

# ANTONIO CARLOS MOTA PORTO

# ESTRATÉGIAS PARA EXPLORAÇÃO DO GERMOPLASMA E APTIDÃO PARA CULTIVO DE *Toona ciliata* NO BRASIL

LAVRAS-MG 2023

# ANTONIO CARLOS MOTA PORTO

# ESTRATÉGIAS PARA EXPLORAÇÃO DO GERMOPLASMA E APTIDÃO PARA CULTIVO DE *Toona ciliata* NO BRASIL

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 a obtenção do título de Doutor.

Prof. PhD. Evandro Novaes Orientador

> LAVRAS-MG 2023

# Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Porto, Antonio Carlos Mota. Estratégias para exploração do germoplasma e aptidão para cultivo de *Toona ciliata* no Brasil/ Antonio Carlos da Mota Porto. - 2023. 78 p. : il.

Orientador(a): Evandro Novaes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023. Bibliografia.

1. Melhoramento Florestal. 2. *Qst.* 3. Zoneamento climático. Novaes, Evandro. III. Título

## ANTONIO CARLOS DA MOTA PORTO

# ESTRATÉGIAS PARA EXPLORAÇÃO DO GERMOPLASMA E APTIDÃO PARA CULTIVO DE *Toona ciliata* NO BRASIL

# STRATEGIES FOR GERMPLASM EXPLORATION AND SUITABILITY FOR PLANTING OF *Toona ciliata* IN BRAZIL

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 a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 16 de dezembro de 2022.

Dr <sup>a</sup> . Flavia Maria Avelar Goncalves	UFLA
Dr. Rafael Tassinari Resende	UFG
Dr. Andrei Caique Pires Nunes	UFSB
Dr. Paulo Henrique Müller da Silva	IPEF

Prof. PhD. Evandro Novaes Orientador

## LAVRAS-MG 2023

Aos meus pais, Antonio Lima Porto e Ana Maria Batista da Mota. Dedico

> "Nada na Biologia faz sentido exceto à luz da Evolução" Theodosius Dobzhansky, 1973

> > "Eu visto preto, por dento e por fora" Racionais Mc's, 2002

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Antonio Lima Porto e Ana Maria Batista de Mota e aos meus irmãos Leonardo Porto e Juliane Porto, por nunca medirem esforços para que eu chegasse até aqui.

À minha esposa Mariana de Lima Santos, por ter me oferecido seu amor, carinho e paciência desde nossas ICs.

Ao meu orientador Evandro Novaes, pela oportunidade, confiança, ensinamentos e amizade, que contribuíram para me tornar melhor pessoa e profissional.

Ao pessoal do Laboratório de Genética Molecular, em especial a Fernanda Lopes, Lamartine de Nóbrega, Luciana Miguel e Rafael Miranda, Rafael Pereira e Danyllo Oliveira, que sempre me apoiaram no que foi necessário para a construção dessa tese e pela amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas e a todos os professores pelo conhecimento adquirido, em especial ao José Airton Nunes, João Bosco dos Santos, Flávia Maria A. Gonçalves, Welison Andrade Pereira, Vânia Helena Techio, César Brasil, Magno Antonio P. Ramalho, Elaine Souza, João Cândido e Marcio Balestre (*in memoriam*).

Ao Prof. Esteban Rios, pela oportunidade, mentoria e amizade durante o período sanduiche do meu doutorado na University of Florida.

À Bela Vista Florestal, pela cessão dos dados e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À empresa Suzano S.A., em nome do meu gestor e amigo Rodrigo Neves Graça, que me deu todo apoio para que eu finalizasse esta tese; minha admiração pela sua simplicidade e lealdade.

Ao GEN e meus colegas de pós-graduação, especialmente a Mario Murad Andrade (Bola), Fernanda Souza e Luciana Miguel (Cida).

Aos membros da banca Flávia M. Avelar Gonçalves, Rafael Tassinari Resende, Andrei C. Pires Nunes e Paulo H. Müller da Silva por terem aceitado ao convite e contribuído para avaliação e melhoria desta tese.

Ao meu amigo Antonio C. de Oliveira pela amizade, incentivo, conselhos e provocações que me fizeram crescer e chegar até aqui.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigado!

#### Resumo

Toona ciliata M. Roem é uma das espécies mais importantes para a produção de madeira e tem sido cada vez mais plantada em todo o mundo em regiões tropicais e subtropicais. Apesar de seu alto valor madeireiro e sua importância ecológica, há pouco conhecimento científico sobre esta espécie, tais como sobre sua variabilidade genética, informações genômicas amplas, estrutura de programas de melhoramento genético e aptidão edafoclimática. O primeiro capítulo tem como objetivos: (i) inferir sobre a estrutura da variabilidade de caracteres quantitativos em procedências nativas de Toona ciliata introduzidas da Australia; (ii) realizar o zoneamento climático para T. ciliata no Brasil, visando dar subsídios quanto à alocação de plantios no país. Para as avaliações genéticas, 74 progênies de T. ciliata amostradas na Austrália foram trazidas ao Brasil e fenotipadas para altura total (m) e diâmetro (cm) em um ensaio de procedências e progênies. As avaliações foram realizadas em quatro idades após plantio e os dados foram ajustados com modelos lineares mistos para posterior estimação de parâmetros genéticos. Para o zoneamento climático, dados de ocorrência natural de T. ciliata na Australia foram utilizadas para treinamento de um modelo logístico utilizando 20 variáveis geoclimáticas do WorldClim como variáveis preditoras. A predição de T. ciliata em território brasileiro foi realizada sob as normais climáticas históricas (1970-2000) e preditas para três períodos futuros: 2021-2040; 2041-2060 e 2061-2080, utilizando o modelo preditivo de alterações climáticas. Os resultados das avaliações genéticas para caracteres quantitativos mostraram média a alta estruturação da variância quantitativa de T. ciliata entre procedências, com valores de Qst variando de 0,14 a 0,23 para altura e diâmetro, respectivamente. As herdabilidade individuais no sentido restrito  $(h_a^2)$  estimadas para os dois caracteres foram moderadas (0,31 e 0,25, respectivamente). Os maiores ganhos de seleção foram obtidos para diâmetro enquanto os maiores valores de tamanho efetivo populacional Ne foram obtidos para altura. Quanto ao zoneamento climático, 65,1% do território brasileiro foi classificado como áreas de alta e boa aptidão de plantio de T. ciliata, com concentração de áreas de alta aptidão no norte e sul do Brasil, sendo que a precipitação (mm) foi a condição edafoclimática de maior influência na predição de aptidão. O segundo capítulo da tese teve o objetivo de identificar e caracterizar regiões microssatélites no genoma de T. *ciliata*. Para isso, sequências disponíveis no banco SRA-NCBI foram montadas em um rascunho do genoma da espécie. Essa montagem, apesar de altamente fragmentada, possibilitou a identificação de locos microssatélites com o software MISA (Microssatélite Identification Tool). Os locos foram, posteriormente, classificados quanto ao tipo, tamanho do motivo e número de repetições. No genoma de T. ciliata foram detectados 39.085 locos SSR, sendo 32,3% mononucleotideos, 56,8% dinunucleotídeos, 7,9 % foram classificados entre tri-, tetra-, penta- e hexanucleotideos. Dinucleotideos com 10 e 11 repetições foram os locos com maior abundância e o tipo de motivo mais frequente foi o mononucleotudeo AT/AT, representando 42,8% do total de microssatélites.

**Palavras-chave:** Identificação genômica ampla. Melhoramento Florestal.  $Q_{st}$ . SSR. Zoneamento climático.

### Abstract

Toona ciliata M. Roem is one of the most important species for timber production and has been increasingly planted worldwide in tropical and subtropical regions. Despite its high timber value and its ecological importance, the species lacks basic information such as genetic variability, genome-wide studies, structure of forest tree breeding programs and edaphoclimatic suitability. For a sustainable exploration of a species, genomic tools can be used to access genomic variability, useful information both for population management in breeding programs and for the conservation of natural populations. In addition, knowledge of the edaphoclimatic conditions required by it is fundamental for allocating plantations in environments with high yield potential and assisting breeding programs to develop populations for wide edaphoclimatic conditions. Thus, the present study aims to: (i) infer about the structure of quantitative character variability in native subpopulations of T. ciliata introduced from Australia; (ii) Fit the climate zoning for T. ciliata in Brazil, aiming to provide subsidies for the allocation of new planted forests (ii) identify and characterize microsatellite regions in the genome of T. ciliata. For genetic evaluations, 74 progenies of *T. ciliata*, from 13 subpopulations sampled in Australia, were phenotyped for total height (m) and diameter (cm) and data were fitted in mixed linear models for subsequent estimation of genetic parameters. For climate zoning, data from the natural occurrence of T. ciliata in Australia were used to train a logistic model using 20 bioclimatic as predictor variables. The prediction of T. ciliata in Brazilian territory was done using historical climatic normals (1970-2000) and predicted for three future periods: 2021-2040; 2041-2060 and 2061-2080 using the predictive model of climate change. The MISA (MIcroSAtellite Identification Tool) pipeline was used to identify microsatellite loci (SSR) in the T. ciliata genome and subsequently classify them according to type, motif size and number of repeats. The results of the genetic evaluations for quantitative traits showed medium to high structuring of the quantitative variance of T. ciliata between subpopulations, with  $Q_{st}$  values ranging from 0.14 and 0.23 for height and diameter, respectively. The individual narrow-sense heritability  $(h_a^2)$  estimated for the two traits were moderate (0.31 and 0.25, respectively). The highest selection gains were obtained for diameter while the highest values of effective population size  $(N_e)$  were obtained for height. As for climate zoning, 65.1% of the Brazilian territory was classified as areas of high and good suitability for T. ciliata planting, with a concentration of areas of high suitability in the north and south of Brazil, with precipitation (mm) being the edaphoclimatic condition with the greatest influence on fitness prediction. 39,085 SSR loci were identified in the genome of T. ciliata, where 32.3% were classified as mononucleotides, 56.8% were dinunucleotides, 7.9% were classified as tri-, tetra-, penta- and hexanucleotides, as well as 3% of total loci were classified as complex SSRs. Dinucleotides with 10 and 11 repeats were the most abundant loci and the most frequent type of motif was the AT/AT mononucleotide, representing 42.8% of the total number of motifs.

Keywords: Climatic zoning. Forest Tree Breeding. Genome-wide identification.  $Q_{st}$ . SSR.

# SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS	13
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	15
ARTIGO 1 - Toona ciliata M. Roem.: Estratégias para exploração do Germoplasma e aptidão para cultivo no Brasil	15
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1 Análises genéticas em teste de procedências de Toona ciliata	20
População introduzida de Toona ciliata	20
Coleta e análise dos dados de caracteres quantitativos	22
Estratégias de seleção	24
2.2 Zoneamento de Toona ciliata no Brasil	25
Variáveis ambientais e de elevação	25
Dados de distribuição natural de Toona ciliata	26
3 RESULTADOS	29
3.1 Predição de valores genéticos, ganho com seleção e <i>Ne</i>	33
3.3 Aptidão de Toona ciliata no território brasileiro	38
4 DISCUSSÃO	42
4.1 Estrutura de populações e estratégias de seleção de Toona ciliata	42
4.2 Aptidão de Toona ciliata no Brasil	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
REFERÊNCIAS	53
ANEXO A	63
ARTIGO 2 - Identification and characterization of microsatellites in the Genome of Australian Red Cedar ( <i>Toona ciliata</i> M. Roem)	65
1. Introduction	67
2. Material and Methods	68
3. Results and discussion	69
4. Conclusions	73
References	75

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As florestas naturais são de suma importância na regulação de ecossistemas, uma vez que afetam o clima, o armazenamento de carbono, os processos ecológicos e os recursos genéticos que sustentam importantes indústrias de base florestal (WINGFIELD et al., 2015). No entanto, em todo o mundo, a exploração predatória de florestas nativas e o corte seletivo podem causar forte erosão genética nas espécies-alvo da exploração (SOARES, 2014). Dessa forma, o cultivo de espécies nativas *ex-situ* pode ser uma alternativa à exploração predatória.

As florestas plantadas do hemisfério sul são constituídas principalmente de espécies não nativas, a exemplo de *Pinus* spp., *Eucalyptus* spp., *e Acacia* spp. que apresentam boa adaptação para as condições edafoclimáricas brasileiras (STAPE et al., 2010; WINGFIELD et al., 2015). Entretanto, no caso de madeira serrada para diversas finalidades, como movelaria, construção civil e instrumentos musicais, a madeira das espécies exóticas mais plantadas (*Eucalyptus* spp. e *Pinus* spp.) tem sido preteridas às madeiras nativas. Porém, a exploração de espécies florestais nativas é, geralmente, realizada de forma predatória. Com isso, é importante que haja alternativas a sustentáveis para a oferta de madeira serrada.

Uma alternativa para formação de florestas plantadas para extração de madeira para serraria é a espécie *Toona ciliata* M. Roem., conhecida no Brasil como "Cedro Australiano". Esta espécie tem ocorrência natural em regiões de clima subtropical na Índia, sudeste da Ásia e Austrália (EDMONDS, 1993). Árvores dessa espécie apresentam rápido crescimento e madeira de alto valor econômico, sendo utilizada para a construção de casas e navios, bem como para outros bens de mercado específico e de alto valor, como móveis, instrumentos musicais, utensílios de decoração e vários outros usos, como por exemplo, para extração de cascas e folhas, que são utilizadas na medicina tradicional para a produção de remédios (CHOWDHURY; HASAN; RASHID, 2003; GAUTAM et al., 2010; LEMMENS, 2008; SANTOS et al., 2021).

Apesar do valor da sua madeira e da sua importância ecológica nos ecossistemas nativos, não se encontrou na literatura relatos precisos do nível de diversidade e da estruturação genética de populações naturais de *T. ciliata* na Austrália. No entanto, conhecimento sobre a diversidade e estrutura genética das populações introduzidas são aspectos essenciais para a exploração racional da espécie a longo prazo. A variabilidade genética em caracteres com valor adaptativo é primordial para garantir a resiliência da espécie face às alterações ambientais e a futuros estresses bióticos a abióticos que tendam a aumentar na medida em que a espécie vai sendo plantada de modo cada vez mais extensivo (FALCONER; MACKAY, 1996; HAUSSMANN et al., 2012; TEPLITSKY; ROBINSON; MERILÄ, 2014). Dessa maneira, caracteres quantitativos relacionados à qualidade e produtividade da madeira são essenciais para direcionar o planejamento estratégico tanto das ações de conservação como de melhoramento do germoplasma da espécie de interesse. Se o nível de estruturação da variabilidade genética e fenotípica for alto, mais populações devem ser amostradas tanto para fins de conservação como para fins de melhoramento.

A variabilidade genética de *T. ciliata* tem sido investigada principalmente em populações da China, onde ocorre a variedade pubescens, variedade diferente daquela distribuída no território australiano (var. australis) (LIU et al., 2012; LIU; CHEN; JIANG, 2019; LIU; JIANG; CHEN, 2014; YANG; DAN; XINZHI, 2020; ZHAN et al., 2016, 2019; ZHOU et al., 2020). Esses estudos foram conduzidos com os únicos 29 marcadores SSR desenvolvidos para o gênero *Toona* até agora. Nosso objetivo inicial, nesse trabalho, era o de caracterizar a diversidade genética das populações Australiadas de *T. ciliata* com esses 29 SSRs. Porém, nós detectamos amplificação estável e boa repetibilidade em somente sete desses locos, que não se mostraram polimórficos utilizando primers marcados com fluorescência e eletroforese capilar. Portanto, há a necessidade do desenvolvimento de mais marcadores SSR para a espécie. Dada a relevância ecológica e o valor da madeira de *T. ciliata*, é muito importante conhecer sua diversidade e a estrutura genética de suas populações remanescentes. A existência de sequências genômicas para o cedro australiano Cedar (WANG et al., 2022) facilita muito a descoberta de loci microssatélites e o desenvolvimento de marcadores SSR para acessar a variabilidade genética.

Ainda, para expansão do cultivo de uma nova espécie, também é fundamental o conhecimento das condições edafoclimáticas requeridas por ela. Dessa forma, o zoneamento climático é uma importante ferramenta para a escolha e alocação de espécies em uma região, reduzindo riscos e promovendo o melhor uso dos recursos naturais disponíveis (ASSAD et al., 2004; ELITH; LEATHWICK, 2009; FLORÊNCIO; MARTINS; FAGUNDES, 2022). O zoneamento climático avalia a compatibilidade entre as espécies e os ambientes de cultivo, a fim de delimitar regiões com maior aptidão para implantação (OLIVEIRA; FRANCA, 2020).

