection with models including dominance effect in the context of *Eucalyptus* breeding. *Tree Genetics & Genomes*, 9(1), 37-51.
- Fachinello, J.C., Hoffmann, A., Nachtigal, J.C., 2005. *Propagação de plantas frutíferas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 221 p.
- Flores, T.B., Álvares, C.A., Souza, V.C., Stape, J.L., 2016. *Eucalyptus* no Brasil: zoneamento climático e guia para identificação. Piracicaba: IPEF. 447 p.

- Floriano, E.P., 2004. *Produção de mudas clonais por via assexuada*. Santa Rosa: [S.n.], 37 p. (Série cadernos didáticos, 3).
- Fonseca, S.M.F., Resende, M.D.V., Alfenas, A.C, Guimarães, L.M.S., Assis, T.F., Grattapaglia, D., 2010. *Manual prático de melhoramento genético de eucalipto*. Viçosa: Editora UFV, 200 p.
- Franzon, R.C., Gonçalves, R.D.S., Antunes, L.E.C., Raseira, M.D.C.B., Trevisan, R., 2008. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(2), 488-491.
- Gardner, R.A.W., Bertling, I., Savage, M.J., Naidoo, S., 2016. Investigating optimal site conditions for flower bud production in *Eucalyptus smithii* orchards in South Africa. *Australian Forestry*, v. 79, n. 2, p. 137-146. DOI: <https://doi.org/10.1080/00049158.2016.1159164>
- Gaspar, R.G.B., 2018. Enxertia de copa e predição de hábitos de crescimento em *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. *Tese de doutorado*. Universidade Federal do Paraná.
- Gaspar, R.G.B., Wendling, I., Stuepp, C.A., Angelo, A.C., 2017. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. *Cerne*, 23(4), 465-471.
- Golle, D.P., Reiniger, L.R.S., Curti, A.R., Bevilacqua, C.B., 2009. Melhoramento florestal: ênfase na aplicação da biotecnologia. *Ciência rural*, 39(5), 1607-1614.
- Goto, R., Santos, H.S., Cañizares, K.A.L., 2003 *Enxertia em hortaliças*. São Paulo: Editora UNESP, 85 p.
- Grattapaglia, D., Resende, M.D.V., 2011. Genomic selection in forest tree breeding. *Tree Genetics & Genomes*, v. 7, n. 2, p. 241-255. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0328-4>
- Grattapaglia, D., Silva-Junior, O.B., Resende, R.T., Cappa, E.P., Muller, B.S., Tan, B., Isik, F., Ratcliffe, B., El-Kassaby, Y.A., 2018. Quantitative genetics and genomics converge to accelerate forest tree breeding. *Frontiers in plant science*, v. 9. DOI: 10.3389/fpls.2018.01693
- Griffin, A.R., Whiteman, P., Rudge, T. Burgess, I.P., Moncur, M., 1993. Effect of paclobutrazol on flower-bud production and vegetative growth in two species of *Eucalyptus*. *Canadian Journal of Forest Research*, v. 23, n. 4, p. 640-647. DOI: <https://doi.org/10.1139/x93-084>
- Ha, T.M., 2014. A review of plants “flowering physiology: the control of floral induction

- by juvenility, temperature and photoperiod in annual and ornamental crops. *Asian J. Agric. Food Sci.* 2:186-195.
- Hasan, O., Reid J.B., 1995. Reduction of generation time in *Eucalyptus globulus*. *Plant Growth Regulation*, v. 17, n. 1, p. 53-60.
- Higa, A.R., Mora, A.L., Bertolotti, G., Gonçalves, A.N., 1978. Borbulhia dupla em *Eucalyptus urophylla* S. T. BLAKE. IPEF, Piracicaba, n.17, p.1-9.
- Ibá – Indústria Brasileira de Árvores. Relatório., 2019. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>. Acesso: 22/11/2019.
- Jacomino, A.P., Minami, K., Kluge, R.A., Kishino, A.Y., 2000. Métodos de proteção de enxerto na produção de mudas de mangueira, abacateiro e nogueira-macadâmia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(10), 1985-1990.
- Jordan, G.J., Potts, B.M., Chalmers, P., Wiltshire, R.J., 2000. Quantitative genetic evidence that the timing of vegetative phase change in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* is an adaptive trait. *Australian Journal of Botany*, 48(5), 561-567.
- Kishore, K., Singh, H.S., Kurian, R.M., 2015. Paclobutrazol use in perennial fruit crops and its residual effects: A review. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, v. 85, n. 7, p. 863-872.
- Li, L., Lu, K., Chen, Z., Mu, T., Hu, Z., Li, X., 2008. Dominance, overdominance and epistasis condition the heterosis in two heterotic rice hybrids. *Genetics*, 180(3), 1725-1742.
- Lima, E.D.V., Aragão, C.A., Moraes, O.M., Tanaka, R., Grassi Filho, H., 2001. Adubação NK no desenvolvimento e na concentração de macronutrientes no florescimento do feijoeiro. *Scientia Agricola*, 58(1), 125-129.
- Li, Y., Dungey, H. S., 2018. Expected benefit of genomic selection over forward selection in conifer breeding and deployment. *PloS one*, 13(12).
- Maia, M.C.C., 2010. Sistema reprodutivo de populações alógamas e autógamias: modelo básico e equilíbrio. *Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.
- Martins, F.C.G., Ikemori, Y.K., 1987. Produção de híbridos de eucalipto na Aracruz. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, Piracicaba, SP. *Anais...* Piracicaba, IPEF, 1987. p.48-62.
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J., Goddard, M.E., 2001. Prediction of total genetic value using genomewide dense marker maps. *Genetics Society of America*, Austin, v.

157, n. 4, p. 1.819-1.829.

- Mitani N., Matsumoto R., Yoshioka T. et al., 2008. Citrus hybrid seedlings reduce initial time to flower when grafted onto shiikuwasha rootstock. *Scientia Hort.* 116(4): 452- 455.)
- Mudge, K., Janick, J., Scofield, S., Goldschmidt, E.E., 2009. A history of grafting. *Hortic Rev* 35:437–493.
- Nanda, A.K., Melnyk, C.W., 2018. The role of plant hormones during grafting. *Journal of plant research*, 131(1), 49-58.
- Paterniani, M.E.A.G.Z., de Souza Guimarães, P., Lüders, R.R., Gallo, P.B., da Souza, A.P., Laborda, P.R., Oliveira, K.M., 2008. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia*, 67(3), 639-648.
- Pérez-Luna, A., Prieto-Ruíz, J.Á., López-Upton, J., Carrillo-Parra, A., Wehenkel, C., Chávez-Simental, J.A., Hernández-Díaz, J.C., 2019. Some factors involved in the success of side veneer grafting of *Pinus engelmannii* Carr. *Forests*, 10(2), 112.
- Pinheiro, E., Libonati, V.F., Castro, C.D., Pinheiro, F.S.V., 1988. A enxertia de copa na formação de seringais de cultivo nos trópicos úmidos da Amazônia. Belém: FCAP, 1988. 27p. (Informe Técnico, 13)
- Pires, I.E., Resende, M.D.V. de, Silva, R.L. da, Resende Junior, M.F.R. de., 2011. *Genética Florestal*. Viçosa (MG): Arka. 318p.
- Ramalho, M.A.P., Araújo, L.C.A.D., 2011. Breeding self-pollinated plants. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(SPE), 1-7. DOI: 10.1590/S1984-70332011000500002.
- Resende, M.D.V., Lopes, P.S., Silva, R.L., Pires, I. E., 2008. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, v.56, p.63-78.
- Resende, M.D.V., 2007. *Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético*. Colombo: Embrapa Florestas. 561 p.
- Resende, R.T., Resende, M.D.V., Silva, F.F., Azevedo, C.F., Takahashi, E.K., Silva-Junior, O.B., Grattapaglia, D., 2017. Assessing the expected response to genomic selection of individuals and families in *Eucalyptus* breeding with a n additive-dominant model.
- Rosolem, C.A., 1996. Calagem e adubação mineral. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Ed.) *Cultura do feijoeiro comum no*

- Brasil*. Piracicaba: Potafós, cap.4., p.353-385
- Sedgley, M., Griffin, A.R., 1989. Sexual reproduction of tree crops. *Academic Press*, London.
- Simão, S., 1998. *Tratado de fruticultura*. Piracicaba: FEALQ, 760p.
- Soumya, P.R., Kumar, P., Pal, M., 2017. Paclobutrazol: a novel plant growth regulator and multi-stress ameliorant. *Indian journal of plant physiology*, v. 22, n. 3, p. 267-278. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-017-0316-x>
- Stegemann S, Bock R., 2009. Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *Science*, 324, 649–651.
- Upreti, K.K., Prasad, S.S., Reddy, Y.T.N., Rajeshwara, A.N., 2014. Paclobutrazol induced changes in carbohydrates and some associated enzymes during floral initiation in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Totapuri. *Indian Journal of Plant Physiology*, v. 19, n. 4, p. 317-323.
- Wendling, I., 2011. Enxertia e florescimento precoce em *Araucaria angustifolia*. *Embrapa Florestas - Comunicado Técnico 212*. (INFOTECA-E).
- Wendling, I., Trueman, S.J., Xavier, A., 2014(a). Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: Concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests*, 45(4), 449-471.
- Wendling, I., Trueman, S.J., Xavier, A., 2014(b). Maturation and related aspects in clonal forestry—part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests*, 45(4), 473-486.
- Williams, D.R., Potts, B.M., Smethurst, P.J., 2003. Promotion of flowering in *Eucalyptus nitens* by paclobutrazol was enhanced by nitrogen fertilizer. *Canadian Journal of Forest Research*, v. 33, n. 1, p. 74-81, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1139/x02-157>
- Williams, D.R., Ross, J.J., Reid, J.B., Potts, B.M. Response of *Eucalyptus nitens* seedlings to gibberellin biosynthesis inhibitors. *Plant Growth Regulation*, v. 27, n. 2, p. 125–129, 1999.
- Yin, H., Yan, B., Sun, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X., Chai, J., Ren, Z., Zheng, G., Liu, H., 2012. Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4219-4232. DOI: 10.1093/jxb/err313

SEÇÃO 3
CAPÍTULOS

CAPÍTULO 1

Aceleração do florescimento em genótipos autofecundados de *Eucalyptus* por *top graftings*

RESUMO

A técnica conhecida como *top grafting* possibilita a redução de tempo para que cada geração no melhoramento florestal seja obtida. A partir de seu uso, os enxertos de genótipos de interesse, ainda juvenis, podem ser unidos à copa de árvores reprodutivamente maduras e induzidos a florescer. Desta forma, passa a ser possível avançar rapidamente as gerações e realizar procedimentos ainda não explorados pelo setor florestal, como a autofecundação e a consequente produção de linhagens. Visando efetivar esta técnica, o objetivo foi estabelecer uma metodologia padrão para a realização de *top graftings* em genótipos autofecundados do gênero *Eucalyptus*, visando a indução de florescimento precoce. A partir disso, foram realizados um total de 448 *top graftings*, divididos entre 7 genótipos (3 *E. urophylla* x *E. grandis*, 1 *E. urophylla* e 3 *E. grandis*) e duas diferentes épocas do ano: julho e novembro (6 e 3 meses antes do florescimento convencional das espécies). Além destes efeitos, a eficiência do uso de paclobutrazol foi analisada a partir de sua aplicação sobre cada genótipo dos porta-enxertos. Em intervalos de 3 meses, os *top graftings* vivos foram avaliados em relação à indução do florescimento (contagem de botões florais e frutos) e desenvolvimento dos *top graftings* (taxa de sobrevivência e cálculo da área de copa). Os métodos de estimação REML/BLUP (análise da máxima verossimilhança restrita/melhor preditor linear não viesado) foram utilizados para estimar os parâmetros genéticos. A partir dos resultados de florescimento, foi constatado, após 2 anos de avaliações periódicas, que os *top graftings* realizados na época de 3 meses antes do florescimento mostraram-se com maior produção de botões florais e

frutos. Sendo assim, este período é o mais adequado para utilizar esta técnica. Os *top graftings* foram efetivos para a indução de florescimento de *Eucalyptus* autofecundados, visto que a quantidade de botões florais foi produzida foi suficiente para se realizar o próximo ciclo de autofecundação em 4 genótipos. A aplicação de paclobutrazol foi analisada por meio de teste t, com significância de 5% de probabilidade do erro tipo 1. O regulador favoreceu o florescimento entre os *top graftings* que permaneceram vivos. Entretanto, a sua aplicação não foi significativa para garantir maior sobrevivência ou crescimento de área de copa dos *top graftings*. A predisposição dos genótipos à enxertia modificou-se entre as épocas e em relação à sobrevivência e área de copa. Os *top graftings* de 3 meses antes do florescimento apresentaram valores superiores. Além disso, ao se avaliar os *top graftings* realizados em cada época separadamente, percebe-se que, o comportamento dos genótipos em relação ao crescimento de copa é homogêneo. Assim, é possível constatar sobre a efetividade dos genótipos autofecundados em relação à sua predisposição à enxertia.

Palavras-chave: Melhoramento Florestal; Florescimento precoce; Linhagens; Autofecundação;

ABSTRACT

The technique known as top grafting allows to reduce the time for each generation of improved forest. Thus, the grafts of genotypes of interest, still young, can be joined to the canopy of reproductively mature trees and induced to bloom. In this way, it becomes possible to rapidly advance how to execute procedures not explored yet by the forestry sector, such as self-pollination and consequent production of inbred lines. In order to make this technique effective, the objective was to establish a standard methodology for the realization of the top graftings in the self-pollinated genotypes of the genus *Eucalyptus*, aiming the induction of early flowering. After that, a total of 448 top graftings were performed, divided between 7 genotypes (3 *E. urophylla* x *E. grandis*, 1 *E. urophylla* and 3 *E. grandis*) and two different periods of the year: July and November (6 and 3 months before conventional species flowering). In addition to these effects, the efficient use of paclobutrazol was analyzed from its application on a replica of each rootstock model. At intervals of 3 months, the alive top graftings were evaluated in relation to flower induction (bud and fruit count) and development of the grafts (survival rate and canopy area calculation). The methods of application REML/BLUP (maximum restricted likelihood analysis/best unused linear predictor) were used to estimate genetic parameters. From the results in relation to flowering, it was found after 2 years of periodic tests, that the top graftings performed at the time of 3 months before flowering period were presented with greater production of flower buds and fruits. Therefore, this period is the most suitable to use this technique. The top graftings show effective effects on the induction of self-pollinated *Eucalyptus* flowers, as they produce enough flower bud values to carry out the next cycle of self-pollination in some genotypes. The application of paclobutrazol was analyzed using t test, with a 5% significance level of type 1 error. The regulator favored the flowering among the top graftings that remained alive.

However, its application was not significant to ensure greater increase or growth in the canopy area of the top graftings. A predisposition of genotypes for grafting modified between seasons and in relation to survival and canopy area, the top graftings of 3 months before flowering presented higher values. When evaluating the top graftings performed in each period, it is noticed that the behavior of the genotypes in relation to crown growth was homogeneous. Thus, it is possible to verify the effectiveness of each self-pollinated genotype in the relation predisposition top grafting.

Keywords: Forestry breeding; Early flowering; Inbred lines; Self-pollination.

1. Introdução

O melhoramento genético florestal, em seu modo clássico, requer um longo período para a recomendação de uma nova cultivar. No caso de espécies do gênero *Eucalyptus*, pode demorar ao menos 18 anos e um dos motivos desta demora é o tempo que as árvores necessitam para se desenvolverem e florescerem (Pires et al., 2011). Como consequência, a autofecundação, que já é comum em culturas agrônômicas, ainda não é explorada pelo melhoramento florestal, devido ao tempo necessário para se obter cada geração. Desta forma, para viabilizar este procedimento no contexto de florestas plantadas, são necessárias novas técnicas com o objetivo de acelerar este processo e aumentar o ganho genético por unidade de tempo (Almqvist & Ekberg, 2001; White et al., 2007; Wong & Bernardo, 2008), como por exemplo, a partir da indução de florescimento precoce por *top graftings* (Grattapaglia et al., 2018).

A produção de linhagens por meio de ciclos consecutivos de autofecundação é uma prática comum no melhoramento de culturas autógamas. Esta é uma estratégia que tem por objetivo aumentar a homogeneidade dos plantios seminais, devido ao alto grau de homozigose dos indivíduos (Maia, 2010; Baldissera et al., 2014). Isso permite que seja realizado o plantio direto de sementes, que é considerado mais econômico e fácil de ser realizado operacionalmente em relação à clonagem. Os melhoristas da maioria das espécies autofecundadas em desenvolvimento no país têm obtido excelentes resultados, com ganhos significativos de produtividade e sustentabilidade (Ramalho & Araujo, 2011). Isso se deve ao aprimoramento genético advindo das autofecundações e seleções realizadas, até o lançamento de novas linhagens.

No caso das alógamas de ciclo curto, como por exemplo a cultura do milho, a intenção do melhoramento também é produzir linhagens homozigotas a partir de autofecundações, porém, estas devem ser contrastantes entre si. Com isso, torna-se possível realizar cruzamentos entre as linhagens e formar híbridos com alta heterose

(Paterniani et al., 2008; Baldissera et al., 2014). A heterose é responsável por melhorar a produção de culturas na forma de híbridos F_1 , por ser responsável pelo aumento da altura das plantas e da atividade fotossintética, pela precocidade dos ciclos, dentre outras vantagens (Sturion et al. 1999; Pires et al., 2011; Santos et al., 2016). Desta forma, ela fornece a base para a exploração de combinações valiosas entre linhagens (Amanullah et al., 2011). Além disso, os híbridos formados apresentam superioridade sobre seus parentais, muitos locos em heterozigose e como consequência, reduzida taxa de segregação entre si e poucos alelos deletérios sendo expressos (Li et al., 2008).

A relevância da autofecundação e da obtenção de híbridos, evidencia a importância de se realizar um procedimento semelhante ao já que é feito, para as espécies florestais de destaque no Brasil. O gênero *Eucalyptus* é o mais plantado atualmente no país e é utilizado na produção de diferentes produtos da indústria florestal (Ibá, 2019). As taxas de enraizamento dos clones de *Eucalyptus* produzidos ao final do melhoramento convencional, trazem prejuízos aos produtores e às empresas. Neste sentido, a possibilidade de se realizar plantios de sementes híbridas de *Eucalyptus*, formadas a partir do cruzamento entre linhagens, é atrativa. Esta nova vertente facilitará a realização dos plantios de *Eucalyptus*, gerando ganhos consideráveis de recursos e produtividade operacional. Assim, a produção de linhagens com as espécies deste gênero e a realização de cruzamentos entre elas, tende a revolucionar o melhoramento do setor florestal brasileiro. Ao ser efetivada, esta mudança irá descartar a necessidade exclusiva de propagação florestal a partir de clonagem.

Entretanto, os entraves que ocorrem neste processo referem-se ao efeito da endogamia sobre cada geração autofecundada, visto que as espécies de *Eucalyptus* são alógamas, assim como o milho. Além disso, estas espécies possuem ciclo longo entre o momento de plantio das progênes até o de seleção do melhor genótipo, sendo que este período pode durar entre dois a sete anos (Castro et al., 2016). A realização de ciclos

consecutivos de autofecundação, pelo modo tradicional de melhoramento, torna-se inviável, visto que a obtenção de linhagens homozigotas pode levar até sete ciclos de autofecundação e seleção. Desta forma, a produção de linhagens de espécies florestais requer a busca por alternativas que tornem possível diminuir a duração dos ciclos de melhoramento.

Neste sentido, os *top graftings* de *Eucalyptus* são uma metodologia promissora, pois se baseia na enxertia de um material genético de interesse nas copas de árvores maduras e reprodutivas (Almqvist, 2013b). Esta técnica apresenta como principal vantagem a aceleração do florescimento e se mostra usual nos gêneros *Pinus* e *Araucaria*, nos quais já foi testada (Almqvist & Ekberg, 2001; Liang et al., 2011; Almqvist, 2013a; Gaspar et al., 2017). A adaptação da metodologia de *top graftings* é necessária para que esta seja efetiva em espécies de *Eucalyptus*, visando facilitar o seu emprego de forma operacional em programas de melhoramento. Com isso, autofecundações poderão ser realizadas rapidamente e assim, as linhagens serão selecionadas e obtidas em menor período. Diante das considerações expostas, o objetivo consistiu em estabelecer uma metodologia padrão para a realização de *top graftings* em genótipos autofecundados do gênero *Eucalyptus*, visando a indução de florescimento precoce.

2. Material e métodos

2.1. Condições ambientais e material genético

O experimento foi conduzido em pomares de hibridação de campo da empresa Celulose Nipo Brasileira – CENIBRA S.A., no município de Guanhães (latitude 18° 46' 30" S; longitude 42° 55' 57" W; altitude 744 m), localizado no estado de Minas Gerais, Brasil. O clima do município é do tipo Cwa segundo a classificação de Köppen e Geiger, com pluviosidade e temperatura média anual de 1497 mm e 19,9 °C.

Os genótipos selecionados para a realização do estudo se dividiram entre as

espécies *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*. Foram selecionados 7 materiais genéticos, advindos do primeiro ciclo de autofecundação, que foram plantados em 2012 e devidamente confirmados por marcadores moleculares (Tabela 1). A definição destes genótipos foi determinada pelo desempenho silvicultural e pela dificuldade que estes apresentaram em florescer entre os 20 que foram confirmados como autofecundados e pela dificuldade de resgatar o material pelo método tradicional de melhoramento. A partir desta etapa, foram coletados *rametes* do terço médio da copa das plantas em desenvolvimento no Teste de Progênes Endogâmicas (TPE), aos 5 anos, com o intuito de que estes fossem utilizados como enxertos nos *top graftings*. Esta coleta foi realizada no ano de 2017, assim como a realização dos *top graftings* ocorreu neste mesmo período.

Tabela 1: Materiais genéticos utilizados como enxertos para a realização dos *top graftings*, visando o rápido florescimento, para a realização dos ciclos posteriores de autofecundação.

Códigos	Espécies	Procedências	Localização
CEN01	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	TPE005	PH24
CEN02	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	TPE005	PH24
CEN03	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	TPE005	PH24
CEN04	<i>E. urophylla</i>	TPE005	PH14
CEN05	<i>E. grandis</i>	TPE005	PH14
CEN06	<i>E. grandis</i>	TPE005	PH16
CEN07	<i>E. grandis</i>	TPE005	PH16

A partir do momento em que os *rametes* foram coletados, estes foram acondicionados em uma caixa de isopor contendo gelos *bag* congelados. O gelo foi mantido no fundo da caixa e uma proteção de papelão impediu o seu contato direto com as amostras. Os propágulos coletados foram envoltos em papel toalha umedecido com água. Após este procedimento, uma nova camada de papel alumínio e um saco de papel com a identificação foram utilizados para o armazenamento adequado do material. Os

enxertos foram armazenados de forma adequada (em local refrigerado) por um período de no máximo 7 dias, até o momento de realização dos *top graftings*.

Foram selecionadas genitoras maternas dos enxertos, que continham 2 réplicas no Pomar de Hibridação Clonal (PHC), para a realização das enxertias de cada um dos sete materiais genéticos usados como enxertos. Desta forma, foram utilizadas 14 matrizes como porta-enxertos. A escolha de genitoras maternas visou aumentar a probabilidade de haver compatibilidade entre o conjunto criado entre enxertos e porta-enxertos, evitando rejeições. As réplicas foram utilizadas com o objetivo de testar o efeito da aplicação de paclobutrazol (PBZ) sobre a sobrevivência e o desenvolvimento dos *top graftings*. Considerou-se ainda, o fato de os porta-enxertos serem fisiologicamente maduros (florescendo), o seu potencial para a produção abundante de flores e frutos, boa formação da copa, porte e estado fitossanitário.

2.2. Delineamento experimental

O objetivo foi avaliar 2 efeitos sobre os *top graftings*: sendo o primeiro quanto ao uso de PBZ e o segundo em relação à melhor época do ano para a realização do procedimento. As épocas testadas foram 6 e 3 meses antes da época de florescimento convencional das espécies (janeiro-março), ou seja, os *top graftings* foram realizados nos meses de julho (época 1) e novembro (época 2) do ano de 2017, respectivamente. O delineamento utilizado foi definido como blocos casualizados, com a realização de quatro blocos em cada porta-enxerto (B1 a B4), em cada época de enxertia. Cada bloco foi estabelecido a partir da enxertia de quatro *top graftings* em um diferente galho do porta-enxerto. Além disso, para testar o efeito do PBZ, foi selecionado uma das réplicas das matrizes utilizadas como porta-enxertos para sua aplicação (Figura 1). Desta forma, os 2 efeitos foram avaliados sobre as réplicas de cada genótipo selecionado.

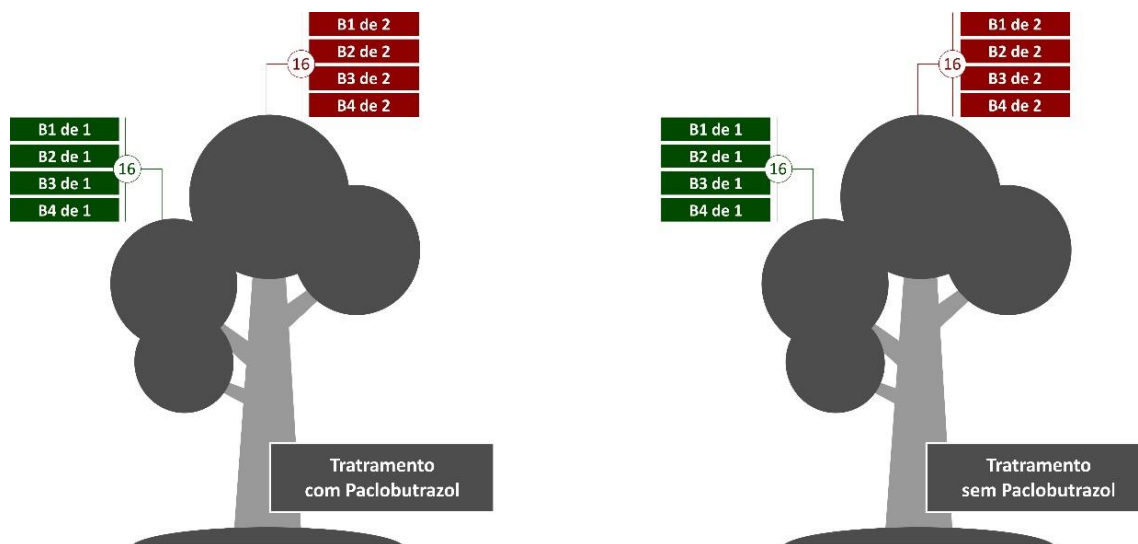


Figura 1: Representação da realização dos *top graftings* de cada um dos sete materiais genéticos selecionados como enxertos, com e sem paclobutrazol. Os retângulos em verde indicam os oito blocos realizados no mês de julho (época 1), enquanto, os em vermelho, foram realizados em novembro (época 2). Em cada bloco, foram realizados quatro *top graftings*. Portanto, houve 16 *top graftings* por porta-enxerto, em cada época.

De forma geral, foram feitos 32 *top graftings* por material genético, sendo 16 em cada uma das réplicas dos porta-enxertos (com e sem PBZ), em cada época (6 e 3 meses antes do florescimento). Assim, foram feitos um total de 448 *top graftings* (16 *top graftings* x 2 tratamentos (com e sem PBZ) x 7 genótipos x 2 épocas), visando atestar a indução de florescimento sobre genótipos autofecundados.

2.3. Processos de aceleração do florescimento

2.3.1. *Top graftings* de genótipos autofecundados

A partir do primeiro ciclo de autofecundação em genótipos de importância, o TPE005 foi plantado em campo. Em 2017, a predisposição dos indivíduos autofecundados ao florescimento foi avaliada e então, foi feita a seleção dos genótipos a serem enxertados. Assim, os *top graftings* foram realizados utilizando a metodologia denominada de

enxertia do tipo garfagem em fenda cheia, com algumas adaptações, nos melhores galhos da copa dos porta-enxertos (Figura 2).

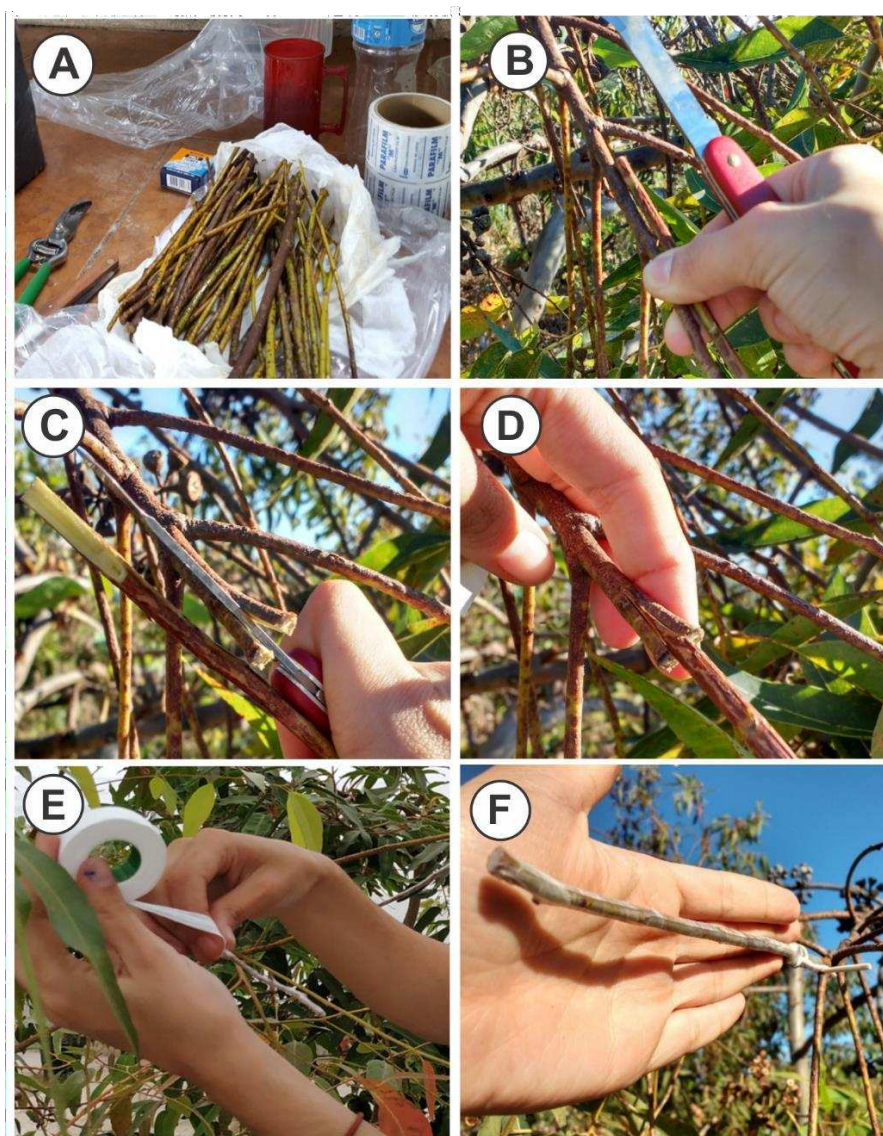


Figura 2: Metodologia adaptada de *top graftings* de materiais genéticos autofecundados.

