



HELOISA GUIMARÃES SANTOS

**STRATEGIES TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF
SINGLE-TREE PLOT IN EUCALYPTUS BREEDING**

**LAVRAS – MG
2022**

HELOISA GUIMARÃES SANTOS

**STRATEGIES TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF SINGLE-TREE PLOT IN
EUCALYPTUS BREEDING**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dra. Flávia Maria Avelar Gonçalves

Coorientador

Dr. Magno Antonio Patto Ramalho

**LAVRAS – MG
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Setor de Repositório
Insitucional da Biblioteca Universitária da UFLA**

Santos, Heloisa Guimarães.

Strategies to improve the efficiency of single-tree plot in eucalyptus breeding / Heloisa Guimarães Santos. - 2022.

65 p. : il.

Orientador(a): Flávia Maria Avelar Gonçalves.

Coorientador(a): Magno Antônio Patto Ramalho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Missing plant adjustment. 2. Number of repetition. 3. Genotypes x Environments interaction. I. Gonçalves, Flávia Maria Avelar. II. Ramalho, Magno Antônio Patto. III. Título.

HELOISA GUIMARÃES SANTOS

**STRATEGIES TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF SINGLE-TREE PLOT IN
EUCALYPTUS BREEDING**

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A EFICIÊNCIA DE PARCELAS DE UMA
PLANTA NO MELHORAMENTO DO EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 17 de janeiro de 2022.

Dr. Flávia Maria Avelar Gonçalves	UFLA
Dr. Magno Antonio Patto Ramalho	UFLA
Dr. Tiago de Souza Marçal	UFLA
Dr. José Luís Lima	SUZANO S.A.
Dr. José Airton Rodrigues Nunes	UFLA



Dra. Flávia Maria Avelar Gonçalves
Orientadora

Coorientador
Dr. Magno Antonio Patto Ramalho

**LAVRAS – MG
2022**

A todos os brasileiros, que por meio dos impostos financiaram toda a minha formação.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que me fez encontrar luz em momentos em que eu estava na completa escuridão, sem saber o que fazer. Agradeço a ele por operar tantos milagres em minha vida, e sobretudo, por ter colocado no meu caminho pessoas tão especiais.

Meus pais que me ensinaram valores, tudo que sou, eu devo a eles. Obrigada por entenderem minha ausência nos momentos em que a minha vida acadêmica me exigia. Obrigada ao meu irmão Helton, que tanto me apoiou e me ajudou nessa reta final da tese.

Durante minha caminhada posso afirmar que estava rodeada de anjos, muitos anjos bons. Um deles foi a professora Flávia. Tenho muito a agradecer-lá. Uma pessoa humana, sempre disposta a ouvir, a aconselhar e que nunca mediu nenhum esforço para ajudar. Ela foi mais que uma orientadora, foi uma verdadeira ‘mãe’ que me ajudou e me incentivou imensamente nessa caminhada. Uma orientadora que sempre me deu liberdade, que acreditou e me apoiou em tudo, tanto em assuntos pessoais quanto em acadêmicos. Um exemplo de eficiência e competência que pude acompanhar.

Um outro anjo foi o professor Magno. Ele foi uma peça fundamental na minha formação. É o meu guru da quantitativa. Por diversas vezes, especialmente nesse último ano, durante a pandemia de COVID-19, eu sentia que mais que me orientando, ele estava me treinando para ser uma boa melhorista. É uma grande honra estar ao lado de um profissional tão dedicado e tão brilhante. Sempre me incentivou e me convidou a pensar na forma de produzir ciência, o quanto nós cientistas devemos trazer valor à sociedade. Muito obrigada professor pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e por todo o conhecimento transmitido.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras e ao programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade concedida. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), CAPES e à FAPEMIG. O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq.

Obrigada a todos os professores do PPGGM, José Airton, Evandro, Vânia, João Cândido, por toda a atenção e os conhecimentos transmitidos. Em especial, ao professor Tiago que sempre esteve disposto a tirar minhas dúvidas e tanto colaborou para a minha formação.

Obrigada também a todos os funcionários de limpeza, campo e secretárias. Sem dúvidas, vocês facilitam muito a nossa vida cotidiana. Muito obrigada Dona Iron, pela sua companhia durante o almoço. Muito obrigada!

À Suzano S.A. por gentilmente ter cedido os dados para a tese e a todos os membros da banca pelas valiosas contribuições.

Agradeço também aos grandes amigos que fiz no grupo de estudos GEN. Muito obrigada por todas as discussões, pelos momentos de estudo e também de descontração durante os cafés na cantina. Aqui foi um lugar que fiz verdadeiros amigos, Reberth, Botinha, Eric, Maiara, Felipe, Cinthia, Paula, Thais, Thaíse, Gui. Muito obrigada por cada vez que eu pude ir a campo com vocês e aprender com vocês. O GEN foi uma das melhores partes do meu doutorado tanto para o meu crescimento pessoal, quanto profissional.

Obrigada ao grupo de melhoramento de Perenes, Paiero, Ana Flávia, Tiago, Gabi, Tocha, Regis, Carioca, Lucas, Tácio. É bom trabalhar perto de gente motivada e bem-humorada.

Agradeço as minhas amigas de república Paula, Roxane, Brena Kelly. Obrigada pelo convívio e as discussões de genética, principalmente neste último ano. Minha quarentena foi bem menos sofrida porque eu morava com vocês. Sem vocês, provavelmente eu não seria a mesma.

Muito obrigada!

*If my mind can conceive it.
And my heart can believe it.
So, I can achieve it.*

Muhammad Ali

RESUMO GERAL

Parcela de uma única planta (*single-tree plot* - STP) é amplamente utilizada nos programas de melhoramento do eucalipto. Ela tem a vantagem de possibilitar a utilização de grande número de repetições, o que contribui para a melhoria da precisão experimental. A sua utilização, entretanto, tem sido questionada devido a uma possível influência da perda de plantas das parcelas, do efeito dos vizinhos e da viabilidade em se utilizar um número menor de repetições. Do exposto, foi realizado o presente trabalho com o objetivo de: verificar a influência de vizinhos em experimentos em STP; verificar a influência de falhas ou plantas dominadas; avaliar o número mínimo de repetições sem reduzir a acurácia seletiva; identificar possíveis influências do número de repetições nas inferências a serem obtidas na interação clones x ambientes. Para responder essas indagações, foram realizados três trabalhos de pesquisa. Os experimentos foram conduzidos em quatro estados brasileiros pela empresa Suzano S.A. Foram utilizados dados do incremento médio anual (IMA, $m^3 \cdot ha^{-1} \cdot ano^{-1}$), aos três anos de idade. O delineamento foi sempre em blocos completos casualizados. No primeiro trabalho, foram utilizados dados de STP para verificar a influência de vizinhos, falhas e árvores dominadas. O efeito de falhas e árvores dominadas foi estudado por meio da correção entre o IMA de cada clone e a média do IMA dos oito clones vizinhos. Foram realizadas análises considerando dados não ajustados, dados ajustados com as falhas e dados ajustados com falhas e árvores dominadas. No segundo trabalho, o efeito do número de repetições foi avaliado a partir de seis experimentos com 30 repetições de STP. Foram simulados o efeito do número de repetições variando de dois a 29. Para cada número de repetições, foram realizadas 1.000 reamostragens, sem reposição. Em cada reamostragem, foram estimados o efeito do número de repetições nas estimativas da média fenotípica, da variância genética e da acurácia. No terceiro trabalho foi verificada a influência do número de repetições nas inferências obtidas a partir da interação CxA nos experimentos em STP. Avaliou-se o efeito do número de repetições, nas estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, sobretudo envolvendo as análises conjuntas de todos os ambientes e dos possíveis pares de ambientes. Verificou-se que no STP, os desempenhos dos clones não são influenciados pelo comportamento dos vizinhos. Não se observou aumento da acurácia experimental em nenhum tipo de ajuste. O ranqueamento dos clones não foi alterado, não justificando realizar correção de falhas ou árvores dominadas. Constatou-se, no segundo trabalho, que o efeito na média das estimativas da acurácia foi muito semelhante nos diferentes números de repetições. Contudo, o desvio padrão das estimativas reduziu com o aumento do número de repetições. No terceiro trabalho, constatou-se que, as inferências a respeito das interações clones x ambientes foram bem semelhantes, independentemente do número de repetições. Os desvios associados às estimativas dos parâmetros estimados reduziram com o número de repetições, sem, contudo, provocar alterações expressivas nos resultados das análises conjuntas.

Palavras-chave: Melhoramento do eucalipto. Biometria. Genética Quantitativa. Interação genótipos x ambientes. Acurácia.

ABSTRACT

Single-tree plot (STP) is widely used in eucalyptus breeding programs. It has the advantage of allowing the use of a large number of repetitions, which contributes to improve the experimental precision. Its use, however, has been questioned due to a possible influence of missing plants in the plots, the effect of neighbors and its viability using the lowest number of repetitions. From the above, the present study was carried out with the objective of: verifying the influence of neighbors in experiments in STP; verifying the influence of missing or dominated plants; to evaluate a minimum number of repetitions in these experiments, without reducing the selective accuracy; to identify possible influences of the number of repetitions in the inferences to be obtained in the interaction clones x environments. To answer these questions, three research studies were carried out. The experiments were carried out in four Brazilian states by the company Suzano S.A. Data on the average annual increment (MAI, $\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{year}^{-1}$) at three years of age were used. The design was always in randomized complete blocks. In the first study, STP data were used to verify the influence of neighbors, missing and dominated trees. The effect of missing and dominated trees was studied through the correction between the MAI of each clone/plot and the average of a clonal MAI of the eight neighbors. Analyses were performed considering non-adjusted data, data adjusted with missing and data adjusted with missing and dominated trees. In the second study, the effect of the number of repetitions was evaluated from six experiments with 30 repetitions of STP. The effect of the number of repetitions varying from 2 to 29 was simulated. For each number of repetitions, 1000 resampling, without replacement. In each simulation, the effect of the number of repetitions in the estimates of the general mean, the genetic variance and the accuracy was estimated. In the third study, to verify the influence of the number of repetitions on the inferences obtained from the CxA interaction in the STP experiments. The number of repetitions was simulated, in the estimation of genetic and phenotypic parameters, mainly involving the joint analysis of all environments and possible pairs of environments. It was verified that in STP, the performance of the clones is not influenced by the behavior of the neighbors. No increase in experimental accuracy was observed in any type of adjustment. The ranking of clones was not changed, not justifying the correction of missing or dominated trees. In the second study, it was found that the effect in the mean accuracy estimates were very similar in the different numbers of repetitions. However, the standard deviation of the estimates reduced with the increase in the number of repetitions. In the third study, it was found that the inferences about the interactions clones x environments were very similar, regardless of the number of repetitions. Again, the deviations associated with each estimated parameter reduced with the number of repetitions, without, however, causing significant changes in the results of the joint analyses.

Keywords: Eucalyptus breeding. Biometry. Quantitative Genetics. Genotypes x environments interaction. Accuracy.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1 INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS	14
SEGUNDA PARTE	16
2 ARTIGO 1- Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in <i>Eucalyptus</i> plantations	16
2.1 ABSTRACT	18
2.2 INTRODUCTION	18
2.3 MATERIALS AND METHODS	19
2.4 RESULTS	21
2.5 DISCUSSION	23
2.6 CONCLUSIONS	25
REFERENCES	25
3 ARTIGO 2- Seria possível reduzir o número de repetições nas avaliações de clones em <i>single-tree plot</i>?	26
3.1 RESUMO	27
3.2 INTRODUÇÃO	27
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.4 RESULTADOS	31
3.5 DISCUSSÃO	34
3.6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	38
MATERIAL SUPLEMENTAR	41
4 ARTIGO 3 - Implicações do número de repetições nas inferências obtidas na interação de clones x ambientes	46
4.1 RESUMO	47
4.2 INTRODUÇÃO	47
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	49
4.4 RESULTADOS	52
4.5 DISCUSSÃO	58
4.6 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	63

PRIMEIRA PARTE

INTRODUÇÃO GERAL

O eucalipto é a espécie florestal mais plantada no Brasil. A área cultivada corresponde a 77% da área total de florestas plantadas, totalizando 6,96 milhões de hectares (IBÁ, 2020). A produtividade florestal alcançada nos últimos 50 anos, para a espécie, consolidou o país, como um dos maiores produtores mundiais de celulose e outros derivados da madeira (RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021). Esse sucesso foi devido, principalmente, ao investimento em pesquisa, predominantemente realizado pelas empresas privadas, em várias áreas do conhecimento, com destaque para o melhoramento genético (ASSIS; ABAD; AGUIAR, 2015; RESENDE; ALVES, 2021). A continuidade desse sucesso irá exigir superar vários desafios, entre eles; a produtividade por área, que já é relativamente alta. Assim, continuar tendo o mesmo sucesso será ainda mais desafiador.

A demanda pelos produtos derivados da madeira é crescente e irá exigir o cultivo de novas áreas. Certamente, essas áreas terão maiores problemas do que as anteriormente utilizadas. Além do mais, as alterações no ambiente são esperadas com o aquecimento global. Entre as estratégias utilizadas para superar esse desafio, tem sido procurado alternativas para aumentar a eficiência dos programas de seleção e reduzir o tempo necessário para se obter novos clones (WHITE et al., 2014).

Embora o emprego de experimentos utilizando uma planta por parcela (*single-tree plot* - STP), em plantas perenes, seja conhecido há longo tempo (FRANKLIN, 1971; LIBBY; COCKERHAM, 1980; LOO-DINKINS; TAUER; LAMBETH, 1990), o seu uso tem-se intensificado no melhoramento do eucalipto no Brasil (GALLO et al., 2018; REZENDE et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; SOUZA et al., 2020). Isto porque, possibilita reduzir os custos dos experimentos ao mesmo tempo em que melhora a acurácia devido ao emprego de maior número de repetições (GEZAN; WHITE; HUBER, 2006). Entretanto, alguns céticos no emprego de STP criticam a sua utilização, enfatizando que o desempenho de cada tratamento/clone é muito influenciado pelas plantas vizinhas. Infelizmente, não foram encontradas informações consistentes que procurem contestar as críticas com relação ao STP. Também não existem muitas informações a respeito das possíveis consequências da presença de falhas e de plantas dominadas na acurácia dos STP's (FERREIRA et al., 2020).

Os testes de progênies vem sendo utilizados no melhoramento genético do eucalipto, no Brasil, há algumas décadas (KAGEYAMA; VENCOVSKY, 1983; LEORNARDECZ-NETO; VENCOVSKY; SEBBEN, 2003; LIMA et al., 2011; HENRIQUES et al., 2017). Com a expansão do uso de clones, eles passaram a ter como foco também, a identificação de indivíduos para serem utilizados nos testes clonais (XAVIER; SILVA, 2010; ASSIS, 2014; RESENDE; ALVES, 2021). Entretanto, há evidências que a associação entre o desempenho dos indivíduos nos testes de progênies e dos clones deles derivados é pequena (REIS et al., 2011; FURTINI et al., 2012; SHALIZI et al., 2020) . Em função desse fato, têm sido procurado alternativas para melhorar a eficiência da avaliação dos indivíduos nos testes de progênies. Nesse contexto, o emprego dos testes de progênies clonais (TPC) é uma das opções (RESENDE, 2002; RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021). Inclusive, a utilização de TPC possibilita também acelerar o programa de obtenção de novos clones, pois não é realizado o teste de progênies tradicional.

A opção pelo TPC visando reduzir o tempo de obtenção de novos clones têm uma limitação. Há necessidade de obter várias “cópias” de um mesmo indivíduo oriundo de semente. Desse modo, em princípio, é esperado que o tempo de obtenção de várias cópias de um mesmo clone seja mais demorado, limitando a vantagem da redução do tempo de obtenção de novos clones. Ademais, é esperado a utilização de número crescente de progênies e de indivíduos de uma mesma progênie. Ao utilizar o número de repetições tradicionais no STP- 20 a 40 (BISON et al., 2007; GALLO et al., 2018; NUNES et al., 2018; REZENDE et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; SANTOS et al., 2021), a demanda por mudas clonadas, como já comentado, pode ser limitante. Seria importante, verificar as consequências na acurácia experimental do emprego de menor número de repetições no STP, já que essa informação não foi encontrada na literatura.

Os melhoristas, especialmente da área florestal, estão conscientes que o maior problema, refere-se a interação dos clones com o ambiente. Principalmente, porque a obtenção de um clone demanda vários anos e não necessariamente, clones obtidos serão cultivados em condições idênticas a que eles foram obtidos (VAN EEUWIJK; BUSTOS-KORTS; MALOSETTI, 2016). Assim, a preocupação em mitigar a interação clones x ambientes é crescente. No contexto do TPC, o desafio é ainda maior, pelas razões já comentadas. Pois há necessidade de avaliar no maior número de ambientes/locais possíveis e há restrição no número de “cópias” do mesmo clone quando se deseja conduzir o TPC no menor tempo possível. Assim, é necessário identificar as consequências de se utilizar menor número de repetições nos

experimentos de STP, sem prejudicar as informações a serem obtidas da interação. Novamente, deve ser salientado, que nenhuma referência a esse respeito foi encontrada na literatura.

Do exposto, foram realizados três estudos com os seguintes objetivos: i) verificar a influência de vizinhos em experimentos em STP; ii) verificar influência de falhas ou plantas dominadas; iii) avaliar o número mínimo de repetições em STP sem reduzir a acurácia seletiva; iv) identificar possíveis influências do número de repetições nas inferências a serem obtidas na interação clones x ambientes.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, T. F. de; ABAD, J. I. M.; AGUIAR, A. M. Melhoramento Genético do Eucalipto. In: SCHUMACHER, M. V.; VIEIRA, M. (Ed.). **Silvicultura do Eucalipto no Brasil**. Santa Maria -RS: Editora da UFSM, 2015. p. 217–244. 2015.
- ASSIS, T. F. Melhoramento Genético De Eucalyptus: Desafios E Perspectivas. **Melhoramento Genético De Eucalyptus**, p. 22, 2014.
- BISON, O. et al. Combining ability of elite clones of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* with *Eucalyptus globulus*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 417–422, 2007. doi: 10.1590/S1415-47572007000300019.
- FERREIRA, G. C. et al. Adjusting for the effect of missing or dominated plants in progeny and clonal trials of *Eucalyptus*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 50, n. 4, p. 438–443, 2020. doi: 10.1139/cjfr-2019-0398.
- FRANKLIN, E. C. Statistical validity of single-tree plot in forest genetics research. **Silvae Genetica**, v. 20, n. 3, p. 73–75, 1971.
- FURTINI, I. V. et al. Effect of different progeny test strategies in the performance of eucalypt clones. **Silvae Genetica**, v. 61, n. 3, p. 116–120, 2012. doi: 10.1515/sg-2012-0014.
- GALLO, R. et al. Growth and wood quality traits in the genetic selection of potential *Eucalyptus dunnii* Maiden clones for pulp production. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. July, p. 434–441, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.016.
- GEZAN, S. A.; WHITE, T. L.; HUBER, D. A. Comparison of experimental designs for clonal forestry using simulated data. **Forest Science**, v. 52, n. 1, p. 108–116, 2006. doi: 10.1093/forestscience/52.1.108.
- HENRIQUES, E. P. et al. Estimativa de parâmetros genéticos para caracteres silviculturais e densidade do lenho em teste de progênies de *Eucalyptus urophylla*. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, v. 45, n. 113, p. 119–128, 2017. doi: 10.18671/scifor.v45n113.11.
- IBÁ- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Anuário estatístico do IBÁ. Ano base 2019**. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>.
- KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. **Ipef**, n. 24, p. 9–26, 1983.
- LEORNARDECZ-NETO, E.; VENCOVSKY, R.; SEBEN, A. M. Ajuste para competição entre plantas em teste progênies e procedências de essências florestais. **Scientia Forestalis**, v. 63, p. 136–149, 2003.
- LIBBY, W. J.; COCKERHAM, C. C. Random non-contiguous plots in interlocking field layouts. **Silvae Genet.**, 1980.
- LIMA, J. L. et al. Early selection of parents and trees in *Eucalyptus* full-sib progeny tests. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 10–16, mar. 2011. doi: 10.1590/S1984-70332011000100002.
- LOO-DINKINS, J. A.; TAUER, C. G.; LAMBETH, C. C. Selection system efficiencies for computer simulated progeny test field designs in loblolly pine. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 79, n. 1, p. 89–96, 1990. doi: 10.1007/BF00223792.
- NUNES, A. C. P. et al. Statistical strategies design based on competition classes of *Eucalyptus* clones. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 66–73, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.026.