No primeiro capítulo deste estudo, dados de caracteres quantitativos de adaptabilidade foram obtidos para avaliar o comportamento de progênies introduzidas no Brasil via sementes de matrizes coletadas em 13 regiões (procedências) na costa leste da Australia. Assim, a fim de investigar a estrutura da variabilidade destes caracteres quantitativos, foram estimados parâmetros genéticos tais como o quociente de nível de diferenciação genetica entre procedências  $(Q_{st})$ , herdabilidades individuais  $(h_a^2)$  e a nível de progênies  $(h_m^2)$ , além do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), podendo-se assim fazer deduções sobre estratégias de melhoramento e conservação do germoplasma introduzido. Além disso, um inédito zoneamento climático foi produzido para *T. ciliata* em território brasileiro, considerando normais climáticas e futuras. Esse zoneamento indica as áreas de maior e menor aptidão para plantio da espécie nas condições climáticas atuais, além de fazer previsões sobre possíveis alterações nas áreas de aptidão devido as mudanças climáticas globais.

No segundo capítulo foi explorada a identificação e classificação de regiões microssatélites (SSR) no genoma de *T. ciliata*. As características dos SSRs identificados foram comparados com microssatélites de espécies próximas e distantes filogeneticamente. Além disso, no futuro, esses locos poderão ser utilizados, para o desenvolvimento de marcadores moleculares SSR confiáveis e replicáveis. A existência de um conjunto de marcadores moleculares polimórficos e multialélicos, como os SSRs, é fundamental para estudos genéticos básicos e aplicados com *T. ciliata*.

# REFERÊNCIAS

ASSAD, E. D. et al. Climatic changes impact in agroclimatic zonning of coffee in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1057–1064, 2004.

CHOWDHURY, R.; HASAN, C. M.; RASHID, M. A. Antimicrobial activity of Toona ciliata and Amoora rohituka. **Fitoterapia**, v. 74, n. 1–2, p. 155–158, 1 fev. 2003.

EDMONDS, J. M. The potential value of Toona species (Meliaceae) as multipurpose and plantation trees in Southeast Asia. **The Commonwealth Forestry Review**, v. 72, n. 3, p. 181–186, 1993.

ELITH, J.; LEATHWICK, J. R. Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120159, v. 40, p. 677–697, 6 fev. 2009.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Introduction to quantitative genetics. 4th. ed. Essex, England: Longman, 1996.

FLORÊNCIO, G. W. L.; MARTINS, F. B.; FAGUNDES, F. F. A. Climate change on Eucalyptus plantations and adaptive measures for sustainable forestry development across Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 188, p. 115538, 15 nov. 2022.

GAUTAM, A. et al. Pharmacognostic evaluation of toona ciliata bark. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 1, n. 2, p. 216–20, abr. 2010.

HAUSSMANN, B. I. G. et al. Breeding Strategies for Adaptation of Pearl Millet and Sorghum to Climate Variability and Change in West Africa. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 198, n. 5, p. 327–339, 1 out. 2012.

LEMMENS, R. H. M. J. Toona ciliata M.Roem. **PROTA - Plant Resources of Tropical Africa**, v. 7, n. 1, p. <a href="http://www.prota4u.org/search.asp">http://www.prota4u.org/search.asp</a>, 2008.

LIU, J. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci from an endangered tree species, Toona ciliata var. pubescens. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 11, n. 4, p. 4411–4417, 2012.

LIU, J.; CHEN, Y. T.; JIANG, J. M. Study on Population Genetic Structure in Toona ciliata var.pubescens with SSR. **Forest Research**, v. 22, n. 1, p. 37–41, 2019.

LIU, J.; JIANG, J.; CHEN, Y. Genetic diversity of central and peripheral populations of Toona ciliata var. pubescens, an endangered tree species endemic to China. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 4579–4590, 2014.

OLIVEIRA, R. DE S.; FRANCA, T. M. CLIMATE ZONING FOR THE CULTIVATION OF AFRICAN MAHOGANY SPECIES IN BRAZIL. **CERNE**, v. 26, n. 3, p. 369–380, 16 dez. 2020.

SANTOS, H. G. et al. Parâmetros genéticos para caracteres silviculturais em cedro australiano Genetic parameters for silvicultural traits in cedro australiano. **Scientia Forestalis**, v. 49, n. 130, 2021.

SOARES, S. D. Diversidade genética em população de melhoramento de mogno africano (Khaya ivorensis A. Chev.). [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 4 ago. 2014.

STAPE, J. L. et al. The Brazil Eucalyptus Potential Productivity Project: Influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. **Forest Ecology and Management**, v. 259, n. 9, p. 1684–1694, 15 abr. 2010.

TEPLITSKY, C.; ROBINSON, M. R.; MERILÄ, J. Evolutionary potential and constraints in wild populations. In: **Quantitative Genetics in the Wild**. [s.l.] Oxford University Press, 2014. p. 190–208.

WANG, X. et al. A Chromosome-Level Genome Assembly of Toona ciliata (Meliaceae). Genome Biology and Evolution, v. 14, n. 8, 3 ago. 2022.

WINGFIELD, M. J. et al. Planted forest health: The need for a global strategy. **Science**, v. 349, n. 6250, p. 832–836, 21 ago. 2015.

YANG, W.; DAN, Y.; XINZHI, L. Genetic Diversity of Toona ciliata Populations Based on SSR Markers. Journal of Resources and Ecology, v. 11, n. 5, p. 466, 4 set. 2020.

ZHAN, X. et al. Establishment and Primer Screening of SSR-PCR Reaction System for Toona ciliata. **Forestry Science Research**, v. 29, n. 4, p. 565–570, 2016.

ZHAN, X. et al. Genetic diversity and population structure of Toona ciliata revealed by simple sequence repeat markers. **http://mc.manuscriptcentral.com/tbeq**, v. 33, n. 1, p. 214–222, 2019.

ZHOU, W. et al. Mating system and population structure in the natural distribution of Toona ciliata (Meliaceae) in South China. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 12 out. 2020.

# **SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

# ARTIGO 1 - Toona ciliata M. ROEM.: ESTRATÉGIAS PARA EXPLORAÇÃO DO GERMOPLASMA E APTIDÃO PARA CULTIVO NO BRASIL

# Escrito conforme normas da NBR 6022 (ABNT, 2018) (VERSÃO PRELIMINAR)

#### **RESUMO**

O melhoramento florestal, especialmente para fins de madeira serrada, é uma atividade importante para viabilizar os plantios de espécies arbóreas, evitando, assim, a longa história humana de extrativismo predatório de madeira nos ecossistemas tropicais. A racionalização das atividades de melhoramento depende, dentre outros fatores, do conhecimento de como a diversidade genética está estruturada nas populações da espécie alvo. Para uma exploração sustentável de uma espécie, além do conhecimento sobre a variabilidade genetica, é necessário o conhecimento das condições edafoclimáticas requeridas pela mesma. Com isso, é possível realizar um zoneamento de aptidão climática para definição de áreas com potencial de implantação. Assim, o presente projeto tem os objetivos: (i) inferir sobre a estrutura da variabilidade genética em amostras de procedências nativas de Cedro Australiano (Toona ciliata M. Roem.) introduzidas no Brasil, racionalizando a seleção para melhoramento da espécie no país; (ii) realizar o zoneamento climático para T. ciliata no Brasil, visando dar subsídios quanto à alocação de plantios no país. Para as avaliações genéticas, 74 progênies de T. ciliata, pertencentes a 13 procedências amostradas na costa leste da Austrália foram para fenotipadas para altura total (m) e diâmetro (cm) aos 16, 31, 54 e 99 meses após plantio. Os dados foram ajustados com modelos lineares mistos para posterior estimação de parâmetros genéticos. Para zoneamento climático, dados de ocorrência natural de T. ciliata na Australia foram utilizadas para treinamento de um modelo logístico utilizando 20 normais climáticas como variáveis preditoras. A predição de T. ciliata em território brasileiro foi realizada sob as normais climáticas históricas do WorldClim (1970-2000) e preditas para três períodos futuros: 2021-2040; 2041-2060 e 2061-2080, utilizando o modelo preditivo de alterações climáticas "CNRM-CM6-1 - SSP58.5". As análises conjuntas, com todas as idades de avaliação, para caracteres quantitativos, mostraram moderada e grande estruturação da variância quantitativa de T. ciliata entre procedências, com valores de Q<sub>st</sub> variando de 0,14 e 0,23 para altura e diâmetro, respectivamente. As herdabilidade individuais no sentido restrito  $(h_a^2)$  estimadas para os dois caracteres foram moderadas (0,31 e 0,25, respectivamente). Os maiores ganhos de seleção foram obtidos para diâmetro enquanto os maiores valores de tamanho efetivo populacional N<sub>e</sub> foram obtidos para altura. Quanto ao zoneamento climático, 65,1% do território brasileiro foi classificado como áreas de alta e boa aptidão de plantio de T. ciliata, com concentração de áreas de alta aptidão no norte e sul do Brasil, sendo que a precipitação (mm) foi a condição edafoclimática de maior influência na predição de aptidão.

Palavras-chave: Melhoramento Florestal. Q<sub>st</sub>. Zoneamento climático.

## ABSTRACT

Forest tree breeding, especially for sawn timber purposes, is an important activity to enable the planting of tree species, thus avoiding the long human history of predatory wood extraction in tropical ecosystems. The streamlining of breeding activities depends, among other factors, on the knowledge of how genetic diversity is structured in populations of the target species. For a sustainable exploitation of a species, in addition to knowledge about genetic variability, it is necessary to have information about the edaphoclimatic requirements. Thus, climatic suitability zoning is essential to define areas with potential for planting extension. Thus, the present project aims to (i) infer on the structure of genetic variability in a population of Australian Red Cedar (Toona ciliata M. Roem.), rationalizing the selection for progress of breeding populations, and (ii) perform the climatic zoning for T. ciliata in Brazil, aiming to provide subsidies for planting allocation across different climatic conditions in Brazil. For genetic evaluations, seventy-four progenies of T. ciliata from thirteen provenances sampled on the east coast of Australia were phenotyped for total height (m) and diameter (cm) at 16, 31, 54 and 99 months after planting and the phenotypic data were fitted in models for genetic parameters estimations. To predict climatic zoning, data of the natural occurrence of T. ciliata in Australia were used to train a logistic model using 20 bioclimatic variables as predictor variables. The prediction of T. ciliata in Brazilian territory was carried out under historical climatic bioclimatic (1970-2000) and predicted for three future periods: 2021-2040; 2041-2060 and 2061-2080, using the predictive climate change model "CNRM-CM6-1 - SSP58.5". The results of joint analyses for quantitative traits showed medium to high structure of the quantitative variance of T. ciliata among provenances, with Qst values of 0.14 and 0.23 for height and diameter, respectively. Moderate narrow sense individual heritability  $(h_a^2)$  was estimated for both traits (0, 31 and 0.25, respectively), and the highest selection gains were obtained for diameter while the highest values of effective population size  $(N_e)$  were obtained for height. Regarding climatic zoning, 65.1% of the Brazilian territory was classified as areas of high and good suitability for planting T. ciliata, with the most areas of high suitability in the north and south of Brazil, which precipitation (mm) having greater influence in fitness prediction.

Keywords: Forest Tree Breeding. Qst. Climatic zoning.

# 1 INTRODUÇÃO

As florestas naturais são de suma importância na regulação de ecossistemas, uma vez que afetam o clima, o armazenamento de carbono, os processos ecológicos e os recursos genéticos que sustentam importantes indústrias de base florestal (WINGFIELD et al., 2015). No entanto, em todo o mundo, a exploração predatória de florestas nativas e o corte seletivo podem causar forte erosão genética nas espécies-alvo da exploração (SOARES, 2014). Dessa forma, o cultivo de espécies nativas *ex-situ* pode ser uma alternativa à exploração predatória.

No Brasil, existem diversas espécies nobres nativas que possuem potencial para serem cultivadas (ALMEIDA et al., 2010; MIRANDA; VALENTIM, 2000). No entanto, a legalização de cultivo, colheita e comercialização tornam o plantio de espécies exóticas mais atrativo do que de espécies nativas (IBA, 2018). Além disso, muitas espécies nativas, quando plantadas de forma pura ou monoespecífica, sofrem com o ataque de pragas e doenças que co-evoluíram como predadores nos ecossistemas nativos. Esse é o caso do mogno-brasileiro, que tem os plantios homogêneos inviabilizados pelo ataque das larvas da mariposa *Hypsipyla grandella* no país (THOMAZINI et al., 2011). Dado as dificuldades no cultivo e comercialização das espécies nativas, as espécies exóticas têm sido preferidas nos plantios florestais homogêneos pelo Brasil.

No Brasil, nas duas últimas décadas tem havido um grande crescimento no cultivo de espécies exóticas de madeira nobre, como o Mogno Africano (*Khaya* spp.) e o Cedro Australiano (*Toona ciliata*), que se adaptaram bem às condições edafoclimáticas do Brasil. Além disso, devido às suas formas de fuste e desrama natural, essas espécies apresentam manejo mais simples do que o cultivo de espécies nativas, têm boa cotação no mercado e, consequentemente, a expectativa de lucro é maior, mesmo tendo em vista o longo prazo para a colheita (IBA, 2018; NASSUR et al., 2013; PINHEIRO et al., 2011). Porém, ainda são incipientes os conhecimentos sobre aspectos básicos da biologia e manejo dessas espécies, como silvicultura, tecnologia da madeira, entomologia, patologia florestal etc. Estes conhecimentos são essenciais para o sucesso da introdução da espécie a pequeno e médio prazo.

A espécie *Toona ciliata* M. Roem., conhecida no brasil como "Cedro Australiano", tem ocorrência natural em regiões de clima subtropical na Índia, sudeste da Ásia e Austrália (EDMONDS, 1993). Árvores dessa espécie apresentam rápido crescimento, madeira de alto valor econômico e são ecologicamente importantes nas regiões onde são nativas (FERREIRA et al., 2012; LIU; JIANG; CHEN, 2014; SILVA et al., 2016). Embora *T. ciliata* tenha origem na Ásia e Oceania, as principais áreas de monocultivo estão fora desses continentes, com destaque para a África e América Central e do Sul (CABI, 2019), onde pode alcançar produtividade

de até 22.7m<sup>3</sup>/ha<sup>-1</sup>/ano (Nunes, 2020, Calegario et al., 2017) . A introdução de *T. ciliata* nesses países ocorreu principalmente pelas características versáteis do uso da madeira, conhecida pelo seu tom avermelhado. Nesses países, vem sendo utilizada para a construção de casas e navios, e para outros bens de mercado específico e de alto valor, como móveis, instrumentos musicais, utensílios de decoração e vários outros usos (LEMMENS, 2008; SANTOS et al., 2021). Adicionalmente, partes da árvore, como cascas e folhas, são utilizadas na medicina tradicional para a produção de remédios (CHOWDHURY; HASAN; RASHID, 2003; GAUTAM et al., 2010; LEMMENS, 2008).

Na Austrália, *T. ciliata* ocorre em toda costa leste, do nível do mar até 1100 m, em áreas com precipitação anual que variam de 1200 a 3800 mm, concentrada no verão. A espécie prefere solos profundos e bem drenados (BOLAND et al., 2006; ROSADO, 2015a) (Figura 1). As condições edafoclimáticas de ocorrência natural da *T. ciliata* foi importante para a introdução bemsucedida da espécie na América do Sul e Central. O Brasil vem se destacando dentre os países que introduziram a espécie, em razão do seu excelente desenvolvimento no país, o que vem gerando cada vez mais plantios (NASSUR et al., 2013).

O conhecimento sobre a diversidade e estrutura genética das populações introduzidas são aspectos essenciais para a exploração racional da espécie a longo prazo. A variabilidade genética em caracteres com valor adaptativo é primordial para garantir a resiliência da espécie face às alterações ambientais e a futuros estresses bióticos a abióticos que tendam a aumentar na medida em que a espécie vai sendo plantada de modo cada vez mais extensivo (FALCONER; MACKAY, 1996; HAUSSMANN et al., 2012; TEPLITSKY; ROBINSON; MERILÄ, 2014). Dessa maneira, caracteres quantitativos relacionados à qualidade e produtividade da madeira são essenciais para direcionar o planejamento estratégico tanto das ações de conservação como de melhoramento do germoplasma da espécie de interesse. Se o nível de estruturação da variabilidade genética e fenotípica for alto, mais populações devem ser amostradas tanto para fins de conservação como para fins de melhoramento. Além disso, grupos heteróticos podem se justificar para aproveitar ao máximo a heterose funcional intercruzando indivíduos mais divergentes. Em um sentido mais amplo, o conhecimento sobre os processos evolutivos atuantes sobre a espécie possibilita tomada de decisões de conservação in-situ e direcionamento a condução de coletas para prospecção de novos bancos de germoplasma ex-situ e populações de melhoramento.

Para expansão do cultivo de uma nova espécie, também é fundamental o conhecimento das condições edafoclimáticas requeridas pela ela. Dessa forma, o zoneamento climático é uma importante ferramenta para a escolha e alocação de espécies em uma região, reduzindo riscos e promovendo o melhor uso dos recursos naturais disponíveis (ASSAD et al., 2004; ELITH; LEATHWICK, 2009; FLORÊNCIO; MARTINS; FAGUNDES, 2022). O zoneamento climático avalia a compatibilidade entre as espécies e os ambientes de cultivo, a fim de delimitar regiões com maior aptidão para implantação (OLIVEIRA; FRANCA, 2020).

