

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden
SOB OS EFEITOS DE BIORREGULADOR E ADUBAÇÃO QUÍMICA**

CRISTIANO BUENO DE MORAES
Engenheiro Florestal

BOTUCATU - SP
2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

VARIABILIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden
SOB OS EFEITOS DE BIORREGULADOR E ADUBAÇÃO QUÍMICA

Autor: **CRISTIANO BUENO DE MORAES**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências (UNESP – Botucatu) para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Área de Concentração: Genética.

Orientador: Prof. Dr. Edson Seizo Mori
Co-orientador: Prof. Dr. Iraê do Amaral Guerrini

BOTUCATU
Estado de São Paulo – Brasil
2007

Moraes, Cristiano Bueno de.

Variabilidade genética em progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden sob os efeitos de biorregulador e adubação química / Cristiano Bueno de Moraes. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2007.

Orientador: Edson Seizo Mori

Co-orientador: Iraê do Amaral Guerrini

Assunto CAPES: 20303004

1. *Eucalyptus grandis* - Melhoramento Genético 2. *Eucalyptus* – Genética

CDD 581.15

Palavras-chave: Teste de progênie; *Eucalyptus grandis*; Biorregulador; Genética molecular; Genética quantitativa; Nutrição florestal

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP - BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

“Você faz acontecer aquilo em que pensa. Toda a sua vida é uma
manifestação física de seus pensamentos.”

LISA NICHOLS



A minha esposa Rosana, Ana Laura, ao
meu pai Jair, minha mãe Aparecida,
aos meus irmãos Álvaro e Gustavo,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edson Seizo Mori, pela orientação, amizade, incentivo e paciência.

Ao Prof. Dr. Iraê do Amaral Guerrini, pela co-orientação e amizade.

Aos funcionários e docentes do Departamento de Genética do Instituto de Biociências e da Faculdade de Ciências Agronômicas do Campus de Botucatu - Unesp, pela contribuição na ampliação de meus conhecimentos.

Aos amigos do Departamento de Produção Vegetal, docentes e funcionários do Departamento de Ciências Florestais – Unesp.

Aos meus amigos Maria Rita, Letícia, Renata, Gláucia, Neide, Júlio, Vanusa, Vanessa, Edson e João Airton pelo companheirismo e paciência.

Aos amigos Raul, Valério e Jane pelas sugestões na elaboração final da dissertação.

Aos amigos Juliana, Carolina e Camila pela revisão do abstract.

Aos funcionários da seção de Pós Graduação, Luciene, Sérgio e Maria Helena pela atenção e paciência.

À FAPESP pela Bolsa de estudo e financiamento do trabalho de pesquisa.

À empresa Eucatex pela concessão das mudas.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO

OBJETIVOS

REVISÃO DE LITERATURA

DADOS SOBRE A ESPÉCIE

BIORREGULADOR

ADUBAÇÃO

INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO

TESTE DE PROGÊNIE

ATIVIDADE DA PEROXIDASE

TEORES DE CLOROFILA

ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS

MARCADORES MICROSSATÉLITES

MATERIAL E MÉTODOS

RESULTADOS E DISCUSSÕES

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM FUNÇÃO DO BIORREGULADOR

CRESCIMENTO EM ALTURA E DIÂMETRO DO COLO

COMPRIMENTO DE RAMOS

ATIVIDADE DE PEROXIDASE

ADUBAÇÃO QUÍMICA

TEORES DE CLOROFILA

ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS GENÉTICOS

PARÂMETROS MOLECULARES

EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

DISTÂNCIA GENÉTICA

ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS GENÉTICOS QUANTITATIVOS COM

CORREÇÕES USANDO PARÂMETROS ESTIMADOS POR MICROSSATÉLITES

INDUÇÃO FLORAL

CONCLUSÕES

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXO

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Dosagens de nutrientes g vaso⁻¹ que foram utilizados no experimento 2
- Tabela 2. Análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média usado
- Tabela 3. Análise de micronutrientes do solo Latossolo Vermelho de textura média usado
- Tabela 4. Estrutura da análise de variância
- Tabela 5. Relações dos pares de “primers” microssatélites testado
- Tabela 6. Características fenológicas observadas
- Tabela 7. Notas atribuídas a cada característica observada em percentagem
- Tabela 8. Valores médios de altura (cm) das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas
- Tabela 9. Valores médios de diâmetro (mm) das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas
- Tabela 10. Valores médios de comprimento dos ramos (cm) das progênies de *Eucalyptus grandis* aos 12, 14 e 16 meses, sob efeito do biorregulador paclobutrazol
- Tabela 11. Valores médios de peroxidase das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas
- Tabela 12. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 13. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 14. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 15. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 16. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 17. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*
- Tabela 18. Médias de amostras de análise química (boro, fósforo e cálcio) de folha, aos 10 meses, em vaso, com as 20 progênies de *Eucalyptus grandis* sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 -1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55, P 08 g vaso⁻¹) e Testemunha (T)
- Tabela 19. Valores médios de teores de clorofila das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas

Tabela 20. Médias de 8 avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}^2$), coeficientes de variação (CV%) e das herdabilidades no sentido restrito das características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 21. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_d^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 22. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_e^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 23. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_p^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 24. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação experimental (CV_{exp.}%) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 25. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação dentro (CV_d%) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 26. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação genético (CV_g%) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 27. Avaliações para estimativas dos valores de herdabilidade no sentido restrito (\hat{h}^2) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila e peroxidase

Tabela 28. Estimativa de herdabilidade no sentido restrito em relação às médias de progênies, para as características de crescimento em progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis*

Tabela 29. Heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o), índice de fixação (f) e taxa aparente de cruzamento (t)

Tabela 30. Valores de qui-quadrado (X²) e probabilidade (P) de oito “primers” EMBRA utilizado para avaliação de diversidade genética em 20 progênies de *Eucalyptus grandis*

Tabela 31. Matriz de distância genética para as 20 progênies (Pr.) de *Eucalyptus grandis* estudadas

Tabela 32. Correção das herdabilidades por marcadores microssatélites pelo modelo matemático proposto por Ritland, 1989

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área de ocorrência do Gênero *Eucalyptus* na Austrália

Figura 2. Área de ocorrência de *Eucalyptus grandis* na Austrália

Figura 3. Fórmula estrutural do biorregulador paclobutrazol

Figura 4. Fatores importantes para o processo de florescimento

Figura 5. Avaliação do comprimento dos ramos

Figura 6. Medidor portátil de clorofila

Figura 7. Testemunha e indivíduos da progênie 20 com porte reduzido, sob efeito do biorregulador de crescimento paclobutrazol

Figura 8. Folha de *Eucalyptus grandis* modificadas pelo efeito do biorregulador paclobutrazol (A) e folha do tratamento testemunha (B)

Figura 9. Folhas de *Eucalyptus grandis* mostrando efeito tóxico do biorregulador paclobutrazol

Figura 10. À esquerda, entrenós com coloração verde intensa e, à direita, indivíduo com desenvolvimento de brotações ao longo do tronco

Figura 11. Caule morfológicamente semelhante à de indivíduos adultos de *Eucalyptus grandis*

Figura 12. Médias das avaliações de altura (cm) em progênies de *Eucalyptus grandis* sob efeito da aplicação do biorregulador paclobutrazol aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses

Figura 13. À esquerda aplicação do biorregulador em sacos de 5L e à direita meio bifásico representando em vaso de 50L

Figura 14. Médias da última avaliação de altura (cm) em progênies de *Eucalyptus grandis*, aos 21 meses, sob efeito do biorregulador paclobutrazol e o tratamento testemunha

Figura 15. Médias das avaliações de diâmetro (mm) em progênies de *Eucalyptus grandis*, sob o efeito do paclobutrazol, aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses

Figura 16. Médias da última avaliação de diâmetro (mm) em progênies de *Eucalyptus grandis*, aos 21 meses, sob o efeito do biorregulador paclobutrazol e o tratamento testemunha

Figura 17. Médias de determinação da atividade de peroxidase em progênies de *Eucalyptus grandis*, sob efeito do paclobutrazol, aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses

Figura 18. Médias de análise foliar de boro, em progênies de *Eucalyptus grandis*, sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 - 1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55,08 P g vaso⁻¹) e Testemunha (T), aos 10 meses

Figura 19. Médias de análise foliar de fósforo, em progênies de *Eucalyptus grandis*, sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 - 1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55,08 P g vaso⁻¹) e Testemunha (T), aos 10 meses

Figura 20. Médias de 8 avaliações de teores de clorofila em progênies de *Eucalyptus grandis* sob o efeito da aplicação do biorregulador paclobutrazol aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses

Figura 21. Padrão da divergência genética entre as 20 progênies de *Eucalyptus grandis*, baseado no agrupamento UPGMA, utilizando as distâncias genéticas de Nei (1972). Dados provenientes de 8 locos microssatélites

Figura 22. Início do processo de florescimento na progênie 10

VARIABILIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden SOB OS EFEITOS DE BIORREGULADOR E ADUBAÇÃO QUÍMICA

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivos: 1) estimar os parâmetros genéticos quantitativos e populacionais das progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, sob o efeito do biorregulador vegetal paclobutrazol e 2) estudar os efeitos da dosagem de paclobutrazol e da adubação química na espécie, com o intuito de antecipar o processo de florescimento. Foi utilizado o biorregulador vegetal paclobutrazol e dosagens de adubações químicas, essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, visando antecipar o processo de formação e produção de sementes e reduzir o tempo para o início da floração. Os experimentos foram implantados no delineamento em blocos casualizados. O experimento 1 foi composto por 20 progênies, 5 plantas (5 vasos) por parcela linear e 3 repetições, totalizando 300 vasos. O experimento 2 foi instalado para observar o comportamento das progênies com relação a associação do biorregulador de crescimento paclobutrazol e da adubação química, representado por 20 progênies, 1 planta por parcela, 3 repetições e variando 2 doses de adubo, totalizando 180 vasos. No experimento 1 foram avaliados: 1) altura, diâmetro do caule e ramos, 2) teor de clorofila, 3) atividades de peroxidase no extrato bruto das folhas, 4) parâmetros genéticos e 5) características fenológicas. No experimento 2 foram avaliadas: 1) altura e diâmetro do caule e 2) análises químicas de solo e das folhas. A aplicação do biorregulador de crescimento paclobutrazol induziu as alterações morfológicas nas folhas, acentuando a nervura central, reduzindo o tamanho, textura e cor e limbo coriáceo. Foram verificadas também a redução do comprimento dos ramos, a quebra de dormência de gemas, o desenvolvimento de ramos laterais e a redução do porte das plantas. Nas características fisiológicas e bioquímicas poucas alterações foram

observadas no teor de clorofila e na atividade de peroxidase. A associação do biorregulador com a adubação química, em vasos, com dosagens diferenciadas de boro (B) e fósforo (P), para o presente estudo, não auxiliou o florescimento precoce das plantas. Dos 16 primers EMBRA testados, oito foram utilizados para a espécie (EMBRAs: 2, 5, 6, 11, 12, 18, 63 e 122). O coeficiente de variação experimental ($CV_{exp. \%}$) foi adequado mostrando boa precisão, com variação de 6,34% a 16,31% para as características estudadas. As médias dos coeficientes de variação genética dentro ($CV_d \%$) foram de 9,58% para o diâmetro e de 20,54% para a altura e dos coeficientes de variação genética ($CV_g\%$) foram de 10,66% para o diâmetro e de 11,64% para a altura. As características teor de clorofila e peroxidase apresentaram coeficientes de herdabilidade (\hat{h}^2) de 0,32 e 0,27, respectivamente. A heterozigosidade média esperada (H_e) e a heterozigosidade média observada (H_o) na população foram respectivamente, 0,65 e 0,52. A maior distância genética (\hat{D}) ficou entre a progênie 15 e as progênies 4 e 18 ($\hat{D} = 0,52$) com média da população de 0,37. Os resultados indicaram que as características analisadas mostraram-se apropriadas para indicar alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e variabilidade genética dos materiais estudados. No entanto, a maioria dos indivíduos das progênies estudadas de *Eucalyptus grandis* não desenvolveu botões florais no período estudado.

Palavras-chave: Teste de progênie, *Eucalyptus grandis*, Biorregulador, Nutrição florestal, Microssatélites, Genética quantitativa e Genética molecular.

**GENETIC DIVERSITY OF *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden PROGENIES
UNDER GROWTH RETARDANT AND CHEMICAL FERTILIZER**

ABSTRACT

The objective of this research was to estimate the quantitative genetic and population genetic parameters of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden progenies, under the effect of paclobutrazol growth retardants and to study the effect of paclobutrazol and chemical fertilizer dosages on the species intending to promote the flowering process. We used the paclobutrazol growth retardants and dosages of chemical fertilizers essential for plant growth and development, aiming to make early the seed production and to decrease the period of flowering initiation. The experiments were set up in randomized block design with three replications. The experiment 1 was composed by 20 progenies, 5 plants (5 vases) per linear pot, totalizing 300 vases. The experiment 2 was set up only to show the performance of progenies in relation to paclobutrazol growth retardants and chemical fertilizer. The experiment 2 is represented by 20 progenies, 1 plant per plot, varying 2 chemical fertilizer dosages, totalizing 180 vases. The treatments for experiment 1 were studied according to the following evaluations: 1) plant height, diameter and branch; 2) analysis of chlorophyll content; 3) determination of peroxidase activities on the crude leaf extract; 4) estimates of genetic parameters, and 5) quantitative evaluation of phenological traits. For the experiment 2, the following evaluations were made: 1) plant height and diameter and 2) chemical analysis of the soil and leaves. The application of paclobutrazol growth retardants promoted leaf morphological changes, such as, evidencing the central ribbing, reducing of size, and coriaceous leaf with alteration of texture and color. It was also observed the reduction on the branch lengths; breaking of bud dormancy and development of lateral branches,

and reduction of plant height. For the physiological and biochemical traits, just a few changes were observed on chlorophyll content and peroxidase activities. The association of plant hormone and chemical fertilization in vases with different dosages of boron (B) and phosphorus (P) has shown inappropriate to promote the earlier flowering. Eight out of 16 tested EMBRA primers, have presented more polymorphism (EMBRAs: 2, 5, 6, 11, 12, 18, 63, and 122) were used to the species. The coefficient of experimental variation ($CV_{exp.}$) was low, showing an appropriate experimental accuracy with values from 6.34% to 16.31% for the studied traits. The average of variation coefficient within progeny (CV_d) was 9.58% for diameter, 20.54% for plant height, and average of genetic variation coefficient (CV_g) was 10.66% also for diameter, and 11.64% for plant height. The chlorophyll content and peroxidase activities presented the narrow sense coefficient of heritability (\hat{h}^2) of 0.32 and 0.27, respectively. The average of expected (H_e) and observed (H_o) heterozygosity of the population were 0.65 and 0.52, respectively. The largest genetic distance (\hat{D}) was between the progeny 15 and was to the progeny 4 and 18 ($\hat{D} = 0.52$), with the population average of 0.37. Through microsatellite data were corrected the coefficients of heritability for the studied traits. According to the results, the traits were good to show morphological, physiological, and biochemical changes and genetic diversity for the genetic material. Therefore, the most of *Eucalyptus grandis* progenies did not develop bud flowers through the period.

Keywords: Progeny test, *Eucalyptus grandis*, Paclobutrazol, Forest nutrition, Microsatellite, Quantitative genetics and Molecular marker.

INTRODUÇÃO

O Gênero *Eucalyptus* gera mais de 4,1 milhões de empregos diretos e indiretos (ABRAF, 2006) e contribui com aproximadamente 5% do PIB nacional, ocupando uma das maiores áreas plantadas no país (Valverde, 2001; Firmino, 2005).

Embora os programas de melhoramento genético nas últimas décadas já tenham proporcionado resultados importantes para o setor florestal brasileiro, muitos desafios ainda existem. O período de florescimento, a ocorrência da primeira floração, a intensidade da floração, a irregularidade de florescimento e as diferenças do período de mudança da fase vegetativa para a reprodutiva entre progênies de populações que crescem sob mesmas condições, são algumas das variáveis encontradas na condução de um programa de melhoramento florestal (Wiltshire et al., 1998; Baptista, 2000).

Os principais fatores que reduzem a agilidade dos programas são o tempo relativamente longo demandado para que as espécies florestais atinjam o estágio reprodutivo e a periodicidade irregular no florescimento (Meilan, 1997; Moncur, 1998).

Esses fatores tornam-se ainda mais importantes à medida que estudos demonstram a efetividade da seleção para crescimento feita em idades precoces, no momento em que as plantas ainda não são capazes de se reproduzirem, ou seja, é possível selecionar progênies de eucalipto em idades precoces, mas nem sempre a recombinação é possível, porque estas ainda não floresceram (Rezende et al., 1994; Neto et al., 2003; Rocha et al., 2006). Dessa forma, a duração das gerações de melhoramento que possuem florações tardias, pode ser reduzida por métodos que induzam o florescimento em plantas juvenis (Assis, 1996).

No Brasil, a primeira floração do *Eucalyptus grandis* ocorre entre dois e quatro anos (Ferreira, 1982). Em *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus saligna* e *Eucalyptus nitens* ocorre entre sete e dez anos, e no *Eucalyptus urophylla* ocorre entre 2 a 3 anos.

A utilização de biorreguladores vegetais nestas espécies seria uma tentativa para antecipar o processo de florescimento (Graça, et al., 1986). Os biorreguladores empregados em plantas são basicamente as auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e os retardantes de crescimento (Weaver, 1982; Taiz e Zeiger, 2004). O retardante mais utilizado em espécies florestais é o paclobutrazol (Nickell, 1991). Em razão de seus efeitos sobre os diferentes processos bioquímicos e fisiológicos das plantas os biorreguladores apresentam grande potencial de utilização no setor florestal, por possuírem a capacidade de alterar o crescimento, o desenvolvimento e o florescimento em espécies florestais (Tambarussi et al., 2005).

Diversos trabalhos têm mostrado que a utilização desses biorreguladores em *Eucalyptus* possibilita a obtenção de plantas de porte reduzido e auxilia no processo de indução floral (Cauvin, 1991; Moncur e Hasan, 1994; Araújo et al., 1995; Williams, 1999; Moraes et al., 2004).

Outro fator importante é o papel dos nutrientes no crescimento, desenvolvimento e florescimento dos vegetais. Devido às flores e os frutos das árvores conterem elevados níveis de elementos nutritivos, sugere uma correlação elevada entre a fertilidade do solo e a floração. Estudos com diversas espécies *Eucalyptus* (Sedgley e Griffin, 1989; Eldridge et al., 1993) foram realizados na tentativa de avaliar o efeito estimulador da adubação na floração. Os resultados obtidos foram variáveis e muitas vezes difíceis de interpretar, variando em função das espécies, modo de aplicação do adubo, idade, composição da adubação e da combinação dos tratamentos aplicados (Graça, et al., 1986).

Pesquisas atuais mostram que a utilização de adubação química associada com biorreguladores auxilia no processo de florescimento em varias espécies. Segundo Williams et al. (2003), a associação de adubação nitrogenada e do biorregulador de crescimento paclobutrazol promove em *Eucalyptus nitens* o aumento na ocorrência de botões florais. Para Bonnet-Masibert e Webber (1995), a combinação de adubação química com biorregulador causa um efeito sinérgico, exercendo influência no mecanismo de florescimento, em determinadas espécies.

A utilização de biorreguladores com a adubação química, em programas de melhoramento florestal, poderá auxiliar na indução floral em espécies florestais, reduzindo o tempo de produção de sementes e diminuindo a duração de futuras gerações.

OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos:

- a) Estimar os parâmetros genéticos quantitativos e moleculares das progênies de *Eucalyptus grandis* sob o efeito do biorregulador vegetal paclobutrazol;
- b) Estudar os efeitos da dosagem de paclobutrazol e da adubação química na espécie, com a finalidade de antecipar o processo de florescimento.

REVISÃO DE LITERATURA

DADOS SOBRE A ESPÉCIE

O gênero *Eucalyptus*, da família *Mirtaceae*, conta com aproximadamente 700 espécies e é dividido em 8 subgêneros taxonômicos. O gênero foi descrito em 1788 por L'Heritier de Brutelle no "Sertum Anglicum", 18, t.20, publicado em Paris. Espécies deste gênero encontram-se disseminadas por todo o continente Australiano (Figura 1) e por diversas ilhas da Oceania, explorando diferentes condições edafoclimáticas (Pryor, 1976; Silveira et al. 2001).



Figura 1. Área de ocorrência do Gênero *Eucalyptus* na Austrália (Wikipédia, 2007)

O primeiro relato do gênero foi em 1825, no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, com dois exemplares de *Eucalyptus gigantea* (AMS, 2007). Mas, oficialmente o

primeiro plantio com base em informações técnicas ocorreu em 1904, no Horto de Jundiaí, por Edmundo Navarro de Andrade, o qual trouxe uma coleção de espécies e variedades do gênero com a intenção de utilizá-las para produção de energia, construção civil, moirões, dormentes e postes (Martini, 2004). Este material faz parte do mais completo banco de germoplasma do gênero no Brasil, situado no Horto de Rio Claro, São Paulo.

***Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden**

O *Eucalyptus grandis* ocorre naturalmente na Austrália na região compreendida pelas latitudes 32°51' a 17°S, nas altitudes de 600 a 1.000 metros, em solos profundos e vulcânicos das margens dos rios e encostas nos estados de New South Wales e sudeste de Queensland (Figura 2), onde predomina o clima subtropical com pluviosidade entre 1.000 e 1.800 mm anuais (Blakely, 1965).

Em regiões naturais a espécie é tipicamente encontrada em povoamentos homogêneos e, muitas vezes, consorciada com *Eucalyptus pilularis* ou com espécies da floresta pluvial (Burgess, 1983).

No Brasil, o *Eucalyptus grandis* encontra boas condições para o seu desenvolvimento, desde a região Sul até a região Norte do país.

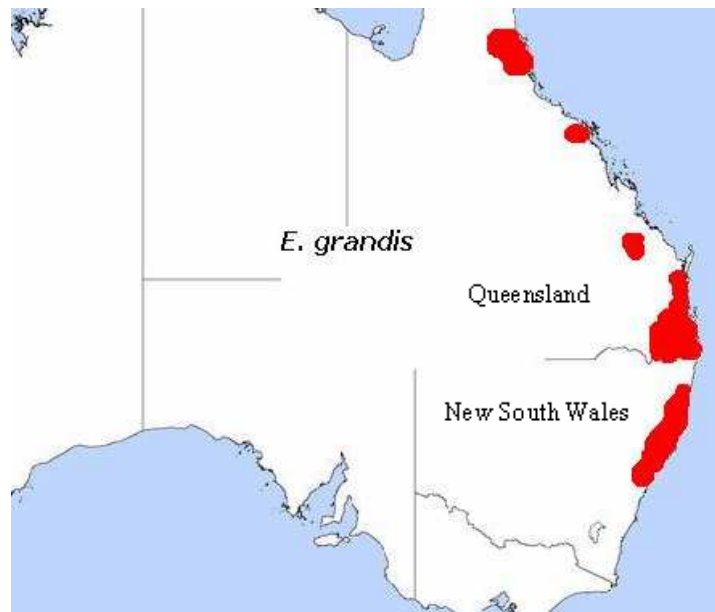


Figura 2. Área de ocorrência de *Eucalyptus grandis* na Austrália (Wikipédia, 2007)

Esta espécie supera qualquer outra em incremento volumétrico, em condições ambientais adequadas, sendo a mais plantada no Brasil, pela sua plasticidade fenotípica (Mora e Garcia, 2000). A procedência de Coffs Harbour - Austrália é a mais plantada, com programas de melhoramento em gerações avançadas, principalmente para a produtividade (Kageyama, 1983; Rocha, 2000).

BIORREGUADORES

Os biorreguladores são substâncias químicas, biologicamente ativas, não nutrientes que em baixas concentrações promovem, inibem ou modificam processos morfológicos e fisiológicos nos vegetais (Castro, 2007). Atuam em todas as fases do desenvolvimento das plantas e o conhecimento de suas ações é fundamental para a compreensão do desenvolvimento dos vegetais.

Pesquisas recentes estimulam a utilização dessas substâncias na produção agrícola buscando melhor qualidade e sustentabilidade. Promotores, inibidores do crescimento,

reguladores de maturação, bioativadores e bioestimulantes vegetais fazem parte de muitos sistemas produtivos como em eucalipto, algodão, cana-de-açúcar, soja, citros, manga, uva, flores, hortaliças e outros, gerando múltiplos benefícios aos produtores.