- OLIVEIRA, R. de S. et al. Evaluation of genetic parameters and clonal selection of Eucalyptus in the Cerrado region. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–9, 2020. doi: 10.1590/1984-70332020v20n3a35.
- RAMALHO, M. A. P.; MARQUES, T. L.; LEMOS, R. do C. Plant breeding in Brazil : Retrospective of the past 50 years. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, p. 1–11, 2021. doi: 10.1590/1984-70332021v21Sa16.
- REIS, C. A. et al. Correspondence between performance of Eucalyptus spp trees selected from family and clonal tests. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 10, n. 2, p. 1172–1179, 2011. doi: 10.4238/vol10-2gmr1078.
- RESENDE, M. D. V. de; ALVES, R. S. Genética: estratégias de melhoramento e métodos de seleção. In: CIENTÍFICO, E. F.-L. (Ed.). **O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. Brasília-DF: ALICE, 2021. p. 172–202. 2021.
- RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
- REZENDE, G. D. S. P. et al. Clonal composites: An alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. **Forest Ecology and Management**, v. 449, n. June, p. 117445, 2019. doi: 10.1016/j.foreco.2019.06.042.
- SANTOS, H. G. et al. Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in Eucalyptus plantations. **Journal of Forestry Research**, 31 mar. 2021. doi: 10.1007/s11676-021-01322-y. Acesso em: 24 maio. 2021.
- SHALIZI, M. N. et al. Correspondence between breeding values of the same pinus taeda l. genotypes from clonal trials and half-sib seedling progeny trials. **Forest Science**, v. 66, n. 5, p. 600–611, 2020. doi: 10.1093/forsci/fxaa016.
- SOUZA, T. da S. et al. Selection of eucalypt clones with higher stability in pulp yield. **Revista Árvore**, v. 44, p. 1–9, 2020. doi: 10.1590/1806-908820200000003.
- VAN EEUWIJK, F. A.; BUSTOS-KORTS, D. V.; MALOSETTI, M. What should students in plant breeding know about the statistical aspects of genotype × Environment interactions? **Crop Science**, v. 56, n. 5, p. 2119–2140, 2016. doi: 10.2135/cropsci2015.06.0375.
- WHITE, T. et al. Breeding for value in a changing world: Past achievements and future prospects. **New Forests**, v. 45, p. 301–309, 2014. doi: 10.1007/s11056-013-9400-x.
- XAVIER, A.; SILVA, R. L. da. Evolução da sivicultura clonal de Eucalyptus no Brasil. **Agronomia Costarricense**, v. 34, n. 1, p. 93–98, 2010.

SEGUNDA PARTE**ARTIGO 1- Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in *Eucalyptus* plantations**

Artigo publicado em Journal of Forestry Research. Doi: 10.1007/s11676-021-01322-y



Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in *Eucalyptus* plantations

Heloisa Guimarães Santos¹ · Flávia Maria Avelar Gonçalves¹ · José Luis Lima² · Aurélio Mendes Aguiar² · Gabriel Dehon Sampaio Peçanha Rezende³ · Bruno Marco de Lima³ · Magno Antonio Patto Ramalho¹

Received: 13 February 2020 / Accepted: 22 October 2020
© Northeast Forestry University 2021

Abstract To verify if the response by *Eucalyptus* clones in a single-tree plot is influenced by neighboring plants and to determine the effect of missing and/or dominated plants, seven eucalyptus trials in four Brazilian states were analyzed in a randomized complete block design with one plant/plot and 30 replications. Mean annual increment (MAI, m³ ha⁻¹ per year) was determined for three-year-old clones. The influence of neighboring clones was estimated by a linear regression coefficient between the MAI of each clone/plot and the average of a clonal MAI and its eight neighbors. To determine the effect of missing and/or dominated trees, a correction between the MAI and the area available/plant was applied. Subsequent analysis considered unadjusted and adjusted data for missing and dominated trees. Estimate of accuracy and index of coincidence were used to compare the adjustments. In single-tree plots, clone performances were not influenced by neighboring plants. Experimental accuracy was not increased by any of the adjustments employed

and the clone ranking was not altered, and therefore did not justify their use.

Keywords Single-tree plot · Missing plant adjustment · *Eucalyptus* breeding

Introduction

One of the greatest challenges in *Eucalyptus* breeding is to continue to obtain gains in selected attributes. To achieve this, it is essential to use phenotyping strategies to detect genotypic differences that are progressively smaller. It is also necessary to evaluate trials with a large number of progenies or clones. In addition, in plots with perennial species with wide spacing between individuals, the area is large, making trials difficult to conduct and decreases their accuracy.

An alternative is to use single-tree plots (STPs) that allow the use of a greater number of repetitions regardless of the number of progenies/clones assessed. This design has been carried out for several years and has been shown to be effective (Gezan et al. 2006; Stanger et al. 2012; Zhang et al. 2015). In Brazil, especially in *Eucalyptus* trials, STPs have been widely used (Santos et al. 2016; Nunes et al. 2018; Rezende et al. 2019).

Some critics of STPs argue that plants neighboring a particular plant may positively or negatively influence their performance. The main counter-argument is the high probability that each plant will have all other treatments in close proximity due to the large number of repetitions. For example, if 60 clones with 30 STP repeats were evaluated, each clone would have 240 (8 × 30) possibilities of having any of the other clones as neighbors and not just eight. It would be important, nonetheless, to use other strategies to show if the treatments are influenced or not by neighboring plants.

Project funding: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, and by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

The online version is available at www.springerlink.com.

Corresponding editor: Yanbo Hu.

✉ Heloisa Guimarães Santos
heloisagsantos@yahoo.com.br

¹ Departamento de Biologia, Setor de Genética E Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG, Brasil

² Suzano Papel E Celulose, São Paulo, SP, Brasil

³ Bracell SP Celulose Ltda, Lençóis Paulista, SP, Brasil

Another common aspect in STP trials is the occurrence of failed plants. If a particular treatment occurs near a missing plant, this treatment could, in theory, benefit from it, accordingly changing the ranking. Studies on the occurrence of missing plants, and particularly how to mitigate this, are common for annual crops. Some methodologies are well explained, such as the method of Zuber (1942) cited by Vencovsky and Cruz (1991), Cargnelutti Filho and Storck (2004) and Silva et al. (2014), the use of covariance (Cargnelutti Filho and Storck 2004; Schmildt et al. 2006; Pavan et al. 2012), the adjust by means of other plants in the plot (Cargnelutti Filho and Storck 2004) or compensation (Vencovsky and Cruz 1991). With regards to forestry, there are only a few studies that consider missing plants for adjustment purposes (Andrade et al. 2006; Ferreira et al. 2020).

With *Eucalyptus*, Andrade et al. (2006) simulated the effect of failed plants on plots containing more than one plant and attempted to mitigate the damage by replanting. They found that this was only successful if replanting was carried out immediately, which is not always feasible in practice. Ferreira et al. (2020) evaluated the effect of missing plants using various clone and progeny trials and found that, in trials with less than 20% plant loss, no adjustment for missing plants was warranted.

In addition to missing plants, another common situation in *Eucalyptus* trials is the occurrence of dominated plants, i.e., individuals with growth performance below average. In this situation, the plant neighboring a dominated plant could benefit and, especially in a STP, the effect of this advantage could alter the ranking and consequently the selection result. This aspect has also been poorly explored in analysis of *Eucalyptus* culture.

As previously noted, the effect of missing plants has been addressed using different approaches and mostly for annuals (Fernandes et al. 1989; Schmildt et al. 2001; Silva et al. 2014; Souza et al. 2014). With perennials, an empirical correction factor is often applied. Ferreira et al. (2020) proposed a linear regression coefficient between the area explored by each plant—the independent variable (X), and

the plant's performance, in volume or any other trait—the dependent variable (Y). However, the use of this adjustment methodology, particularly in STPs, is still rare.

Given this context, the present study investigated the occurrence of neighbor influence on the performance of *Eucalyptus* clones and the effect of missing and/or dominated plants, in single-tree plots.

Materials and methods

The data used are from the evaluation of *Eucalyptus* clones by the company Suzano Incorporated. The trials were carried out in four Brazilian states in 2015. Two sites were located in Espírito Santo, two in São Paulo, two in Mato Grosso do Sul and one in Bahia. The environmental parameters of each site are shown in Table 1.

In this study, a different number of 3-year-old clones of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake, *E. grandis* W. Hill and their hybrids were evaluated. The clones had different origins of selection and most were present in all trials. The spacing varied among the sites according to the company's operational farms (Table 2). A randomized complete block design with one plant per plot (single-tree plot) and 30 repetitions was used.

Table 2 Spacing, age and number of clones in each *Eucalyptus* clonal test

Experiment code	Planting date	Spacing	Number of clones
ARA	30/04/2015	3.0×2.0 m	70
MUC	26/02/2015	3.0×3.0 m	70
SMT	19/03/2015	3.0×2.5 m	70
CCP	04/03/2015	3.0×2.5 m	68
CBO	13/01/2015	3.0×2.0 m	68
TLA1	15/12/2014	3.6×2.3 m	72
TLA2	13/03/2015	3.0×3.0 m	72

Table 1 Characterization of *Eucalyptus* clonal test sites in each region

Sites	Identification	Altitude (m)	Mean annual precipitation (mm)	Soil type
Aracruz-ES	ARA	37	1290	LAd
Mucuri-BA	MUC	12	1320	PAd
São Mateus-ES	SMT	31	1050	PAd
Caçapava-SP	CCP	646	1510	PVAd
Capão Bonito-SP	CBO	693	1292	LVd
Três Lagoas 1-MS	TLA1	350	1352	LVd
Três Lagoas 2-MS	TLA2	380	1352	LVd

LAd dystrophic Yellow Latosol, LVd dystrophic Red Latosol, PAd dystrophic Yellow Ultisol, PVAd dystrophic Red-Yellow Ultisol

The stem cubic volume (V) was estimated from measurements of diameter at breast height (DBH, cm) and height (h , m) and a cylindrical form factor (f), determined by the company, corresponded to $f=0.43$.

$$V = \frac{\pi DBH}{40000} hf \tag{1}$$

Mean annual increment (MAI, $m^3 ha^{-1}$ per year) was determined by multiplying individual volume by the number of trees/ hectare and dividing by the age.

The possible influence of neighboring plant on the performance of a given clone was obtained by estimating the linear regression coefficient (b) between the MAI of each clone by plot, the dependent variable Y , and the mean of its neighbors' MAI of the 30 repetitions, independent variable X . Thus, an estimate of b was obtained for each clone on each site. The number of null hypotheses to be tested, i.e., the lack of influence of neighboring plants for each clone, was very large, totaling 490 estimates. However, admitting the non-zero b estimate test to the same probability level increased the chance of type I error occurring, i.e., rejecting a true null hypothesis. The Bonferroni (1936) correction has been proposed to avoid this error, and consists in determining the value of the individual significance level (α_T) as a function of the joint significance level (α_E) and the number of tests performed (M), given by:

$$\alpha_T = -\exp \frac{\ln(1 - \alpha_E)}{M} + 1 \tag{2}$$

The evaluation of clones consisted of 490 tests (total number of clones including all seven trials), with $\alpha_E=0.05$, and the individual significance level chosen to discuss the results of clone effects was 1.01×10^{-4} .

A methodology similar to Ferreira et al. (2020) was used to verify the effect of missing plants in different trials. In this case, the absence of a neighboring plant was corrected by estimating a linear equation between the dependent variable Y (MAI) and the independent variable X (available area for the reference plant).

To calculate the area occupied by the plant, it was considered that the area of a missing plant was redistributed to a number of surrounding neighbors. For example, in a $3.0\text{ m} \times 2.0\text{ m}$ spacing, if there were eight individuals around the missing plant, each individual would have 0.75 m^2 of area increased; if there were only seven individuals, each area would have increased by 0.86 m^2 and so on (Table 3).

The corrected MAI estimate was obtained by the following:

$$Y_c = Y - b(X - X_0) \tag{3}$$

where Y_c is the adjusted MAI per plot; Y is the observed MAI for each plot (clone); b is the angular coefficient of the linear

Table 3 Available area (m^2) according to the number of missing plants and spacing in *Eucalyptus* clonal tests

Spacing (m)	Available area (m^2)	Number of neighbors			
		8	7	6	5
3.0×2.0	6.00	6.75	6.86	7.00	7.20
3.0×2.5	7.50	8.44	8.57	8.75	9.00
3.6×2.3	8.28	9.31	9.46	9.66	9.94
3.0×3.0	9.00	10.12	10.29	10.50	10.80

regression in $m^3 ha^{-1}$ per year; X is the area occupied by the plant; X_0 is the area that was supposed to be occupied by the plant if there were no missing plants (Table 3).

In the same way, another adjustment was made for absent and dominated trees. All plants with MAI 1.5 standard deviations below the mean were considered.

Subsequently, three analyses utilizing a linear mixed model for each trial were performed. The first analysis was done with unadjusted data (UA), the second used data adjusted only for the missing plants (MA), and the third used data adjusted for both missing and dominated plants (MDA). The model applied was:

$$y = Q\beta + Zb + e \tag{4}$$

where y is the data vector $N \times 1$ of clones in N blocks; β is the vector for the fixed effect from the clones; b is vector of random effects from the blocks; e is the vector of random effects from the errors; Q and Z are the incidence matrixes that relate observations to the effect of clones and blocks, respectively.

Estimates of the accuracy and index of coincidence were used to compare the effects of the proposed adjustments.

a. Estimate of accuracy

Accuracy (r'_{gg}) was estimated using the analysis of variance results in each site with the estimator:

$$r'_{gg} = \sqrt{1 - \left(\frac{1}{F}\right)} \tag{5}$$

where F is the clone mean square divided by the mean squared error.

b. Index of coincidence

The coincidence index of the clones that would be selected under the different conditions by the method of Hamblin and Zimmerman (1986), considering the selection intensities 5%, 10% and 20%, was estimated:

$$IC\% = \frac{A - C}{B - C} \times 100 \tag{6}$$

where A is the number of matching clones in the two adjustments, B is the number of clones selected in one adjustment, and C is the random number of clones selected in both adjustments. It is assumed that, among the selected clones, a proportion referring to the selection intensity coincides randomly. Thus, from 100 clones if 10% was selected, then one will coincide randomly.

Results

As expected, the linear regression estimate between the mean performance of the eight neighboring plants, independent variable (X), and the performance of the reference plant, dependent variable (Y), varied among the clones. As noted, b can assume negative and positive values. It was negative when clone performance was negatively affected by neighbors and positive otherwise. However, it was found that the estimates were all small, ranging from -2.6 for clone 19 in the MUC trial to 1.2 for clone 28 in the SMT trial, meaning that when the clone was most affected by its neighbors, its performance decrease was only $-2.6 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year. The largest benefit was $1.2 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year. Nevertheless, it is important to note that in none of the 490 estimates of b did the value differ from zero using the significance level correction proposed by Bonferroni (1936) (Table 4).

The percentage of missing plants also varied among the trials. It was smaller in ARA at only 3.1% and higher in TLA2, with *32.1%. No association was found between the site mean per trial and the percentage of missing plants. The highest average was on the CBO site, $64.6 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year and the percentage of lost plants was 4.7%. On the SMT site,

where the mean was $25.0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year, the percentage of missing plants was the same 4.7% (Table 5).

The percentage of plants considered to be dominated, i.e., with performances 1.5 standard deviations below the average, ranged from 9.0% on the CBO site to 2.2% in the TLA1. The average percentage of dominated plants was 5.8%. Again, no association was found between the percentage of dominated plants and the overall trial mean (Table 5).

MAI frequency distributions ($\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year) of each trial are shown in Fig. 1. The estimates of the mean in Table 5 and the maximum MAI limits 1.5 standard deviations below the mean (MDA adjustment) are shown (Fig. 1). The lowest mean estimate, as noted, occurred in SMT (25.0) and the largest in CBO (64.6). The maximum MAI limits with the MDA adjustment ranged from 17.1 for CBO and 2.5 for TLA1. This means that all plants in the CBO trial with a MAI lower than $17.1 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year were not considered in the analyses; in the case of TLA1 this value was much lower at $2.5 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year.

The estimates of b in the adjustments as a function of the available area ranged from 0.5 to $4.7 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year and differed from zero to 5% ($\alpha < 0.05$) for all clonal tests under both MAI adjustments except for MDA in SMT and MA in TLA1 (Table 6). The highest value was 4.7 in CBO for the MA adjustment, which means that under this condition, for each additional square meter available for the plant, it increased MAI by $4.7 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year. Similarly, the estimate of $b=0.5$ in the MDA trial conducted in SMT indicates that the increase per square meter due to missing plants was only $0.5 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year. It is noteworthy that b estimates were always lower when considering missing and dominated plants (MDA), except for TLA1 and TLA2.

All estimates of accuracy were of high magnitude, indicating good experimental accuracy (Table 7). The values were higher than 90% in the different MAI adjustments except for the TLA2 clonal test which was accurate below 75%. TLA2 is the one with the highest numbers of missing plants (Table 5). Initially, this factor was responsible for the lower accuracy estimates. It was also found that when the

Table 4 Larger and smaller estimates of the linear regression coefficient (b) between the dependent variable clone and the independent variable mean MAI of neighbors and standard errors (Se) in *Eucalyptus* clonal tests

Trial code	Clone	b	Se
ARA	60	-1.1	0.5
	39	0.7	0.5
MUC	19	-2.6	0.6
	29	0.5	0.3
SMT	26	-0.4	0.4
	28	1.2	0.4
CCP	19	-2.6	0.6
	29	0.5	0.3
CBO	15	-2.1	0.6
	39	0.9	0.4
TLA1	17	-1.4	0.4
	11	0.6	0.5
TLA2	58	-1.9	0.7
	14	0.4	0.5
Bonferroni		correc-	
tion=0.000101767			

Table 5 Estimates of mean and percentages of missing plants, dominated trees (plants with 1.5 standard deviations below the mean) and total (missing plants + trees with 1.5 standard deviations below the mean) in *Eucalyptus* clonal tests without any type of adjustment

Clonal tests	Mean	Missing (%)	Dominated (%)	Total (%)
ARA	31.0	3.1	6.3	9.4
MUC	54.0	10.6	5.6	16.2
SMT	25.0	4.7	3.9	8.6
CCP	60.9	15.6	9.0	24.6
CBO	64.6	4.7	8.8	13.5
TLA1	52.6	12.6	2.2	14.8
TLA2	40.8	32.1	4.9	37.0