A- *Rametes* coletados e armazenados, para a realização dos *top graftings*; **B-** Após a seleção de um *ramete* para ser o enxerto, é necessário verificar se o seu diâmetro é compatível com o do galho onde este será enxertado; **C-** Em caso afirmativo, realizar dois cortes laterais no enxerto, visando formar uma cunha e um corte central no galho, dando origem a uma fenda; **D-** Encaixar os dois componentes de forma que a lateral destes seja compatível e permita a translocação de fluidos entre o câmbio da planta e o do enxerto; **E-** Recobrir o *top grafting* com parafilme e reforçar com o fitilho ou arame na área de ligação entre o enxerto e o porta-enxerto; **F-**

Demonstração do *top grafting* após a realização do procedimento padrão.

Os melhores *rametes* foram coletados em campo nas copas de cada um dos 7 indivíduos selecionados para serem os enxertos durante a realização dos *top graftings* (Figura 2-A). A partir deste procedimento, foi preciso transportar os *rametes* ao pomar de hibridação da empresa, onde as matrizes adultas (porta-enxertos) estão localizadas.

Após selecionar as matrizes adequadas para serem os porta-enxertos, foi necessário encontrar em cada uma, galhos que possuíssem ramos com a mesma circunferência dos enxertos (Figura 2-B). Além disso, o mesmo galho deveria comportar a realização de quatro *top graftings*, pois esta seria a determinação de um bloco. Após a definição do galho, efetuou-se uma fenda central no ramo do porta-enxerto utilizando-se canivete. O enxerto foi cortado dos dois lados (cunha) com tamanho adequado, para garantir a aderência no galho selecionado (Figura 2-C). A cunha foi introduzida na fenda. Foi preciso cuidar para que pelo menos um dos lados da casca do enxerto, coincidissem com a borda do galho do porta-enxerto (Figura 2-D). Após este procedimento, é preciso revestir o material enxertado com o parafilme. O local em que houve a conexão entre enxerto e porta-enxerto foi pressionado com um fitilho, arame ou fita veda-rosca (Figura 2-E). Após a realização dos procedimentos citados, o *top grafting* encontra-se propício para seu desenvolvimento adequado (Figura 2-E). Após 45 dias passa a ser possível atestar sobre a sua sobrevivência.

2.3.2. Aplicação de paclobutrazol

Após a realização dos *top graftings* de cada material genético autofecundado, um dos porta-enxertos foi selecionado para que o PBZ fosse aplicado sobre a sua área radicular (Figura 3).



Figura 3: Demonstração da metodologia de aplicação do indutor de florescimento sob os porta-enxertos. **A-** Medir o tronco do porta-enxerto; **B-** O PBZ deve ser incluído em um recipiente graduado, para que seja mensurada a quantidade de PBZ a ser diluída em água; **C-** Homogeneizar o PBZ em água; **D-** Aplicar a solução sobre o solo que está sob toda a área da copa de cada porta-enxerto. Para a realização destes procedimentos foi indispensável o uso de EPI's (Equipamentos de Proteção Individual).

O procedimento foi iniciado com a medição da circunferência da base do tronco do porta-enxerto (Figura 3-A). A relação utilizada foi de 1 ml de PBZ em suspensão concentrada (Cultar 250SC) para cada centímetro de circunferência. A partir desta etapa, foi necessário medir em um recipiente graduado a quantidade de PBZ a ser aplicada

(Figura 3-B). A quantidade de água usada para diluir o produto foi definida dias antes da aplicação de PBZ. Foi preciso regar as plantas de interesse utilizando apenas água, visando corresponder à toda a área sob a copa, até atingir o ponto de saturação do solo. Esta área foi suficiente para garantir que a área radicular das matrizes fosse abrangida, garantindo a melhor absorção do produto. Após este teste, o PBZ foi então diluído em 5 litros de água e esta solução foi transferida para um regador (Figura 3-C). A aplicação do produto foi realizada de forma a recobrir o solo, novamente, sob toda a área da copa dos porta-enxertos (Figura 3-D).

2.4. Coleta de dados

Foram realizadas avaliações periódicas do experimento em intervalos aproximados de três meses. Desta forma, a sobrevivência, o florescimento foram contabilizados e o desenvolvimento da área de copa foi mensurado (Figura 4). A taxa sobrevivência, em cada avaliação, foi obtida a partir da contagem de *top graftings* que permaneceram vivos durante o decorrer do tempo, sempre discriminando os genótipos e a parte do delineamento que estes representavam. Além disso, o florescimento foi contabilizado por meio da contagem de *top graftings* que apresentaram desenvolvimento de primórdios florais, flores e frutos (Figura 4-A). A partir do momento em que foi detectado o florescimento em cada *top grafting*, o procedimento, em algumas avaliações, consistiu em realizar a contagem de botões florais e frutos presentes. A taxa de efetividade da técnica foi aferida por meio da relação entre *top graftings* vivos na última avaliação, realizada em agosto de 2019 e, entre estes, os que apresentaram florescimento. A representação gráfica destes resultados foi construída a partir do *software* SigmaPlot 11.0, para os *top graftings* realizados em cada época de enxertia.



Figura 4: A- Avaliações periódicas incluíram a contagem dos botões florais e frutos presentes nos *top graftings* sobreviventes; B e C- Mensuração da área de copa (comprimento e largura, respectivamente), utilizando fita métrica.

Além disso, foram realizadas medições individuais das áreas de copa dos *top graftings* utilizando fita métrica (Figura 4-B e C). Assim, foram mensuradas as larguras e comprimentos, em cm, da totalidade dos indivíduos vivos em cada avaliação. A partir destas medidas, foi possível realizar o cálculo de área de copa, em m², dos *top graftings* e acompanhar o desenvolvimento destes com o passar do tempo.

$$\text{Área de copa dos top graftings (m}^2\text{)} = \frac{\text{comprimento (cm)} * \text{largura (cm)}}{10.000}$$

Utilizando como base os dados coletados em 8 avaliações (setembro de 2017 a agosto de 2019), foi possível realizar comparações entre *top graftings* instalados em

diferentes tratamentos. Estas comparações entre o desempenho dos *top graftings* que estavam em matrizes com ou sem PBZ e os que foram realizados 6 ou 3 meses antes do florescimento, visaram o estabelecimento do melhor protocolo para a realização do procedimento.

Por fim, as idas a campo, que foram realizadas com a finalidade de se avaliar o experimento, foram aproveitadas para a realização de manutenções nos porta-enxertos onde os *top graftings* foram instalados. Desta forma, podas estratégicas foram realizadas, para remoção de galhos que sombreavam os *top graftings* vivos ou que poderiam causar a estagnação do desenvolvimento destes, por competirem pelos nutrientes que são transportados pelas matrizes. Além disso, recomendações específicas em relação a adubação e o manejo do pomar foram realizadas, além de melhorias na identificação dos enxertos, com o objetivo de melhorar as condições do material.

2.5. Análises estatísticas

A partir dos dados coletados nas avaliações periódicas, foram realizadas diferentes análises com base em modelos do *software* Selegen REML/BLUP (Resende, 2016). Os modelos foram usados para avaliar a diferença entre os genótipos e os tratamentos (épocas de enxertia e uso de PBZ) sobre a sobrevivência e o desenvolvimento de copa dos *top graftings*. Além disso, permitiram a análise conjunta dos dados coletados em todas as avaliações, para o caractere área de copa dos enxertos. Para o efeito fixo de tratamento relativo ao uso de PBZ, foi feito um teste t a 5% de significância pelo erro do tipo 1, visando comparar a relevância de sua aplicação sobre os *top graftings* realizados.

2.5.1. Modelo estatístico para análise individual

Baseou-se na avaliação de conjuntos de dados de sobrevivência e de desenvolvimento de área de copa dos *top graftings* que foram realizados em cada uma

das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento), separadamente. Desta forma, os quatro conjuntos criados pela divisão relatada foram analisados a partir do modelo estatístico descrito abaixo:

$$y = Xf + Za1 + Wa2 + Ta3 + Qa4 + Pa5 + e$$

Em que y é o vetor de dados, f é o vetor que representa o efeito do PBZ, assumido como fixo, somado à média geral. Os vetores $a1$, $a2$, $a3$, $a4$, $a5$ são os efeitos aleatórios do modelo, referentes aos genótipos, períodos de avaliação, interações entre genótipos \times tratamentos, avaliações \times tratamentos e genótipos \times avaliações, respectivamente. O vetor de erros ou resíduos (efeito aleatório) é demonstrado como e . As letras maiúsculas (X , Z , W , T , Q e P) representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

2.5.2. Modelo estatístico para análise conjunta

A avaliação conjunta foi realizada visando avaliar o desenvolvimento de área de copa dos *top graftings*. Desta forma, o conjunto conteve os dados de todas as avaliações, dos *top graftings* realizados nos dois períodos (6 e 3 meses antes do florescimento), para a variável área. O modelo estatístico usado encontra-se descrito abaixo:

$$y = Xr + Zg + Wp + Ti + e$$

Em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (relativos aos genótipos e assumidos como fixos), somados à média geral; g é o vetor dos efeitos da interação entre épocas \times tratamentos (aleatório), p é o vetor dos efeitos da interação entre genótipos \times tratamentos (aleatório), i é vetor dos efeitos da interação entre genótipos \times épocas (aleatório) e e é o vetor de erros ou resíduos (aleatório). As letras maiúsculas (X , Z , W e T), representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

3. Resultados

3.1. Análise do florescimento

Os *top graftings* que foram realizados 6 meses antes do florescimento produziram botões florais (BF) desde a primeira avaliação, que foi realizada 3 meses após a enxertia. Neste período, nove *top graftings* do genótipo CEN03 floresceram. Entretanto, o início do florescimento dos demais genótipos avaliados variou com o decorrer do tempo. Na última avaliação, realizada em agosto de 2019 (25 meses após a enxertia), constatamos que houve uma alta relação de *top graftings* que floresceram entre os que permaneceram vivos (Figura 5). De forma geral, esta relação foi superior a 83% e quatro dos genótipos que se mantiveram com *top graftings* vivos, a porcentagem foi igual a 100%. O genótipo que demonstrou possuir a maior predisposição ao florescimento precoce quando utilizado como enxerto foi o CEN03. Este material genético apresentou 13 *top graftings* com florescimento e esta foi a maior quantidade obtida em um mesmo genótipo para esta época. Não foi possível avaliar a capacidade de florescimento dos *top graftings* para os genótipos CEN01, CEN04 e CEN07, que foram realizados 6 meses antes do florescimento, pois seus enxertos morreram de forma precoce.

Além disso, a aplicação de PBZ, foi eficiente para promover o florescimento dos *top graftings*. Para os *top graftings* realizados nesta época, houve um total de 16 com PBZ e 8 sem PBZ (Figura 5). Assim, a fim de promover de forma mais efetiva o florescimento por meio da técnica de *top graftings*, se mostra necessário a aplicação deste regulador de crescimento.

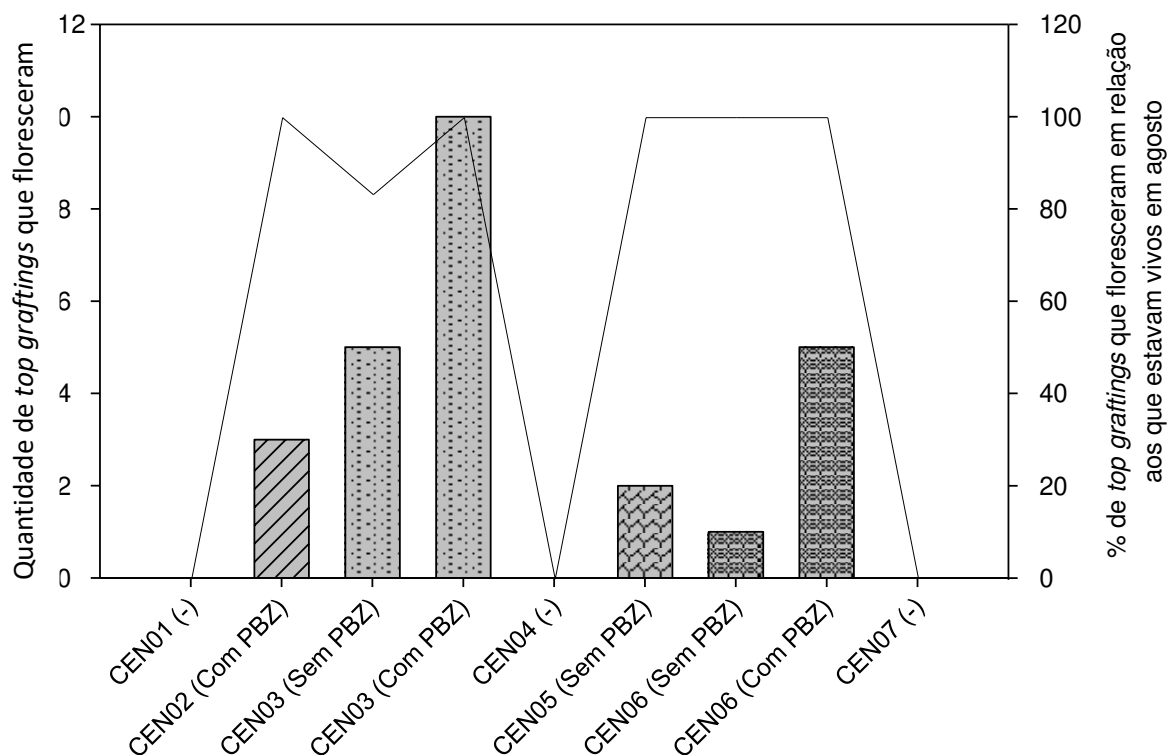


Figura 5: Florescimento de *top graftings* vivos 25 meses após a enxertia (agosto de 2019) entre os que foram realizados de na época 6 meses antes do florescimento.

Os *top graftings* que foram realizados na época de 3 meses antes do florescimento também floresceram desde a primeira avaliação, realizada 3 meses após a realização das enxertias. Nesta ocasião floresceram dois enxertos, sendo um do genótipo CEN03 e outro do CEN05. O genótipo que demonstrou possuir a maior predisposição ao florescimento precoce quando utilizado como enxerto foi o CEN04, que apresentou o total de 16 *top graftings* em florescimento. Além disso, os dados da avaliação realizada em agosto de 2019 (23 meses após a enxertia) demonstram que houve, na maioria dos casos, uma alta relação de genótipos que floresceram entre os que permaneceram vivos (Figura 6). Novamente, não foi possível avaliar a capacidade de florescimento dos genótipos CEN01 e CEN07, visto que seus *top graftings* morreram de forma precoce. Os demais genótipos que permaneceram vivos, tiveram o início de se florescimento em períodos variados,

quando avaliados com o decorrer do tempo.

O PBZ foi novamente eficiente em relação à indução do florescimento, pois houve um total de 26 *top graftings* floresceram na presença do PBZ, enquanto apenas 12 floresceram em sua ausência (Figura 6). Por fim, constatamos que a quantidade total de *top graftings* que floresceram foi maior entre os que foram realizados 3 meses antes do florescimento em detrimento dos de 6 meses (Figuras 5 e 6).

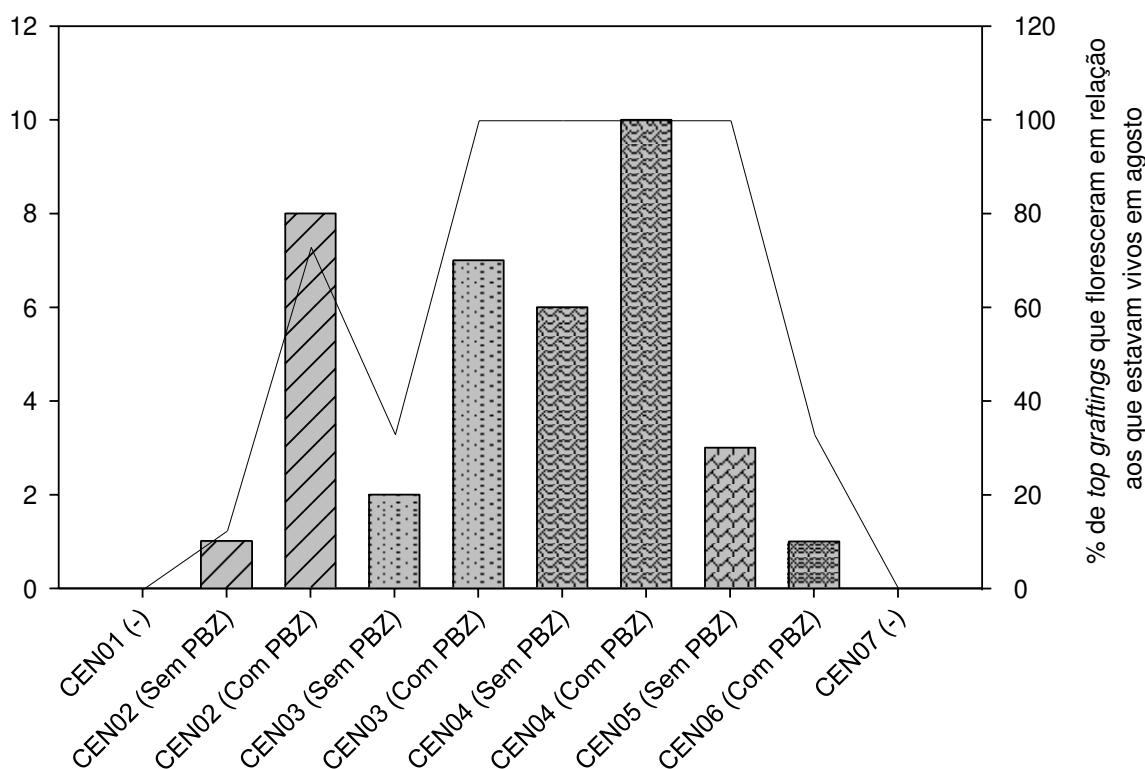


Figura 6: Florescimento de *top graftings* vivos (23 meses após a enxertia), entre os que foram realizados de na época 3 meses antes do florescimento.

A quantidade de BF produzidos em 2018 foi significativamente maior para os *top graftings* de 6 meses, os quais produziram 5.223 BF. Neste mesmo ano, os de 3 meses produziram 251 BF (Tabela 2). Apesar deste resultado promissor a curto prazo, para os *top graftings* de 6 meses, ao se avaliar de forma geral o ano de 2019, percebemos que os *top graftings* de 3 meses se destacaram. Observamos, portanto, maior produção de BF e frutos para os materiais desta época. Enquanto os *top graftings* de 6 meses produziram

19.650 BF e 6.659 frutos, os de 3 meses produziram 26.697 BF e 12.285 frutos. De forma geral, a aplicação de PBZ foi eficiente para induzir a produção de maior quantidade de botões florais e frutos (Tabela 2). Devido a esta larga produção, 8 *top graftings* apresentaram uma quantidade considerável de BF e frutos em sua copa nas últimas avaliações, tendo superado a quantidade de 2 mil BF em um único *top grafting* (Figura 7-A). Além disso, a manutenção dos frutos mostrou-se satisfatória com o decorrer do tempo (Figura 7-B), com a manutenção de 34% de frutos para os *top graftings* de 6 meses antes do florescimento e 48% para os de 3 meses antes.

Tabela 2: Quantidade de *top graftings* que floresceram, botões florais (BF) e frutos, nos anos de 2018 e 2019. Foi realizada a contabilização acumulativa do florescimento dos *top graftings* de 6 meses e 3 meses antes do florescimento.

6 meses antes do florescimento									
Avaliações	PBZ	Fev_18	Mai_18	Out_18	2018	Fev_19	Mai_19	Ago_19	2019
<i>Top graftings</i>	Com	6	7	10	16	16	16	16	21
	Sem	6	6	6		5	5	5	
BF	Com	1.883	74	**	5.223	11.562	153	**	19.650
	Sem	2.966	300			7.908	27		
Frutos	Com	-	-	-	-	-	3.434	**	6.659
	Sem						3.225		
3 meses antes do florescimento									
Avaliações	PBZ	Jan_18	Mai_18	Out_18	2018	Fev_19	Mai_19	Ago_19	2019
<i>Top graftings</i>	Com	1	3	18	22	23	23	23	33
	Sem	1	2	4		12	10	10	
BF	Com	-	178	**	251	13.745	156	**	26.697
	Sem		73			12.796	-		
Frutos	Com	-	-	-	-	-	6.585	**	12.285
	Sem						5.700		

**Quantidade de botões florais e frutos produzidos nesta avaliação não foi contabilizada, apenas foram contados quantos *top graftings* floresceram.

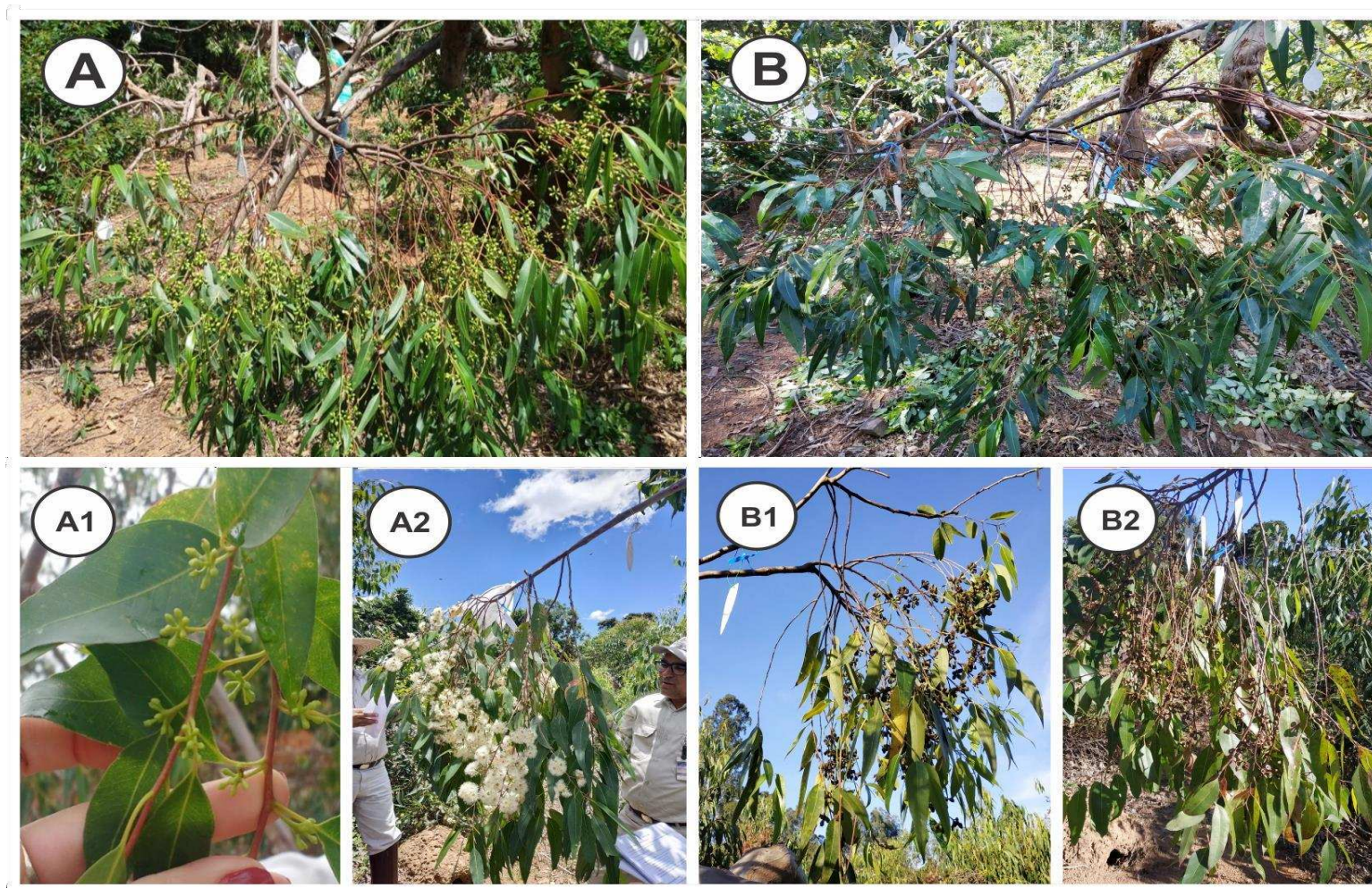


Figura 7: A- Demonstração do florescimento em alguns dos *top graftings* realizados; B- Manutenção satisfatória dos frutos com o decorrer do tempo.

3.2. Análise da sobrevivência dos *top graftings*

A demonstração gráfica dos dados da última avaliação de sobrevivência, do mês de agosto de 2019, evidencia uma diferença significativa da capacidade dos *top graftings* em permanecerem vivos ao longo do tempo, de acordo com as épocas de enxertia em que eles foram realizados. Os *top graftings* da época de 3 meses antes do florescimento apresentaram maiores taxas de sobrevivência a longo prazo (23 meses após a enxertia). Além disso, para os *top graftings* enxertados nesta época, houve diferença considerável da taxa de sobrevivência entre os genótipos. Não restaram *top graftings* vivos do CEN01 até a última avaliação, enquanto para o CEN02 as taxas de sobrevivência foram as maiores e permaneceram altas neste período, com porcentagem igual a 50% sem PBZ e 69% com PBZ.

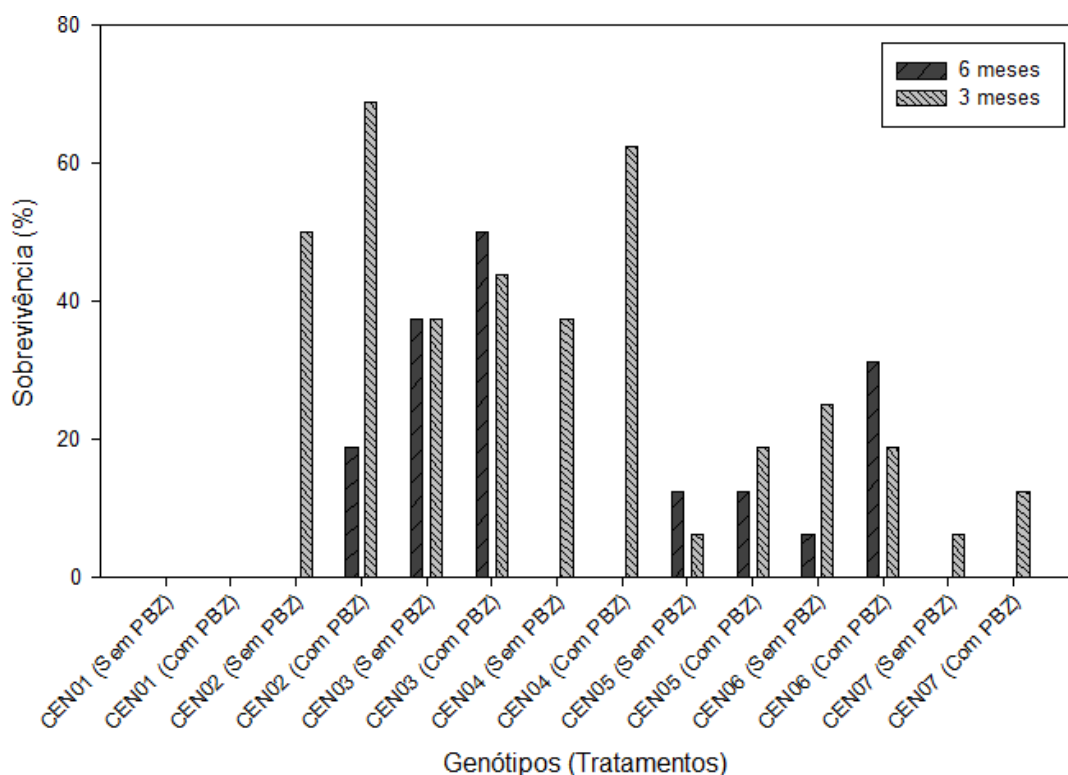


Figura 8: Porcentagens de sobrevivência dos *top graftings*, realizados 6 e 3 meses antes do florescimento, obtidas em agosto de 2019, ou seja, após 25 e 23 meses da enxertia, respectivamente. Foram demonstradas as taxas referentes aos enxertos vivos de cada

genótipo, separando-se as épocas de enxertia e a presença ou ausência de PBZ.

3.3. Influência do PBZ sobre a sobrevivência e a área de copa dos *top graftings*

O PBZ é um regulador de crescimento que proporciona diversas alterações fisiológicas nas plantas. Com o objetivo de verificar a significância de sua aplicação, o regulador foi incluído como efeito fixo no modelo utilizado para análise individual por meio do *software* Selegen REML/BLUP. Ele foi avaliado comparando os dados de sobrevivência e de crescimento de área de copa dos *top graftings*, em sua presença ou ausência. A partir do teste t a 5% de significância do erro tipo 1, a diferença entre os tratamentos foi avaliada em cada época de enxertia (Tabela 3).

Tabela 3: Teste t para o efeito fixo (PBZ), para as duas variáveis analisadas nas avaliações dos *top graftings* e para as duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento). Foram separados os resultados relativos aos *top graftings* na presença e ausência de PBZ. Este resultado foi obtido a partir da análise individual realizada com o modelo do *software* Selegen REML/BLUP. Além disso, foram destacados os valores de *t*calc e p-valor, obtidos a partir de teste t, realizado no *software* R.

Variável	Sobrevivência (%)		Área (m ²)	
	6 meses	3 meses	6 meses	3 meses
Com PBZ	0,221	0,429	0,210	0,223
Sem PBZ	0,148	0,372	0,132	0,244
tcalc	1,567	1,077	2,405	-0,908
p-valor	0,120	0,284	0,016*	0,364

*Diferença entre tratamentos é significativa, considerando p-valor a 5% de significância.

Observamos anteriormente que a aplicação de PBZ proporcionou maior quantidade de *top graftings* em florescimento (Tabela 2). No entanto, a diferença entre os valores apresentados pelos tratamentos não foi estatisticamente significativa para a sobrevivência e o crescimento de área de copa, na maioria dos casos. Desta forma, a sua aplicação não se mostra necessária para garantir a obtenção de maiores valores para estas duas variáveis. A diferença entre os valores referentes com e sem PBZ foi maior para ambas as variáveis nos *top graftings* de 6 meses antes do florescimento. Porém, o único cenário em que a presença de PBZ foi um diferencial estatístico ocorreu com a variável área de copa nesta mesma época.