Um biorregulador muito utilizado para indução floral em espécies florestais é o paclobutrazol. Ele é eficiente em reduzir o crescimento de plantas, pois inibe a biossíntese de giberelinas, com redução dos níveis endógenos desse hormônio, atuando em uma ampla variedade de espécies de angiospermas lenhosas (Reid et al., 1995).

De acordo com Arteca (1996), o paclobutrazol tem o nome químico [(2RS – 3RS) – 1 – (4 – clorofenil) – 4, 4, dimetil - 2 - (1H-1,2,4-triazol-1-il) pentan-3-ol], fórmula empírica $C_{15}H_{20}ClN_3O$ e a sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 3.

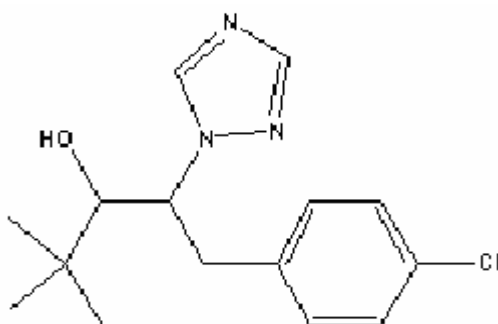


Figura 3. Fórmula estrutural do biorregulador paclobutrazol (Anvisa, 2003)

Os métodos de aplicação do biorregulador paclobutrazol, segundo Clipper (1986), consistem em:

1) Tratamento do solo: é aplicado via solo na dose de 1ml (250 g i a L^{-1}) diluído em água. Nesse caso, pode ser aplicado ao redor do coleto da planta, ficando disponível para a sua absorção do sistema radicular.

2) Pulverização foliar: a metodologia difere das demais, devido à necessidade de se realizar repetidas pulverizações para promover uma ação permanente do produto, pois a eficiência é de 17%. As aplicações neste caso devem ser realizadas nas primeiras horas do dia, para que ocorra uma absorção maior do produto pelos estômatos das folhas na dose de 1ml (250 g i a L⁻¹) diluído em água.

ADUBAÇÃO

O *Eucalyptus*, em geral, é apontado como uma espécie pouco exigente em relação aos elementos minerais (Silveira et al., 1995). O seu desenvolvimento vegetativo pode apresentar diferentes estádios nutricionais, tendo em conta o balanço entre os suprimentos internos e externos de nutrientes e a demanda da planta por nutrientes (Malavolta, 1997).

A necessidade de adubação decorre do fato de que nem sempre o solo é capaz de fornecer todos os nutrientes que as plantas precisam para a obtenção de incremento. As características e quantidade de adubos a aplicar dependerão da necessidade nutricional da espécie florestal, da fertilidade do solo, da forma de reação dos adubos com o solo e da sua eficiência (Gonçalves, 1995).

Os nutrientes exercem funções específicas na vida do vegetal. Um nutriente importante para o desenvolvimento da planta é o boro. Suas principais funções são: metabolismo de carboidratos e transporte de açúcares através das membranas; síntese de ácidos nucléicos (DNA e RNA) e de fitohormônios; formação de paredes celulares e divisões celulares. A sua disponibilidade afeta significativamente as concentrações nos tecidos vegetais, e seus teores extremamente baixos ou elevados, levam as folhas a

mostrarem manifestações visíveis e características desses extremos (Malavolta et al., 1997).

Uma das mais rápidas respostas à deficiência de boro é a paralização do crescimento dos tecidos meristemáticos da parte aérea e das raízes, considera-se que é necessário um contínuo suprimento de boro para a manutenção da atividade meristemática (Filho, 2006).

Segundo Silva e Faria (2004), o boro também é importante para a polinização e desenvolvimento de frutos. A deficiência de boro resulta em florescimento e polinização inadequada, além de frutos de tamanho reduzido. Os sintomas de deficiência são mais visíveis durante o florescimento, produzindo inflorescências deformadas, brotações de tamanho reduzido, com folhas pequenas e coriáceas.

Outro nutriente importante é o fósforo, que possui a função do metabolismo basal e a fosforilização, as quais permitem a transferência de energia. O fósforo é necessário na divisão e crescimento celular da planta. É importante no desenvolvimento radicular, comprimento da inflorescência, duração da floração, tamanho da folha e maturação do fruto. Os sintomas característicos da deficiência de fósforo incluem o crescimento reduzido em plantas jovens e uma coloração verde escura das folhas, podendo também prejudicar o desenvolvimento reprodutivo dos vegetais (Silva e Faria, 2004).

INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO

O florescimento é complexo, uma vez que fatores ambientais, hormonais, metabólicos e fisiológicos (Figura 4) estão diretamente relacionados a ele (Kozlowski e Pallardy, 1997; Taiz e Zeiger, 2004).

O entendimento dos aspectos fisiológicos, bioquímicos e moleculares do processo de floração, como do mecanismo pelo qual a transição do desenvolvimento vegetativo para o reprodutivo ocorre, permanece pouco claro (Arteca, 1996).

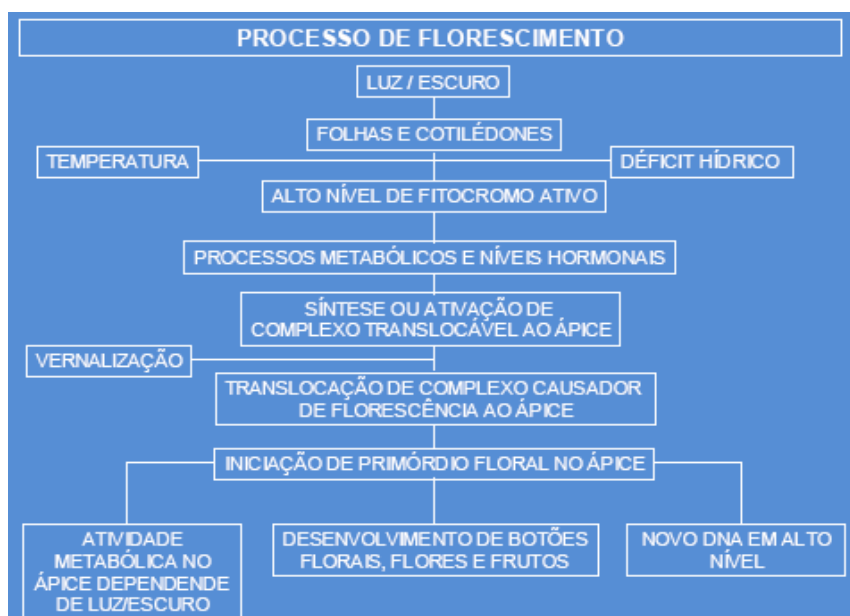


Figura 4. Fatores importantes para o processo de florescimento (Medina, 2007)

A passagem do desenvolvimento vegetativo para o reprodutivo é uma fase importante e crítica no ciclo de vida dos vegetais superiores, pois as funções dos hormônios no florescimento, em determinadas espécies, passam pela regulação dos fatores ambientais (Medina, 2007).

Pesquisas mostram que a exposição à alta, à baixa e a variações de temperaturas auxiliam a indução floral em diversas espécies florestais (Moncur et al., 1994). Em

estudo realizado por Moncur (1992), com mudas de *Eucalyptus lansdowneana*, quando transferidas de casa de vegetação aquecida (24/19°C) para fria (15/10°C), por um período de 5 a 10 semanas, com posterior retorno para casa de vegetação aquecida, foi possível induzir o aparecimento de botões florais. Em estudo posterior, (Moncur et al., 1994), expondo mudas de enxertos de *Eucalyptus nitens* a baixas temperaturas, na ausência do biorregulador de crescimento paclobutrazol, não ocorreu produção de botões florais no primeiro ano, produzindo somente um pequeno número, no segundo ano.

Conforme Castro (2007), plantas que requerem fotoperíodos apropriados para a indução floral respondem ao sinal externo através da formação do hormônio vegetal florígeno. Conseqüentemente, este sinal pode ser transmitido de um local para outro, resultando em mudanças físico-químicas que promoverão o florescimento. De acordo com Moncur (1992), a sensibilidade do eucalipto à luz varia de espécie para espécie. No caso específico do *Eucalyptus lansdowneana*, a resposta à indução floral ocorreu sob alternância de dias longos (16 horas) e dias curtos (9h40min), promovendo alterações no balanço hormonal estimulando o aparecimento de botões florais.

TESTE DE PROGÊNIE

Testes de progênies são utilizados em programas de melhoramento, com o objetivo de conservação genética de populações, determinação da estrutura genética de populações, produção de sementes melhoradas, determinação do valor genético de matrizes selecionadas e determinação de parâmetros genéticos (Takahashi, 2005; Rocha et al., 2006).

Os testes de progênies possibilitam a conservação *ex situ*, ou seja, segundo Lleras (1992), a manutenção de amostras representativas de populações que, depois de

caracterizadas geneticamente, podem estar disponíveis para o melhoramento genético. Grande parte dos recursos genéticos florestais se enquadra neste caso, pois a variabilidade genética adequada de muitas espécies somente poderá ser garantida desta forma. Eles são instalados para analisar quais as melhores progênies, de acordo com a associação entre o seu genótipo e a resposta aos estímulos ambientais.

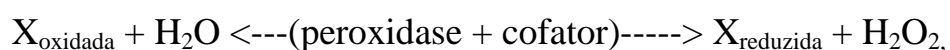
Os testes de progênies de polinização livre são os mais utilizados em espécies florestais, devido à facilidade na produção de progênies em relação aos que exigem polinização controlada, pois permitem obter estimativas dos parâmetros genéticos (Santos, 2002). Em estudo realizado por Mello et al. (1994), a seleção de clones em testes de progênies se mostrou mais promissora do que em talhões, comerciais quando se objetivou ganhos em volume, como também foram mais eficientes na seleção de clones para propagação vegetativa em escala comercial.

Santos et al. (2006), estudando a eficiência da seleção massal de 71 árvores matrizes de *Eucalyptus grandis* em teste de progênie, constataram a importância da técnica no processo de seleção, principalmente devido à interação do genótipo com os efeitos ambientais.

ATIVIDADE DA PEROXIDASE

Peroxidases são enzimas que catalisam a oxirredução entre peróxido de hidrogênio e vários redutores. Estão presentes em tecidos de animais, plantas e em microrganismos (Hiraga et al., 2001), sendo divididas em peroxidase de animais e peroxidase de plantas (ascorbato peroxidase).

A [reação](#) é descrita pela [equação](#):



em que X é a molécula que sofre peroxidação.

A enzima utiliza o peróxido de hidrogênio para oxidar uma grande variedade de substâncias doadoras de hidrogênio, como fenóis, grupos com anéis aromáticos, diaminas, ácido ascórbico, aminoácidos e alguns íons inorgânicos (Nkang, 1996). A atividade dessa enzima varia com o tipo de tecido e estágio de desenvolvimento da planta. Esse sistema enzimático tem sido usado como modelo para estudar o controle hormonal e os processos de crescimento nas plantas (Denna e Alexander, 1975). Pode também estar relacionada à peroxidação de lipídios e, assim como as fosfatases ácidas, ao processo de envelhecimento (Vieira e Carvalho, 1994).

A peroxidase pode ser tomada como um marcador bioquímico de estresse resultante tanto de fatores bióticos como abióticos (Lima et al., 1999; Piza et al., 2003). Podem ser a molécula chave de adaptação das plantas, ou de alguns de seus órgãos, separadamente às mudanças do meio ambiente (Gaspar et al, 1986).

AVALIAÇÕES DE CLOROFILA

O clorofilômetro é um aparelho portátil que mede de modo não destrutivo e instantâneo, a transmitância de luz através da folha, no comprimento de onda com pico em 700 nm, região de alta absorbância pelas moléculas de clorofila, e com pico em 840 nm, na qual a absorbância pela folha é baixa, servindo como um fator de correção para o teor de água ou espessura da folha (Minolta, 1989).

Por ser portátil, o clorofilômetro é de fácil manuseio, podendo ser usado diretamente no campo, fornecendo resultados imediatos da estimativa dos teores de clorofila (CM) a partir de leitura realizada no limbo foliar. O medidor avalia os teores

de clorofila, que é um pigmento que reflete a cor verde nas plantas, e está diretamente associado com o potencial da atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas, que por sua vez está geralmente associado com a quantidade e qualidade de clorofila (Zotarelli et al., 2002).

Os valores calculados pelo aparelho são com base na quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimento de onda, nas quais a absorção pela clorofila é diferente. O instrumento tem sido usado para estimar a concentração de nitrogênio (N) da folha, visto que os teores de clorofila se relaciona positivamente com a concentração desse nutriente (Murdock, et al., 2004).

Vários estudos demonstram que as avaliações realizadas com o clorofilômetro correlacionam-se bem com os teores de clorofila em várias culturas (Neves et al., 2005). Com cerca de 50 a 70 % do N total na folha está associado a enzimas presentes nos cloroplastos (Chapman e Barreto, 1997), geralmente, correlaciona-se bem também com o teor de N na folha (Argenta et al., 2001).

ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS

A obtenção dos parâmetros genéticos é de fundamental importância para orientar os futuros trabalhos de melhoramento, especialmente no caso de espécies florestais.

Para estudar os fatores genéticos realizam-se as estimativas dos parâmetros genéticos, possibilitando a obtenção de informações sobre a natureza da ação gênica envolvida na herança dos caracteres e fornecendo base para avaliação da estratégia de melhoramento.

Dentre os parâmetros genéticos os que são de maior importância ao melhorista e que são objetos de estudos em testes de progênies são as variâncias genéticas, os

coeficientes de variação, os coeficientes de herdabilidades no sentido amplo e restrito e o ganho genético.

A separação da variância genética da não genética (ambiental) é o principal objetivo de estudo da genética quantitativa (Moraes et al., 2006), conseqüentemente, é fundamental a minimização ou estratificação da variação ambiental na escolha do delineamento utilizado.

Dentre os parâmetros genéticos, a variância genética aditiva é o componente mais importante, pois é a principal causa da semelhança entre parentes; logo é o principal indicador das propriedades genéticas observadas em uma população e sua resposta à seleção (Allard, 1971; Moraes e Mori, 2007).

A herdabilidade corresponde à proporção da variabilidade total, que é de natureza genética, indicando o grau de dificuldade para se melhorar determinado caráter a partir da seleção, definido como o quociente entre a variância genética e a variância total (Falconer e Mackay, 1996).

MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSR)

Por marcador molecular define-se todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

Os marcadores microssatélites são regiões do DNA constituídos de trechos pequenos e repetidos de nucleotídeos, denominado de seqüências simples repetidas ou SSR (“*Simple Sequence Repeats*”), dispersos por todo genoma nuclear e nos plastídios dos eucariotos. Podem variar de um a seis pares de bases repetidas continuamente. Essas regiões, ou sítios, exibem alto grau de polimorfismo devido à diferença no

número de unidades simples repetidas, levando diversos pesquisadores a especularem sobre seu potencial evolutivo (Echt et al., 1996; Moxon e Wills, 1999).

Os microssatélites são utilizados como ferramenta em programas de melhoramento de plantas (Falcão et al., 2004) e têm auxiliado o melhorista no monitoramento da seleção de genes que controlam características de interesse florestal e agrícola, caracterizando e identificando corretamente os materiais genéticos (Butcher et al., 2000; Grattapaglia, et al., 2003). De acordo com Brondani et al. (2006), esses marcadores fornecem dados mais robustos, estão distribuídos ao longo do genoma, possuem fácil interpretação de alelos e ausência de duplicação.

Segundo Borém e Caixeta (2007), a principal vantagem do marcador microssatélite é a expressão codominante e o multialelismo, possuindo o mais elevado conteúdo de informação de polimorfismo (“*Polymorphism Information Content*”).

Brondani et al. (2006), desenvolveram e caracterizaram geneticamente mapas comparativos entre genomas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* a partir de diversos locos microssatélites. Publicaram uma seqüência de 230 “primers” EMBRA (*Eucalyptus* microssatélites do Brasil) com locos altamente informativos, sua posição nos mapas de ligações, frequência alélica e taxas de heterozigosidade observada e esperada para essas duas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram implantados 2 experimentos, em área do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas / UNESP - Campus de Botucatu / SP, sendo o primeiro em blocos casualizados e o segundo em esquema de parcelas subdivididas, segundo a metodologia proposta por Pimentel-Gomes (1978).

O experimento 1 foi composto por 20 progênies representadas por 5 plantas (5 vasos) por parcela linear e 3 repetições, totalizando 300 vasos.

O experimento 2 foi instalado para observar o comportamento das progênies à associação do biorregulador de crescimento paclobutrazol e da adubação química, representado por 20 progênies, sendo 1 planta por parcela, 3 repetições e 3 dosagens de adubo, totalizando 180 vasos.

As mudas das vinte progênies de *Eucalyptus grandis* foram produzidas, via seminal, originadas de material genético procedente da região sudeste da Austrália (Coffs Harbour) as quais foram produzidas em tubetes e, após três meses da semeadura, transplantadas para sacos plásticos de 5L, onde permaneceram por um período de quatro meses até serem plantadas nos vasos de 50L.

Para o plantio nos vasos foi utilizado o Latossolo Vermelho de textura média da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, cuja análise do solo se encontra nas Tabelas 2 e 3. O sistema de irrigação localizada foi instalado com tubos de polietileno 3/4 x 2,5 mm, com pontas gotejadoras.

Tabela 1. Dosagens de nutrientes g vaso⁻¹ que foram utilizados no experimento 2

| DOSAGENS DE ADUBO | |
|----------------------|-------------|
| Boro (B) | Fósforo (P) |
| g vaso ⁻¹ | |
| 1,20 | 27,54 |
| 3,60 | 55,08 |

Foi utilizada a seguinte recomendação de adubação para o plantio nos vasos: calcário na dose de 60,0g vaso⁻¹, 40,0g de Sulfato de Amônio (8 N g vaso⁻¹), 44,8g de Superfosfato Triplo (18,36 P₂O₅ g vaso⁻¹), 9,92 g de Cloreto de Potássio (5,96 K₂O g vaso⁻¹), 3,52g Ácido Bórico (0,6 B g vaso⁻¹) e 4,50g de Sulfato de Zinco (0,9 Zn g vaso⁻¹), cujas análises químicas se encontram nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média usado.

| PH | M.O. | P _{resina} | Al ³⁺ | H+Al | K | Ca | Mg | SB | CTC | V% | S |
|-------------------|--------------------|---------------------|----------------------------------|------|-----|----|----|----|-----|----|---|
| CaCl ₂ | g dm ⁻³ | mg dm ⁻³ | -----mmol dm ⁻³ ----- | | | | | | | | |
| 4,2 | 10 | 1 | ---- | 37 | 0,1 | 6 | 2 | 8 | 45 | 18 | 6 |

Tabela 3. Análise de micronutrientes do solo Latossolo Vermelho de textura média usado.

| BORO | COBRE | FERRO | MANGANÊS | ZINCO |
|--------------------------------|-------|-------|----------|-------|
| -----mg dm ⁻³ ----- | | | | |
| 0,12 | 0,2 | 31 | 0,2 | 0,0 |

O biorregulador foi aplicado via solo quando as mudas apresentavam sete meses de idade na dose de 1g de paclobutrazol (15% p a) por centímetro de circunferência do colo da planta, segundo Moncur et al. (1994), diluídos em 300 ml de água destilada para cada progênie.

VARIÁVEIS AVALIADAS

a) **Altura (cm) e diâmetro do colo (mm) das plantas:** foram obtidas por paquímetro digital e uma trena graduada aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

b) **Comprimento de ramos (cm):** através de fita métrica (Figura 5), em cinco ramos sucessivos, a partir de 10 cm do ápice (Figura 5), aos 12, 14 e 16 meses, sob efeito do biorregulador.



Figura 5. Avaliação do comprimento dos ramos

c) **Atividades de peroxidase** ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$): obtidas pela adaptação do método de Allain et al. (1974), aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Para a realização da atividade da peroxidase no extrato bruto foi utilizado o seguinte procedimento:

Coleta e armazenamento do material vegetal

Foram coletadas 200 mg de folhas da região mediana das plantas, sendo acondicionadas em gelo e tão logo possível foram maceradas com 1ml da solução tampão de fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, sendo a seguir centrifugadas por 70 minutos a 5000 rpm, obtendo-se o extrato bruto. Após centrifugação as amostras foram armazenadas em frascos eppendorf, em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para posterior leitura em espectrofotômetro.

Atividade de Peroxidase

Para a realização da atividade da peroxidase no extrato bruto foram realizados os seguintes procedimentos:

1) Preparo de Soluções

Solução A: 2,2 ml de H₂O₂ (água oxigenada) a 35%, diluída em 10 ml de água destilada. Desta solução, foram utilizados 0,5 ml, a qual foi diluída em tampão fosfato 0,2 M e pH 6,7 até o volume de 50 ml.

Solução B: 81,3 mg de 4-AAP (4-aminoantipirina) foram dissolvidos em 10 ml de água destilada. Adicionou-se a esta solução 163 mg de fenol previamente dissolvido em 80 ml de água destilada. O volume final foi ajustado para 100 ml com água destilada.

2) Teste enzimático

Para a realização do teste enzimático foram pipetados em tubos de ensaio 0,5 ml da solução A; 0,5 ml da solução B; 200 µl do extrato bruto e 0,8 ml de água.

Os tubos foram ligeiramente agitados e mantidos em banho-maria, a 30 °C, por 5 minutos, quando pela adição de 2 ml de etanol, ocorreu a inibição da reação enzimática.

A leitura da densidade ótica foi feita no espectrotômetro a 505 nm e a reação em branco (controle) foi feita com tampão fosfato 0,2 M e pH 6,7.

d) Teores de clorofila (CM), segundo método de Murdock et al. (2004).

As leituras com o medidor portátil (clorofilômetro) foram realizadas aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses, no período da manhã, sombreando o aparelho para evitar a interferência da luz solar (Figura 6) .

Em cada planta foram realizadas leituras em quatro pontos da folha (dois de cada lado), optando-se pelas folhas localizadas no segundo terço superior das plantas.



Figura 6. Medidor portátil de clorofila

e) Estimativas dos Parâmetros Genéticos

1) *Parâmetros Genéticos Quantitativos*

Para cálculo das estimativas foi utilizado o programa computacional GENES, segundo modelo citado por Steel e Torrie (1980), considerando-se todos os efeitos como aleatórios, exceto a média (Cruz, 2006).

A estrutura da análise de variância utilizada pelo programa computacional para obtenção das estimativas das variâncias, ao nível de média de parcelas, foi realizada

conforme demonstrado na Tabela 4, para as análises do experimento 1. O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + b_j + e_{ij}$$

Tabela 4. Estrutura da análise de variância

| Fator de Variação | G.L. | SQ | QM | E (QM) |
|-------------------|-------------|-----------------|------------------|--------------|
| Blocos | r - 1 | SQ _b | QM _b | ----- |
| Progênie | t - 1 | SQ _p | QM _p | σ_p^2 |
| Erro | (r-1) (t-1) | SQ _e | QM _e | σ_e^2 |
| TOTAL | (r t) - 1 | SQ total | ----- | ----- |
| Dentro | (n-1).rt | SQ _d | QM _{td} | σ_d^2 |

Calculando as três variâncias básicas (dentro, ambiental e de progênie), foi possível determinar as demais variáveis intermediárias e as respectivas herdabilidades.

Para isso, as fórmulas aplicadas foram:

$$\text{Coeficiente de Variância fenotípica} = \hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_d^2 + \hat{\sigma}_e^2 + \hat{\sigma}_p^2$$

$$\text{Coeficiente de Variância aditiva} = \hat{\sigma}_A^2 = 4.\hat{\sigma}_p^2$$

$$\text{Coeficiente de Variação Experimental} = CV_{\text{exp.}} = \frac{\sqrt{QM_e}}{\bar{X}} .100$$

$$\text{Coeficiente de Variação Fenotípico} = CV_f = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_f^2}}{\bar{X}} .100$$

$$\text{Coeficiente de Variação Dentro} = CV_d = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2}}{\bar{X}} \cdot 100$$

$$\text{Coeficiente de Variação de Progênes} = CV_p = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_p^2}}{\bar{X}} \cdot 100$$

Os coeficientes de herdabilidades foram estimados pelas seguintes fórmulas:

Coeficiente de herdabilidade no sentido restrito: a nível de plantas (\hat{h}^2)

$$\hat{h}^2 = \hat{\sigma}_A^2 / \hat{\sigma}_f^2$$

Coeficiente de herdabilidade entre médias de progênes de meios irmãos (\hat{h}_m^2)

$$\hat{h}_m^2 = \left(\frac{1}{4} \cdot \hat{\sigma}_A^2\right) / \hat{\sigma}_f^2$$

Coeficiente de herdabilidade dentro de progênes de meios irmãos (\hat{h}_d^2)

$$\hat{h}_d^2 = \left(\frac{3}{4} \cdot \hat{\sigma}_A^2\right) / \hat{\sigma}_d^2$$

2) Estimativa da Variabilidade Genética Populacional

Os parâmetros de genética de populações foram estimados com base em Wright (1965) e Nei (1972).