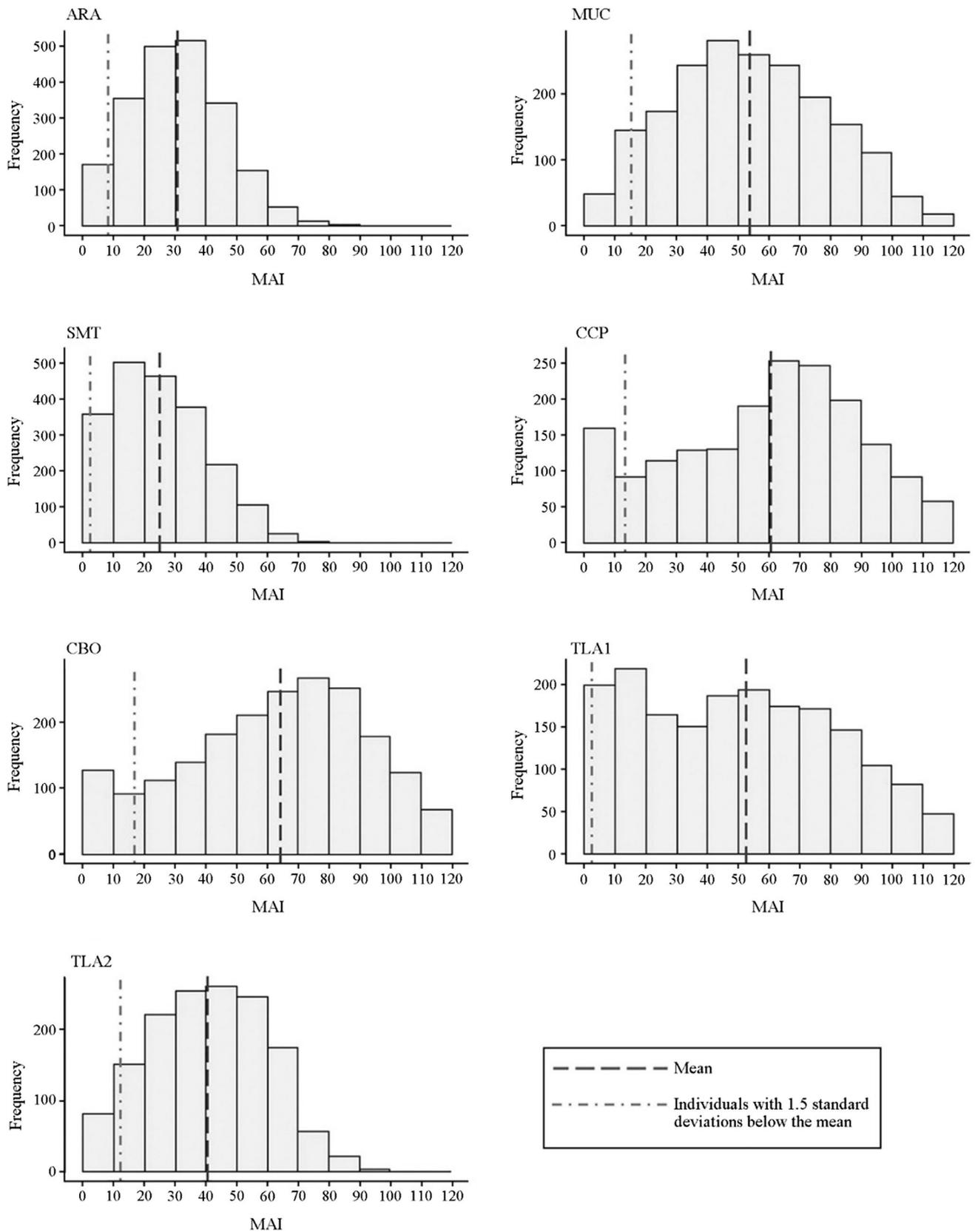


Fig. 1 Frequency distribution of mean annual increment (MAI, $m^3 ha^{-1}$ per year) in six single-tree plot (STP) design trials evaluating *Eucalyptus* sp. The trials were conducted in seven environments

Table 6 Estimates of the linear regression coefficient (b) between the dependent variable MAI and the independent variable available area and standard errors (Se) in *Eucalyptus* clonal tests considering the adjustments for missing plants (MA) and the adjustment for missing and dominated trees (MDA)

Clonal tests	Adjustment	b	Se	Pr(> t)
ARA	MA	3.2	0.87	$2.79 \times 10^{-4*}$
	MDA	1.7	0.45	$1.78 \times 10^{-4*}$
MUC	MA	3.2	0.52	$8.01 \times 10^{-10*}$
	MDA	2.8	0.38	$3.72 \times 10^{-13*}$
SMT	MA	1.6	0.51	$1.62 \times 10^{-3*}$
	MDA	0.5	0.38	1.92×10^{-1}
CCP	MA	3.3	0.60	$5.49 \times 10^{-8*}$
	MDA	3.1	0.36	$2.00 \times 10^{-16*}$
CBO	MA	4.7	1.41	$9.58 \times 10^{-4*}$
	MDA	4.5	0.74	$8.95 \times 10^{-10*}$
TLA1	MA	1.1	0.59	7.31×10^{-2}
	MDA	1.4	0.52	$5.48 \times 10^{-3*}$
TLA2	MA	1.1	0.18	$3.42 \times 10^{-9*}$
	MDA	1.2	0.14	$4.30 \times 10^{-16*}$

*Significant at 5% probability

Table 7 Experimental accuracy obtained in *Eucalyptus* clonal tests for the variable MAI without any adjustment (UA) and with missing plant adjustment (MA) and adjustment for missing and dominated trees (MDA)

Clonal test	UA	MA	MDA
ARA	98.58	97.65	98.59
MUC	98.40	98.43	98.19
SMT	98.00	98.03	97.65
CBO	96.35	96.35	96.78
CCP	93.35	93.44	94.77
TLA1	97.44	97.45	97.40
TLA2	70.35	72.32	73.58

percentage of missing plant is below 30%, there are practically no significant differences in the estimates of accuracy at different adjustment levels. It should be noted that changes in estimate accuracy are usually not significant when adjustments are implemented.

The indexes of coincidence, considering different percentages of plants that should be selected in the clonal tests, were higher than 70 in all selection intensities, apart from CBO with a selection intensity of 10% (Table 8). No changes were observed in clone ranking when only the MA adjustment was considered.

Discussion

A significant challenge for conducting clone evaluation trials is to obtain the highest possible estimates of selective accuracy (r_{gg}'). Some factors nonetheless contribute to a reduced estimate of r_{gg}' . One of these, inherent to the clones, is the genetic variation between treatments. Other factors are related to the experimental design and to the execution of the experiment (Ramalho et al. 2012).

One factor that most affects the estimate of accuracy is the number of repetitions. In obtaining the phenotypic variance estimates (V_F) between clonal means, which are the denominators of the selective accuracy estimates, the mean square of the source of clonal variation is divided by the number of repetitions. Consequently, the higher the number of repetitions, the lower the V_F and the higher the experimental accuracy. However, increasing the number of repetitions in perennial plant trials on multi-plant plots is practically prohibitive due to the magnitude of the trials, especially regarding the evaluation stage. As noted, the use of a STP was recommended to solve this issue.

Plant breeders have adopted STPs in many breeding programs for perennial species due to the advantages (Zhang et al. 2015; Nunes et al. 2018). Some studies have compared the efficiencies of STPs against plots with several plants, especially for classifying progenies and clones and overall,

Table 8 Percentage of coincidences between clones selected by the MAI ranking without any adjustments (UA), with missing plant adjustment (MA) and adjustment for missing and trees with 1.5 standard deviations below the mean (MDA)

Clonal test	20%			10%			5%		
	UA-MA	UA-MDA	MA-MDA	UA-MA	UA-MDA	MA-MDA	UA-MA	UA-MDA	MA-MDA
ARA	100	100	100	100	100	100	100	73.68	73.68
MUC	100	82.14	82.14	100	100	100	100	100	100
SMT	100	100	100	100	100	100	100	100	100
CCP	100	73.21	73.21	100	84.13	84.13	100	73.68	73.68
CBO	100	91.07	91.07	100	68.25	68.25	100	73.68	73.68
TLA1	100	100	100	86.11	86.11	100	100	100	100
TLA2	100	73.21	73.21	100	84.13	84.13	100	73.68	73.68

it was found that the classification of treatments is similar (Scarpinati et al. 2009; Stanger et al. 2012).

As expected, estimates of b varied between clones and between trials. Although no estimate was significantly different from zero, the performance of each clone did not vary among the different possible neighbors. However, a literature search did not find studies that used this procedure to justify the use of STP. Considering that this present study analyzed seven trials over a wide range of sites and assessed a significant number of clones, the estimates obtained of b build a strong argument in favor of the use of STP, always including a large number of repetitions.

To further confirm this, the highest estimate of b was for clone 19 in MUC, i.e., $b = -2.6 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year as a function of its neighbors in different repetitions. Nevertheless, in this location the overall MAI was $54.0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year (Tables 4, 5). This estimate was not higher than 5% of the mean. Thus, given that there was no relationship between the performance of a particular clone and its neighbors, the use of single-tree plots should be encouraged, as they contribute to better estimates of genetic values due to the large number of repetitions, and consequently higher accuracy, as noted by Resende and Duarte (2007).

The situation of missing plants is another major concern when it comes to plant breeding trials and may lead to misinterpretation of results. This is particularly significant when it comes to perennial species and when the missing plants occur in early stages of the trials (Schmidt et al. 2001; Ferreira et al. 2020). In this study, the extent of missing plants ranged from 3% for ARA to 32% for TLA2, which corresponds to 67 and 693 individuals per experiment, respectively (Table 5). Reports of trials of missing plants ranging from 8 to 49% are common in the literature (Osorio et al. 2003; Torres-Dini et al. 2016; Silva et al. 2019).

Apparently, it may be impossible to carry out trials of most cultivated species without failed plants. Thus, strategies are needed to mitigate the effects of missing plants. This is very common in annual species (Fernandes et al. 1989; Schmidt et al. 2001; Silva et al. 2014; Souza et al. 2014). In plots with perennial species, all plants are measured and it is possible to obtain the effect of the missing plant for each neighboring plant. The greatest challenge is to infer what benefit a failed plant might provide to its neighbor. Some results show that it is not viable to replant lost plants unless this is done early in the establishment stage (Andrade et al. 2006).

One question that arises in trials with missing plants is whether plant survival varies with the treatments, clones or progenies being tested. In this case, the effect of missing plants must not be diminished. Steel et al. (1997) suggested performing a stand analysis before carrying out any procedure to mitigate the effect of missing plants. However, when dealing with STP, it is not possible to perform an analysis of

variance using the number of missing plants per plot since it will be always zero or 100%. To verify whether it is feasible to apply any method to adjust the treatment means for missing plants, it was considered if there was any tendency for missing plants to happen in specific clones. However, it was impossible to infer if plant survivability was associated to a specific clone since, although variation between clones was detected, it was very small and varied from one environment to another. In this scenario, the adjustments for missing plants are viable.

Andrade et al. (2006) simulated five missing plant levels in *Eucalyptus urophylla* clones, ranging from 10 to 50% at two sites. They randomly selected a number of three-month-old plants and eliminated them from the plot. Then, a covariance analysis for linear and quadratic effects were performed. Since the stands \times clones interaction was significant, the stand effect within each clone was decomposed and the linear regression coefficient for each was estimated to adjust the data. They verified that the linear regression stand correction using the number of missing plants as an independent variable was efficient and that there was a different compensation capacity in relation to the locations and clones.

As mentioned, studies analyzing both missing and dominated plants for methodological adjustments are rare and there is no consensus on which plants should be considered. However, it is believed that dominated trees individuals have a beneficial effect on growth and development of neighboring trees by allowing greater availability of light and nutrients and less competition (Leornardecz-Neto et al. 2003). Thus, the effect of a dominated plant may be similar to the absence of a plant (Ferreira et al. 2020).

More recently, Ferreira et al. (2020) proposed an adjustment based on the available area for each plant. Tree performance was adjusted for the missing plant by a linear regression with available area and MAI of each tree. However, most of the trials were for progeny evaluation and had more than one plant per plot.

Considering that in STPs the adjustment for missing plants is more decisive since the performance of each clone in a given plot refers to a single plant, the possible benefit of not having a neighboring plant may have greater repercussions in single-tree plots than in trials with more plants per plot. Thus, we sought to verify the effect of missing plants in the STP experiment carried out under seven environmental conditions with wide variation in various factors. Not only missing plants, but plants with performances below average, particularly in single-tree plots, are also likely to alter the performance of a neighboring plant due to less competition. This study considered a dominated plant as one with 1.5 standard deviations below the overall mean of the experiment. It was found that this varied among the plots (Fig. 1). However, as predicted, the mean of trees considered dominated was 5.8%, which was close to the

expected (6.7%), with 1.5 standard deviations below the mean in a perfect normal distribution (Steel et al. 1997).

The alternative adopted to evaluate the effect of missing or dominated plants was to estimate the linear regression considering the available area for each plant, a method similar to the one by Ferreira et al. (2020). In the present study, the estimates of b varied among the trials, although all values were positive as expected, ranging from 1 to 4.6. It was also found, in most cases, that b estimates were higher when considering only missing plants (Table 6). This is because when dominated plants are eliminated, the variation in the MAI of evaluated clones decreases. Consequently, this contributes to the decreases in the estimates of the linear regression coefficients. This was also found by Ferreira et al. (2020) in trials with several plants per plot.

It appears that the advantage of a plant near a missing plant was relatively small. Considering for example, the highest estimate of B obtained, $4.7 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ per year, the increase due to missing plants was only 7.2% of the overall environment mean. Unfortunately, this methodology has not been adopted by other researchers apart from Ferreira et al (2020), especially for trials with more than one plant per plot. As these data refer to three-year-old clones, it may be inferred that the spacing used by companies reduces competition between trees and consequently the effect of the absence of any plant reflects little on the behavior of its neighbors. This information is obviously favorable for the use of STP.

Although the estimate of b may be considered small, it was checked to see if the adjustment could improve experimental accuracy or affect the clone ranking. Virtually all estimate accuracies can be considered high (Resende and Duarte 2007), regardless of the adjustment applied (Table 7). In both types of adjustments (MA or MDA), changes in the magnitude of the accuracy were insignificant, and in some cases the estimate of r_{gg}' was even lower. According to the analysis carried out, the use of the adjustment for improving the accuracy in STP trials is not justified since it normally presents high r_{gg}' estimates due to the large number of repetitions.

Another question is whether adjusting for stands or dominated plants alters the coincidence of clones that would be selected within different selection intensities. Although the coincidence estimates varied, they were small in magnitude to what would be obtained without the adjustment. Again, it is possible to infer that the use of adjustments for missing or dominated trees is not justified in single-tree plots.

Conclusions

Considering the more than 60 clones evaluated in this single-tree plot experiment, no significant variation was

observed due to neighboring plants. Although there was an increase in the MAI of a tree neighboring a missing plant, the advantage was insignificant. The use of adjustments for failures or dominated trees does not significantly change the experimental accuracy or ranking of the clones.

Acknowledgements The authors thank the Universidade Federal de Lavras and Suzano Papel e Celulose Incorporated, for providing the data.

References

- Andrade HB, Ramalho MAP, Bueno Filho JSS, Resende MDV, Xavier A, Scolforo JRS (2006) Alternativas para atenuar a diferença de estande nos experimentos de avaliação de clones de *Eucalyptus urophylla*. *Rev Árvore* 30:11–18
- Bonferroni CE (1936) Teoria Statistica Delle Classi e Calcolo Delle Probabilità. SAGE Publications, Inc., 2455 Teller Road, Thousand Oaks California 91320 United States
- Cargnelutti Filho A, Storck L (2004) Métodos de correção da produtividade de grãos de milho relacionados à adaptabilidade e estabilidade de cultivares. *Pesqui Agropecuária Bras* 39:857–864
- Fernandes MIPS, Ramalho MAP, Lima PC (1989) Comparação de métodos de correção de estande em feijão. *Pesqui Agropecuária Bras* 24:997–1002
- Ferreira GC, Aguiar AM, de Lima BM, Lima JL, Rezende GDSP, Ramalho MAP (2020) Adjusting for the effect of missing or dominated plants in progeny and clonal trials of *Eucalyptus*. *Can J For Res* 50:438–443
- Gezan SA, White TL, Huber DA (2006) Comparison of experimental designs for clonal forestry using simulated data. *For Sci* 52:108–116
- Hamblin JE, de Zimmerman MJO (1986) Breeding common bean for yield in mixtures. *Plant Breed Rev* 4:245–272
- Leornardecz-Neto E, Vencovsky R, Sebben AM (2003) Ajuste para competição entre plantas em teste progênes e procedências de essências florestais. *Sci For* 63:136–149
- Nunes ACP, dos Santos OP, dos Santos GA, de Resende MDV (2018) Statistical strategies design based on competition classes of *Eucalyptus* clones. *Ind Crops Prod* 124:66–73
- Osorio LF, White TL, Huber DA (2003) Age-age and trait-trait correlations for *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden and their implications for optimal selection age and design of clonal trials. *Theor Appl Genet* 106:735–743
- Pavan BE, de Paula RC, Perecin D, Candido LS, Scarpinati EA (2012) Efeito competitivo em testes de progênes de eucalipto. *Ciência Florest* 22:433–443
- Ramalho MAP, de Abreu ÂFB, dos Santos JB, Nunes JAR (2012) Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas. Editora Ufla, Lavras-MG
- Resende MDV, Duarte JB (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesqui Agropecuária Trop* 37:182–194
- Rezende GDSP, Lima JL, da Dias DC, Lima BM, Aguiar AM, de Bertolucci FLG, Ramalho MAP (2019) Clonal composites: an alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. *For Ecol Manag* 449:117445
- Santos GA, Nunes ACP, Resende MDV, Silva LD, Higa A, Assis TF (2016) Genetic control and genotype-by-environment interaction of wood weight in *Eucalyptus* clones in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Árvore* 40:867–876

- Scarpinati EA, Perecin D, de Paula RC, Bonine CAV, Pavan BE, Candido LS (2009) Influência do modelo de análise estatística e da forma das parcelas experimentais na seleção de clones de *Eucalyptus* spp. *Rev Árvore* 33:769–776
- Schmidt ER, Cruz CD, Zanuncio JC, Pereira PRG, Ferrão RG (2001) Avaliação de métodos de correção do estande para estimar a produtividade em milho. *Pesqui Agropecu Bras* 36:1011–1018
- Schmidt ER, Krause W, Cruz CD (2006) Melhoria na eficiência dos experimentos de indicação de cultivares de milho. *Ciência e Agrotecnologia* 30:72–80
- Silva KJ, de Menezes CB, Tardin FD, Souza VF, Santos CV (2014) Comparação de métodos de correção de estande para estimar a produtividade de sorgo granífero. *Pesqui Agropecuária Trop* 44:175–181
- Silva PHM, Brune A, Alvares CA, Amaral W, Moraes MLT, Grattapaglia D, DePaula RC (2019) Selecting for stable and productive families of *Eucalyptus urophylla* across a country-wide range of climates in Brazil. *Can J For Res* 49:87–95
- Souza VF, Parrella RAC, Menezes CB, Tardin FD, May A, Emydgio BM, Damasceno CMB, Schaffert RES (2014) Influência da Correção de Estande na Adaptabilidade e na Estabilidade de Sorgo Biomassa. *Rev Bras Milho e Sorgo* 13:371–381
- Stanger TK, Galloway GM, Retief EC (2012) Final results from a trial to test the effect of plot size on *Eucalyptus* hybrid clonal ranking in coastal Zululand, South Africa. *South For* 73:131–135
- Steel RGD, Torrie JH, Dickey D (1997) Principles and procedures of statistics: a biometrical approach, 3rd edn. McGraw-Hill, Boston
- Torres-Dini D, Nunes ACP, Aguiar A, Nikichuk N, Centurión C, Cabrera M, Moraes MLT, Resende MDV, Sebbenn AM (2016) Clonal selection of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus globulus* for productivity, adaptability, and stability, using SNP markers. *Silvae Genet* 65:30–38
- Vencovsky R, Cruz CD (1991) Comparação de métodos de correção do rendimento de parcelas com estandes variados. *Pesqui Agropecu Bras* 26:647–657
- Zhang J, Peter GF, Powell GL, White TL, Gezan SA (2015) Comparison of breeding values estimated between single-tree and multiple-tree plots for a slash pine population. *Tree Genet Genomes* 11:1–10
- Zuber MS (1942) Relative efficiency of incomplete block designs using corn uniform trial data. *J Am Soc Agron* 34:30–47

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ARTIGO 2- Seria possível reduzir o número de repetições nas avaliações de clones em *single-tree plot*?

Artigo redigido conforme as normas NBR 6022 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2003).

SERIA POSSÍVEL REDUZIR O NÚMERO DE REPETIÇÕES NAS AVALIAÇÕES DE CLONES EM *SINGLE-TREE PLOT*?

RESUMO

Com a implementação de avaliação das progênes utilizando várias cópias de um mesmo indivíduo, isto é, o teste de progênes clonal (TPC's), é necessário o emprego de um menor número de repetições em experimentos com uma única planta por parcela (*single-tree plot* - STP) para viabilizar o seu emprego, sobretudo no contexto de redução do tempo de condução do programa de seleção. Com o objetivo de avaliar o número mínimo de repetições em STP a serem utilizadas nos testes de progênes clonais sem afetar expressivamente a estimativa da acurácia seletiva, foram utilizados experimentos contendo 60 clones de eucaliptos implantados pela empresa Suzano S.A., em seis ambientes, os quais envolveram quatro estados brasileiros. Em cada ambiente foi instalado um experimento em blocos completos causalizados em parcela de uma única planta (STP). Aos três anos de idade, foi avaliado o incremento médio anual (IMA, $\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$). Para estimar o número mínimo de repetições foram amostrados número de repetições variando de dois a 29. As simulações, para cada número de repetições, foram reamostradas 1.000 vezes, sem reposição. Em cada reamostragem foram estimados a média (\bar{x}), a variância genética (V_G) e a acurácia ($r_{\hat{g}g}$). Constatou-se que em média, as estimativas de $r_{\hat{g}g}$, embora tivessem uma pequena redução na magnitude com a diminuição do número de repetições, foram muito semelhantes. Contudo, o desvio padrão das estimativas foram de maior magnitude, principalmente, quando se utilizou número de repetições inferiores a dez. Conjecturou-se, contudo, que em TPC, no qual os experimentos provavelmente serão realizados em mais locais, o emprego de cinco repetições por local é factível, sobretudo para dar mais dinamismo na aplicação do TPC.