Embora o zoneamento climático forneça informações úteis para o planejamento florestal, manejo, tomada de decisão e desenho de áreas adequadas para plantios sob condições climáticas futuras, reduzindo possíveis perdas por plantio em áreas impróprias, sua aplicação tem sido praticamente restrita a culturas agrícolas (FLORÊNCIO; MARTINS; FAGUNDES, 2022). Tanto quanto se sabe, não há zoneamento para *Toona ciliata* no território brasileiro. Portanto, os objetivos do presente trabalho foram: *i*) inferir sobre a estrutura da variabilidade genética em uma população nativa de Cedro Australiano (*Toona ciliata* M. Roem.) introduzida no Brasil, para definir como esse germoplasma pode ser utilizado para fins de melhoramento *ex situ* no Brasil *ii*) realizar o zoneamento climático para *Toona ciliata* no Brasil, visando indicar as regiões em que a espécies pode ser cultivada no Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

## 2.1 Análises genéticas em teste de procedências de Toona ciliata

#### População introduzida de Toona ciliata

Sementes de 76 matrizes coletadas em 16 diferentes procedências na costa leste da Austrália, nos estados de Queensland e New South Wales, foram enviadas ao Brasil para montagem de um teste de procedências e progênies pela Empresa Bela Vista Florestal. Nesse trabalho foram utilizadas informações fenotípicas e genotípicas de procedências com três ou mais progênies, totalizando 74 progênies de 13 subpopulações (Tabela 1, Figura 1).

inporta	uus uu Mustrana.		
Procedência	Região/ Estado	Estado	N° de Progênies
1	Pascoe River	Queensland	6
2	Iron Range	Queensland	6
3	Shipton Flat	Queensland	5
4	Baldy Mountain	Queensland	4
5	Atherton	Queensland	10
6	Ubobo	Queensland	4
7	Kenilworth S.F.	Queensland	5
8	Teviot Brook	Queensland	3
9	Dairy Flat	Queensland	5
10	Allyn River	New South Wales	7
11	Coledale Wollongong	New South Wales	4
12	Marshall Mount Woll	New South Wales	3
13	Kangaroo Valley	New South Wales	8
	Easter DOGADO	(2015) com adanta años	

Tabela 1 - Informações das procedências e acessos (progênies) das sementes de Toona ciliata importadas da Austrália

Fonte: ROSADO (2015), com adaptações.



130°E

40°S

45°S -

110°E

120°E

Figura 1 - Localização das procedências de Toona ciliata importadas da Austrália.

Fonte: do Autor (2023).

long

. 140°E

150°E

160°E

. 170°E

O teste de procedências e progênies foi implantado em janeiro de 2008 na cidade de Campo Belo, região sudoeste do estado de Minas Gerais a 20°53'58" S de longitude e 45°17'33" W de latitude. Essa região apresenta clima subtropical úmido com inverno seco e verão chuvoso.

A temperatura do mês mais quente é maior que 22°C, a precipitação média é de 1250 mm e a altitude média de 945 m (ROSADO, 2015a; SANTOS, 2017).

O delineamento experimental utilizado no teste de procedências e progênies foi o de blocos completos casualizados (DBC), com três repetições e parcelas constituídas de 4 linhas x 4 plantas (16 plantas). Adotou-se uma bordadura dupla de Cedro Australiano em torno de todo o experimento. O espaçamento utilizado foi de 3 x 2 metros, totalizando uma área de 4,55 ha.

## Coleta e análise dos dados de caracteres quantitativos

As avaliações fenotípicas de cada parcela do teste foram realizadas em quatro árvores centrais nas idades de 16 meses (2010), 31 meses (2012), 54 meses (2014) e 99 meses (2016) após plantio. Para cada árvore foram mensurados os seguintes caracteres:

- Diâmetro à 30 cm do solo aos 16 meses de idade e à altura do peito (DAP) medido à 1,30m do solo aos 31, 54 e 99 meses. Para mensuração foi utilizada uma suta florestal;
- 2. Altura total (ALT) por meio de um clinômetro (Haglöf ECII);

Os dados coletados aos 13, 31, 54 e 99 meses após plantio foram avaliados utilizando o modelo abaixo:

$$y = X_1 \mu + Z_1 j + Z_2 j : p + Z_3 s + Z_4 p / s + e \qquad ... [1]$$

Em que *y* é o vetor de observações para cada caractere separadamente;

 $\mu$  é a média geral;

*j* é o efeito aleatório de blocos;

j:p é o efeito aleatório da interação entre blocos e progênies dentro de procedências;

s é o vetor dos efeitos aleatórios de procedência;

p/s é o vetor dos efeitos aleatórios de progênies dentro de procedências;

e é o vetor dos efeitos aleatórios dos resíduos.

X e Z representam as matrizes de incidência para os efeitos citados.

Os dados das avaliações nas quatro idades foram utilizados conjuntamente para ajuste conforme modelo abaixo:

$$y = X_1 \mu + X_2 i + Z_1 j + Z_2 j : p + Z_3 s + Z_4 p : s + Z_5 p : a + Z_6 j : a + e \qquad \dots [2]$$

Em que y é o vetor de observações para cada caractere separadamente;

 $\mu$  é a média geral;

*i* e o efeito fixo de idades de avaliação;

j é o efeito aleatório de blocos;

j:p é o efeito aleatório da interação entre blocos e progênies dentro de procedências;

s é o vetor dos efeitos aleatórios de procedência;

p|s é o vetor dos efeitos aleatórios de progênies dentro de procedência;

*p:a* é o efeito aleatório da interação entre progênies dentro de procedências e idades de avaliação;

*j:a:* é o efeito aleatório da interação entre blocos e idades de avaliação;

e é o vetor dos efeitos aleatórios dos resíduos.

X e Z representam as matrizes de incidência para os efeitos citados.

A presença de outliers e análise de pressupostos para modelos lineares foram verificadas por resíduos *vs* valores observados, gráficos quantis teóricos – quantis observados e escala de localização. O modelo foi ajustado usando lme4 (BATES et al., 2022), que estima componentes de variância com base na máxima verossimilhança residual (REML). A significância dos efeitos aleatórios foi verificada pelo teste de razão de verossimilhança (GILMOUR; THOMPSON; CULLIS, 1995). Os gráficos foram construídos com o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016) em ambiente R (R CORE TEAM, 2019).

Com os ajustes dos modelos, foi possível extrair os seguintes componentes fixos e aleatórios para cada caractere: Média geral ( $\mu$ ); Variância da interação entre progênies ( $\sigma_{jp}^2$ ); Variância genética entre subpopulações ( $\sigma_s^2$ ); Variância genética entre progênies  $\sigma_p^2$  dentro de procedências; Variância genética aditiva ( $\sigma_A^2$ ) =  $4\sigma_p^2$  e Variância residual ( $\sigma_e^2$ ).

Com as estimativas dos componentes de variância, foi possível estimar a herdabilidade ampla na média de progênies para cada idade de avalição  $(h_m^2)$  e conjunta para todas idades de avaliação  $(h_{mc}^2)$ , herdabilidade individual no sentido restrito para cada idade de avalição  $(h_a^2)$ e conjunta para todas idades de avaliação  $(h_{ac}^2)$ , bem como a estimativa da divergência genética quantitativa entre as procedências  $(Q_{ST})$  dentro de cada idade de avalição e para análise conjunta com todas idades de avaliação. Para estimação destes parâmetros foram utilizados os seguintes estimadores:

$$h_a^2 = \frac{4\sigma_p^2}{\sigma_p^2 + \sigma_{jp}^2 + \sigma_e^2} \qquad ... [3]$$

$$h_{ac}^{2} = \frac{4\sigma_{p}^{2}}{\sigma_{p}^{2} + \sigma_{jp}^{2} + \sigma_{pa}^{2} + \sigma_{e}^{2}} \qquad ... [4]$$

$$h_m^2 = \frac{\sigma_p^2}{\sigma_p^2 + \frac{\sigma_{jp}^2}{b} + \frac{\sigma_e^2}{bn}} \qquad \dots [5]$$

$$h_{mc}^{2} = \frac{\sigma_{p}^{2}}{\sigma_{p}^{2} + \frac{\sigma_{jp}^{2}}{b} + \frac{\sigma_{pa}^{2}}{bi} + \frac{\sigma_{e}^{2}}{bin}} \dots [6]$$

$$Q_{ST} = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + 2(4\sigma_p^2)}$$
...[7]

Onde  $\sigma_s^2$  é a variância genética entre procedências,  $\sigma_p^2$  é a variância genetica entre progênies dentro de procedências,  $4\sigma_p^2$  é a variância genética aditiva dentro de procedências (entre progênies),  $\sigma_{jp}^2$  é a variância da interação entre progênies dentro de procedências e blocos,  $\sigma_{pa}^2$ é a variância da interação entre progênies dentro de procedências e idades de avaliação e  $\sigma_e^2$  é a variância residual. *b* é o número de blocos, *i* é o número de idades de avaliação e *n* é o número de plantas dentro das parcelas.

## Estratégias de seleção

Para avaliar o efeito da estrutura da população nas estratégias de seleção, foi estudada a eficiência de seleção utilizando as melhores progênies e ou indivíduos. Para isso, foram extraídos valores individuais dos 30% melhores e 30% piores indivíduos de todo o teste de procedências e avaliados dois cenários: i – ranqueando e selecionando as 30% melhores progênies extraindo a percentagem média de indivíduos selecionados dentro dessas progênies (equação 8). ii – extração da percentagem do número absoluto de indivíduos dentro de cada progênie dentre todos os 30% melhores indivíduos, independente da progênie de origem (equação 9). Assim, pôde-se comparar o desempenho, a percentagem media de indivíduos superiores dentro das melhores e piores progenies (*i*) com a percentagem total de indivíduos selecionados dentro das melhores e piores progenies (*ii*).

$$Ep = \frac{\sum_{i=1}^{n} (\frac{n}{N} \times 100)}{T} \qquad ...[8]$$

$$Et = \sum_{i=1}^{n} (\frac{n}{T} \times 100)$$
 ... [9]

Onde Ep é a percentagem média de indivíduos superiores dentro de cada progênie, Et é a percentagem total de indivíduos superiores dentro de todas as progênies, i é a progênie selecionada entre as 30% melhores ou piores, n é número de indivíduos selecionados; N é o número total de indivíduos dentro das progênies e T é o número total dos 30% melhores indivíduos do teste.

Para racionalizar a seleção individual em função da variabilidade dentro e entre progênies, calculou-se o ganho de seleção em razão do número de individuos selecionados. Além disso, empregou-se a equação 10 para estimar o Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), sem restrição do número máximo de indivíduos selecionados por progênie (RESENDE, 2002b).

$$N_e = \frac{4 N_f \overline{K}_f}{\overline{K}_f + 3 + \frac{\sigma_{kf}^2}{\overline{K}_f}} \qquad \dots [10]$$

Em que é  $\overline{K}_f$  o número médio de indivíduos selecionados por progênie;  $\sigma_{kf}^2$  é a variância do número de indivíduos selecionados por progênie e  $N_f$  é o número de progênies selecionados.

## 2.2 Zoneamento de Toona ciliata no Brasil

#### Variáveis ambientais e de elevação

Os dados disponíveis no WorldClim compreendem normais climatológicas definidas por observações entre anos de 1970 e 2000. Visando um balanço entre detalhamento e desempenho computacional, foi escolhida a resolução espacial de 2,5 minutos (~ 5 km<sup>2</sup>). A obtenção dos dados climáticos e de elevação (altitude) foi realizada para cada ponto, considerando o pixel em que este está situado. Para esse banco, todos as 407871 observações espaciais puderam ser

caracterizados a partir da extração de covariáveis bioclimáticas utilizando o pacote *geodata* (HIJMANS; GHOSH; MANDEL, 2022).

Variável	Descrição	Unidade
BIO01	Temperatura média annual	°C
BIO02	Amplitude térmica diária	°C
BIO03	Isotermalidade (BIO2/BIO7) x100	%
BIO04	Sazonalidade da temperatura (desvio Padrão ×100)	%
BIO05	Temperatura máxima do mês mais quente	°C
BIO06	Temperatura mínima do mês mais frio	°C
BIO07	Amplitude térmica anual (BIO5-BIO6)	°C
BIO08	Temperatura média do trimestre mais úmido	°C
BIO09	Temperatura média do trimestre mais seco	°C
BIO10	Temperatura média do trimestre mais quente	°C
BIO11	Temperatura média do trimestre mais frio	°C
BIO12	Precipitação pluviométrica anual	mm
BIO13	Precipitação pluviométrica do mês mais úmido	mm
BIO14	Precipitação pluviométrica do mês mais seco	mm
BIO15	Sazonalidade da precipitação pluviométrica (CV)	%
BIO16	Precipitação pluviométrica do trimestre mais úmido	mm
BIO17	Precipitação pluviométrica do trimestre mais seco	mm
BIO18	Precipitação pluviométrica do trimestre mais quente	mm
BIO19	Precipitação pluviométrica do trimestre mais frio	mm
GEO01	Elevação	m

Tabela 2 – Covariáveis bioclimáticas e geográficas.

Fonte: do Autor (2023).

Com objetivo de investigar alterações espaciais de aptidão de *T. ciliata* em função das mudanças climáticas, foi acessado o banco de dados do CMIP Phase 6 (CMIP6), mantido pelo *World Climate Research Program*, que fornece dados de projeções de mudanças nas normais climáticas (EYRING et al., 2016). Foram extraídos dados para três períodos futuros: 2021 – 2040; 2041-2060 e 2061-2080. O modelo preditivo climático "CNRM-CM6-1" associado ao cenário socioeconômico SSP58.5, que é um cenário pessimista quanto ao aumento de emissões de gases do efeito estufa, foi utilizado para projeções para as mesmas 19 variáveis climáticas extraídas para as normais históricas (MEINSHAUSEN et al., 2020; VOLDOIRE et al., 2019).

## Dados de distribuição natural de Toona ciliata

Dados de distribuição de *Toona ciliata* foram obtidos do banco de dados do "*GBIF* | *Global Biodiversity Information Facility*" (ROBERTSON et al., 2014) com auxílio do pacote Walace (KASS et al., 2018), desenvolvido para o ambiente R. Inicialmente foram baixados 1000 pontos de ocorrência natural de *T. ciliata* no território Australiano. Estes dados foram submetidos a filtragem, mantendo uma única observação em um raio de 5 km. Após essa filtragem, 665 observações permaneceram. Para manter um número balanceado de observações de ausência de *T. ciliata*, outros 600 pontos aleatórios foram aleatoriamente amostrados na costa leste da Austrália. Assim, no total, foram obtidos 1265 pontos, 600 com dados de presença e 665 com dados de ausência de *T. ciliata* (Figura 2).

Figura 2 - Coordenadas de pontos de amostras de presença (verde) e ausência (vermelho) de *Toona ciliata* na Austrália



## Modelagem de aptidão climática

Os dados de ocorrência e ausência de *T. ciliata* na Australia foram modelados utilizando as variáveis bioclimáticas e a altitude como variáveis preditoras. Os dados de ocorrência e ausência foram transformados em binários e utilizados como variáveis resposta. As informações de ocorrência de espécies para calibração do modelo foram divididas em um conjunto de treinamento e outro de teste, com 50% do total de registros de ocorrência em cada grupo. Com o objetivo de explicar a distribuição de *T. ciliata* em função das normais climáticas mais a altitude, utilizou-se a regressão logística (classificador de máxima entropia) com o seguinte modelo:

$$logit(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_n X_n + \varepsilon \qquad \dots [11]$$

Onde *p* e a probabilidade de ocorrência de *T. ciliata* e  $\beta_0 + \beta_1 + \dots + \beta_n$  são os coeficientes estimados para cada uma das variáveis bioclimáticas e altitude:  $X_1 + X_2 + \dots + X_n$ .

Para encontrar o modelo com um bom ajuste e menos parametrizado, a modelagem dos dados foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizadas todas as 20 variáveis (Tabela 2) e a influência de cada variável pôde ser avaliada verificando os valores finais dos coeficientes de regressão via teste *t* de *student*. Na segunda etapa, três variáveis de maior importância foram utilizados no modelo preditivo final. O qualidade de ajuste dos modelos construídos, completo (20 variáveis) e reduzido (3 variáveis), foram avaliados pelo cálculo da área abaixo da curva do gráfico ROC (*receiver operating characteristic curve*) (PEARCE; FERRIER, 2000) e a acurácia de predição de presença e ausência das observações espaciais (localizações geográficas) foi calculada via matriz de confusão, dada pela razão entre o número de classificações erradas e o número total de classificações (CRUZ; CARNEIRO, 2003) (Equação 12):

$$Ac = 1 - \left(\frac{1}{N}\sum_{j=1}^{l} m_j\right) \qquad \dots [12]$$

Onde *Ac* representa a acurácia medido pela proporção de pontos corretamente classificados;  $m_j$ é o número de observações classificadas incorretamente quanto a presença ou ausência, onde j = 1, 2, ..., l localização geográfica.