Os parâmetros de variabilidade genética foram estimados segundo Miller (1997), utilizando-se o programa TFGA (*Tools for Population Genetic Analyses*).

Frequências gênicas

As frequências dos alelos foram obtidas pela leitura dos géis revelados, contando-se diretamente o número de bandas nos locos. As frequências alélicas esperadas foram estimadas a partir das frequências observadas, obedecendo-se o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Quantidade de heterozigose intrapopulacional

Heterozigosidade estimada (\hat{H}_e)

A quantidade de heterozigose foi estimada com base em Nei (1978):

$$\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$$

Em que: p_i é a frequência estimada do *i*ésimo alelo.

A heterozigosidade média esperada foi obtida pela média aritmética de todos os locos estudados.

Porcentagem de locos polimórficos (\hat{P})

Para se estimar o polimorfismo de um determinado loco, foi considerada a frequência do alelo mais comum inferior a 0,95.

Distância genética (\hat{D})

A distância genética entre duas populações foi estimada segundo Nei (1978):

$$\hat{D} = \ln \hat{I}$$

Em que: I é o índice de identidade genética.

3) Estimativas dos parâmetros genéticos quantitativos com correções usando parâmetros estimados por microssatélites

Admitiu-se que as progênies foram geradas, em parte, por cruzamentos e, em parte, por autofecundação. Logo, eram constituídas por misturas de irmãos de autofecundação, meio-irmãos e irmãos completos. Admitiu-se também a não ocorrência de parentesco na geração parental e que a taxa de cruzamento e autofecundação foi homogênea para todas as árvores maternas.

A variância genética aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$) foi estimada como: $\hat{\sigma}_A^2 = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{r}_{xy}}$ sendo:

\hat{r}_{xy} obtido de acordo com a expressão $\hat{r}_{xy} = \frac{1}{4} (1 + \hat{f}_p) [4 \hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{s} \hat{t} \hat{r}_s) (1 + \hat{r}_p)]$

(Ritland, 1989) em que: \hat{r}_{xy} é o coeficiente de parentesco; \hat{f}_p é o coeficiente de endogamia da geração parental; \hat{s} é a taxa de autofecundação; \hat{t} é a taxa da cruzamento; \hat{r}_s é a correlação de autofecundação; e \hat{r}_p é a correlação de paternidade.

Também foram utilizados para comparação os parâmetros de herdabilidade: $(1+F) \cdot h^2$; $(1+\theta) \cdot h_m^2$ e $(1+f) \cdot h_d^2$;

sendo que: F = coeficiente de endogamia total; θ = coeficiente de coancestria; f = coeficiente de endogamia dentro da população; h^2 = herdabilidade no sentido restrito ao nível de plantas; h_m^2 = herdabilidade média de progênies; h_d^2 = herdabilidade dentro de progênies.

Extração do DNA

Foram coletadas folhas dos indivíduos das progênies para a extração do DNA, identificadas, etiquetadas, acondicionadas em sacos plásticos, colocadas em isopor com gelo e transportadas até o laboratório, sendo armazenadas à -20°C. As amostras foram tomadas de 5 indivíduos de cada uma das 20 progênies, totalizando 100 amostras.

A extração de DNA foi baseada em Brondani et al. (1998), da seguinte maneira:

- a) colocou-se 200 a 400 mg de tecido fresco para cada planta dentro de tubos de eppendorf realizando a respectiva identificação;
- b) limpou-se o moinho devidamente, iniciando a maceração do tecido vegetal, utilizando como tampão cerca de 1500 µl de CTAB divididos em duas dosagens de 750 µl;
- c) adicionou-se 2 µl de 2-mercaptaetanol, agitando e colocando posteriormente em banho-maria por 30 minutos a uma temperatura de 60 à 65°C;
- d) refrigerou-se o material na capela, adicionando 600 µl de clorofórmio e álcool isamílico na proporção de 24:1 respectivamente;
- e) agitou-se durante 5 minutos;
- f) centrifugou-se em microcentrífuga entre 12000 a 15000 rpm por 5 minutos;
- g) separou-se novos tubos e identificados para distinguir a fase líquida pipetando aproximadamente 500 µl da mesma e descartando a outra fase;
- h) adicionou-se 600 µl de isopropanol;
- i) armazenou-se em freezer por aproximadamente 30 minutos;
- j) centrifugou-se por 3 a 5 minutos com 6000 a 7500 rpm para formar o *pellet*;
- k) extraiu-se a parte líquida deixando somente o *pellet*;
- l) adicionou-se ao *pellet* 1 ml de etanol 70% permanecendo em repouso por 5 minutos (2 repetições);
- m) adicionou-se ao *pellet* 1 ml de etanol 95% e permanecendo em repouso por 3 minutos;
- n) garantiu-se que o *pellet* permanecendo no fundo do tubo, deixando-se secar por 50 minutos em papel toalha (com os tubos virados para baixo);
- o) adicionou-se RNase com tampão TE nos tubos, com os *pellets* secos;

- p) o material permaneceu em banho-maria à 37°C por 30 minutos;
- q) armazenou-se o DNA extraído em freezer à temperatura de -20°C, para posterior quantificação e demais procedimentos com os marcadores moleculares.

Quantificação do DNA

O DNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro do tipo GENEQUANT *pro* e sua concentração foi ajustada para 4 ng μl^{-1} , para a utilização na reação de polimerização em cadeia (PCR).

Amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dos locos microssatélites

A amplificação dos marcadores microssatélites foi realizada em placas para PCR de 96 poços, de modo que cada poço continha 15,54 μl da seguinte reação:

- 3,0 μl do DNA (5ng μl^{-1})
- 8,0 μl de água miliQ autoclavada
- 1,40 μl de tampão 10x (PCR *buffer* Gibco)
- 0,50 μl de MgCl_2 50mM
- 1,50 μl de dNTP
- 0,50 μl do *primer* F
- 0,50 μl do *primer* R
- 0,25 μl de *Taq DNA polymerase*

Para realizar a amplificação, foi utilizado o termociclador MJ Research PTC-100, programado nas seguintes condições: 96°C por 2 minutos, 33 ciclos de 94°C por 1 minuto, 56°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e, para finalizar a amplificação, 72°C durante 7 minutos.

Determinação dos “primers”

Os “primers” recomendados para *Eucalyptus* são os EMBRAs (*Eucalyptus* microssatélites do Brasil), de acordo com Brondani et al. (1998), por apresentar elevado polimorfismo.

Para a determinação dos “primers” foram realizados testes para escolher os que apresentassem melhores resultados e resolução nas condições empregadas como: tempo e temperatura de corrida, concentração e tipo do gel. Os testes iniciais visavam obter uma melhor separação dos alelos e também uma boa definição dos mesmos, para que pudessem ser utilizados para todas as amostras. Na Tabela 5 estão apresentadas as relações dos pares de “primers” testados.

Tabela 5. Relações dos pares de “primers” microssatélites testados

| “Primers” | Tamanho dos fragmentos * |
|-----------|--------------------------|
| EMBRA 02 | 121 |
| EMBRA 03 | 123 |
| EMBRA 04 | 64 |
| EMBRA 05 | 88 |
| EMBRA 06 | 98 |
| EMBRA 07 | 115 |
| EMBRA 10 | 95 |
| EMBRA 11 | 97 |
| EMBRA 12 | 98 |
| EMBRA 14 | 95 |
| EMBRA 18 | 87 |
| EMBRA 63 | 165 |
| EMBRA 72 | 100 |
| EMBRA 122 | 290 |
| EMBRA 172 | 110 |
| EMBRA 210 | 88 |

* Pares de “primers”

Eletroforese

- Preparo do gel:

O gel foi preparado utilizando-se 200 ml de TAE 1x e 6 g de agarose. A seguir foi colocado em forno microondas durante 6 minutos até completo cozimento. Em seguida o gel ainda quente (60-65 °C) foi depositado na cuba, postando-se os pentes na posição vertical e tendo-se o cuidado para que bolhas de ar não se formassem. Após secagem de 40 minutos os pentes foram retirados.

- Preparo das amostras que foram aplicadas no gel

Aos 15,54 µl da reação diluída da PCR (por poço) foi acrescentado 2,0 µl de tampão. No gel, além das amostras a serem caracterizadas molecularmente, foi colocado 8,0 µl do DNA padrão (ladder) para efeito de comparação.

- Tampão utilizado

O tampão utilizado para a realização da eletroforese foi o TAE 1x, na quantidade de 1L por cuba.

- Condições de corrida

As corridas foram realizadas, por 2 horas, a 120 V e 100-200 mA, em gel de 96 amostras, sempre à temperatura aproximada de 4°C.

f) Características fenológicas

Segundo a metodologia descrita por Luis e Fournier (1974), foram adotados os critérios apresentados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Características fenológicas observadas.

| CARACTERÍSTICA | ABREVIATURA |
|------------------|-------------|
| Gema Floral | GF. |
| Floração e Botão | Bot. |
| Frutos | F. |

Através da escala apresentada na Tabela 7 foi possível avaliar o estado fenológico dos indivíduos que apresentaram as características fenológicas mencionadas.

Tabela 7. Notas atribuídas a cada característica observada em porcentagem.

| NOTA | DESCRIÇÃO |
|------|---|
| 1 | Ausência do fenômeno observado. |
| 2 | Presença do fenômeno com uma magnitude entre 1 - 25%. |
| 3 | Presença do fenômeno com uma magnitude entre 26 - 50%. |
| 4 | Presença do fenômeno com uma magnitude entre 51 - 75%. |
| 5 | Presença do fenômeno com uma magnitude entre 76 - 100%. |

g) Análises Estatísticas

As análises estatísticas do estudo foram realizadas a partir do *software* estatístico SAS em que as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Alterações morfológicas em função da utilização do biorregulador

As alterações morfológicas promovidas pelo biorregulador de crescimento paclobutrazol sobre cada indivíduo das progênes, apresentaram-se de formas variadas.

Por ser o produto um inibidor no processo de formação de giberelinas (GAs), a ação sobre possíveis alterações morfológicas na espécie estudada era esperada, uma vez que o produto atua sobre hormônios ligados ao desenvolvimento vegetativo (Figura 7).

De acordo com Castro (2007), a redução na concentração de giberelinas em tecidos jovens, provocada pelo paclobutrazol, afeta a alongação das células e, em menor grau a divisão celular, conseqüentemente, o efeito morfológico sobre a planta é a redução do crescimento vegetativo.



Figura 7. Testemunha e indivíduos da progênie 20 com porte reduzido, sob efeito do biorregulador de crescimento paclobutrazol.

As mudanças morfológicas tornaram-se inicialmente nítidas a partir dos primeiros 30 dias após a aplicação do biorregulador. A Figura 8 mostra as primeiras modificações que ocorreram nas folhas das progênes.



Figura 8. Folha de *Eucalyptus grandis* modificadas pelo efeito do biorregulador paclobutrazol (A) e folha do tratamento testemunha (B).

Entretanto, é importante salientar que em alguns indivíduos das progênies ocorreram efeito tóxico, devido ao efeito residual do produto aplicado no solo, promovendo folhas com as bordas queimadas (Figuras 9), como já observado por Tambarussi et al. (2005) e Moraes et al. (2004).

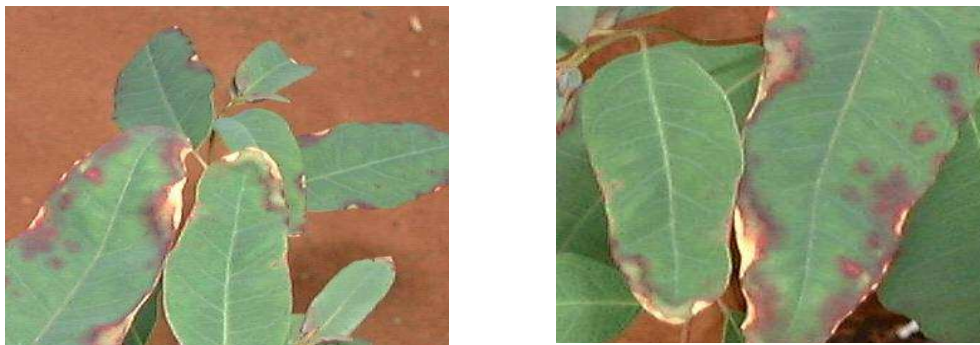


Figura 9. Folhas de *Eucalyptus grandis* mostrando efeito tóxico do biorregulador paclobutrazol.

Segundo Auras (1997), as alterações nas folhas ocorrem porque foram afetados os processos que regulam o crescimento foliar, pois é possível que as giberelinas possuam participação ativa na morfogênese das folhas, visto que o paclobutrazol atua na formação da giberelina.

A aplicação de paclobutrazol em clones híbridos de *Eucalyptus gunnii* x *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus gunnii* x *Eucalyptus dalrympleana* proporciona a redução da área foliar superficial, atuando, tanto no comprimento como na largura das folhas (Cauvin, 1991).

As modificações provocadas pelo biorregulador foram consideradas intensas para a progênie 20, proporcionando nestes materiais genéticos inibição do crescimento em altura (Figura 7), ressecamento das folhas terminais e limbos das folhas maduras mais coriáceos, semelhantes aos obtidos nos estudos realizados por Baptista (2000) e Pinto et al. (2007). O caule apresentou-se semelhante aos de árvores em estágio maduro, entrenós com coloração verde mais intensa e desenvolvimento de brotações ao longo do tronco (Figuras 10 e 11).



Figura 10. À esquerda, entrenós com coloração verde intensa e, à direita, indivíduo com desenvolvimento de brotações ao longo do tronco.



Figura 11. Caule morfologicamente semelhante à de indivíduos adultos de *Eucalyptus grandis*.

Crescimento em altura e diâmetro do colo

Conforme a Figura 12 e Tabela 8 do anexo, as avaliações para a altura (cm) foram realizadas aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Verificou-se a influência do paclobutrazol sobre o crescimento em altura das plantas, sendo que as progênies 20, 11, 10 e 3 foram as que mais responderam ao produto, com médias de altura de 65,14, 69,82, 73,36 e 76,30 cm, respectivamente.

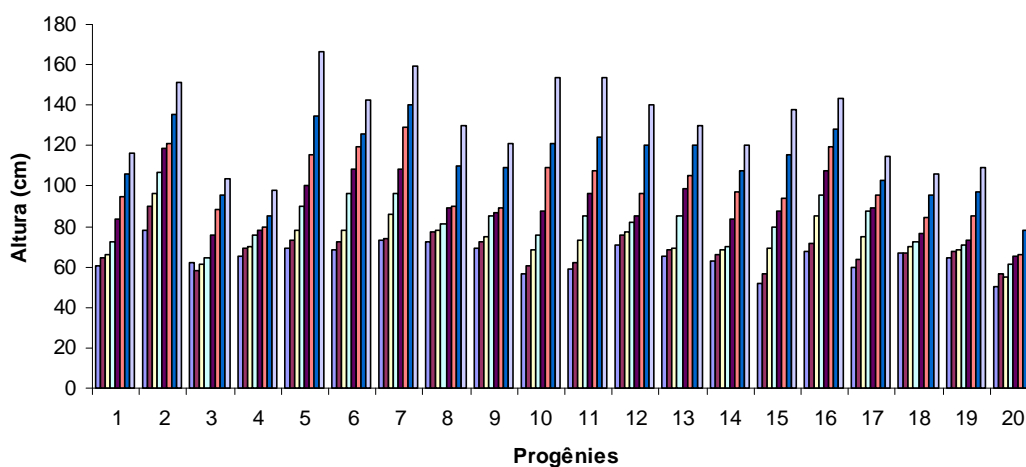


Figura 12. Médias das avaliações de altura (cm) em progênies de *Eucalyptus grandis* sob efeito da aplicação do birregulador paclobutrazol aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Após o aparecimento dos primeiros sintomas nas folhas, as mudas foram transplantadas para vasos de 50L. É importante salientar que o transplante, permite o crescimento vegetativo dos indivíduos promovido pelo meio bifásico (meio sem paclobutrazol / com paclobutrazol após transplante para vasos de 50L), onde o sistema radicular das mudas crescesse em meio ausente de paclobutrazol (Figura 13). Esta prática diminui a ação do produto, minimizando o risco de aborto de gemas florais.



Figura 13. À esquerda aplicação do biorregulador em sacos de 5L e à direita meio bifásico representando em vaso de 50L.

Moraes et al. (2004) mostraram em seu estudo com a espécie *Eucalyptus grandis*, sob a aplicação do biorregulador paclobutrazol, uma redução de 68,14% em altura de planta quando comparadas com as testemunhas. Em outro estudo com espécies florestais *Hymenaea courbaril* (Jatobá) e *Peltophorum dubium* (Canafístula), também observou-se redução de 38,22% e 72,09%, respectivamente, para altura de planta de jatobá e canafístula (Tambarussi et al., 2005).

Segundo Grossmann (1992), quando o biorregulador de crescimento é utilizado em concentrações apropriadas, há alterações morfológicas nas plantas, sendo uma delas a redução na altura.

Griffin et al. (1993) aplicando paclobutrazol em árvores de *Eucalyptus nitens* com dois anos de idade, constataram redução do crescimento em altura das plantas após 6 meses de tratamento. Quando o biorregulador de crescimento foi aplicado parcelado, via foliar, em mudas de *Eucalyptus globulus*, foi mais efetivo em diminuir o crescimento em altura quando comparado à aplicação única na mesma dosagem (Hetherington e Jones, 1990).

O tratamento testemunha apresentou média de 48,9% superior em altura as progênes com a aplicação do biorregulador, conforme apresentado na Figura 14, mostrando a eficiência do produto na redução do crescimento vegetativo de plantas.

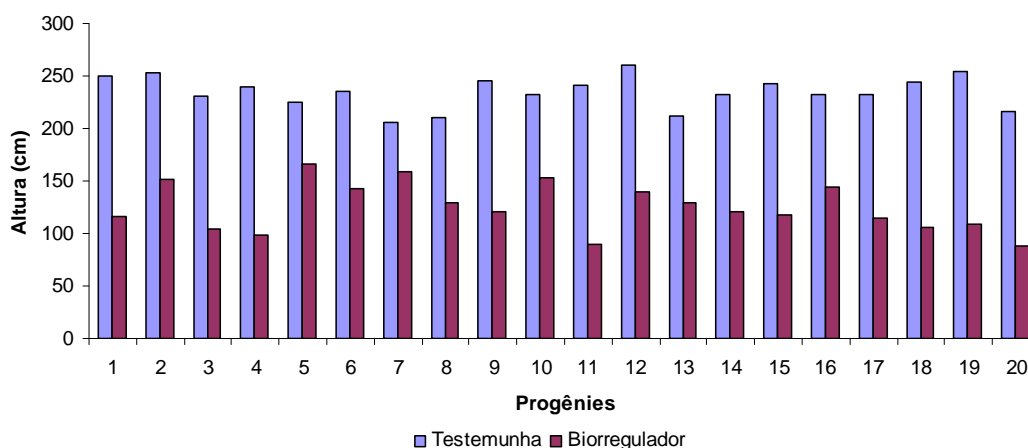


Figura 14. Médias da última avaliação de altura (cm) em progênie de *Eucalyptus grandis*, aos 21 meses, sob efeito do biorregulador paclobutrazol e o tratamento testemunha.

As médias de diâmetro do colo, para as avaliações realizadas, mostraram que o biorregulador não promoveu redução do crescimento em diâmetro das plantas (Figura 15) e Tabela 9 do anexo.

O desenvolvimento foi crescente ao longo das avaliações, mesmo para os tratamentos com aplicação de paclobutrazol. Resultados estes, que estão de acordo com os resultados obtidos por Moraes et al. (2004) e Tambarussi et al. (2005), que estudando a mesma espécie comprovaram que o paclobutrazol é mais efetivo na diminuição do desenvolvimento em altura do que no diâmetro em *Eucalyptus*.

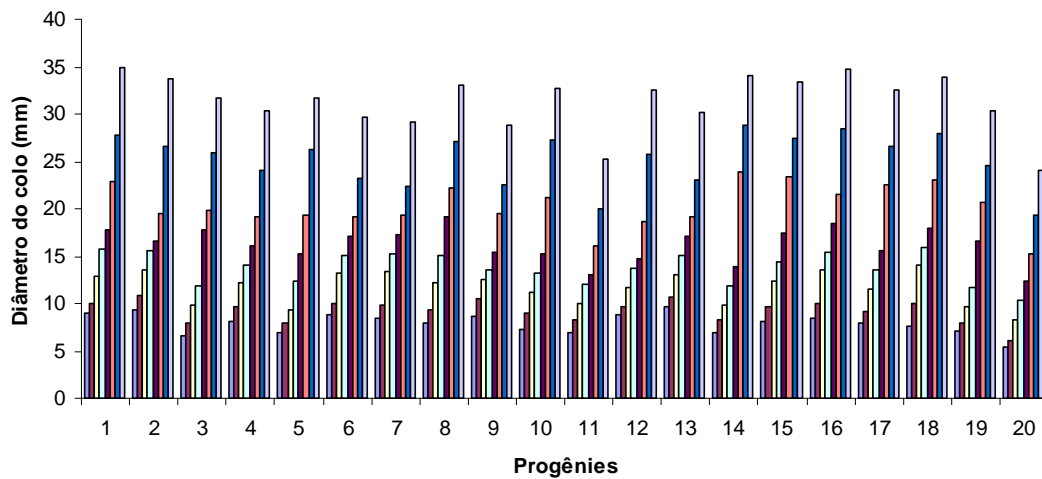


Figura 15. Médias das avaliações de diâmetro (mm) em progênes de *Eucalyptus grandis*, sob o efeito do paclobutrazol, aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Em estudos realizados com clones de *Eucalyptus*, Baptista (2000) observou redução dessa característica, diferentemente dos encontrados, neste estudo, como pode ser observado na Figura 16.

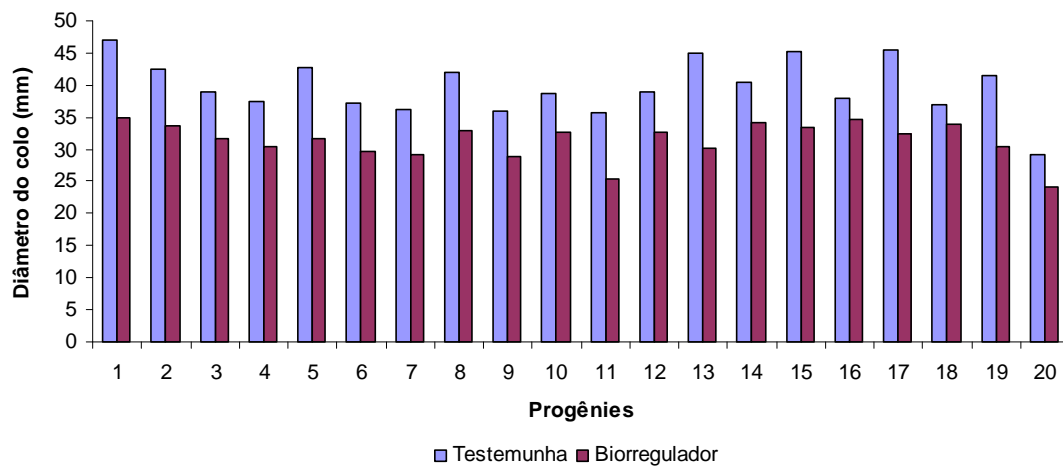


Figura 16. Médias da última avaliação de diâmetro (mm) em progênes de *Eucalyptus grandis*, aos 21 meses, sob o efeito do biorregulador paclobutrazol e o tratamento testemunha.