Palavras-chave: Teste de progênie clonal. Melhoramento do eucalipto. Melhoramento de Plantas. Genética quantitativa. Biometria.

INTRODUÇÃO

A demanda por madeira visando a produção de celulose, carvão e outros produtos é crescente no Brasil, em função das necessidades do mercado interno e das exportações. O eucalipto é o gênero que mais se destaca para a produção de produtos madeireiros (IBÁ, 2020).

Nos últimos cinquenta anos, o sucesso em termos de incremento no volume de madeira produzida pela eucaliptocultura no Brasil foi enorme (SILVA; BARRICHELO, 2006; RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021). Grande parte desse sucesso deve ser creditado ao melhoramento genético, especialmente por meio do emprego de clones de *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla* (ASSIS; ABAD; AGUIAR, 2015). Esse sucesso também possibilitou o crescimento das empresas que utilizam a madeira do eucalipto na sua cadeia produtiva,

sobretudo as empresas de celulose e carvão. Contudo, como já salientado, as perspectivas de demanda de madeira serão crescentes e, assim, há a necessidade de continuar desenvolvendo tecnologias para o cultivo do eucalipto, com destaque para o melhoramento genético. Nesse contexto, será necessário a utilização de estratégias que ampliem a eficiência do melhoramento genético das espécies envolvidas.

Inicialmente, visando a obtenção de clones, foi realizado a seleção massal de indivíduos nos plantios comerciais (ODA; MENCK; VENCOVSKY, 1989). Como eram cultivadas milhões de plantas foi possível associar a variabilidade existente à alta intensidade de seleção, o que possibilitou enormes ganhos na seleção dos clones. Posteriormente, quando começou a propagação clonal, as áreas com plantios por sementes reduziram e a opção foi realizar testes de progênies, para selecionar os indivíduos a serem clonados (ASSIS; MAFIA, 2007).

Contudo, foi constatado que a correlação genética entre os indivíduos nos testes de progênies e nos testes clonais é muito pequena (REIS et al., 2011; FURTINI et al., 2012; SHALIZI et al., 2020). Assim, mais recentemente, preocupados com esses resultados e sobretudo pela necessidade de acelerar a obtenção de clones, ao invés de utilizar os testes de progênies, optaram-se por realizar o que denominou-se de “teste de progênies clonal”. O que se pretende é utilizar a informação da performance da progênie na seleção clonal, melhorando a sua eficiência. No emprego do teste de progênies clonal, ao que tudo indica, uma restrição é a dificuldade de produzir grande número de cópias de um mesmo clone, advindo de um “seedling” proveniente de um indivíduo de uma determinada progênie, no menor tempo possível. Dessa forma, depreende-se que o número de cópias de cada clone pode vir a ser uma limitação no processo.

Sobretudo, na avaliação inicial dos clones nos programas de melhoramento de eucalipto, tem sido utilizado parcelas de uma única planta, *single-tree plot* (STP) (STANGER; GALLOWAY; RETIEF, 2012; SOUZA et al., 2020; QUEURI et al., 2021). O STP permite a utilização de maior número de repetições e em consequência, desde que ocorra variação entre clones, a acurácia é normalmente elevada. Nessa condição o ganho com a seleção é alto (GEZAN; WHITE; HUBER, 2006; OLIVEIRA et al., 2020).

Considerando o que foi comentado anteriormente, para que o teste de progênies clonal (TPC) possa atingir plenamente o que se almeja com o seu emprego, seria necessário reduzir o número de repetições no STP, sem afetar expressivamente a acurácia e ao mesmo tempo possibilitando a avaliação dos TPC's no maior número de ambientes possíveis.

Considerando que nenhuma informação a respeito da redução do número de repetições nos experimentos utilizando uma planta por parcela foi encontrada, foi realizado o presente trabalho, com o objetivo de avaliar o número mínimo de repetições a serem empregadas nos TPC's sem reduzir expressivamente a acurácia obtida.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados, foram gentilmente cedidos pela empresa Suzano S.A. Eles foram obtidos em experimentos de avaliação de clones de eucaliptos em alocompetição (composto clonal). Nesses experimentos foram avaliados 60 clones oriundos de plantas das espécies de *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus grandis* e híbridos entre elas aos três anos de idade. Neste estudo, foram utilizados experimentos implantados no ano de 2015 em seis ambientes envolvendo quatro estados brasileiros, sendo dois no Espírito Santo, dois em São Paulo, um no Mato Grosso do Sul e um na Bahia (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização dos ambientes em que foram realizados os testes clonais de eucaliptos dentro de cada região.

Ambiente	Código do experimento	Altitude (m)	Precipitação média anual (mm)	Tipo de solo
Aracruz-ES	ARA	37	1290	LAd
Mucuri-BA	MUC	12	1320	PAd
São Mateus-ES	SMT	31	1050	PAd
Caçapava –SP	CCP	646	1510	PVAd
Capão Bonito –SP	CBO	693	1292	LVd
Três Lagoas 1-MS	TLA1	350	1352	LVd

LAd: Latossolo Amarelo distrófico; LVd: Latossolo Vermelho distrófico; PAd: Argissolo Amarelo distrófico; PVAd: Argissolo Vermelho Amarelo distrófico.

Fonte: Do autor (2022).

Em cada ambiente (Tabela 1) foi instalado um experimento em parcelas de uma única planta, *single-tree plot* (STP) com 30 repetições. Os espaçamentos utilizados para o plantio variaram entre os ambientes de acordo com os plantios operacionais da empresa (Tabela 2). Mais informações a respeito desses experimentos pode ser obtidas no trabalho realizado por Rezende et al. (2019). A porcentagem de falhas variou dentro de cada experimento e pode ser visualizada na Tabela 2.

Tabela 2 - Dados de espaçamento e porcentagem de falhas em cada teste clonal de eucalipto implantado em *single-tree plot*.

Código do experimento	Espaçamento	Porcentagem de falhas
ARA	3,0 x 2,0 m	3,56
MUC	3,0 x 3,0 m	11,61
SMT	3,0 x 2,5 m	5,06
CCP	3,0 x 2,5 m	16,06
CBO	3,0 x 2,0 m	4,78
TLA1	3,6 x 2,3m	12,89

Fonte: Do autor (2022).

A partir das medidas de diâmetro à altura do peito (DAP), em centímetros e a altura das árvores (h), em metros foi estimado o volume (V) em metros cúbicos, utilizando o fator de forma (f) adotado pela empresa, que corresponde a $f = 0,43$:

$$V = \frac{\pi DAP^2}{40000} \times h \times f$$

O incremento médio anual (IMA, $m^3 \cdot ha^{-1} \cdot ano^{-1}$) foi estimado multiplicando o volume individual (V) pelo número de árvores por hectare e dividindo pela idade em anos.

Visando estimar o efeito do número mínimo de repetições nas estimativas de parâmetros genéticos foram amostrados diferentes números de repetições. O número de repetições variou de dois a 29 por experimento utilizando a reamostragem aleatória sem reposição. Para cada caso, as reamostragens foram repetidas 1.000 vezes.

A partir das 1.000 reamostragens foram realizadas as análises utilizando o modelo estatístico apresentado a seguir:

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}\mu + \mathbf{Z}_c\mathbf{u}_c + \mathbf{Z}_b\mathbf{u}_b + \mathbf{e}$$

em que: $\mathbf{y}^{(N \times 1)}$ é o vetor de observações fenotípicas, sendo N o número de parcelas; $\mathbf{1}^{(N \times 1)}$ é um vetor contendo apenas uns; μ é o intercepto; $\mathbf{u}_c^{(c \times 1)}$ é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios dos clones associados a matriz $\mathbf{Z}_c^{(N \times c)}$, sendo c o número de clones; $\mathbf{u}_b^{(b \times 1)}$ é o vetor de efeitos aleatórios de blocos associados a matriz $\mathbf{Z}_b^{(N \times b)}$, sendo b o número de blocos; $\mathbf{e}^{(N \times 1)}$ é o vetor de resíduos aleatórios.

Assume-se que os vetores de efeitos aleatórios \mathbf{u}_c , \mathbf{u}_b e \mathbf{e} são independentes e apresentam distribuição normal multivariada, com média 0 e matrizes de (co)variância $\text{var}(\mathbf{u}_c) = \mathbf{G}_c$, $\text{var}(\mathbf{u}_b) = \mathbf{G}_b$ e $\text{var}(\mathbf{e}) = \mathbf{R}$. As matrizes de (co)variância assumiram as seguintes estruturas: $\mathbf{G}_c = \sigma_c^2 \mathbf{I}_c$, $\mathbf{G}_b = \sigma_b^2 \mathbf{I}_b$ e $\mathbf{R} = \sigma_n^2 \mathbf{I}_n$, sendo σ_c^2 , σ_b^2 e σ_n^2 e os componentes de variância associados aos efeitos aleatórios de clones, blocos e resíduos e \mathbf{I}_c , \mathbf{I}_b e \mathbf{I}_n matrizes identidade.

Em cada simulação foi obtida as estimativas da média geral dos clones, a variância genética entre clones e a acurácia na média de clone. Essa última foi obtida pelo seguinte estimador:

$$r_{\hat{g}g} = \sqrt{\frac{1 - PEV}{V_C}}$$

em que:

V_C é a variância genética entre clones e PEV é a variância do erro de predição.

Posteriormente, foram obtidas para cada estimativa o desvio padrão considerando as 1.000 reamostragens. No caso da acurácia, inicialmente, foi estimada também uma equação de regressão linear entre a variável independente (X), número de repetições e a variável dependente (Y), desvio padrão da acurácia. Como a equação de regressão linear apresentou coeficiente de determinação de pequena magnitude, foi obtida também, a equação de regressão quadrática (STEEL; TORRIE; DICKEY, 1997).

Todas as análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2020), utilizando os pacotes lme4 (BATES et al., 2015) para as análises de dados e o ggplot2 (WICKHAM, 2016) para a geração dos gráficos.

RESULTADOS

Pesquisas envolvendo amostragens, como foi no presente trabalho, resultam em uma enorme quantidade de informações. Dessa forma, parte considerável dos resultados estão apresentados no apêndice, uma vez que a colocação de todas as informações no texto seria praticamente impossível. Adicionalmente, na amostragem, o número de repetições variou de dois a 29, mas aqui será discutido e apresentado com mais detalhes os resultados obtidos no número de repetições de 5, 10, 15, 20 e 25. Deve ser enfatizado também que foram envolvidos seis locais, contudo, o foco da apresentação dos resultados será direcionado aos dois locais

extremos, em termos da acurácia obtida, ARA e CCP. No apêndice (Tabelas 1 a 3) é apresentado a síntese das estimativas obtidas em cada um dos locais nas repetições de dois a 30.

Considerando inicialmente a precisão experimental avaliada por meio da acurácia ($r_{\hat{g}g}$), constatou-se que, em ARA, a estimativa foi muito alta (Tabela 3). Quando se amostrou diferentes números de repetições nota-se que nesse ambiente, mesmo com apenas cinco repetições, ou seja, cinco plantas de cada clone, a acurácia já foi, na média das 1.000 amostras, igual a 0,93. Isto é, a estimativa de $r_{\hat{g}g}$ com cinco plantas foi apenas 6,1% inferior em relação à obtida quando se utilizou 30 repetições. Deve-se destacar que o desvio padrão das estimativas decresceu a medida em que se aumentava o número de repetições, contudo, mesmo com cinco repetições ele foi de pequena magnitude. No ambiente com menor acurácia, o CCP, as mesmas observações são válidas, embora a redução na estimativa de $r_{\hat{g}g}$ com a diminuição do número de repetições foi proporcionalmente maior. Entretanto, mesmo assim a acurácia média das 1.000 amostragens de tamanho cinco foi de 0,7 indicando alta precisão dos experimentos nessa condição (Tabela 3).

Tabela 3 - Estimativas médias (\bar{x}), variância genética entre clones (V_G) e acurácia ($r_{\hat{g}g}$) obtidas em 1.000 simulações com números de plantas variando de 5 a 30 em experimentos de composto clonal em dois ambientes diferentes (ARA e CCP).

	Número de repetições					
	5	10	15	20	25	30
\bar{x}	29,57± 0,68*	29,50± 0,42	29,49± 0,31	29,46± 0,22	29,46± 0,14	29,92
ARA V_G	132,21± 17,17	134,33± 10,16	134,41± 7,16	135,03± 4,84	135,27± 3,15	135,25
$r_{\hat{g}g}$	0,93± 0,01	0,96± 0,00	0,97± 0,00	0,98± 0,00	0,98± 0,00	0,99
\bar{x}	61,61± 2,03	61,43± 1,31	61,45± 0,96	61,42± 0,66	61,44± 0,43	61,51
CCP V_G	218,67± 73,95	215,55± 43,03	213,02± 30,38	213,51± 20,81	213,11± 12,90	212,50
$r_{\hat{g}g}$	0,70± 0,08	0,82± 0,03	0,87± 0,02	0,90± 0,01	0,92± 0,00	0,93

*Desvios padrão das estimativas.

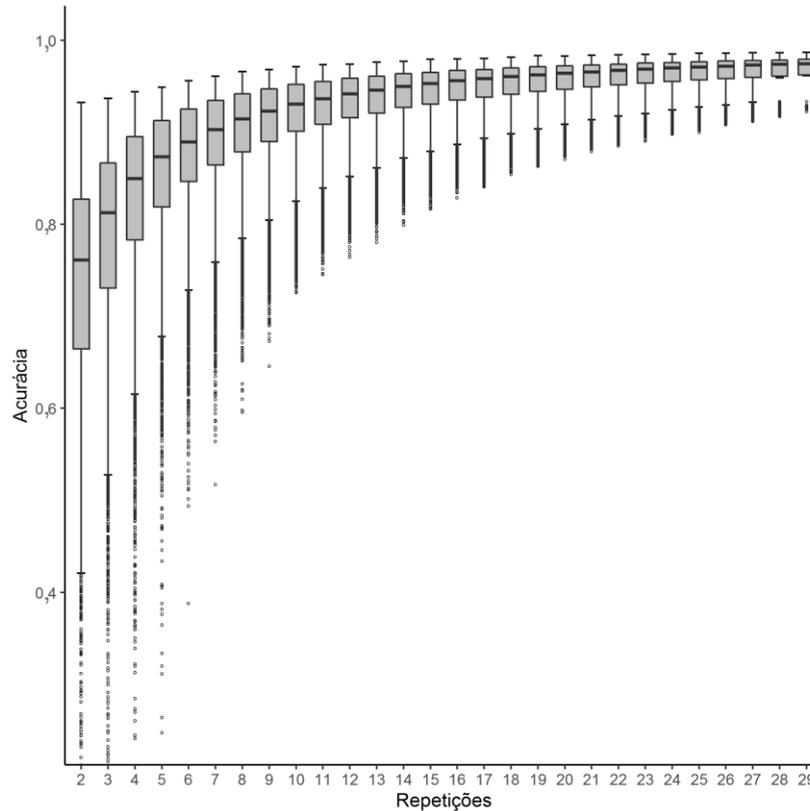
Fonte: Do autor (2022).

Ainda com relação ao efeito do número de repetições nas estimativas da acurácia, envolvendo a média dos seis experimentos (Figura 1) em STP, observa-se que, como foi comentado, a acurácia média reduziu relativamente pouco com a redução do número de repetições. Contudo, a amplitude de variação foi expressivamente mais elevada quando se utilizou menor número de repetições.

No contexto das estimativas da média geral dos experimentos e da estimativa da variância genética (V_G), observa-se que as médias das estimativas variaram muito pouco com a redução do número de repetições em referência ao emprego de 30 repetições (Tabela 3). Entretanto, como aconteceu com a acurácia, o desvio padrão das estimativas são maiores

quando se considera um número pequeno de plantas - repetições - e diminui à medida em que se aumenta o número de repetições, especialmente quando se trata de V_G .

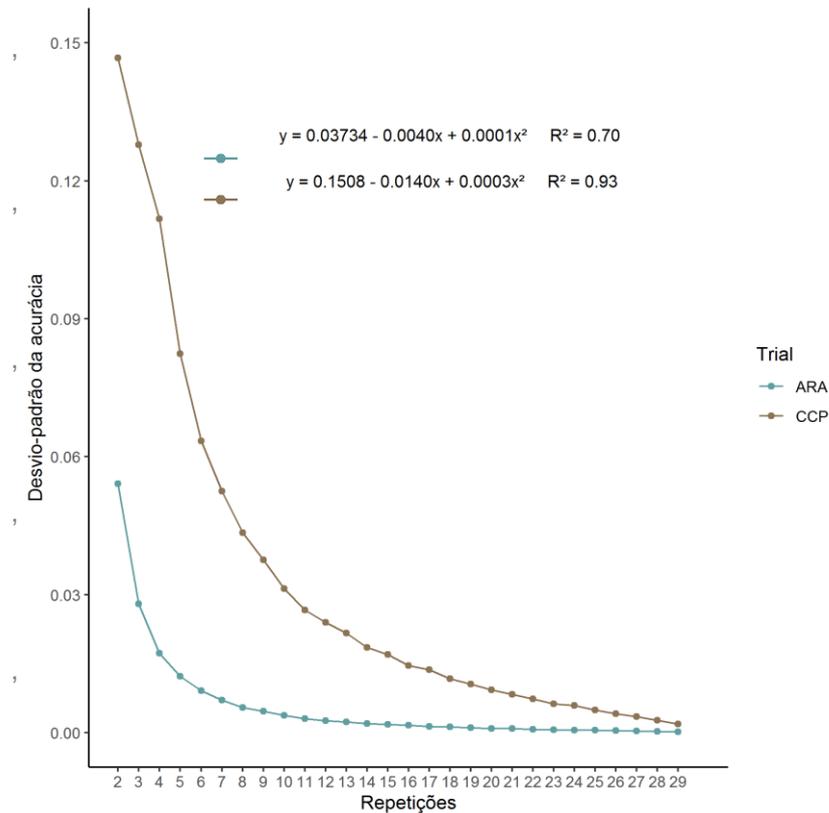
Figura 1 - Boxplot das estimativas de acurácia obtida na média de 1.000 reamostragens para seis locais em experimentos de *Eucalyptus spp*, considerando o incremento médio anual em para experimentos em *single-tree plot*.



Fonte: Do autor (2022).

Como já comentado, o desvio padrão das estimativas da acurácia aumentaram com a redução do número de repetições. Para se visualizar melhor o que ocorre, foram obtidas as equações de regressão linear entre o número de repetições, variável independente X, e o desvio padrão da $r_{\hat{g}}$, variável dependente (Y). Como já mencionado a equação de regressão linear apresentou coeficiente de determinação de pequena magnitude (0,42). Para essa equação no local ARA, a estimativa de b foi de 0,0009. Ou seja, a cada redução de uma repetição, o desvio padrão das estimativas de acurácia reduzem em 0,0009. Contudo, como o coeficiente de determinação foi de pequena magnitude, estimou-se também a regressão quadrática e neste caso, a estimativa de R^2 passou para 0,70. Veja que a equação refletiu melhor o que ocorreu. De 10 a 15 repetições, os desvios padrões das estimativas de $r_{\hat{g}}$ variaram muito pouco. Contudo, a partir desses números o incremento no desvio padrão de $r_{\hat{g}}$ acentuou-se com a redução do número de repetições do experimento (Figura 2).

Figura 2 - Regressão quadrática entre número de repetições e o desvio-padrão das estimativas de acurácia obtida na média de 1.000 simulações para experimentos de composto clonal em *single-tree plot* para dois ambientes ARA e CCP.



Fonte: Do autor (2022).