3.4. Parâmetros genéticos da análise individual

Os parâmetros genéticos das variáveis avaliadas (sobrevivência e área de copa) foram estimados a partir de um modelo do *software* Selegen. A obtenção destes valores visou a detecção de diferenças no desenvolvimento dos *top graftings*, em cada uma das duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento). A partir da análise do florescimento e destes parâmetros, foi determinada qual a época é a mais recomendada para a realização da técnica em genótipos autofecundados de *Eucalyptus*.

O coeficiente de determinação dos efeitos de genótipo (c^2 Genótipo) foram altos (0,836 e 0,704, aos 6 e 3 meses antes do florescimento, respectivamente) para a variável sobrevivência (Tabela 4). Entretanto, o c^2 Genótipo para a variável área não apresentou valores elevados (0,109 e 0,076, aos 6 e 3 meses antes do florescimento, respectivamente). Os menores valores deste parâmetro para a área indicam que para os *top graftings* vivos não houve grande variação de crescimento de copa entre os genótipos, nas duas épocas de enxertia, quando avaliadas separadamente.

A avaliação conjunta dos baixos valores de c^2 Avaliação (variaram entre 0,011 a 0,116) e os altos valores de rGen-Ava (superiores a 0,894) indicam que um baixo número

de avaliações seria suficiente para determinar os melhores genótipos para a realização de *top graftings*. Além disso, os valores de *rGen-Trat* foram superiores a 0,882 e indicaram que não há interação significativa entre genótipos e tratamentos para o uso de PBZ.

Tabela 4: Componentes de variância (REML Individual) segundo a análise individual realizada com o *software* Selegen REML/BLUP. Foram separadas as duas variáveis analisadas nas avaliações dos *top graftings* e para as duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento). Além disso, são demonstrados os resultados dos cálculos das correlações entre genótipos-tratamentos, genótipos-avaliações e genótipos-tratamentos-avaliações, em relação à expressão destas variáveis.

Variável	Sobrevivência (%)		Área (m ²)	
	6 meses	3 meses	6 meses	3 Meses
c ² Genótipo	0,836	0,704	0,109	0,076
c ² Avaliação	0,025	0,116	0,011	0,061
c ² Gen-Trat	0,077	0,087	0,015	0,004
c ² Ava-Trat	0,000	0,003	0,000	0,000
c ² Gen-Ava	0,043	0,031	0,001	0,009
Média geral	0,185	0,401	0,171	0,234
rGen-Trat	0,915	0,890	0,882	0,946
rGen-Ava	0,951	0,958	0,990	0,894
rGen-Trat-Ava	0,000	9,3e⁻⁵	0,000	0,000

Sendo os parâmetros: **c²Genótipo**: coeficiente de determinação dos efeitos de genótipo; **c²Avaliação**: coeficiente de determinação dos efeitos das avaliações; **c²Gen-Trat**: coeficiente de determinação da interação entre genótipo e tratamento; **c²Ava-Trat**: coeficiente de determinação da interação entre avaliação e tratamento; **c²Gen-Ava**: coeficiente de determinação da interação entre genótipo e avaliação; Média geral do experimento; **rGen-Trat**: correlação genotípica entre o desempenho dos genótipos nos diferentes tratamentos; **rGen-Ava**: correlação genotípica entre o desempenho dos genótipos nas diferentes avaliações; **rGen-Trat-Ava**: correlação genotípica entre o desempenho dos genótipos nos diferentes tratamentos e avaliações.

3.5. Parâmetros genéticos da análise conjunta para a variável área de copa

A avaliação conjunta de todos os dados da variável área dos top graftings, que foram realizados nas duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento), foi realizada a partir do software Selegen. De acordo com os parâmetros genéticos, constatamos que a herdabilidade individual no sentido amplo (h^2g) apresentou o valor 0,039, sendo este considerado como baixo (Tabela 5). A partir da análise dos $Rgloc$ e c^2int foi possível inferir que a interação entre os genótipos \times épocas sofreu variação de acordo com a época do ano em que os top graftings foram realizados, pois os valores foram considerados baixos na análise conjunta. Além disso, a acurácia de predição destas estimativas foi igual a 0,363.

Tabela 5: Componentes de variância (REML Individual) realizada com o modelo do *software* Selegen REML/BLUP. Os dados referentes à variável área (m^2), coletados nas avaliações dos *top graftings*, nas duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento) foram analisados de forma conjunta.

Variável	Área (m^2)
Épocas de enxertia	6 e 3 meses antes do florescimento
h^2g	0,039
c^2parc	0,005
c^2int	0,058
h^2mg	0,132
$Acgen$	0,363
$Rgloc$	0,400
$CVgi\%$	53,675
$CVe\%$	259,198
Média	0,202

Sendo os parâmetros: **h^2g** : herdabilidade de parcelas individuais no sentido amplo, ou seja, dos efeitos genotípicos totais; **c^2parc** : coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; **c^2int** : coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipos \times épocas; **h^2mg** : herdabilidade ajustada da média de genótipo, assumindo sobrevivência completa; **$Acgen$** : acurácia da seleção de genótipos, assumindo sobrevivência completa; **$Rgloc$** : correlação genotípica entre o desempenho nas diferentes épocas de enxertia; **$CVgi\%$**

coeficiente de variação genotípica; **CVe%**: coeficiente de variação residual; Média geral do experimento.

Ao avaliar o ranqueamento dos sete genótipos em cada época, para a variável área, foi possível constatar que o ranqueamento sofreu mudanças de ordenamento, corroborando com os resultados apresentados pela Tabela 5. Isto pode estar relacionado ao perfil genético de cada genótipo, que acarretou variação na predisposição de alguns a serem utilizados como enxertos em *top graftings*. De acordo com o ranqueamento, observamos que o genótipo CEN03 apresentou maior média e ganhos em relação aos demais, quando foi enxertado 6 meses antes do florescimento. Porém, a sua posição do ranqueamento foi reduzida a quinto lugar no *ranking* para *top graftings* de 3 meses antes do florescimento. O mesmo tipo de variação no ranqueamento ocorreu para os genótipos CEN04, CEN05 e CEN06. Entretanto, a colocação do CEN02 não variou. Além disso, conforme relatado anteriormente, os genótipos CEN01 e CEN07 apresentaram morte precoce de seus *top graftings*. Desta forma, em ambos os *rankings* estes materiais genéticos foram apresentados nas piores colocações (Tabela 6).

Tabela 6: Ranqueamento e ganhos genéticos dos genótipos autofecundados avaliados na análise conjunta, em cada uma das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento), considerando o caráter área de copa (m²).

6 meses antes do florescimento					
Ordem	Genótipos	g+ge	u+g+ge	Ganho	Nova Média
1	CEN03	0,2739	0,4526	0,2739	0,4526
2	CEN06	0,1334	0,3121	0,2037	0,3824
3	CEN05	0,1293	0,3080	0,1789	0,3576
4	CEN02	-0,0407	0,1380	0,1240	0,3027
5	CEN04*	-0,1634	0,0153	0,0665	0,2452
6	CEN07*	-0,1660	0,0127	0,0278	0,2065
7	CEN01*	-0,1666	0,0122	0,0000	0,1787

3 meses antes do florescimento					
Ordem	Genótipos	g+ge	u+g+ge	Ganho	Nova Média
1	CEN05	0,2261	0,4520	0,2261	0,4520
2	CEN04	0,1201	0,3460	0,1731	0,3990
3	CEN06	0,0324	0,2583	0,1262	0,3521
4	CEN02	0,0075	0,2334	0,0965	0,3224
5	CEN03	-0,0252	0,2007	0,0722	0,2981
6	CEN07*	-0,1521	0,0737	0,0348	0,2607
7	CEN01*	-0,2088	0,0171	0,0000	0,2259

Sendo **u+g**: valores genotípicos preditos livres de interação; **u+g+ge**: valores genotípicos preditos; *Genótipos que apresentaram morte precoce de seus *top graftings*.

4. Discussão

4.1. Análise do florescimento e da influência do paclobutrazol sobre o desenvolvimento dos *top graftings*

Uma forma de acelerar o processo de melhoramento genético das espécies de *Eucalyptus* envolve métodos de indução precoce de florescimento por *top graftings* (Hasan & Reid, 1995; Grattapaglia et al., 2018). A aplicação desta técnica foi realizada em dois diferentes meses, sendo estes julho e novembro, ou seja, 6 e 3 meses antes do florescimento convencional das espécies deste gênero. Estas épocas foram selecionadas, pois para a realização de enxertos de lenhosas, é aconselhável proceder em baixas temperaturas, como ocorre nas estações inverno e primavera (Larson, 2006; Gaspar et al., 2017). Nestes períodos, as plantas apresentam menor atividade fisiológica e direcionam os seus compostos para a indução de brotação e florescimento quando ocorre o início do período chuvoso. Esses fatores beneficiam o desenvolvimento dos *top graftings* e torna a indução de florescimento mais efetiva durante o verão. A avaliação dos dados obtidos nos *top graftings* demonstraram a efetividade da técnica para *Eucalyptus* ao ser realizada nestes meses. Em ambas as épocas houve florescimento a partir de 3 meses após as enxertias (Figura 7-A1). Os *top graftings* proporcionaram, portanto, florescimento precoce dos genótipos autofecundados (Figuras 5 e 6).

Além disso, de acordo com a contagem de *top graftings* que floresceram, de BF e frutos produzidos em cada época, constatamos que a realização das enxertias 6 meses antes do florescimento é interessante para se obter resultados a curto prazo (Tabela 2). Assim, ao enxertar nesta época, é garantido tempo suficiente para que os *top graftings* se desenvolvam e iniciem a produção de maior quantidade de BF logo no primeiro ano após as enxertias (Tabela 2).

Porém, os *top graftings* de 3 meses antes do florescimento garantiram maior produção de BF e frutos no segundo ano e de maneira geral. O desempenho superior dos *top graftings* que foram realizados nesta época pode ser justificado pela maior taxa de sobrevivência a longo prazo. Ou seja, devido a uma maior quantidade de enxertos terem se mantido e desenvolvido até o ponto de maturidade necessário para o florescimento, houve uma consequente produção superior de botões florais e frutos por eles. Desta forma, apesar de requerer um maior período de espera, a época de 3 meses antes demonstrou ser mais adequada, por garantir resultado mais consistente e com a adaptação de um maior número de genótipos à técnica.

Os materiais genéticos autofecundados utilizados como enxertos, apresentaram diferenças em relação à predisposição e ao tempo necessário para iniciarem o florescimento. Esta diferenciação pode ser justificada devido ao processo de floração em plantas ser complexo e envolver interações genéticas, fatores ambientais e o estágio de desenvolvimento (Ha, 2014; Lee & Lee, 2010). Alguns dos genótipos, a exemplo o CEN03, foram capazes de produzir quantidade suficiente de BF para que o próximo ciclo de autofecundação e outras recombinações estratégicas fossem realizadas. Ceballo et al., 2017, também constataram que o sucesso de enxertos em relação à indução de florescimento, para programas de melhoramento de mandioca, é dependente do genótipo.

Existem fatores que podem influenciar na predisposição dos genótipos ao fenômeno de florescimento, como a adaptação ao ambiente (temperatura média e fotoperíodo) e a expressão da proteína *Flowering locus T -FT* (Searle & Coupland, 2004; Amasino, 2010; Turck et al., 2008; Yeoh et al., 2011; McClung et al., 2016). Esta proteína é um sinal móvel produzido nas folhas e transportado via floema para o meristema apical, onde interage com outros fatores de transcrição para iniciar o desenvolvimento floral (Zeevaart, 2008; Amasino, 2010). A indução da expressão de *FT* nas folhas e seu movimento para o ápice desencadeiam a floração (Wigge, 2011; Yeoh et al., 2011). Técnicas de enxertia, como a de *top grafting*, podem ser utilizadas para aproveitar a mobilidade da proteína e induzir o florescimento (Notaguchi et al., 2009). Uma vez que há a associação de duas plantas, na qual uma delas deve estar em estágio de desenvolvimento avançado (porta-enxerto), essa proteína já é naturalmente produzida e pode ser translocada até o ápice dos *top graftings*.

Outro aspecto avaliado em relação ao florescimento foi o desempenho dos *top graftings* em relação ao uso de PBZ. A aplicação deste regulador de crescimento foi testada, pois estudos demonstram que este tipo de produto pode induzir a floração precoce em muitas espécies de plantas. No entanto, o efeito varia de acordo com a espécie, idade e concentração de fito hormônios utilizados (Wei et al., 2018). Esse regulador de crescimento é predominantemente eficaz na indução e manipulação de florescimento/frutificação em espécies de plantas como manga (Blaikie et al., 2004; Srivastav et al., 2010; Yadav et al., 2005) e *Eucalyptus* (Griffin et al., 1993). A aplicação de PBZ pode induzir ainda o aumento nas concentrações de ABA e citocinina (Fletcher et al., 2000). Comportamento observado em plantas de *Solanum Trilobatum*, indicou que quando tratadas com PBZ, sintetizaram mais citocinina. A maior concentração de citocinina melhorou a diferenciação de cloroplastos e a biossíntese de clorofila, impedindo também a degradação desses pigmentos (Nivedithadevi et al., 2015)

Os *top graftings* avaliados demonstraram maior quantidade de florescimento quando estavam presentes em matrizes em presença de PBZ (Tabela 2). Isso se deve a capacidade desse regulador de crescimento em proporcionar redução do crescimento, aceleração da maturidade, concentração de clorofila e maior translocação de fotoassimilados (Hajihashemi, 2018). Sabe-se que a maior produção e crescimento das plantas depende das taxas fotossintéticas, sendo fundamental para crescimento e desenvolvimento das plantas. A garantia de maior rendimento fotossintético por unidade de área foliar e melhor partição dos fotoassimilados pode ser alcançado com aplicação de PBZ (Xia et al., 2018). Assim, possivelmente essa maior produção de fotoassimilados foi traduzida em maior pegamento de botões florais. Isso demonstra que, levando em consideração apenas o aspecto relativo ao florescimento, o uso do PBZ é recomendável.

Durante as avaliações realizadas foi efetuado o manejo das matrizes nos quais os *top graftings* vivos estavam localizados, o que permitiu a constatação de aspectos relacionados ao seu desenvolvimento. O vigor dos *top graftings* é um fator, determinante no sucesso da técnica, pois garante a permanência dos enxertos vivos e o desenvolvimento adequado dos frutos. O vigor favoreceu a sobrevivência dos ramos jovens em araucária em comparação com ramos mais próximos da senescência (Wendling et al., 2017). O efeito da senescência do ramo na taxa de sobrevivência dos enxertos superiores também foi descrito para *Pinus elliottii* var. *elliottii*. Maiores taxas de sobrevivência para esses enxertos foram observadas na porção média da coroa, seguidos pelo ápice, menores porcentagens foram observadas na porção basal (Perez et al., 2007).

Dois fatores que podem diminuir o vigor dos *top graftings* são a variação entre os ramos selecionados em galhos dos porta-enxertos para a realização das enxertias e a adubação. Assim, devido aos blocos terem se baseado na realização de quatro *top graftings* em um mesmo galho, constatamos que os ramos principais dos galhos

apresentaram crescimento de copa superior aos demais, que se estagnavam ou morriam em alguns casos. Além disso, para favorecer o desenvolvimento dos *top graftings* vivos, foi relevante a aplicação de adubação periódica sobre o porta-enxerto e a poda regular de brotações que estivessem desenvolvendo de forma próxima e pudessem causar sombreamento indesejado sobre a folhagem dos *top graftings*.

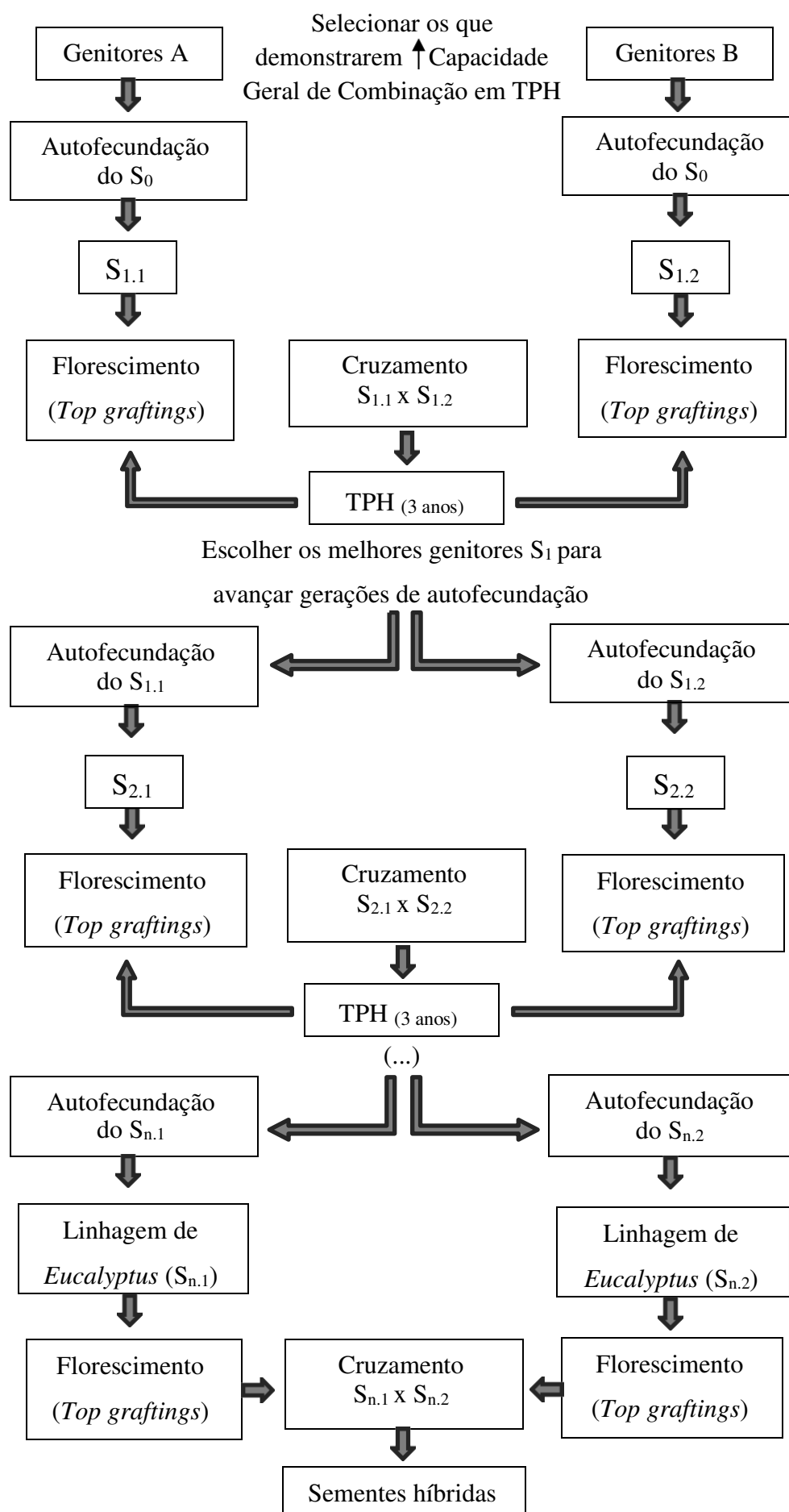
A afinidade entre o enxerto e o porta-enxerto também foi considerada, visto que os porta-enxertos utilizados foram os genitores maternos dos enxertos. Este é outro fator chave no processo de enxertia e abrange aspectos morfológicos, anatômicos, fisiológicos e bioquímicos de uma planta (Yin et al., 2012). Assegurar o alto grau de parentesco entre o enxerto e porta-enxerto garantiu afinidade fisiológica e anatômica entre estes dois componentes. O aspecto fisiológico refere-se à capacidade da planta de transportar nutrientes, fitohormônios e compostos orgânicos da raiz para a copa e vice-versa (Nanda & Melnyk, 2018). O anatômico está relacionado à associação íntima dos tecidos trocáveis que formam uma conexão contínua que pode ser comprometida quando o enxerto e o porta-enxerto apresentam diferenças no tamanho, forma e consistência celular.

Além dos fatores citados, a depressão por endogamia é algo que poderá interferir neste processo à medida em que as gerações forem avançadas, visto que as espécies de *Eucalyptus* são alógamas, assim como o milho. Entretanto, o efeito da depressão por endogamia em dez clones comerciais de *Eucalyptus* foi avaliado e constataram que ela foi de pequena magnitude para circunferência à altura do peito (depressão média de 17,5%) e, especialmente, para a densidade (Bison et al., 2004). Desta forma, espera-se que seja possível contornar os efeitos da endogamia a partir da seleção dos melhores indivíduos autofecundados de cada geração. Com isso será possível alcançar a alta taxa de homozigose esperada para as linhagens produzidas.

A efetivação da técnica de *top graftings* tornará possível que as sementes, obtidas a cada ciclo de autofecundações e conduzidas em campo (plantio convencional) ou em

viveiro (mudas jovens a serem selecionadas pela SGA), sejam novamente enxertadas, originando o ciclo subsequente. Neste sentido, dois métodos de melhoramento poderão ser utilizados, visando incluir o florescimento dos *top graftings* em seus ciclos a fim de acelerar o processo (Figura 9).

A Produção de híbridos entre linhagens autofecundadas utilizando *top graftings*



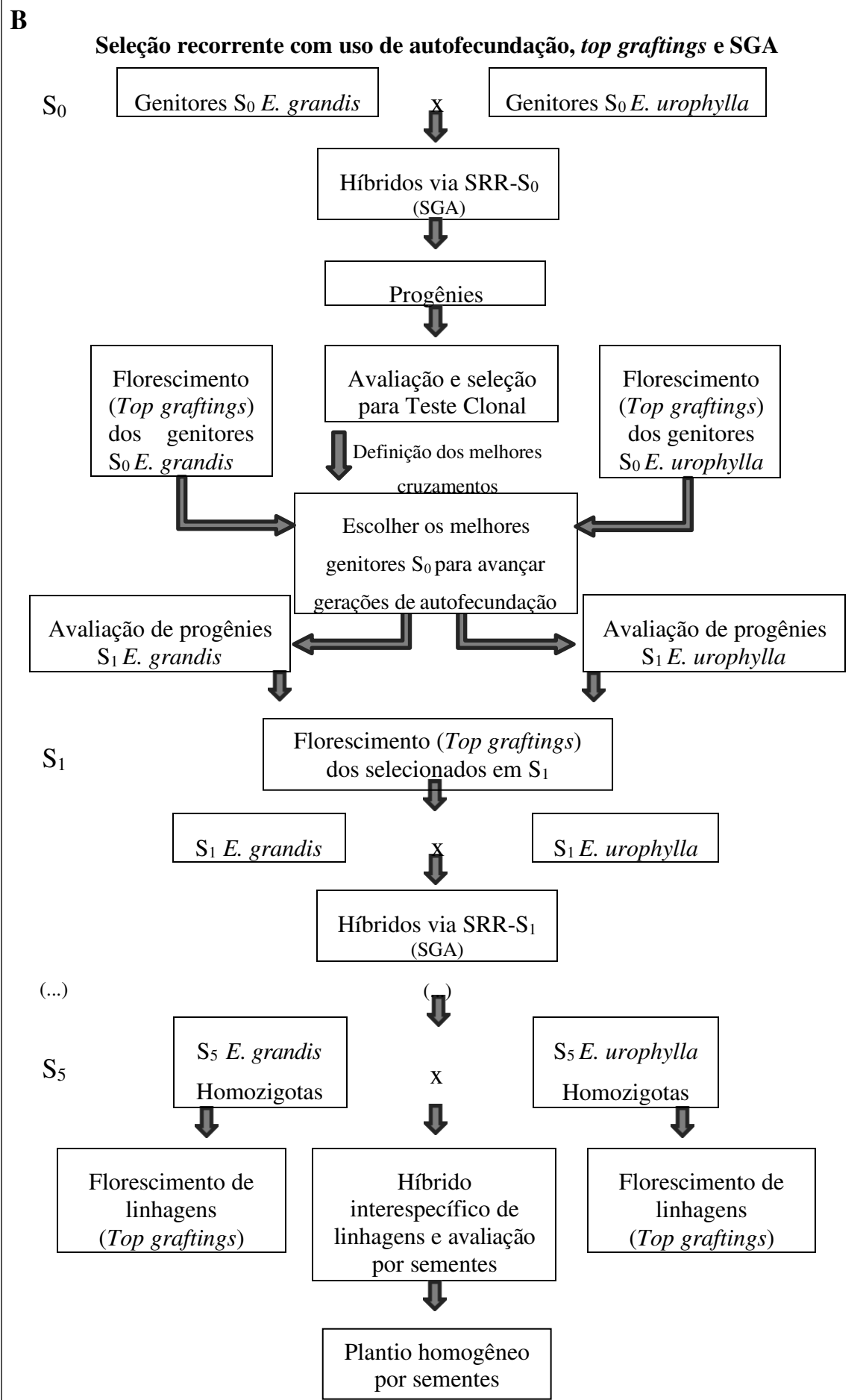


Figura 9: Representação dos métodos de melhoramento a serem seguidos visando a produção de linhagens de *Eucalyptus* por meio do florescimento precoce dos *top graftings*. **A-** Método intitulado “Produção de híbridos entre linhagens autofecundadas utilizando *top graftings*”, que inclui o plantio das sementes autofecundadas em Testes de Progênes Híbridas (TPH); **B-** Método intitulado “Seleção recorrente com uso de autofecundação, *top graftings* e SGA”, que consiste em selecionar as mudas jovens de *Eucalyptus*, ainda em viveiro. Após a seleção estas serão novamente enxertadas e induzidas a florescer rapidamente.

Conforme demonstrado na Figura 8, a Seleção Genômica Ampla poderá ser utilizada para selecionar os melhores indivíduos de cada geração, ainda em estado juvenil de desenvolvimento. Isto irá solucionar o problema dos programas de melhoramento genético, relacionado ao tempo necessário para o avanço de gerações. A obtenção de linhagens será então possível por meio do uso complementar de diferentes metodologias (*top graftings* e SGA).

Após a obtenção das linhagens de interesse, estas serão cruzadas entre si, originando sementes híbridas altamente produtivas e pouco segregantes entre si. A obtenção destas sementes híbridas de *Eucalyptus* será possível por meio da ativação do gene de macho esterilidade. Além disso, poderão ser usados cruzamentos controlados ou mesmo, pela condução de um pomar biclonal com confirmação de cruzamentos via marcadores moleculares, visando eliminar as autofecundações. A escolha do método utilizado para a obtenção das sementes híbridas deve-se basear nas estruturas disponíveis por parte do interessado em obtê-las.

Tendo como exemplo o material disponibilizado pelo florescimento dos enxertos deste projeto, os *top graftings* produziram material suficiente para que fosse realizado o segundo ciclo de autofecundação dos genótipos e cruzamentos $S_1 \times S_1$. Desta forma, os

resultados animadores apresentados para *top grafting* aqui dão suporte para o prosseguimento dos estudos com produção de linhagens endogâmicas de *Eucalyptus* e produção de híbridos interespecíficos. Alguns fatores devem ser observados com cautela para garantir a eficiência na geração de materiais superiores: herança genética das características, carga genética, alterações climáticas, o tamanho das famílias geradas, cruzamentos entre pseudolinhas, teste *cross* e uso de marcadores moleculares para eliminar indivíduos com alta carga genética e para prever desempenho de híbridos ainda não produzidos. A partir do momento em que estas sementes forem obtidas com sucesso, elas poderão ser plantadas em campo, descartando a necessidade de propagação clonal de mudas em viveiros.

4.2. Análise dos parâmetros genéticos

O uso de procedimentos estatísticos acurados, como a metodologia de modelos mistos (REML/BLUP), é uma realidade no melhoramento genético de plantas. Estes procedimentos fornecem relevante auxílio na interpretação adequada dos resultados obtidos em experimentos (Ramalho & Araújo, 2011). Desta forma, a partir dos dados de medições individuais de sobrevivência e área de copa dos *top graftings* realizados nas épocas de 6 e 3 meses antes do florescimento, foram obtidas estimativas de parâmetros genéticos. As análises estatísticas visaram a detecção de diferenças entre os tratamentos e foram realizadas por meio da análise individual no *software* Selegen (Tabelas 3 e 4).

Os altos valores de c^2 Genótipo para a variável sobrevivência indicam que houve discriminação de genótipos quanto ao seu desenvolvimento como *top graftings* para as duas épocas de enxertia. Ou seja, existem genótipos que são mais propensos a apresentarem bom vingamento do que outros. A afinidade morfo-anatômica pode ser descrita como um dos fatores preponderantes para o sucesso nas conexões vasculares e

consequente vingamento dos *top graftings*. Além disso, a similaridade entre os propágulos em relação à fisiologia, anatomia, consistência do tecido, tamanho e vigor entre enxerto e porta-enxerto deve ser respeitada para garantir melhores resultados (Wendling et al., 2017). A diferença na predisposição dos genótipos para sobrevivência foi demonstrada pela Figura 8.

O fato de alguns materiais genéticos terem apresentado mortalidade precoce, interferiu negativamente na avaliação do florescimento, visto que estes não apresentaram *top graftings* vivos para serem acompanhados. Esta diferença foi mais intensa quando os *top graftings* foram realizados 6 meses antes do florescimento. Neste sentido, os genótipos CEN01, CEN04 e CEN07 não tiveram enxertos vivos nas últimas avaliações. Isso indica que as condições ambientais são desfavoráveis para a enxertia de alguns genótipos nesta época do ano. Levando em consideração que o mês de julho possui maiores oscilações de temperaturas em relação às do mês de novembro, este é um fator que tende a afetar o vingamento inicial dos *top graftings* de *Eucalyptus*, aumentando a sua mortalidade precoce. A época em que os *top graftings* são realizados também influenciaram na taxa de pegamento para a espécie *Araucaria augustifolia* (Bertol.) Kuntze (Gaspar et al., 2017).

Os valores dos parâmetros c^2 Avaliação e rGen-Ava indicaram que, para as duas variáveis analisadas (sobrevivência e área), um baixo número de avaliações seria suficiente para determinar os melhores genótipos em ambas as épocas. As primeiras avaliações possibilitariam, portanto, a realização de um ranqueamento adequado entre os genótipos, para determinar quais os mais efetivos para o prosseguimento das autofecundações a partir de *top graftings*. Além disso, os valores de rGen-Trat, por serem superiores a 0,882, sugerem que não há genótipos específicos para aplicar o PBZ, ou seja, que sobreviveram ou se desenvolveram de forma mais acentuada a partir da aplicação do regulador. Assim, ao se optar ou não pelo uso do PBZ, pode-se padronizar a metodologia

para todos os genótipos. As médias gerais para as duas variáveis, sobrevivência e área, são maiores para os *top graftings* de 3 meses antes do florescimento, com valores iguais a 0,401 e 0,234, respectivamente. Pode-se considerar, portanto, que esta seja a época mais adequada para a realização do procedimento em relação a estes caracteres (Tabela 4).