Os valores preditos (y) dentro da distribuição [0-1] foram agrupados em quatro classes de adaptabilidade de plantio de *T. ciliata*: alto potencial (y > 0,6), bom potencial ( $0,4 \le y \ge 0,6$ ), moderado potencial ( $0,2 \le y > 0,4$ ) e baixo potencial (y < 0,2) (MAHMOUDI SHAMSABAD; ASSADI; PARDUCCI, 2018; SAHA; RAHMAN; ALAM, 2021; YANG et al., 2013).

Os parâmetros do modelo ajustado (reduzido) foram utilizadas para predição da probabilidade de aptidão utilizando os 407871 pontos geográficos do território brasileiro. Com isso, foi possível construir um arquivo *raster* com as predições por pixel e assim a plotagem dos mapas de acordo com as épocas atual e futuras, considerando o modelo de mudanças climáticas.

## **3 RESULTADOS**

### 3.1 Parâmetros genéticos e estrutura quantitativa da população

Usando o teste de razão de verossimilhanças, as variâncias genéticas entre procedências e entre progênies, obtidas para os dois caracteres, foram significativas (p < 0.01) em todas as idades de avaliação, com exceção para variância entre progênies no caractere diâmetro aos 99 meses de idade (Tabela 3).

Parâmetros	16 n	neses	31 m	neses	54 m	leses	99 m	eses
p/ altura	Valor	LRT	Valor	LRT	Valor	LRT	Valor	LRT
$\sigma_s^2$	0.11	$60.70^{*}$	0.50	$43.97^{*}$	0.55	23.91*	1.00	$26.90^{*}$
$\sigma_p^2$	0.06	119.22*	0.25	$84.76^{*}$	0.65	$68.86^*$	0.60	$37.30^{*}$
$\sigma_{jp}^2$	0.12	53.56*	0.28	$23.31^{*}$	0.86	$21.82^{*}$	1.43	$17.04^{*}$
$\sigma_e^2$	0.32		1.18		3.72		6.56	
$h_a^2$	0.46		0.60		0.50		0.28	
$h_m^2$	0.47		0.57		0.52		0.37	
$r_{gg}$	0.68		0.75		0.72		0.60	
$Q_{ST}$	0.19		0.20		0.10		0.17	
μ	3.52		5.14		7.58		10.11	
Parâmetros	16 n	neses	31 m	neses	54 m	leses	99 m	eses
p/ diâmetro	Valor	LRT	Valor	LRT	Valor	LRT	Valor	LRT
$\sigma_{S}^{2}$	0.60	$56.22^{*}$	1.33	$24.19^{*}$	3.76	$21.80^{*}$	5.27	$23.23^{*}$
$\sigma_p^2$	0.19	$78.41^*$	0.67	$40.58^{*}$	1.83	33.93 <sup>*</sup>	1.36	4.56 <sup>ns</sup>
$\sigma_{jp}^2$	0.45	$36.70^{*}$	0.46	5.28 <sup>ns</sup>	1.02	3.16 <sup>ns</sup>	0.90	0.39 <sup>ns</sup>
$\sigma_e^2$	1.64		4.76		13.61		31.73	
$h_a^2$	0.33		0.46		0.45		0.16	
$h_m^2$	0.39		0.55		0.55		0.32	
$r_{gg}$	0.62		0.74		0.74		0.56	
$Q_{ST}$	0.29		0.20		0.20		0.33	
	6 31		7.02		10.92		14.68	

Tabela 3 - Parâmetros estatístico-genéticos para altura e diâmetro em diferentes idades em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.

 $\overline{\sigma_s^2}$  = variância genética entre procedências;  $\sigma_p^2$  = variância genetica entre progênies dentro de procedências;  $\sigma_{jp}^2$  = variância da interação entre progênies dentro de procedências e blocos;  $\sigma_e^2$  = variância residual;  $h_a^2$  = herdabilidade individual no sentido restrito;  $h_m^2$  = herdabilidade ampla na média de progênies;  $r_{gg}$  = acurácia de seleção de progênies;  $Q_{ST}$  = estimativa da divergência genética quantitativa entre as procedências.

\*: significativo pelo teste  $\chi^2$  de razão de verossimilhanças correspondente ao nível de probabilidade de 1% de erro. ns: não significativo pelo teste  $\chi^2$  de razão de verossimilhanças correspondente ao nível de probabilidade de 1% de erro.

Fonte: do Autor (2023).

Os valores de variância entre progênies obtidos tiveram baixa contribuição no valor total da variância fenotípica para as duas características em todos os anos, com valores entre 6.3% -

11.5% para altura (m) e 3.5% - 9.3% para diâmetro (Figura 3). A variância residual teve contribuição progressiva na variância fenotípica total com aumento de idade de avalição. Por exemplo, comparando a primeira e a última idade de avaliação, houve um acréscimo de 14,6% e 23,8% na variância residual para a altura e o diâmetro, respectivamente (Figura 3). Os valores de variância entre procedências foram maiores que os valores entre progênies para os dois caracteres em todas as idades, exceto para altura aos 54 meses de idade.

Figura 3 - Composição da variância fenotípica total aos 13, 31, 54 e 99 meses de idade para altura (A) e diâmetro (B) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.  $\sigma_p^2$  = variância de progênies;  $\sigma_{jp}^2$  = variância da interação entre blocos e progênies;  $\sigma_s^2$  = variância entre as procedências;  $\sigma_e^2$  = Variância residual.



Fonte: do Autor (2023).

Em geral, os valores estimados das herdabilidades individuais  $(h_a^2)$  e na média de progênies  $(h_m^2)$  foram maiores para altura do que para diâmetro. Para altura,  $h_a^2$  variou entre 0,28 e 0,60 e  $h_m^2$  entre 0,37 e 0,57, enquanto para diâmetro,  $h_a^2$  variou entre 0,16 e 0,46 e para  $h_m^2$  entre 0,32 e 0,55. Os valores estimados da diferenciação genética entre as procedências  $(Q_{ST})$  obtidos para as duas variáveis variaram de acordo com a idade de avaliação (Figura 4). Para altura, foram estimados valores similares aos 16, 31 e 99 meses (0,19, 0,20 e 0,17, respectivamente), enquanto aos 54 meses houve sensível redução (0,10). Para diâmetro, os valores mais altos de  $Q_{ST}$  foram obtidos aos 13 meses (0,29) e 99 meses (0,33), enquanto os valores aos 31 e 54 meses foram idênticos (0,20). Não foram encontradas associações entre valores de herdabilidade individual e herdabilidade a nível de progênies, sendo os menores valores de herdabilidade, para as duas caraterísticas, encontradas aos 99 meses de plantio.

Quando ajustadas aos dados de todas as idades de avaliações em um modelo conjunto, as variâncias de progênies dentro de procedências ( $\sigma_p^2$ ) e de procedências ( $\sigma_s^2$ ) foram significativas para os dois caracteres avaliados (p < 0.01) (Tabela 4). O efeito fixo (soma de quadrados) para as idades de avaliação também foi significativo para os dois caracteres (Pr (F) < 0.01).

Figura 4 - Herdabilidade individual no sentido restrito  $(h_a^2)$ , herdabilidade na média de progênies  $(h_m^2)$  e  $Q_{ST}$  aos 16, 31, 54 e 99 meses de idade para altura (**A**) e diâmetro (**B**) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.



Fonte: do Autor (2023).

Parâmetro	Altura		Di	Diâmetro		
	Valor	LRT	Valor	LRT		
$\sigma_s^2$	0.66	49.16*	2.19	$74.10^{*}$		
$\sigma_p^2$	0.56	505.91*	0.89	$307.32^{*}$		
$\sigma_{pa}^2$	0.44	36.63*	0.30	5.84 <sup>ns</sup>		
$\sigma_{jp}^2$	0.26	261.11*	2.01	$154.60^{*}$		
$\sigma_{ja}^2$	0.07	$28.23^{*}$	0.05	1.20 <sup>ns</sup>		
$\sigma_e^2$	1.64		11.11			
$h_{ac}^2$	0.31		0.25			
$h_{mc}^2$	0.50		0.49			
$r_{gg}$	0.70		0.70			
$r_{gB}$	0.61		0.75			
$Q_{ST}$	0.14		0.23			
μ	6.40		9.50			

Tabela 4 - Parâmetros estatístico-genéticos de análise conjunta com quatro idades utilizando oscaracteres altura em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.

 $\sigma_s^2$  = variância genética entre procedências;  $\sigma_p^2$  = variância genetica entre progênies dentro de procedências;  $\sigma_{jp}^2$  = variância da interação entre progênies dentro de procedências e blocos;  $\sigma_{pa}^2$  = variância da interação entre progênies dentro de procedências e idades de avaliação;  $\sigma_{ja}^2$  = variância da interação entre blocos e idades de avaliação;  $\sigma_e^2$  = variância residual;  $h_m^2$  = herdabilidade ampla na média de progênies para cada idade de avalição;  $h_{ac}^2$  = herdabilidade individual no sentido restrito conjunta para todas as idades de avaliação;  $h_{mc}^2$  = herdabilidade ampla na média de progênies conjunta para todas as idades de avaliação;  $r_{gg}$  = acurácia de seleção de progênies;  $r_{gB}$  = correlação genética individual entre anos;  $Q_{ST}$  = estimativa da divergência genética quantitativa entre procedências.

\*: significativo pelo teste  $\chi^2$  de razão de verossimilhanças correspondente ao nível de probabilidade de 1% de erro. ns: não significativo pelo teste  $\chi^2$  de razão de verossimilhanças correspondente ao nível de probabilidade de 1% de erro.

Fonte: do Autor (2023).

As herdabilidades individuais no sentido restrito e na média de progênies foram maiores do que os valores obtidos nas avaliações individuais, com maiores valores obtidos para a variável altura ( $h_a^2 = 0.31$ ,  $h_m^2 = 0.50$ ), embora o maior valor de correlação entre idades foi obtido para o caractere diâmetro ( $r_{gB} = 0.75$ ), que obteve valor de interação de progênies dentro de procedências e idades de avaliações não significativo (p > 0.01), diferente do que encontrado para altura, em que a correlação foi de 0.61 e interação de progênies dentro de procedências e idades de avaliações significativa (P < 0.01) (Tabela 4).

Os valores de  $Q_{ST}$  estimados nas análises conjuntas foram similares aos obtidos nas análises individuais, onde foram encontrados os menores valores de  $Q_{ST}$  para o caractere altura (0.10 – 0.20), obtendo o valor de 0.14 na análise conjunta. Para diâmetro, os valores de  $Q_{ST}$ obtidos foram maiores (0.20 – 0.33), obtendo o valor de 0.23 na análise conjunta.

## 3.1 Predição de valores genéticos, ganho com seleção e Ne

Os valores médios genéticos preditos das progênies (BLUP +  $\mu$ ) foram estimados e plotados para os dois caracteres avaliados pelo modelo individual e conjunto. Assim, foi possível estimar as correlações genéticas entre valores preditos das progênies entre os dois caracteres, para cada idade de avaliação. Os valores estimados foram de 0,82, 0,91, 0,88 e 0,87 para 16, 31, 54 e 99 meses, respectivamente (Figura 5).

Figura 5 - Gráfico de dispersão dos valores preditos das progênies para altura (m) e diâmetro (cm) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.



Fonte: do Autor (2023).

Os valores preditos para a média das quatro idades de avaliação para as 74 progênies avaliadas mostraram que há pouca estrutura genética entre procedências, e que os maiores componentes de variâncias estão dentro de progênies. Isto pode ser observado nas figuras 6 e 7, que mostra a grande variabilidade dentro de procedências, onde dentro de uma mesma procedência é possível encontrar progênies com adaptação superior e progênies mal adaptadas. Na procedência "Iron Range", por exemplo, foi possível verificar esta variabilidade. A progênies (valor predito = 7.84m). Neste mesmo local também foi coletada a progênie "80", que obteve o quarto melhor desempenho dentre todas as progênies (valor predito = 10.42m).



Figura 6 - Valores genéticos preditos para Altura (m) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG. A linhas acima das barras mostram o erro padrão da predição (SEP).

Fonte: do Autor (2023).



Figura 7 - Valores genéticos preditos para Diâmetro (cm) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG. A linhas acima das barras mostram o erro padrão da predição (SEP).

Fonte: do Autor (2023).

Para avaliação da estratégia de seleção, para explorar o germoplasma, foram estimados os 30% piores e melhores indivíduos de todo o teste de procedências. Para o caractere altura, quando se seleciona por progênies, nota-se que foi obtida menor (7,1m) média em comparação ao desempenho dos 30% melhores indivíduos (7,7m), independente das progênies de origem

(Figura 8). Quando se faz o mesmo para descarte das piores, observou-se maior média pela seleção de progênies (5,2m) do que pela seleção direta dos 30% piores indivíduos (4,4m).

Figura 8 - Avaliação de estratégias e procedimentos de seleção entre e dentro de progênies para a variável altura (m) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.
A - Valores da média fenotípica das estratégias de seleção dos 30% melhores indivíduos e 30% melhores progênies. B – Porcentagem dos 30% melhores indivíduos dentro das melhores ou piores progênies (*Ep*) e na soma de todas as melhores e piores progênies (*Et*).



Fonte: do Autor (2023).

Os valores encontrados na de seleção para altura mostram que, em média, 58.3% dos melhores indivíduos dentro das melhores progênies (*Et*). Quando se calcula a percentagem total de indivíduos dentro das 30% melhores progênies (*Ep*), tem-se um valor de 57,1%. Utilizando o mesmo procedimento, mas agora com 30% das progênies com menor adaptabilidade média, 7,2% dos melhores indivíduos estão dentro das melhores progênies, enquanto 7,4% estão na soma total de todas as progênies (Figura 8).

O mesmo comportamento foi observado para a variável diâmetro (Figura 9). Na verificação dos cenários de seleção, foram obtidos valores de 59.7% e 60.9 para os procedimentos  $Ep \ e \ Et$ , respectivamente, para as melhores progênies. Quando realizada a análise para as progênies menos adaptadas, foram obtidos valores de 5,1% para ambos os cenários ( $Ep \ e \ Et$ ).
Figura 9 - Avaliação de estratégias e procedimentos de seleção entre e dentro de progênies para a variável altura (m) em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG. **A** - Valores da média fenotípica das estratégias de seleção dos 30% melhores indivíduos e 30% melhores progênies. **B** – Porcentagem dos 30% melhores indivíduos dentro das melhores progênies (*Ep*) e na soma de todas as melhores e piores progênies (*Et*).



Fonte: do Autor (2023).

Nesta população, o tamanho efetivo populacional total  $(N_e)$  é de 231,3 (Figura 10). Os ganhos de seleção para diâmetro foram um pouco maiores do que para altura. No entanto, para um mesmo número de indivíduos selecionados, foram obtidos valores de  $N_e$  menores para diâmetro do que para altura. Por exemplo, quando aplicada uma intensidade de seleção de 30%, o ganho para diâmetro será de 28,7% para diâmetro e 25,62% para altura; sob a mesma intensidade de seleção  $N_e$  é de 90,8 para diâmetro enquanto 95,6 para altura. Com isso, quando  $N_e$  e ganho de seleção se intercruzam, o número de indivíduos a serem selecionados para diâmetro é de 110 para diâmetro e 75 para altura (Figura 10). O padrão de crescimento do  $N_e$  mostra uma curva de aproximadamente 45° em relação ao número de indivíduos (eixo x). Isso demonstra uma relação linear entre os números de indivíduos amostrados e o tamanho efetivo populacional.

Figura 10 - Ganho genético com seleção e tamanho efetivo populacional  $(N_e)$  em função do número de indivíduos selecionados utilizando as variáveis altura (m). (A) e Diâmetro (cm) (B). em teste de procedências de *Toona ciliata* em Campo Belo-MG.



Fonte: do Autor (2023).

## 3.3 Aptidão de Toona ciliata no território brasileiro

As variáveis climáticas e geográficas mais importantes para a capacidade preditiva da presença/ausência de *T. ciliata* na Austrália foram: Elev - elevação (m), BIO12 - Precipitação pluviométrica anual (mm) e BIO17 – Precipitação pluviométrica do trimestre mais seco (mm). A calibração do modelo para distribuição de *T. ciliata* com as variáveis selecionadas obteve valor AUC de 0,95, valor muito próximo do obtido com o modelo completo (AUC = 0,98), utilizando todas as 20 variáveis. O valor de acurácia de predição também foi alto (0,88) e próximo do obtido com o modelo completo (0,93), indicando alta acurácia na classificação das observações espaciais quanto a aptidão de presença de *T. ciliata* (Figura 11).

Figura 11 - Métricas de avaliação do ajuste da modelagem de predição espacial da presença/ausência de *Toona ciliata* em território Australiano. A – Matriz de confusão para modelo completo (com 20 variáveis preditoras), B – matriz de confusão para modelo reduzido com 3 variáveis preditoras selecionadas (BIO12 e BIO17 e Elevação). C – Curvas ROC com aérea abaixo da curva para ajuste modelos completo (vermelho) e reduzido (azul).