DISCUSSÃO

Para que se tenha sucesso com a seleção clonal, é necessário que as avaliações sejam conduzidas com a maior precisão experimental possível, condição essa fundamental também, para que o presente trabalho pudesse ser realizado. Deve-se salientar que estimativas de acurácia, semelhante as que foram obtidas, tem sido comum nos experimentos em que clones são avaliados utilizando *single-tree plot* (STP) (SOUZA et al., 2017; NUNES et al., 2018; AMÂNCIO et al., 2020).

Um aspecto importante quando se trata de experimentos que envolvem plantas perenes, utilizando STP, é com relação a perdas de plantas/parcelas. Nesse contexto, nos seis experimentos realizados, a quantidade de plantas perdidas em STP variou de 3,56% a 16,06% (Tabela 2), e verificou-se que as menores estimativas de acurácia ($r_{\hat{g}g}$) ocorreram nos experimentos com maior incidência de falhas, como foi o caso de CCP (Tabela 3). Contudo,

constatou-se que o efeito de plantas perdidas, embora possa ter afetado a $r_{\hat{g}g}$, foi muito pouco pronunciado. Vale ressaltar também, que a questão de plantas perdidas foi estudada em outro trabalho com esse mesmo banco de dados e foi concluído que não haveria ganho expressivo na estimativa de $r_{\hat{g}g}$ se fosse utilizada alguma estratégia para mitigar a presença de plantas/parcelas perdidas (SANTOS et al., 2021).

Deve-se mencionar que os seis locais de condução dos experimentos representam bem as áreas de cultivo do eucalipto no Brasil e abrangem quatro estados. Esses locais diferem em altitude, precipitação, temperatura e outros fatores que afetam a performance da cultura, fato que pode ser comprovado pelas diferenças entre as médias obtidas nos diferentes ambientes (Tabela 3). Deste modo, os resultados obtidos nesse trabalho podem ser generalizados para a maioria dos ambientes em que são realizados experimentos de avaliação de clones no Brasil.

Um outro aspecto que poderia ser questionado é a idade das plantas no momento da obtenção dos dados, ou seja, aos três anos. Dizendo de outro modo, poderia ser questionado o fato de a planta ser ainda juvenil nessa idade. Entretanto, em eucalipto, para caracteres relacionados ao volume da madeira, tem se evidenciado que as estimativas de correlações entre as informações obtidas com dois a três anos e a idade de corte (5-7 anos) é normalmente alta, tanto é que a seleção precoce é realizada, em plantios de eucalipto no Brasil, com essa idade (MASSARO et al., 2010; LIMA et al., 2011; PINTO et al., 2014). Assim, depreende-se que com relação à idade das plantas e os ambientes, as inferências a serem obtidas podem ser extrapoladas para outras idades e condições.

Tendo em vista que as instabilidades climáticas são crescentes, a preocupação com os riscos de se recomendar um clone fundamentado em informações do passado para serem cultivadas no futuro são cada vez mais importantes (REZENDE et al., 2019). Uma das alternativas que tem sido proposta para mitigar esse problema é o emprego de compostos clonais que é a mistura de alguns clones com performance superior ao invés de se utilizar um único clone. A expectativa nessa estratégia é que ocorrendo algum problema no cultivo de algum dos clones, ou seja, se algum deles não for bem, os outros possam compensá-lo, reduzindo desta forma, as possíveis perdas (REZENDE et al., 2019). Para avaliar a performance dos clones em condições de alocompetição o delineamento de STP é o ideal, por razões óbvias.

O STP já existe há algumas décadas (FRANKLIN, 1971; LIBBY; COCKERHAM, 1980; LOO-DINKINS; TAUER; LAMBETH, 1990), contudo, o seu emprego se acentuou nos últimos anos em eucalipto, no Brasil (SANTOS et al., 2016; GALLO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020). Uma das razões da adoção dessa estratégia experimental foi devido tanto da

necessidade de avaliar maior número de clones quanto a melhoria na precisão experimental (JANSSON; DANELL; STENER, 1998). Nessa condição, o emprego de uma planta por parcela, viabilizou a avaliação de um maior número de clones com mais repetições e, conseqüentemente, a precisão experimental avaliada por meio da acurácia. Não há consenso no uso de STP, pois os críticos do delineamento, normalmente não estatísticos, comentam que alguns clones poderiam ser beneficiados pela menor competição exercida por seus vizinhos. Essa crítica foi contestada por Santos et al. (2021) que demonstraram a partir de uma situação em vários experimentos que o desempenho dos clones em STP não era afetado pelos seus vizinhos.

Para se obter informações sobre o número de repetições em STP sem afetar expressivamente a acurácia experimental, existem algumas opções: a primeira seria fazer diversos experimentos com diferentes números de repetições em condições semelhantes. Evidentemente que esse tipo de estratégia ou opção é muito trabalhosa, tem um custo elevado e não se encontrou informações com seu emprego. A outra opção utilizada, é a partir de um experimento com grande número de repetições, em que é reamostrado diferentes números de repetições, sem reposição. Essa técnica foi adotada no presente trabalho. Inicialmente, foi necessário estabelecer o número adequado de reamostragens. Isso porque, por exemplo, para uma amostra de tamanho dois em um conjunto de 30 repetições, tem-se 435 $[(30 \times 29) / 2]$ possibilidades de combinações. Neste caso, utilizar todo o espaço amostral é possível. Entretanto, quando se tem tamanhos maiores, por exemplo, o tamanho 15, tem-se mais de 150 milhões de possibilidades de combinações. Assim, utilizar todas as possibilidades com os recursos computacionais existentes, é limitante. Neste caso, o questionamento passa a ser quantas reamostragens seriam suficientes para representar todo o espaço amostral para diferentes números de repetições. Preliminarmente, foi constatado que trabalhar com o número de 1.000 reamostragens seria suficiente para obter uma boa representatividade, alta confiabilidade e viável de ser utilizado em tempo, com os recursos computacionais disponíveis.

Um dos parâmetros que foi observado foi a média do IMA, pois quando a estimativa da média estabilizasse seria um indicativo que o número de repetições era adequado. Verificou-se que a média praticamente não sofreu alteração significativa, independentemente do número de repetições utilizadas. Por outro lado, deve ser salientado que o desvio padrão da estimativa cresceu acentuadamente com a redução do número de repetições, principalmente a partir de determinado valor (Tabela 3).

Com relação à estimativa da variância genética entre clones, que é fundamental na predição do ganho esperado com a seleção entre os clones, o comportamento do número de repetições foi semelhante ao da estimativa da média (Tabela 3). Como era esperado, o efeito do menor número de repetições no desvio padrão das estimativas foi bem superior ao das médias. Isto porque os desvios genéticos são elevados ao quadrado para se obter as variâncias genéticas (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2012).

Como comentado anteriormente, já era esperado que as estimativas de acurácia obtidas fossem de elevada magnitude (NUNES et al., 2018; REZENDE et al., 2019). Observou-se também que, o aumento no número de repetições está diretamente relacionado ao aumento das estimativas médias de $r_{\hat{g}g}$ ao mesmo tempo em que o desvio padrão da estimativa é reduzido (Figura 2). Contudo, isso pode ser verificado até certo ponto, por exemplo, considerando o número mínimo de repetições, que seria dois, verifica-se que a cada repetição que é aumentada tem-se uma redução de 7,43% na estimativa do desvio padrão de $r_{\hat{g}g}$, nas 1.000 amostragens para ARA e 9,53% para CCP. Entretanto a partir de 10 repetições, o encolhimento no desvio padrão de $r_{\hat{g}g}$ tornou-se cada vez menor (Figura 2).

Levando em consideração que no STP utiliza-se uma planta por parcela e com isso os experimentos podem ocupar menor área, a princípio, a utilização de 30 repetições não teria restrições. Deste modo, a demanda para o emprego de um menor número de repetições, que é o foco desse trabalho, como já mencionado, é devido à dificuldade na obtenção de grande número de mudas clonadas a partir de um único indivíduo obtido por semente. Essas cópias, desses indivíduos, são obtidas por sementes, no programa de seleção recorrente, utilizando progênies de meio-irmãos (MI) ou irmãos-completos (IC). Nesse caso, há algumas considerações, a primeira delas é que a intenção é avaliar o maior número possível de progênies e de indivíduos de uma mesma progênie para que possa ser aplicado uma maior intensidade de seleção e conseqüentemente maior ganho (BERNARDO, 2020). No teste de progênies clonada, os diferentes indivíduos de uma mesma progênie deverão ser clonados obtendo-se algumas cópias para serem avaliadas. Normalmente, o número de cópias/mudas por indivíduos é ilimitado. Entretanto, partindo de uma plântula obtida por semente, a limitação passa a ser o tempo necessário para se obter grande número de mudas derivada de cada plântula. Adiciona-se a esse fato, a quantidade de mudas necessárias. Por exemplo, se forem obtidas 190 progênies de IC - resultados do inter cruzamento aos pares de 20 clones - e de cada progênie planeja-se avaliar pelo menos 40 indivíduos para se ter uma boa representatividade de cada, o número de plântulas a serem clonadas seria de 7.600. Imagina-se que se deseja implantar os experimentos

em cinco locais com 30 repetições. Nessa situação, o número de mudas já seria 7.600×150 (número de mudas de cada clone) = 1,1 milhão. Número esse proibitivo. Assim, a redução do número de repetições sem afetar a acurácia experimental é de enorme vantagem para incrementar a eficiência dos testes de progênes clonadas.

Esse tipo de raciocínio também é válido para os testes de progênes comerciais -que ainda continuam ocorrendo mesmo em espécies de eucalipto- factível de serem clonadas e também em espécies do gênero *Corymbia*, em que a propagação clonal ainda é difícil (ASSIS, 2014; ASSIS; ABAD; AGUIAR, 2015). Poderia se questionar que reduzindo o número de repetições a seleção dentro das progênes seria prejudicada. Contudo, o que se propõe é utilizar menor número de repetições por experimento, mas que os experimentos fossem conduzidos em vários ambientes, que podem ser locais ou sistema de manejo dentro de cada local. Nesse caso, a seleção dentro deveria ser associada a estimativa BLUP com algum procedimento de análise espacial que possibilitasse a realização da seleção entre, considerando simultaneamente todos os ambientes. Certamente essa estratégia contribuirá para maior eficiência do processo, já que a seleção seria focada em vários ambientes com menor custo na condução dos experimentos e possibilidade de se avaliar as progênes em vários ambientes.

CONCLUSÃO

Conclui-se que em média, as estimativas da acurácia, embora tivessem uma pequena redução na magnitude com a diminuição do número de repetições, foram muito semelhantes. Contudo, o desvio padrão das estimativas foram de maior magnitude principalmente quando se utilizou número de repetições inferiores a dez. Conjecturou-se, que em TPC, em que os experimentos provavelmente serão realizados em mais locais, o emprego de cinco repetições por local é factível, sobretudo para dar mais dinamismo na aplicação do TPC.

REFERÊNCIAS

- AMÂNCIO, M. R. et al. Accuracy of genetic parameters estimation and prediction of genotypic values in eucalyptus using different plot types. *Cerne*, v. 26, n. 4, p. 482–490, 2020. doi: 10.1590/01047760202026042710.
- ASSIS, T. F. de; ABAD, J. I. M.; AGUIAR, A. M. Melhoramento Genético do Eucalipto. In: SCHUMACHER, M. V.; VIEIRA, M. (Ed.). **Silvicultura do Eucalipto no Brasil**. Santa Maria -RS: Editora da UFSM, 2015. p. 217–244. 2015.

- ASSIS, T. F. de; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 93–121. 2007.
- ASSIS, T. F. Melhoria Genética De Eucalyptus: Desafios E Perspectivas. **Melhoramento Genético De Eucalyptus**, p. 22, 2014.
- BATES, D. et al. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015. doi: 10.18637/jss.v067.i01.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. 3^o edition ed. Woodbury: Stemma Press, 2020.
- FRANKLIN, E. C. Statistical validity of single-tree plot in forest genetics research. **Silvae Genetica**, v. 20, n. 3, p. 73–75, 1971.
- FURTINI, I. V. et al. Effect of different progeny test strategies in the performance of eucalypt clones. **Silvae Genetica**, v. 61, n. 3, p. 116–120, 2012. doi: 10.1515/sg-2012-0014.
- GALLO, R. et al. Growth and wood quality traits in the genetic selection of potential Eucalyptus dunnii Maiden clones for pulp production. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. July, p. 434–441, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.016.
- GEZAN, S. A.; WHITE, T. L.; HUBER, D. A. Comparison of experimental designs for clonal forestry using simulated data. **Forest Science**, v. 52, n. 1, p. 108–116, 2006. doi: 10.1093/forestscience/52.1.108.
- IBÁ -INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES, I. **Anuário estatístico do IBÁ. Ano base 2019**. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>.
- JANSSON, G.; DANELL, Ö.; STENER, L. G. Correspondence between single-tree and multiple-tree plot genetic tests for production traits in Pinus sylvestris. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 28, n. 3, p. 450–458, 1998. doi: 10.1139/x98-004.
- LIBBY, W. J.; COCKERHAM, C. C. **Random non-contiguous plots in interlocking field layouts** *Silvae Genet.*, 1980.
- LIMA, J. L. et al. Early selection of parents and trees in Eucalyptus full-sib progeny tests. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 10–16, mar. 2011. doi: 10.1590/S1984-70332011000100002.
- LOO-DINKINS, J. A.; TAUER, C. G.; LAMBETH, C. C. Selection system efficiencies for computer simulated progeny test field designs in loblolly pine. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 79, n. 1, p. 89–96, 1990. doi: 10.1007/BF00223792.
- MASSARO, R. A. M. et al. Viabilidade de aplicação da seleção precoce em testes clonais de Eucalyptus spp. **Ciencia Florestal**, v. 20, n. 4, p. 597–609, 2010. doi: 10.5902/198050982418.
- NUNES, A. C. P. et al. Statistical strategies design based on competition classes of Eucalyptus clones. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 66–73, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.026.
- ODA, S.; MENCK, A. L. de M.; VENCOSKY, R. Problemas No Melhoramento Genético Clássico Do Eucalipto Em Função Da Alta Intensidade De Seleção. **Ipef**, v. 41–42, p. 8–17, 1989.
- OLIVEIRA, R. de S. et al. Evaluation of genetic parameters and clonal selection of Eucalyptus in the Cerrado region. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–9, 2020. doi: 10.1590/1984-70332020v20n3a35.
- PINTO, D. S. et al. Seleção precoce para características de crescimento em testes clonais de Eucalyptus urophylla. **Scientia Forestalis**, v. 42, n. 102, p. 251–257, 2014.
- QUEURI, T.; CHAVEIRO, A.; NOVAES, E.; LARISSA, A.; HANSTED, S.; MINORU, F.;

- ROBERTO, C.; JR, S. Biomass and Bioenergy Eucalyptus expansion in Brazil : Energy yield in new forest frontiers. **Biomass and Bioenergy**, v. 144, n. September 2020, p. 105900, 2021. doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105900.
- RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas**. 3ª ed. Lavras-MG: Editora Ufla, 2012.
- RAMALHO, M. A. P.; MARQUES, T. L.; LEMOS, R. do C. Plant breeding in Brazil : Retrospective of the past 50 years. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, p. 1–11, 2021. doi: 10.1590/1984- 70332021v21Sa16.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing** Vienna-AustriaR Foundation for Statistical Computing, , 2020.
- REIS, C. A. et al. Correspondence between performance of Eucalyptus spp trees selected from family and clonal tests. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 10, n. 2, p. 1172–1179, 2011. doi: 10.4238/vol10-2gmr1078.
- REZENDE, G. D. S. P. et al. Clonal composites: An alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. **Forest Ecology and Management**, v. 449, n. June, p. 117445, 2019. doi: 10.1016/j.foreco.2019.06.042.
- SANTOS, G. A. et al. Genetic control and genotype-by-environment interaction of wood weight in eucalyptus clones in the state of rio grande do sul, Brazil. **Revista Árvore**, v. 40, n. 5, p. 867–876, 2016. doi: 10.1590/0100-67622016000500010.
- SANTOS, H. G. et al. Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in Eucalyptus plantations. **Journal of Forestry Research**, 31 mar. 2021. doi: 10.1007/s11676-021-01322-y. Acesso em: 24 maio. 2021.
- SHALIZI, M. N. et al. Correspondence between breeding values of the same pinus taeda l. genotypes from clonal trials and half-sib seedling progeny trials. **Forest Science**, v. 66, n. 5, p. 600–611, 2020. doi: 10.1093/forsci/fxaa016.
- SILVA, P. H. M. da; BARRICHELO, L. E. G. Progressos recentes na área florestal. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 439–456. 2006.
- SOUZA, T. da S. et al. Selection of eucalypt clones with higher stability in pulp yield. **Revista Árvore**, v. 44, p. 1–9, 2020. doi: 10.1590/1806-908820200000003.
- SOUZA, T. S. et al. Performance of Eucalyptus clones according to environmental conditions. **Scientia Forestalis**, p. 601–610, 2017.
- STANGER, T. K.; GALLOWAY, G. M.; RETIEF, E. C. Final results from a trial to test the effect of plot size on Eucalyptus hybrid clonal ranking in coastal Zululand, South Africa. **Southern Forests**, v. 73, p. 131–135, 2012. doi: 10.2989/20702620.2011.639492.
- STEEL, R. G. D. .; TORRIE, J. H. .; DICKEY, D. **Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach**. 3. ed. Boston: McGraw-Hill, 1997.
- WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. New York: Springer-Verlag New York, 2016.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1 - Estimativas médias e desvio padrão da média em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Continua)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
2	29,72 ± 1,15*	65,42 ± 3,40	61,56 ± 3,50	52,12 ± 2,54	23,12 ± 2,20	54,34 ± 3,21
3	29,64 ± 0,90	65,36 ± 2,67	61,48 ± 2,79	51,71 ± 2,14	23,11 ± 1,80	54,11 ± 2,53
4	29,60 ± 0,76	65,42 ± 2,22	61,45 ± 2,45	51,78 ± 1,77	23,03 ± 1,49	53,90 ± 2,18
5	29,57 ± 0,68	65,20 ± 1,92	61,61 ± 2,03	51,76 ± 1,60	23,04 ± 1,24	53,76 ± 1,97
6	29,54 ± 0,58	65,49 ± 1,78	61,45 ± 1,89	51,69 ± 1,42	23,06 ± 1,10	53,92 ± 1,65
7	29,49 ± 0,55	65,40 ± 1,64	61,50 ± 1,68	51,62 ± 1,24	23,05 ± 1,01	53,72 ± 1,53
8	29,51 ± 0,48	65,37 ± 1,50	61,43 ± 1,55	51,68 ± 1,18	23,05 ± 0,94	53,67 ± 1,43
9	29,53 ± 0,46	65,40 ± 1,31	61,48 ± 1,41	51,53 ± 1,10	22,96 ± 0,89	53,62 ± 1,32
10	29,50 ± 0,42	65,43 ± 1,25	61,43 ± 1,31	51,48 ± 1,04	23,03 ± 0,83	53,55 ± 1,25
11	29,50 ± 0,40	65,40 ± 1,13	61,45 ± 1,28	51,50 ± 0,94	22,96 ± 0,75	53,56 ± 1,13
12	29,50 ± 0,37	65,37 ± 1,13	61,50 ± 1,19	51,47 ± 0,85	22,99 ± 0,71	53,57 ± 1,06
13	29,48 ± 0,34	65,34 ± 0,95	61,41 ± 1,11	51,44 ± 0,80	22,96 ± 0,64	53,56 ± 1,00
14	29,48 ± 0,33	65,41 ± 0,91	61,43 ± 0,98	51,47 ± 0,79	23,00 ± 0,62	53,58 ± 0,90
15	29,49 ± 0,31	65,41 ± 0,85	61,45 ± 0,96	51,47 ± 0,68	22,99 ± 0,57	53,58 ± 0,88
16	29,46 ± 0,28	65,40 ± 0,82	61,44 ± 0,87	51,45 ± 0,68	22,98 ± 0,53	53,59 ± 0,78
17	29,48 ± 0,27	65,40 ± 0,78	61,43 ± 0,83	51,40 ± 0,62	22,95 ± 0,50	53,54 ± 0,72
18	29,47 ± 0,24	65,39 ± 0,72	61,42 ± 0,76	51,44 ± 0,58	22,99 ± 0,47	53,55 ± 0,71
19	29,47 ± 0,24	65,39 ± 0,67	61,44 ± 0,74	51,36 ± 0,53	22,99 ± 0,45	53,58 ± 0,65
20	29,46 ± 0,22	65,39 ± 0,63	61,42 ± 0,66	51,36 ± 0,50	22,99 ± 0,41	53,52 ± 0,61
21	29,46 ± 0,20	65,40 ± 0,57	61,47 ± 0,66	51,38 ± 0,46	22,97 ± 0,38	53,56 ± 0,57

*Desvios padrão das estimativas.