Comprimento dos ramos

As plantas tratadas com paclobutrazol aos 12, 14 e 16 meses, de modo geral, formaram ramos de menor comprimento, quando comparados com a testemunha, mas essa redução não ocorreu de maneira significativa em todas as progênes estudadas (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios de comprimento dos ramos (cm) das progênes de *Eucalyptus grandis* aos 12, 14 e 16 meses, sob efeito do biorregulador paclobutrazol.

| Progênes | 12 meses | | 14 meses | | 16 meses | |
|---------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | PBZ | T | PBZ | T | PBZ | T |
| 1 | 20,55 | 34,67 | 31,92 | 62,73 | 36,30 | 66,47 |
| 2 | 20,01 | 30,13 | 35,69 | 56,93 | 37,26 | 61,67 |
| 3 | 20,85 | 30,13 | 36,31 | 90,67 | 37,33 | 95,80 |
| 4 | 20,07 | 28,40 | 31,63 | 63,07 | 35,85 | 66,20 |
| 5 | 14,61 | 26,00 | 24,96 | 53,47 | 25,53 | 57,33 |
| 6 | 23,88 | 31,33 | 42,73 | 53,60 | 46,35 | 58,13 |
| 7 | 23,55 | 28,67 | 40,30 | 57,40 | 47,69 | 63,00 |
| 8 | 22,16 | 31,60 | 38,05 | 51,22 | 41,99 | 59,80 |
| 9 | 28,47 | 33,40 | 43,45 | 57,33 | 48,49 | 65,53 |
| 10 | 18,90 | 35,13 | 33,24 | 55,27 | 40,56 | 57,60 |
| 11 | 24,88 | 38,53 | 36,36 | 66,67 | 40,73 | 71,73 |
| 12 | 22,97 | 32,13 | 38,87 | 46,53 | 43,76 | 55,53 |
| 13 | 23,02 | 34,13 | 32,32 | 59,53 | 37,23 | 61,93 |
| 14 | 15,16 | 28,00 | 28,41 | 69,53 | 31,22 | 72,47 |
| 15 | 22,28 | 33,20 | 39,66 | 59,27 | 43,68 | 64,40 |
| 16 | 27,36 | 43,93 | 48,75 | 56,27 | 52,87 | 58,67 |
| 17 | 26,83 | 31,67 | 39,48 | 67,93 | 41,49 | 73,67 |
| 18 | 25,48 | 32,20 | 47,17 | 61,73 | 51,20 | 64,53 |
| 19 | 15,81 | 27,90 | 26,05 | 66,90 | 25,55 | 68,80 |
| 20 | 24,02 | 35,60 | 38,56 | 71,07 | 43,19 | 74,47 |
| Médias | 22,04 | 32,34 | 36,7 | 61,36 | 40,41 | 65,89 |

PBZ = Paclobutrazol; T = Testemunha.

Observou-se que, ao longo das avaliações, houve uma tendência na redução do comprimento do ramo, onde na média, as plantas tratadas com paclobutrazol apresentaram uma redução de 37% no comprimento, em relação à testemunha.

Entre as progênies estudadas não foram observadas diferenças significativas para comprimento de ramos. No entanto, observou-se que a progênie 5 apresentou os menores valores (25,53 cm) para essa característica e a progênie 16 os maiores valores (52,87 cm), aos 16 meses de idade.

Atividade de peroxidase

A ação do biorregulador resultou em níveis variados para a atividade de peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$), com tendências ao amadurecimento precoce, como observado por Tambarussi et al. (2005) e Moraes et al. (2004) para o *Eucalyptus grandis* (Figura 17 e Tabela 11 do anexo).

A peroxidase utiliza o peróxido de hidrogênio para oxidar uma grande variedade de substâncias doadoras de hidrogênio, tais como fenóis, grupos com anéis aromáticos, diaminas, ácido ascórbico, aminoácidos e alguns íons inorgânicos (Kirsten et al., 2003).

Esse sistema enzimático tem sido usado como modelo para estudar o controle hormonal e os processos de crescimento nas plantas (Denna e Alexander, 1975). Pode também estar relacionado com as fosfatases ácidas e ao processo de envelhecimento (Wilson e Mc Donald Jr., 1986; Vieira e Carvalho, 1994).

Moraes et al. (2004), estudando o *Eucalyptus grandis*, observaram alterações na atividade de peroxidase, mostrando tendências para o amadurecimento precoce do tecidos vegetais semelhantes aos de plantas adultas e produção de peroxidase atuando diretamente no desenvolvimento vegetativo.

Camargo et al. (2000) observaram um aumento na atividade dessa enzima acompanhando o aumento no tempo de armazenamento de sementes de *Eucalyptus grandis*, sendo maior para as sementes que sofreram envelhecimento artificial. Esse fato

pode ser explicado pela oxidação imediata das substâncias tóxicas, principalmente fenóis, acumulados no processo de deterioração.

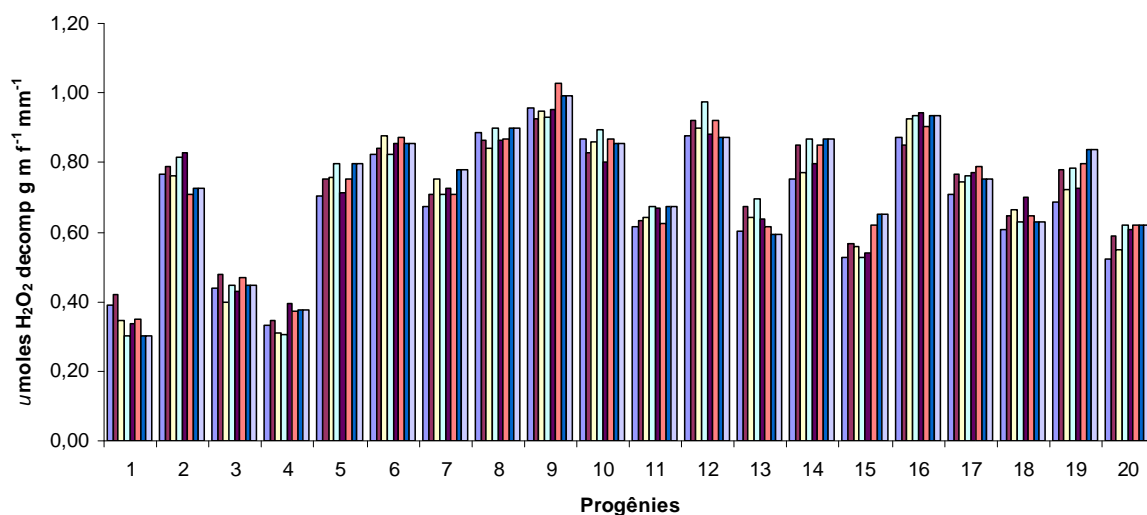


Figura 17. Médias de determinação da atividade de peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$) em progênes de *Eucalyptus grandis*, sob efeito do paclobutrazol, aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Das 20 progênes estudadas as que apresentaram as maiores médias para a determinação de atividade de peroxidase foram as progênes 9, 12 e 16 (respectivamente, 0,97, 0,90 e 0,91 $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$) e as menores médias foram para as progênes 1, 3 e 4 (respectivamente, 0,34, 0,44 e 0,35 $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Das progênes que desenvolveram botões florais (progênes 8, 10 e 16), todas apresentaram alta atividade da enzima peroxidase.

Segundo Denna e Alexander (1975), a produção de peroxidase pelas plantas é inversamente proporcional ao seu crescimento; já neste estudo, tal relação não foi observada. Com o crescimento das mudas em altura houve também aumento da atividade de peroxidase como pode ser observado para as progênes 2, 5, 12 e 14.

Segundo Baptista (2000) o estresse desencadeia reações bioquímicas na planta, que causam elevações do nível de determinadas substâncias, via alterações metabólicas e, portanto, ocorrendo mudanças fisiológicas que podem ter como consequência a iniciação floral, em determinadas espécies.

Trabalhos recentes reportam que o estresse ambiental associado aos biorreguladores pode auxiliar no desenvolvimento de botões florais e, a enzima peroxidase seria o principal marcador bioquímico para estudar o acompanhamento deste processo.

Segundo Lima et al. (1999) e Camargo et al. (2000), a enzima peroxidase mostrou-se satisfatória para indicar alterações bioquímicas para o amadurecimento dos tecidos vegetais como observado neste estudo.

Adubação química

Estudos de adubação e nutrição florestal têm papel importante na descoberta de exigências nutricionais dos materiais genéticos para o desenvolvimento reprodutivo (Williams et al., 2003).

Neste estudo, para o experimento 2 foi avaliada a associação do biorregulador e da adubação química, aos 10 meses, não sendo verificado efeitos entre o biorregulador e as doses de boro e fósforo.

Pelas análises das Tabelas 12, 13, 14, 15, 16 e 17 do anexo verifica-se a diferença de médias de amostras de análise química do solo aos 10 meses com as progênies testadas. Apesar de que a análise de solo realizada mostrou, na maioria dos casos, padrões adequados de nutrientes, estes não auxiliaram no processo reprodutivo das

progênies, pois a testemunha apresentou resultados semelhantes, observados visualmente.

Graça et al. (1986), estudando a influência de biorreguladores de crescimento e da adubação química sobre o florescimento e crescimento de *Eucalyptus dunnii*, de cinco anos de idade, não verificaram influência no florescimento pelos tratamentos empregados.

Os teores de boro (Tabela 18) encontrados nas folhas apresentaram-se dentro da faixa considerada adequada por Dell et al. (1995), que estudaram o desenvolvimento de *Eucalyptus*. O boro é um elemento importante para o desenvolvimento do tubo polínico e estabelecimento da fecundação, sendo que o fornecimento deste elemento deve ser via foliar com 2% de boro antes da fecundação, mais 10% de cálcio (Medina, 2007).

Tabela 18. Médias de amostras de análise química (boro, fósforo e cálcio) de folha, aos 10 meses, em vaso, com as 20 progênies de *Eucalyptus grandis* sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 -1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55, P 08 g vaso⁻¹) e Testemunha (T).

| Progênies | Boro (mg dm ⁻³) | | | Fósforo (mmol dm ⁻³) | | | Cálcio (mmol dm ⁻³) | | |
|-----------------|-----------------------------|--------------|-------------|----------------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|--------------|-------------|
| | T1 | T2 | T | T1 | T2 | T | T1 | T2 | T |
| 1 | 0,93d | 1,12abcd | 0,87 | 1,94abc | 2,10a | 1,74 | 10,88abc | 11,88abc | 10,00 |
| 2 | 1,11abcd | 1,21abcd | 1,01 | 1,93abc | 1,73abc | 1,63 | 13,11a | 14,11a | 12,11 |
| 3 | 1,30ab | 0,98bcd | 1,10 | 1,99ab | 1,98ab | 1,57 | 12,33b | 12,30b | 11,33 |
| 4 | 0,98bcd | 1,30ab | 0,88 | 1,77abc | 1,79abc | 1,77 | 9,11cb | 8,61abc | 9,00 |
| 5 | 0,96dc | 1,12abdc | 0,95 | 1,73abc | 1,70abc | 1,75 | 7,77d | 7,70b | 7,10 |
| 6 | 1,21abcd | 1,37a | 1,01 | 2,11a | 1,91ab | 2,10 | 8,77abc | 8,87abc | 8,50 |
| 7 | 0,94d | 1,10abcd | 0,92 | 1,57c | 1,67cb | 1,57 | 9,44cb | 10,44abc | 9,14 |
| 8 | 1,12abcd | 1,10abcd | 1,10 | 1,77abc | 1,87c | 1,77 | 9,33abc | 9,53abc | 9,00 |
| 9 | 1,37a | 1,28abc | 1,17 | 1,63cb | 1,60abc | 1,63 | 9,22dc | 9,12dc | 9,12 |
| 10 | 1,28abc | 1,26abc | 1,08 | 1,56c | 1,76c | 1,56 | 8,88dc | 8,80dc | 8,08 |
| 11 | 0,93d | 1,13abcd | 0,90 | 1,84abc | 1,94ab | 1,80 | 10,08abc | 11,08abc | 9,08 |
| 12 | 1,20ab | 1,29ab | 1,10 | 1,76abc | 1,76abc | 1,76 | 13,09a | 14,09a | 13,29 |
| 13 | 1,36a | 1,16abcd | 1,06 | 1,98 ab | 1,88abc | 1,98 | 12,24ab | 12,34ab | 12,24 |
| 14 | 1,10abcd | 1,11abcd | 1,00 | 1,76abc | 1,96bc | 1,70 | 9,11cd | 9,00cd | 9,11 |
| 15 | 1,20abdc | 1,22abcd | 1,00 | 1,73abc | 1,83abc | 1,53 | 7, 79d | 7,19d | 7,79 |
| 16 | 0,97bcd | 1,17ab | 0,87 | 2,01a | 2,21a | 2,00 | 8,70abc | 8,00abc | 9,70 |
| 17 | 0,92d | 0,96bcd | 0,82 | 1,56c | 1,66bc | 1,56 | 9,42abc | 9,41abc | 9,12 |
| 18 | 0,96bcd | 0,96bcd | 0,95 | 1,67bc | 1,97ab | 1,67 | 9,23abc | 9,25abc | 7,23 |
| 19 | 1,27abc | 1,37a | 1,17 | 1,62bc | 1,68bc | 1,62 | 9,10dc | 9,19dc | 8,10 |
| 20 | 0,95dc | 1,15abcd | 0,93 | 1,57c | 1,77abc | 1,57 | 8,78dc | 8,68dc | 8,08 |
| Médias | 1,11 | 1,17 | 0,99 | 1,78 | 1,84 | 1,71 | 9,82 | 9,76 | 9,36 |
| CV exp % | 18,91 | 20,13 | | 13,87 | 14,71 | | 20,03 | 19,09 | |

CV_{exp.}% = Coeficiente de Variação Experimental

Como estes elementos são imóveis ou pouco móveis na planta (Filho, 2006) e principalmente porque a estrutura para condução destes elementos no ápice dos ramos onde se formam os botões florais não se encontra desenvolvida, há dificuldade do desenvolvimento do tubo polínico e conseqüentemente da fecundação e formação dos frutos e sementes. Esta deve ter sido a principal razão do boro não ter influenciado na floração.

Segundo Dickinson (1978) e Lin et al. (2003), a presença de boro garante a fecundação, a germinação do grão de pólen e o crescimento do tubo polínico devido a formação da parede de crescimento do tubo, utilizando a polimerização de açúcares.

Segundo Yamada (2000), o boro participa de uma série de processos fisiológicos dentro da planta. Entre as funções, duas estão muito bem definidas: síntese da parede celular e integridade das membranas plasmáticas. Assim, na sua deficiência não há o crescimento de novas raízes e nem de novas brotações, sendo esta última importante para o aparecimento de ramos novos onde se formarão os botões florais. A sua deficiência prejudica o crescimento reprodutivo com a perda na inibição da desativação da calose, conseqüentemente inibição do crescimento dos tubos polínicos e menor produção de sementes.

Como se observa nas Figuras 18 e 19 e na Tabela 18, a testemunha sempre foi semelhantes aos demais tratamentos. A partir da análise foliar observou-se níveis aceitáveis de boro e fósforo, para o *Eucalyptus grandis*, nas dosagens testadas.

As progênies que tiveram maiores valores em médias para teores de boro nas folhas para o tratamento 1, foram 3, 9 e a 13, com valores em teores de boro de 1,30, 1,37 e 1,36 mg dm⁻³, respectivamente, e para o tratamento 2 foi a progênie 6 com 1,37 mg dm⁻³ apresentando sempre resultados superiores à testemunha. Para o fósforo também não foi observado nenhuma associação com o florescimento neste estudo.

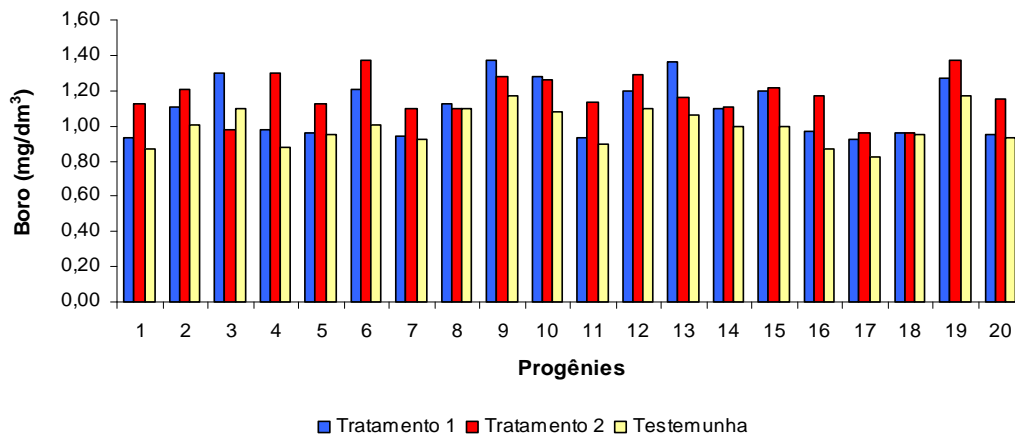


Figura 18. Médias de análise foliar de boro, em progênie de *Eucalyptus grandis*, sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 - 1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55,08 P g vaso⁻¹) e Testemunha (T), aos 10 meses.

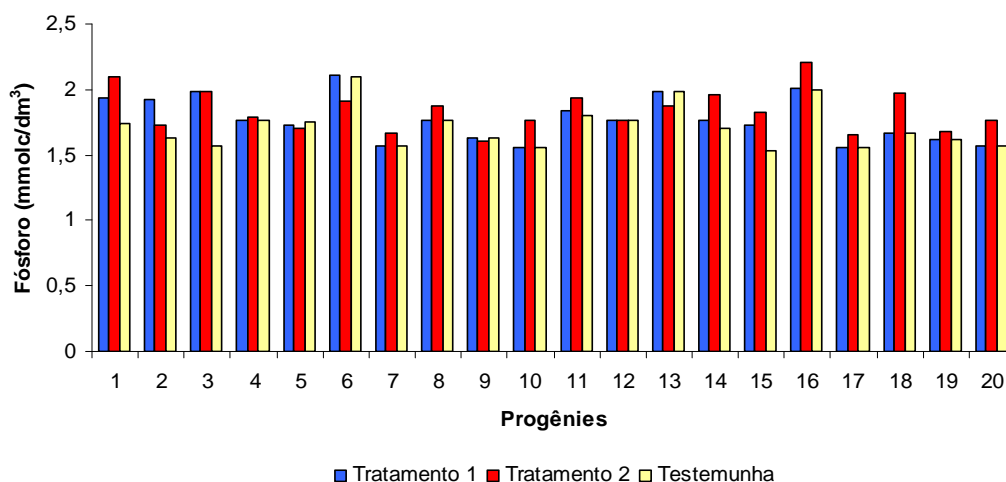


Figura 19. Médias de análise foliar de fósforo, em progênie de *Eucalyptus grandis*, sob aplicação do biorregulador paclobutrazol e adubação química do Tratamento 1 (T1 - 1,20 B g vaso⁻¹ + 27,54 P g vaso⁻¹), Tratamento 2 (T2 - 3,60 B g vaso⁻¹ + 55,08 P g vaso⁻¹) e Testemunha (T), aos 10 meses.

Segundo Grant et al. (2001), apesar do fósforo ser importante nas fases iniciais do desenvolvimento da cultura, é necessário que seu fornecimento continue também nas fases posteriores. Em estudos realizados com outras culturas (trigo, feijão e soja) observou-se que apenas 45% do fósforo total da parte aérea é absorvido até o

florescimento. À medida que a planta se desenvolve, o fósforo é removido das folhas e caules e direcionado para o desenvolvimento reprodutivo (Malavolta, 1997).

Teores de clorofila

As avaliações dos teores de clorofila (CM) para as 20 progênes com o biorregulador paclobutrazol foram realizadas aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses e apresentaram pouca variação durante o estudo (Figura 20 e Tabela 19 do anexo). Moraes et al. (2004) e Tambarussi et al. (2005) mostraram que com a diminuição do porte das plantas, ocorre também uma diminuição na área foliar, aumentando as concentrações de clorofila nas folhas.

Das progênes estudadas, a que apresentou os teores de clorofila mais elevado foi para a progênie 16 (307,00 CM) e o mais reduzido foi para a progênie 5 (236,70 CM), sendo que nenhuma progênie apresentou-se diferentemente da testemunha como pode ser observado na (Tabela do anexo 19).

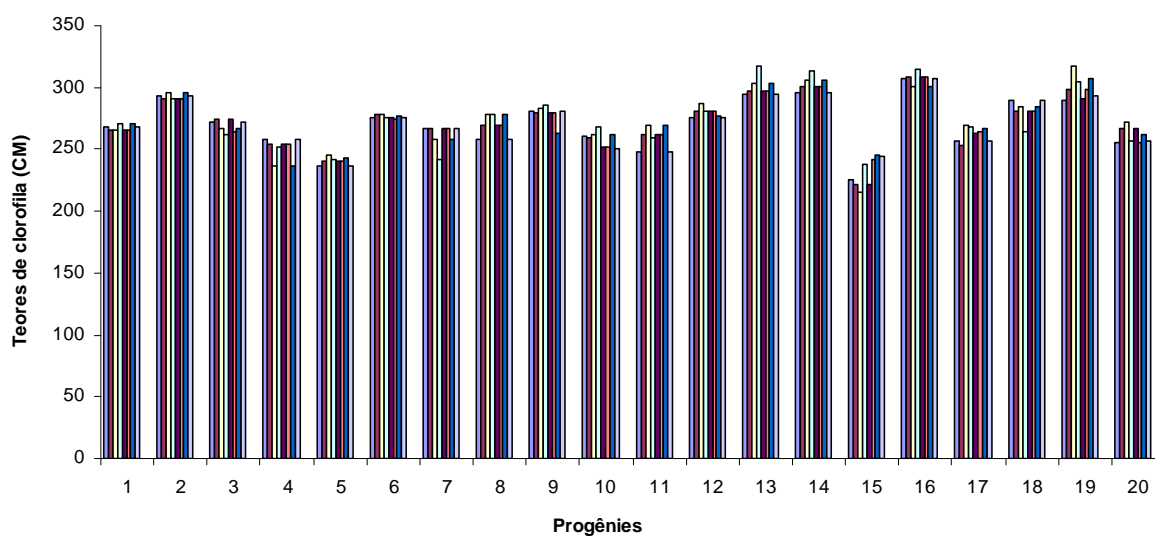


Figura 20. Médias de 8 avaliações de teores de clorofila (CM) em progênes de *Eucalyptus grandis* sob o efeito da aplicação do biorregulador paclobutrazol aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses.

Mesmo não quantificando o teor de nitrogênio (N) dos indivíduos das 20 progênies, a avaliação visual associada com as determinações dos teores de clorofila mostrou níveis adequados de nitrogênio.

Provavelmente, o nitrogênio disponível e mineralizável pelo solo, no plantio e no transplante das mudas para os vasos de 50L, foi suficiente para atender à demanda de nitrogênio pelos indivíduos de eucaliptos ao longo do período de condução do estudo.

Várias pesquisas têm mostrado que a medida do clorofilômetro correlaciona-se também com o teor de clorofila em várias culturas (Azia e Stewart, 2001). Como o nitrogênio total está associado a enzimas presentes nos cloroplastos, geralmente correlaciona-se bem também com o teor de nitrogênio na folha (Shaahan et al., 1999).

Segundo Godoy et al. (2003), a utilização do clorofilômetro pode ser uma ferramenta a mais para determinar a aplicação de nitrogênio na época adequada, para não restringir a fase de desenvolvimento vegetativo e principalmente a fase reprodutiva, onde o vegetal mais precisa de nutrientes.

Estimativas dos Parâmetros Genéticos

As estimativas médias das 8 avaliações realizadas para os parâmetros genéticos são apresentadas na Tabela 20 e, individualmente para cada uma das avaliações nas Tabelas 21 à 27.

Os parâmetros genéticos estimados nas progênies sob o efeito de paclobutrazol foram próximos aos descritos na literatura, para as características altura de planta e DAP (em crescimento no campo), sem os efeitos do produto (Pereira et al., 1997; Paula et al., 2002; Rocha et al., 2006).