Fonte: do Autor (2023).

A curva de resposta das espécies revelou que variáveis ligadas a temperatura tem pouco influência sobre a aptidão de *T. ciliata*, enquanto a altitude e a precipitação são as variáveis mais importantes. De acordo com nosso modelo, a espécie é adaptada a locais com bom regime hídrico (> 1000 mm), com menor redução de chuvas no período mais seco e em baixas altitudes (< 500 m). Em geral, áreas com precipitação anual inferior a 1000 mm e com trimestre mais seco com precipitação abaixo de 100 mm apresentam baixa aptidão para alocação de *T. ciliata* (Figura 12).





Fonte: do Autor (2023).

A predição espacial de aptidão de *T. ciliata* em cenário histórico (1970 -2000) e cenários futuros (2021 – 2040; 2041 – 2060 e 2061 – 2080), mostrou que com base nos dados históricos, a maior concentração de áreas em que esta espécie apresenta alta aptidão são no norte do Brasil, especificamente na área do bioma amazônico, bem como em toda faixa litorânea brasileira, principalmente no litoral dos estados da Bahia e Espírito Santo, e o centro-sul do Mato Grosso do Sul, Sul de São Paulo e toda a área dos três estados da região sul do Brasil (Figura 13). Já as regiões com baixa aptidão estão concentradas na região do semiárido brasileiro e nas áreas de transição entre o semiárido e Cerrado. Estas regiões apresentam baixas precipitações (< 1000 mm/ano) e longos períodos de estiagem. As zonas de moderada e boa adaptabilidade estão principalmente nas regiões entre o Cerrado e a transição entre os biomas Amazônia e Cerrado.

Os cenários futuros de alterações climáticas influenciaram pouco nas áreas de adaptação de *T. ciliata* (Figuras 13 e 14) no território brasileiro. No cenário histórico, por exemplo, 57,3% do Brasil foi classificado com alta aptidão, enquanto no período 2061 – 2080 esta área é de 53,9%. Áreas com baixa aptidão somam 21,6% do território no cenário histórico, enquanto 24,1% em 2061 – 2080 (Figura 14). Foram observadas alterações nas categorias de aptidão na faixa litorânea, onde houve redução das áreas com alta aptidão e aumento de áreas com moderada e baixa aptidão (Figura 13). Outra região em que também se observou alteração nas classes de

aptidão foi no estado de Mato Grosso, onde houve redução de área de alta aptidão no centrooeste do estado e aumento de áreas com baixa aptidão no centro-leste (Figura 13).

Figura 13 - Predição de classes de adaptabilidade para plantio de *Toona ciliata* em território brasileiro, simuladas para um cenário histórico (1970 -2000), com dados de normais climatológicas do WorldClim, e projetadas para cenários climáticos futuros (2021-2040, 2041-2060 e 2061 -2080), utilizando o modelo preditivo climático "CNRM-CM6-1" associado ao cenário socioeconômico SSP58.5.



Fonte: do Autor (2023).

Figura 14 - Área potencial estimada (km<sup>2</sup>) de classes de adaptabilidade para plantio de *Toona ciliata* em território brasileiro, simuladas para o cenário histórico (1970 -2000) e projetadas para cenários climáticos futuros (2021-2040, 2041-2060 e 2061 -2080), utilizando o modelo preditivo climático "CNRM-CM6-1" associado ao cenário socioeconômico SSP58.5.



Fonte: do Autor (2023).

# 4 DISCUSSÃO

#### 4.1 Estrutura de populações e estratégias de seleção de Toona ciliata

A instalação de ensaios de procedência e progênie (TPP) são passos essenciais para avaliar a capacidade de exploração comercial do germoplasma de uma espécie para fins de introdução da mesma em uma nova área onde não é nativa. Além disso, os TPPs viabilizam estratégias de seleção e caracterização de padrões de herança em caracteres de interesse para início de um programa de melhoramento (CRUZ et al., 2022; GIRARD et al., 2022; YANG et al., 2009). A TPP também é importante para a tomada de decisão sobre estratégias de seleção e alocação do germoplasma avaliado, estas informações podem ser utilizadas paralelamente para escolha de estratégias de conservação, com o objetivo de manter a variabilidade genetica para os caracteres de interesse econômicos atuais. Adicionalmente, esses TPPs também podem ser utilizados para a conservação de recursos genéticos, resguardando uma amostra da variabilidade da espécie para exploração futura, especialmente em caracteres ainda não avaliados no presente, como tolerância a pragas e doenças e estresses abióticos (ERIKSSON; NAMKOONG; ROBERDS, 1995; SMITH et al., 2020; YONG et al., 2019).

Neste trabalho, foram avaliados caracteres quantitativos, que geralmente são altamente influenciados por processos microevolutivos, com maior participação da seleção natural (LEINONEN et al., 2008; LYNCH et al., 1999). Estes caracteres geralmente apresentam baixa herdabilidade por sofrerem alta influência de fatores ambientais e estocásticos durante sua expressão, o que está de acordo com as herdabilidades encontradas neste trabalho, seja para herdabilidade individual e herdabilidade no nível na média de progênies, para as duas características (Tabela 3). Altos valores de variância residual ( $\sigma_{e}^{2}$ ) foram estimados para os dois caracteres nas análises individuais e conjuntas. Nas análises indivíduos as variâncias residuais variaram entre 53,7% e 68,3% para altura e entre 57% e 80,8% para diâmetro nas diferentes épocas de avaliação. Huang et al. (2016) extraíram os componentes de variância de testes de procedências de castanheira branca (Quercus alba L.) e obtiveram valores de variância residual que compunham, em média, 70% da variância fenotípica total para altura e diâmetro, aos 10 e 23 anos de idade, em três ambientes no centro-oeste dos Estados Unidos. Os autores detectaram que a variância entre progênies e de blocos dentro de procedências  $(\sigma_{jp}^2)$  teve componente maior que a variância de progênies dentro de procedências ( $\sigma_p^2$ ) e variância de procedências ( $\sigma_s^2$ ). O mesmo padrão foi encontrado no presente trabalho, onde a variância dentro de progênies e blocos foi maior que as variâncias genéticas entre progênies e procedências, tanto para as análises individuais quanto para a análise conjunta em todas as idades de avaliação.

De acordo com classificação da literatura (RESENDE, 2002a), valores de herdabilidade abaixo de 0,15 são classificadas como de baixa magnitude, valores entre 0,15 e 0,50 são classificadas como de magnitude intermediaria e acima de 0,50 são classificadas como de alta magnitude. Seguindo esta classificação, todas as herdabilidades individuais ( $h_a^2$ ) estimadas nas análises individuais para os dois caracteres estão classificadas em mediana ou alta magnitude, dependendo da idade. As herdabilidades na média de progênies estimadas ( $h_m^2$ ) são classificadas como altas. Nas análises conjuntas com todas as idades de avaliação, as herdabilidades individuais foram de 0,31 e 0,25 para altura e diâmetro, respectivamente. Para herdabilidade na média de progênies os valores estimados foram 0,50 e 0,49 para altura e diâmetro, respectivamente. Valores similares a estes foram encontrados em trabalhos com diversas espécies, como *Pinus* spp. (AGUIAR; SOUSA; SHIMIZU, 2010; HODGE; DVORAK, 2012; NIERI et al., 2022; PEREK et al., 2022) *Eucalyptus* spp. (CASTRO et al., 2016, 2019; MIRANDA et al., 2013), *Swietenia* spp. (ABARQUEZ et al., 2015; NAVARRO; HERNÁNDEZ, 2004; WIGHTMAN et al., 2008), *Melaleuca spp.* (BUTCHER; MATHESON; SLEE, 1996; SUSANTO et al., 2003), *Quercus* spp. (HUANG et al., 2016) e *Tectona* spp. (CALLISTER, 2013; CALLISTER; COLLINS, 2008; COSTA et al., 2015).

Quando uma espécie está disseminada em uma faixa espacial grande e heterogênea, como é o caso de *T. ciliata* em sua área de ocorrência natural, na Austrália, a variação espacial pode estar estruturada devido a dois processos. Primeiro, indivíduos se desenvolvem em ambientes diferentes, o que, por sua vez, causará diferenças nas pressões seletivas impostas pelos ambientes. Em segundo lugar, a heterogeneidade entre ambientes pode ser tão severa que os habitats podem bloquear o fluxo gênico entre subpopulações, fazendo com que essa espécie seja subdividida no espaço (Whitlock, 2008). Havendo interrupção ao fluxo gênico, as populações vão ficando cada vez mais divergentes devido à deriva genética que é tão mais intensa quanto menores forem os tamanhos efetivos das populações. No caso de populações de espécies alógamas, como é caso de *T. ciliata*, a variância genética entre procedências costuma ser menor do que a variância genética dentro de subpopulações, uma vez que o sistema reprodutivo possibilita grande fluxo gênico dentro e entre procedências. Além do eficiente fluxo gênico, no caso de plantas perenes como *T. ciliata*, a longevidade também contribui para diminuir a perda de diversidade dentro das procedências na medida em que os indivíduos podem se reproduzir por várias gerações (ZHOU et al., 2020).

Altos valores de  $Q_{ST}$  são provocados pelo alta variabilidade entre procedências em comparação com a variância dentro de procedências, indicando um alto nível de seleção natural local e, portanto, potencial adaptativo em características relacionadas à adaptabilidade/produção (VITASSE et al., 2009). Os valores de  $Q_{ST}$  encontrados neste trabalho indicam baixa magnitude de estruturação das procedências de *T. ciliata* nos locais amostrados, o que indicam pouco evidência de adaptação local para os caracteres de produtividade avaliados (altura e diâmetro). Estes resultados mostram maior contribuição da variação genética dentro de procedências para a maioria das características, como esperado para uma espécie predominantemente alógama (BOAVENTURA-NOVAES et al., 2018; KLÁPŠTĚ et al., 2019). Navarro and Hernández (2004), encontraram valores  $Q_{ST}$  entre 0,06 e 0,49 para diâmetro e 0,01 e 0,55 para altura em diferentes idades de avaliação em um teste de procedências de *Swietenia macrophylla* originarias de países da América Central e Mexico. Klápště et al. (2019), avaliando dois testes de procedências de *Pseudotsuga menziesii* originarias dos estados da California e Oregon dos Estados Unidos em dois locais na Nova Zelândia, obtiveram valores de  $Q_{ST}$  de 0,25 e 0,20 para diâmetro a altura do peito aos 11 e 21 anos, respectivamente. No outro experimento, contemporâneo, foram estimados valores de  $Q_{ST}$  de 0,27 e 0,26 para os mesmos 11 e 21 anos, respectivamente. Estes valores sugerem que os valores de  $Q_{ST}$  são dependentes da idade de avalição e local do teste. Savolainen et al. (2007) ainda inferem que o  $Q_{ST}$  é altamente dependente da faixa geográfica de amostragem e do número de populações. Estes resultados implicam que os valores de  $Q_{ST}$  encontrados aqui estão próximos de valores encontrados na literatura para espécies arbóreas alógamas. No entanto, para se ter certeza sobre quais processos microevolutivos estão agindo sobre os caracteres seria necessário contrastar os valores de  $Q_{ST}$  com os valores de estruturação ( $F_{ST}$ ) obtidos com marcadores moleculares neutros (BOAVENTURA-NOVAES et al., 2018; COLAUTTI; LAU, 2015; LEINONEN et al., 2013; WHITLOCK; GUILLAUME, 2009).

Os valores médios preditos para progênies dentro de procedências revelaram altas correlações (0,82 – 0,81) entre altura e diâmetro do tronco nas quatro idades de avaliação, indicando que a seleção indireta entre estes caracteres pode funcionar bem (Figura 5). Valores similares foram observados (r = 0,88 - 0,92) por SANTOS et al. (2021) para este mesmo ensaio, contudo utilizando outra metodologia de avaliação e menor número de procedências. Dentro de um mesmo caractere, foram estimadas as correlações genotípicas entre as idades de avaliação ( $r_{gB}$ ), com valores de 0,61 para altura e 0,75 para diâmetro (Tabela 4). Estes valores são similares aos encontrados por FERREIRA et al. (2012) para um teste de progênies de *T. ciliata* em 10 idades de avaliação, com 0,70 para altura e 0,75 para diâmetro. Estes resultados demonstram que a seleção pode ser otimizada, sendo realizada, por exemplo, em fases mais precoces de desenvolvimento.

Uma pergunta recorrente na introdução de espécies é como explorar a variabilidade quantitativa existente para máxima exploração da variabilidade em função de encontrar clones superiores a serem plantados. Aqui, além de investigar a estrutura da variância dessa população introduzida, simulou-se estratégias de seleção que trouxeram informação de que a seleção individual maximiza os ganhos na seleção dos melhores indivíduos o otimiza o descarte dos piores indivíduos. Quando 30% das melhores progênies foram ranqueadas e selecionadas, nos dois caracteres, verificou-se que em torno de 60% dos melhores indivíduos de todo o experimento estão dentro destas progênies. Ou seja, a seleção das melhores progênies reduzirá um ganho potencial se a seleção for feita apenas considerando os valores individuais. Os resultados também mostraram que cerca de 6% dos melhores indivíduos de todo o experimento estão nas 30% progênies com menor capacidade de combinação (valor genético). Isso mostra que a tomada de decisão de como fazer a seleção para produzir a próxima geração deve ser parcimoniosa. Uma ferramenta importante para racionalizar a seleção de modo a garantir a manutenção da variabilidade nas próximas gerações é a estimação do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) adequado. Baixos valores de  $N_e$  indicam que poucos indivíduos participam efetivamente da geração de intercruzamentos, levando à amplificação da deriva genetica e aumento da endogamia nas gerações subsequentes (COELHO NOGUEIRA et al., 2019; SANTOS et al., 2018; VENCOVSKY, 1987; VIEGAS et al., 2011). Segundo VENCOVSKY e CROSSA (2003), um valor de  $N_e$  igual ou maior que 150 garante a manutenção de aproximadamente 90% da população dentro de vários ciclos de seleção. No entanto, para caracteres complexos, com herdabilidade entre 0,20 e 0,30, um valor de  $N_e$  igual a 50 é suficiente para manutenção de ganhos genéticos adequados (RESENDE; BARBOSA, 2005). Neste estudo,  $N_e = 150$  indica a seleção dos 463 melhores indivíduos para diâmetro e 458 para altura, com ganhos de 18,01% e 17,19%, respectivamente. Estes valores mostram que é possível ter ganhos expressivos na seleção e manter alta variabilidade nesta população *T. ciliata*, garantindo a sustentabilidade de exploração da variabilidade genética por vários ciclos de melhoramento.

No entanto, deve-se explorar a variabilidade genetica para vários ambientes de aptidão de *T. ciliata*. Assim, é necessário testar esta população em vários ambientes e tentar capturar a adaptabilidade específica, o que pode fazer com que uma progênie ou indivíduo que tenha obtido desempenho inferior em um ambiente, possa ter desempenho superior em outras condições ambientais. Contudo, tem-se visto que mesmo sob intensa interação de genótipos x ambientes, genótipos/progênies com performance superior sempre configuram entre os melhores em diversas condições ambientais (COSTA E SILVA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2018, 2020; SILVA et al., 2019; SANTOS et al., 2022).

Considerando estes aspectos, o programa de melhoramento deve ser planejado com a utilização de várias estratégias em paralelo para dar sustentabilidade à exploração do germoplasma, permitindo a seleção de clones com alto desempenho. Neste sentido, deve-se fazer uma seleção com maior intensidade e selecionar os melhores indivíduos a serem resgatados e enviados para testes clonais para agilizar o desenvolvimento de cultivares. Paralelamente, deve-se racionar uma estratégia de melhoramento populacional, avançando gerações mais adaptadas, mantendo a variabilidade. Para isto, é necessário que se conduzam hibridizações, para implementação de um programa de seleção recorrente (SILVA et al., 2022).

No caso de implementação de um programa de seleção recorrente para produtividade, é necessário que os melhores indivíduos cubram o maior número possível de progênies e procedências e que os mesmos sejam intercruzados em esquema dialético para que seja possível avaliar as progênies destes indivíduos e obter, por exemplo, estimativas de parâmetros como capacidade geral e específica de combinação (RESENDE; BORÉM; LEITE, 2022). No entanto, uma limitação deste método é o emprego de polinizações controladas, o que pode ser demasiadamente oneroso, por conta das dificuldades logísticas para realização dos cruzamentos em espécies perenes que demoram para atingir a maturidade reprodutiva. As árvores no teste de procedência são muito altas sendo mais viável resgatá-las, via enxertia, para implantação de um pomar de hibridação via polinização controlada. Porém, nem sempre os enxertos florescem mesmo quando estimulados com hormônio vegetal.