Tabela 1 - Estimativas médias e desvio padrão da média em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Conclusão)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
22	29,46	65,38	61,43	51,38	22,96	53,51
	± 0,18*	± 0,52	± 0,59	± 0,43	± 0,35	± 0,52
23	29,46	65,37	61,44	51,39	22,98	53,54
	± 0,17	± 0,49	± 0,51	± 0,39	± 0,32	± 0,47
24	29,45	65,38	61,45	51,38	22,98	53,54
	± 0,15	± 0,45	± 0,47	± 0,36	± 0,29	± 0,43
25	29,46	65,40	61,44	51,35	22,97	53,53
	± 0,14	± 0,38	± 0,43	± 0,31	± 0,25	± 0,40
26	29,46	65,38	61,44	51,36	22,98	53,52
	± 0,12	± 0,35	± 0,37	± 0,28	± 0,23	± 0,34
27	29,45	65,38	61,41	51,36	22,98	53,52
	± 0,10	± 0,31	± 0,31	± 0,25	± 0,19	± 0,29
28	29,46	65,39	61,43	51,34	22,98	53,52
	± 0,08	± 0,23	± 0,26	± 0,19	± 0,15	± 0,23
29	29,46	65,39	61,42	51,34	22,98	53,53
	± 0,06	± 0,17	± 0,18	± 0,13	± 0,11	± 0,16
30	29,92	65,42	61,51	52,21	23,28	54,55

*Desvios padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

Tabela 2 - Estimativas médias e desvio padrão da variância genética em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Continua)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
2	130,18	340,93	231,68	326,30	96,18	463,36
	± 31,45*	± 142,23	± 158,46	± 98,19	± 32,57	± 156,31
3	130,26	341,91	216,25	321,32	95,96	452,71
	± 24,17	± 88,93	± 110,78	± 75,60	± 25,65	± 109,56
4	131,96	342,86	219,32	327,92	97,77	456,38
	± 19,75	± 69,34	± 91,26	± 63,96	± 20,42	± 85,97
5	132,21	339,36	218,67	328,89	97,85	459,71
	± 17,17	± 59,32	± 73,95	± 56,84	± 17,55	± 71,93
6	133,28	346,10	217,77	326,43	97,94	454,45
	± 14,80	± 49,33	± 65,77	± 51,87	± 16,04	± 61,83
7	133,28	343,73	213,77	327,38	97,62	455,63
	± 13,19	± 46,20	± 57,85	± 46,67	± 14,72	± 58,56
8	133,94	342,23	216,07	328,57	97,67	456,55
	± 12,30	± 40,34	± 52,00	± 43,60	± 12,83	± 51,48
9	134,19	341,56	214,66	328,30	96,92	455,29
	± 11,18	± 34,57	± 47,83	± 40,73	± 12,31	± 49,38
10	134,33	343,99	215,55	329,62	98,21	453,32
	± 10,16*	± 32,65	± 43,03	± 38,04	± 11,08	± 42,82

*Desvios padrão das estimativas.

Tabela 2 - Estimativas médias e desvio padrão de variância genética em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Conclusão)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
11	134,36 ± 9,37	344,22 ± 29,12	214,01 ± 39,47	328,36 ± 35,82	97,62 ± 10,64	456,96 ± 40,34
12	134,34 ± 8,73	343,86 ± 27,40	216,47 ± 37,85	330,27 ± 33,36	98,01 ± 9,69	456,11 ± 37,09
13	134,47 ± 8,16	342,57 ± 24,86	212,26 ± 35,08	328,93 ± 32,06	97,94 ± 9,11	456,35 ± 35,24
14	134,61 ± 7,40	344,30 ± 23,21	213,56 ± 31,43	331,28 ± 29,81	98,38 ± 8,64	453,76 ± 33,11
15	134,41 ± 7,16	344,05 ± 22,75	213,02 ± 30,38	329,52 ± 28,15	98,32 ± 7,97	455,62 ± 31,77
16	134,62 ± 6,68	344,35 ± 20,81	214,11 ± 27,07	330,80 ± 26,11	98,29 ± 7,29	454,45 ± 27,46
17	134,77 ± 6,15	344,21 ± 19,13	212,34 ± 26,73	330,10 ± 25,17	97,93 ± 6,95	453,87 ± 26,30
18	134,83 ± 5,70	344,87 ± 17,82	213,11 ± 23,94	329,51 ± 24,11	98,63 ± 6,53	454,28 ± 24,06
19	134,91 ± 5,43	344,07 ± 16,90	212,42 ± 22,24	329,85 ± 22,60	98,39 ± 6,05	454,47 ± 22,46
20	135,03 ± 4,84	343,82 ± 15,35	213,51 ± 20,81	330,13 ± 21,16	98,55 ± 5,57	453,81 ± 20,94
21	134,81 ± 4,67	345,28 ± 14,19	213,16 ± 19,00	330,04 ± 19,30	97,94 ± 5,15	454,00 ± 19,00
22	134,79 ± 4,25	344,75 ± 12,42	213,21 ± 17,50	330,30 ± 18,63	98,25 ± 4,60	453,61 ± 17,74
23	134,99 ± 3,85	343,86 ± 11,86	212,38 ± 15,72	330,65 ± 17,23	98,35 ± 4,56	454,28 ± 16,41
24	134,95 ± 3,45	344,25 ± 11,05	213,30 ± 14,95	330,74 ± 15,54	98,58 ± 3,95	453,57 ± 14,48
25	135,27 ± 3,15	344,62 ± 9,82	213,11 ± 12,90	330,40 ± 13,89	98,45 ± 3,53	453,27 ± 12,99
26	135,06 ± 2,76	344,42 ± 8,73	212,73 ± 11,37	330,90 ± 12,31	98,46 ± 3,09	453,32 ± 11,64
27	135,08 ± 2,40	344,43 ± 7,25	212,23 ± 9,74	330,59 ± 10,39	98,22 ± 2,62	453,48 ± 9,69
28	135,15 ± 1,94	344,51 ± 5,72	212,22 ± 7,75	330,14 ± 8,06	98,47 ± 2,18	453,94 ± 7,74
29	135,26 ± 1,31	344,48 ± 3,98	212,53 ± 5,49	330,44 ± 5,43	98,53 ± 1,53	453,81 ± 5,32
30	135,25	344,53	212,50	330,65	98,46	453,73

*Desvios padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

Tabela 3 - Estimativas médias e desvio padrão de acurácia em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Continua)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
2	0,83 ± 0,05*	0,66 ± 0,13	0,57 ± 0,15	0,79 ± 0,12	0,77 ± 0,09	0,72 ± 0,10
3	0,88 ± 0,03	0,74 ± 0,06	0,61 ± 0,13	0,85 ± 0,06	0,83 ± 0,05	0,78 ± 0,06
4	0,91 ± 0,02	0,79 ± 0,04	0,66 ± 0,11	0,88 ± 0,04	0,87 ± 0,03	0,83 ± 0,04
5	0,93 ± 0,01	0,82 ± 0,03	0,70 ± 0,08	0,90 ± 0,03	0,89 ± 0,02	0,86 ± 0,03
6	0,94 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,74 ± 0,06	0,92 ± 0,02	0,91 ± 0,02	0,88 ± 0,02
7	0,95 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,76 ± 0,05	0,93 ± 0,02	0,92 ± 0,02	0,89 ± 0,02
8	0,95 ± 0,01	0,88 ± 0,02	0,79 ± 0,04	0,93 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,90 ± 0,01
9	0,96 ± 0,00	0,89 ± 0,01	0,80 ± 0,04	0,94 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,91 ± 0,01
10	0,96 ± 0,00	0,90 ± 0,01	0,82 ± 0,03	0,95 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,92 ± 0,01
11	0,97 ± 0,00	0,91 ± 0,01	0,83 ± 0,03	0,95 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,93 ± 0,01
12	0,97 ± 0,00	0,92 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,95 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,93 ± 0,01
13	0,97 ± 0,00	0,92 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,94 ± 0,01
14	± 0,97 ± 0,00	0,93 ± 0,01	0,86 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,00	0,94 ± 0,01
15	0,97 ± 0,00	0,93 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,00	0,95 ± 0,00
16	0,98 ± 0,00	0,93 ± 0,00	0,88 ± 0,01	0,96 ± 0,00	0,96 ± 0,00	0,95 ± 0,00
17	0,98 ± 0,00	0,94 ± 0,00	0,88 ± 0,01	0,97 ± 0,00	0,97 ± 0,00	0,95 ± 0,00
18	0,98 ± 0,00	0,94 ± 0,00	0,89 ± 0,01	0,97 ± 0,00	0,97 ± 0,00	0,95 ± 0,00
19	0,98 ± 0,00	0,94 ± 0,00	0,89 ± 0,01	0,97 ± 0,00	0,97 ± 0,00	0,96 ± 0,00
20	0,98 ± 0,00	0,95 ± 0,00	0,90 ± 0,01	0,97 ± 0,00	0,97 ± 0,00	0,96 ± 0,00
21	0,98 ± 0,00	0,95 ± 0,00	0,90 ± 0,01	0,97 ± 0,00	0,97 ± 0,00	0,96 ± 0,00

*Desvios padrão das estimativas.

Tabela 3 - Estimativas médias e desvio padrão de acurácia em 1.000 reamostragens com números de plantas variando de dois a 30 em experimentos de composto clonal em seis ambientes diferentes. (Conclusão)

Repetição	ARA	CBO	CCP	MUC	SMT	TLA1
22	0,98	0,95	0,91	0,97	0,97	0,96
	± 0,00*	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00
23	0,98	0,95	0,91	0,97	0,97	0,96
	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00
24	0,98	0,96	0,91	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00
25	0,98	0,96	0,92	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
26	0,98	0,96	0,92	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
27	0,99	0,96	0,92	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
28	0,99	0,96	0,92	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
29	0,99	0,96	0,93	0,98	0,98	0,97
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
30	0,99	0,96	0,93	0,98	0,98	0,97

*Desvios padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

ARTIGO 3 - Implicações do número de repetições nas inferências obtidas na interação de clones x ambientes

Artigo redigido conforme as normas NBR 6022 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2003).

IMPLICAÇÕES DO NÚMERO DE REPETIÇÕES NAS INFERÊNCIAS OBTIDAS NA INTERAÇÃO DE CLONES X AMBIENTES

RESUMO

A segurança nos programas de melhoramento florestal é dependente da avaliação dos clones, em diferentes condições ambientais, a que eles se destinam no futuro. Algumas empresas, visando reduzir o tempo de condução de um programa de melhoramento, estão iniciando o emprego de teste de progênies clonadas. Nessa condição, a origem dos propágulos é uma plântula recém germinada e, provavelmente, o número de indivíduos clonados, necessários para se conduzir os experimentos em vários ambientes, no menor tempo possível, pode ser uma restrição no emprego dessa metodologia. A opção é utilizar menor número de repetições nos experimentos. O desafio, desse trabalho, é mostrar que é viável a utilização de menor número de repetições em cada experimento, permitindo avaliar maior número de ambientes sem prejudicar as inferências obtidas da interação dos clones x ambientes. Utilizou-se seis experimentos com 30 repetições em que foram avaliados 60 clones. Os experimentos foram em *single-tree plot* e o caráter avaliado foi o incremento médio anual (IMA, $m^3 \cdot ha^{-1} \cdot ano^{-1}$) obtidos aos três anos de idade. Avaliou-se o número de repetições nas estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, envolvendo as análises conjuntas de todos os ambientes e dos possíveis pares de ambientes. Obteve-se também, a coincidência dos melhores e piores clones nas diferentes condições de avaliação. Adicionalmente, foi avaliada as implicações do número de repetições na participação da parte simples e complexa da decomposição das variâncias da interação clones x ambientes. Constatou-se que, em média das 1.000 reamostragens, as estimativas dos parâmetros genéticos e as inferências a respeito da interação clones x ambientes foram bem semelhantes. Observou-se que os desvios padrões obtidos nas estimativas foram decrescentes com o aumento do número de repetições. Entretanto, esses desvios, mesmo com menor número de repetições, em princípio, não provocaram alterações expressivas nos resultados das análises conjuntas. A coincidência entre os clones selecionados, nos diferentes ambientes, reduz com o número de repetições avaliadas. Entretanto, a utilização de menor número de repetições, viabiliza conduzir os experimentos de teste de progênies clonais, em maior número de ambientes, sem afetar expressivamente as inferências a serem obtidas para mitigar a interação clones x ambientes.

Palavras-chave: Melhoramento do eucalipto. Melhoramento de Plantas. Genética quantitativa. Interação genótipos x ambientes. Teste de progênies clonal.

INTRODUÇÃO

O sucesso do melhoramento do eucalipto no Brasil é inquestionável. A produtividade florestal alcançada nas últimas décadas consolidou o país como um dos maiores produtores mundiais de celulose e outros derivados da madeira (RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021). A área cultivada com eucalipto corresponde a 77% da área total de florestas plantadas, totalizando 6,96 milhões de hectares (IBÁ, 2020). Todavia, a demanda por produtos

madeireiros é crescente. Adicionalmente, ressalta-se que a realização de novos plantios será necessariamente realizada em condições menos favoráveis ao cultivo da espécie. Adicionalmente, com o propalado aquecimento global, haverá desafios ainda maiores para a continuidade do sucesso do melhoramento genético.

Ao longo do tempo, tem sido constatado que não há uma boa correspondência entre o desempenho do indivíduo nos testes de progênies e a sua performance nos testes clonais (FURTINI et al., 2012; REIS et al., 2011). Depreende-se, desta forma, que os testes de progênies demandam alguns anos e contribuem pouco para o sucesso dos testes clonais. Uma opção para que, ao mesmo tempo, continue utilizando o mérito da progênie na seleção clonal e reduza o número de anos para recomendação de novos clones, é o que se denomina “teste de progênie clonado” (RESENDE, 2002; RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021).

A maior dificuldade, em princípio, do teste de progênies clonado é que deseja-se avaliar inúmeras progênies com maior número de descendentes possíveis, sendo esses indivíduos clonados. Adicionalmente, cada clone é obtido por meio do propágulo de uma plântula recém germinada, o que pode demandar tempo maior para se obter todas as “cópias” de cada clone, de todos os indivíduos. Assim, o tempo demandado para se obter número expressivo de “cópias” de um mesmo clone, pode ser um fator a não se efetivar a principal vantagem do TPC, que é acelerar o programa de melhoramento.

Uma das alternativas para atenuar esse problema, é o emprego de parcelas de uma planta (*single tree-plot*- STP). O STP vem sendo utilizado com eficiência há longo tempo. Várias críticas que foram apregoadas contra esse tipo de estratégia experimental tais como o efeito dos vizinhos foi sendo desmistificado nos últimos anos (SANTOS et al., 2021). A grande vantagem do STP, sem dúvida nenhuma, é a possibilidade de maior número de repetições do que o tradicionalmente empregado com parcelas de várias plantas.

Com a dificuldade comentada anteriormente, do TPC, foi salientado a possibilidade do emprego de um menor número de repetições no STP, do que o preconizado anteriormente. No contexto de experimentos conduzidos em um único local, utilizando simulações, foi constatado que seria viável utilizar número de repetições bem inferior. Como por exemplo, a partir de cinco repetições (ver capítulo 2).

Entretanto, como comentou-se inicialmente, deve-se realizar a avaliação dos clones, no maior número de ambientes, para se ter segurança na recomendação para os plantios futuros. Nessa condição, seria importante avaliar o efeito do número de repetições nas inferências a serem obtidas da interação dos clones x ambientes. Nesse contexto, não foi encontrado,

infelizmente, nenhuma informação a esse respeito. Do exposto, foi realizado o presente trabalho com o objetivo de mostrar que é factível o uso de menor número de repetições, no STP, quando se conduz avaliações de clones em vários ambientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram gentilmente cedidos pela empresa Suzano S.A. Eles envolvem a avaliação de 60 clones de eucalipto originados de espécies de *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus grandis* e híbridos entre elas. Os experimentos foram implantados em 2015 em seis ambientes, envolvendo quatro estados Brasileiros, dois no Espírito Santo, dois em São Paulo, um no Mato Grosso e um na Bahia. Outras informações a respeito dos experimentos são encontradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Algumas características dos ambientes, dos experimentos, em que foram realizados os testes clonais de eucaliptos.

Ambiente	Código	Altitude (m)	Precipitação média anual (mm)	Tipo de solo	Espaçamento
Aracruz-ES	ARA	37	1290	LAd	3,0 x 2,0 m
São Mateus-ES	SMT	31	1050	PAd	3,0 x 2,5 m
Mucuri-BA	MUC	12	1320	PAd	3,0 x 3,0 m
Caçapava -SP	CCP	646	1510	PVAd	3,0 x 2,5 m
Capão Bonito -SP	CBO	693	1292	LVd	3,0 x 2,0 m
Três Lagoas 1-MS	TLA1	350	1352	LVd	3,6 x 2,3m

LAd: Latossolo Amarelo distrófico; LVd: Latossolo Vermelho distrófico; PAd: Argissolo Amarelo distrófico; PVAd: Argissolo Vermelho Amarelo distrófico.

Fonte: Do autor (2022).

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com uma planta por parcela (*single-tree plot* - STP) e 30 repetições. Aos três anos de idade foram obtidas as medidas de diâmetro à altura do peito (DAP), em centímetros e a altura das árvores (h), em metros. Posteriormente foi estimado o volume (V) em metros cúbicos, utilizando o fator de forma (f) adotado pela empresa, que corresponde a $f = 0,43$:

$$V = \frac{\pi DAP^2}{40000} \times h \times f$$

O incremento médio anual (IMA, $\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$) foi estimado multiplicando o volume individual (V) pelo número de árvores por hectare e dividindo pela idade em anos.

Inicialmente foram realizadas as análises individuais por ambiente, considerando as 30 repetições. O modelo utilizado para cada ambiente foi:

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}\boldsymbol{\mu} + \mathbf{Z}_c\mathbf{u}_c + \mathbf{Z}_b\mathbf{u}_b + \mathbf{e}$$

em que: $\mathbf{y}^{(N \times 1)}$ é o vetor de observações fenotípicas, sendo N o número de parcelas; $\mathbf{1}^{(N \times 1)}$ é um vetor contendo apenas uns; $\boldsymbol{\mu}$ é o intercepto; $\mathbf{u}_c^{(c \times 1)}$ é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios dos clones associados a matriz $\mathbf{Z}_c^{(N \times c)}$, sendo c o número de clones; $\mathbf{u}_b^{(b \times 1)}$ é o vetor de efeitos aleatórios de blocos associados a matriz $\mathbf{Z}_b^{(N \times b)}$, sendo b o número de blocos; $\mathbf{e}^{(N \times 1)}$ é o vetor de resíduos aleatórios.

Assume-se que os vetores de efeitos aleatórios \mathbf{u}_c , \mathbf{u}_b e \mathbf{e} são independentes e apresentam distribuição normal multivariada, com média 0 e matrizes de (co)variância $\text{var}(\mathbf{u}_c) = \mathbf{G}_c$, $\text{var}(\mathbf{u}_b) = \mathbf{G}_b$ e $\text{var}(\mathbf{e}) = \mathbf{R}$. As matrizes de (co)variância assumiram as seguintes estruturas: $\mathbf{G}_c = \sigma_c^2 \mathbf{I}_c$, $\mathbf{G}_b = \sigma_b^2 \mathbf{I}_b$ e $\mathbf{R} = \sigma_n^2 \mathbf{I}_n$, sendo σ_c^2 , σ_b^2 e σ_n^2 e os componentes de variância associados aos efeitos aleatórios de clones, blocos e resíduos e \mathbf{I}_c , \mathbf{I}_b e \mathbf{I}_n matrizes identidade.