A análise conjunta, forneceu um cenário geral em relação ao desenvolvimento da copa dos *top graftings*. Ao utilizar este modelo, foram unidos os dados de área de todas as avaliações realizadas nas duas épocas de enxertias (Tabela 5). A análise forneceu como resultado a estimativa de h^2g que é considerado um importante parâmetro entre os obtidos. Ele quantifica a fração da variação fenotípica de natureza herdável, que pode ser explorada nos ciclos de seleção (Rosado et al., 2012). Este parâmetro pode ser utilizado neste caso para demonstrar a predisposição dos genótipos em geral a serem enxertados e a se desenvolverem de forma adequada. O valor obtido para a herdabilidade no sentido amplo (h^2g), foi igual a 0,039, que é um valor classificado como baixo (Rosado et al., 2002). Isso demonstra, que a seleção individual dos genótipos com melhor desenvolvimento como *top graftings*, não pode ser considerada como eficiente ao se variar as épocas de enxertia. Desta forma, não há diferença no desenvolvimento dos *top graftings* de mesmo genótipo, realizados em uma mesma época, ainda que essa diferença seja considerável entre as épocas.

O baixo valor relativo a acurácia da análise conjunta (0,363) também é justificado pela variação de comportamento entre as épocas (Resende & Duarte, 2007). Concluímos, portanto, que a partir do momento em que os *top graftings* advindos de um mesmo genótipo e época de enxertia se mantêm vivos, que o crescimento de copa é homogêneo entre eles. O baixo valor da correlação genotípica entre o desempenho dos genótipos nas duas épocas (Rgloc) corrobora com o sentido expresso pelas herdabilidade e acurácia. Ele indica que houve inversão de *ranking* dos melhores genótipos para enxertia aos 6 e 3 meses antes do florescimento (Tabela 6). Devido aos materiais genéticos terem sofrido

alteração em sua colocação entre os *rankings* das duas épocas, a seleção dos melhores genótipos realizados em cada época resultaria na priorização de diferentes autofecundações. A definição de genótipos autofecundados mais propícios para a realização dos *top graftings*, deve ser realizada, portanto, após a definição da melhor época de enxertia para as espécies. Assim, a época do ano em que a técnica é realizada é um fator relevante neste processo, pois a escolha adequada pode garantir a adaptação de um maior número de genótipos, com maiores taxas de sobrevivência e crescimento de área de copa.

5. Conclusões

A técnica conhecida como *top grafting* é viável para *Eucalyptus* e pode ser replicada para as espécies do gênero, seguindo os procedimentos recomendados. Porém, a predisposição dos *top graftings* à enxertia varia de acordo com o material genético utilizado.

A quantidade de botões florais e frutos produzida pelo projeto foi satisfatória, considerando que foram obtidos ao final das avaliações, aproximadamente, 51 mil botões florais e 19 mil frutos, contabilizando as duas épocas de enxertia.

Levando em consideração a indução de florescimento, sobrevivência e desenvolvimento da área de copa nos *top graftings* realizados, melhores resultados são obtidos para a época de 3 meses antes do florescimento.

A aplicação de paclobutrazol favorece o florescimento dos *top graftings*. Entretanto, de forma geral, a aplicação do regulador não afeta a taxa de sobrevivência e o desenvolvimento de área de copa dos enxertos, segundo o teste t.

A aceleração do florescimento por *top graftings* permite a diminuição de tempo necessário para a formação de linhagens endogâmicas de *Eucalyptus* e em consequência, possibilita a sua propagação por sementes.

Com o uso do *top grafting* dois novos métodos de melhoramento (“Produção de híbridos entre linhagens autofecundadas utilizando *top graftings*” e “Seleção recorrente com uso de autofecundação, *top graftings* e SGA”) podem ser aplicados em espécies arbóreas de ciclo longo.

6. Referências

- Almqvist, C., 2013a. Interstock effects on topgraft vitality and strobili production after topgrafting in *Pinus sylvestris*. *Canadian journal of forest research*, 43(6), 584-588.
- Almqvist, C., 2013b. Survival and strobili production in topgrafted scions from young *Pinus sylvestris* seedlings. *Scandinavian journal of forest research*, 28(6), 533-539.
- Almqvist, C., Ekberg, I., 2001. Interstock and GA, effects on flowering after *topgrafting* in *Pinus sylvestris*. *For. Genet*, 8(4), 279-284.
- Amanullah, S.J., Mansoor, M., Khan, M.A., 2011. Heterosis studies in diallel crosses of maize. *Sarhad J. Agric*, 27(2), 207-211.
- Amasino R., 2010. Seasonal and developmental timing of flowering. *Plant J.* 61:1001-1013. DOI: 0.1111/j.1365-313X.2010.04148.x.
- Baldissera, J. N. C., Valentini, G., Coan, M. M. D., Guidolin, A. F., Coimbra, J. L. M., 2014. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 13(2), 181-189.
- Bison, O., Aguiar, A.M., Rezende, G.D.S.P., Ramalho, M.A.P., 2004. Inbreeding depression in *Eucalyptus* clones. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*,

- Madison, 4 (4), 459-464.
- Blaikie, S.J., J. Kulkarni, and W.J. Muller. 2004. Effects of morphactin and paclobutrazol flowering treatments on shoot and root phenology in mango cv. Kensington Pride. *Sci. Hort.* 101: 51–68.
- Castro, C.A.O., Resende, R.T., Bhering, L.L., Cruz, C.D., 2016. Brief history of *Eucalyptus* breeding in Brazil under perspective of biometric advances. *Ciência Rural*, v 46(9), p.1585–1593.
- Ceballos, H., Jaramillo, J. J., Salazar, S., Pineda, L. M., Calle, F., Setter, T., 2017. Induction of flowering in cassava through grafting. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 9(2), 19-29.
- Fletcher, F.A., Gilley, A., Sankhla, N., 2000. Triazoles as Plant Growth Regulator and Stress Protectants. *Hortic. Rev.*, 24, 55–138.
- Gaspar, R.G.B., Wendling, I., Stuepp, C.A., Angelo, A.C., 2017. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. *CERNE*, 23(4), 465-471. DOI: 10.1590/01047760201723042447
- Grattapaglia, D., Silva-Junior, O.B., Resende, R.T., Cappa, E.P., Müller, B.S., Tan, B., Isik, F., Ratcliffe, B., El-Kassaby, Y.A., 2018. Quantitative genetics and genomics converge to accelerate forest tree breeding. *Frontiers in plant science*, 9(1693). DOI: 10.3389/fpls.2018.01693
- Griffin, A.R., Whiteman, P., Rudge, T., Burgess, I.P., Moncur., M., 1993. Effect of paclobutrazol on flower-bud production and vegetative growth in two species of *Eucalyptus*. *Can. J. For. Res.* 23:640–647.
- Ha, T.M., 2014. A review of plants“ flowering physiology: the control of floral induction by juvenility, temperature and photoperiod in annual and ornamental crops. *Asian J. Agric. Food Sci.* 2:186-195.
- Hajihashemi, S. J. Plant Biochem. Biotechnol. (2018) 27: 237.

<https://doi.org/10.1007/s13562-017-0428-4>

Hasan, O., Reid, J.B., 1995. Reduction of generation time in *Eucalyptus globulus*. *Plant Growth Regul.* 17, 53–60.

IBA – Indústria Brasileira de Árvores. Relatório., 2019. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>. Acesso: 22/11/2019.

Larson, R.A., 2006. Grafting: A review of basics as well as special problems associated with conifer grafting. *Combin. Proc. Int. Plant Propagat. Soc.*, 56, 318-322.

Lee, J., Lee, I., 2010. Regulation and function of SOC1, a flowering pathway integrator. *J. Exp. Bot.* 61:2247-2254.

Li, L., Lu, K., Chen, Z., Mu, T., Hu, Z., Li, X., 2008. Dominance, overdominance and epistasis condition the heterosis in two heterotic rice hybrids. *Genetics*, 180(3), 1725- 1742.

Liang, H., Hu, Y., Pang, W., Liu, W. and Yang, M., 2011. Studies on kiwifruit improvement by multiple top grafting. *Acta Hort.* 913, 365-371
DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.913.48

Maia, M.C.C., 2010. Sistema reprodutivo de populações alógamas e autógamias: modelo básico e equilíbrio. *Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

McClung, C.R., Lou, P., Hermand. V., Kim, J.A., 2016. The Importance of ambient temperature to growth and the induction of flowering. *Frontiers in Plant Sciences*, 7, 1266. DOI: 10.3389/fpls.2016.01266.

Nanda, A.K., Melnyk, C.W., 2018. The role of plant hormones during grafting. *Journal of plant research*, 131(1), 49-58. DOI: 10.1007/s10265-017-0994-5

Notaguchi, M., Daimon, Y., Abe, M., Araki, T., 2009. Graft-transmissible action of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering. *Plant signaling & behavior*, 4(2), 123-125. DOI: 10.4161/psb.4.2.7558

- Paterniani, M.E.A.G.Z., de Souza Guimarães, P., Lüders, R.R., Gallo, P.B., da Souza, A.P., Laborda, P.R., Oliveira, K.M., 2008. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia*, 67(3), 639- 648.
- Perez, A.M.M., White, T.L., Huber, D.A., Martin, T.A., 2007. Graft survival and promotion of female and male strobili by topgrafting in a third-cycle slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) breeding program. *Canadian journal of forest research*, 37(7), 1244-1252. DOI: 10.1139/X07-004
- Pires, I.E., Resende, M.D.V. de, Silva, R.L. da, Resende Junior, M.F.R. de., 2011. *Genética Florestal*. Viçosa (MG): Arka. 318p.
- Ramalho, M.A.P., Araújo, L.C.A.D., 2011. Breeding self-pollinated plants. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(SPE), 1-7. DOI: 10.1590/S1984-70332011000500002.
- Resende, M.D.V., 2016. *Software* Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. v. 16, p. 330-339.
- Resende, M.D.V., Duarte, J.B., 2007. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182–194.
- Rosado, A.M., Rosado, T.B., Alves, A.A., Laviola, B.G., Bhering, L.L., 2012. Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 47, n. 7, p. 964–971.
- Santos, G.A., Nunes, A.C.P., de Resende, M.D.V., Silva, L.D., Higa, A., de Assis, T.F., 2016. An index combining volume and Pilodyn penetration to study stability and adaptability of *Eucalyptus* multi-species hybrids in Rio Grande do Sul, Brazil. *Australian Forestry*, 79(4), 248-255. DOI:

10.1080/00049158.2016.1237253

- Searle, I., Coupland, G., 2004. Induction of flowering by seasonal changes in photoperiod. *The EMBO Journal*, 23(6), 1217-1222.
- Srivastav, M., Kishor, A., Dahuja, A., Sharma, R.R., 2010. Effect of Paclobutrazol and Salinity on Ion Leakage, Proline Content and Activities of Antioxidant Enzymes in Mango (*Mangifera indica* L.). *Sci. Hortic.*, 125, 785–788.
- Sturion J.A., Resende M.D.V, Carpanezzi A.A., 1999. Controle genético e estimativa de ganho genético para peso de massa foliar em ervamate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Boletim de Pesquisa Florestal*. 1, 5– 12.
- Turck, F., Fornara, F., Coupland, G., 2008. Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 573-594. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755
- Wei, X.J., Ma, J., Wang, K., Liang, X.J., Lan, J.X., Li, Y.J., Li, K.X., 2018. Early Flowering Induction in Golden Camellia Seedlings and Effects of Paclobutrazol. *HortScience*, 53(12), 1849-1854. DOI: 10.21273/HORTSCI13676-18
- Wendling, I., Zanette, F., Rickli-Horsti, H., Constantino, V., 2017. Produção de mudas de araucária por enxertia. In: WENDLING, I.; ZANETTE, F. Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios (Embrapa Florestas-Capítulo em livro científico). Brasília – DF, Embrapa. 159 p.
- White, T.L., Adams, W.T., Neale, D.B., 2007. *Forest Genetics*. Cambridge, MA: CABI Publishing. p. 682. DOI: 10.1079/9781845932855.0000
- Wigge, P. A., 2011. FT, a mobile developmental signal in plants. *Current Biology*, 21(9), R374-R378. DOI: 10.1016/j.cub.2011.03.038
- Wong, C.K., Bernardo, R., 2008. Genomewide selection in oil palm: increasing selection gain per unit time and cost with small populations. *Theoretical and Applied*

Genetics, 116(6), 815-824.

- Xia, X., Tang, Y., Wei, M., Zhao, D., 2018. Effect of paclobutrazol application on plant photosynthetic performance and leaf greenness of herbaceous peony. *Horticulturae*, 4(1), 5. DOI: 10.3390/horticulturae4010005
- Yadav, R.K., Rai, N., Yadav, D.S., Asati, B.S., 2005. Use of paclobutrazol in horticultural crops—a review. *Agricultural Reviews*, 26(2), 124-132.
- Yeoh, C.C., Balcerowicz, M., Laurie, R., Macknight, R., Putterill, J., 2011. Developing a method for customized induction of flowering. *BMC biotechnology*, 11(1), 36. DOI: 10.1186/1472-6750-11-36
- Yin, H., Yan, B., Sun, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X., Chai, J., Ren, Z., Zheng, G., Liu, H., 2012. Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4219-4232. DOI: 10.1093/jxb/err313
- Zeevaart, J.A.D., 2008. Leaf-produced floral signals. *Current opinion in plant biology*, 11(5), 541-547. DOI: 10.1016/j.pbi.2008.06.009

CAPÍTULO 2

Florescimento ultra-precoce de mudas jovens de *Eucalyptus* por *top graftings*

RESUMO

Os ciclos de seleção e recombinação podem ter seus tempos reduzidos de forma considerável, agilizando a recomendação de novos clones, a partir do uso de *top graftings* de mudas jovens. Os *top graftings* de *Eucalyptus* mostram-se promissores, visto que esta técnica de enxertia é capaz de induzir o florescimento ultra-precoce, tornando efetivo o uso da SGA. Desta forma, o objetivo foi estabelecer uma metodologia padrão para a técnica de *top graftings* de mudas jovens para possibilitar o florescimento ultra-precoce de progênies de *Eucalyptus*. Neste sentido, foram realizados 384 *top graftings*, divididos entre progênies de 3 cruzamentos. As recombinações foram realizadas entre as espécies *E. urophylla* x *E. grandis*, *E. urophylla* x *E. urophylla* e *E. grandis* x *E. grandis*. A partir desta etapa, as sementes foram semeadas e conduzidas como mudas, até que atingissem 60-90 dias e 150-180 dias de desenvolvimento. As enxertias foram realizadas em duas diferentes épocas do ano: julho e outubro (6 e 3 meses antes do florescimento convencional das espécies). Além destes efeitos, a eficiência do uso de paclobutrazol foi analisada a partir de sua aplicação sobre cada genótipo dos porta-enxertos. Em intervalos de 3 meses, os *top graftings* vivos foram avaliados em relação à indução do florescimento (contagem de botões forais e frutos) e do seu desenvolvimento (taxa de sobrevivência e mensuração da área de copa). As diferenças entre os tratamentos e as suas interações foram detectadas por meio do teste Scott-Knott, utilizando-se o *software* R. Os *top graftings* se mostraram efetivos à indução de florescimento ultra-precoce de *Eucalyptus*, pois produziram quantidade de botões florais suficiente para se realização do próximo ciclo de recombinação em progênies do cruzamento G3. O florescimento ocorreu após 3 meses em relação ao momento de enxertia. A enxertia de mudas jovens com idade de

150-180 dias apresentou resultados melhores em todos os efeitos avaliados. A aplicação de paclobutrazol favoreceu o florescimento dos *top graftings*, visto que todos os que floresceram estavam em matrizes em que o regulador foi aplicado. A melhor época para realizar a enxertia de é a de 6 meses antes do florescimento, visto que acarretou maior produção de florescimento e crescimento de área de copa. Entretanto, a taxa de sobrevivência nesta época foi inferior. Considerando estes resultados, constatamos que a realização de *top graftings* de mudas jovens de *Eucalyptus*, garantirá a rápida produção de botões florais e frutos. Assim, será possível realizar os ciclos consecutivos de recombinação das progênies selecionadas pela Seleção Genômica Ampla, tornando a técnica efetiva no melhoramento florestal.

Palavras-chave: Melhoramento Florestal; Progênies; Seleção Genômica Ampla.

ABSTRACT

The selection and recombination cycles can be reduced considerably, speeding up the recommendation of new clones, using top graftings of young seedlings. The top graftings of *Eucalyptus* are promising, since this grafting technique can induce ultra-early flowering, to make the use of the Genome-Wide Selection effective. Thus, the objective was to establish a standard methodology for the top graftings technique of young seedlings to enable the ultra-early flowering of *Eucalyptus* progenies. In this sense, 384 top graftings were performed, divided in 3 different crossing progenies. Recombinations were carried out *E. urophylla* x *E. grandis*, *E. urophylla* x *E. urophylla* and *E. grandis* x *E. grandis*. The seeds of the progenies were sown and conducted as seedlings, until they reached 60-90 days and 150-180 days of development. The grafts were performed at two different times of the year: July and October (6 and 3 months before the conventional flowering of the species). In addition to these effects, the efficiency of the use of paclobutrazol was analyzed from its application on each rootstock genotype. At 3-month intervals, the alive grafts were evaluated in relation to flower induction (counting fruit buds and fruits), and their development (calculation rates and canopy area calculation). The differences between treatments and their interaction were detected using the Scott-Knott test, through the R software. The top graftings proved to be effective in inducing ultra-early flowering of *Eucalyptus*, as they produce enough flower buds to carry out the next recombination cycle in progenies of the G3 crossing. Flowering occurred after 3 months in relation to the time of grafting. The top graftings of 150-180 days old seedlings showed better results in all evaluated effects. The application of paclobutrazol favored the flowering of top grafting, since all that bloomed were in matrices where the regulator was applied. The best time for grafting young seedlings is 6 months before flowering, since it has resulted in greater production of flowering and growth of the graft area. However, the survival rate at this time was lower. Considering these results, we found

that the realization of top graftings of young *Eucalyptus* seedlings, will guarantee the fast production of flower buds and fruits. Thus, it will be possible to perform the consecutive recombination cycles of the progenies selected by Genome-Wide Selection, making the technique effective in forest improvement.

Keywords: Forest breeding; Progenies; Genome-Wide Selection.

1. Introdução

A indução precoce de florescimento por meio *top graftings* já tem sido comumente utilizada para algumas espécies florestais (Almqvist & Ekberg, 2001; Liang et al., 2011; Gaspar et al., 2017; Stuepp et al., 2018). A realização de *top graftings* a partir do uso de mudas jovens pré-selecionadas por Seleção Genômica Ampla (SGA), é uma estratégia que garante rápida obtenção de botões florais e pólen para a realização de novos ciclos de recombinação no melhoramento florestal. Assim, espécies de *Eucalyptus*, que é o gênero mais plantado no Brasil, podem ser recombinadas com uma redução considerável de tempo. O uso integrado das duas metodologias agiliza a recomendação de novos clones comerciais. Desta forma, a efetivação da técnica de *top grafting* e, conseqüentemente, da SGA em espécies de *Eucalyptus*, será um avanço significativo para o setor. Uma vez que, as espécies deste gênero podem demorar até 12 anos para apresentarem florescimento de forma natural (Rocha et al., 2018).

A longa duração dos programas de melhoramento florestal é um constante desafio a ser trabalhado pelos melhoristas, que buscam continuamente reduzir o tempo necessário para a recomendação de um novo clone. O método de melhoramento comumente empregado para espécies de *Eucalyptus* é conhecido como seleção recorrente e é composto por ciclos de recombinação e seleção. Estes ciclos possuem uma etapa de fundamental importância para a sua efetividade, que é a seleção de progênies advindas dos cruzamentos estratégicos, por meio de testes experimentais (Pires et al., 2011). Os testes de progênies requerem a instalação de mudas em campo, seguindo delineamento adequado, para que estas sejam conduzidas e se desenvolvam até a época de avaliação fenotípica. Este é um processo oneroso, que demanda um tempo considerável e requer a espera de 3 a 7 anos, para o crescimento das árvores e definição dos melhores genótipos de *Eucalyptus* (Castro et al., 2016). A Seleção Genômica Ampla (SGA) surge neste cenário como uma abordagem valiosa, pois descarta a necessidade de testes de progênie,

da forma como é realizado no método convencional de melhoramento do gênero.

A utilização conjunta de *top graftings* e SGA mostra-se efetiva no melhoramento de coníferas (*Pinus*), visto que garantiu a seleção e florescimento precoces. Além disso, possibilita o aumento considerável de ganhos genéticos por unidade de tempo, obtidos tanto para a seleção de progênies, quanto de clones (Li & Dungey, 2018). Apesar das dificuldades ainda encontradas em relação à SGA, diversos avanços estão sendo conquistados por pesquisas de grande impacto no melhoramento florestal (Resende Jr et al., 2012). O uso em conjunto com *top graftings* é um exemplo de associação entre metodologias que tende a tornar a SGA factível (Grattapaglia et al., 2018).

A SGA baseia-se na predição simultânea de efeitos genéticos de marcadores moleculares, visando explicar grande parte da variação genética de caracteres quantitativos (Meuwissen et al., 2001). Assim, ela permite a seleção de genótipos a partir de modelos estatísticos, que utilizam dados fenotípicos e fornecidos pelos marcadores, resultando em ranqueamentos de alta precisão (Resende et al., 2012). Estes modelos conseguem indicar os melhores genótipos, mesmo quando estes ainda se encontram em fase juvenil de desenvolvimento, como mudas jovens em viveiros (Fritsche-Neto et al., 2012). Conforme relatado, estas mudas podem ser enxertadas em matrizes com maturidade fisiológica, dando origem a *top graftings* que florescem de forma ultra-precocemente. Desta forma, pode-se realizar a seleção simultânea e adiantada de múltiplas características em muitos indivíduos (Resende et al., 2012; Grattapaglia et al., 2018; Li & Dungey, 2018). Ela acelera ainda a entrega de ganhos genéticos e fornece estimativas das variâncias genéticas aditivas e não aditivas (Grattapaglia et al., 2018; Li & Dungey, 2018), sendo estas vantagens altamente significativas para o melhoramento florestal.

O uso de SGA está sendo cada vez mais difundido no melhoramento animal e vegetal (Van Eenennaam et al., 2014; Bevan, et al., 2017; Shi et al., 2017). Em florestas plantadas, a SGA ainda tem que ser incluída de forma efetiva em programas de

melhoramento, visto que ainda tem sido utilizada em simulações envolvendo espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* (Resende et al., 2017). O principal empecilho em sua efetivação no setor é o alto custo de genotipagem de uma grande quantidade de indivíduos, na etapa de construção do modelo estatístico. A relutância de pesquisadores em recomendar e clonar genótipos com base nos valores genômicos, sem testes de campo é outro fator que interfere em sua efetivação. Além disso, as etapas a serem executadas após a seleção por meio da SGA devem ser muito bem definidas, visando evitar a perda das melhores progênies neste processo (Resende et al., 2017; Grattapaglia et al., 2018).

Diante do exposto, o objetivo consistiu em estabelecer uma metodologia padrão para a realização de *top graftings* em mudas jovens do gênero *Eucalyptus*, visando a seleção e recombinação ultra-precoce de progênies selecionadas via SGA.

2. Material e métodos

2.1. Condições ambientais e materiais genéticos

O experimento foi conduzido em pomares de hibridação de campo da empresa Celulose Nipo Brasileira – CENIBRA S.A., no município de Guanhães (latitude 18° 46' 30" S; longitude 42° 55' 57" W; altitude 744 m), localizado no estado de Minas Gerais, Brasil. O clima do município é do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen e Geiger, com pluviosidade e temperatura média anual de 1.497 mm e 19,9 °C.

Foram selecionados três cruzamentos estratégicos, previamente realizados pela equipe de melhoramento, para a obtenção das mudas jovens (progênies), a serem enxertadas (Tabela 1). Os genótipos originados pertenceram às espécies *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*. A definição dos materiais genéticos a serem recombinados foi determinada por ranqueamento após avaliação fenotípica (DAP e altura). A partir da obtenção das sementes de cada cruzamento, estas

foram semeadas em tubetes. Os semeios foram realizados, em três períodos, 02 de janeiro, 06 de abril e 02 de julho de 2018. O desenvolvimento das mudas foi acompanhado em viveiro de pesquisas da empresa, na cidade de Belo Oriente (latitude 19° 11' 25" S; longitude 42° 29' 43" W; altitude 402 m), Minas Gerais. Foi determinado que as mudas a serem enxertadas teriam duas diferentes idades, visando comparar qual é a mais adequada para a realização da técnica. Assim, as mudas de cada cruzamento se desenvolveram até atingirem 60-90 e 150-180 dias.

Tabela 1: Mudanças jovens utilizadas como enxertos para a realização dos *top graftings*, visando o rápido florescimento, para a realização dos ciclos posteriores de recombinação.

Cruzamentos		Espécies	Progênes	Localização
A	G1	<i>E. urophylla</i> x <i>E. urophylla</i>	17498	PH14
	G2	<i>E. grandis</i> x <i>E. grandis</i>	18001	PH15
	G3	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	18002	PH14

A escolha dos porta-enxertos se baseou em seu alto grau de parentesco com o enxerto (genitor materno), visando aumentar a compatibilidade entre eles. Assim, foram selecionadas duas genitoras maternas dos enxertos, que tivessem duas cópias no Pomar de Hibridação Clonal (PHC) para a realização das enxertias das progênes advindas de cada um dos três cruzamentos. Desta forma, foram utilizadas 6 matrizes como porta-enxertos. O objetivo do uso de 2 réplicas de cada matriz foi testar o efeito da aplicação de paclobutrazol (PBZ), sobre o florescimento, a sobrevivência e o desenvolvimento dos *top graftings*. Consideramos também, o fato de os porta-enxertos serem fisiologicamente maduros (florescendo), seu potencial para a produção abundante de flores e frutos, boa formação da copa, porte e estado fitossanitário.

2.2. Delineamento experimental

O objetivo foi avaliar 3 efeitos sobre os *top graftings*: sendo, a idade em que as mudas devem ser enxertadas, a eficiência do PBZ e qual a melhor época do ano para a realização do procedimento. As épocas testadas foram 6 e 3 meses antes da época de florescimento convencional das espécies (janeiro-março). Ou seja, os *top graftings* foram realizados nos meses de julho (época 1), e outubro (época 2), de 2018. O delineamento utilizado foi definido como blocos casualizados, com a realização de quatro blocos de cada idade de muda para cada porta-enxerto (B1 a B4), com mudas em 2 idades (mudas de 60-90 dias- tratamento 3; mudas de 150-180 dias- tratamento 4), em cada época de enxertia. Cada bloco foi estabelecido a partir da enxertia de quatro *top graftings* em um diferente galho do porta-enxerto. Além disso, para testar o efeito do PBZ, foi selecionado uma das matrizes genitoras (réplica) para sua aplicação (Figura 1).

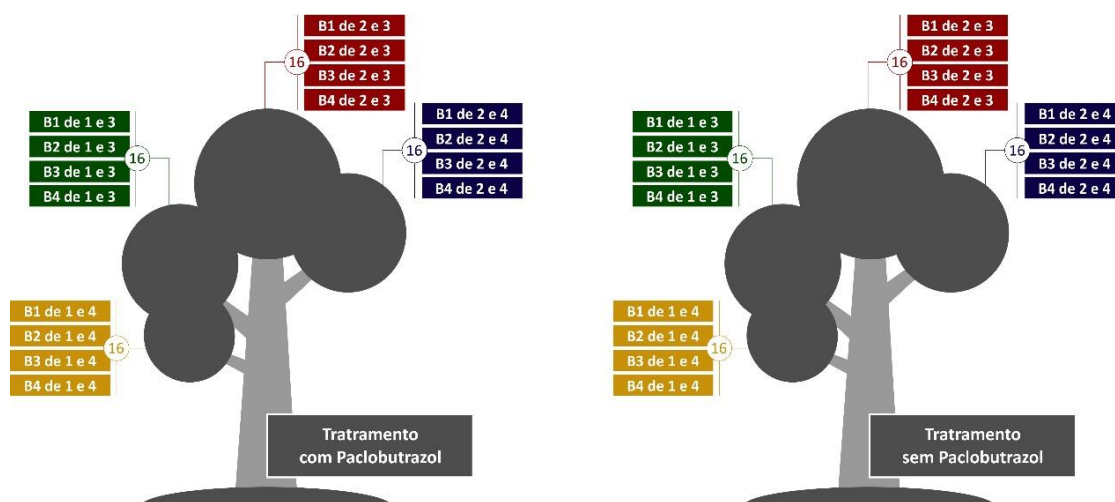


Figura 1: Representação da realização dos *top graftings* de cada um dos três cruzamentos selecionados como enxertos, com e sem paclobutrazol. Os retângulos verdes (mudas de 60-90 dias) e amarelo (mudas de 150-180 dias) indicam os blocos realizados no mês de julho (época 1). Enquanto os que os vermelhos (mudas de 60-90 dias) e azuis (mudas de 150-180 dias) foram realizados em outubro (época 2). Em cada

bloco, foram realizados quatro top graftings.

Foram feitos 128 *top graftings* por cruzamento, sendo estes divididos entre 16 em cada idade de mudas (60-90 dias e 150-180 dias), em cada uma das replicatas dos porta-enxertos (com e sem paclobutrazol) e em cada época (6 e 3 meses antes do florescimento). Desta forma, foram feitos um total de 384 *top graftings* (16 *top graftings* x 2 idades x 2 tratamentos (com e sem PBZ) x 3 cruzamentos x 2 épocas). Devido a cada *top grafting* ser uma progênie, a identificação dos materiais foi individualizada.

2.3. Processos de aceleração do florescimento

2.3.1. *Top graftings de mudas jovens*

Os *top graftings* foram realizados utilizando metodologia denominada de enxertia do tipo garfagem em fenda cheia, com algumas adaptações, nos melhores galhos da copa dos porta-enxertos (Figura 2). As mudas jovens foram conduzidas em viveiro até alcançarem 60-90 e 150-180 dias de desenvolvimento, para serem usadas como enxertos (Figura 2-A e Figura 2-B). A partir deste procedimento, foi preciso transportá-las ao pomar de hibridação de campo da empresa, onde as matrizes adultas, estão localizadas.

A realização de *top graftings* por meio de mudas de 60-90 dias requer que sejam retiradas todas as folhas do caule das mudas de forma cuidadosa (Figura 2-A). A partir disso, realizamos um corte basal, rente ao substrato. Desta forma, a base do enxerto tornou-se apta para a realização da cunha. Para o uso das mudas de 150-180 dias, é necessário perceber, a partir do ápice da muda, o ponto em que ela passa a ter o caule mais rígido (ponto superior de corte do enxerto). Medir aproximadamente 20 cm, para determinar o ponto inferior de corte (Figura 2-B).