Paula et al. (2003), estudando o controle genético da eficiência de utilização de fósforo em 18 progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis*, em casa de

vegetação, obteve coeficiente de variação experimental de 16,62% para a característica altura de planta, semelhante ao encontrado neste estudo.

Os coeficientes de variação experimental ($CV_{exp.}$) foram baixos para todas as características analisadas, exceto para a altura (16,31%) que apresentou-se alto. Os baixos valores do coeficiente de variação experimental indicam boa precisão do método utilizado nas avaliações das características analisadas, de acordo com Kageyama et al. (1977). O coeficiente médio de variação genética dentro (CV_d) foi de 9,58% para o diâmetro de colo e de 20,54% para a altura e o coeficiente médio de variação genética (CV_g) foi de 10,66% para diâmetro e de 11,64% para altura.

Rocha et al. (2006), estudando progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis* encontraram valores para o coeficiente de variação dentro (CV_d), para o DAP e altura iguais a 21,88 % e 12,48 %, respectivamente, diferentemente do obtido neste estudo, onde a altura apresentou maior coeficiente de variação dentro (CV_d) do que a característica diâmetro de colo (Tabela 20).

Tabela 20. Médias de 8 avaliações para estimativas dos valores de variâncias (σ^2), coeficientes de variação (CV%) e das herdabilidades no sentido restrito das características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teor indireto de clorofila e peroxidase.

| Parâmetros | Altura | Diâmetro | Clorofila | Peroxidase |
|------------------------|--------|----------|-----------|------------|
| $\hat{\sigma}_d^2$ | 142,16 | 4,38 | 773,49 | 303,39 |
| $\hat{\sigma}_e^2$ | 7,75 | 2,66 | 303,63 | 324,75 |
| $\hat{\sigma}_p^2$ | 64,06 | 15,41 | 301,37 | 4,27 |
| $\hat{\sigma}_A^2$ | 298,79 | 0,16 | 1154,29 | 824,28 |
| CV _{exp.} (%) | 16,31 | 6,34 | 9,24 | 11,85 |
| CV _{d.} (%) | 20,54 | 9,58 | 11,18 | 11,71 |
| CV _{g.} (%) | 11,64 | 10,66 | 6,43 | 7,94 |
| \hat{h}^2 | 0,62 | 0,43 | 0,32 | 0,27 |
| \hat{h}_m^2 | 0,86 | 0,51 | 0,46 | 0,29 |
| \hat{h}_d^2 | 0,19 | 0,04 | 0,06 | 0,1 |

$\hat{\sigma}_d^2$ = variância fenotípica dentro; $\hat{\sigma}_e^2$ = variância ambiental; $\hat{\sigma}_p^2$ = variância genética entre progênies; $\hat{\sigma}_A^2$ = variância genética aditiva; CV_{exp.} (%) = coeficiente de variação experimental; CV_{d.} (%) = coeficiente de variação dentro de progênies; CV_{g.} (%) = coeficiente de variação genética; \hat{h}^2 = herdabilidade no sentido restrito ao nível de plantas individuais; \hat{h}_m^2 = herdabilidade média de progênies e \hat{h}_d^2 = herdabilidade dentro de progênies de meios irmãos.

As herdabilidades (\hat{h}^2 , \hat{h}_m^2 e \hat{h}_d^2) observadas para altura e diâmetro de colo, foram elevadas nas primeiras avaliações e foram diminuindo ao longo do tempo, tendendo a estabilizar-se.

A herdabilidade média de progênies (\hat{h}_m^2) para as características altura, diâmetro de colo, clorofila e peroxidase tiveram valores de 0,86, 0,51, 0,46 e 0,29, respectivamente.

Paula et al. (2002), estudando progênies de meios irmãos de *Eucalyptus camaldulensis*, encontraram valores de \hat{h}_m^2 iguais a 0,60 e 0,61 para altura e DAP

(diâmetro à altura do peito), respectivamente. Martins et al. (2001), em seus estudos envolvendo progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis*, encontraram valores para herdabilidade média de progênies (\hat{h}_m^2), para altura e DAP iguais a 0,68 e 0,69, respectivamente, sendo estes valores abaixo dos encontrados nesta pesquisa para as características diâmetro de colo e altura das plantas tratadas com o biorregulador paclobutrazol, em vaso.

Na Tabela 28 são apresentadas as médias (para diferentes idades) para as estimativas de herdabilidade no sentido restrito para as características de crescimento em progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis* obtidas nesta pesquisa e nas de Castro (1992) e Rezende (2001).

Tabela 28. Estimativa de herdabilidade em relação às médias de progênies, para as características de crescimento em progênies de meios irmãos de *Eucalyptus grandis*, obtidas no Brasil.

| Espécie | Presente trabalho (2007) | | | Castro (1992) | | | Rezende (2001) | | |
|-------------------|--------------------------|----------|-------------|---------------|----------|-------------|----------------|----------|-------------|
| | Altura | Diâmetro | Idade meses | Altura | Diâmetro | Idade meses | Altura | Diâmetro | Idade meses |
| <i>E. grandis</i> | 0,60 | 0,40 | 7 | 0,37 | - | 6 | - | - | - |
| | 0,60 | 0,50 | 9 | - | - | - | - | - | - |
| | 0,67 | 0,40 | 11 | - | - | - | - | - | - |
| | 0,65 | 0,45 | 13 | 0,61 | 0,64 | 12 | 0,11 | 0,08 | 12 |
| | 0,60 | 0,43 | 15 | - | - | - | - | - | - |
| | 0,64 | 0,40 | 17 | - | - | - | - | - | - |
| | 0,62 | 0,45 | 19 | 0,43 | 0,75 | 18 | - | - | - |
| | 0,58 | 0,42 | 21 | 0,50 | 0,35 | 24 | 0,26 | 0,15 | 24 |

Como pode-se observar (Tabela 28), há uma grande variação entre os resultados encontrados por Rezende (2001), e Castro (1992) e a presente pesquisa, variações estas que podem ser atribuídas a efeitos ambientais, peculiares a cada região onde foram instalados os experimentos, além dos diferentes procedimentos de implantação e avaliação dos testes (campo e vaso).

Parâmetros Moleculares

Foram testados 16 “primers” microssatélites para o estudo, desenvolvido por Brondani et al. (1998), para trabalhos de avaliação molecular nas espécies do gênero *Eucalyptus*. Após os testes foram selecionados 8 “primers” que apresentaram-se polimórficos (50%). Dos demais, 2 apresentaram-se monomórficos (12,5%) e os demais 6, 4 não amplificaram (25%) e 2 apresentaram muitas bandas não específicas (12,5%). O número de alelos encontrados utilizando os 8 pares de “primers” para as progênies de *Eucalyptus grandis* foi de 70 alelos com média de 8,5.

Os parâmetros moleculares foram estimados com o auxílio do programa computacional TFGA (*Tools for Population Genetic Analyses* – Miller, 1997). Na Tabela 29 são apresentados os resultados dos dados moleculares para cada progênie e a média aritmética para a população (considerando-se as 20 progênies).

A heterozigosidade esperada (H_e), determinada a partir da heterozigosidade observada (H_o), variou de 0,4229 a 0,7133, sendo a média da população igual a 0,6446, e a média de heterozigosidade observada (H_o) para a população média de 0,5187. Esta diferença entre as heterozigosidades mostra que existe uma elevada quantidade de genótipos homozigotos que se esperaria em uma população em panmixia perfeita; cruzamentos endogâmicos devem estar ocorrendo.

De acordo com Nei (1987), vários são os fatores que podem levar a um valor de F diferente de zero, sendo que a endogamia, os cruzamentos preferenciais, a subdivisão populacional e a seleção seriam os mais importantes.

Tabela 29. Heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o), coeficiente de endogamia (f) e taxa aparente de cruzamento (t).

| Progênies | He | Ho | f | t |
|------------------|--------|--------|---------|--------|
| 1 | 0,4229 | 0,4375 | -0,0345 | 1,0715 |
| 2 | 0,6027 | 0,5759 | 0,0445 | 0,0445 |
| 3 | 0,6386 | 0,6429 | -0,0067 | 1,0136 |
| 4 | 0,6100 | 0,4866 | 0,2023 | 0,6635 |
| 5 | 0,6484 | 0,6161 | 0,0498 | 0,9051 |
| 6 | 0,5360 | 0,5595 | -0,0438 | 1,0917 |
| 7 | 0,4802 | 0,5134 | -0,0691 | 1,1486 |
| 8 | 0,5060 | 0,4866 | 0,0383 | 0,9262 |
| 9 | 0,5568 | 0,5071 | 0,0893 | 0,8361 |
| 10 | 0,4582 | 0,5976 | -0,3042 | 1,8745 |
| 11 | 0,5735 | 0,4226 | 0,2631 | 0,5834 |
| 12 | 0,5886 | 0,6161 | -0,0467 | 1,0980 |
| 13 | 0,5441 | 0,4554 | 0,1630 | 0,7197 |
| 14 | 0,6787 | 0,7161 | -0,0551 | 1,1166 |
| 15 | 0,5833 | 0,4688 | 0,1963 | 0,6718 |
| 16 | 0,6248 | 0,5262 | 0,1578 | 0,7274 |
| 17 | 0,7133 | 0,6848 | 0,0400 | 0,9232 |
| 18 | 0,5481 | 0,2741 | 0,4999 | 0,3334 |
| 19 | 0,5663 | 0,5193 | 0,0830 | 0,8467 |
| 20 | 0,6670 | 0,5405 | 0,1897 | 0,6812 |
| População | 0,6446 | 0,5187 | 0,1937 | 0,6754 |

Quando a endogamia é o único fator responsável pelo aumento da frequência de homozigotos, F é igual ao coeficiente de endogamia de Wright (1965), com um valor sempre positivo. Para os organismos com sistema misto de cruzamento, quando a probabilidade de exocruzamento é t , o valor de equilíbrio de F é $(1 - t)/(1 + t)$. Outro tipo de reprodução não aleatória é o dos cruzamentos biparentais, que ocorrem entre indivíduos que compartilham caracteres fenotípicos similares. Esse tipo de cruzamento tem um efeito semelhante ao da endogamia por também promover um aumento na frequência de homozigotos.

Em espécies florestais utilizando os microssatélites como marcadores, os valores de heterozigosidade esperada são elevados quando comparados aos valores determinados por outros marcadores. O elevado polimorfismo encontrado nos

microsatélites se explica pela variação, muitas vezes, de apenas um par de bases entre os indivíduos. E ainda, quanto maior for a amostra e menos relacionados forem os indivíduos, maior será o polimorfismo.

Considerando-se a taxa aparente de cruzamento (t), observa-se na Tabela 29 que seu valor foi de 0,67, o que indica que 0,33 de todos os cruzamentos da população são endogâmicos. A espécie apresentou comportamento de espécie intermediária, como também já verificado por Sebbenn (2007). Ainda segundo Sebbenn (2007), a taxa média de cruzamentos (t) em *Eucalyptus* é de 0,75, caracterizando o gênero como de sistema misto de reprodução (autofecundação e cruzamentos).

Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado pelo teste do qui-quadrado (χ^2) e em alguns locos não houve polimorfismo de alelos, sendo que neste caso o teste não pode ser realizado. Na Tabela 30 são apresentados os valores do teste qui-quadrado (χ^2) e probabilidade (P) para cada uma das 20 progênies testadas.

Verificou-se que ocorreram grandes diferenças entre diferentes locos e progênies, onde as probabilidades (P) variaram de 0,0045 até 1,000 (Tabela 30), sendo que o teste mostrou que alguns locos estão e outros não estão em equilíbrio de EHW.

Desvios no EHW são causados pelo sistema de reprodução ou por fatores evolutivos como seleção, migração, mutação ou deriva genética (Griffiths, 2002).

Tabela 30. Valores de qui-quadrado (X^2) e probabilidade (P) de oito “primers” EMBRA utilizado para avaliação de diversidade genética em 20 progênies de *Eucalyptus grandis*.

| LOCOS | | | | | | | | |
|-----------|----------|--------|----------|--------|---------|--------|----------|--------|
| PROGÊNIES | EMBRA 2 | | EMBRA 5 | | EMBRA6 | | EMBRA 11 | |
| | X^2 | P | X^2 | P | X^2 | P | X^2 | P |
| 1 | 0,0356 | 0,8504 | 0,5825 | 0,4453 | 0,1296 | 0,7189 | 0,0356 | 0,8504 |
| 2 | 0,0311 | 0,8600 | 0,0311 | 0,8600 | 0,0311 | 0,8600 | 4,8395 | 0,0278 |
| 3 | 0,1429 | 0,7055 | 0,4535 | 0,5007 | 2,0000 | 0,1573 | 0,0356 | 0,8504 |
| 4 | 0,1429 | 0,7055 | 0,0356 | 0,8504 | 4,4525 | 0,0349 | 0,5825 | 0,4453 |
| 5 | 8,0000 | 0,0047 | 2,1605 | 0,1416 | 4,8395 | 0,0278 | 0,0000 | 1,0000 |
| 6 | 1,5000 | 0,2207 | 0,1429 | 0,7055 | 0,0311 | 0,8600 | 2,1605 | 0,1416 |
| 7 | 0,5207 | 0,4706 | 0,0356 | 0,8504 | 0,1633 | 0,6862 | 0,5825 | 0,4453 |
| 8 | 0,6300 | 0,4247 | 2,3205 | 0,1277 | 0,0000 | 1,0000 | 0,5825 | 0,4453 |
| 9 | 1,8000 | 0,1797 | 2,3205 | 0,1277 | 1,1200 | 0,2899 | 0,1944 | 0,6592 |
| 10 | 0,0617 | 0,8038 | 3,9375 | 0,0472 | 0,2400 | 0,6242 | 3,9375 | 0,0472 |
| 11 | 2,0000 | 0,1573 | 1,1200 | 0,2819 | 2,3205 | 0,1277 | 1,5000 | 0,2207 |
| 12 | 1,4400 | 0,2301 | 1,1200 | 0,2899 | 0,1429 | 0,7055 | 0,1429 | 0,7055 |
| 13 | 0,0049 | 0,9442 | 1,7422 | 0,1869 | 0,4260 | 0,5139 | 0,0311 | 0,8600 |
| 14 | 1,2857 | 0,2568 | 2,2222 | 0,1360 | 0,2000 | 0,6547 | 0,0356 | 0,8504 |
| 15 | 8,0000 | 0,0045 | 4,4525 | 0,0349 | 0,8889 | 0,3458 | 2,0000 | 0,1574 |
| 16 | 5,0000 | 0,0253 | 1,5000 | 0,2207 | 0,1944 | 0,6592 | 2,5910 | 0,1075 |
| 17 | 1,1200 | 0,2899 | 1,8000 | 0,1797 | 0,4535 | 0,5007 | 1,2857 | 0,2568 |
| 18 | 0,1389 | 0,7094 | 7,0000 | 0,0082 | 4,4525 | 0,0349 | 1,1200 | 0,2899 |
| 19 | 1,6529 | 0,1986 | 1,2153 | 0,2703 | 0,6667 | 0,4142 | 0,4535 | 0,5007 |
| 20 | 6,0000 | 0,0143 | 0,1389 | 0,7094 | 0,1429 | 0,7055 | 0,1944 | 0,6592 |
| PROGÊNIES | EMBRA 12 | | EMBRA 18 | | EMBRA63 | | EMBRA122 | |
| | X^2 | P | X^2 | P | X^2 | P | X^2 | P |
| 1 | 0,3560 | 0,8041 | 0,5425 | 0,4403 | 0,1226 | 0,7109 | 0,0326 | 0,8042 |
| 2 | 0,0371 | 0,8610 | 0,0511 | 0,7600 | 0,0341 | 0,8500 | 3,8395 | 0,1278 |
| 3 | 0,1629 | 0,7255 | 0,5535 | 0,5207 | 1,1000 | 0,3573 | 0,4356 | 0,6504 |
| 4 | 0,1129 | 0,5055 | 0,1256 | 0,7204 | 3,2525 | 0,2349 | 0,5525 | 0,3353 |
| 5 | 7,0000 | 0,1047 | 2,1605 | 0,1316 | 4,6395 | 0,1278 | 1,0000 | 1,0000 |
| 6 | 1,3000 | 0,2407 | 0,1629 | 0,6055 | 0,0211 | 0,7600 | 2,1305 | 0,1516 |
| 7 | 0,5107 | 0,4506 | 0,0556 | 0,8504 | 0,2633 | 0,6662 | 0,5625 | 0,4653 |
| 8 | 0,6200 | 0,4347 | 2,2205 | 0,1477 | 0,2000 | 0,7000 | 0,6825 | 0,4653 |
| 9 | 1,4000 | 0,1597 | 1,3205 | 0,1477 | 1,3200 | 0,3899 | 0,2944 | 0,7592 |
| 10 | 0,1617 | 0,7038 | 3,7375 | 0,2472 | 0,2000 | 0,6142 | 2,9375 | 0,6472 |
| 11 | 1,8000 | 0,1273 | 1,0200 | 0,2519 | 2,1205 | 0,3277 | 1,3000 | 0,5207 |
| 12 | 1,2400 | 0,4301 | 1,1000 | 0,2499 | 0,1329 | 0,6055 | 0,1229 | 0,6055 |
| 13 | 0,0149 | 0,8442 | 1,1422 | 0,1669 | 0,3260 | 0,4139 | 0,1311 | 0,7600 |
| 14 | 1,2657 | 0,2768 | 2,1022 | 0,2360 | 0,1200 | 0,3547 | 0,2356 | 0,6504 |
| 15 | 6,0000 | 0,1047 | 4,0525 | 0,1349 | 0,7609 | 0,4058 | 1,4000 | 0,1374 |
| 16 | 3,7000 | 0,0203 | 1,3000 | 0,2007 | 0,1644 | 0,4592 | 2,5010 | 0,2075 |
| 17 | 1,1000 | 0,2099 | 1,2000 | 0,1407 | 0,5035 | 0,4007 | 1,0657 | 0,1568 |
| 18 | 0,1089 | 0,5094 | 5,6000 | 0,0482 | 4,0525 | 0,1349 | 1,0200 | 0,3099 |
| 19 | 1,4529 | 0,3986 | 1,0153 | 0,1703 | 0,6567 | 0,3142 | 0,4035 | 0,6007 |
| 20 | 5,3000 | 0,1143 | 0,1349 | 0,6094 | 0,1329 | 0,6055 | 0,1644 | 0,7592 |

Distâncias genéticas

As distâncias genéticas das 20 progênes, segundo Nei (1972), estão no dendrograma da Figura 31. O maior valor da distância genética ficou entre a progênie 15 e as progênes 4 e 18 (0,52) e com média para a população de 0,37 (Tabela 31 no anexo). Pigatto e Lopes (2001), avaliando a características genética em *Eucalyptus urophylla*, obtiveram média de 0,36, variando de 0,09 a 0,71. Gaiotto (1996) obteve distância genética média de 0,40, trabalhando com 121 progênes de *Eucalyptus urophylla*, que foi considerado satisfatório pelo autor, permitindo o desenvolvimento do programa de melhoramento.

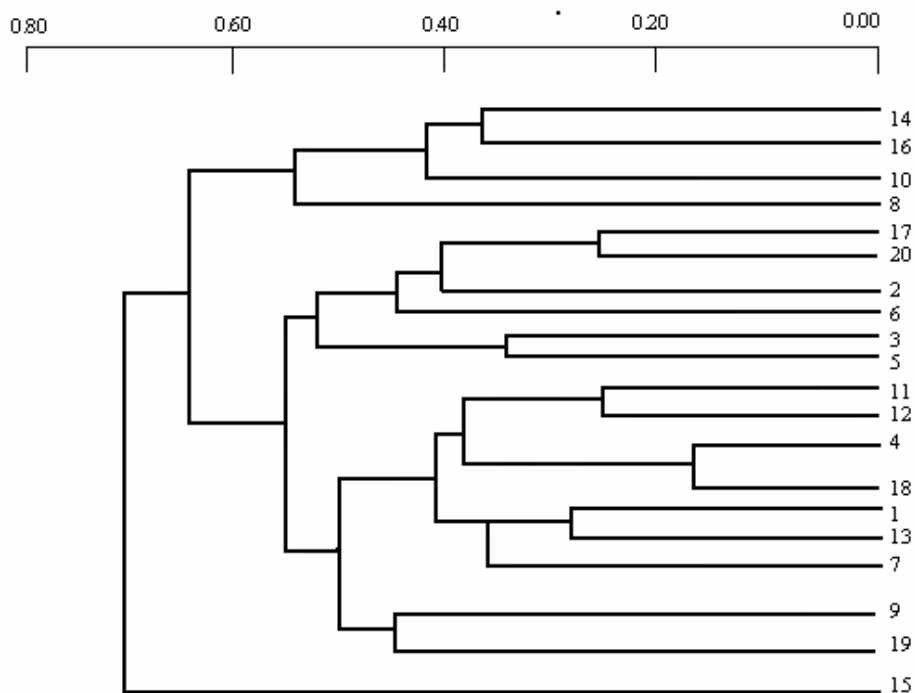


Figura 21. Padrão da divergência genética entre as 20 progênes de *Eucalyptus grandis*, baseado no agrupamento UPGMA, utilizando as distâncias genéticas de Nei (1972). Dados provenientes de 8 locos microssatélites.

O conhecimento da distância genética permite um melhor entendimento de como varia a diversidade nestas progênes, pois quanto maior a variabilidade entre e dentro das progênes, maior é a chance da perpetuação da população para o estabelecimento de um programa de melhoramento florestal.

Segundo Estopa et al. (2007), a caracterização dos níveis de variabilidade entre e dentro das populações podem trazer subsídios para a implantação de estratégias de conservação e o acompanhamento de programas de melhoramento florestal a serem executados.

De acordo com Martins et al. (2002), a separação das famílias em grupos distintos de progênes, pode servir para recomendar progenitores para cruzamentos (hibridação) entre grupos, isto, levando-se em consideração as características desejáveis que se deseja obter nas próximas gerações. Dessa forma, pode-se recomendar cruzamentos para a formação de híbridos, por exemplo, entre indivíduos das progênes 14 e 15; 16 e 15; 8 e 1, 5 e 15, 15 e 17 e 15 e 20 e várias outras combinações possíveis. As progênes que estão localizadas muito próximas não são convenientes para hibridação por apresentarem pequena divergência genética entre si, como no caso 14 e 16; 4 e 18; 1 e 13 e 17 e 20.

Assim sendo, a importância da diversidade genética para o melhoramento está no fato de que cruzamentos que envolvam progenitores geneticamente divergentes são os mais convenientes para produzir maior variabilidade genética nas gerações futuras.

Estimativas de parâmetros genéticos quantitativos com correções usando parâmetros estimados por microssatélites

Admitiu-se para correção dos parâmetros por marcadores microssatélites (Tabela 32) que as progênies foram geradas, em parte, por cruzamentos relacionados e não relacionados e, em parte, por autofecundação. Logo, eram constituídas por misturas de irmãos de autofecundação, meio-irmãos e irmãos completos. O modelo matemático para estimar os parâmetros genéticos admitiu também a não ocorrência de parentesco na geração parental e que a taxa de cruzamento e autofecundação foi homogênea para todas as árvores maternas.

Tabela 32. Correção das herdabilidades por marcadores microssatélites pelo modelo matemático proposto por Ritland, 1989.

| Parâmetros Genéticos | Características | | | |
|----------------------|-----------------------------------|----------|-----------|------------|
| | Altura | Diâmetro | Clorofila | Peroxidase |
| \hat{h}^2 | 0,62 | 0,43 | 0,32 | 0,27 |
| \hat{h}_m^2 | 0,86 | 0,51 | 0,46 | 0,29 |
| \hat{h}_d^2 | 0,19 | 0,04 | 0,06 | 0,1 |
| | Coef. herdabilidade após correção | | | |
| \hat{h}^2 | 0,70 | 0,48 | 0,40 | 0,30 |
| \hat{h}_m^2 | 0,91 | 0,53 | 0,52 | 0,33 |
| \hat{h}_d^2 | 0,27 | 0,06 | 0,08 | 0,20 |

\hat{h}^2 = herdabilidade no sentido restrito ao nível de plantas;

\hat{h}_m^2 = herdabilidade média entre progênies;

\hat{h}_d^2 = herdabilidade dentro de progênies de meios irmãos.

Portanto, existem desvios nas estimativas dos parâmetros genéticos quantitativos pelo fato do modelo não prever a existência de progênies de autofecundação e de meios irmãos. Considerando-se as estimativas das herdabilidades com correções utilizando

coeficientes de parentesco, observa-se um ligeiro aumento das herdabilidades conforme a Tabela 32.