A acurácia do experimento foi obtida pelo estimador:

$$r_{gg} = \sqrt{\frac{1 - PEV}{V_C}}$$

Em que: V_C é a variância genética entre clones e PEV é a variância do erro de predição do valor genotípico do clone.

Em seguida foram efetuadas análises conjuntas envolvendo simultaneamente os seis ambientes, com 30 repetições, utilizando o modelo:

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}\boldsymbol{\mu} + \mathbf{X}_a\boldsymbol{\tau}_a + \mathbf{Z}_c\mathbf{u}_c + \mathbf{Z}_{ca}\mathbf{u}_{ca} + \mathbf{Z}_b\mathbf{u}_b + \mathbf{Z}_{ba}\mathbf{u}_{ba} + \mathbf{e}$$

em que: $\mathbf{y}^{(N \times 1)}$ é o vetor de observações fenotípicas, sendo N o número de parcelas; $\mathbf{1}^{(N \times 1)}$ é um vetor contendo apenas uns; $\boldsymbol{\mu}$ é o intercepto; $\boldsymbol{\tau}_a^{(a \times 1)}$ é o vetor de efeitos fixos dos ambientes associados a matriz $\mathbf{X}_a^{(N \times a)}$, sendo a o número de ambientes; $\mathbf{u}_c^{(c \times 1)}$ é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios dos clones associados a matriz $\mathbf{Z}_c^{(N \times c)}$, sendo c o número de clones; \mathbf{u}_{ca} é o vetor de efeitos aleatórios da interação clones x ambientes associados a matriz $\mathbf{Z}_{ca}^{(c \times a)}$, $\mathbf{u}_b^{(b \times 1)}$ é o vetor de efeitos aleatórios de blocos associados a matriz $\mathbf{Z}_b^{(N \times b)}$, sendo b o número de

blocos; \mathbf{u}_{ba} é o vetor de efeitos aleatórios da interação clones x ambientes associados a matriz $\mathbf{Z}_{ba}^{(b \times a)}$; $\mathbf{e}^{(N \times 1)}$ é o vetor de resíduos aleatórios.

Assume-se que os vetores de efeitos aleatórios $\boldsymbol{\tau}_a$, \mathbf{u}_c , \mathbf{u}_{ca} , \mathbf{u}_b , \mathbf{u}_{ba} e \mathbf{e} são independentes e apresentam distribuição normal multivariada, com média 0 e matrizes de (co)variância $\text{var}(\boldsymbol{\tau}_a) = \mathbf{G}_a$, $\text{var}(\mathbf{u}_c) = \mathbf{G}_c$, $\text{var}(\mathbf{u}_{ca}) = \mathbf{G}_{ca}$, $\text{var}(\mathbf{u}_b) = \mathbf{G}_b$, $\text{var}(\mathbf{u}_{ba}) = \mathbf{G}_{ba}$, e $\text{var}(\mathbf{e}) = \mathbf{R}$. As matrizes de (co)variância assumiram as seguintes estruturas: $\mathbf{G}_a = \sigma_a^2 \mathbf{I}_a$, $\mathbf{G}_c = \sigma_c^2 \mathbf{I}_c$, $\mathbf{G}_{ca} = \sigma_{ca}^2 \mathbf{I}_{ca}$, $\mathbf{G}_b = \sigma_b^2 \mathbf{I}_b$, $\mathbf{G}_{ba} = \sigma_{ba}^2 \mathbf{I}_{ba}$ e $\mathbf{R} = \sigma_n^2 \mathbf{I}_n$, sendo σ_a^2 , σ_c^2 , σ_{ca}^2 , σ_b^2 , σ_{ba}^2 e σ_n^2 e os componentes de variância associados aos efeitos aleatórios de clones, blocos e resíduos e \mathbf{I}_a , \mathbf{I}_c , \mathbf{I}_{ca} , \mathbf{I}_b , \mathbf{I}_{ba} , e \mathbf{I}_n matrizes identidade.

Posteriormente, foram realizadas as análises conjunta para se avaliar o efeito do número de repetições, 5, 10, 15, 20 e 25 por meio de 1.000 reamostragens, sem reposição. As análises conjuntas foram realizadas considerando os seis ambientes simultaneamente e as 15 combinações duas a duas dos seis ambientes. Essas análises conjuntas foram realizadas utilizando o mesmo modelo já mencionado anteriormente.

Em todas as análises foram obtidas estimativas da variância genética entre clones, e da interação clones x ambientes e erro médio. Como foram realizadas 1.000 reamostragens além da média das estimativas mencionadas anteriormente, foram obtidos os desvios padrões de cada estimativa.

Foram obtidas estimativas das correlações genéticas por meio estimador apresentado por Falconer e Mackay (1996):

$$r_{G_{jj'}} = \frac{COV_{C_{jj'}}}{\sqrt{V_{C_j}V_{C_{j'}}}} = \frac{V_{C_{jj'}}}{\sqrt{V_{C_j}V_{C_{j'}}}}$$

em que:

$COV_{C_{jj'}}$ é a covariância genética entre os clones nos ambientes dois a dois. É igual a variância genética entre clones ($V_{C_{jj'}}$) obtida na análise conjunta;

V_{C_j} e $V_{C_{j'}}$ é a variância genética entre clones estimada nos ambientes j e j'.

O componente de variância da interação clones x ambientes foi decomposto em parte simples e complexa utilizando a média das 1000 reamostragens para cada número de repetições.

Utilizou-se a expressão proposta por Robertson (1959):

$$v_{cxl} = \frac{1}{2} (\sqrt{V_{C_j}} - \sqrt{V_{C_{j'}}})^2 + (1 - r_{G_{jj'}}) \sqrt{V_{C_j}V_{C_{j'}}}$$

em que:

$\frac{1}{2}(\sqrt{V_{Cj}} - \sqrt{V_{Cj'}})^2$ é a parte simples da interação;

$(1 - r_{G_{jj'}})\sqrt{V_{Cj}V_{Cj'}}$ é a parte complexa da interação.

Para os casos em que a correlação genética estava no intervalo de 0-0,12 ou 0,78-1,0, utilizou-se o estimador apresentado por Cruz e Castoldi (1991):

$$V_{CxL} = \frac{1}{2}(\sqrt{V_{Cj}} - \sqrt{V_{Cj'}})^2 + k\sqrt{V_{Cj}V_{Cj'}} + \sqrt{(1 - r_{G_{jj'}})^3 V_{Cj}V_{Cj'}}$$

em que:

$\frac{1}{2}(\sqrt{V_{Cj}} - \sqrt{V_{Cj'}})^2 + k\sqrt{V_{Cj}V_{Cj'}}$ é a parte simples da interação;

$\sqrt{(1 - r_{G_{jj'}})^3 V_{Cj}V_{Cj'}}$ é a parte complexa da interação.

Sendo k:

$$k = 1 - r_{G_{jj'}} - \sqrt{(1 - r_{G_{jj'}})^3}$$

Ainda visando as implicações do número de repetições e suas consequências na interação clones x ambientes foi estimada também, a coincidência entre os 10% melhores e 10% piores clones em cada uma das 1.000 reamostragens, para cada número de repetições, tendo como referência, o número de 30 repetições de cada par de análise conjunta.

Todas as análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2020), utilizando o pacote lme4 (BATES et al., 2015) para as análises de dados.

RESULTADOS

As variâncias dos erros obtidas nas análises individuais, envolvendo as 30 repetições, apresentaram a maior amplitude de variação para o par CCP e ARA, ou seja 8,11(Tabela 2). Para verificar o possível efeito dessa heterogeneidade, na variância do erro (V_e), foram realizadas análises conjuntas envolvendo os pares de ambientes, considerando e desconsiderando a heterogeneidade dos erros. Constatou-se, que a diferença entre os dois procedimentos foi muito pequena (Resultados não apresentados). Provavelmente porque a amplitude de variação entre os V_e , como já mencionado, foram de pequena magnitude. Por essa razão, todos os resultados da análise conjunta apresentados, envolvendo diferentes números de repetições, com 1.000 reamostragens, considerou os erros como sendo homogêneos.

Tabela 2 - Estimativas de variância genética entre clones (V_c), variância do erro (V_e) e acurácia (r_{gg}) considerando experimentos de eucaliptos com 30 repetições. Análises realizadas para cada ambiente.

Ambientes	V_c	V_e	r_{gg}
ARA	135,25	102,12	0,99
CBO	344,53	743,06	0,96
CCP	212,50	828,10	0,93
MUC	330,65	311,51	0,98
SMT	98,46	108,41	0,98
TLA1	453,73	671,69	0,97

Fonte: Do autor (2022).

As estimativas dos parâmetros obtidas nas análises conjuntas, envolvendo os seis ambientes, evidenciaram que o emprego de diferentes números de repetições foi bem semelhante, quando se considerou a média das 1.000 reamostragens (Tabela 3). Veja, por exemplo, que o componente da variância da interação clones x ambiente ($V_{C \times A}$), média das 1.000 reamostragens, variou de 139,82 (25 repetições) a 141,23 (5 repetições). Todavia, o desvio padrão das estimativas, como era esperado, reduziu com o aumento do número de repetições. Com cinco repetições, ele foi 3,83 vezes superior ao obtido com 25 repetições. Deve ser enfatizado, entretanto, que mesmo com cinco repetições, o desvio da interação foi inferior a 15%, indicando que a maioria das 1.000 estimativas estão próximas a média obtida. A mesma observação é válida para V_c e V_e . Concordando, com o que foi relatado, as magnitudes das estimativas da acurácia foram bem semelhantes na média de 1.000 reamostragens, considerando os diferentes números de repetições.

Tabela 3 - Estimativas das médias das 1.000 reamostragens dos: componentes da variância genética entre clones (V_c), da interação clones x ambientes ($V_{C \times A}$) e do erro (V_e) considerando diferentes números de repetições. Percentagem de coincidência dos 10% melhores (%+) e dos 10% piores (%-) clones. Análise envolvendo seis ambientes.

	V_c	$V_{C \times A}$	V_e	% +	% -
5	121,02 ± 12,32*	141,23 ± 21,18	448,61 ± 18,43	76,37	80,35
10	121,80 ± 8,04	139,77 ± 12,21	450,56 ± 11,26	81,82	86,78
15	122,13 ± 5,54	140,15 ± 8,84	450,32 ± 7,54	85,02	89,70
20	122,11 ± 3,90	140,22 ± 6,15	450,71 ± 5,16	87,08	90,70
25	122,09 ± 4,51	139,82 ± 5,53	450,96 ± 3,32	91,33	91,53
30	122,20 -	139,72 -	450,94 -	100	100

*Desvio padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

As estimativas das correlações genéticas ($r_{G_{jj'}}$), considerando 30 repetições, dos ambientes dois a dois está apresentada na tabela 4. Constatou-se que a magnitude de $r_{G_{jj'}}$ variou de 0,28 para CBO x MUC a 0,87 para ARA x SMT. O foco principal deste trabalho foi verificar se o número de repetições tem efeito pronunciado nas estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos quando se avalia os ambientes dois a dois. Embora as estimativas fossem obtidas para os seis ambientes dois a dois, grande parte dos resultados irá, ser focados nos pares de ambientes com a maior correlação genética, ARA x SMT (Tabela 4) e a menor correlação CBO x MUC (Tabela 5).

Considerando o par de ambientes de maior correlação genética (ARA x SMT), observou-se que as estimativas de variância genética entre clones, para as análises individuais (V_{C1} e V_{C2}), foram bem semelhantes para os diferentes números de repetições (Tabela 4). Essas pequenas diferenças, devem ser atribuídas ao efeito de amostragem. Observou-se também que a V_C , em ARA, foi de magnitude de 37,2% maior que a obtida em SMT, considerando 25 repetições. Constatou-se, novamente, menor desvio padrão nas estimativas, com o aumento no número de repetições utilizado. A variância genética entre clones (V_C) considerando a média dos dois ambientes teve a mesma tendência do que ocorreu nos dois ambientes separadamente. Em média, a magnitude com cinco repetições foi semelhante a obtida com o número total de repetições, que foi de 30. Contudo, como era esperado, e já comentado para outras estimativas, o desvio da estimativa de V_C reduziu com o aumento do número de repetições. A mesma observação é válida para o componente da interação V_{CxA} .

Tabela 4 - Média das estimativas das variâncias genéticas entre clones por ambiente (V_{C1} e V_{C2}); na análise conjunta dos dois ambientes (V_C) e da interação clones x ambientes (V_{CxA}). Considerando diferentes número de repetições (5, 10, 15, 20 e 25).

	ARA (V_{C1})	SMT (V_{C2})	V_C	V_{CxA}
5	133,33 ± 16,34*	96,22 ± 18,14	99,29 ± 12,39	15,82 ± 6,45
10	133,64 ± 10,54	98,64 ± 10,72	100,14 ± 7,32	16,07 ± 3,40
15	134,56 ± 7,06	98,14 ± 7,90	100,11 ± 5,22	16,24 ± 2,21
20	134,87 ± 5,00	98,05 ± 5,48	100,32 ± 3,66	16,10 ± 1,53
25	135,15 ± 3,17	98,51 ± 3,44	100,56 ± 2,30	16,23 ± 0,95
30	135,25 -	98,46 -	100,50 -	16,31 -

*Desvio padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

Quando se considerou o par de menor estimativa da correlação genética (CBO x MUC), a mesma tendência em termos da V_C com diferentes números de repetições, comentadas

anteriormente, são válidas aqui (Tabela 5). Contudo, neste caso, as magnitudes da variância genética entre clones, em cada ambiente separadamente, foram semelhantes (Tabela 2). Outro aspecto que deve ser comentado, é que o desvio das estimativas, em função dos diferentes números de repetições, foi mais acentuado, provavelmente devido a magnitude dos dados. Em termos percentuais, o desvio de V_C , considerando os dois ambientes, foram semelhantes. Deve-se ressaltar que, a amplitude de variação quando se considerou cinco e 25 repetições nas duas situações de menor e maior correlação genética foi semelhante (Tabela 4 e 5). A mesma observação é válida para as demais estimativas obtidas, exceto como era esperado, a V_{CxA} neste par de ambiente, foi muito superior à obtida no ambiente com maior estimativa da correlação genética.

Tabela 5 - Média das estimativas das variâncias genéticas entre clones por ambiente (V_{C1} e V_{C2}); na análise conjunta dos dois ambientes (V_C) e da interação clones x ambientes (V_{CxA}). Considerando diferentes número de repetições (5, 10, 15, 20 e 25).

	CBO (V_{C1})	MUC (V_{C2})	V_C	V_{CxA}
5	343,56 ± 56,89*	328,24 ± 56,51	95,46 ± 30,91	236,95 ± 52,33
10	344,41 ± 33,14	328,75 ± 36,53	95,12 ± 20,16	238,79 ± 31,40
15	343,55 ± 21,92	331,15 ± 27,99	96,09 ± 13,57	238,87 ± 21,67
20	343,12 ± 14,91	330,54 ± 21,25	94,82 ± 10,19	239,92 ± 15,75
25	344,78 ± 9,52	330,69 ± 13,59	94,65 ± 6,26	241,21 ± 9,97
30	344,53 -	330,65 -	94,26 -	241,59 -

*Desvio padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

As estimativas das correlações genéticas nos diferentes pares de ambientes, como era esperado, variaram muito (Tabela 6). O que mais interessa, contudo, é verificar o efeito do número de repetições nessas estimativas. Observou-se que, para o mesmo par de ambientes, as $r_{G_{jj'}}$ variaram muito pouco, considerando cinco, 10 ou 25 repetições, na média das 1.000 reamostragens. Aqui também, como ocorreu no caso dos outros parâmetros, o desvio padrão das estimativas reduziu com o aumento no número de repetições, o que já era esperado.

Tabela 6 - Média das estimativas das correlações genéticas envolvendo as combinações dos ambientes dois a dois com diferentes números de repetições (5, 10, 25). Dados médios de 1.000 reamostragens.

	Número de repetição			
	5	10	25	30
ARA x CBO	0,44 ± 0,11*	0,43 ± 0,06	0,43 ± 0,02	0,43
ARA x CCP	0,43 ± 0,15	0,42 ± 0,08	0,42 ± 0,06	0,43
ARA x MUC	0,80 ± 0,05	0,80 ± 0,03	0,81 ± 0,01	0,81
ARA x SMT	0,88 ± 0,05	0,87 ± 0,03	0,87 ± 0,01	0,87
ARA x TLA1	0,45 ± 0,08	0,45 ± 0,05	0,45 ± 0,03	0,45
CBO x CCP	0,76 ± 0,17	0,74 ± 0,08	0,73 ± 0,02	0,73
CBO x MUC	0,29 ± 0,10	0,28 ± 0,06	0,28 ± 0,02	0,28
CBO x SMT	0,37 ± 0,10	0,36 ± 0,06	0,37 ± 0,02	0,37
CBO x TLA1	0,52 ± 0,12	0,51 ± 0,07	0,51 ± 0,02	0,51
CCP x MUC	0,38 ± 0,20	0,36 ± 0,12	0,34 ± 0,03	0,33
CCP x SMT	0,37 ± 0,14	0,37 ± 0,08	0,38 ± 0,03	0,38
CCP x TLA1	0,65 ± 0,15	0,63 ± 0,07	0,62 ± 0,02	0,62
MUC x SMT	0,73 ± 0,07	0,73 ± 0,04	0,74 ± 0,01	0,74
MUC x TLA1	0,43 ± 0,10	0,43 ± 0,06	0,42 ± 0,02	0,42
SMT x TLA1	0,46 ± 0,10	0,46 ± 0,06	0,47 ± 0,02	0,47

*Desvio padrão das estimativas.

Fonte: Do autor (2022).

Na decomposição da interação em parte simples e complexa (Tabela 7) os resultados obtidos considerando as 1.000 reamostragens não variaram em função dos números de repetições utilizadas. Essa observação é válida para o par de ambientes em que a correlação genética foi menor (CBO x MUC), quanto no experimento de maior correlação (ARA x SMT), no contexto do número de repetições. Chama a atenção, contudo, que a contribuição da parte simples e complexa da interação diferiram de acordo com os estimadores utilizados - Robertson e Cruz (1959) - A. Para ARA x SMT, a parte simples foi de apenas 9,75% para o estimador A, mesmo considerando que a correlação foi alta (0,87). Entretanto quando se utilizou a proposta de Cruz e Castoldi (1991) - B para situações em que a correlação é superior a 0,78, a parte simples foi superior a 67%, refletindo muito melhor o que a correlação genética está referendando. Deve ser mencionado também que mesmo em caso de CBO x MUC em que a correlação genética foi de pequena magnitude (0,28) ao que tudo indica, a parte simples da interação foi subestimada, utilizando o estimador A. É necessário enfatizar, entretanto, que independente desses comentários a respeito dessas metodologias da estimativa da parte simples e complexa, o número de repetições não afetou as interpretações obtidas em cada um dos métodos.

Tabela 7 - Decomposição da decomposição da interação clone x ambientes (V_{CxA}) em parte simples e complexa, apresentadas por Robertson (1959) - A e Cruz e Castoldi (1991) - B, envolvendo os pares de ambientes ARA x SMT e CBO x MUC, com diferentes números de repetições (5, 10, 25).

	V_{CxA}	A		B		
		Simplex%	Complexa%	Simplex%	Complexa%	
ARA x SMT	5	99,29	9,75	90,25	68,29	31,71
	10	100,14	8,29	91,71	67,22	32,78
	15	100,11	8,83	91,17	67,28	32,72
	20	100,32	9,08	90,92	67,53	32,47
	25	100,56	8,88	91,12	67,34	32,66
CBO x MUC	5	95,46	0,04	99,96	15,43	84,57
	10	95,12	0,04	99,96	15,34	84,66
	15	96,09	0,02	99,98	15,45	84,55
	20	94,82	0,02	99,98	15,26	84,74
	25	94,65	0,03	99,97	15,19	84,81

Fonte: Do autor (2022).