Após selecionar as matrizes adequadas para serem os porta-enxertos, foi necessário encontrar em cada uma, galhos que possuíssem ramos com a mesma

circunferência dos enxertos. Além disso, o mesmo galho deveria comportar a realização de quatro *top graftings*, pois esta seria a determinação de um bloco. Após a definição do galho, efetuamos uma fenda central no ramo do porta-enxerto utilizando canivete. O enxerto foi cortado dos dois lados (cunha), com tamanho adequado, para garantir a aderência no galho selecionado. A cunha foi introduzida na fenda (Figura 2-C). Foi preciso cuidar para que pelo menos um dos lados da casca do enxerto, coincidissem com a borda do galho do porta-enxerto (Figura 2-D). Após este procedimento, revestimos o material enxertado com parafilme. O local em que houve a conexão entre enxerto e porta-enxerto foi pressionado com um fitilho, arame ou fita veda-rosca (Figura 2-E). Após a realização dos procedimentos citados, o *top grafting* encontrava-se propício para a sua sobrevivência e desenvolvimento adequado (Figura 2-F). Após 45 dias passou a ser possível atestar sobre a sua sobrevivência, porém a primeira avaliação foi realizada com 3 meses de enxertia.

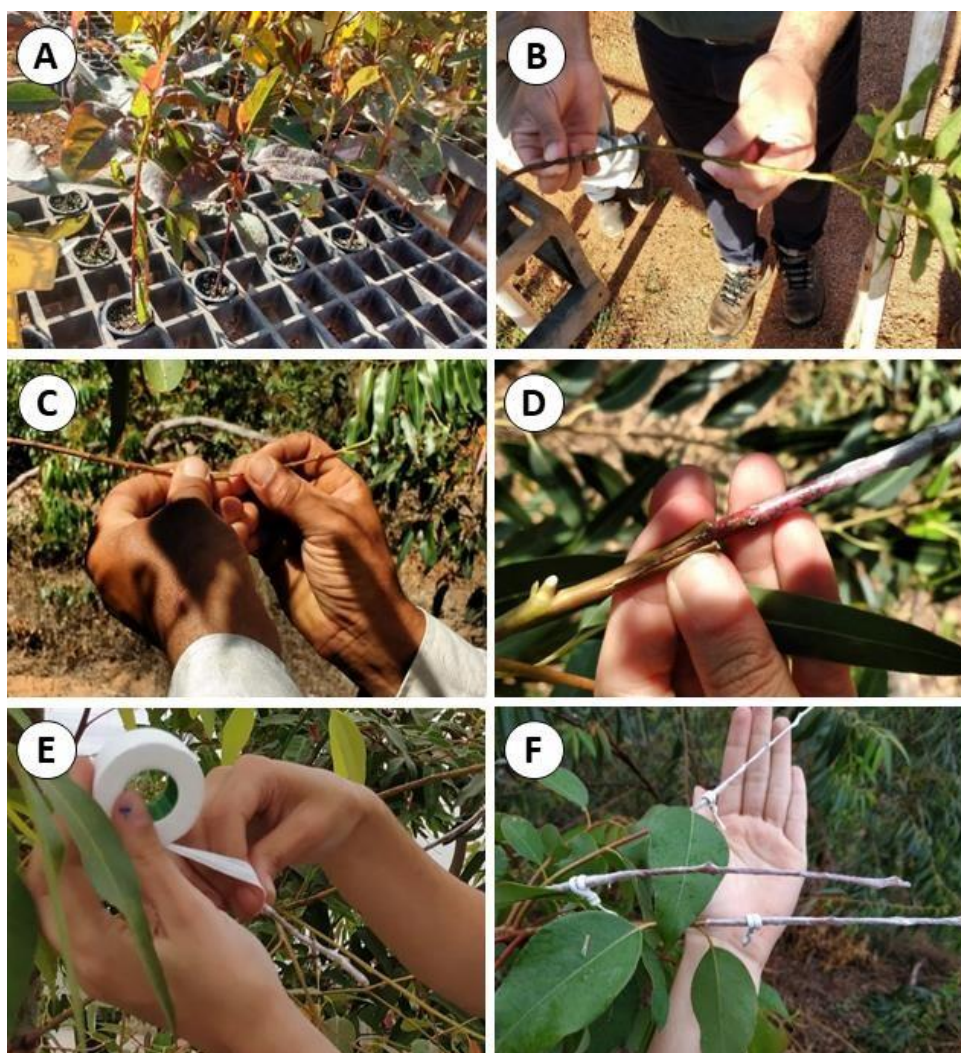


Figura 2: Metodologia adaptada de *top graftings* de mudas jovens (progênies). **A-** Mudas jovens de 60-90 dias; **B-** Muda jovem de 150-180 dias; **C-** Após a seleção de uma muda para ser o enxerto, é necessário verificar se o seu diâmetro é compatível com o do galho onde este será enxertado. Em caso afirmativo, realizar os procedimentos de adequação da muda com o enxerto, de acordo com cada idade. Em seguida, fazer dois cortes laterais no enxerto, visando formar uma cunha e um corte central no galho, dando origem a uma fenda; **D-** Encaixar os dois componentes de forma que a lateral destes seja compatível e permita a translocação de água, sais minerais e fotoassimilados entre o câmbio da planta e o do enxerto; **E-** Recobrir o *top grafting* com parafilme e reforçar com o fitilho ou arame na área de ligação entre o enxerto e o porta-enxerto; **F-** Demonstração do *top grafting* após a realização do procedimento padrão.

2.3.2. Aplicação de paclobutrazol

Após a realização dos *top graftings* de cada material genético autofecundado, um dos porta-enxertos foi selecionado para que o PBZ fosse aplicado sobre a sua área radicular (Figura 3).



Figura 3: Demonstração da metodologia de aplicação do regulador de crescimento sob os porta-enxertos. **A-** Medição do tronco do porta-enxerto; **B-** O PBZ deve ser incluído em um recipiente graduado, para que seja mensurada a quantidade a ser diluída em água; **C-** Aplicação da solução homogênea do PBZ em água sobre o solo, com um regador. Garantir que a área aplicada abranja todo o solo sob a área da copa do porta-enxerto.

O procedimento foi iniciado com a medição da circunferência da base do tronco do porta-enxerto (Figura 3-A). A relação utilizada foi de 1 ml de PBZ em suspensão concentrada (Cultar 250SC) para cada centímetro de circunferência. A partir desta etapa,

foi necessário medir em um recipiente graduado a quantidade de PBZ a ser aplicada (Figura 3-B). A quantidade de água usada para diluir o produto foi definida dias antes da aplicação de PBZ. Foi preciso regar as plantas de interesse utilizando apenas água, correspondendo à toda a área sob a copa, até atingir o ponto de saturação do solo. Esta área de abrangência foi o suficiente para garantir que a área radicular das matrizes fosse atingida, o que garante a melhor absorção do produto. Após este teste, o PBZ foi então diluído em 5 litros de água e esta solução foi transferida para um regador. A aplicação do produto foi realizada de forma a recobrir o solo, novamente, sob toda a área da copa dos porta-enxertos (Figura 3-C). Para a realização destes procedimentos foi indispensável o uso de EPI's (Equipamentos de Proteção Individual).

2.4. Coleta de dados

Foram realizadas avaliações periódicas do experimento em intervalos aproximados de três meses. Desta forma, a sobrevivência e o florescimento foram contabilizados e o desenvolvimento da área de copa foi mensurado. O florescimento foi contabilizado por meio da contagem de *top graftings* que apresentaram desenvolvimento de primórdios florais, flores e frutos. A partir do momento em que foi detectado o florescimento em cada *top grafting*, o procedimento, em algumas avaliações, consistiu em realizar a contagem de botões florais e frutos presentes. Além disso, a taxa de sobrevivência, em cada avaliação, foi obtida a partir da contagem de *top graftings* que permaneceram vivos durante o decorrer do tempo, sempre discriminando os genótipos e o delineamento. A taxa de efetividade da técnica foi aferida por meio da relação entre *top graftings* vivos na última avaliação, realizada em agosto de 2019 e, entre estes, os que apresentaram florescimento. Esta avaliação correspondeu a 13 e 10 meses após as enxertias, para os *top graftings* realizados nas épocas de 6 e 3 meses após o florescimento, respectivamente.

Além disso, foram realizadas medições individuais das áreas de copa dos *top graftings* utilizando fita métrica. Assim, foram mensuradas as larguras e comprimentos, em cm, da totalidade dos indivíduos vivos em cada avaliação. A partir destas medidas, foi possível realizar o cálculo de área de copa, em m², dos *top graftings* e acompanhar o desenvolvimento destes com o passar do tempo.

$$\text{Área de copa dos top graftings (m}^2\text{)} = \frac{\text{comprimento (cm)} * \text{largura (cm)}}{10.000}$$

Utilizando como base os dados coletados em 4 avaliações (outubro de 2018 a agosto de 2019), foi possível realizar comparações entre *top graftings* instalados em diferentes tratamentos. Estas comparações entre o desempenho dos *top graftings* que estavam em matrizes com ou sem PBZ e os que foram realizados 6 ou 3 meses antes do florescimento, visaram o estabelecimento do melhor protocolo para a realização do procedimento.

Durante a avaliação do experimento, foram realizadas manutenções nos porta-enxertos onde os *top graftings* foram instalados. Assim, podas estratégicas foram realizadas, para remoção de galhos desnecessários que sombreavam os enxertos vivos. Além disso, foram fornecidas recomendações específicas em relação a adubação e manejo do pomar e para melhorias na identificação dos enxertos, com o objetivo de melhorar as condições do material.

2.5. Análises estatísticas

A partir dos dados coletados nas avaliações periódicas, estes foram submetidos a aplicação do método de separação de médias, conhecido como Scott-Knott, a 5% de significância do erro tipo 1 (Scott & Knott, 1974). As análises foram realizadas utilizando-se o *software* R. O objetivo foi avaliar a diferença entre os genótipos, além do

efeito dos tratamentos (idades das mudas, épocas de enxertia e uso de PBZ) durante o decorrer do tempo (efeito das avaliações). Além disso, foram analisadas as interações entre os tratamentos, os quais foram submetidos às mesmas matrizes de forma conjunta. Estas comparações entre médias foram realizadas em relação à sobrevivência (%) e ao desenvolvimento de área de copa (m²) dos *top graftings*. A representação gráfica destes resultados foi construída a partir do *software* SigmaPlot 11.0.

3. Resultados

3.1. Análise do florescimento

A produção de primórdios florais nos *top graftings* de mudas jovens foi iniciada de forma ultra-precoce, ou seja, 3 meses após a realização das enxertias (Figura 4-A). Além disso, o número de *top graftings* que floresceram foi semelhante (cinco), independente da época em que estes foram realizados (Tabela 2). Porém, naqueles realizados 6 meses antes do florescimento, a produção de botões florais e frutos foi superior. Enquanto os *top graftings* realizados 6 meses antes garantiram 2.938 botões florais e 387 frutos após 13 meses da enxertias, os de 3 meses antes produziram 1.330 botões florais e 219 frutos após 10 meses das enxertias. A contabilização dos frutos não foi acumulativa, visto que os de uma avaliação anterior foram os mesmos na seguinte. Desta forma, foram contabilizados os maiores valores referentes à produção de frutos de cada *top grafting* para o cálculo do total produzido. Outro aspecto avaliado foi a influência do PBZ como indutor de florescimento. De maneira geral, os *top graftings* que produziram botões florais e frutos estavam presentes em matrizes nas quais o PBZ foi aplicado. Isso demonstrou que há uma maior efetividade da técnica de *top grafting* na sua presença (Tabela 2).

Tabela 2: Quantidade de *top graftings* que floresceram, botões florais (BF) e frutos, no

ano 2019. Foi realizada a contabilização acumulativa do florescimento dos *top graftings* de 6 meses e 3 meses antes do florescimento.

6 meses antes do florescimento						
Avaliações	PBZ	Out_18	Fev_19	Mai_19	Ago_19	2019
<i>Top graftings</i>	Com	3	5	5	5	5
	Sem	-	-	-	-	
BF	Com	**	2.616	260	62	2.938
	Sem	-	-	-	-	
Frutos	Com	-	-	363	347	387
	Sem	-	-	-	-	
3 meses antes do florescimento						
Avaliações	PBZ	Fev_19	Mai_19	Ago_19	2019	
<i>Top graftings</i>	Com	5	5	5	5	
	Sem	-	-	-		
BF	Com	810	520	-	1.330	
	Sem	-	-	-		
Frutos	Com	-	-	219	219	
	Sem	-	-	-		

Além disso, uma maior quantidade de enxertos da idade de 150-180 dias floresceu em ambas as épocas, quando comparado à outra idade das mudas que foram avaliadas (60-90 dias). Desta forma, relação de florescimento entre as idades foi igual a 3 *top graftings* de 150-180 dias e 2 de 60-90 dias para os realizados na época de 6 meses antes do florescimento. Além disso, houve 4 de 150-180 dias e 1 de 60-90 dias florescendo entre os que são de 3 meses antes do florescimento. Percebemos ainda que os *top graftings* das plantas de ambas as épocas e idades foram capazes, não apenas de iniciar o florescimento, mas também de desenvolver os botões florais até a formação de frutos (Figura 4-B a E). O efeito genético também se mostrou significativo em relação à predisposição ao florescimento. Ainda que tenhamos observado *top graftings* vivos advindos de todos os cruzamentos até a última avaliação, apenas as progênes do 18002 floresceram.

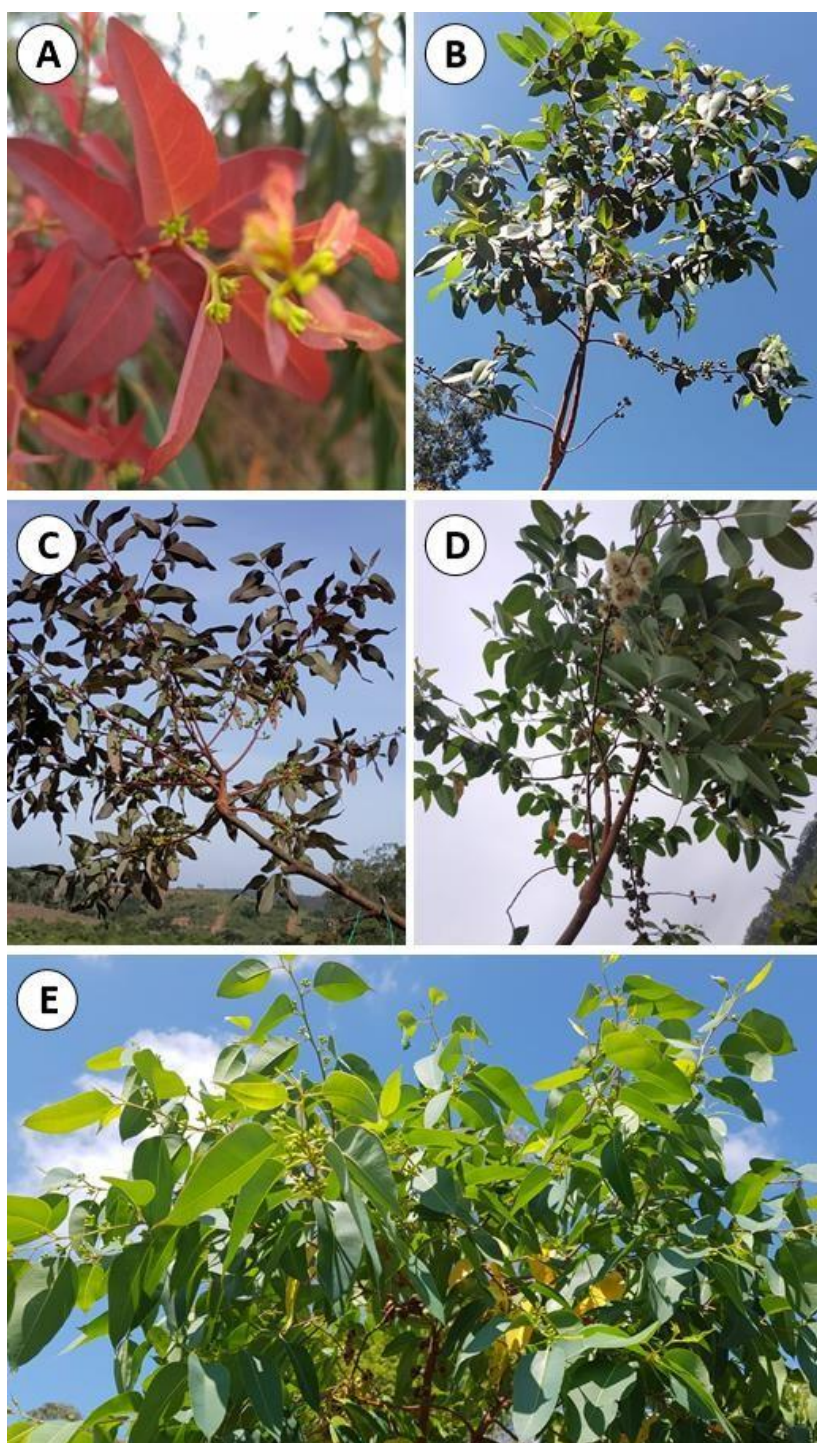


Figura 4: A- Emissão de primórdios florais, 3 meses após as enxertias; B a E- Demonstração de *top graftings* de mudas jovens que apresentaram florescimento.

3.2. Interação entre os tratamentos em relação à sobrevivência dos *top graftings*

A análise da sobrevivência foi realizada pelo método de Scott-Knott, levando em consideração os dados coletados nas três avaliações em que os *top graftings* de 6 e 3

meses foram avaliados (a partir do terceiro mês, após o segundo período de enxertia). Desta forma, determinamos as interações entre os tratamentos e o efeito destas sobre o desempenho dos *top graftings* (Figura 5). A partir da análise da interação entre as Idades × Genótipos, percebemos que o melhor cenário foi o constituído pela enxertia de mudas de 150-180 dias do cruzamento G3 (progênes 18002). Este cenário apresentou valor máximo de 65% de sobrevivência, com diferença significativa a 5% de significância do erro tipo 1, demonstrando que o efeito genético e de idade da muda afetam este comportamento. Ao se avaliar as duas maiores médias entre as interações, percebemos que a idade de 150-180 dias demonstrou melhores resultados (Figura 5-A).

A avaliação da interação entre Genótipos × Épocas indica que o melhor período do ano para que as mudas sejam enxertadas e apresentem pegamento, ao serem utilizadas como enxertos, é o de 3 meses antes do florescimento (Figura 5-B). Ao se considerar também o uso de PBZ (Tratamento) sobre os *top graftings* de cada época, novamente a de 3 meses apresentou maiores médias (Figura 5-C). Em ambos os casos de interação houve diferença significativa entre as médias, demonstrando que este período (outubro) deve ser o indicado para a realização das enxertias, considerando apenas a sobrevivência.

Os cruzamentos realizados demonstraram em progênes com maior pegamento ao serem usadas como enxertos foi o G3 (progênes 18002). Portanto, além de este ter sido o único a apresentar florescimento, foi também o de maior sobrevivência. O desenvolvimento do G3 sofreu influência significativa da idade das mudas e da época de enxertias, sendo necessário, portanto, considerar as recomendações anteriores ao se realizar a enxertia de um mesmo genótipo.

A aplicação de PBZ não influenciou na obtenção de maiores taxas de sobrevivência para os *top graftings* realizados em uma mesma época (Figura 5-C). O mesmo ocorreu quando se avaliou o efeito específico do regulador de crescimento sobre cada genótipo (Figura 5-D). Desta forma, consideramos que, para obter vantagem em

relação a estas duas variáveis (épocas e genótipos), a sua aplicação não é necessária.

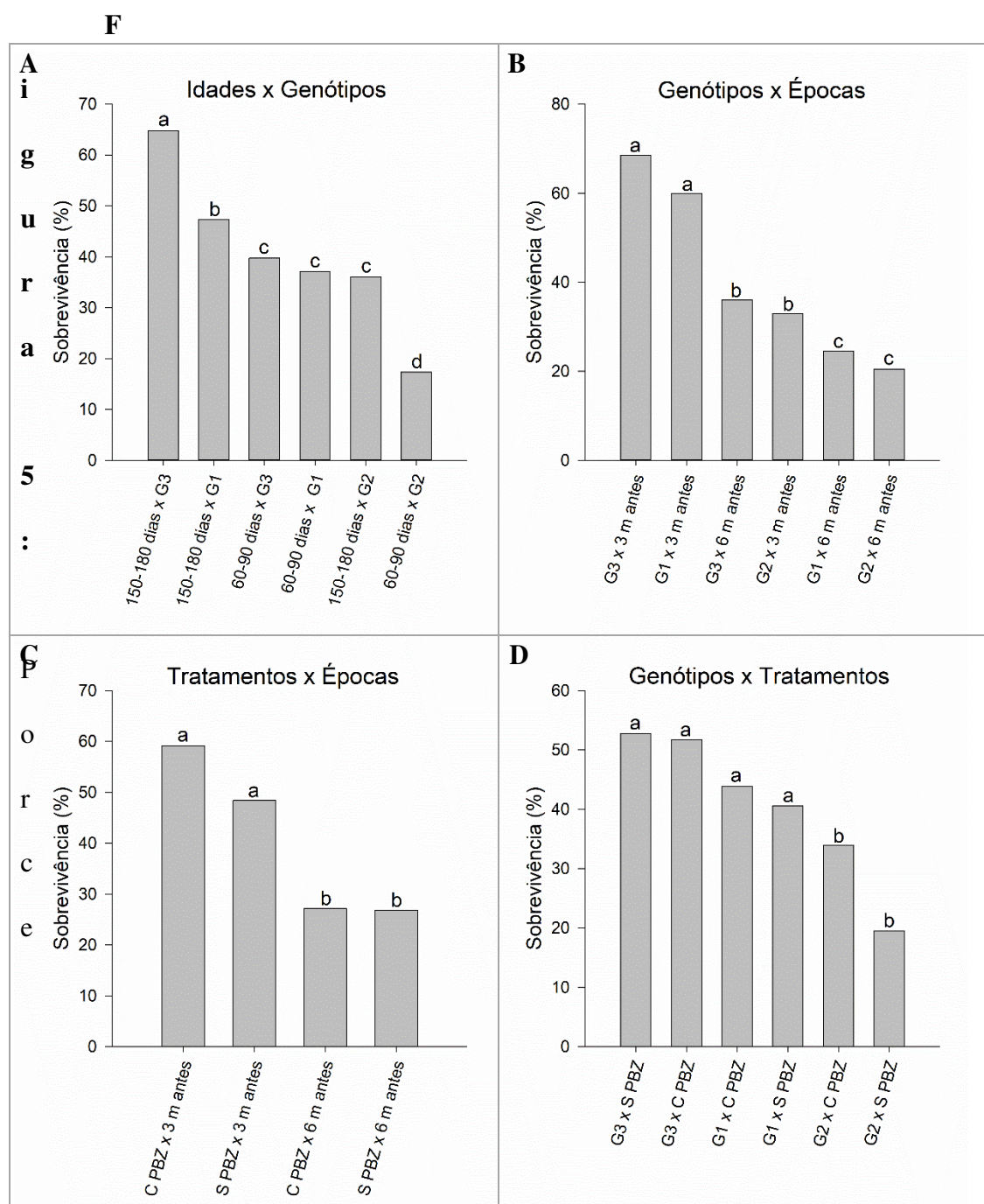


Figura 5: Porcentagem de sobrevivência de *top graftings*, considerando a interação entre tratamentos. Médias seguidas de mesma não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro tipo 1. **A-** Interação entre os efeitos das idades das mudas (60-90 dias e 150-180 dias) e dos genótipos advindos de cada cruzamento; **B-** Interação entre os efeitos dos genótipos advindos de cada cruzamento e das épocas de enxertia (6 e

3 meses antes do florescimento); **C-** Interação entre o efeito da aplicação de PBZ e das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento); **D-** Interação entre os efeitos dos genótipos advindos de cada cruzamento e da aplicação de PBZ.

3.3. Efeito simples dos tratamentos em relação ao crescimento da área de copa dos *top graftings*

Os efeitos simples dos tratamentos em relação ao desenvolvimento da copa dos *top graftings* foram avaliados (Figura 6). Estes fatores simples apresentam influências semelhantes sobre a sobrevivência e reforçam a recomendação dos padrões a serem seguidos. Considerando, primeiramente, os dados dos *top graftings* de mudas nas diferentes idades (60-90 e 150-180 dias), constatamos que as de maior idade resultaram em média relativa à área de copa ($0,194 \text{ m}^2$) mais elevada (Figura 6-A). Essa diferença foi significativa em relação a média dos que foram realizados com mudas de 60-90 dias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro tipo 1. Desta forma, constatamos que para obtermos *top graftings* com copas maiores, o período de desenvolvimento em viveiro das mudas utilizadas como enxertos deve ser de 150-180 dias. Houve diferença entre os genótipos e assim, como nas avaliações de florescimento e sobrevivência, os *top graftings* de G3 (progênes 18002) apresentaram desempenho superior aos demais (média igual a $0,255 \text{ m}^2$). As médias que foram obtidas por meio dos *top graftings* de G1 ($0,067 \text{ m}^2$) e G2 ($0,082 \text{ m}^2$) foram consideravelmente inferiores (Figura 6-B).

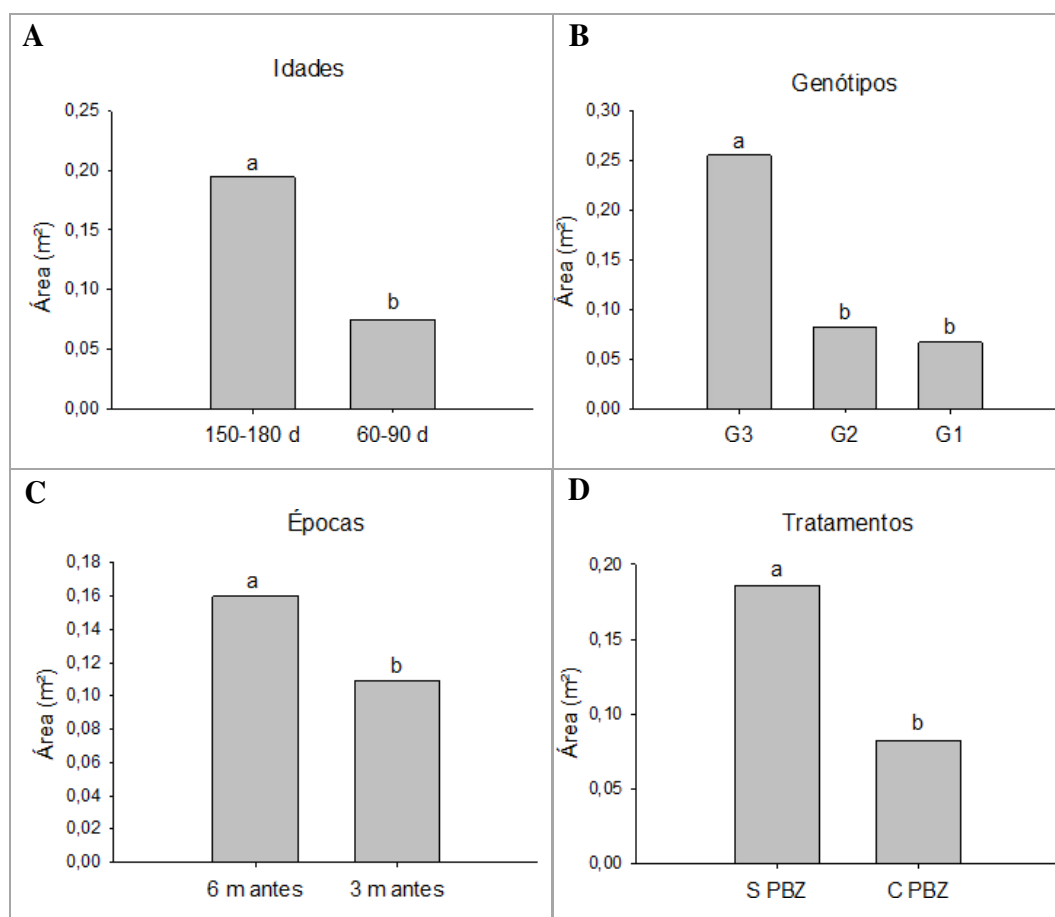


Figura 6: Médias das dimensões de área de copa dos *top graftings* avaliados, de acordo com os tratamentos utilizados. As médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro tipo 1. **A-** Efeito das idades 60-90 e 150-190 dias sobre a área; **B-** Efeito dos genótipos advindos de cada cruzamento sobre a área; **C-** Efeito das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento) sobre a área; **D-** Efeito do tratamento (aplicação de PBZ) sobre a área.

As médias de área, divididas pelas épocas de enxertias, demonstram que os *top graftings* realizados 6 meses antes do florescimento apresentaram valores superiores (Figura 6-C). É necessário considerarmos um fator na avaliação deste resultado, pois estes enxertos contavam com 3 meses a mais de desenvolvimento, em relação aos *top graftings* da época de 3 meses antes do florescimento, quando avaliados em um mesmo período. Entretanto, a taxa de sobrevivência dos *top graftings* de 6 meses antes do florescimento

foi significativamente maior (Figura 5-B). Isso demonstra que mesmo que tenham restado menor quantidade de *top graftings* vivos desta época, estes apresentaram área de copa consideravelmente maior. Outro fator considerado foi a aplicação de PBZ e a sua influência como regulador de crescimento. O PBZ apresentou efeito negativo, pois nos *top graftings* sem aplicação de PBZ, as médias foram inferiores (Figura 6-D).

3.4. Interação entre os tratamentos em relação ao crescimento da área de copa

A avaliação dos efeitos causados pelas interações entre os tratamentos, em relação ao desenvolvimento de área de copa dos *top graftings*, garantiu a confirmação das recomendações a serem feitas. Neste sentido, ao analisarmos a interação entre Idades × Genótipos, percebemos que o cenário constituído por mudas em idade igual a 150-180 dias, das progênies do cruzamento G3 (progênies 18002), foram novamente as que apresentaram melhor desempenho (Figura 7-A). Outras interações também indicaram a influência significativa dos genótipos sobre o desempenho dos *top graftings*, pois em todas elas, o G3 prevaleceu como superior (Figura 7-D a F). O efeito do PBZ não foi significativo para o desenvolvimento da área de copa, quando avaliado em interação com as épocas, avaliações e os genótipos (Figura 7-B a D). Desta forma, considerando esta variável, a aplicação de PBZ poderia ser descartada.

Além disso, os *top graftings* realizados na época de 6 meses antes do florescimento natural das espécies de *Eucalyptus* foram os que apresentaram maior média, quando em interação com os tratamentos (Figura 7-B) e com os genótipos (Figura 7-E). Concluímos, portanto, que para a variável área de copa a melhor época de enxertia é o período do mês de julho. Por fim, o efeito das avaliações também foi considerado em interações com tratamentos (PBZ) e genótipos, demonstrando o desenvolvimento dos *top graftings* com o decorrer do tempo (Figuras 7-C e F).