Indução de gemas florais

Neste estudo, mesmo com a utilização do biorregulador e a adubação química não foi possível a obtenção de resultados expressivos de florescimento no período avaliado, sendo que apenas alguns indivíduos das progênes 2, 6, 8, 10 e 16 apresentam início de florescimento ao longo do estudo (Figura 23), não sendo suficiente para a realização das estimativas dos parâmetros genéticos para esta característica.



Figura 22. Indícios do processo de florescimento na progênie 10

No decorrer do estudo foi possível verificar que o biorregulador modificou o crescimento dos indivíduos das progênes (redução), como também já verificado por outros pesquisadores. Provavelmente o processo de florescimento não esteja nas mesmas rotas metabólicas das giberelinas, que estão associadas ao crescimento vegetativo em altura, conforme relatado por Goldschmidt (1999).

Segundo Graça et al. (1986), o florescimento de espécies lenhosas ocorre em fases consecutivas, as quais dependem entre outros fatores, de mecanismos regulatórios internos, como a concentração de nutrientes e de reguladores de crescimentos. Por isso,

tornam-se necessários empregos de outros tratamentos durante o estágio juvenil para esta espécie.

Verificou-se também que o padrão de floração é muito irregular e imprevisível em espécies florestais, a formação de botões florais não varia apenas entre as espécies, mas também entre as árvores da mesma espécie, conforme já relatado por Baptista (2000), que avaliou clones de *Eucalyptus* para o florescimento precoce.

A espécie é induzida ao florescimento nos mês de inverno (maio, junho, julho e agosto), quando o fotoperíodo e a quantidade de água é menor e também a temperatura é mais amena. As emissões dos botões florais nas progênies ocorreram nos meses de novembro, dezembro janeiro, fevereiro e março o que caracteriza a espécie como de dia curto.

As diferentes intensidades luminosas (Kozłowski e Pallardy, 1997), e um regime de alta intensidade luminosa promovem a formação de abundante reserva de carboidratos, favorecendo o início do florescimento em muitas espécies florestais (Wareing e Phillips, 1981). Consequentemente, num regime de baixa intensidade luminosa há redução no suplemento de carboidratos (Taiz e Zeiger, 2004), prejudicando o processo de indução de gemas florais.

A indução floral refere-se aos eventos que sinalizam à planta a alteração no seu programa de desenvolvimento, que ocorre principalmente nas folhas, podendo também se dar em outros órgãos. O estímulo resulta, tanto de fatores endógenos, tais como os teores hormonais, como de fatores ambientais, conforme representado na Tabela 4.

As mudas utilizadas neste trabalho foram produzidas por sementes, sendo desta maneira imprescindível a fase de pré-floração, que é promovida pelo biorregulador paclobutrazol, diferentemente de quando utiliza-se materiais genéticos de enxertos que fisiologicamente apresentam-se na fase reprodutiva.

Segundo Wiltshire et al. (1998), o período de mudança da fase vegetativa para a fase reprodutiva difere significativamente entre as progênies de populações que se desenvolvem em condições iguais. A iniciação floral está frequentemente associada com a cessação do crescimento vegetativo, e à alterações no padrão de morfogênese e diferenciação celular no meristema apical do caule.

As mudanças de fase juvenil, adulta vegetativa e adulta reprodutiva são centralizadas numa única região, o meristema apical caulinar, sendo que os dois últimos são formados apenas quando a planta é induzida à floração (Medina, 2007).

Mesmo com as alterações promovidas com a utilização do biorregulador de crescimento paclobutrazol, inibindo o processo de giberelina e promovendo modificações em estruturas dos indivíduos das progênies como: modificações nas folhas, no caule, redução do porte das plantas, os produtos testados pouco auxiliaram no processo de indução floral, como já constatado por outros pesquisadores com o gênero *Eucalyptus* (Moncur e Hasan, 1994; Reid et al., 1995; Pinto et al., 2007).

Para Whiley (1993) a ação do biorregulador não é indutora e sim meramente desencadeadora ou reforçadora pela ação de fatores internos e ambientes na indução floral.

Provavelmente com a parada da biossíntese de giberelina outros hormônios são estimulados, dando condições para que naqueles indivíduos das progênies 2, 6, 8, 10 e 16 ocorresse emissão de botões florais. Segundo Caldeira (1989), o estresse promovido pela utilização de biorreguladores, nitrato de cálcio, déficit hídrico e pelos vasos desencadeiam a formação de etileno endógeno, permitindo a formação dos botões florais.

De acordo com Steffens et al. (1985) e Wang et al. (1985), as alterações fisiológicas e bioquímicas causadas pelo uso do biorregulador paclobutrazol, provocam

mudanças na divisão de assimilados das folhas para as raízes e aumento de carboidratos, do conteúdo de clorofila nas folhas e da concentração de elementos minerais nos tecidos foliares, proporcionando à planta melhor resistência ao estresse ambiental, aumentando o crescimento radicular e intensificando o florescimento.

Hetherington e Jones (1990), estudando a aplicação do biorregulador de crescimento paclobutrazol em *Eucalyptus globulus*, obtiveram alteração na altura das mudas, porém sem indução floral no período testado.

Apesar de que neste estudo, a maioria dos materiais genéticos (progênies) não terem chegado à formação de botões florais, ficou evidente que os comportamentos genético, fisiológico e bioquímico foram diferentes entre e dentro das progênies estudadas, o que indica a necessidade de outros estudos para um melhor entendimento do processo de floração em espécies do gênero *Eucalyptus* e, da atuação do biorregulador de crescimento e da adubação química no desenvolvimento reprodutivo.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos é possível concluir-se que:

a) o biorregulador promoveu diminuição do crescimento em altura, o curvamento da nervura principal, alteração na coloração das folhas e diminuição do comprimento dos ramos;

b) a enzima peroxidase mostrou-se satisfatória para indicar alterações bioquímicas sofridas pelos indivíduos das progênes sobre efeito de paclobutrazol;

c) os maiores valores de coeficientes de herdabilidade no sentido restrito ao nível de plantas individuais foram de 0,62 para altura e de 0,43 para o diâmetro do colo. A heterozigosidade esperada foi de 0,6446 e a observada de 0,5187. A taxa de cruzamento aparente de 0,67, indica que a população apresenta comportamento de espécie intermediária com tendência a alogamia e a maior distância genética ficou entre a progênie 15 e as progênes 4 e 18 ($D = 0,52$) com média para população de 0,37.

d) a associação de biorregulador de crescimento com a adubação química testada em diferentes dosagens de boro e fósforo, em vaso, não se mostrou adequada para o florescimento precoce na maioria dos indivíduos das 20 progênes pesquisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF – Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico – Ano base 2006**. Disponível em: <<http://www.abraflor.org/estatística/anuário - ABRAF - 2006>>. Acesso em: 15 de setembro de 2007.

ALLAIN, C. C.; POON, L.S.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, p. 470-475, 1974.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Edgard Blucher, 1971. 381p.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Agrotóxico e Toxicologia, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br/toxicologia/monografias/index.htm>>. Acesso em: 11 de setembro de 2007.

AMS – Associação Mineira de Silvicultura. **Eucalipto**, 2007. Disponível em: <<http://www.showite.com.br/silviminas>>. Acesso em: 11 de setembro de 2007.

ARAÚJO, J.; ALMEIDA, M. H.; RAMOS, A.; LEMOS, L. Influence of paclobutrazol in *Eucalyptus globulus* Labill. seed orchards. In: CRCTHF-IUFRO CONFERENCE, 1995, Hobart. **Proceedings...** Hobart: IUFRO, 1995. p. 311-312.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTONI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio nas folhas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.13, p.158-167, 2001.

ARTECA, R. N. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman & Hall, 1996. 332p.

AURAS, E. N. **Efeitos do paclobutrazol sobre morfologia e anatomia foliar, crescimento de parte aérea, distribuição de biomassa e trocas gasosas em girassol**. 1997. 88p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996.

AZIA, F. E.; STEWART K. A. Relationships between extractable chlorophyll and spad values in muskmelon leaves. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 25, p. 961-966, 2001.

BAPTISTA, A. L. P. **Utilização de paclobutrazol na indução de florescimento precoce em clones de eucalipto**. 2000. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

BLAKELY, W. F. **A key to the Eucalypts**. 3 ed. Canberra, Forestry and Timber Bureau, 1965. 359p.

BONNET-MASIBERT, M.; WEBBER, J. E. From flower induction to seed production in forest tree orchards. **Tree Physiology**, v. 15, n. 7/8, p. 419-426, 1995.

BORÉM, A; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. Viçosa: UFV, 2007. 374p.

BRONDANI, R. P. V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.97, p.816-27, 1998.

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

BURGESS, I. P.; BELL, J. C. Comparative morphology and Allozyme Frequencies of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden and *Eucalyptus saligna* Sm. **Australian Forest Research**, v.13, p.133-49, 1983.

BUTCHER, P. A.; GLEUBITZ, J. C.; MORAN, G. F. **Applications for microsatellite markers in the domestication and conservation of forest trees**. CSIRO forestry and Forest Products. Austrália, 2000. Disponível em: <http://www.fao.org/forestry>. Acessado em: 09 de julho de 2003.

CALDEIRA, M. L. Indução química do florescimento em manga. In: SIMPÓSIO SOBRE MANGICULTURA, Jaboticabal, 1989. **Anais...** Jaboticabal. FUNEP, 1989. p. 63-157.

CAMARGO, M. L. P.; MORI, E. S.; MELLO, E. J.; ODA, S.; LIMA, G. P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes, envelhecidas artificialmente e naturalmente. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.10, n.2, p. 113-122, 2000.

CASTRO, N. H. C. de. Número de repetições e eficiência da seleção em progênes de meios irmãos de *Eucalyptus camaldulensis*. 1992. 121p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CASTRO, P. R. C. Aspectos Gerais e Definições: Hormônios Vegetais, Biorreguladores, Bioestimulantes e Bioativadores Vegetais. In: **CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM HORMÔNIOS VEGETAIS NA AGRICULTURA**. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas, 2007.

CAUVIN, B. Effects du paclobutrazole sur la mise à fleurs, la croissance de clones juveniles d' *Eucalyptus*. Premiers résultats In: RECHERCHES SYLVICOLES, 1991, Paris. **Annales de ...** Paris: AFOCEL, 1991, p. 71-88.

CHAPAMAN, S. C. & BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v. 89, p.557-562, 1997.

CLIPPER. **Plant growth regulator for amenity trees and shrubs**. Surrey, England: 1986. 32p. (ICI Plant Protection Division).

CRUZ, C. D. Programa GENES – Estatística Experimental e Matrizes. Editora UFV, Viçosa, 2006, 285p.

DELL, B.; MALAJCZUK, N. Boron deficiency in *Eucalyptus* plantations in China. **Canadian Journal of Research**, Ottawa, v. 24, n. 12, p. 2409-2416, Dec. 1994.

DENNA, D.W.; ALEXANDER, M. B. The isoperoxidases of *Curcubita pepo* L. In: MARKET, C.L. **Isozymes II: physiological function**. New York: Academic Press, 1975. p. 851-864.

DICKINSON, D.B. Influence of borate and pentaerytritol concentration on germination and tube growth of *Lilium longiflorum* pollen. **Journal American Society Horticultural Science**, v.103, p. 263-269, 1978.

ECHT, C. S.; MAY-MAQUARDT, P.; HSEIH, M.; ZAHORCHAK, R.. Characterization of microsatellite markers in eastern white pine. **Genome**, v. 31, p.1102-1108, 1996.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; VAN WYK, G.. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 288p.

ESTOPA, R. A.; RAMALHO, M. A. P.; REZENDE, G.D.S.P.; ABAD, J. I. M.; GONÇALVES, F M. A. Desempenho dos descendentes de clones de *Eucalyptus* spp. autofecundação e cruzados. **Revista Cerne**, Lavras, v. 13, n. 3, p. 264-270, 2007.

FALCÃO, C. L.; PAPPAS, M. C. R.; LOURENÇO, R. T.; ALENCAR, M. M.; BATISTA, A. R. S.; PAPPAS Jr., G. J.; GRATTAPAGLIA, D. Desenvolvimento e mapeamento de microssatélites derivados de ESTs em *Eucalyptus*. **Circular Técnica**. Embrapa. Brasília, DF, 2004.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Introduction to quantitative genetics. Essex: Longman Group, 1996. 464p.

FERREIRA, M. Adaptação de *Eucalyptus* spp. e limitações na obtenção de sementes. **Série Técnica do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**. Piracicaba, v.3, n.10, p.1-32, 1982.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1995. 220p.

FILHO, H. G. – Boro nas Plantas, 2006. Faculdade de Ciências Agrônômicas: Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br>>. Acesso em: 22 de setembro de 2007.

FIRMINO, H. Eucalipto Vilão ou Herói? 2005. Disponível em: <<http://www.manejoflorestal.org>>. Acesso em: 15 de setembro de 2007.

GAIOTTO, F. A. Estimativa de recombinação e estrutura genética em uma população de melhoramento de *Eucalyptus urophylla* com marcadores RAPD e AFLP. Botucatu, 1996, 66p. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILLO, F. J.; GREPPIN, H. A two-step control of basis and acidic peroxidases and its significance for growth and development. **Physiology Plantarum**, v.64, p. 418-423, 1986.

GODOY, L. J. G.; VILLAS BÔAS, R. L. & BULL L. T. Utilização da medida do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada em plantas de pimentão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n.27, p. 1049-1056, 2003.

GOLDSCHMIDT, E. E. Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 34, n. 6, p. 1020-1024, 1999.

GONÇALVES, J. L. M. Recomendações de adubação para *Eucalyptus* e *Pinus* e espécies típicas da mata atlântica. **Documentos Florestais**. Piracicaba, v. 15, p. 1-23, 1995.

GRAÇA, M. E. C.; ZANON, A.; VALIO, I. F. M.; COOPER, M. A. Influência de reguladores de crescimento e da adubação no florescimento de *Eucalyptus dunnii* MAID. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.13, p. 47-56, 1986.

GRANT, C. A.; PLANTEN, D. N.; TOMAZIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. Piracicaba, **Informações Agronômicas**, n° 95, p. 1-5, 2001.

GRATTAPAGLIA, D. A.; DIENER, P. S. A.; REZENDE, G. D.; PIMENTA, D.; LINS, T. C. L.; SOARES, C. N. Aplicações operacionais da análise de vínculo genético com microssatélites em populações de melhoramento de *Eucalyptus*. GENOMAX Tecnologia Genômica. Trabalho apresentado no 49º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética em Águas de Lindóia em 2003. Disponível em: <<http://www.genomax.com>>. Acesso em: 12 de setembro de 2007.

GRIFFIN, A. R.; WHITEMAN, P. ; RODGE, T.; BURGESS, I. P.; MONCUR, M. Effect of paclobutrazol on flower-bud production and vegetative growth in two species of *Eucalyptus*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 23, n. 3, p. 640-647, 1993.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M. Introdução à Genética. W. H. Freeman and Company. Ed. Guanabana Koogan S. A. 2002.

GROSSMANN, K. Plant growth retardants: their mode of action and benefit for physiological research. In: KARSSSEN, C. M., VAN LOON, L.C., VREUGDENHIL, D. (Eds.). **Progress in plant growth regulation**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1992. p. 788-797.

HETHERINGTON, S; JONES, K. M. Effectiveness of paclobutrazol in retarding height growth of *Eucalyptus globulus* seedlings. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 20, n. 5, p. 1811-1813, 1990.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; OHASHI, H. I. Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and cell Physiology**, Tokyo, v. 42, n.5, p. 462-468, 2001.

KAGEYAMA, P. Y.; SPELTS, R. M.; SILVA, A. P., et al. Variação genética entre e dentro de progênies de *Pinus patula* Schiede e Deppe na região de Telêmaco Borba-PR. Boletim informativo, **Instituto de Pesquisa Florestal**, Piracicaba, n.15, p.21-39, 1977.

KAGEYAMA, P. Y. **Seleção precoce a diferentes idades em progênies de Eucalyptus grandis (Hill) Maiden**. 1983. 147f. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura 'Luís de Queiroz', Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

KRISTEN, B. H.; PER, H. A.; REINHARD, M. G. E.; BRIAN, K. K.; SOREN, K. R. Three differentially expressed basic peroxidases from wound-lignifying *Asparagus officinalis*. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n. 391, p. 2275-2284, 2003.

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Physiology of Woods Plants**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1997. 411p.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividades da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, p. 21-25, 1999.

LIN, J. WU, X.; LU, L.; WANG, Q. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. **Tree Physiology**, v.23, p. 345-351, 2003.

LLERAS, E. Conservação de recursos genéticos florestais. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, 1992, São Paulo. Anais... **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, 1992, n.4, p.1179-1184.

LUIS, A.; FOURNIER, O. Um método quantitativo para la medición de características fenológicas em árvores. **Revista Interamericana de Ciencias Agrícolas**. Costa Rica, v. 24, n.4, p. 422-423, 1974.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARTINI, A. J. O plantador de eucaliptos: A questão da preservação florestal no Brasil e o resgate documental do legado de Edmundo Navarro de Andrade. São Paulo: USP, 2004. 320p. (Dissertação de Mestrado em História Natural).

MARTINS, I. S; MARTINS, R. C. C.; CORREIA, H. S. Comparação entre seleção combinada e seleção direta em *Eucalyptus grandis*, sob diferentes intensidades de seleção. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n.1, p. 36-43, 2001.

MARTINS FILHO, S.; SEDIYAMA, C. S.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. RAPD and Scar markers linked to resistance to frogeye leaf spot in soy bean. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 317-321, 2002.

MEDINA, C. L. Fisiologia da ação hormonal: florescimento e frutificação. In: **CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM HORMÔNIOS VEGETAIS NA AGRICULTURA**. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas, 2007.

MEILAN, R. Indução de florescimento em angiospermas de madeiras. **New Forests**, v. 14, n. 3, p.179-202, 1997.

MELLO, E. J. ODA, S.; MENCH, A. L. M.; COSTA, P. C.; MARCHI, E. L. Estratégia de seleção de clones de *Eucalyptus* spp na CIA Suzano de Papel e Celulose. **Anais da Reunião sobre Clonagem Intensiva em Eucalyptus / Instituto de Pesquisa Florestal**, Piracicaba, p.81-87, 1994.

METZGER, J. D. Hormones and reproductive development. In: DAVIES, P. J. (Ed.) **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p. 617-648.

MILLER, M. P. **TFPGA 1.3**: tools for population genetic analyses (software). New York, 1997.

MINOLTA, C. Manual for chlorophyll meter SPAD-502. Okasa: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989, 22p.

MONCUR, M. W. Effect of low temperature on floral induction of *Eucalyptus lansdowneana* F. Muell & J. Brown subsp. *Lansdowneana*. **Australian Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p.157-167,1992.

MONCUR, M. W.; HASAN, O. Floral induction in *Eucalyptus nitens*. **Tree Physiology**, v. 14, n. 11, p. 46-49, 1994.

MONCUR, M. W.; RASMUSSEN, G.F.; HASAN, O. Effect of paclobutrazol on flower-bud production in *Eucalyptus nitens* espalier seed orchards., **Canadian Journal of Forest Research**, v.24 , p. 46-49, 1994.

MONCUR, M. W. Hastening seed production: a tool for increasing the rate of genetic improvement in eucalypt species. In tree improvement applied research and technology transfer. Edited by S. Puri. Science Publishers Inc., Enfield, N. H. p. 81-93, 1998.

MOURA, A. L.; GARCIA, C. H. A cultura do eucalipto no Brasil. São Paulo, Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2000. 112p.

MORAES, C. B.; MORI, E. S.; RODRIGUES, J. D. Indução de florescimento em espécies florestais por meio de reguladores vegetais. Relatório Final de Iniciação Científica da Fapesp, Processo n° 03/04144-5, 2004.

MORAES, M. L. T.; SILVA, C. L. P.; SILVA, A. M.; CANUTO, D. S. O.; SILVA, J. M.; LEMOS, S. V.; ARAGÃO, S. F. Estimativa e Interpretação de Parâmetros

- Genéticos. In: **II Workshop de Melhoramento Florestal**. Piracicaba, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, ESALQ, 2006.
- MORAES, M.L.T.; MORI, E. S. Métodos de Melhoramento Aplicados a Espécies Florestais. In: **III Workshop de Melhoramento Florestal**. Piracicaba, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, ESALQ, 2007.
- MOXON, E. R.; WILLS, C. DNA Microsatellites: Agents of Evolution? **Scientific American**, Jan, p.72-77, 1999.
- MURDOCK, L.; CALL, D.; JAMES, J. Comparison and Use of Chlorophyll Meters on Wheat (Reflectance vs. Transmittance/Absorbance). University of Kentucky Cooperative Extension Service, University of Kentucky College of Agriculture, Lexington, and Kentucky State University, Frankfort, 2004. Disponível em: [HTTP //www.ca.uky.edu](http://www.ca.uky.edu). Acesso em: 12 de setembro de 2007.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, v. 106, p.283-292, 1972.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p.438-443, 1978.
- NEI, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- NETO, J. T. F.; CASTRO, A. W. V.; BIANCHETTI, A. aplicação da seleção precoce em famílias de meios irmãos de Taxi-Branco. **Acta Amazonica**, Manaus, v.33, n.1, p. 85-91, 2003.
- NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G.; MARTINS, F. A. D.; PÁDUA, T. R. P.; PINHO, P. J. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.5, p. 517-521, 2005.
- NKANG, A. Effect of cyanide pretreatment on Peroxidase activity in germinating seeds of *Guilfoylia monostylis*. **Journal of Plant Physiology**, v. 149, p. 3-8, 1996.
- NICKELL, L. W. Use of growth-regulation chemicals. In: RAGHAVENDRA, A. S. (Ed.) **Physiology of Trees**. New York: Wiley-Interscience, 1991. p. 467-487.
- PAULA, R. C.; PIRES, I. E.; BORGES, R. C. G.; CRUZ, C. D. Predição de ganhos genéticos em melhoramento florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.2, p. 159-165. 2002.
- PAULA, R. C.; PAULA, N. F.; VALERI, S. V.; CRUZ, M. C. P.; TOFFO, A. L. T. Controle genético da eficiência de utilização de fósforo em famílias de meios-irmãos de *Eucalyptus grandis*, em casa de vegetação. Viçosa-MG, **Revista Árvore**. Viçosa, vol. 27, n.1, 2003. Acesso em: 16 de outubro de 2007.
- PEREIRA, A. B.; DAVIDE, L. C.; RAMALHO, M. A. P.; ANDRADE, H. B. Eficiência da seleção precoce em famílias de meios irmãos de *Eucalyptus camaldulensis*, avaliadas na região Noroeste do Estado de Minas Gerais. **Revista Cerne**, Lavras, v.3, n.1, 1997.

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

PIMENTEL-GOMES, F. P. **Curso de Estatística Experimental**. 8 ed. São Paulo: Nobel, 1978, 430 p.

PINTO, C. S.; MORI, E. S.; RODELLA, R. A. . Efeito do Paclobutrazol na Anatomia Foliar de *Eucalyptus grandis*. V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO VEGETAL, 2007, São Lourenço-MG. Anais V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO VEGETAL. 2007.

PINTO, C. S.; MORI, E. S.; RODELLA, R. A. Parâmetros Genéticos de Caracteres Morfológicos em Progênes de *E. grandis* Sob Efeito do Paclobutrazol.V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO VEGETAL, 2007, São Lourenço-MG. Anais V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO VEGETAL. 2007.

PIZA, I. M. T.; LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagada em meio salino. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.4, p.361-366, 2003.

PRYOR, L. D. *The Biology of Eucalyptus*. London: Edwards Arnold, 1976, 82p.

SANTOS, G. A.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D. Desempenho silvicultural de progênes de *Eucalyptus grandis* em relação às árvores matrizes. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 70, p. 67-76, 2006.

SANTOS, P. E. T. Avaliação de características tecnológicas de madeira para serraria em progênes de polinização aberta de eucalipto e implicações para o melhoramento genético. Piracicaba, 2002.153p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SHAAHAN, M. M.; EL-SAYED, A. A. & ABOU EL NOUR, E. A. A. Predicting nitrogen, magnesium and iron nutritional status of perennial crops using a portable chlorophyll meter. **Science Horticultural**, n. 82, p. 339-348, 1999.