O mais importante para os melhoristas quando se avalia a interação é observar as implicações dessa estimativa na coincidência dos clones/progênieis a serem selecionados nos diferentes ambientes. Para verificar o efeito do número de repetições nessa coincidência, foi verificado os seis melhores ou piores clones, nos ambientes dois a dois, considerando os diferentes números de repetições (Tabela 8). Como era esperado, a menor coincidência média de 1.000 reamostragens, foi obtida no par de ambiente com menor estimativa da correlação genética (CBO x MUC). Observou-se que, de modo geral, com maior número de repetições a coincidência foi crescente. Entretanto, mesmo com cinco repetições a percentagem de coincidência foi sempre superior a 57,6%. Depreende-se pelo menos, em princípio, considerando todos os pares de ambientes que a utilização de cinco repetições teve um comportamento equivalente ao emprego de mais repetições. (Tabela 8). Esse último comentário é coerente com o que já foi comentado anteriormente das percentagens de coincidências obtidas, para seleção dos melhores ou dos piores clones envolvendo os seis ambientes em que, a coincidência com cinco repetições foi superior a 76% (Tabela 3).

Tabela 8 - Percentagem de coincidência dos 10% melhores (%+) e dos 10% piores clones (%-).
Dados obtidos com diferentes números de repetições e pares de ambientes.

		Número de repetição				
		5	10	15	20	25
ARA x CBO	%+	71,30	82,68	89,77	95,00	99,32
	%-	71,32	81,97	86,85	91,42	96,92
ARA x CCP	%+	67,00	77,63	83,22	87,33	91,77
	%-	62,68	76,27	82,60	85,93	88,78
ARA x MUC	%+	75,37	84,13	88,43	91,65	94,88
	%-	69,55	78,50	83,98	90,97	96,70
ARA x SMT	%+	78,12	86,17	91,58	94,25	97,37
	%-	77,07	83,00	86,50	89,33	92,12
ARA x TLA1	%+	74,57	82,62	84,45	87,48	89,97
	%-	70,73	81,85	87,07	89,52	91,75
CBO x CCP	%+	67,17	78,33	85,17	91,95	97,42
	%-	66,98	79,52	84,77	87,85	90,95
CBO x MUC	%+	57,62	68,48	74,98	81,43	87,25
	%-	74,95	84,82	88,18	89,17	90,52
CBO x SMT	%+	65,97	77,82	84,00	89,18	94,05
	%-	70,18	81,62	86,27	90,60	94,75
CBO x TLA1	%+	77,02	87,32	92,70	97,02	99,88
	%-	63,42	79,90	89,23	96,48	99,87
CCP x MUC	%+	61,68	77,95	87,80	96,27	99,95
	%-	71,67	83,23	89,47	94,58	99,05
CCP x SMT	%+	64,00	74,65	81,68	86,70	90,72
	%-	65,98	81,77	87,88	91,00	93,87
CCP x TLA1	%+	70,97	80,13	85,15	88,18	91,55
	%-	63,55	77,62	85,25	91,33	97,12
MUC x SMT	%+	71,93	81,52	87,42	90,87	92,98
	%-	76,03	86,23	93,07	97,60	99,87
MUC x TLA1	%+	70,38	79,73	84,82	88,93	93,58
	%-	75,36	86,03	92,05	96,92	99,65
SMT x TLA1	%+	75,83	84,15	88,45	91,27	94,62
	%-	74,42	84,17	87,98	89,00	90,72

Fonte: Do autor (2022).

DISCUSSÃO

Para se ter maior segurança em qualquer programa de melhoramento genético, especialmente florestal, os clones antes de serem recomendados, devem ser avaliados nas diferentes condições ambientais a que eles se destinam. Contudo, espera-se que os ambientes onde estejam sendo realizados os experimentos sejam representativos do ambiente alvo no

futuro (ROSADO et al., 2012; VAN EEUWIJK; BUSTOS-KORTS; MALOSETTI, 2016). Ou seja, seleciona-se com informações obtidas no passado esperando que a seleção realizada seja eficiente no futuro, durante o cultivo, em grandes áreas (REZENDE et al., 2019; RUBILAR et al., 2020).

A procura para acelerar os programas de melhoramento de plantas tem sido frenética. O denominado “speed breeding” é uma dessas tecnologias (WATSON et al., 2018; BHATTA et al., 2021). Na área florestal, a aceleração do processo de melhoramento vem sendo realizado há longo tempo com sucesso (CASTRO et al., 2016; RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021). Uma das tecnologias utilizadas para essa finalidade foi o processo de indução precoce do florescimento para tornar factível as hibridações artificiais, o mais rápido possível (ASSIS; WARBURTON; HARWOOD, 2005). Uma outra estratégia que irá possibilitar acelerar o processo de obtenção de clones surgiu da constatação, que a correlação entre a performance dos indivíduos nos testes de progênie e o desempenho dos clones deles derivados tem sido pequena (REIS et al., 2011; FURTINI et al., 2012). Desta constatação, derivou-se a proposta de se melhorar a precisão e conseqüentemente o ganho com a seleção das progênies, clonando os indivíduos de cada progênie (RESENDE, 2002). Assim procedendo, é possível avaliar as progênies e os indivíduos/clones, ambos com maior acurácia, simultaneamente. Vislumbrou-se então que poder-se-ia “pular” o teste de progênie convencional, porém, utilizando a informação do mérito da progênie na identificação de clones superiores. Essa estratégia foi denominada de teste de progênie clonal (RESENDE, 2002; RAMALHO; MARQUES; LEMOS, 2021).

Aspecto relevante, é que na aplicação do teste de progênie clonal (TPC), o mais rápido possível, o desafio maior, é obter o número suficiente de plantas clonadas de cada indivíduo, no menor tempo possível. Isto porque, a fonte inicial das mudas é uma plântula recém germinada. A primeira estratégia que pode reduzir o número de clones necessários é o emprego de experimentos em STP. Ele vem sendo amplamente utilizado na área florestal, permitindo avaliar maior número de clones, com boa precisão experimental devido ao grande número de repetições que pode ser empregado (JANSSON; DANELL; STENER, 1998; GEZAN; WHITE; HUBER, 2006).

O número de repetições em STP têm variado de 20 a 40 (BISON et al., 2007; GALLO et al., 2018; NUNES et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020; SANTOS et al., 2021). Do que foi exposto, anteriormente, quando se utiliza o TPC, é necessário avaliar no número maior de ambientes para se ter segurança na identificação dos melhores. Assim o número de cópias de cada clone é grande, sobretudo tendo o tempo limitado. A alternativa é verificar a viabilidade

de se utilizar um menor número de repetições no STP. A inferência dessa viabilidade pode ser melhor visualizada, por meio das estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos, associados ao desempenho dos clones, quando se avalia os vários experimentos considerando números diferentes de repetições.

Ao ser realizada a análise conjunta, de alguns experimentos, a primeira preocupação é a homeodasticidade das variâncias dos erros nos diferentes experimentos. Existem testes para se inferir se as variâncias dos erros são homogêneas ou não (RESENDE, 2002). Pimentel Gomes (1990) comenta que quando todos os tratamentos possuem o mesmo número de repetições, se a razão entre a maior e a menor variância for até sete, pode-se realizar a análise conjunta sem se preocupar com a magnitude das diferenças nas variâncias dos erros. No presente caso, na maioria dos pares de ambientes, a diferença da magnitude dos erros foi de magnitude inferior a esta. Exceto, envolvendo os ambientes CCP e ARA (Tabela 2). Uma das alternativas para mitigar a heterogeneidade dos erros é modelar a matriz de variâncias e covariâncias (RESENDE, 2002; SMITH; CULLIS; THOMPSON, 2005; ANDRADE et al., 2016). Como comentado por Pereira et al. (2022) modelar estruturas de variância e covariância possui limitações computacionais devido a convergência em função do alto número de parâmetros a serem estimados. No presente trabalho, como foram realizadas 1.000 reamostragens para diferentes números de repetições em todos os pares de ambientes, utilizar estruturas de variâncias e covariâncias nas simulações realizadas com os recursos computacionais disponíveis, era praticamente inviável. Mesmo assim, considerando 30 repetições utilizando o par de ambientes ARA x CCP, cuja magnitude da diferença em V_e foi a maior (Tabela 2), foi realizada a análise conjunta considerando ou não a heterogeneidade das variâncias. Constatou-se que os resultados foram muito semelhantes nas estimativas dos parâmetros utilizados para o estudo da interação clones x ambientes. Não alterando qualquer das inferências a serem feitas.

Constatou-se inicialmente, na análise conjunta envolvendo todos os ambientes, que em média, as estimativas de variância genética entre clones, variância da interação CxA e a variância dos erros, como era esperado, foram muito semelhantes, independentes do número de repetições. Contudo, o desvio padrão das estimativas considerando as 1.000 reamostragens, reduziu a medida que se aumentou o número de repetições (Tabela 3). Todavia, considerando as propriedades da distribuição normal, com a V_C , por exemplo, 68,26% das estimativas obtidas, com cinco repetições estariam entre 108,8 a 133,4. O que seria um desvio de pequena magnitude. Isto porque, esse valor, corresponde a 1,12%, a direita ou à esquerda da média, do

valor obtido com 30 repetições ($V_C = 122,02$), como referência. A mesma observação é válida para as demais estimativas, inclusive a acurácia. Depreende-se, em princípio, que praticamente utilizar cinco repetições ou 30 repetições no STP possibilita obter estimativas de parâmetros genéticos semelhantes considerando a análise conjunta de seis ambientes.

No estudo da interação é comum avaliar os ambientes dois a dois por algumas razões: uma delas é avaliar a divergência entre os ambientes que é amplamente utilizado na estratificação ambiental (BERNARDO, 2020); também associado as estimativas das correlações genéticas, é possível avaliar a natureza da interação ou seja, se é predominante simples ou complexa (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Por essas razões, a implicação do número de repetições nas estimativas de parâmetros genéticos associados a interação dos ambientes dois a dois foi o principal foco deste artigo. Em princípio, discutir todas as estimativas dos parâmetros nos 15 pares de ambientes é impraticável. Assim, optou-se, por dar ênfase nos pares com maior ou menor estimativa da correlação genética entre o desempenho dos clones nos dois ambientes - ARA x SMT e CBO x MUC. Entretanto, em algumas situações, as estimativas serão comentadas envolvendo todos os pares.

A maior estimativa da correlação foi para o par ARA x SMT (0,87), indicando que esses dois ambientes devem ser bem semelhantes (BERNARDO, 2020). O que está bem coerente, uma vez que eles são situados próximos. Já no par CBO x MUC a $r_{G_{jj'}}$ foi a menor (0,28), o que pressupõe ser ambientes mais divergentes (Tabela 6). Constatou-se (Tabela 4 e 5) que embora os pares de ambiente ARA x SMT e CBO x MUC diferiram nas estimativas da correlação genética, em termos dos efeitos do número de repetições, as estimativas de parâmetros genéticos foram bem semelhantes. Veja que na média das 1.000 reamostragens, os diferentes números de repetições praticamente não afetaram as estimativas das V_{C1} , V_{C2} , V_C e V_{CxA} . A mesma observação, já realizada anteriormente, deve ser feita, que o desvio das estimativas foi tanto maior quanto menor o número de repetições utilizadas, como era esperado. Novamente, vale o comentário que embora o desvio com menor número de repetições seja maior, a sua magnitude não deve afetar expressivamente os resultados em mais de 68,3% das amostras.

Particularmente interessante é comparar as estimativas V_{CxA} nesses dois pares de ambiente, ARA x SMT (Tabela 4) em relação a CBO x MUC (Tabela 5), independentemente do número de repetições utilizadas. Observou-se que a V_{CxA}/V_C em CBO x MUC foi de 2,56 vezes, já no par ARA x SMT essa relação foi de 0,16. Depreende-se que a interação foi proporcionalmente mais importante no par CBO x MUC do que no para ARA x SMT. O que

está coerente com a estimativa da correlação genética de cada um desses pares e com o comentário da similaridade ambiental entre os pares de ambientes. Deve ser salientado, que esses comentários não alteram expressivamente em função do número de repetições. Depreende-se que utilizar-se o menor número de repetições nos STP's é perfeitamente viável no que se refere as implicações das interações, como também foi verificado por Osorio et al (2003).

Uma estratégia comumente utilizada quando se avalia pares de ambientes, como já foi comentado, é inferir a respeito da natureza da interação. Ou seja, se ela é predominante simples, devido principalmente a magnitude da diferença nas variâncias genéticas nos dois ambientes ou complexa, função da pequena magnitude da correlação genética dos ambientes dois a dois. Para CBO x MUC, como esperado, a correlação obtida nesses ambientes foi baixa, a interação complexa prevaleceu, explicando 99% da interação. Contudo, no par ARA x SMT que a correlação genética foi 0,87, a parte complexa (91,08%) foi acima do esperado (Tabela 7). Cruz e Castoldi (1991) comentam que quando a correlação varia de 0 – 0,12 ou 0,78-1,0, a expressão proposta por Robertson (1959) não é a mais apropriada e propuseram uma nova equação. Quando se utilizou a equação de Cruz e Castoldi (1991) para o par de ambientes ARA x SMT, a estimativa da parte complexa que era de 91,08% passou para 32,72%. O que é um valor muito mais coerente com o esperado (Tabela 7).

Finalmente, o que se deseja comentar é como os diferentes números de repetições afetam a classificação dos melhores ou dos piores clones, nas análises conjuntas, que é, em última instância, o que realmente interessa para os melhoristas. A coincidência na classificação dos clones foi maior nos pares de ambientes em que a correlação genética foi maior (Tabela 8). Além do mais, como era esperado também, a coincidência aumentou em função do incremento do número de repetições. Deve ser salientado, que utilizando menor número de repetições é possível ter experimentos em mais ambientes. O que possibilita explorar melhor a estimativa da interação dos clones x ambientes e as inferências para mitigar seus efeitos (VAN EEUWIJK; BUSTOS-KORTS; MALOSETTI, 2016; BERNARDO, 2020). Também permite estimar as médias, dos clones, com maior número de repetições, a partir das análises conjuntas. Desse modo, é possível compensar a diferença de coincidência nos clones selecionados em um maior número de ambientes, porém com menor número de repetições (Tabela 3).

CONCLUSÃO

As inferências a serem obtidas a respeito da interação clones x ambientes, considerando a média das 1000 reamostragens, praticamente não altera em função do número de repetições. O desvio padrão das estimativas é decrescente com o aumento do número de repetições. Todavia, eles foram, em média, para vários parâmetros, aproximadamente, de 10% do valor obtido com 30 repetições.

A coincidência entre os clones selecionados nos ambientes dois a dois reduzem com o número de repetições avaliadas. Entretanto, utilizando menor número de repetições, é viável conduzir, especialmente os experimentos de teste de progênies clonais, em mais ambientes. Tornando-se factível o emprego de menor número de repetições como estratégia para mitigar a interação clones x ambientes.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, V. T. et al. Statistical modeling implications for coffee progenies selection. **Euphytica**, v. 207, n. 1, p. 177–189, 2016. doi: 10.1007/s10681-015-1561-6.
- ASSIS, T.; WARBURTON, P.; HARWOOD, C. Artificially induced protogyny: An advance in the controlled pollination of Eucalyptus. **Australian Forestry**, v. 68, n. 1, p. 27–33, 2005. doi: 10.1080/00049158.2005.10676223.
- BATES, D. et al. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015. doi: 10.18637/jss.v067.i01.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. 3^o edition ed. Woodbury: Stemma Press, 2020.
- BHATTA, M. et al. Need for speed: manipulating plant growth to accelerate breeding cycles. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 60, p. 101986, 2021. doi: 10.1016/j.pbi.2020.101986.
- BISON, O. et al. Combining ability of elite clones of Eucalyptus grandis and Eucalyptus urophylla with Eucalyptus globulus. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 417–422, 2007. doi: 10.1590/S1415-47572007000300019.
- CASTRO, C. A. de O. et al. Brief history of Eucalyptus breeding in Brazil under perspective of biometric advances. **Ciência Rural**, v. 46, n. 9, p. 1585–1593, 2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150645.
- CRUZ, C. D.; CASTOLDI, F. **Decomposição da interação genótipo x ambientes em partes simples e complexa** Ceres, 1991. .
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4^a ed. Londres: Pearson, 1996.
- FURTINI, I. V. et al. Effect of different progeny test strategies in the performance of eucalypt clones. **Silvae Genetica**, v. 61, n. 3, p. 116–120, 2012. doi: 10.1515/sg-2012-0014.

- GALLO, R. et al. Growth and wood quality traits in the genetic selection of potential *Eucalyptus dunnii* Maiden clones for pulp production. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. July, p. 434–441, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.016.
- GEZAN, S. A.; WHITE, T. L.; HUBER, D. A. Comparison of experimental designs for clonal forestry using simulated data. **Forest Science**, v. 52, n. 1, p. 108–116, 2006. doi: 10.1093/forestscience/52.1.108.
- IBÁ - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES, I. **Anuário estatístico do IBÁ. Ano base 2019**. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>.]
- JANSSON, G.; DANELL, Ö.; STENER, L. G. Correspondence between single-tree and multiple-tree plot genetic tests for production traits in *Pinus sylvestris*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 28, n. 3, p. 450–458, 1998. doi: 10.1139/x98-004.
- NUNES, A. C. P. et al. Statistical strategies design based on competition classes of *Eucalyptus* clones. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 66–73, 2018. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.07.026.
- OLIVEIRA, R. de S. et al. Evaluation of genetic parameters and clonal selection of *Eucalyptus* in the Cerrado region. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–9, 2020. doi: 10.1590/1984-70332020v20n3a35.
- OSORIO, L. F.; WHITE, T. L.; HUBER, D. A. Age-age and trait-trait correlations for *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden and their implications for optimal selection age and design of clonal trials. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 4, p. 735–743, 2003. doi: 10.1007/s00122-002-1124-9.
- PEREIRA, F. D. C. et al. Mega-environment analysis of maize breeding data from Brazil. **Scientia Agricola**, v. 79, n. 2, p. 2022, 17 maio 2022. doi: 10.1590/1678-992x-2020-0314. Acesso em: 9 dez. 2021.
- PIMENTEL, G. F. **Curso de Estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba-SP: Nobel, 1990.
- RAMALHO, M. A. P.; MARQUES, T. L.; LEMOS, R. do C. Plant breeding in Brazil : Retrospective of the past 50 years. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, p. 1–11, 2021. doi: 10.1590/1984-70332021v21Sa16.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna-AustriaR Foundation for Statistical Computing, , 2020.
- REIS, C. A. F. et al. *Corymbia torelliana*: estado da arte de pesquisas no Brasil. **Documentos, EMBRAPA**, v. 261, n. December, p. 2014, 2014.
- REIS, C. A. et al. Correspondence between performance of *Eucalyptus* spp trees selected from family and clonal tests. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 10, n. 2, p. 1172–1179, 2011. doi: 10.4238/vol10-2gmr1078.
- RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
- REZENDE, G. D. S. P. et al. Clonal composites: An alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. **Forest Ecology and Management**, v. 449, n. June, p. 117445, 2019. doi: 10.1016/j.foreco.2019.06.042.
- ROBERTSON, A. Experimental Design in the Evaluation of Genetic Parameters. **Biometrics**, v. 15, n. 2, p. 219, jun. 1959b. doi: 10.2307/2527670.
- ROSADO, A. M. et al. Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 7, p. 964–971, jul. 2012. doi: 10.1590/S0100-204X2012000700013. Acesso em: 8 dez. 2021.
- RUBILAR, R. et al. Climate and water availability impacts on early growth and growth efficiency of

Eucalyptus genotypes: The importance of GxE interactions. **Forest Ecology and Management**, v. 458, n. November, p. 117763, 2020. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117763.

SANTOS, H. G. et al. Strategies for the analysis of single-tree plot experiments in Eucalyptus plantations. **Journal of Forestry Research**, 31 mar. 2021a. doi: 10.1007/s11676-021-01322-y. Acesso em: 24 maio. 2021.

SMITH, A. B.; CULLIS, B. R.; THOMPSON, R. The analysis of crop cultivar breeding and evaluation trials: An overview of current mixed model approaches. **Journal of Agricultural Science**, v. 143, n. 6, p. 449–462, 2005. doi: 10.1017/S0021859605005587.

VAN EEUWIJK, F. A.; BUSTOS-KORTS, D. V.; MALOSETTI, M. What should students in plant breeding know about the statistical aspects of genotype \times Environment interactions? **Crop Science**, v. 56, n. 5, p. 2119–2140, 2016. doi: 10.2135/cropsci2015.06.0375.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. [s.l.] Sociedade Brasileira de Genética, 1992.

WATSON, A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, v. 4, n. 1, p. 23–29, 1 jan. 2018. doi: 10.1038/s41477-017-0083-8. Acesso em: 22 jan. 2021.