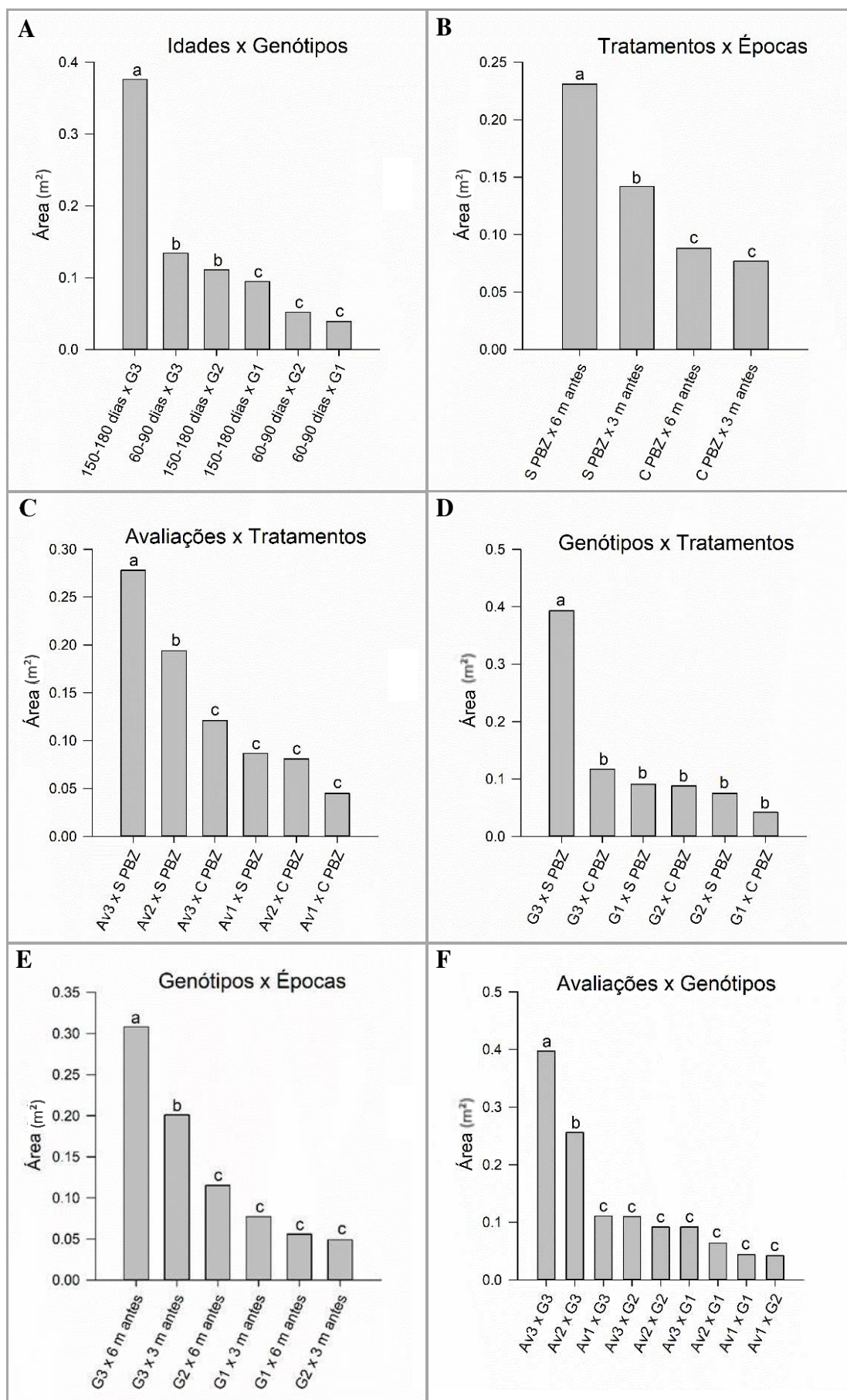


Figura 7: Médias das dimensões de área de copa dos *top graftings* avaliados, de acordo com os tratamentos utilizados. As médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância do erro tipo 1. **A-** Interação entre os efeitos das idades das mudas (60-90 dias e 150-180 dias) e dos genótipos advindos de cada cruzamento; **B-** Interação entre os efeitos da aplicação de PBZ e das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento); **C-** Interação entre o efeito das avaliações e da aplicação de PBZ; **D-** Interação entre os efeitos dos genótipos advindos de cada cruzamento e da aplicação de PBZ; **E-** Interação entre os efeitos dos genótipos advindos de cada cruzamento e das épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento); **F-** Interação entre o efeito das avaliações e dos genótipos advindos de cada cruzamento.

4. Discussão

4.1. Análise do florescimento

Os programas de melhoramento tradicionais seguem o método de Seleção Recorrente Recíproca (SRR) convencional (Resende & Higa, 1990). A partir do uso do novo método proposto neste trabalho, o processo para se originar híbridos intra ou interespecíficos superiores seguirá uma nova vertente. Assim, os fenótipos das progênies serão previstos quando as mudas ainda estiverem com algumas semanas de idade, via SGA (Resende et al., 2012). Os melhores materiais poderão ser então selecionados e isso possibilitará a rápida instalação de testes clonais (TC) ou testes clonais ampliados (TCA) em campo. Após a seleção das melhores progênies por meio da SGA, recomenda-se que as mudas selecionadas sejam direcionadas a viveiros e multiplicadas (Grattapaglia et al., 2018). Por meio da enxertia de diversas mudas da mesma progênie, será possível assegurar uma taxa de pagamento suficiente para que *top graftings* de cada genótipo se

desenvolvam e floresçam. Desta forma, os programas de melhoramento poderão ser delineados com um novo modelo, que inclui *top graftings* em suas etapas, garantindo que as progênies produzam botões florais, flores e frutos rapidamente (Figura 8).

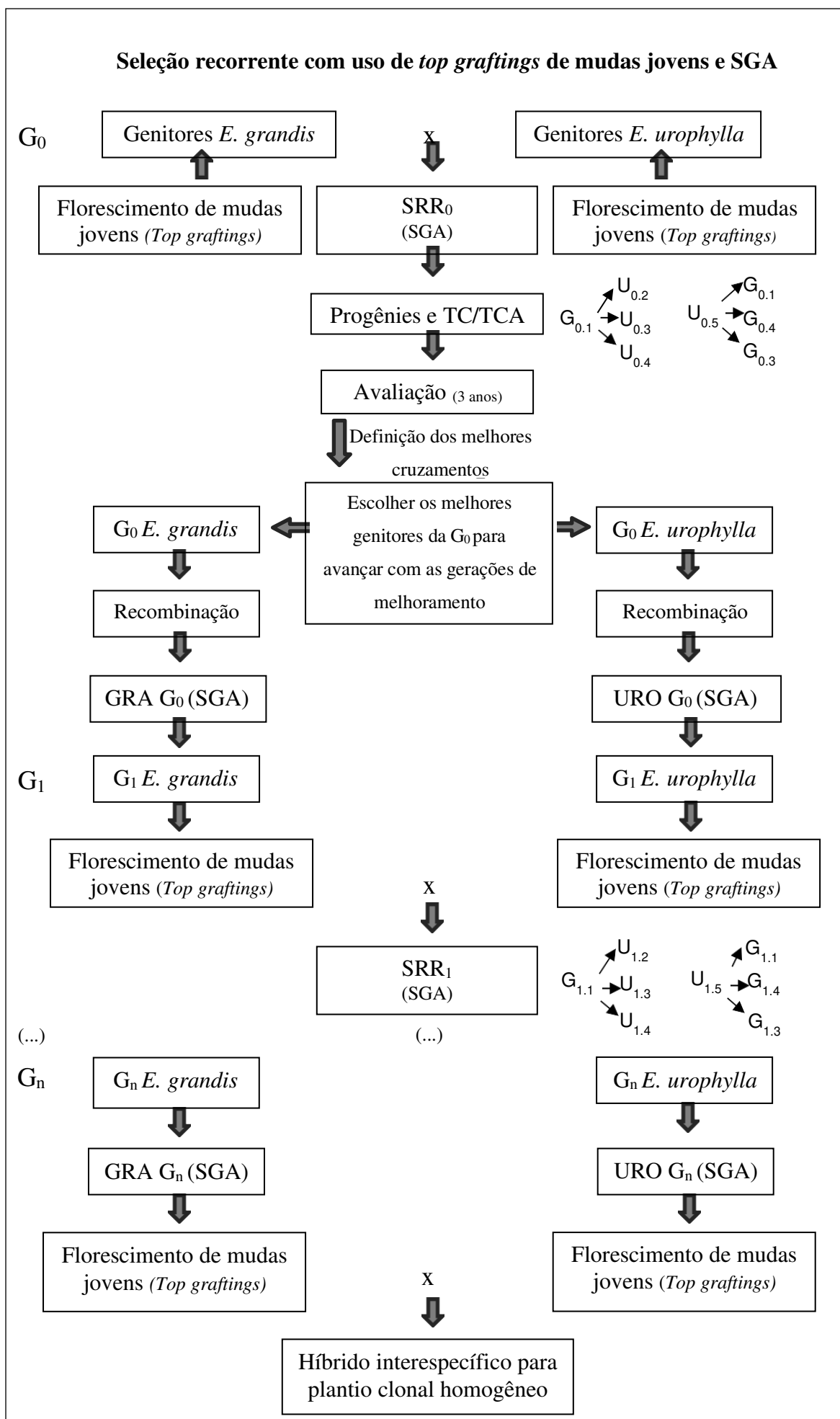


Figura 8: Representação do método de melhoramento a ser seguido visando o florescimento ultra-precoce de mudas jovens de *Eucalyptus* selecionadas via SGA, por *top graftings*. Método intitulado “Seleção recorrente com uso de *top graftings* de mudas jovens e SGA”, que pode ser adaptado para modelos de seleção recorrente dos tipos intra e interespecíficos.

Por meio deste método, torna-se possível aumentar a eficiência dos programas de melhoramento e agilizar as fases posteriores que se baseiam em testes clonais. Desta forma será possível instalar testes com menor número de árvores pré-selecionadas, para serem avaliadas em ensaios expandidos em vários locais (Resende et al., 2012). Além disso, a comparação dos ganhos genéticos com a implantação de material genético selecionado na SGA, em conjunto com o uso de *top graftings*, demonstrou a obtenção de aumento considerável dos ganhos genéticos, quando comparado ao método tradicional de melhoramento de *Pinus* (Li & Dungey, 2018). Considerando que as espécies de *Eucalyptus* também são perenes, estes ganhos por unidade de tempo são parâmetros cruciais a serem obtidos no melhoramento do gênero (Wong & Bernardo, 2008).

A realização de *top graftings* de mudas jovens de *Eucalyptus*, visando a indução de florescimento ultra-precoce, é uma estratégia inédita. O melhoramento deste gênero ainda não tem explorado a translocação de fito-hormônios a partir do porta-enxerto, para garantir a rápida maturação do enxerto juvenil, induzindo-o a florescer. Neste sentido, foram realizados *top graftings* visando testar a efetividade da técnica e o total de 10 *top graftings* apresentaram florescimento por meio do procedimento adotado (Tabela 2). Este resultado foi obtido a partir de 3 meses após as enxertias. Isso demonstrou que a indução do florescimento por esta técnica é factível e poderá ser aprimorada, ao se utilizar as recomendações advindas dos resultados obtidos. A obtenção de florescimento ultra-precoce por meio de *top graftings* representa um importante avanço, visto que acarretará

a redução considerável no tempo dos ciclos de melhoramento (Mitani et al., 2008; Li & Dungey, 2018).

A variação de predisposição ao florescimento entre os cruzamentos irá afetar este processo, visto que foi perceptível a influência do efeito genético sobre os resultados. Apenas as progênies do cruzamento G3 (progênies 18002) floresceram e garantiram o total de 4.268 botões florais e 606 frutos para o programa de melhoramento. Além disso, o efeito da idade das mudas influenciou no florescimento, visto que as de 150-180 dias foram as mais adequadas para promover a indução (Tabela 2). Esse fato pode ser justificado pela maior facilidade no momento de execução da técnica com as mudas nesta idade, devido ao seu maior porte e rusticidade em relação às de 60-90 dias. Isso garantiu que um maior número de *top graftings* desta idade se mantivessem vivos, com bom desenvolvimento de copa e aptos a florescer. A melhor qualidade da enxertia conferiu também uma ligação mais eficiente dos tecidos do câmbio e consequente, melhoria na translocação de hormônios.

Outra questão perceptível sobre o florescimento foi a melhor produção de botões florais e frutos naqueles que foram realizados na época de 6 meses antes do florescimento (julho de 2018). Este resultado superior pode estar relacionado ao melhor crescimento de área de copa dos *top graftings* realizados nesta época. Teoricamente, o metabolismo das plantas no final do período de inverno e de dormência fisiológica, aumenta a circulação de fotoassimilados e garante maior produção de botões florais e flores nos *top graftings* na época de 3 meses antes (Franzon et al., 2008). Porém, a presença de mais folhagens e atividade fotossintética nos de 6 meses antes acarretou uma produção superior para esta época. Como estes *top graftings* apresentam um período maior para se desenvolverem até o verão, que é a época de florescimento do *Eucalyptus*, estes apresentam maior maturidade para reagirem aos compostos fisiológicos do porta-enxerto e área de copa para desenvolverem gemas florais.

O benefício da presença de PBZ foi significativo sobre o resultado, visto que todos os *top graftings* que floresceram estavam em matrizes nas quais ele foi aplicado. Este regulador foi, portanto, fundamental para a efetividade da técnica e indução precoce do florescimento. A indução por meio do uso de PBZ está associada à restrição da expansão celular e ao acúmulo de compostos fenólicos no ápice do caule (Oliveira et al., 2020). O PBZ é comumente utilizado em pomares de *Eucalyptus*, visando aumentar a produção de sementes (Hasan & Reid, 1995; Auras, 2001; Gardner et al., 2016). Este regulador também é utilizado em outras culturas com a finalidade de as fazerem florescer (Wei et al., 2018; Oliveira et al., 2020). Desta forma, consideramos que a aplicação de PBZ deve ser recomendada para os *top graftings* de mudas jovens, visando que o florescimento seja induzido.

4.2. Análise dos efeitos dos tratamentos e de suas interações em relação à sobrevivência e ao crescimento de copa dos *top graftings*

O efeito dos tratamentos e da interação entre eles foi avaliado com o método de separação de médias conhecido como Scott-Knott (Scott & Knott, 1974). Este tipo de análise possui a vantagem sobre outros métodos, pois separa as médias em grupos distintos, sem sobreposição entre eles. O método de Scott-Knott mostra-se ainda, como uma alternativa viável para se obter resultados mais diretos e mais fáceis de serem interpretados (Canteri et al., 2001). Com base nos gráficos construídos a partir dos resultados, tornou-se possível, portanto, determinar os melhores padrões a serem utilizados, visando obter maiores taxas de sobrevivência e crescimento de área de copa dos *top graftings*.

A avaliação das interações entre os tratamentos demonstrou que a melhor época para se realizar as enxertias e obter altas taxas de sobrevivência, é a época de 3 meses antes do florescimento (outubro). Em relação à enxertia de pitangueira, autores

compararam as diferenças para brotação e pegamento dos enxertos em relação à época de realização da técnica. Para ambas as variáveis, os melhores resultados foram obtidos no mês de setembro (Franzon et al., 2008). A enxertia nesta época garantiu porcentagem de sobrevivência igual a 59% (Com PBZ) e 48% (Sem PBZ), considerando os *top graftings* das mudas de ambas as idades. Essas porcentagens condizem com os valores encontrados na literatura em relação a produção de enxertos para espécies do gênero *Eucalyptus* (Santos et al., 2012). Os autores objetivaram a formação de pomar de hibridação, e obtiveram taxas de sobrevivência para as espécies *E. dunnii* de 60% e para *E. Benthamii* de 32%, sendo a média para as duas espécies de 46%. Enquanto os índices de sobrevivência obtidos por Moraes et al. (2013), foram de 74 % para os enxertos de *E. dunnii*, 62% para o híbrido e 55% para o *E. urophylla*.

A obtenção de taxa de sobrevivência satisfatória para a época de 3 meses antes pode ser justificada pelo ambiente ameno e propício à enxertia (Larson, 2006; Gaspar et al., 2017). Estes maiores percentuais podem estar relacionados com o aumento da atividade metabólica, fazendo com que haja maior movimentação de reguladores de crescimento, o que pode auxiliar para o maior índice de pegamento. Desse modo, as células da região cambial, que são as responsáveis pela união entre porta-enxerto e enxerto, tiveram seus processos de divisão e multiplicação acelerados (Franzon et al., 2008). A temperatura é um fator importante que está envolvido no processo da enxertia e, assim como a umidade, pode influenciar na taxa de divisão celular e afetar a formação de novas células, responsáveis pela união entre os tecidos (Fachinello et al., 2005).

Além disso, a utilização de material adequado para a realização dos *top graftings* também favoreceu a obtenção de maior sobrevivência. O uso de parafilme, por exemplo, é aplicado na fruticultura e foi utilizado sobre o enxerto para evitar a desidratação. O parafilme é um material à prova d'água, bastante flexível e maleável, que não obstrui a emissão de brotações (Jacomino et al., 2000). O emprego de parafilme na metodologia

proporcionou maior sobrevivência inicial dos enxertos realizados, visto que eles se localizaram em campo *outdoor* e estavam sujeitos às variações ambientais. Foram obtidos excelentes resultados ao se utilizar fitas de parafilme no processo de enxertia de roseiras (Davies Junior et al., 1986).

Outro fator que afetou a sobrevivência foi a idade das mudas, sendo que os *top graftings* das mudas de 150-180 dias conseguiram se manter vivos em maior quantidade (Figura 6-A). Além disso, estes apresentaram maiores médias de crescimento de copa. Levando em consideração estes fatores e o de que esta idade também foi a que acarretou maior florescimento, recomenda-se utilizar enxertos de mudas de 150-180 dias para a realização dos *top graftings*. A realização da técnica a partir de mudas nesta idade mostrou-se facilitada, conforme citado anteriormente, sendo este uma vantagem para a operacionalização da técnica.

Além disso, foi detectado em *top graftings* de mudas de 60-90 dias o crescimento de raízes na região de inserção do enxerto no porta-enxerto. Esse fenômeno pode afetar de forma negativa a sobrevivência destes enxertos a longo prazo e é explicado pelo acúmulo de auxina na região basal do enxerto (Nanda & Melnyk, 2018). Este acúmulo ocorreu devido ao fato de as mudas desta idade serem cortadas rentes ao substrato do tubete, ou seja, em seu coleto. As células desta região são programadas para a diferenciação e produção de raízes. Além disso, a presença de raiz nesta região, demonstra que a enxertia pode ter sido mal realizada, dificultando a translocação da auxina e favorecendo seu acúmulo (Nanda & Melnyk, 2018). Outro fator que pode ter facilitado esta ocorrência é a escolha de um material genético com boa taxa de enraizamento para ser enxertado em fase juvenil.

Para o sucesso da enxertia de espécies lenhosas, é aconselhável selecionar enxertos (mudas) e porta-enxertos da mais alta qualidade possível e alto grau de parentesco (Darikova et al., 2011). O vigor e o estágio de desenvolvimento também são

fatores determinantes na efetividade e favorecem os ramos jovens em comparação com os mais próximos da senescência (Wendling et al., 2017). Esse fator foi detectado durante as avaliações dos *top graftings* vivos, visto que os *top graftings* que foram realizados em ramos principais e juvenis, geralmente, apresentaram maior sobrevivência e crescimento de copa. Desta forma, estes devem ser priorizados. A manutenção do vigor com o decorrer do tempo pode ser garantida com adubações periódicas e podas no excesso de folhagens do porta-enxerto. As condições de manejo do porta-enxerto durante e após a enxertiasão de essenciais (Carignato et al., 2012).

Apesar de a aplicação de PBZ ter sido fundamental para o florescimento, este não apresentou efeito significativo para a sobrevivência e inibiu o crescimento de copa dos *top graftings* vivos, segundo o teste de Scott-Knott. Este regulador do crescimento causa como efeito nas plantas a redução de altura, aumento do diâmetro e redução do número de folhas. Foi relatado na literatura também, que o PBZ interfere na biossíntese da giberelina e é usado principalmente como retardador de crescimento e protetor do estresse (Gopi & Jaleel, 2009; Soumya et al., 2017). Sendo, portanto, justificável o efeito inibitório sobre a área dos *top graftings* de mudas, visto que se encontram em fase juvenil e sofrem influência de forma mais acentuada o efeito do regulador. Conforme demonstrado pelos resultados, isso ocorreu tanto para a indução do florescimento quanto para a inibição do crescimento de área de copa.

5. Conclusões

Trata-se da primeira vez na literatura que se consegue fazer florescer *Eucalyptus* em estágio tão juvenil (menos de 150 dias da germinação). A técnica de *top grafting* utilizada em mudas jovens poderá modificar muito do que se sabe hoje sobre duração dos ciclos de melhoramento genético em espécies arbóreas perenes.

A realização de *top graftings* de mudas jovens garante a obtenção satisfatória de

botões florais e frutos. O florescimento iniciou-se 3 meses após a realização das enxertias e é considerado como ultra-precoce, por ter sido obtido com mudas juvenis.

Os *top graftings* que floresceram eram progênes advindas do cruzamento G3, demonstrando que há efeito genético significativo sobre a predisposição ao florescimento.

Em relação à sobrevivência dos *top graftings*, melhores resultados são obtidos para a época de 3 meses antes do florescimento. Entretanto, foi definida como a melhor para realização do *top grafting*, a época de 6 meses antes do florescimento, visto que acarreta maior quantidade de botões florais e frutos produzidos. Além disso, os *top graftings* realizados neste período apresentam maior crescimento de área de copa.

A aplicação de paclobutrazol favorece o florescimento dos *top graftings* vivos, pois todos os enxertos que floresceram estavam em matrizes no qual o regulador foi aplicado. De forma geral, a aplicação do paclobutrazol não afeta a taxa de sobrevivência e possui efeito negativo sobre o desenvolvimento de área de copa, segundo a análise de Scott-Knott.

A idade das mudas jovens utilizadas como enxertos influencia no florescimento, sobrevivência e crescimento de copa dos *top graftings*. Para todas estas variáveis, o uso de mudas de 150-180 dias demonstra melhores resultados.

A realização de *top graftings* com materiais adequados, como o parafilme e em galhos principais dos porta-enxertos garante maiores porcentagens de sobrevivência e valores de área referentes ao desenvolvimento de copa, quando comparados aos dos galhos secundários.

A aceleração do florescimento ultra-precoce por *top graftings* permitirá a efetivação do uso de Seleção Genômica Ampla no melhoramento genético de *Eucalyptus* e em consequência, reduzirá o tempo necessário para o avanço de gerações e recomendações de novos clones comerciais.

Com o uso do *top grafting* um novo método de melhoramento (“Seleção

recorrente com uso de *top graftings* de mudas jovens e SGA”) pode ser aplicado em espécies arbóreas de ciclo longo.

6. Referências

- Almqvist, C., Ekberg, I., 2001. Interstock and GA, effects on flowering after *topgrafting* in *Pinus sylvestris*. *For. Genet*, 8(4), 279-284.
- Auras, N.E., 2001. Indução de florescimento precoce em angiospermas arbóreas: perspectiva de uso da técnica em espécies da Mata Atlântica. *Biotemas*, v. 14, n. 1, p. 7-18. DOI: <https://doi.org/10.5007/1983-2125x>
- Bevan, M.W., Uauy, C., Wulff, B.B., Zhou, J., Krasileva, K., Clark, M.D., 2017. Genomic innovation for crop improvement. *Nature*, 543(7645), 346-354.
- Canteri, M.G., Althaus, R.A., das Virgens Filho, J.S., Giglioti, E.A., Godoy, C.V., 2001. SASM-Agri-Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação*, v.1 n.2, p.18-24.
- Carignato, A., Moraes, C.B., Mori, E.S., 2012. Efeito do manejo da irrigação e do biorregulador paclobutrazol na indução floral de *Eucalyptus dunnii*. Relatório Parcial de Iniciação Científica do CNPQ/PIBIC. Processo nº 114434/2011-5.
- Castro, C.A.O., Resende, R.T., Bhering, L.L., Cruz, C.D., 2016. Brief history of *Eucalyptus* breeding in Brazil under perspective of biometric advances. *Ciência Rural*, v 46(9), p.1585–1593.
- Darikova, J.A.; Savva, Y.V.; Vaganov, E.A.; Grachev, A.M.; Kuznetsova, G.V., 2011. Grafts of woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *J. Siber. Feder. Univ. (Biol.)*, 1, 54–63.
- Davies Junior, F.T., Hambrick, C.E., Fann, Y., Pemberton, N.B., 1986. Grafting and

- adventitious root formation of Texas field rose bushes. *Acta Horticulturae*, Leuven, n.189, p.89-100.
- Fachinello, J.C., Hoffmann, A., Nachtigal, J.C., 2005. *Propagação de plantas frutíferas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 221 p.
- Franzon, R.C., Gonçalves, R.D.S., Antunes, L.E.C., Raseira, M.D.C.B., Trevisan, R., 2008. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(2), 488-491.
- Gardner, R.A.W., Bertling, I., Savage, M.J., Naidoo, S., 2016. Investigating optimal site conditions for flower bud production in *Eucalyptus smithii* orchards in South Africa. *Australian Forestry*, v. 79, n. 2, p. 137-146. DOI: <https://doi.org/10.1080/00049158.2016.1159164>
- Gaspar, R.G.B., Wendling, I., Stuepp, C.A., Angelo, A.C., 2017. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. *CERNE*, 23(4), 465-471. DOI: 10.1590/01047760201723042447
- Gopi, R., Jaleel, C., 2009. Photosynthetic alterations in *Amorphophallus campanulatus* with triazoles drenching. *Global Journal of Molecular Sciences*, 4, 15–18.
- Grattapaglia, D., Silva-Junior, O.B., Resende, R.T., Cappa, E.P., Müller, B.S., Tan, B., Isik, F., Ratcliffe, B., El-Kassaby, Y.A., 2018. Quantitative genetics and genomics converge to accelerate forest tree breeding. *Frontiers in plant science*, 9(1693). DOI: 10.3389/fpls.2018.01693
- Hasan, O., Reid J.B., 1995. Reduction of generation time in *Eucalyptus globulus*. *Plant Growth Regulation*, v. 17, n. 1, p. 53-60. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00024495>
- Jacomino, A.P., Minami, K., Kluge, R.A., Kishino, A.Y., 2000. Métodos de proteção de enxerto na produção de mudas de mangueira, abacateiro e nogueira-macadâmia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(10), 1985-1990.

- Larson, R.A., 2006. Grafting: A review of basics as well as special problems associated with conifer grafting. *Combin. Proc. Int. Plant Propagat. Soc*, 56, 318-322.
- Li, Y., Dungey, H. S., 2018. Expected benefit of genomic selection over forward selection in conifer breeding and deployment. *PloS one*, 13(12).
- Liang, H., Hu, Y., Pang, W., Liu, W. and Yang, M., 2011. Studies on kiwifruit improvement by multiple top grafting. *Acta Hortic.* 913, 365-371
DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.913.48
- Mitani N., Matsumoto R., Yoshioka T. et al., 2008. Citrus hybrid seedlings reduce initial time to flower when grafted onto shiikuwasha rootstock. *Scientia Hort.* 116(4): 452- 455.)
- Moraes, C.B.D., Silva, P.H.M.D., Abilio, F.M., Pieroni, G.B., Gonçalves, A.N., Mori, E.S., 2013. Sobrevivência de enxertos de *Eucalyptus* com metodologia adaptada. *Circular Técnica*, 1-17.
- Nanda, A.K., Melnyk, C.W., 2018. The role of plant hormones during grafting. *Journal of plant research*, 131(1), 49-58. DOI: 10.1007/s10265-017-0994-5
- Oliveira, M.B., Figueiredo, M.G.F., Pereira, M.C.T., do Carmo Mouco, M.A., Ribeiro, L.M., Mercadante-Simões, M.O., 2020. Structural and cytological aspects of mango floral induction using paclobutrazol. *Scientia Horticulturae*, 262, 109057.
- Resende Jr, M.F.R., Muñoz, P., Acosta, J.J., Peter, G.F., Davis, J.M., Grattapaglia, D., Resende, M.D.V., Kirst, M., 2012. Accelerating the domestication of trees using genomic selection: accuracy of prediction models across ages and environments. *New Phytologist*, 193(3), 617-624.
- Resende, M. D. V., Higa, A. R., 1990. Estratégias de melhoramento para eucaliptos visando a seleção de híbridos. *Embrapa Florestas- Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n. 21, p.49-6.
- Resende, M.D.V., Resende, M.F.R., Sansaloni, C.P., Petroli, C.D., Missiaggia, A.A.,

- Aguiar, A.M., et al., 2012. Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. *N. Phytol.* 194, 116–128.
- Resende, R.T., Resende, M.D.V., Silva, F.F., Azevedo, C.F., Takahashi, E.K., Silva-Junior, O.B., Grattapaglia, D., 2017. Assessing the expected response to genomic selection of individuals and families in *Eucalyptus* breeding with an additive-dominant model. *Heredity*, 119(4), 245-255.
- Resende, M.D.V., Resende, M.F.R., Sansaloni, C.P., Petroli, C.D., Missiaggia, A.A., Aguiar, A.M., et al., 2012. Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. *N. Phytol.* 194, 116–128.
- Rocha, O.J., Gómez, C., Hamrick, J.L., Trapnell, D.W., Smouse, P.E., Macaya, G., 2018. Reproductive consequences of variation in flowering phenology in the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* in Guanacaste, Costa Rica. *American journal of botany*, 105(12), 2037-2050.
- Santos, G.A., Vagaes, T.C., Assis, T.F., Quevedo, F.F., 2012. Interação ambiente × material genético, com ênfase nas espécies de difícil florescimento de *Eucalyptus* subtropicais. Série Técnica IPEF, Piracicaba, n. 37, p. 19 – 22.
- Scott, A.J., Knott, M., 1974. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v.30, n.3, p.507-12.
- Shi, F., Tibbits, J., Pasam, R.K., Kay, P., Wong, D., Petkowski, J., Forrest, K.L., Hayes, B.J., Akhunova, A., Davies, J., Webb, S., Spangenberg, G.C., Akhunov, E., Hayden, M.J., Daetwyler, H.D., 2017. Exome sequence genotype imputation in globally diverse hexaploid wheat accessions. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(7), 1393-1404.
- Soumya, P.R., Kumar, P., Pal, M., 2017. Paclobutrazol: a novel plant growth regulator

- and multi-stress ameliorant. *Indian Journal of Plant Physiology*, 22(3), 267-278.
- Stuepp, C.A., Wendling, I., Xavier, A., Zuffellato-Ribas, K.C., 2018. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53(9), 985-1002.
- Van Eenennaam, A.L., Weigel, K.A., Young, A.E., Cleveland, M.A., Dekkers, J.C.M., 2014. Applied Animal Genomics: Results from the Field. *Annual Rev Anim Biosci* 2: 105–139.
- Wei, X.J., Ma, J., Wang, K., Liang, X.J., Lan, J.X., Li, Y.J., Li, K.X., 2018. Early Flowering Induction in Golden Camellia Seedlings and Effects of Paclobutrazol. *HortScience*, 53(12), 1849-1854. DOI: 10.21273/HORTSCI13676-18
- Wendling, I., Zanette, F., Rickli-Horsti, H., Constantino, V., 2017. Produção de mudas de araucária por enxertia. In: WENDLING, I.; ZANETTE, F. *Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios*. Brasília – DF, Embrapa. 159 p.
- Wong, C.K., Bernardo, R., 2008. Genome wide selection in oil palm: increasing selection gain per unit time and cost with small populations. *Theor Appl Genet*. 116:815–824.