SEBBENN, A. M. Sistema de Reprodução e Endogamia em *Eucalyptus* e *Pinus*. In: **III Workshop de Melhoramento Florestal**. Piracicaba, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, ESALQ, 2007.

SEDGLEY, M.; GRIFFIN, A. R. Sexual reproduction of tree crops. Academic Press, London, 1989.

SILVA, D. J.; FARIA, C. M. B. Nutrição, calagem e adubação: efeitos e funções dos nutrientes na cultura. Embrapa Semi-Árido, 2004. . Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.

SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N.; SILVEIRA, R. I.; BRANCO, E. F. Levantamento nutricional de florestas de *Eucalyptus grandis* na região de Itatinga-

- SP: I. Macronutrientes e II Micronutrientes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBSCS, 1995. p. 896-901.
- SILVEIRA, R. L. V. A.; HIGASHI, E. N.; SGARGI, F.; MUNIZ, M. R. A. Seja o Doutor do seu Eucalipto. *Informações Agronômicas*, n. 93, 2001. Disponível em: <<http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf>>. Acesso em: 20 de outubro de 2007.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. W. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 2 ed. S. 1.: McGraw-Hill Book Company, 1980. 633p.
- STEFFENS, G. L.; BYUN, J. K.; WANG, S. Y. Controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system. I: Growth parameter alterations in apple seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 63, n. 2, p. 163-168, 1985.
- REZENDE, G. D. S. P.; BERTOLUCCI, E. L. C.; RAMALHO, M. A. P. 1994. Eficiência da seleção precoce na recomendação de clones de eucalipto avaliados no Norte do Espírito Santo e Sul da Bahia. **Revista Ceres**, Lavras, v.1, n.1, p. 45-50, 1994.
- REZENDE, M. D. V. de. Melhoramento de espécies perenes. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C.C.; MELO, I. S. de; VALADARES – INGLIS, M. C. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, p. 357-421.
- REID, J. B.; HASAN, O.; MONCUR, M. W.; HETHERINGTON, S. Paclobutrazol as a managment tool for tree breeders to promote early and abundant seed production. In: CRCTHF-IUFRO CONFERENCE, 1995, Hobart. **Proceedings...** Hobart: IUFRO, 1995. p. 293-298.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, v. 43, p.848-859, 1989.
- ROCHA, M. G. B.; PIRES, I. E.; ROCHA, R. B.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D. Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus grandis* por meio dos procedimentos REML/BLUP e da ANOVA. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 71, p. 99-107, 2006.
- ROCHA, M. P. *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden e *Eucalyptus dunnii* Maiden como fontes de matéria-prima para serrarias. 186f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- TAKAHASHI, M. N. Melhoramento Florestal. Relatório do Estágio Curricular Supervisionado apresentado à Faculdade de Ciências Agronômicas para a obtenção do Título de Engenheira Florestal, Botucatu, São Paulo, 2005. 57f.
- TAMBARUSSI, E. V.; MORAES, C. B.; MORI, E. S. Efeito dos Reguladores Vegetais na Indução Floral de *Eucalyptus grandis*. In: **3º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS**, 2005, Gramado-RS. **Anais**. 2005.

TAMBARUSSI E. V.; MORAES, C. B.; MORI, E. S. Alterações nos tecidos juvenis de Jatobá e Canafístula. In: 3º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2005, Gramado-RS. **Anais do 3º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS**. 2005.

VALVERDE, S. R. As plantações de eucaliptos no Brasil, 2001. Disponível em: <<http://www.sbs.gov.br>>. Acesso em: 11 de setembro de 2007.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. O conceito de vigor em sementes. *In*: Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.1-13.

YAMADA, T. Boro: será que estamos aplicando a dose suficiente para o adequado desenvolvimento das plantas? Campinas, **Informações Agronômicas**, nº 90, p. 1-5, 2000.

WANG, S. Y.; BYUN, J. K.; STEFFENS, G. L. controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system – II. Biochemical and physiological alterations in apple seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 63, n.1, p. 169-175, 1985.

WAREING, P. F.; PHILLIPS, I. D. J. **Growth and differentiation in plants**. 3 ed. England: Pergamon Press, 1981. 343p.

WEAVER, R. J. **Reguladores del crecimiento de las plantas em la agricultura**. México: Trillas, 1982. 622 p.

WHILEY, A. Environmental effects on phenology of mango. A review. Fourth International mango Symposium. Miami Beach, Florida. **Acta Horticulturae**. Wageningen, v. 341, p.168-176, 1993.

WILLIAMS, D. R. Response of *Eucalyptus nitens* seedlings to gibberellin biosynthesis inhibitors. **Plant Growth Regulation**, v. 27, n. 2, p.125-129, 1999.

WILLIAMS, D. R.; POTTS, B. M.; SMETHURST, P. J. 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.

WILSON Jr.; D. O.; McDONALD, Jr. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science & Technology**, v. 14, n. 2, p. 269-300, 1986.

WILTSHIRE, R. J. E.; POTTS, B. M.; REID, J. B. Genetic control of reproductive and vegetative phase change in the *Eucalyptus risdonni* - complex. **Australian Journal of Botany**, v. 46, n. 1, p. 45-46, 1998.

WIKIPÉDIA - Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_grandis> Acesso em: 14 de setembro de 2007.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. **Evolution**, v. 19, p.395-342, 1965.

ZOTARELLI, L.; CARDOSO, E. G.; PICCINI, J. L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; TORRES, E.; ALVES, B. J. R. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para uso na cultura do milho. Rio de Janeiro: **Embrapa Agrobiologia**, 2002. 4p. (Comunicado técnico, 55).

ANEXO

Tabela 8. Valores médios de altura (cm) das 20 progênes de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas.

| Progênes | Idade em meses | | | | | | | | Médias de progênes | Testemunhas |
|-----------------|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------------|---------------|
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 | 21 | | |
| 1 | 60,6 | 64,60 | 65,96 | 72,63 | 83,63 | 94,63 | 105,63 | 116,64 | 83,04 | 250,00 |
| 2 | 78,13 | 89,73 | 91,33 | 96,66 | 98,66 | 110,66 | 120,66 | 131,60 | 102,19 | 252,67 |
| 3 | 62,23 | 58,23 | 61,43 | 64,70 | 75,70 | 88,70 | 95,70 | 103,70 | 76,30 | 231,00 |
| 4 | 65,03 | 69,03 | 70,26 | 75,26 | 78,26 | 79,26 | 85,26 | 98,26 | 77,58 | 239,33 |
| 5 | 69,50 | 73,60 | 73,03 | 85,36 | 96,36 | 105,36 | 124,36 | 146,36 | 96,75 | 224,33 |
| 6 | 68,26 | 72,33 | 75,40 | 86,70 | 88,70 | 89,70 | 95,70 | 102,70 | 84,94 | 236,00 |
| 7 | 73,61 | 74,40 | 75,96 | 86,13 | 88,13 | 89,13 | 100,13 | 119,33 | 88,36 | 206,00 |
| 8 | 72,83 | 77,00 | 77,73 | 81,00 | 89,00 | 90,00 | 110,00 | 130,00 | 90,95 | 210,00 |
| 9 | 69,43 | 72,80 | 75,13 | 84,93 | 86,93 | 88,93 | 108,90 | 120,93 | 88,50 | 245,67 |
| 10 | 56,72 | 60,63 | 62,50 | 65,40 | 67,40 | 79,40 | 91,40 | 103,40 | 73,36 | 232,83 |
| 11 | 58,69 | 62,40 | 63,43 | 62,40 | 66,40 | 70,40 | 84,40 | 90,40 | 69,82 | 240,67 |
| 12 | 71,03 | 76,03 | 77,50 | 82,43 | 85,43 | 96,43 | 120,43 | 140,43 | 93,72 | 260,00 |
| 13 | 65,16 | 68,46 | 69,36 | 85,13 | 99,13 | 105,13 | 120,133 | 130,13 | 92,83 | 211,67 |
| 14 | 62,73 | 66,40 | 68,26 | 70,33 | 83,33 | 97,33 | 107,33 | 120,33 | 84,51 | 232,33 |
| 15 | 51,61 | 56,16 | 69,20 | 79,76 | 87,76 | 93,76 | 105,76 | 117,76 | 82,73 | 243,33 |
| 16 | 67,99 | 71,86 | 74,91 | 85,60 | 87,60 | 89,60 | 90,60 | 103,60 | 83,97 | 233,00 |
| 17 | 59,46 | 64,01 | 74,70 | 87,43 | 89,43 | 95,43 | 102,43 | 114,43 | 85,92 | 231,67 |
| 18 | 66,81 | 67,20 | 69,73 | 72,30 | 76,30 | 84,30 | 95,30 | 106,30 | 79,78 | 244,00 |
| 19 | 64,9 | 67,70 | 68,50 | 71,20 | 73,20 | 85,20 | 97,20 | 109,20 | 79,64 | 255,00 |
| 20 | 50,42 | 56,64 | 54,86 | 61,23 | 65,23 | 66,23 | 78,23 | 88,23 | 65,14 | 215,67 |
| Médias | 65,11 | 68,91 | 71,51 | 78,48 | 84,08 | 90,83 | 102,93 | 115,74 | 84,00 | 234,76 |
| CV exp % | 10,91 | 11,13 | 9,87 | 16,71 | 14,03 | 13,09 | 12,09 | 11,09 | | |

$CV_{exp. \%}$ = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 9. Valores médios de diâmetro (mm) das 20 progênes de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas.

| Progênes | Idade em meses | | | | | | | | Médias de progênes | Testemunhas |
|-----------------|----------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------|--------------|
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 | 21 | | |
| 1 | 8,99 | 9,93 | 12,81 | 15,81 | 17,81 | 22,81 | 27,81 | 34,87 | 18,86 | 46,96 |
| 2 | 9,24 | 10,87 | 13,52 | 15,52 | 16,52 | 19,52 | 26,52 | 33,65 | 18,18 | 42,58 |
| 3 | 6,53 | 7,93 | 9,86 | 11,86 | 17,86 | 19,86 | 25,86 | 31,70 | 16,44 | 39,05 |
| 4 | 8,19 | 9,72 | 12,12 | 14,12 | 16,12 | 19,12 | 24,12 | 30,35 | 16,74 | 37,56 |
| 5 | 7,00 | 7,96 | 9,31 | 12,31 | 15,31 | 19,31 | 26,31 | 31,63 | 16,15 | 42,63 |
| 6 | 8,79 | 10,04 | 13,14 | 15,14 | 17,14 | 19,14 | 23,14 | 29,67 | 17,03 | 37,28 |
| 7 | 8,48 | 9,82 | 13,33 | 15,33 | 17,33 | 19,33 | 22,33 | 29,21 | 16,91 | 36,17 |
| 8 | 8,00 | 9,26 | 12,14 | 15,14 | 19,14 | 22,14 | 27,14 | 32,96 | 18,25 | 41,89 |
| 9 | 8,57 | 10,51 | 12,49 | 13,49 | 15,49 | 19,49 | 22,49 | 28,88 | 16,43 | 35,83 |
| 10 | 7,27 | 8,96 | 11,26 | 13,26 | 15,26 | 21,26 | 27,26 | 32,71 | 17,16 | 38,69 |
| 11 | 7,01 | 8,35 | 10,02 | 12,02 | 13,02 | 16,02 | 20,02 | 25,30 | 13,97 | 35,75 |
| 12 | 8,76 | 9,67 | 11,72 | 13,72 | 14,72 | 18,72 | 25,72 | 32,58 | 16,95 | 38,95 |
| 13 | 9,63 | 10,70 | 13,12 | 15,12 | 17,12 | 19,12 | 23,12 | 30,19 | 17,27 | 44,92 |
| 14 | 6,98 | 8,29 | 9,86 | 11,86 | 17,86 | 23,86 | 28,86 | 34,12 | 17,21 | 40,48 |
| 15 | 8,21 | 9,64 | 12,39 | 14,39 | 17,39 | 23,39 | 27,39 | 33,46 | 18,28 | 45,29 |
| 16 | 8,53 | 10,00 | 13,49 | 15,49 | 18,49 | 21,49 | 28,49 | 34,76 | 18,85 | 37,87 |
| 17 | 8,00 | 9,18 | 11,55 | 13,55 | 15,55 | 22,55 | 26,55 | 32,49 | 17,43 | 45,35 |
| 18 | 7,57 | 9,99 | 13,99 | 15,99 | 17,99 | 22,99 | 27,99 | 33,97 | 18,81 | 36,89 |
| 19 | 7,16 | 7,90 | 9,61 | 11,61 | 16,61 | 20,61 | 24,61 | 30,37 | 16,06 | 41,49 |
| 20 | 5,41 | 6,12 | 8,31 | 10,31 | 12,31 | 15,31 | 19,31 | 24,10 | 12,66 | 29,19 |
| Médias | 7,92 | 9,25 | 11,71 | 13,81 | 16,26 | 20,31 | 25,26 | 31,35 | 16,98 | 39,74 |
| CV exp % | 8,91 | 7,13 | 6,87 | 9,71 | 6,03 | 7,09 | 5,09 | 7,00 | | |

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 11. Valores médios de peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$) das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas.

| Progênies | Idade em meses | | | | | | | | Médias das Progênies | Testemunhas |
|-----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------|--------------|
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 | 21 | | |
| 1 | 0,391 | 0,420 | 0,343 | 0,310 | 0,337 | 0,350 | 0,300 | 0,270 | 0,340 | 0,320 |
| 2 | 0,765 | 0,790 | 0,760 | 0,812 | 0,830 | 0,710 | 0,727 | 0,670 | 0,758 | 0,760 |
| 3 | 0,440 | 0,480 | 0,400 | 0,446 | 0,420 | 0,470 | 0,446 | 0,420 | 0,441 | 0,400 |
| 4 | 0,334 | 0,347 | 0,307 | 0,300 | 0,394 | 0,372 | 0,376 | 0,376 | 0,351 | 0,300 |
| 5 | 0,703 | 0,750 | 0,758 | 0,798 | 0,712 | 0,755 | 0,817 | 0,690 | 0,749 | 0,730 |
| 6 | 0,823 | 0,842 | 0,877 | 0,824 | 0,853 | 0,874 | 0,854 | 0,730 | 0,835 | 0,800 |
| 7 | 0,674 | 0,710 | 0,753 | 0,710 | 0,727 | 0,710 | 0,781 | 0,690 | 0,720 | 0,710 |
| 8 | 0,887 | 0,864 | 0,816 | 0,900 | 0,861 | 0,869 | 0,901 | 0,880 | 0,873 | 0,810 |
| 9 | 0,958 | 0,925 | 0,949 | 0,890 | 0,952 | 1,025 | 0,991 | 0,900 | 0,949 | 0,920 |
| 10 | 0,867 | 0,826 | 0,860 | 0,845 | 0,800 | 0,866 | 0,852 | 0,752 | 0,834 | 0,800 |
| 11 | 0,615 | 0,631 | 0,642 | 0,672 | 0,666 | 0,624 | 0,672 | 0,625 | 0,644 | 0,600 |
| 12 | 0,875 | 0,921 | 0,899 | 0,929 | 0,882 | 0,921 | 0,872 | 0,829 | 0,892 | 0,790 |
| 13 | 0,600 | 0,671 | 0,643 | 0,693 | 0,638 | 0,617 | 0,536 | 0,500 | 0,613 | 0,580 |
| 14 | 0,752 | 0,848 | 0,772 | 0,869 | 0,795 | 0,848 | 0,827 | 0,769 | 0,810 | 0,730 |
| 15 | 0,527 | 0,565 | 0,557 | 0,527 | 0,542 | 0,620 | 0,651 | 0,600 | 0,574 | 0,500 |
| 16 | 0,870 | 0,851 | 0,924 | 0,934 | 0,944 | 0,901 | 0,935 | 0,935 | 0,912 | 0,860 |
| 17 | 0,710 | 0,766 | 0,745 | 0,763 | 0,770 | 0,786 | 0,752 | 0,685 | 0,748 | 0,680 |
| 18 | 0,604 | 0,645 | 0,662 | 0,630 | 0,697 | 0,645 | 0,630 | 0,642 | 0,645 | 0,580 |
| 19 | 0,688 | 0,778 | 0,722 | 0,783 | 0,724 | 0,798 | 0,836 | 0,736 | 0,759 | 0,700 |
| 20 | 0,521 | 0,586 | 0,551 | 0,619 | 0,590 | 0,600 | 0,544 | 0,519 | 0,567 | 0,510 |
| Médias | 0,681 | 0,711 | 0,697 | 0,713 | 0,708 | 0,718 | 0,715 | 0,661 | 0,701 | 0,654 |
| CV exp % | 15,910 | 16,130 | 17,870 | 14,710 | 18,030 | 15,000 | 19,030 | 13,090 | | |

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 12. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*.

| Progênies | PH | M.O. | P. resina | H+Al | K | Ca | Mg |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------|------------------------|--------------|-------------|
| Tratamento 1 | CaCl ₂ | g dm ⁻³ | mg dm ⁻³ | | mmolc dm ⁻³ | | |
| 1 | 5,0 abc | 10 ab | 12 d | 17 abc | 0,6 d | 16 ab | 2,0 d |
| 2 | 4,1 abcd | 7 d | 25 cd | 13 d | 0,5 d | 11 bcd | 3,0 abc |
| 3 | 6,4 a | 12,0 a | 30 abc | 27 a | 0,4 d | 10 bcd | 5,0 a |
| 4 | 5,5 ab | 9 abcd | 32 ab | 16 abc | 1,1 abc | 13 bcd | 4,0 ab |
| 5 | 4,6 cd | 11 ab | 25 abcd | 15 cd | 0,8 cd | 12 bcd | 4,0 ab |
| 6 | 6,7 a | 8 cd | 26 cd | 18 ab | 0,7 cd | 15 ab | 5,0 a |
| 7 | 5,8 ab | 10 abc | 30 abc | 17 abc | 1,2 ab | 13 bcd | 5,0 a |
| 8 | 5,0 abc | 12,0 a | 31 abc | 15 cd | 1,3 ab | 10 bcd | 3,0 abc |
| 9 | 4,1 abcd | 7 d | 29 abcd | 13 d | 0,9 abcd | 12 bcd | 2,0 d |
| 10 | 5,1 abc | 9 abcd | 26 cd | 15 cd | 0,6 d | 12 bcd | 3,0 abc |
| 11 | 6,1 a | 11 ab | 28 abcd | 17 abc | 0,7 cd | 13 bcd | 4,0 ab |
| 12 | 5,2 abc | 7 d | 50 a | 13 d | 0,5 d | 16 ab | 2,5 d |
| 13 | 4,1 d | 7 d | 30 abc | 18 ab | 0,8 cd | 18 a | 3,0 abc |
| 14 | 4 d | 8 cd | 34 ab | 13 d | 0,8 cd | 16 ab | 4,0 ab |
| 15 | 4,6 cd | 9 abcd | 36 ab | 18 ab | 1,5 ab | 12 bcd | 5,0 a |
| 16 | 5,7 ab | 10 abc | 28 abcd | 15 cd | 2,1 a | 11 bcd | 2,0 d |
| 17 | 6,8 a | 11 ab | 37 ab | 18 ab | 0,9 abcd | 12 bcd | 2,0 d |
| 18 | 4,9 cd | 10 abc | 29 abcd | 19 ab | 1,1 abc | 13 bcd | 3,0 abc |
| 19 | 4,2 d | 9 abcd | 19 d | 14 cd | 1,3 ab | 19 a | 5,0 a |
| 20 | 6,2 a | 8 cd | 24 cd | 16 abc | 1,4 ab | 17 ab | 5,0 a |
| Médias | 5,27 | 9,3 | 29,05 | 16,35 | 0,96 | 13,55 | 3,7 |
| CV_{exp.}% | 15,8 | 19,2 | 17,8 | 18,9 | 15,9 | 16,4 | 19,3 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.}% = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 13. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*.

| Progênies | PH | M.O. | P. resina | H+Al | K | Ca | Mg |
|----------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Tratamento 2 | CaCl ₂ | g dm ⁻³ | mg dm ⁻³ | mmolc dm ⁻³ | | | |
| 1 | 4,0 abcd | 11 ab | 12 d | 17 abc | 0,6 d | 16 ab | 2,0 d |
| 2 | 3,9 abcd | 6,8 d | 25 cd | 18 abc | 0,5 d | 18 a | 3,0 abc |
| 3 | 6,2 a | 12,0 a | 30 abc | 27 a | 1,4 ab | 10 bcd | 5,0 a |
| 4 | 5,0 ab | 9 abcd | 32 ab | 16 abc | 1,1 abc | 13 bcd | 4,0 ab |
| 5 | 4,6 cd | 11 ab | 25 abcd | 15 cd | 0,8 cd | 12 bcd | 4,0 ab |
| 6 | 6,7 a | 9,5 abcd | 26 cd | 18 ab | 0,7 cd | 15 ab | 5,0 a |
| 7 | 5,8 ab | 10 abc | 30 abc | 17 abc | 1,2 ab | 13 bcd | 5,0 a |
| 8 | 5,9 ab | 12,0 a | 31 abc | 15 cd | 1,3 ab | 14 bcd | 3,0 abc |
| 9 | 6,1 a | 7 d | 29 abcd | 17 abc | 0,9 abcd | 12 bcd | 5,0 a |
| 10 | 5,1 abc | 9 abcd | 26 cd | 15 cd | 0,6 d | 12bcd | 3,0 abc |
| 11 | 6,1 a | 11 ab | 28 abcd | 17 abc | 0,7 cd | 13 bcd | 4,0 ab |
| 12 | 5,2 abc | 8 cd | 50 a | 13 d | 1,5 ab | 16 ab | 2,5 d |
| 13 | 4,5 cd | 9 abcd | 30 abc | 18 ab | 0,8 cd | 18 a | 3,0 abc |
| 14 | 4 d | 8 cd | 34 ab | 13 d | 0,8 cd | 16 ab | 4,0 ab |
| 15 | 4,6 cd | 9 abcd | 36 ab | 18 ab | 1,5 ab | 12 bcd | 5,0 a |
| 16 | 5,7 ab | 10 abc | 28 abcd | 19 ab | 2,1 a | 15 ab | 6,0 a |
| 17 | 6,9 a | 11 ab | 34 ab | 18 ab | 1,9 a | 12 bcd | 2,0 d |
| 18 | 4,9 cd | 11 ab | 29 abcd | 19 ab | 1,1 abc | 13 bcd | 3,0 abc |
| 19 | 4,2 d | 9 abcd | 20 d | 20 ad | 1,3 ab | 19 a | 5,0 a |
| 20 | 6,2 a | 8 cd | 24 cd | 16 abc | 1,4 ab | 17 ab | 5,0 a |
| Médias | 5,4 | 9,6 | 28,85 | 17,3 | 1,12 | 14,5 | 4 |
| CV_{exp.} % | 16,8 | 21 | 22,5 | 19,5 | 18,4 | 17,6 | 19,2 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 14. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progêneses de *Eucalyptus grandis*.