Assim, uma alternativa é a instalação de pomares de polinização aberta, onde os indivíduos selecionados possam ser plantados seguindo restrições espaciais com a possibilidade de que um mesmo indivíduo possa receber e doar pólen dos outros clones plantados no pomar. Uma desvantagem deste tipo de método é que não se conhece o parental masculino das progênies geradas, o que pode ser resgatado com a reconstrução de pedigrees, via uso de marcadores moleculares (KLÁPŠTĚ et al., 2018). Com a avaliação de progênies derivadas destes cruzamentos, será possível estimar se há cruzamentos com combinações específicas que devem ser mais ou menos explorados, além da informação de genitores com boa capacidade geral de combinação que podem ser utilizados com maior intensidade (KERR; DIETERS; TIER, 2004).

Além das estratégias de melhoramento, a dinâmica de conservação *ex-situ* das procedências originais no Brasil pode ser fundamental para a sustentabilidade da exploração futura destas espécies no Brasil. Alguns conservacionistas argumentam a favor da preservação da estrutura genética originária das populações Australianas. A razão primária é que a estrutura original serve de referência para futuras comparações (ERIKSSON; NAMKOONG; ROBERDS, 1995). No entanto, tem ganhado espaço dentre as estratégias de manutenção da variabilidade genética a conservação dinâmica, que significa manter a diversidade genética das árvores dentro de um processo evolutivo que permite a rotatividade de gerações na floresta. A ideia da conservação dinâmica é manter as populações de árvores de uma espécie com número efetivo adequado ao perpassar das gerações, amostrando aleatoriamente sementes destas populações para plantio das próximas gerações (KOSKELA et al., 2013; LEFÈVRE et al., 2013). A conservação dinâmica, pela efetividade e pelo baixo custo logística, revela-se como a mais adequada para manutenção da variabilidade genética de *T. ciliata*.

## 4.2 Aptidão de Toona ciliata no Brasil

No Brasil, plantios de *T. ciliata* vem sendo implantados principalmente no sul do estado de Minas Gerais, estado do Espírito Santo e em estados do sul Brasil. O pioneirismo da Empresa Bela Vista na produção de mudas clonais de *T. ciliata* foi seguida por outras viveiros de produção de mudas para plantios em vários locais no Brasil. Assim, novos plantios comerciais de *T. ciliata* vem sendo realizados sem devido conhecimento da aptidão para alocação desta espécie com base nas normais climáticas destes locais/regionais em comparação com o clima das suas regiões nativas na Austrália. A modelagem do zoneamento climático é uma excelente ferramenta para entender como os fatores climáticos afetam a distribuição potencial de uma determinada espécie em diferentes escalas (ELLIS, 2011; PEARSON; DAWSON, 2003). Esta ferramenta também tem grande importância para planejamento futuro de alocação dos plantios, uma vez que pode prever o potencial produtivo da espécie em função das mudanças climáticas (BOSSO et al., 2017; KAFASH et al., 2018). Essa modelagem futura é especialmente importante para espécies perenes, como árvores, que passam por diversos estresses abióticos durante seu longo ciclo produtivo.

Neste trabalho, para predição com dados climáticos históricos e futuros de alocação de *T. ciliata*, as variáveis preditoras com maior importância foram relacionadas a precipitação, indicando que a intensidade e distribuição das chuvas são fatores adaptativos condicionais para a distribuição natural de *T. ciliata* na Australia. Por consequência, variáveis ligadas a precipitação tiveram maior influência na predição da adaptabilidade em território brasileiro. No território australiano, *T. ciliata* ocorre em grande faixa de latitude ( $12^\circ - 36^\circ$ ), com grande amplitude de temperaturas ( $12.3^\circ$ C –  $25.9^\circ$ C), mas se restringe entre  $145^\circ$  e  $155^\circ$  de longitude, onde ocorrem as maiores precipitações ( $\geq 1395$  mm/ano) (Tabela 5). Por conta do alto gradiente de temperaturas entre as regiões de ocorrência de *T. ciliata*, variáveis derivadas da temperatura do ar não tiveram grande importância na predição da aptidão.

Prevê-se que as mudanças climáticas tenham enormes impactos sobre a vegetação da terra. O aumento da temperatura aumenta a fotorrespiração, uma vez que a relação O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> é alterada (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019). Altas temperaturas associadas a redução da umidade da atmosfera pela redução da pluviosidade também causam aumento nos processos de evapotranspiração e evaporação (TAIZ et al., 2014), alterando todo metabolismo da planta. Essas alterações climáticas têm sido associadas à morte súbita em árvores de várias espécies ao redor do mundo (MENEZES-SILVA et al., 2019). Neste trabalho, embora tenha sido utilizado o cenário mais pessimista de alterações climáticas, houve pouca alteração nas áreas de aptidão da *T. ciliata* ao longo do território brasileiro, nos três períodos futuros testados. Isso ocorre porque embora, em geral, haja aumento da temperatura e redução de pluviosidade na maioria do território brasileiro, estas alterações pluviométricas preditas ficarão dentro do gradiente suportado pela espécie.

Os cenários preditos de alterações climáticas provocaram uma pequena redução de área de alta aptidão e aumento das outras classes de aptidão. As maiores alterações ocorreram na região central do país, onde os efeitos da redução de pluviosidade serão mais acentuados. ELLI et al. (2020) projetaram, sob vários cenários de mudanças climáticas, uma redução na produtividade de *Eucalyptus* spp. no centro-norte do país em função do aumento da temperatura e redução da pluviosidade. Essa redução de aptidão de *Eucalyptus* spp. na região central do Brasil também foi observada por FLORÊNCIO et al. (2022), que estimaram reduções entre 15% e 47% em áreas de aptidão. Essa diminuição na aptidão se concentrou nas regiões Norte, Norte do Centro-Oeste e Noroeste do Nordeste, incluindo a nova fronteira agroflorestal brasileira (MA-TOPIBA). Nestas áreas, foram preditas reduções em até 300 mm/ano no regime pluviométrico anual até 2100.

Tanto quanto se sabe não há zoneamento climático para T. ciliata em território nacional. No entanto, PIROVANI et al. (2018) realizaram o zoneamento para oito espécies florestais no estado do Espírito Santo, incluindo T. ciliata. Foram preditos dois cenários, o atual (1982 -2011) e futuro (2050). No cenário atual, 88% da área do estado tem aptidão para plantio da espécie, enquanto no cenário futuro esta área é reduzida para 57%, com concentração de áreas aptas no norte do estado. KLIPPEL et al. (2013) também realizaram o zoneamento de adaptabilidade para T. ciliata no estado do Espírito Santo utilizando dados históricos (1977 – 2006) de temperatura e pluviosidade e estimou que 27% da área do estado pode receber plantios. Nestes trabalhos foram utilizados modelos de limiar, onde as áreas foram classificadas entre aptas e inaptas. PIROVANI et al. (2018), por exemplo, classificaram como aptas, áreas com temperatura média anual entre 13°C e 19°C e balanço hídrico anual maior que -50mm, enquanto que KLIPPEL et al. (2013) utilizaram critérios de temperaturas entre 19°C e 23°C e balanço hídrico anual maior que -100 mm. Estes critérios mostram que não há um consenso entre os requisitos climáticos de aptidão de T. ciliata e que os valores utilizados, principalmente para temperatura, divergiram entre os dois estudos. Neste trabalho, a temperatura não foi utilizada na predição. Além disso, destaca-se que na faixa de distribuição natural da espécie há alta amplitude de temperatura média anual (12.3°C – 25.9°C) (Tabela 5).

Variável	Unidade	Média	Mínimo	Máximo	CV*(%)
BIO01	°C	17.5	12.3	25.9	10.8
BIO02	°C	9.7	6.7	13.8	11.1
BIO03	%	48.7	43.0	61.5	4.7
BIO04	%	378.5	164.1	587.0	9.1
BIO05	°C	26.8	22.6	32.6	6.7
BIO06	°C	7.0	0.4	18.9	27.1
BIO07	°C	19.8	12.7	30.0	8.8
BIO08	°C	21.6	12.7	27.7	8.0
BIO09	°C	13.4	6.6	24.0	16.2
BIO10	°C	21.9	17.5	28.2	7.6
BIO11	°C	12.5	6.6	23.6	16.5
BIO12	mm	1395.5	452.0	4151.0	22.8
BIO13	mm	192.8	47.0	685.0	32.5
BIO14	mm	49.8	5.0	97.0	24.8
BIO15	%	38.9	13.5	111.4	34.3
BIO16	mm	527.0	129.0	1940.0	31.5
BIO17	mm	184.0	20.0	338.0	24.2
BIO18	mm	472.2	102.0	1253.0	29.9
BIO19	mm	224.4	25.0	649.0	27.9
GEO01	m	246.4	2.0	1166.0	88.5

 Tabela 5 - Valores médios e amplitude para 20 variáveis climáticas utilizando dados de ocorrência natural de *Toona ciliata* em território australiano.

\*CV = coeficiente de variação;

BIO01 = Temperatura média anual; BIO02 = Amplitude térmica diária; BIO03 = Isotermalidade (BIO2/BIO7) x100; BIO04 = Sazonalidade da temperatura (desvio Padrão ×100); BIO05 = Temperatura máxima do mês mais quente; BIO06 = Temperatura mínima do mês mais frio; BIO07 = Amplitude térmica anual (BIO5-BIO6); BIO08 = Temperatura média do trimestre mais úmido; BIO09 = Temperatura média do trimestre mais seco; BIO10 = Temperatura média do trimestre mais quente; BIO11 = Temperatura média do trimestre mais frio; BIO12 = Precipitação pluviométrica anual; BIO13 = Precipitação pluviométrica do mês mais úmido; BIO14 = Precipitação pluviométrica do mês mais seco; BIO15 = Sazonalidade da precipitação pluviométrica (CV); Precipitação pluviométrica do trimestre mais úmido; BIO17 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais seco; BIO18 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais quente; BIO19 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais úmido; BIO17 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais seco; BIO18 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais quente; BIO19 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais úmido; BIO17 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais seco; BIO18 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais quente; BIO19 = Precipitação pluviométrica do trimestre mais frio; GEO01 = Elevação.

Fonte: do Autor (2023).

Segundo RICKEN et al. (2011), o melhor desempenho da espécie no Brasil é observado em áreas com precipitação anual superior a 1100 mm, mas, para maior produtividade, necessita de boa disponibilidade de água, apesar de não tolerar longos períodos de encharcamento, o que retarda seu desenvolvimento. Neste trabalho, áreas com altas e boa aptidão tem precipitação acima de 1500 mm, mas a variável que provoca um maior gradiente entre as classes de aptidão é a precipitação acumulada no trimestre mais seco (BIO17). Na região central do país e principalmente no Nordeste, há regiões com bom regime pluviométrico acumulado, mas com estações secas bem severas. Esta variável se correlaciona com o balanço hídrico do solo, que é geralmente utilizada em trabalhos de zoneamento (BRÊDA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2014).

Embora espacialmente muito distantes e com normais de temperatura muito distintas, as regiões Norte e Sul do Brasil são onde ocorrem as maiores precipitações (Alvarez, 2013). Isso faz com que a predição de alta aptidão de *T. ciliata* tenha se concentrado nestas duas regiões. Contudo, é preciso cautela ao recomendar plantios de *T. ciliata* em algumas regiões do sul do Brasil devido à incidência de geadas intensas (NAVROSKI et al., 2017).

Empresas florestais e os silvicultores devem ser cautelosos ao usar informações projetadas para opções de adaptação em escala local, pois as incertezas no clima projetado (especialmente nas chuvas) e na produtividade são substancialmente grandes. Estas ponderações se somam ao fato de que, na grande maioria, os trabalhos de zoneamento climático desconsideram dois fatores importantes no sucesso de qualquer floresta plantada: melhoramento genético e manejo florestal. No melhoramento genético, o avanço de gerações irá permitir selecionar materiais mais adaptados e que poderão suplantar as restrições consideradas neste zoneamento. Por exemplo, com base nas normais climáticas, FLORES et al., (2018) mapearam abaixo do centro-sul de São Paulo como regiões de baixa aptidão para plantio de *Eucalyptus urophyla*, no entanto, SILVA et al., (2019) obtiveram melhores produtividades em 322 progênies de *Eucalyptus urophyla* nessas regiões previamente classificadas como baixa aptidão. Com relação ao manejo, aspectos ligados a nutrição, espaçamento, desbastes seletivos etc. também poderão fazer com que regiões classificadas como de baixa inaptidão possam ter produção sustentável de *T. ciliata*.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Com base nos resultados das avaliações genéticas do teste de procedências de T. ciliata, há pouca estruturação da variância genética quantitativa entre procedências e a adaptabilidade no ambiente testado é mais dependente das capacidades gerais de combinação das progênies do que exatamente alguma vantagem adaptativa relacionada às subpopulações de origem destas progênies. A seleção dos melhores indivíduos pode ser uma estratégia adequada para implementação de testes clonais em diferentes condições edafoclimáticas e exploração da adaptação local para selecionar novos clones a curto prazo. Paralelamente aos resgates dos melhores indivíduos, devem ser realizados para instalação de pomares de polinização aberta e obtenção e avaliações de novas progênies para criação de um programa de seleção recorrente, respeitando as restrições do tamanho efetivo populacional  $(N_{\rho})$ . Ao mesmo tempo, recomenda-se a manutenção do teste de procedências visando a preservação dinâmica ex-situ do germoplasma avaliado, uma vez que estão sendo reduzidos intercâmbios de germoplasma entre países, principalmente na Australia, onde ações governamentais têm restringido a exportação de espécies nativas. Além disso, a manutenção do germoplasma abre a possibilidade de achar no futuro alelos de interesse responsáveis de tolerância a estresses bióticos e abióticos que podem surgir durante a expansão dos plantios de cedro-australiano em novas regiões.

O conhecimento e exploração do germoplasma, juntamente com o conhecimento de aptidão da espécie em território brasileiro, pode ajudar produtores, instituições de pesquisa públicas e privadas no direcionamento da exploração sustentável de *T. ciliata* no Brasil. Pesquisar espécies florestais com madeira de alto valor se torna cada vez mais importante em face da crescente demanda por madeira para serraria em todo o mundo e pressões pela redução da exploração irregular de madeiras de essências florestais nativas.

# REFERÊNCIAS

ABARQUEZ, A. et al. EARLY GROWTH AND GENETIC VARIATION OF MAHOGANY (SWIETENIA MACROPHYLLA) IN PROGENY TESTS PLANTED IN NORTHERN MINDANAO, PHILIPPINES on JSTOR. Journal of Tropical Forest Science, v. 27, n. 3, p. 314–324, 2015.

AGUIAR, A. V. DE; SOUSA, V. A. DE; SHIMIZU, J. Y. Seleção genética de progênies de Pinus greggii para formação de pomares de sementes. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 62, p. 107–117, 28 out. 2010.

ALMEIDA, A. N. DE et al. Mercado de madeiras tropicais : substituição na demanda de exportação. Acta Amazonica, v. 40, n. 1, p. 119–126, 2010.

ASSAD, E. D. et al. Climatic changes impact in agroclimatic zonning of coffee in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1057–1064, 2004.

BABU, B. K. et al. Development and validation of whole genome-wide and genic microsatellite markers in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.): First microsatellite database (OpSatdb). Scientific Reports 2019 9:1, v. 9, n. 1, p. 1–9, 13 fev. 2019.

BATES, D. et al. Linear Mixed-Effects Models using "Eigen" and S4 [R package lme4 version 1.1-30]. CRANComprehensive R Archive Network (CRAN), , 8 jul. 2022. Disponível em: <a href="https://cran.r-project.org/package=lme4">https://cran.r-project.org/package=lme4</a>>. Acesso em: 29 out. 2022

BEIER, S. et al. MISA-web: a web server for microsatellite prediction. **Bioinformatics**, v. 33, n. 16, p. 2583–2585, 15 ago. 2017.

BOAVENTURA-NOVAES, C. R. D. et al. Genetic drift and uniform selection shape evolution of most traits in Eugenia dysenterica DC. (Myrtaceae). **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, n. 5, p. 76, 21 out. 2018.

BOLAND, D. J. et al. Forest trees of Australia. Collingwood: CSIRO Publishing, 2006.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114, 8 ago. 2014.

BOSSO, L. et al. Predicting current and future disease outbreaks of Diplodia sapinea shoot blight in Italy: species distribution models as a tool for forest management planning. Forest Ecology and Management, v. 400, p. 655–664, 15 set. 2017.

BRÊDA, J. P. L. F. et al. Climate change impacts on South American water balance from a continental-scale hydrological model driven by CMIP5 projections. **Climatic Change**, v. 159, n. 4, p. 503–522, 1 abr. 2020.

BUTCHER, P. A.; MATHESON, A. C.; SLEE, M. U. Potential for genetic improvement of oil production in Melaleuca alternifolia and M. linariifolia. **New Forests 1996 11:1**, v. 11, n. 1, p. 31–51, jan. 1996.

CABI. **Toona ciliata**. Disponível em: <a href="https://www.cabi.org/isc/datasheet/54175">https://www.cabi.org/isc/datasheet/54175</a>>. Acesso em: 13 maio. 2019.

CAI, K. et al. Development and characterization of EST-SSR markers from RNA-Seq data in phyllostachys violascens. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 50, 1 fev. 2019.