SEÇÃO 4
CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

O uso de *top grafting* foi testado para as finalidades de agilizar o avanço de gerações de autofecundação, para a produção de linhagens e para efetivar a seleção ultra-precoce de progênies por meio da SGA. Constatamos que a técnica é viável para *Eucalyptus* e pode ser replicada para as espécies do gênero, seguindo os procedimentos recomendados neste projeto. Porém, a predisposição dos *top graftings* à enxertia varia de acordo com o material genético utilizado.

A quantidade de botões florais e frutos produzida pelos *top graftings* foi satisfatória. Este material disponibilizado permitiu que um segundo ciclo de autofecundação fosse realizado e estes que pólen e frutos fossem coletados, para serem utilizados em cruzamentos estratégicos para o programa de melhoramento.

Levando em consideração o desempenho dos enxertos para florescimento, a melhor época para realização do *top grafting* varia de acordo com a sua finalidade, sendo que para a enxertia de genótipos autofecundados, o ideal é a época de 3 meses antes do florescimento. Já para a enxertia de mudas jovens, os *top graftings* de 6 meses antes apresentaram melhores resultados para florescimento e crescimento de área de copa.

A idade das mudas utilizadas como enxertos influencia no florescimento, sobrevivência e crescimento de copa dos *top graftings*. Para todas estas variáveis, o uso de mudas jovens de 150-180 dias demonstrou melhores resultados.

Em relação às taxas de sobrevivência dos *top graftings* realizados, melhores resultados foram obtidos para a época de 3 meses antes do florescimento, independente do seu tipo, ou seja, se é advindo de genótipos autofecundados ou mudas jovens.

A aplicação de paclobutrazol favoreceu o florescimento dos *top graftings*, visto que um maior número de enxertos floresceu em sua presença, tanto em genótipos autofecundados quanto em mudas jovens. Além disso, de forma geral, a aplicação do paclobutrazol não afeta a taxa de sobrevivência, segundo o teste t.

O efeito do paclobutrazol variou em relação à sua influência sobre o desenvolvimento de área de copa, pois para *top graftings* de genótipos autofecundados, a sua aplicação não foi relevante, enquanto ele pode ter afetado negativamente os *top graftings* de mudas jovens, segundo o teste t.

A realização de *top graftings* em galhos principais dos porta-enxertos garante maiores porcentagens de sobrevivência e valores de área, referentes ao desenvolvimento de copa, quando comparados aos dos galhos secundários.

A aceleração do florescimento por meio do uso de *top graftings* permitirá a diminuição de tempo na formação de linhagens endogâmicas de *Eucalyptus* e em consequência, garantirá o melhor aproveitamento da heterose no melhoramento genético da espécie. Além disso, permitirá a efetivação do uso de Seleção Genômica Ampla no melhoramento genético do gênero e em consequência, garantirá a redução do tempo necessário para o avanço de gerações e recomendações de novos clones comerciais.

A junção da indução do florescimento em materiais genéticos autofecundados por *top grafting* e o posterior florescimento ultra-precoce das mudas (formadas via sementes), formadas a partir desses genótipos autofecundados, poderá permitir a redução do tempo para formação de linhagens em *Eucalyptus*. Além disso, irá aproximar o melhoramento florestal dos prazos e ganhos por unidade de tempo do que se pode obter em culturas de ciclo anual como milho e soja. Não há dúvidas que uma nova fase do melhoramento florestal, com maiores ganhos por unidade de tempo, será vislumbrada a partir dos resultados dessa dissertação.

SEÇÃO 5

APÊNDICES

APÊNDICE Capítulo 1

Suplementar 1: Avaliações de florescimento realizadas nos anos 2017 e 2018, nos *top graftings* de 6 meses antes do florescimento. A sigla BF corresponde à quantidade de botões florais contabilizados em cada *top grafting*. Presença de florescimento (x), quando não foi realizada a contagem da quantidade de botões florais presentes em cada *top grafting* durante a avaliação.

<i>Top graftings</i> realizados 6 meses antes do florescimento													
Genótipos	Tratamento	Bloco	Parcela	Set_17	Jan_18	Fev_18			Mai_18			Out_18	BF 2018
						BF	Área	Quant/área	BF	Área	Quant/área		
CEN03	Com PBZ	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-
CEN03	Com PBZ	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-
CEN03	Com PBZ	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-
CEN03	Com PBZ	2	4	x	x	462	1,053	439	26	1,150	23	x	488
CEN03	Com PBZ	3	1	x	x	238	0,640	372	3	1,080	3	x	241
**CEN03	Com PBZ	3	4	x	x	126	0,728	173	-	-	-	-	126
CEN03	Com PBZ	4	1	x	x	21	0,893	24	12	0,585	21	-	33
CEN03	Com PBZ	4	2	x	x	966	0,910	1.062	11	0,910	12	-	977
*CEN03	Com PBZ	4	3	x	x	70	0,540	130	4	0,525	8	-	74
CEN03	Com PBZ	4	4	-	-	-	-	-	18	1,140	16	-	18
CEN03	Sem PBZ	1	4	x	x	175	0,371	472	27	0,563	48	-	202
CEN03	Sem PBZ	2	1	x	x	364	0,850	428	49	1,000	49	x	413
CEN03	Sem PBZ	4	1	x	x	1.092	1,950	560	198	1,950	102	-	1.290
**CEN05	Sem PBZ	3	2	-	x	285	0,744	383	19	1,045	18	-	304
**CEN05	Sem PBZ	3	3	-	-	1.025	0,784	1.307	7	1,190	6	-	1.032
*CEN05	Sem PBZ	4	1	-	-	25	0,907	28	-	-	-	-	25
Soma (<i>top graftings</i>/botões florais)				9	10	4.849	-	-	374	-	-	6	5.223

* *Top grafting* morreu nas avaliações posteriores ao seu florescimento; ** *Top grafting* não apresentou florescimento em avaliações posteriores ao demarcado pela tabela, mas continuou vivo e a ser contabilizado entre os *top graftings* que floresceram nas avaliações (gráficos).

Suplementar 2: Avaliações de florescimento realizadas no ano 2019, nos *top graftings* de 6 meses antes do florescimento. A sigla BF corresponde à quantidade de botões florais contabilizados em cada *top grafting*. Presença de florescimento (x), quando não foi realizada a contagem da quantidade de botões florais presentes em cada *top grafting* durante a avaliação. %Ving corresponde à porcentagem de botões florais da avaliação de fevereiro de 2019 que se mantiveram se desenvolveram como frutos nos *top graftings* até a avaliação posterior (mai_19).

Top graftings realizados 6 meses antes do florescimento															
Genótipos	Tratamento	Bloco	Parcela	Fev_19			Mai_19						Ago_19	Frutos 2019	BF 2019
				BF	Área	Quant/área	Frutos	BF	% Ving	Área	Quant frutos/ área	Quant BF/área			
CEN02	Com PBZ	1	3	5.604	1,702	3.293	934	17	17%	2,288	408	7	x	934	5.621
CEN02	Com PBZ	2	4	696	2,945	236	336	116	48%	3,450	97	34	x	336	812
CEN02	Com PBZ	3	2	24	1,440	17	4	20	17%	1,220	3	16	x	4	44
*CEN03	Com PBZ	1	3	36	0,416	87	-	-	-	-	-	-	-	-	36
CEN03	Com PBZ	1	4	126	1,250	101	63	-	50%	1,333	47	-	x	63	126
CEN03	Com PBZ	2	2	198	0,689	287	22	-	11%	0,694	32	-	x	22	198
CEN03	Com PBZ	2	4	666	1,123	593	184	-	28%	1,236	149	-	x	184	666
CEN03	Com PBZ	3	1	42	1,205	35	30	-	71%	1,155	26	-	x	30	42
CEN03	Com PBZ	4	1	66	1,089	61	3	-	5%	0,837	4	-	x	3	66
CEN03	Com PBZ	4	2	288	1,399	206	4	-	1%	1,518	3	-	x	4	288
CEN03	Com PBZ	4	4	174	1,200	145	81	-	47%	1,430	57	-	x	81	174
CEN03	Sem PBZ	2	1	1.116	1,729	645	5	-	0%	2,240	2	-	x	5	1.116
CEN03	Sem PBZ	3	3	48	1,070	45	32	-	67%	1,452	22	-	x	32	48
CEN03	Sem PBZ	3	4	36	0,924	39	32	-	89%	1,163	28	-	x	32	36
CEN03	Sem PBZ	4	1	852	2,486	343	575	27	67%	2,220	259	12	x	575	879
CEN06	Com PBZ	1	1	2.814	1,415	1.988	1.080	-	38%	1,918	563	-	x	1.080	2.814
CEN06	Com PBZ	2	1	12	0,995	12	12	-	100%	1,006	12	-	x	12	12
CEN06	Com PBZ	2	2	60	1,322	45	59	-	98%	1,785	33	-	x	59	60
CEN06	Com PBZ	2	3	546	1,877	291	237	-	43%	1,778	133	-	x	237	546
CEN06	Com PBZ	3	3	210	3,960	53	385	-	183%	3,990	96	-	x	385	210
CEN06	Sem PBZ	3	4	5.856	3,870	1.513	2.581	-	44%	5,734	450	-	x	2.581	5.856
Soma (top graftings/botões florais/frutos)				19.470	-	-	6.659	180	-	-	-	-	20	6.659	19.650

Suplementar 3: Avaliações de florescimento realizadas no ano 2018, nos *top graftings* de 3 meses antes do florescimento. A sigla BF corresponde à quantidade de botões florais contabilizados em cada *top grafting*. Presença de florescimento (x), quando não foi realizada a contagem da quantidade de botões florais presentes em cada *top grafting* durante a avaliação

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento									
Genótipos	Tratamento	Bloco	Parcela	Jan_18	Mai_18			Out_18	BF 2018
					BF	Área	Quant/área		
CEN02	Com PBZ	1	1	-	-	-	-	x	-
CEN02	Com PBZ	3	1	-	-	-	-	x	-
CEN02	Com PBZ	3	2	-	-	-	-	x	-
CEN02	Com PBZ	3	3	-	-	-	-	x	-
CEN02	Com PBZ	4	1	-	-	-	-	x	-
CEN02	Com PBZ	4	3	-	120	0,143	842	x	120
CEN02	Com PBZ	4	4	-	-	-	-	x	-
CEN02	Sem PBZ	1	4	-	-	-	-	x	-
**CEN03	Com PBZ	2	4	x	-	-	-	-	-
**CEN03	Com PBZ	4	1	-	-	-	-	x	-
CEN03	Sem PBZ	3	1	-	73	0,360	203	x	73
CEN03	Sem PBZ	4	1	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	1	1	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	1	2	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	1	3	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	1	4	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	2	1	-	58	0,538	108	-	58
CEN04	Com PBZ	2	3	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	2	4	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	3	1	-	-	-	-	x	-
CEN04	Com PBZ	3	2	-	-	-	-	x	-
CEN05	Sem PBZ	3	2	x	-	-	-	-	-
Soma (top graftings/botões florais)				2	251	-	-	19	251

Suplementar 4: Avaliações de florescimento realizadas no ano 2019, nos *top graftings* de 3 meses antes do florescimento. A sigla BF corresponde à quantidade de botões florais contabilizados em cada *top grafting*. Presença de florescimento (x), quando não foi realizada a contagem da quantidade de botões florais presentes em cada *top grafting* durante a avaliação. %Ving corresponde à porcentagem de botões florais da avaliação de fevereiro de 2019 que se mantiveram se desenvolveram como frutos nos *top graftings* até a avaliação posterior (mai_19).

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento															
Genótipos	Tratamento	Bloco	Parcela	Fev_19			Mai_19						Ago_19	BF 2019	Frutos 2019
				BF	Área	Quant BF/área	Frutos	BF	% Ving	Área	Quant frutos/área	Quant. BF/área			
CEN02	Com PBZ	1	1	630	1,589	396	14	-	2%	1,354	10	-	x	630	14
CEN02	Com PBZ	3	1	270	0,948	285	104	94	39%	1,150	90	82	x	364	104
CEN02	Com PBZ	3	2	198	0,940	211	130	-	66%	1,157	112	-	x	198	130
CEN02	Com PBZ	3	3	138	0,936	147	75	-	54%	0,856	88	-	x	138	75
CEN02	Com PBZ	4	1	186	0,511	364	75	-	40%	0,713	105	-	x	186	75
CEN02	Com PBZ	4	2	90	0,574	157	69	62	77%	0,910	76	68	x	152	69
CEN02	Com PBZ	4	3	102	0,504	202	40	-	39%	0,600	67	-	x	102	40
CEN02	Com PBZ	4	4	1.380	0,764	1.806	20	-	1%	0,880	23	-	x	1.380	20
CEN02	Sem PBZ	1	4	312	0,608	513	-	-	0%	-	-	-	-	312	-
CEN03	Com PBZ	3	2	198	0,328	604	44	-	22%	0,439	100	-	x	198	44
CEN03	Com PBZ	3	3	150	0,630	238	24	-	16%	0,938	26	-	x	150	24
CEN03	Com PBZ	4	2	84	0,712	118	3	-	4%	0,680	4	-	x	84	3
CEN03	Com PBZ	4	3	510	0,840	607	26	-	5%	1,075	24	-	x	510	26
CEN03	Com PBZ	4	4	185	0,664	279	26	-	14%	0,863	30	-	x	185	26
CEN03	Sem PBZ	3	1	510	1,012	504	-	-	0%	-	-	-	x	510	-
CEN03	Sem PBZ	4	1	47	0,397	118	39	-	83%	0,472	83	-	x	47	39
CEN04	Com PBZ	1	1	420	0,621	676	208	-	50%	0,755	276	-	x	420	208
CEN04	Com PBZ	1	2	354	0,469	755	72	-	20%	0,497	145	-	x	354	72
CEN04	Com PBZ	1	3	174	0,480	363	190	-	109%	0,504	377	-	x	174	190
CEN04	Com PBZ	1	4	1.596	0,635	2.513	1.410	-	88%	0,616	2.289	-	x	1.596	1.410
CEN04	Com PBZ	2	1	24	0,623	39	22	-	92%	1,068	21	-	x	24	22
CEN04	Com PBZ	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-	-
CEN04	Com PBZ	2	3	510	0,593	860	195	-	38%	0,756	258	-	x	510	195

Genótipos	Tratamento	Bloco	Parcela	Fev_19			Mai_19						Ago_19	BF 2019	Frutos 2019
				BF	Área	Quant BF/área	Frutos	BF	% Ving	Área	Quant frutos/área	Quant. BF/área			
CEN04	Com PBZ	2	4	2.172	0,880	2.468	1.347	-	62%	1,320	1.020	-	x	2.172	1.347
CEN04	Com PBZ	3	1	2.778	0,780	3.562	1.609	-	58%	0,970	1.659	-	x	2.778	1.609
CEN04	Com PBZ	3	2	816	0,561	1.455	814	-	100%	0,664	1.226	-	x	816	814
CEN04	Sem PBZ	2	2	2.520	1,297	1.943	1.367	-	54%	1,760	777	-	x	2.520	1.367
CEN04	Sem PBZ	2	4	3.480	1,330	2.617	1.610	-	46%	2,052	785	-	x	3.480	1.610
CEN04	Sem PBZ	3	2	4.164	1,391	2.994	1.770	-	43%	1,389	1.274	-	x	4.164	1.770
CEN04	Sem PBZ	4	1	300	2,093	143	842	-	281%	2,700	312	-	x	300	842
CEN04	Sem PBZ	4	2	5	1,560	3	-	-	0%	-	-	-	x	5	-
CEN04	Sem PBZ	4	4	84	1,950	43	16	-	19%	1,945	8	-	x	84	16
CEN05	Sem PBZ	1	4	1.260	2,861	440	56	-	4%	3,040	18	-	x	1.260	56
*CEN05	Sem PBZ	3	2	36	1,908	19	-	-	0%	-	-	-	-	36	-
*CEN05	Sem PBZ	3	4	78	1,697	46	-	-	0%	-	-	-	-	78	-
CEN06	Com PBZ	1	1	780	1,455	536	68	-	9%	1,680	40	-	x	780	68
Soma (top graftings/botões florais/frutos)				26.541	-	-	12.285	156	-	-	-	-	33	26.697	12.285

* *Top grafting* morreu nas avaliações posteriores ao seu florescimento.

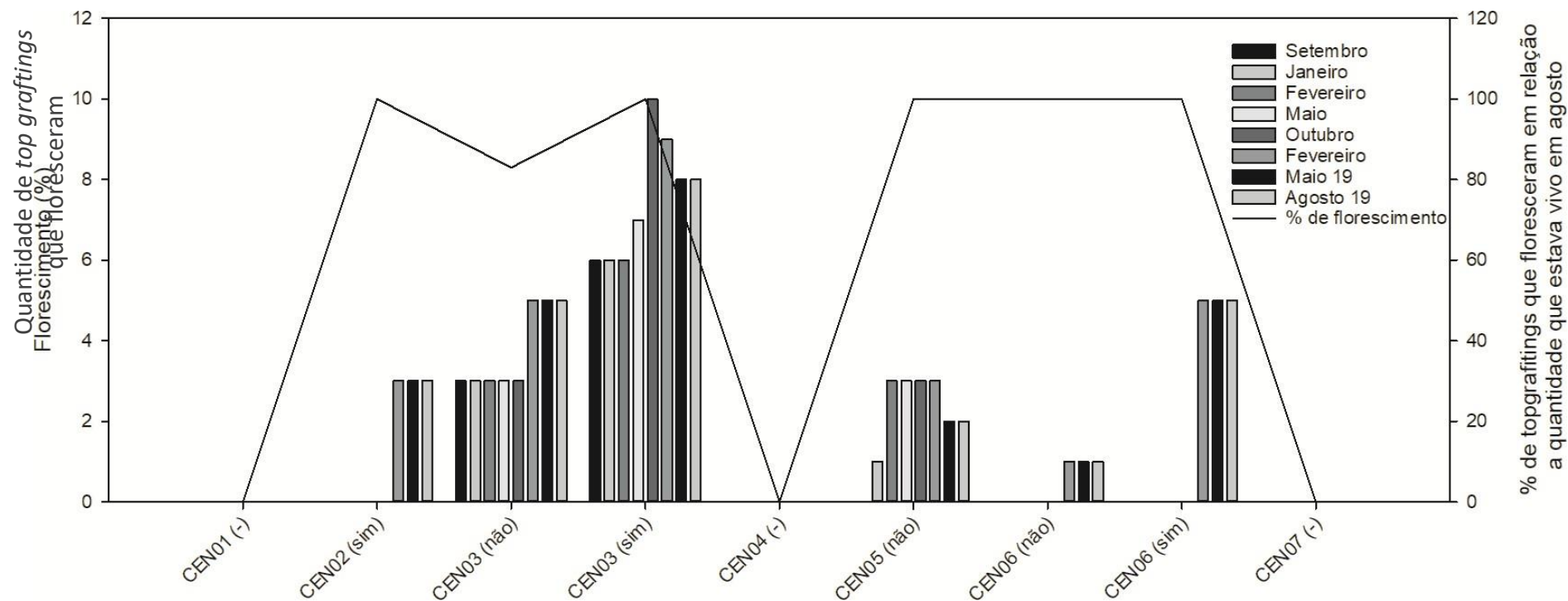
Suplementar 5: Dados de florescimento, relativos a todos os *top graftings* vivos até a última avaliação, realizada no mês de agosto de 2019.

Também foram apresentados os valores coletados no mês de maio, visando informar sobre os valores de área de copa destes *top graftings*.

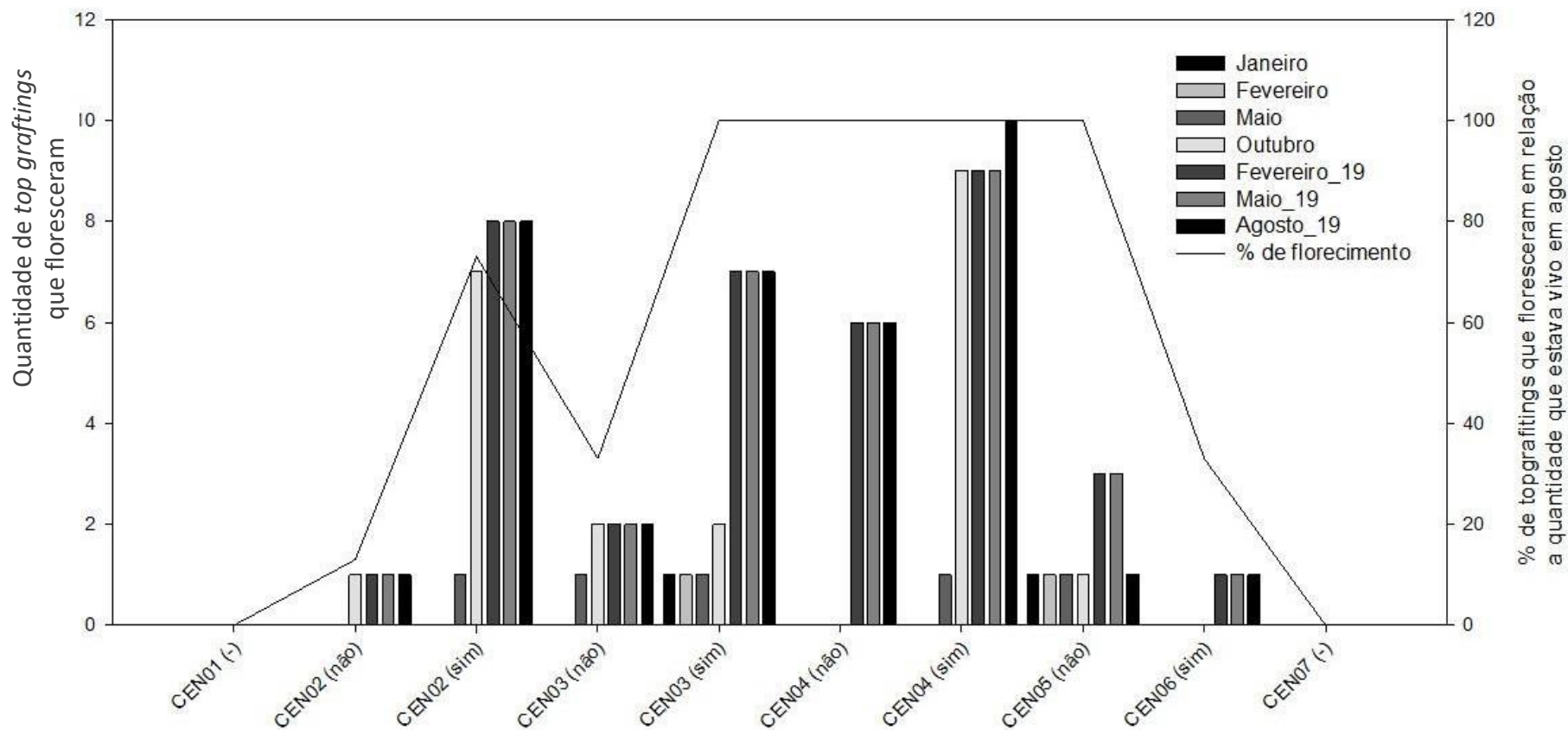
Mês de Avaliação					Mai_19						Ago_19		
Época de Enxertia (antes do florescimento)	Genótipos	PBZ	Bloco	Parcela	Florescimento				Área		Florescimento		
					Não	Sim	Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Comp.	Larg.	Área/m ² de enxerto	Não	Sim
6 meses antes	CEN02	Sim	1	3		x	951	416	137	167	2,288		x
6 meses antes	CEN02	Sim	2	4		x	452	131	150	230	3,450		x
6 meses antes	CEN02	Sim	3	2		x	24	20	100	122	1,220		x
6 meses antes	CEN03	Sim	1	4		x	63	47	112	119	1,333		x
6 meses antes	CEN03	Sim	2	2		x	22	32	95	73	0,694		x
6 meses antes	CEN03	Sim	2	4		x	184	149	103	120	1,236		x
6 meses antes	CEN03	Sim	3	1		x	30	26	110	105	1,155		x
6 meses antes	CEN03	Sim	3	4	x				74	39	0,289	x	
6 meses antes	CEN03	Sim	4	1		x	3	4	106	79	0,837		x
6 meses antes	CEN03	Sim	4	2		x	4	3	110	138	1,518		x
6 meses antes	CEN03	Sim	4	4		x	81	57	110	130	1,430		x
6 meses antes	CEN03	Não	1	3	x				91	86	0,783	x	
6 meses antes	CEN03	Não	1	4	x				99	106	1,049	x	
6 meses antes	CEN03	Não	2	1		x	5	2	160	140	2,240		x
6 meses antes	CEN03	Não	3	3		x	32	22	120	121	1,452		x
6 meses antes	CEN03	Não	3	4		x	32	28	114	102	1,163		x
6 meses antes	CEN03	Não	4	1		x	602	271	150	148	2,220		x
6 meses antes	CEN05	Sim	1	1	x				210	240	5,040	x	
6 meses antes	CEN05	Sim	2	1	x				205	180	3,690	x	
6 meses antes	CEN05	Não	3	2	x				174	140	2,436	x	
6 meses antes	CEN05	Não	3	3	x				135	125	1,688	x	
6 meses antes	CEN06	Sim	1	1		x	1.080	563	137	140	1,918		x
6 meses antes	CEN06	Sim	2	1		x	12	12	94	107	1,006		x
6 meses antes	CEN06	Sim	2	2		x	59	33	119	150	1,785		x
6 meses antes	CEN06	Sim	2	3		x	237	133	140	127	1,778		x
6 meses antes	CEN06	Sim	3	3		x	385	96	190	210	3,990		x
6 meses antes	CEN06	Não	3	4		x	2.581	450	244	235	5,734		x

Época de enxertia (antes do florescimento)	Genótipos	PBZ	Bloco	Parcela	Florescimento				Área			Florescimento	
					Não	Sim	Quant. BF	Nº de BF/m² de enxerto	Comp.	Larg.	Área/m² de enxerto	Não	Sim
3 meses antes	CEN02	Sim	1	1		x	14	10	96	141	1,354		x
3 meses antes	CEN02	Sim	2	2	x				66	52	0,343	x	
3 meses antes	CEN02	Sim	2	3	x				68	72	0,490	x	
3 meses antes	CEN02	Sim	2	4	x				72	69	0,497	x	
3 meses antes	CEN02	Sim	3	1		x	198	172	95	121	1,150		x
3 meses antes	CEN02	Sim	3	2		x	130	112	89	130	1,157		x
3 meses antes	CEN02	Sim	3	3		x	75	88	80	107	0,856		x
3 meses antes	CEN02	Sim	4	1		x	75	105	82	87	0,713		x
3 meses antes	CEN02	Sim	4	2		x	131	144	85	107	0,910		x
3 meses antes	CEN02	Sim	4	3		x	40	67	75	80	0,600		x
3 meses antes	CEN02	Sim	4	4		x	20	23	80	110	0,880		x
3 meses antes	CEN02	Não	1	1	x				77	94	0,724	x	
3 meses antes	CEN02	Não	1	4	x				75	81	0,608	x	
3 meses antes	CEN02	Não	3	1	x				79	60	0,474	x	
3 meses antes	CEN02	Não	3	4	x				80	93	0,744	x	
3 meses antes	CEN02	Não	4	1	x				58	87	0,505	x	
3 meses antes	CEN02	Não	4	2	x				75	104	0,780	x	
3 meses antes	CEN02	Não	4	3	x				70	72	0,504	x	
3 meses antes	CEN02	Não	4	4	x				69	75	0,518	x	
3 meses antes	CEN03	Sim	3	2		x	44	100	86	51	0,439		x
3 meses antes	CEN03	Sim	3	3		x	24	26	102	92	0,938		x
3 meses antes	CEN03	Sim	3	4	x				55	60	0,330	x	
3 meses antes	CEN03	Sim	4	1	x				84	65	0,546	x	
3 meses antes	CEN03	Sim	4	2		x	3	4	85	80	0,680		x
3 meses antes	CEN03	Sim	4	3		x	26	24	96	112	1,075		x
3 meses antes	CEN03	Sim	4	4		x	26	30	97	89	0,863		x
3 meses antes	CEN03	Não	2	3	x				69	80	0,552	x	
3 meses antes	CEN03	Não	2	4	x				59	56	0,330	x	
3 meses antes	CEN03	Não	3	1	x				110	127	1,397		x
3 meses antes	CEN03	Não	4	1		x	39	83	59	80	0,472		x
3 meses antes	CEN03	Não	4	2	x				76	90	0,684	x	

Época de enxertia (antes do florescimento)	Genótipos	PBZ	Bloco	Parcela	Florescimento				Área			Florescimento	
					Não	Sim	Quant. BF	Nº de BF/m² de enxerto	Comp.	Larg.	Área/m² de enxerto	Não	Sim
3 meses antes	CEN03	Não	4	3	x				88	109	0,959	x	
3 meses antes	CEN04	Sim	1	1		x	208	276	102	74	0,755		x
3 meses antes	CEN04	Sim	1	2		x	72	145	71	70	0,497		x
3 meses antes	CEN04	Sim	1	3		x	190	377	90	56	0,504		x
3 meses antes	CEN04	Sim	1	4		x	1410	2289	77	80	0,616		x
3 meses antes	CEN04	Sim	2	1		x	22	21	89	120	1,068		x
3 meses antes	CEN04	Sim	2	2	x				70	55	0,385		x
3 meses antes	CEN04	Sim	2	3		x	195	258	84	90	0,756		x
3 meses antes	CEN04	Sim	2	4		x	1347	1020	110	120	1,320		x
3 meses antes	CEN04	Sim	3	1		x	1609	1659	97	100	0,970		x
3 meses antes	CEN04	Sim	3	2		x	814	1226	83	80	0,664		x
3 meses antes	CEN04	Não	2	2		x	1367	777	110	160	1,760		x
3 meses antes	CEN04	Não	2	4		x	1610	785	135	152	2,052		x
3 meses antes	CEN04	Não	3	2		x	1770	1274	112	124	1,389		x
3 meses antes	CEN04	Não	4	1		x	842	312	150	180	2,700		x
3 meses antes	CEN04	Não	4	2	x			0	110	180	1,980		x
3 meses antes	CEN04	Não	4	4		x	16	8	137	142	1,945		x
3 meses antes	CEN05	Sim	2	3	x				276	280	7,728	x	
3 meses antes	CEN05	Sim	4	1	x				78	73	0,569	x	
3 meses antes	CEN05	Sim	4	2	x				134	226	3,028	x	
3 meses antes	CEN05	Não	1	4		x	56	18	160	190	3,040		x
3 meses antes	CEN06	Sim	1	1		x	68	40	140	120	1,680		x
3 meses antes	CEN06	Sim	2	1	x				175	84	1,470	x	
3 meses antes	CEN06	Sim	2	4	x				298	160	4,768	x	
3 meses antes	CEN06	Não	1	4	x				137	163	2,233	x	
3 meses antes	CEN06	Não	2	3	x				206	220	4,532	x	
3 meses antes	CEN06	Não	2	4	x				127	185	2,350	x	
3 meses antes	CEN06	Não	4	3	x				204	150	3,060	x	
3 meses antes	CEN07	Sim	1	3	x				120	130	1,560	x	
3 meses antes	CEN07	Sim	1	4	x				93	37	0,344	x	
3 meses antes	CEN07	Não	2	1	x				150	110	1,650	x	

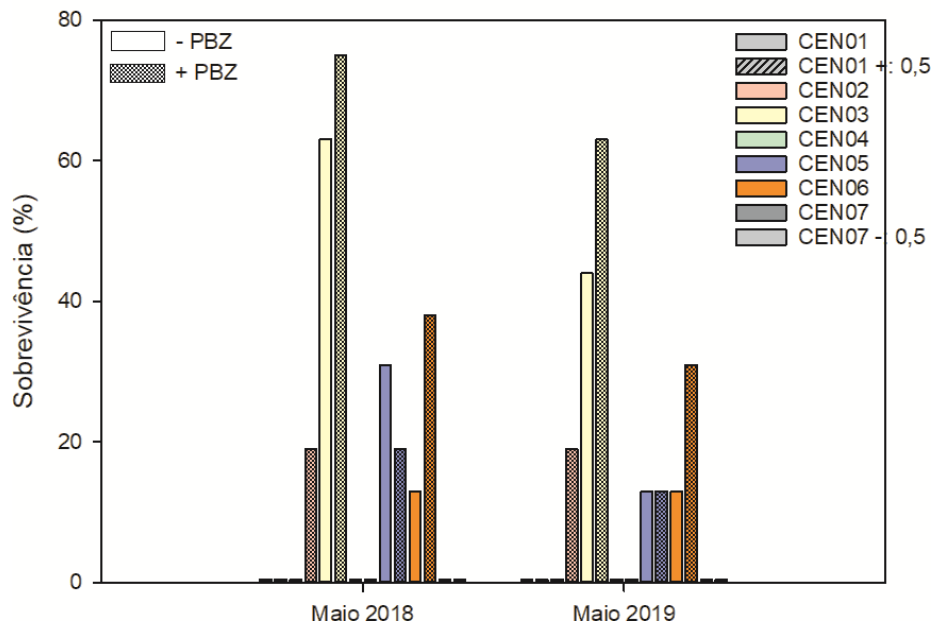


Suplementar 6: Quantidade de *top graftings* que floresceram, entre os realizados 6 meses antes do florescimento, em todas as avaliações periódicas. A aplicação de PBZ encontra-se identificada (sim e não, indicam presença e ausência de PBZ, respectivamente). Os números demonstrados correspondem a uma avaliação acumulativa, ou seja, os *top graftings* que floresceram em um determinado período continuaram a ser contabilizados até esta última avaliação. Houve redução na quantidade contabilizada em casos nos quais houve a morte de *top graftings* que haviam florescido.