| Progênes | PH | M.O. | P. resina | H+Al | K | Ca | Mg |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Testemunha | CaCl ₂ | g dm ⁻³ | mg dm ⁻³ | mmolc dm ⁻³ | | | |
| 1 | 5,2 abc | 11 ab | 12 d | 17 abc | 0,6 d | 16 ab | 2,0 d |
| 2 | 4,3 abcd | 7 d | 25 cd | 13 d | 0,5 d | 11 bcd | 3,0 abc |
| 3 | 6,4 a | 12,0 a | 30 abc | 27 a | 0,4 d | 10 bcd | 5,0 a |
| 4 | 5,5 ab | 9 abcd | 32 ab | 16 abc | 1,1 abc | 13 bcd | 2,0 d |
| 5 | 4,6 cd | 11 ab | 25 abcd | 15 cd | 0,8 cd | 12 bcd | 4,0 ab |
| 6 | 6,5 a | 8 cd | 26 cd | 18 ab | 0,7 cd | 15 ab | 5,0 a |
| 7 | 5,8 ab | 12,0 a | 30 abc | 17 abc | 1,2 ab | 13 bcd | 5,0 a |
| 8 | 5,9 ab | 12,0 a | 31 abc | 15 cd | 1,3 ab | 10 bcd | 3,0 abc |
| 9 | 4,1 abcd | 7 d | 29 abcd | 13 d | 0,9 abcd | 12 bcd | 2,0 d |
| 10 | 5,1 abc | 9 abcd | 26 cd | 15 cd | 0,6 d | 12bcd | 3,0 abc |
| 11 | 4,1 | 11 ab | 28 abcd | 17 abc | 0,7 cd | 13 bcd | 4,0 ab |
| 12 | 5,2 abc | 7 d | 50 a | 13 d | 0,5 d | 16 ab | 2,5 d |
| 13 | 4,1 d | 7 d | 30 abc | 18 ab | 0,8 cd | 18 a | 3,0 abc |
| 14 | 4 d | 8 cd | 34 ab | 13 d | 0,8 cd | 16 ab | 4,0 ab |
| 15 | 4,6 cd | 9 abcd | 36 ab | 18 ab | 1,5 ab | 12 bcd | 5,0 a |
| 16 | 5,7 ab | 10 abc | 28 abcd | 15 cd | 2,1 a | 11 bcd | 2,0 d |
| 17 | 6,8 a | 12,0 a | 37 ab | 14 d | 0,9 abcd | 10 bcd | 2,0 d |
| 18 | 4,9 cd | 10 abc | 29 abcd | 19 ab | 1,1 abc | 13 bcd | 3,0 abc |
| 19 | 4,2 d | 9 abcd | 19 d | 14 d | 2,3 a | 19 a | 5,0 a |
| 20 | 6,2 a | 8 cd | 24 cd | 16 abc | 1,4 ab | 17 ab | 3,0 abc |
| Médias | 5,28 | 9,8 | 28,85 | 16, 8 | 1,16 | 14,2 | 3,81 |
| V_{exp.} % | 13,2 | 18,4 | 23,5 | 20,5 | 24,5 | 20,5 | 18,8 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 15. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*.

| Progênies | BORO | COBRE | FERRO | MANGANÊS | ZINCO |
|----------------------------|---------------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|
| Tratamento 1 | | | | | |
| | mg dm⁻³ | | | | |
| 1 | 0,42 d | 0,2 d | 6 bcd | 0,2 d | 1,4 d |
| 2 | 0,6 abc | 0,3 abcd | 7 abcd | 0,5 abc | 1,2 d |
| 3 | 0,58 abcd | 0,2 d | 8 abc | 0,4 abcd | 2,9 abc |
| 4 | 0,47 cd | 0,4 abc | 9 ab | 0,5 abc | 3,1 abc |
| 5 | 0,47 cd | 0,2 d | 9 ab | 0,4 abcd | 2,5 cd |
| 6 | 0,7 ab | 0,3 dc | 10,0 a | 0,3 cd | 4 ab |
| 7 | 0,65 abc | 0,3 dc | 8 abc | 0,3 cd | 2,1 cd |
| 8 | 0,8 ab | 0,4 abc | 7 abcd | 0,4 abcd | 0,9 d |
| 9 | 0,9 a | 0,5 ab | 6 bcd | 0,5 abc | 2,5 cd |
| 10 | 0,5 c | 0,6 a | 5 cd | 0,5 abc | 2,4 cd |
| 11 | 0,48 cd | 0,2 d | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,5 cd |
| 12 | 0,9 a | 0,3 abcd | 7 abcd | 0,5 abc | 4,2 ab |
| 13 | 0,63 abc | 0,4 abcd | 8 abc | 0,5 abc | 5,1 a |
| 14 | 0,93 a | 0,5 ab | 7 abcd | 0,3 cd | 2,5 abcd |
| 15 | 0,75 ab | 0,2 d | 9 ab | 0,6 ab | 2,4 abcd |
| 16 | 0,6 abc | 0,6 a | 8 abc | 0,5 abc | 4 ab |
| 17 | 0,58 abcd | 0,3 abcd | 7 abcd | 0,5 abc | 3,6 abc |
| 18 | 0,63 abc | 0,4 abc | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,8 cd |
| 19 | 0,58 abcd | 0,2 d | 6 bcd | 0,8 a | 4,3 ab |
| 20 | 0,49 c | 0,5 ab | 5 cd | 0,6 ab | 3,3 abcd |
| Médias | 0,63 | 0,35 | 7,2 | 0,46 | 2,9 |
| CV_{exp.} % | 13,5 | 11,6 | 12,8 | 15,3 | 17,2 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 16. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênies de *Eucalyptus grandis*.

| Progênies | BORO | COBRE | FERRO | MANGANÊS | ZINCO |
|----------------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Tratamento 2 | | | | | |
| | mg dm ⁻³ | | | | |
| 1 | 0,46 d | 0,2 d | 6,1 bcd | 0,2 d | 1,2 d |
| 2 | 0,63 abc | 0,3 abcd | 7,2 abcd | 0,53 abc | 1,1 d |
| 3 | 0,56 abcd | 0,2 d | 8 abc | 0,4 abcd | 2,8 abc |
| 4 | 0,49 cd | 0,5 ab | 9,2 ab | 0,52 abc | 3,1 abc |
| 5 | 0,59 abcd | 0,2 d | 9 ab | 0,4 abcd | 2,4 cd |
| 6 | 0,71 ab | 0,3 dc | 10,0 a | 0,31 cd | 4 ab |
| 7 | 0,65 abc | 0,3 dc | 8 abc | 0,3 cd | 2,1 cd |
| 8 | 0,8 ab | 0,4 abc | 7,abcd | 0,4 abcd | 1,2 d |
| 9 | 0,91 a | 0,5 ab | 6 bcd | 0,5 abc | 2,5 cd |
| 10 | 0,53 c | 0,62 a | 5 cd | 0,52 abc | 2,3 cd |
| 11 | 0,48 cd | 0,2 d | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,5 cd |
| 12 | 0,9 a | 0,3 abcd | 7,1 abcd | 0,5 abc | 4,2 ab |
| 13 | 0,63 abc | 0,4 abc | 8 abc | 0,5 abc | 5,2 a |
| 14 | 0,94 a | 0,5 ab | 7 abcd | 0,3 cd | 2,5 abcd |
| 15 | 0,75 ab | 0,2 d | 9 ab | 0,62 ab | 2,4 abcd |
| 16 | 0,6 abc | 0,63 a | 8 abc | 0,5 abc | 4 ab |
| 17 | 0,57 abcd | 0,3 abcd | 7,3 abcd | 0,51 abc | 3,6 abc |
| 18 | 0,63 abc | 0,4 abc | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,8 cd |
| 19 | 0,57 abcd | 0,2 d | 6,1 bcd | 0,82 a | 4,2 ab |
| 20 | 0,49 cd | 0,5 ab | 5,1 cd | 0,6 ab | 3,3 abcd |
| Médias | 0,65 | 0,36 | 7,3 | 0,46 | 2,7 |
| CV_{exp.} % | 14,1 | 12,5 | 11,6 | 14,8 | 16,8 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 17. Médias de amostras de análise química do solo Latossolo Vermelho de textura média após 10 meses em vaso com as progênes de *Eucalyptus grandis*.

| Progênes | BORO | COBRE | FERRO | MANGANÊS | ZINCO |
|----------------------------|--------------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|
| Testemunha | mg/dm³ | | | | |
| 1 | 0,32 d | 0,2 d | 6 bcd | 0,2 d | 1,4 d |
| 2 | 0,6 abc | 0,3 cd | 7abcd | 0,5 abc | 1,2 d |
| 3 | 0,58 abcd | 0,2 d | 8 abc | 0,4 abcd | 0,9 d |
| 4 | 0,45 c | 0,4 abc | 9 ab | 0,5 abc | 3,1 abc |
| 5 | 0,45 c | 0,2 d | 9 ab | 0,4 abcd | 2,5 cd |
| 6 | 0,7 ab | 0,3 cd | 10,0 a | 0,3 cd | 4 ab |
| 7 | 0,65 abc | 0,3 cd | 8 abc | 0,3 cb | 2,1 cd |
| 8 | 0,8 ab | 0,2 d | 7 abcd | 0,4 abcd | 0,9 d |
| 9 | 0,8 ab | 0,5 ab | 6 bcd | 0,5 abc | 2,5 cd |
| 10 | 0,5 c | 0,4 abc | 5 cd | 0,5 abc | 1,4 d |
| 11 | 0,48 cd | 0,2 d | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,5 cd |
| 12 | 0,82 ab | 0,3 abcd | 7 abcd | 0,5 abc | 2,2 cd |
| 13 | 0,63 abc | 0,4 abc | 8 abc | 0,5 abc | 5,1 a |
| 14 | 0,32 d | 0,5 ab | 7 abcd | 0,3 cd | 2,5 abcd |
| 15 | 0,5 abcd | 0,2 d | 9 ab | 0,6 ab | 2,4 abcd |
| 16 | 0,6 abc | 0,1 d | 8 abc | 0,5 abc | 4 ab |
| 17 | 0,5 abcd | 0,3 cd | 7 abcd | 0,5 abc | 1,2 d |
| 18 | 0,61 abc | 0,4 abc | 6 bcd | 0,4 abcd | 2,8 cd |
| 19 | 0,58 abcd | 0,2 d | 4 d | 0,8 a | 4,3 ab |
| 20 | 0,45 c | 0,4 abc | 5 cd | 0,6 ab | 2,3 abcd |
| Médias | 0,57 | 0,3 | 7,1 | 0,42 | 2,47 |
| CV_{exp.} % | 12,5 | 13,4 | 17,9 | 18,6 | 15,9 |

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estaticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

CV_{exp.} % = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 19. Valores médios de teores de clorofila (SPAD) das 20 progênies de *Eucalyptus grandis* aos 7, 9, 11, 13, 15, 19 e 21 meses de idade sob efeito da aplicação de paclobutrazol e testemunhas.

| Progênies | Idade em meses | | | | | | | | Médias de progênies | Testemunhas |
|-----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------------|---------------|
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 | 21 | | |
| 1 | 268,19 | 265,23 | 265,79 | 270,49 | 260,00 | 265,23 | 270,79 | 268,00 | 266,72 | 270,50 |
| 2 | 293,59 | 290,45 | 296,40 | 291,14 | 290,45 | 290,45 | 296,40 | 290,90 | 292,48 | 291,15 |
| 3 | 271,33 | 274,15 | 267,22 | 261,57 | 274,15 | 264,15 | 267,22 | 271,00 | 268,85 | 261,57 |
| 4 | 257,87 | 254,43 | 236,89 | 252,05 | 254,43 | 253,00 | 236,89 | 256,00 | 250,20 | 250,05 |
| 5 | 236,70 | 240,15 | 245,05 | 241,15 | 240,00 | 241,50 | 243,05 | 236,70 | 240,54 | 241,15 |
| 6 | 275,47 | 277,71 | 277,95 | 275,78 | 275,71 | 274,71 | 276,95 | 275,47 | 276,22 | 275,79 |
| 7 | 267,30 | 267,45 | 257,58 | 241,19 | 267,45 | 267,45 | 257,58 | 266,00 | 261,50 | 241,19 |
| 8 | 258,08 | 269,35 | 278,50 | 278,51 | 269,35 | 268,00 | 278,56 | 258,08 | 269,81 | 278,51 |
| 9 | 280,64 | 279,94 | 283,68 | 285,86 | 271,94 | 279,94 | 263,68 | 279,00 | 278,09 | 281,87 |
| 10 | 260,58 | 258,78 | 261,77 | 268,09 | 251,78 | 248,00 | 261,77 | 250,58 | 257,67 | 268,10 |
| 11 | 247,79 | 261,88 | 269,16 | 259,77 | 261,80 | 251,00 | 269,16 | 246,00 | 258,33 | 259,78 |
| 12 | 275,96 | 280,41 | 287,07 | 280,82 | 280,41 | 280,41 | 277,07 | 275,00 | 279,65 | 280,83 |
| 13 | 294,60 | 296,61 | 303,98 | 317,37 | 296,61 | 292,61 | 306,00 | 294,00 | 300,22 | 307,38 |
| 14 | 295,94 | 300,00 | 305,86 | 313,87 | 302,00 | 300,70 | 305,86 | 292,00 | 302,03 | 313,88 |
| 15 | 224,85 | 221,58 | 215,78 | 238,18 | 221,58 | 241,58 | 245,78 | 244,85 | 231,77 | 238,18 |
| 16 | 307,78 | 308,33 | 301,11 | 314,98 | 308,33 | 308,33 | 301,11 | 307,00 | 307,12 | 314,99 |
| 17 | 257,27 | 252,85 | 269,43 | 268,05 | 262,85 | 264,85 | 266,43 | 257,00 | 262,34 | 260,05 |
| 18 | 289,95 | 280,87 | 284,97 | 264,81 | 280,87 | 273,00 | 284,97 | 287,00 | 280,81 | 264,81 |
| 19 | 289,44 | 298,03 | 316,69 | 305,19 | 291,03 | 298,03 | 306,69 | 293,42 | 299,82 | 300,19 |
| 20 | 256,18 | 266,61 | 271,71 | 256,30 | 266,61 | 256,16 | 261,71 | 257,00 | 261,54 | 256,31 |
| Médias | 270,83 | 272,69 | 275,38 | 274,91 | 272,12 | 271,81 | 274,84 | 271,30 | 272,99 | 272,81 |
| CV exp % | 12,91 | 13,13 | 11,87 | 14,01 | 10,03 | 15,09 | 16,3 | 14,09 | | |

CV_{exp}.% = Coeficiente de Variação Experimental

Tabela 21. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_d^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ decomp g m f⁻¹ min⁻¹).

| Idade em meses | Altura (σ_d^2) | Diâmetro (σ_d^2) | Clorofila (σ_d^2) | Peroxidase (σ_d^2) |
|----------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 7 | 40,68 | 0,22 | 507,45 | 220,8 |
| 9 | 116,89 | 0,76 | 787,13 | 285,5 |
| 11 | 117,1 | 1,89 | 544,41 | 270,8 |
| 13 | 111,26 | 2,82 | 900,49 | 392,5 |
| 15 | 185,82 | 6,54 | 916,93 | 280,5 |
| 17 | 195 | 8,8 | 820 | 285,9 |
| 19 | 189,8 | 7,1 | 901,5 | 390,6 |
| 21 | 180,7 | 6,9 | 810 | 300,5 |
| Médias | 142,16 | 4,38 | 773,49 | 303,39 |

Evolução da variância dentro ($\hat{\sigma}_d^2$), em função da idade aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 22. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_e^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ decomp g m f⁻¹ min⁻¹).

| Idade em meses | Altura (σ_e^2) | Diâmetro (σ_e^2) | Clorofila (σ_e^2) | Peroxidase (σ_e^2) |
|----------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 7 | 4,67 | 2,15 | 280,54 | 330,54 |
| 9 | 13,22 | 2,22 | 326,86 | 340,86 |
| 11 | 1,57 | 2,18 | 299,54 | 309,54 |
| 13 | 1,42 | 2,36 | 262,64 | 282,64 |
| 15 | 14,63 | 2,25 | 365,82 | 375,82 |
| 17 | 6,5 | 3,2 | 299,54 | 310,54 |
| 19 | 7 | 3,5 | 309,54 | 319,54 |
| 21 | 13 | 3,4 | 308,54 | 328,54 |
| Médias | 7,75 | 2,66 | 306,63 | 324,75 |

Evolução da variância ambiental ($\hat{\sigma}_e^2$) em função da idade aos 7, 9, 11, 13, 15, 17 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 23. Avaliações para estimativas dos valores de variâncias ($\hat{\sigma}_p^2$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

| Idade em meses | Altura (σ_p^2) | Diâmetro (σ_p^2) | Clorofila (σ_p^2) | Peroxidase (σ_p^2) |
|----------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 7 | 69,25 | 12,04 | 300,89 | 2,50 |
| 9 | 67,08 | 13,00 | 297,76 | 4,49 |
| 11 | 66,44 | 15,98 | 356,17 | 3,41 |
| 13 | 60,41 | 14,19 | 381,98 | 4,40 |
| 15 | 60,31 | 16,60 | 206,07 | 5,38 |
| 17 | 66,00 | 17,80 | 208,08 | 4,36 |
| 19 | 59,50 | 16,90 | 340,00 | 5,32 |
| 21 | 63,50 | 16,75 | 320,00 | 4,30 |
| Médias | 64,06 | 15,41 | 301,37 | 4,27 |

Evolução da variância genética ($\hat{\sigma}_p^2$) em função da idade aos 7, 9, 11, 13, 15, 17 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 24. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação experimental ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

| Idade em meses | Altura ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) | Diâmetro ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) | Clorofila ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) | Peroxidase ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) |
|----------------|--|--|---|--|
| 7 | 16,02 | 5,80 | 7,06 | 10,00 |
| 9 | 16,84 | 5,11 | 7,88 | 11,50 |
| 11 | 15,03 | 6,62 | 7,66 | 10,80 |
| 13 | 16,70 | 8,44 | 9,11 | 12,50 |
| 15 | 16,49 | 6,68 | 10,77 | 13,00 |
| 17 | 16,90 | 6,00 | 10,60 | 12,00 |
| 19 | 16,50 | 7,60 | 10,80 | 12,70 |
| 21 | 16,00 | 4,50 | 10,00 | 12,30 |
| Médias | 16,31 | 6,34 | 9,24 | 11,85 |

Evolução do coeficiente de variação genética experimental ($\text{CV}_{\text{exp.}\%}$) em função da idade aos 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 25. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação dentro ($CV_d\%$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

| Idade em meses | Altura ($CV_d\%$) | Diâmetro ($CV_d\%$) | Clorofila ($CV_d\%$) | Peroxidase ($CV_d\%$) |
|----------------|---------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| 7 | 23,27 | 10,18 | 10,86 | 10,90 |
| 9 | 22,94 | 10,39 | 10,72 | 12,40 |
| 11 | 20,14 | 9,69 | 11,57 | 13,00 |
| 13 | 19,38 | 9,39 | 12,01 | 12,00 |
| 15 | 19,76 | 9,00 | 11,56 | 12,20 |
| 17 | 20,00 | 9,50 | 11,00 | 12,00 |
| 19 | 19,80 | 9,50 | 11,50 | 10,80 |
| 21 | 19,00 | 9,00 | 10,20 | 10,40 |
| Médias | 20,54 | 9,58 | 11,18 | 11,71 |

Evolução do coeficiente de variação dentro ($CV_d\%$) em função da idade aos 7, 9, 11,13, 15, 17, 19 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 26. Avaliações para estimativas dos valores de coeficiente de variação genético ($CV_g\%$) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2 \text{ decomp g m f}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

| Idade em meses | Altura ($CV_g\%$) | Diâmetro ($CV_g\%$) | Clorofila ($CV_g\%$) | Peroxidase ($CV_g\%$) |
|----------------|---------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| 7 | 12,75 | 11,30 | 6,27 | 8,00 |
| 9 | 12,50 | 10,62 | 5,04 | 9,00 |
| 11 | 12,60 | 10,53 | 6,68 | 7,80 |
| 13 | 11,10 | 10,00 | 6,97 | 8,40 |
| 15 | 11,50 | 10,80 | 6,68 | 8,20 |
| 17 | 11,50 | 11,40 | 6,00 | 7,00 |
| 19 | 11,20 | 11,00 | 7,00 | 7,50 |
| 21 | 10,00 | 9,60 | 6,80 | 7,60 |
| Médias | 11,64 | 10,66 | 6,43 | 7,94 |

Evolução do coeficiente de variação genética ($CV_g\%$) em função da idade aos 7, 9, 11,13, 15, 17, 19 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 27. Avaliações para estimativas dos valores de herdabilidade no sentido restrito (\hat{h}^2) para as características altura (cm) de plantas, diâmetro do colo (mm) de plantas, teores de clorofila (CM) e peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ decomp $\text{g m f}^{-1} \text{min}^{-1}$).

| Idade em meses | Altura (h^2sri) | Diâmetro (h^2sri) | Clorofila (h^2sri) | Peroxidase (h^2sri) |
|----------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 7 | 0,60 | 0,40 | 0,35 | 0,35 |
| 9 | 0,60 | 0,50 | 0,36 | 0,29 |
| 11 | 0,67 | 0,40 | 0,28 | 0,30 |
| 13 | 0,65 | 0,45 | 0,30 | 0,24 |
| 15 | 0,60 | 0,43 | 0,35 | 0,27 |
| 17 | 0,64 | 0,40 | 0,33 | 0,28 |
| 19 | 0,62 | 0,45 | 0,28 | 0,26 |
| 21 | 0,58 | 0,42 | 0,33 | 0,20 |
| Média | 0,62 | 0,43 | 0,32 | 0,27 |

Evolução do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito (\hat{h}^2) em função da idade aos 7, 9, 11, 13,15, 17, 19 e 21 meses respectivamente para as características estudadas.

Tabela 31. Matriz de distâncias genéticas para as 20 progênes (Pr.) de *Eucalyptus grandis* estudadas.

| Pr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 1 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0,1401 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0,3501 | 0,2540 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0,3508 | 0,4478 | 0,2857 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0,2606 | 0,3217 | 0,3565 | 0,3217 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0,3522 | 0,3390 | 0,3091 | 0,2576 | 0,2737 | ***** | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0,2779 | 0,2724 | 0,2603 | 0,3731 | 0,2783 | 0,3232 | ***** | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 0,2750 | 0,2373 | 0,2373 | 0,3898 | 0,3476 | 0,3273 | 0,2746 | ***** | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 0,3939 | 0,3729 | 0,3273 | 0,3559 | 0,3478 | 0,2510 | 0,1068 | 0,2314 | ***** | | | | | | | | | | | |
| 10 | 0,3227 | 0,2239 | 0,3016 | 0,3731 | 0,2087 | 0,3390 | 0,3478 | 0,2373 | 0,3068 | ***** | | | | | | | | | | |
| 11 | 0,2903 | 0,1940 | 0,3016 | 0,3731 | 0,1870 | 0,1068 | 0,4478 | 0,2390 | 0,2051 | 0,1791 | ***** | | | | | | | | | |
| 12 | 0,3232 | 0,2787 | 0,3860 | 0,3934 | 0,2000 | 0,3585 | 0,2839 | 0,2151 | 0,2453 | 0,2787 | 0,2787 | ***** | | | | | | | | |
| 13 | 0,2573 | 0,1864 | 0,2364 | 0,4068 | 0,2652 | 0,3922 | 0,2915 | 0,1961 | 0,4237 | 0,2881 | 0,3220 | 0,3396 | ***** | | | | | | | |
| 14 | 0,2749 | 0,2239 | 0,2698 | 0,4328 | 0,4565 | 0,3220 | 0,2075 | 0,2034 | 0,4068 | 0,2090 | 0,2388 | 0,3279 | 0,1525 | ***** | | | | | | |
| 15 | 0,4029 | 0,4030 | 0,4010 | 0,5239 | 0,4348 | 0,4237 | 0,3582 | 0,3898 | 0,3220 | 0,3881 | 0,3582 | 0,3934 | 0,4068 | 0,4478 | ***** | | | | | |
| 16 | 0,1318 | 0,2090 | 0,1175 | 0,2478 | 0,1252 | 0,2898 | 0,2000 | 0,2712 | 0,2559 | 0,2239 | 0,1940 | 0,2581 | 0,3051 | 0,2239 | 0,3200 | ***** | | | | |
| 17 | 0,1049 | 0,2239 | 0,1333 | 0,1030 | 0,1565 | 0,2576 | 0,1412 | 0,3051 | 0,2051 | 0,2090 | 0,2010 | 0,2903 | 0,1542 | 0,2290 | 0,2882 | 0,1353 | ***** | | | |
| 18 | 0,1177 | 0,1678 | 0,1351 | 0,1081 | 0,1148 | 0,1254 | 0,1382 | 0,2915 | 0,1729 | 0,2030 | 0,1731 | 0,1177 | 0,1198 | 0,1231 | 0,4233 | 0,1382 | 0,1482 | ***** | | |
| 19 | 0,2105 | 0,1388 | 0,1140 | 0,2075 | 0,2170 | 0,1129 | 0,1247 | 0,1220 | 0,1129 | 0,2134 | 0,2236 | 0,2710 | 0,1881 | 0,1337 | 0,2328 | 0,1282 | 0,1912 | 0,2382 | ***** | |
| 20 | 0,1319 | 0,1888 | 0,1698 | 0,1139 | 0,1383 | 0,2068 | 0,1259 | 0,3051 | 0,2190 | 0,1737 | 0,1201 | 0,1471 | 0,1203 | 0,1440 | 0,4311 | 0,1145 | 0,1111 | 0,1291 | 0,1999 | ***** |

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)