CALLISTER, A. N. Genetic parameters and correlations between stem size, forking, and flowering in teak (Tectona grandis). Canadian Journal of Forest Research, v. 43, n. 12, p.

1145-1150, out. 2013.

CALLISTER, A. N.; COLLINS, S. L. Genetic parameter estimates in a clonally replicated progeny test of teak (Tectona grandis Linn. f.). **Tree Genetics and Genomes**, v. 4, n. 2, p. 237–245, 27 abr. 2008.

CARDLE, L. et al. Computational and Experimental Characterization of Physically Clustered Simple Sequence Repeats in Plants. **Genetics**, v. 156, n. 2, p. 847–854, 1 out. 2000.

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, 16 jun. 2016.

CASTRO, C. A. DE O. et al. Optimization of Eucalyptus benthamii progeny test based on Near-Infrared Spectroscopy approach and volumetric production. **Industrial Crops and Products**, v. 141, p. 111786, 1 dez. 2019.

CHOWDHURY, R.; HASAN, C. M.; RASHID, M. A. Antimicrobial activity of Toona ciliata and Amoora rohituka. Fitoterapia, v. 74, n. 1–2, p. 155–158, 1 fev. 2003.

COELHO NOGUEIRA, T. A. P. et al. Estimativa de parâmetros genéticos em progênies de irmãos completos de eucalipto e otimização de seleção. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, v. 47, n. 123, p. 451–462, 2019.

COLAUTTI, R. I.; LAU, J. A. Contemporary evolution during invasion: evidence for differentiation, natural selection, and local adaptation. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 9, p. 1999–2017, 1 maio 2015.

COSTA, R. B. DA et al. Desempenho de progênies no pré-melhoramento de Tectona grandis L.f no Estado do Espírito Santo. **Scientia Forestalis**, v. 43, n. 105, p. 211–216, 2015.

COSTA E SILVA, J.; POTTS, B. M.; DUTKOWSKI, G. W. Genotype by environment interaction for growth of Eucalyptus globulus in Australia. **Tree Genetics and Genomes**, v. 2, n. 2, p. 61–75, 10 abr. 2006.

CRUZ, A. C. et al. Phenotypic divergence among half-sib progenies of African mahogany. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 2, p. 20190990, 13 jun. 2022.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético - Vol 2 - 3ª Edição. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2003.

DA SILVA, P. H. M. et al. Selection of *Eucalyptus grandis* families across contrasting environmental conditions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 47–54, 11 abr. 2019.

DOS SANTOS, W. et al. Genotype-environment interaction in Cordia trichotoma (Vell.) Arráb. Ex Steud. progenies in two different soil conditions. **Journal of Forestry Research**, v. 33, n. 1, p. 309–319, 1 fev. 2022.

DUSENGE, M. E.; DUARTE, A. G.; WAY, D. A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO2 and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. **New Phytologist**, v. 221, n. 1, p. 32–49, 1 jan. 2019.

EDMONDS, J. M. The potential value of Toona species (Meliaceae) as multipurpose and plantation trees in Southeast Asia. **The Commonwealth Forestry Review**, v. 72, n. 3, p. 181–186, 1993.

ELITH, J.; LEATHWICK, J. R. Species Distribution Models: Ecological Explanation and

Prediction Across Space and Time. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120159, v. 40, p. 677–697, 6 fev. 2009.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nature Reviews Genetics 2004 5:6, v. 5, n. 6, p. 435–445, jun. 2004.

ELLI, E. F.; SENTELHAS, P. C.; BENDER, F. D. Impacts and uncertainties of climate change projections on Eucalyptus plantations productivity across Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 474, p. 118365, 15 out. 2020.

ELLIS, E. C. Anthropogenic transformation of the terrestrial biosphere. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 369, n. 1938, p. 1010–1035, 13 mar. 2011.

ERIKSSON, G.; NAMKOONG, G.; ROBERDS, J. Dynamic conservation of forest tree gene resources. Forest Genetic Resources (FAO), n. 23, p. 2–8, 1995.

EYRING, V. et al. Overview of the Coupled Model Intercomparison Project Phase 6 (CMIP6) experimental design and organization. **Geoscientific Model Development**, v. 9, n. 5, p. 1937–1958, 26 maio 2016.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Introduction to quantitative genetics. 4th. ed. Essex, England: Longman, 1996.

FAN, L. et al. Transferability of Newly Developed Pear SSR Markers to Other Rosaceae Species. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 31, n. 6, p. 1271–1282, 4 dez. 2013.

FERREIRA, R. T. et al. Toona ciliata genotype selection with the use of individual BLUP with repeated measures. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 3, p. 210–216, jun. 2012.

FLORÊNCIO, G. W. L.; MARTINS, F. B.; FAGUNDES, F. F. A. Climate change on Eucalyptus plantations and adaptive measures for sustainable forestry development across Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 188, p. 115538, 15 nov. 2022.

FLORES, T. et al. Eucalyptus in Brazil - Climatic Zoning and Identification Guide. Piracicaba - SP: IPEF, 2018. v. 1st

GAUTAM, A. et al. Pharmacognostic evaluation of toona ciliata bark. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 1, n. 2, p. 216–20, abr. 2010.

GEETHA, C. M.; SIRIL, E. A. Cross-species transferability of genomic SSR markers and genetic diversity among Asparagus racemosus Willd. Accessions. **Plant Gene**, v. 31, p. 100361, 1 set. 2022.

GILMOUR, A. R.; THOMPSON, R.; CULLIS, B. R. Average Information REML: An Efficient Algorithm for Variance Parameter Estimation in Linear Mixed Models. **Biometrics**, v. 51, n. 4, p. 1440, dez. 1995.

GIRARD, Q. et al. Provenance variation and seed sourcing for sessile oak (Quercus petraea (Matt.) Liebl.) in France. **Annals of Forest Science**, v. 79, n. 1, p. 1–16, 1 dez. 2022.

GUICHOUX, E. et al. Current trends in microsatellite genotyping. Molecular Ecology Resources, v. 11, n. 4, p. 591–611, 1 jul. 2011.

HAUSSMANN, B. I. G. et al. Breeding Strategies for Adaptation of Pearl Millet and Sorghum to Climate Variability and Change in West Africa. Journal of Agronomy and Crop Science, v. 198, n. 5, p. 327–339, 1 out. 2012. HIJMANS, R. J.; GHOSH, A.; MANDEL, A. geodata: Download Geographic Data. CRAN: The Comprehensive R Archive Network, , 2022. Disponível em: <https://github.com/rspatial/geodata/issues/>. Acesso em: 31 out. 2022

HODGE, G. R.; DVORAK, W. S. Growth potential and genetic parameters of four Mesoamerican pines planted in the Southern Hemisphere. http://dx.doi.org/10.2989/20702620.2012.686192, v. 74, n. 1, p. 27–49, mar. 2012.

HUANG, Y. N. et al. White Oak Growth after 23 Years in a Three-Site Provenance/Progeny Trial on a Latitudinal Gradient in Indiana. **Forest Science**, v. 62, n. 1, p. 99–106, 8 fev. 2016.

IBA, I. B. DE Á. **Ibá - O futuro do mercado de madeiras nobres no Brasil**. Disponível em: <a href="https://iba.org/o-futuro-do-mercado-de-madeiras-nobres-no-brasil">https://iba.org/o-futuro-do-mercado-de-madeiras-nobres-no-brasil</a>. Acesso em: 17 jun. 2019.

KAFASH, A. et al. Climate change produces winners and losers: Differential responses of amphibians in mountain forests of the Near East. **Global Ecology and Conservation**, v. 16, p. e00471, 1 out. 2018.

KALIA, R. K.; CHHAJER, S.; PATHAK, R. Cross genera transferability of microsatellite markers from other members of family Bignoniaceae to Tecomella undulata (Sm.) Seem. Acta Physiologiae Plantarum, v. 42, n. 9, p. 1–14, 1 set. 2020.

KANTETY, R. V. et al. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat. **Plant Molecular Biology 2002 48:5**, v. 48, n. 5, p. 501–510, 2002.

KASS, J. M. et al. Wallace: A flexible platform for reproducible modeling of species niches and distributions built for community expansion. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 1151–1156, 1 abr. 2018.

KERR, R. J.; DIETERS, M. J.; TIER, B. Simulation of the comparative gains from four different hybrid tree breeding strategies. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 34, n. 1, p. 209–220, jan. 2004.

KLÁPŠTĚ, J. et al. Effect of Hidden Relatedness on Single-Step Genetic Evaluation in an Advanced Open-Pollinated Breeding Program. **Journal of Heredity**, v. 109, n. 7, p. 802–810, 31 out. 2018.

KLÁPŠTĚ, J. et al. Modelling of population structure through contemporary groups in genetic evaluation. **BMC Genetics**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 24 out. 2019.

KLIPPEL, V. H. et al. ZONEAMENTO CLIMÁTICO PARA TECA, CEDRO AUSTRALIANO, NIM INDIANO E PUPUNHA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO. **FLORESTA**, v. 43, n. 4, p. 671–680, 31 dez. 2013.

KOSKELA, J. et al. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. **Biological Conservation**, v. 157, p. 39–49, 1 jan. 2013.

KULEUNG, C.; BAENZIGER, P. S.; DWEIKAT, I. Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, n. 6, p. 1147–1150, 5 abr. 2004.

LAGERCRANTZ, U.; ELLEGREN, H.; ANDERSSON, L. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. **Nucleic Acids** 

Research, v. 21, n. 5, p. 1111–1115, 11 mar. 1993.

LEE, S. B. et al. The complete chloroplast genome sequence of Gossypium hirsutum: Organization and phylogenetic relationships to other angiosperms. **BMC Genomics**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 23 mar. 2006.

LEFÈVRE, F. et al. Dynamic conservation of forest genetic resources in 33 European countries. **Conservation biology : the journal of the Society for Conservation Biology**, v. 27, n. 2, p. 373–384, abr. 2013.

LEINONEN, T. et al. Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. **Journal of evolutionary biology**, v. 21, n. 1, p. 1–17, jan. 2008.

LEINONEN, T. et al. QST–FST comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 3, p. 179–190, 5 mar. 2013.

LEMMENS, R. H. M. J. Toona ciliata M.Roem. **PROTA - Plant Resources of Tropical Africa**, v. 7, n. 1, p. <a href="http://www.prota4u.org/search.asp">http://www.prota4u.org/search.asp</a>, 2008.

LI, D. et al. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 31, n. 10, p. 1674–1676, 15 maio 2015.

LI, G. QI et al. Genome survey and SSR analysis of Apocynum venetum. **Bioscience Reports**, v. 39, n. 6, 28 jun. 2019.

LIN, N. et al. Complete plastome sequencing from *Toona* (Meliaceae) and phylogenomic analyses within Sapindales. **Applications in Plant Sciences**, v. 6, n. 4, p. e1040, 1 abr. 2018.

LIU, J. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci from an endangered tree species, Toona ciliata var. pubescens. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 11, n. 4, p. 4411–4417, 2012.

LIU, J.; CHEN, Y. T.; JIANG, J. M. Study on Population Genetic Structure in Toona ciliata var.pubescens with SSR. **Forest Research**, v. 22, n. 1, p. 37–41, 2019.

LIU, J.; JIANG, J.; CHEN, Y. Genetic diversity of central and peripheral populations of Toona ciliata var. pubescens, an endangered tree species endemic to China. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 4579–4590, 2014.

LYNCH, M. et al. The Quantitative and Molecular Genetic Architecture of a Subdivided Species. **Evolution**, v. 53, n. 1, p. 100, fev. 1999.

MAHMOUDI SHAMSABAD, M.; ASSADI, M.; PARDUCCI, L. Impact of climate change implies the northward shift in distribution of the Irano-Turanian subalpine species complex Acanthophyllum squarrosum. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 11, n. 4, p. 566–572, 1 dez. 2018.

MEDEIROS, F. L. B.; SANTOS, C. A. F.; COSTA, A. E. S. In silico microsatellite transferability from Psidium guajava to Eucalyptus globulus validated by PCR. Genetics and Molecular Research, v. 20, n. 4, 2021.

MEINSHAUSEN, M. et al. The shared socio-economic pathway (SSP) greenhouse gas concentrations and their extensions to 2500. **Geoscientific Model Development**, v. 13, n. 8, p. 3571–3605, 13 ago. 2020.

MENEZES-SILVA, P. E. et al. Different ways to die in a changing world: Consequences of

climate change for tree species performance and survival through an ecophysiological perspective. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 20, p. 11979–11999, 1 out. 2019.

MIRANDA, A. C. et al. Heritability for resistance to Puccinia psidii Winter rust in Eucalyptus grandis Hill ex Maiden in Southwestern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 9, n. 2, p. 321–329, 1 abr. 2013.

MIRANDA, E. M. DE; VALENTIM, J. F. Desempenho de doze espécies arbóreas nativas e introduzidas com potencial de uso múltiplo no estado do Acre, Brasil. Acta Amazonica, v. 30, n. 3, p. 471–471, set. 2000.

NASSUR, O. A. C. et al. VARIAÇÕES NA QUALIDADE DE TORAS DEToona ciliataM. Roem. COM DEZOITO ANOS DE IDADE. **CERNE**, v. 19, n. 1, p. 43–49, 2013.

NAVARRO, C.; HERNÁNDEZ, G. PROGENY TEST ANALYSIS AND POPULATION DIFFERENTIATION OF MESOAMERICAN MAHOGANY (Swietenia macrophylla). Agronomía Costarricense, v. 28, n. 2, p. 37–51, 2004.

NAVROSKI, M. C. et al. Tolerância ao frio e características silviculturais do cedroaustraliano no sul do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 89, p. 47, 31 mar. 2017.

NIERI, É. M. et al. Selection of Pinus spp. progenies in Lavras (Minas Gerais, Brazil) at 36 months of age. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v. 52, 25 fev. 2022.

OLIVEIRA, T. W. G. DE et al. Stability and adaptability for wood volume in the selection of Eucalyptus saligna in three environments. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 53, n. 5, p. 611–619, 1 maio 2018.

OLIVEIRA, P. T. S. et al. Trends in water balance components across the Brazilian Cerrado. **Water Resources Research**, v. 50, n. 9, p. 7100–7114, 1 set. 2014.

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, 16 out. 2020.

OLIVEIRA, R. DE S.; FRANCA, T. M. CLIMATE ZONING FOR THE CULTIVATION OF AFRICAN MAHOGANY SPECIES IN BRAZIL. **CERNE**, v. 26, n. 3, p. 369–380, 16 dez. 2020.

OUTI SAVOLAINEN; TANJA PYHÄJÄRVI; TIMO KNÜRR. Gene Flow and Local Adaptation in Trees . Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, v. 38, p. 595–619, 2007.

PEARCE, J.; FERRIER, S. Evaluating the predictive performance of habitat models developed using logistic regression. **Ecological Modelling**, v. 133, n. 3, p. 225–245, 3 set. 2000.

PEARSON, R. G.; DAWSON, T. P. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? **Global Ecology and Biogeography**, v. 12, n. 5, p. 361–371, 1 set. 2003.

PEREK, M. et al. Predicted genetic gains for growth traits and wood resistance in *Pinus maximinoi* and *Pinus tecunumanii*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 2022, 5 ago. 2022.

PETIT, R. J. et al. Standardizing for microsatellite length in comparisons of genetic diversity. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 3, p. 885–890, 1 mar. 2005.

PINHEIRO, A. L. et al. Ecologia, silvicultura e tecnologia de utilização dos mognosafricanos (Khaya spp.). 1. ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Agrossilvicultura, 2011.

PIQUEMAL, J. et al. Construction of an oilseed rape (Brassica napus L.) genetic map with SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, n. 8, p. 1514–1523, 27 nov. 2005.

PIROVANI, D. B. et al. Climate change impacts on the aptitude area of forest species. **Ecological Indicators**, v. 95, p. 405–416, 1 dez. 2018.

R CORE TEAM, D. R: A Language and Environment for Statistical Computing. ViennaR Foundation for Statistical Computing, , 2019.

RABELLO, E. et al. In silico characterization of microsatellites in Eucalyptus spp.: abundance, length variation and transposon associations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 3 SUPPL., p. 582–588, 2005.

RESENDE, M. D. V. DE. **Biometric Genetics and Statistics in the Breeding of Perennial Crops.** 1st. ed. Colombo, PR: Brasilia: Embrapa Informação Tecnológica. Embrapa Florestas, 2002a.

RESENDE, M. D. V. DE; BARBOSA, M. H. P. Melhoramento genético de plantas de propagação assexuada. Colombo - PR: Embrapa Florestas, 2005. v. 1st

RESENDE, R. T.; BORÉM, A.; LEITE, H. G. Eucalipto: do plantio à colheita. 1st. ed. Sao Paulo: Oficina de textos, 2022.

RESENDE, M. D. V. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Colombo - PR: Embrapa Florestas, 2002b.