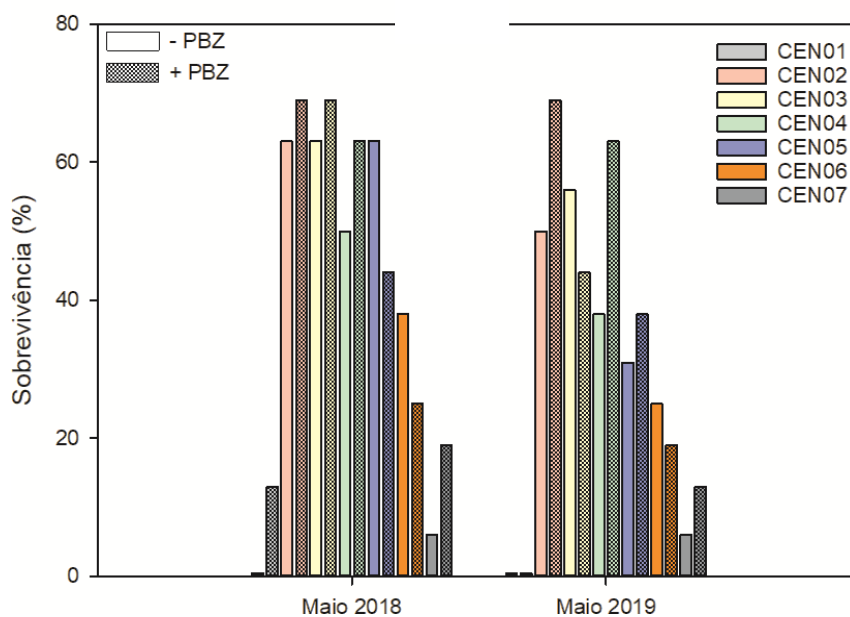


Suplementar 7: Quantidade de *top graftings* que floresceram, entre os realizados 3 meses antes do florescimento, em todas as avaliações periódicas. A aplicação de PBZ encontra-se identificada (sim e não, indicam presença e ausência de PBZ, respectivamente). Os números demonstrados correspondem a uma avaliação acumulativa, ou seja, os *top graftings* que floresceram em um determinado período continuaram a ser contabilizados até esta última avaliação. Houve redução na quantidade contabilizada em casos nos quais houve a morte de *top graftings* que haviam florescido.

6 meses



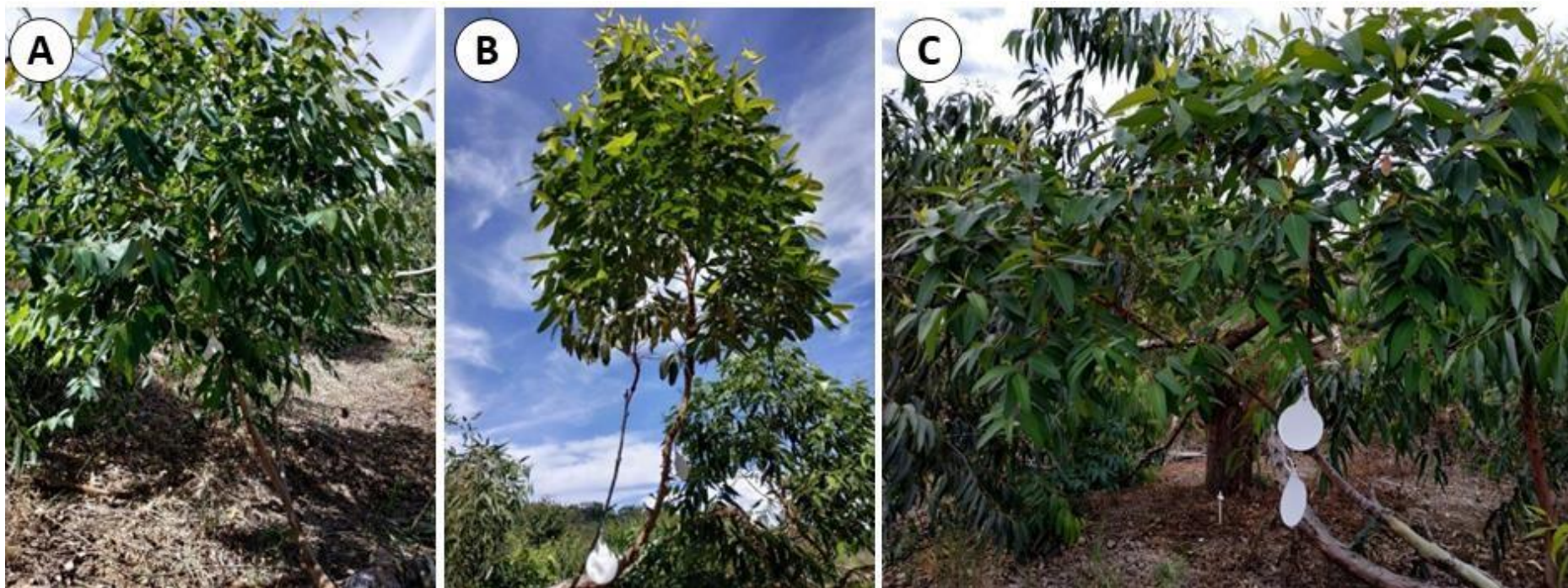
3 meses



Suplementar 8: Comparativos entre a sobrevivência de *top graftings* vivos, em dois períodos avaliados: maio de 2018 e de 2019. As taxas referentes aos *top graftings* realizados de cada época de enxertia foram demonstradas separadamente, visando ilustrar as diferenças no comportamento destes de acordo com este efeito.



Suplementar 9: **A-** Demonstração da matriz utilizada como porta-enxerto durante a realização do projeto; **B-** Manejo realizado no decorrer das avaliações dos *top graftings* vivos se baseou na poda de folhagens em excesso dos porta-enxertos, que pudessem estar estagnando o desenvolvimento dos enxertos.



Suplementar 10: A a C- Demonstração do crescimento da área de copa de *top graftings* de genótipos autofecundados, realizados durante o projeto e avaliados meses após as enxertias.

Suplementar 11: Ranqueamento dos melhores genótipos (BLUP Individual) segundo a análise individual realizada com o modelo 125 do *software* Selegen REML/BLUP. Foram separadas as duas variáveis analisadas nas avaliações dos *top graftings* (Sobrevivência e Área) e para as duas épocas de enxertia (6 e 3 meses antes do florescimento).

Variável		Sobrevivência		Variável		Sobrevivência	
Época de enxertia		6 meses		Época de enxertia		3 meses	
Ordem	Ef.Aleat.	e1	u + e1	Ordem	Ef.Aleat.	e1	u + e1
1	CEN03	0,4759	0,6605	1	CEN02	0,2394	0,6401
2	CEN06	0,0679	0,2526	2	CEN03	0,2055	0,6062
3	CEN05	0,0448	0,2295	3	CEN04	0,1829	0,5836
4	CEN02	-0,0744	0,1103	4	CEN05	0,0525	0,4533
5	CEN07	-0,1639	0,0207	5	CEN06	-0,1097	0,2910
6	CEN01	-0,1752	0,0095	6	CEN07	-0,2521	0,1486
7	CEN04	-0,1752	0,0095	7	CEN01	-0,3186	0,0821

Variável		Área		Variável		Área	
Época de enxertia		6 meses		Época de enxertia		3 meses	
Ordem	Ef.Aleat.	e1	u + e1	Ordem	Ef.Aleat.	e1	u + e1
1	CEN01	0,2730	0,4440	1	CEN05	0,2106	0,4443
2	CEN05	0,1303	0,3013	2	CEN06	0,1108	0,3445
3	CEN04	0,0876	0,2586	3	CEN04	0,0715	0,3052
4	CEN07	-0,0326	0,1383	4	CEN07	0,0007	0,2344
5	CEN02	-0,1528	0,0182	5	CEN01	-0,0338	0,1998
6	CEN03	-0,1528	0,0182	6	CEN03	-0,1526	0,0811
7	CEN06	-0,1528	0,0182	7	CEN02	-0,2074	0,0262

Suplementar 12: Análise de deviance e teste da razão de verossimilhança (LRT) para as características Sobrevivência e Área de copa dos *top graftings* de *Eucalyptus* spp., realizados 6 e 3 meses antes do florescimento convencional das espécies. Informações foram obtidas a partir do modelo 125 do *software* Selegen e avaliadas em análise individual.

Efeito	Sobrevivência		Área	
	6 meses	3 meses	6 meses	3 meses
Modelo reduzido	-427,71	-313,33	-375,77	-289,32
Modelo completo	-458,63	-317,89	-375,78	-290,40
LRT	30,92*	4,56 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,08 ^{ns}

* e ^{ns}: significativo e não significativo ao nível de 0,01 de probabilidade pelo teste de Qui-Quadrado (χ^2 tabelado: 6,63). H_0 : hipótese nula (modelo completo = modelo reduzido, em que: modelo reduzido é o modelo sem o efeito de sobrevivência e área, respectivamente).

Suplementar 13: Ranqueamento e ganhos genéticos dos genótipos autofecundados avaliados a partir do modelo 51, para o caráter Área (m²), para a análise conjunta entre todas as épocas de enxertia.

Ordem	Genótipos	g	u+g	Ganho	Nova Média	u+g+gem
1	CEN05	0,1015	0,3038	0,1015	0,3038	0,3800
2	CEN01	0,0710	0,2733	0,0863	0,2886	0,3267
3	CEN04	0,0473	0,2496	0,0733	0,2756	0,2852
4	CEN07	-0,0095	0,1928	0,0526	0,2549	0,1857
5	CEN06	-0,0124	0,1899	0,0396	0,2419	0,1807
6	CEN03	-0,0908	0,1114	0,0179	0,2202	0,0432
7	CEN02	-0,1072	0,0951	0,0000	0,2023	0,0146

Sendo **u+g**: valores genotípicos preditos livres de interação; **u+g+gem**: valores genotípicos predito

APÊNDICE Capítulo 2

Suplementar 14: Dados de florescimento e de área de copa, relativos a todos os *top graftings* realizados 6 meses antes do florescimento e que se mantiveram vivos até a última avaliação, realizada no mês de agosto de 2019. A quantidade de botões florais (BF) e frutos (F) foi destacada.

<i>Top graftings</i> realizados 6 meses antes do florescimento										
Progênes	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
17498	189	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	83	118	0,979
17498	196	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	75	106	0,795
17498	197	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	79	86	0,679
17498	202	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	85	70	0,595
17498	205	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	43	26	0,112
17498	208	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	48	59	0,283
17498	215	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	26	28	0,073
17498	216	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	50	60	0,300
18001	496	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	79	120	0,948
18001	501	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	44	17	0,075
18001	510	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	96	70	0,672
18001	511	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	125	100	1,250
18001	512	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	66	67	0,442
18001	513	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	74	95	0,703
18001	518	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	105	147	1,544
18002	624	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	128	182	2,330
18002	626	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	99	125	1,238
18002	627	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	165	176	2,904
18002	630	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	120	127	1,524
18002	631	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	118	188	2,218
18002	632	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	143	220	3,146
18002	633	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	87	70	0,609
18002	635	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	190	210	3,990

Top graftings realizados 6 meses antes do florescimento

Progênie	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
18002	638	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	66	72	0,475
18002	639	Com PBZ	150-180 dias	-	-	6	9	64	102	0,653
18002	641	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	69	85	0,587
18002	650	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	60	55	0,330
18002	652	Com PBZ	150-180 dias	-	-	25	71	50	70	0,350
18002	653	Com PBZ	150-180 dias	-	-	14	14	85	114	0,969
17498	223	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	74	110	0,814
17498	231	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	49	56	0,274
17498	232	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	46	35	0,161
17498	234	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	45	36	0,162
17498	240	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	41	40	0,164
18001	534	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	165	212	3,498
18001	542	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	67	80	0,536
18001	543	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	52	50	0,260
18001	545	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	43	41	0,176
18002	657	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	160	140	2,240
18002	659	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	80	120	0,960
18002	665	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	80	125	1,000
18002	668	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	100	125	1,250
18002	670	Com PBZ	60-90 dias	-	-	198	409	57	85	0,484
18002	675	Com PBZ	60-90 dias	62	65	104	109	97	98	0,951
18002	676	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	28	26	0,073
18002	684	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	72	80	0,576

Suplementar 15: Dados de florescimento e de área de copa, relativos a todos os *top graftings* realizados 3 meses antes do florescimento e que se mantiveram vivos até a última avaliação, realizada no mês de agosto de 2019. A quantidade de botões florais (BF) e frutos (F) foi destacada.

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento										
Progênes	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
17498	251	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	48	39	0,187
17498	252	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	44	29	0,128
17498	253	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	44	28	0,123
17498	254	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	54	44	0,238
17498	255	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	59	50	0,295
17498	257	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	43	45	0,194
17498	258	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	46	32	0,147
17498	259	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	53	52	0,275
17498	260	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	42	22	0,092
17498	261	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	44	49	0,216
17498	262	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	55	35	0,193
17498	263	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	39	28	0,109
17498	267	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	65	50	0,325
17498	268	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	55	34	0,187
17498	269	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	69	70	0,483
17498	270	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	72	90	0,648
17498	273	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	48	20	0,096
17498	274	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	67	38	0,255
17498	276	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	33	8	0,026
17498	280	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	60	70	0,420
18001	560	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	65	100	0,650
18001	561	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	62	65	0,403
18001	562	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	52	36	0,187
18001	565	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	63	45	0,284

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento

Progênes	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
18001	567	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	27	10	0,027
18001	568	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	43	55	0,237
18001	569	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	77	74	0,570
*18001	579	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	92	77	0,708
*18001	581	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	80	72	0,576
*18001	582	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	33	34	0,112
*18001	585	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	46	18	0,083
18002	686	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	31	32	0,099
18002	687	Com PBZ	150-180 dias	-	-	100	241	50	83	0,415
18002	688	Com PBZ	150-180 dias	-	-	4	5	87	90	0,783
18002	691	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	44	52	0,229
18002	692	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	63	74	0,466
18002	694	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	64	60	0,384
18002	695	Com PBZ	150-180 dias	-	-	89	89	100	100	1,000
18002	696	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	38	14	0,053
18002	697	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	38	32	0,122
18002	698	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	31	10	0,031
18002	699	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	31	21	0,065
18002	700	Com PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	50	70	0,350
18002	702	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	75	70	0,525
18002	703	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	102	84	0,857
18002	704	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	107	140	1,498
18002	705	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	126	146	1,840
18002	706	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	90	120	1,080
18002	707	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	75	107	0,803
18002	708	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	60	60	0,360

* Galho onde estes enxertos estavam localizados se quebrou após a avaliação.

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento

Progênes	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
18002	710	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	40	30	0,120
18002	711	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	45	50	0,225
18002	712	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	74	84	0,622
18002	713	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	75	82	0,615
18002	714	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	117	130	1,521
18002	715	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	80	116	0,928
18002	716	Sem PBZ	150-180 dias	-	-	-	-	67	56	0,375
17498	284	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	41	43	0,176
17498	285	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	42	45	0,189
17498	286	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	35	34	0,119
17498	287	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	48	36	0,173
17498	288	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	42	34	0,143
17498	289	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	40	22	0,088
17498	291	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	26	20	0,052
17498	296	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	33	16	0,053
17498	297	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	31	30	0,093
17498	298	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	46	39	0,179
17498	300	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	74	97	0,718
17498	301	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	33	41	0,135
17498	302	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	52	63	0,328
17498	304	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	36	32	0,115
17498	307	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	58	63	0,365
18001	591	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	34	20	0,068
18001	592	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	33	22	0,073
18002	718	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	52	44	0,229
18002	719	Com PBZ	60-90 dias	-	-	26	83	58	54	0,313
18002	721	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	47	30	0,141

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento

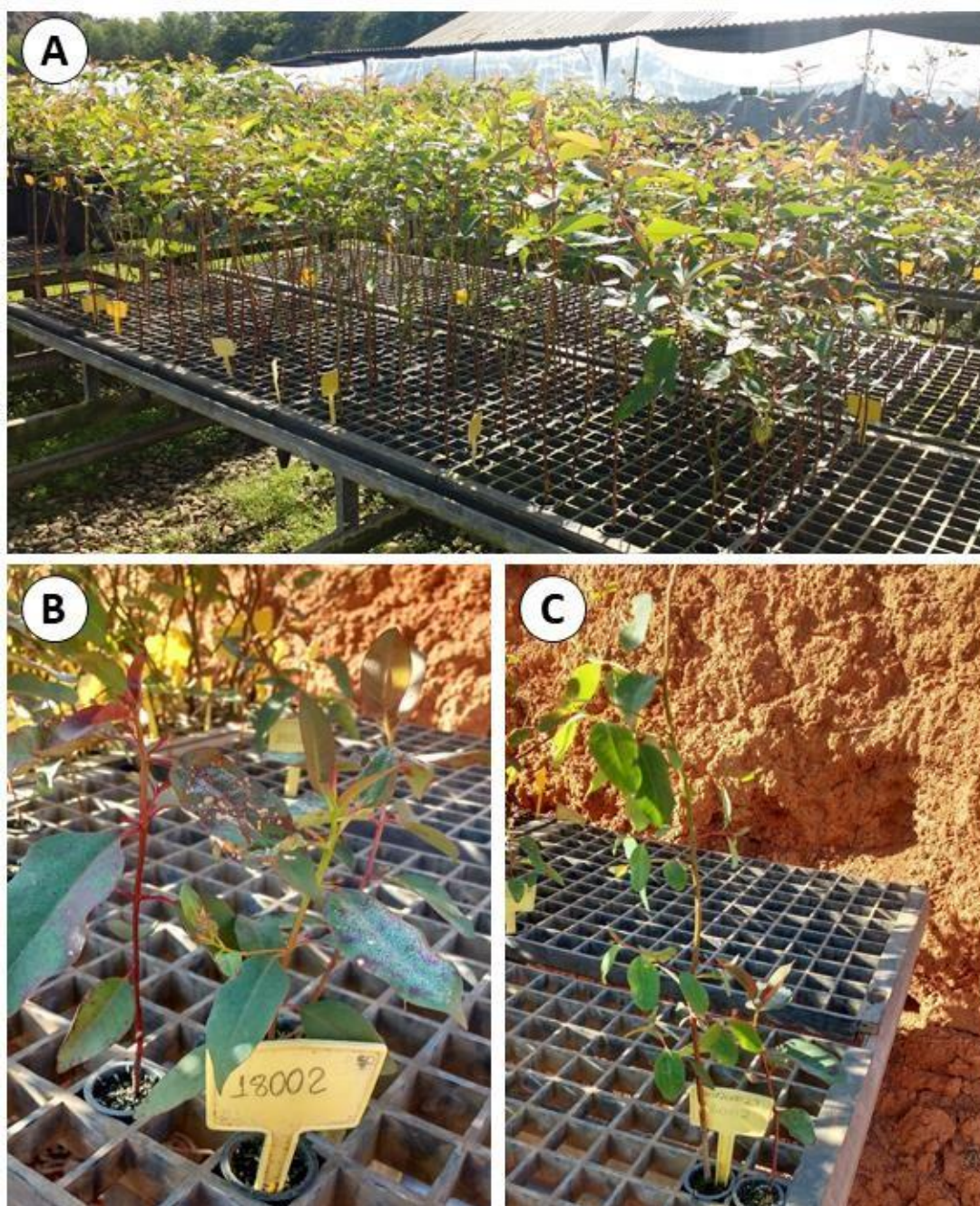
Progênes	Gen	Trat	Idade	Florescimento				Área de copa		
				Quant. BF	Nº de BF/m ² de enxerto	Quant. F	Nº de F/m ² de enxerto	Comp	Larg	Área/m ² de enxerto
18002	722	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	34	40	0,136
18002	723	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	30	37	0,111
18002	727	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	42	54	0,227
18002	728	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	33	43	0,142
18002	729	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	30	30	0,090
18002	730	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	21	26	0,055
18002	733	Com PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	45	54	0,243
18002	737	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	96	100	0,960
18002	741	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	86	110	0,946
18002	743	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	98	110	1,078
18002	744	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	55	40	0,220
18002	745	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	88	81	0,713
18002	746	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	92	100	0,920
18002	747	Sem PBZ	60-90 dias	-	-	-	-	32	23	0,074

Suplementar 16: Avaliações de florescimento realizadas nos anos 2018 e 2019, nos *top graftings* de mudas jovens realizados 6 e 3 meses antes do florescimento. Quantidade de botões florais (BF) e frutos (F) contabilizados em cada *top grafting*. Contagem de *top graftings* com presença de florescimento (x), quando não foi realizada a contagem da quantidade de botões florais presentes durante a avaliação.

Top graftings realizados 6 meses antes do florescimento																			
Prog	Gen	Trat	Idade (dias)	Out_18	Fev_19			Mai_19					Ago_19					Botões florais 2019	Frutos 2019
					BF	Área (m ²)	Quant BF/Área	BF	F	Área (m ²)	Quant BF/área	Quant F/área	BF	F	Área (m ²)	Quant BF/área	Quant F/área		
18002	670	Com PBZ	60-90	x	804	0,196	4102	50	230	0,312	737	160	-	198	0,485	-	409	854	230
18002	675	Com PBZ	60-90	x	630	0,317	1986	210	80	0,488	164	430	62	104	0,951	65	109	902	104
18002	639	Com PBZ	150-180	x	912	0,244	3744	-	12	0,416	29	-	-	6	0,653	-	9	912	12
18002	652	Com PBZ	150-180	-	192	0,205	937	-	26	0,335	78	-	-	25	0,350	-	71	192	26
18002	653	Com PBZ	150-180	-	78	0,284	274	-	15	0,562	27	-	-	14	0,969	-	14	78	15
Soma (top graftings/botões florais)				3	2.616	-	-	260	363	-	-	-	62	347	-	-	-	2.938	387

Top graftings realizados 3 meses antes do florescimento															
Prog	Gen	Trat	Idade (dias)	Fev_19			Mai_19			Ago_19			Botões florais 2019	Frutos 2019	
				BF	Área (m ²)	Quant BF/área	BF	Área (m ²)	Quant BF/área	F	Área (m ²)	Quant F/área			
18002	719	Com PBZ	60-90	126	0,099	1273	-	0,244	-	26	0,313	83	126	26	
18002	687	Com PBZ	150-180	132	0,084	1571	16	0,153	105	100	0,415	241	148	100	
18002	688	Com PBZ	150-180	210	0,291	721	298	0,371	803	4	0,783	5	508	4	
18002	689*	Com PBZ	150-180	210	0,264	795	-	-	-	-	-	-	210	-	
18002	695	Com PBZ	150-180	132	0,389	340	206	0,696	296	89	1,000	89	338	89	
Soma (top graftings/botões florais/frutos)				810	-	-	520	-	-	219	-	-	1.330	219	

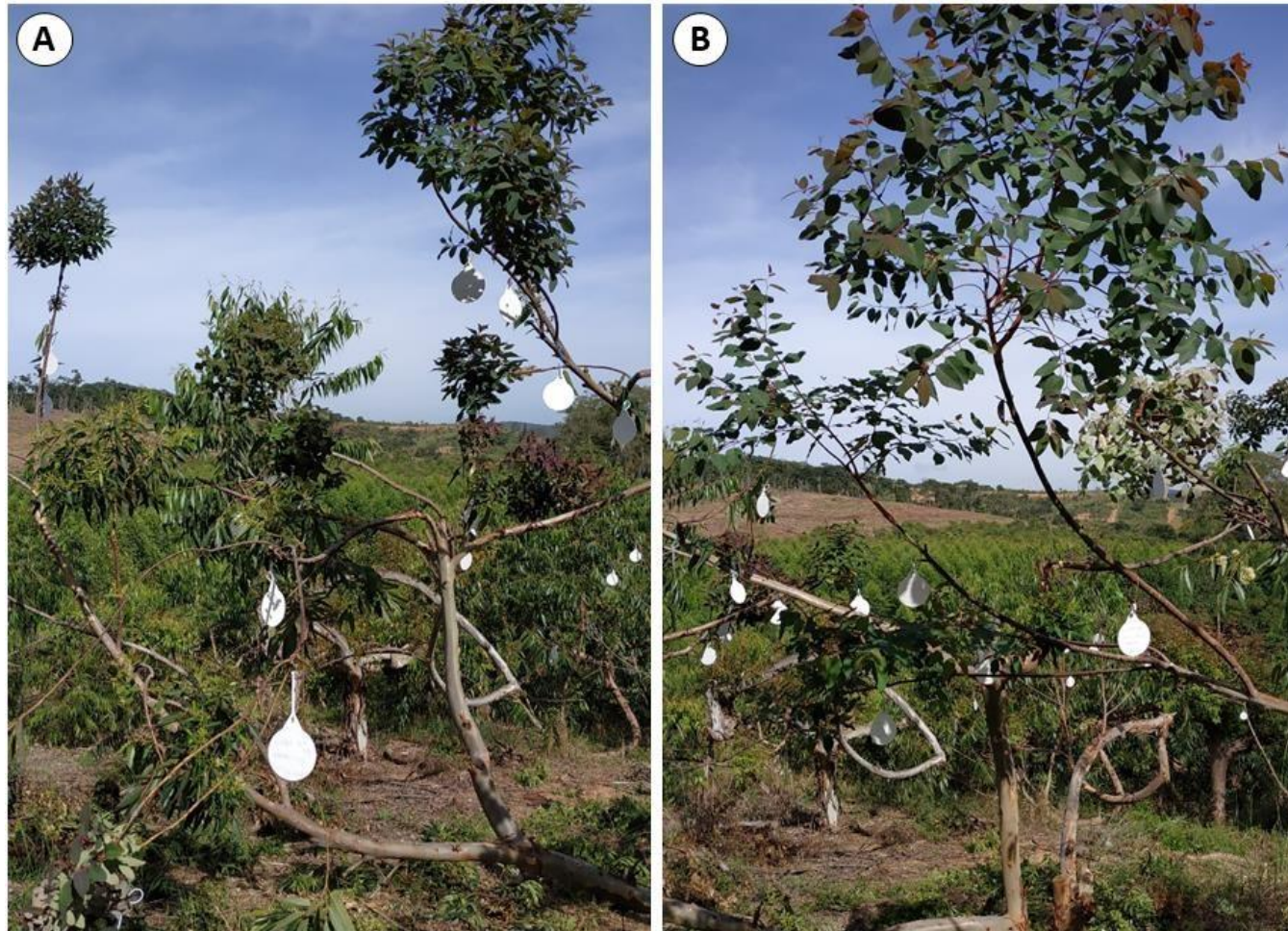
* *Top grafting* morreu nas avaliações posteriores ao seu florescimento.



Suplementar 17: Mudas juvenis, ainda em desenvolvimento em viveiro, selecionadas para serem utilizadas como enxertos durante a realização dos *top graftings*. **A-** Mudas de 150-150 dias; **B-** Mudas de 60-90 dias; **C-** Demonstração comparativa entre o porte das mudas nas duas idades, sendo que a de 150-180 dias possui, naturalmente, maior estatura e rusticidade.



Suplementar 18: A e B- Demonstração do crescimento de raízes na região de união entre o enxerto e o porta-enxerto.



Suplementar 19: A e B- Demonstração do crescimento da área de copa de *top graftings* de mudas jovens, realizados durante o projeto e avaliados meses após as enxertias.