RICKEN, P. et al. **Crescimento diamétrico de povoamento de Toona ciliata var. australis em Adrianópolis, PR. - Portal Embrapa**. Colombo - PR: [s.n.]. Disponível em: <a href="https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/904084/crescimento-diametrico-de-povoamento-de-toona-ciliata-var-australis-em-adrianopolis-pr">https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/904084/crescimento-diametrico-de-povoamento-de-toona-ciliata-var-australis-em-adrianopolis-pr</a>>. Acesso em: 9 nov. 2022.

ROBERTSON, T. et al. The GBIF Integrated Publishing Toolkit: Facilitating the Efficient Publishing of Biodiversity Data on the Internet. **PLOS ONE**, v. 9, n. 8, p. e102623, 6 ago. 2014.

ROSADO, L. R. **Parâmetros genéticos em teste de procedências e progênies de Toona ciliata M. Roemer var. australis**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 9 jul. 2015a.

ROSADO, L. R. **Parâmetros genéticos em teste de procedências e progênies de Toona ciliata M. Roemer var. australis**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 9 jul. 2015b.

SAHA, A.; RAHMAN, S.; ALAM, S. Modeling current and future potential distributions of desert locust Schistocerca gregaria (Forskål) under climate change scenarios using MaxEnt. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 14, n. 3, p. 399–409, 1 set. 2021.

SAHA, M. C. et al. Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 4, p. 783–791, 16 ago. 2004.

SANTOS, W. DOS et al. VARIAÇÃO GENÉTICA E TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL EM PROGÊNIES DE DIPTERYX ALATA EM PEDERNEIRAS, SÃO PAULO, BRASIL. **Revista Árvore**, v. 42, n. 3, 23 nov. 2018.

SANTOS, H. G. Avaliação genética de progênies de cedro australiano. [s.l.] Universidade

Federal de Lavras, 22 ago. 2017.

SANTOS, H. G. et al. Parâmetros genéticos para caracteres silviculturais em cedro australiano Genetic parameters for silvicultural traits in cedro australiano. **Scientia Forestalis**, v. 49, n. 130, 2021.

SCHLOTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. Chromosoma, v. 109, n. 6, p. 365–371, 2000.

SHEKHAR, C. et al. Cross-transferability-based identification and validation of simple sequence repeat (SSR) markers in oaks of wes... . **Silvae Genetica**, v. 70, n. 1, p. 108–116, 2021.

SHI, J. et al. Evolutionary Dynamics of Microsatellite Distribution in Plants: Insight from the Comparison of Sequenced Brassica, Arabidopsis and Other Angiosperm Species. **PLOS ONE**, v. 8, n. 3, p. e59988, 28 mar. 2013.

SHI, J. et al. Genome-Wide Microsatellite Characterization and Marker Development in the Sequenced Brassica Crop Species. **DNA Research**, v. 21, n. 1, p. 53–68, 1 fev. 2014.

SILVA, P. H. M. DA et al. Initiation of breeding programs for three species of Corymbia: Introduction and provenances study . **CBAB – Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. e40012211, 2022.

SILVA, H. R. et al. First Report of Cercospora Leaf Spot Caused by *Cercospora* cf. *alchemillicola* in *Toona ciliata* in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, n. 1, p. 213, 13 jan. 2016.

SMITH, G. R. et al. Resistance of New Zealand Provenance Leptospermum scoparium, Kunzea robusta, Kunzea linearis, and Metrosideros excelsa to Austropuccinia psidii. **Plant Disease**, v. 104, n. 6, p. 1771–1780, 1 jun. 2020.

SOARES, S. D. Diversidade genética em população de melhoramento de mogno africano (Khaya ivorensis A. Chev.). [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 4 ago. 2014.

SONAH, H. et al. Genome-Wide Distribution and Organization of Microsatellites in Plants: An Insight into Marker Development in Brachypodium. **PLOS ONE**, v. 6, n. 6, p. e21298, 2011.

STAPE, J. L. et al. The Brazil Eucalyptus Potential Productivity Project: Influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. **Forest Ecology and Management**, v. 259, n. 9, p. 1684–1694, 15 abr. 2010.

SUMATHI, M.; YASODHA, R. Microsatellite resources of eucalyptus: Current status and future perspectives. **Botanical Studies**, v. 55, n. 1, p. 1–16, 25 out. 2014.

SUSANTO, M. et al. Genetic variation in growth and oil characteristic of Melaleuca cajuputi subsp. cajaputi and potential for genetic improvement. Journal of Tropical Forest Science (Malaysia), p. 469–482, 2003.

TAIZ, L. et al. **Plant Physiology & Development**. 6th. ed. [s.l.] Sinauer Associates Is an Imprint of Oxford University Press, 2014.

TEMNYKH, S. et al. Computational and Experimental Analysis of Microsatellites in Rice (Oryza sativa L.): Frequency, Length Variation, Transposon Associations, and Genetic Marker Potential. **Genome Research**, v. 11, n. 8, p. 1441–1452, 1 ago. 2001.

TEPLITSKY, C.; ROBINSON, M. R.; MERILÄ, J. Evolutionary potential and constraints in

wild populations. In: **Quantitative Genetics in the Wild**. [s.l.] Oxford University Press, 2014. p. 190–208.

THOMAZINI, M. J. et al. Técnico Comunicado - Incidência e danos da broca-dasmeliáceas, Hypsipyla grandella, em mogno, no interior paulista. Colombo, PR: [s.n.]. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/898052/1/CT280.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2019.

TÓTH, G.; GÁSPÁRI, Z.; JURKA, J. Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. **Genome Research**, v. 10, n. 7, p. 967–981, 1 jul. 2000.

VENCOVSKY, R. TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL NA COLETA E PRESERVAÇÃO DE GERMOPLASMA DE ESPECIES ALOGAMAS. **IPEF**, v. 35, p. 79– 84, 1987.

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of Representativeness Used in Genetic Resources Conservation and Plant Breeding. **Crop Science**, v. 43, n. 6, p. 1912–1921, 1 nov. 2003.

VIEGAS, M. P. et al. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de Myracrodruon urundeuva Fr. All., sob conservação ex situ. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 769–779, 2011.

VIEIRA, M. L. C. et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 3, p. 312–328, set. 2016.

VIGOUROUX, Y. et al. Rate and Pattern of Mutation at Microsatellite Loci in Maize. **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, n. 8, p. 1251–1260, 1 ago. 2002.

VITASSE, Y. et al. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. https://doi.org/10.1139/X09-054, v. 39, n. 7, p. 1259–1269, jul. 2009.

VOLDOIRE, A. et al. Evaluation of CMIP6 DECK Experiments With CNRM-CM6-1. Journal of Advances in Modeling Earth Systems, v. 11, n. 7, p. 2177–2213, 1 jul. 2019.

WANG, X. et al. Comparative genome-wide characterization leading to simple sequence repeat marker development for Nicotiana. **BMC Genomics**, v. 19, n. 1, p. 1–12, 27 jun. 2018.

WANG, X. et al. A Chromosome-Level Genome Assembly of Toona ciliata (Meliaceae). Genome Biology and Evolution, v. 14, n. 8, 3 ago. 2022.

WHITLOCK, M. C. Evolutionary inference from  $Q_{ST}$ . **Molecular Ecology**, v. 17, n. 8, p. 1885–1896, abr. 2008.

WHITLOCK, M. C.; GUILLAUME, F. Testing for Spatially Divergent Selection: Comparing QST to FST. **Genetics**, v. 183, n. 3, p. 1055–1063, 1 nov. 2009.

WICKHAM, H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. New YorkSpringer-Verlag, , 2016.

WIGHTMAN, K. E. et al. Performance and genetic variation of big-leaf mahogany (Swietenia macrophylla King) in provenance and progeny trials in the Yucatan Peninsula of Mexico. **Forest Ecology and Management**, v. 255, n. 2, p. 346–355, 10 mar. 2008.

WINGFIELD, M. J. et al. Planted forest health: The need for a global strategy. Science, v.

349, n. 6250, p. 832-836, 21 ago. 2015.

XIAO, J. et al. Genome-Wide Characterization of Simple Sequence Repeat (SSR) Loci in Chinese Jujube and Jujube SSR Primer Transferability. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0127812, 22 maio 2015.

YANG, F. et al. Responses to drought stress in two poplar species originating from different altitudes. **Biologia Plantarum 2009 53:3**, v. 53, n. 3, p. 511–516, 13 nov. 2009.

YANG, W.; DAN, Y.; XINZHI, L. Genetic Diversity of Toona ciliata Populations Based on SSR Markers. Journal of Resources and Ecology, v. 11, n. 5, p. 466, 4 set. 2020.

YANG, X. Q. et al. Maxent modeling for predicting the potential distribution of medicinal plant, Justicia adhatoda L. in Lesser Himalayan foothills. **Ecological Engineering**, v. 51, p. 83–87, 1 fev. 2013.

YI, G. et al. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 114, n. 1, p. 113–130, 18 dez. 2006.

YONG, W. T. L. et al. Geographical patterns of variation in susceptibility of Eucalyptus globulus and Eucalyptus obliqua to myrtle rust. **Tree Genetics and Genomes**, v. 15, n. 3, p. 1–14, 1 jun. 2019.

ZHAN, X. et al. Establishment and Primer Screening of SSR-PCR Reaction System for Toona ciliata. Forestry Science Research, v. 29, n. 4, p. 565–570, 2016.

ZHAN, X. et al. Genetic diversity and population structure of Toona ciliata revealed by simple sequence repeat markers. http://mc.manuscriptcentral.com/tbeq, v. 33, n. 1, p. 214–222, 2019.

ZHAO, X.; KOCHERT, G. Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)n microsatellite from rice (Oryza sativa L.). **Plant Molecular Biology 1993 21:4**, v. 21, n. 4, p. 607–614, fev. 1993.

ZHAO, Z. et al. Genome-Wide analysis of tandem repeats in plants and green algae. G3: Genes, Genomes, Genetics, v. 4, n. 1, p. 67–78, 1 jan. 2014.

ZHOU, W. et al. Mating system and population structure in the natural distribution of Toona ciliata (Meliaceae) in South China. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 12 out. 2020.



Figura S1 - Correlações de Pearson entre 20 variáveis geoclimáticas em locais de estudo da ocorrência de *Toona ciliata* em território Australiano.

Fonte: do Autor (2023).



Figura S2 - Ajuste da distribuição logarítmica para 20 variáveis geoclimáticas em locais de estudo da presença (1) e ausência (0) de *Toona ciliata* em território Australiano.

## ARTIGO 2 - IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF MICROSATEL-LITES IN THE GENOME OF AUSTRALIAN RED CEDAR (Toona ciliata M. Roem)

Plant Biotechnology Reports Guidelines (PRELIMINARY VERSION)

Escrito conforme normas do periódico Plant Biotechnology Reports (VERSÃO PRELIMINAR)

#### Abstract

Toona ciliata M. Roem is one of most important species for timber production and has been increasingly planted around world in tropical and subtropical regions. Despite its high timber value and its ecological importance, the species lack genomics and genetics tools such as molecular markers. The recent publication of the genome sequences of *T. ciliata* opens new opportunities for the characterization variable genomic regions and for the development of molecular tools. Thus, this work aims to identify and characterize microsatellite regions in the genome of T. ciliata. The MISA (Microsatellite identification tool) software was used to identify microsatellite loci in the T. ciliata genome and then classify them according to type, motif size and number of repetitions, in addition to determining whether they were in tandem. Throughout T. ciliata scaffolds, 39,085 microsatellite regions were detected, with 32,3% being mononucleotides, 56,8% dinucleotides, 5% trinucleotides, 3% tetra-, penta- and hexanucleotides and 3% complex, i.e. a mixture of different motifs on the same locus. Around 30% of the total SSR sequences identified were from dinucleotides with 10 and 11 of tandem repeats and the most frequent type of motif was the mononucleotide AT/AT, accounting 42,8% of total motifs. In the future, primers flaking the longest di- and trinucleotide microsatellites will be tested in the lab for the development of new molecular markers for T. ciliata.

Keywords: Genome-wide identification. Meliaceae. SSR.

## 1. Introduction

The Toona (Endl.) M. Roem. genus, of the Meliaceae family, contains only six species commonly known as "Red Cedar (Lin et al., 2018). The species *Toona ciliata* M. Roem., known in Brazil as "Australian Cedar" has a natural occurrence in Australia (Edmonds, 1993). Trees of this species have relatively fast development, wood of high economic value and are ecologically important in the regions where they are native (Ferreira et al., 2012; Liu et al., 2014). Brazil has been standing out among the countries that introduced the species, due to its excellent development and adaptation. As a result, *T. ciliate* has been increasingly planted in the country (Nassur et al., 2013).

The introduction of *T. ciliata* in Brazil was mainly due to the versatile characteristics of its wood, known for its reddish tone, and that has been used for the construction of houses and ships, and for other specific markets of high value, such as furniture, musical instruments, decoration utensils and several other uses (Lemmens, 2008; Santos et al., 2021). Additionally, parts of the tree, such as bark and leaves, can be used in traditional medicine (Chowdhury et al., 2003; Lemmens, 2008; Gautam et al., 2010).

To access the genetic variability, molecular markers can be used to assess genomic variation between and within species. Currently, cost reduction and increased yield in next-generation sequencing technologies (NGS) have promoted the development of several molecular markers, in addition to sequencing-based genotyping methods. One of the most used molecular markers today for population genetic analysis are microsatellite markers, also known as simple repeated sequences (or SSRs).

The great utility of SSR markers is due to their abundance in the genome, high rates of polymorphism, multiallelism, co-dominant inheritance, ease of use, moderate cost and modest DNA quality requirements (Vieira et al., 2016; Babu et al., 2019). As they are composed of repeated sequences in tandem, the occurrence of unequal base pairings is very common, which can lead to errors during replication or recombination at these loci, causing their multiallelism and high polymorphism rate. (Ellegren, 2004; Piquemal et al., 2005; Vieira et al., 2016). Another advantage of microsatellites, in relation to other types of molecular markers, is that they can be transferable among laboratories and even to other phylogenetically close species. This is due to the high conservation of the sequences that flank the tandem repeats at the species level and even between species (Kuleung et al., 2004; Saha et al., 2004; Fan et al., 2013; Medeiros et al., 2021; Shekhar et al., 2021; Geetha and Siril, 2022).

Traditionally, the development of SSR markers required a small genomic library, that was then hybridized with SSR oligonucleotides to sequence clones that were showed hybridization signal. This is quite time consuming, expensive, and labor intensive. Alternatively, SSRs can be identified in sequence databases and used for SSR marker development. Currently, with the rapid increase in the volume of sequences of various species in public databases, it is now easier to identify large numbers of SSRs *in silico* (Yi et al., 2006).

The genetic variability of *Toona ciliata* Roem. var. pubescens has been investigated mostly in populations from the China (Liu et al., 2012, 2014, 2019; Zhan et al., 2016, 2019; Yang et al., 2020; Zhou et al., 2020). These studies were conducted with the only 29 SSR markers developed for the *Toona* genus so far. We have tested these loci *Toona ciliata var. australis* but observed that only seven loci had stable PCR amplification and repeatability. These seven SSR were tested with fluorescent primers in capillary electrophoresis, but no polymorphism was detected preventing characterization of the genetic diversity and structure in Australian populations of *T. ciliata*. Therefore, there is a need for the development of more SSR markers for the species. Given the ecological relevance and value of *T. ciliata* wood, it is very important to know its diversity and the genetic structure of its remaining populations. The existence of genomic sequences for the Australian Cedar (Wang et al., 2022) greatly facilitates the discovery of microsatellite loci and the development of SSR markers to access the genetic variability. Even though the genome has been published, no characterization of SSR loci in the genome of this species has been undertaken. Therefore, the objectives of this work were to identify and characterize the microsatellite loci in the genome of *T. ciliata*.

## 2. Material and Methods

To identify the microsatellite regions in the *T. ciliata* genome, sequencing data available at the Sequence Read Archive (SRA) of the NCBI (National Center for Biotechnology Information) and deposited by BGI Genomics (BioProject: PRJNA438407 and SRA: SRS3260428) were used. Sequences comprised of 306.4 million paired end reads of 2x100bp, totaling 60.9 Gb or 117 × the genome size of the species (Wang et al., 2022). Trimmomatic (Bolger et al., 2014) was used to remove Illumina adaptors and to trim low quality sequences with SLID-INGWINDOW:4:15. The sequencing data were assembled into contigs with Megahit (Li et al., 2015). The contigs obtained from the assembly were submitted to the Pearl MIcroSAtellite (MISA) script (Beier et al., 2017) for the microsatellites identification. Microsatellites with a minimum of 15 repeats for mononucleotides, 10 repeats for di and trinucleotides and seven repeats for tetra-, penta- and hexanucleotides were identified. Microsatellites within 100 base pairs from each other were classified by MISA as being a single composite locus. The microsatellites identified were subsequently classified according to type, motif size and number of repetitions. The classification of these features in the set of identified microsatellites was determined using the R software (R Core Team, 2019).

## 3. Results and discussion

Our draft genome assembly of *T. ciliata* had a total length of 527 Mb, which is very close to the 520 Mb observed in a recently published chromosome level assembly of the species (Wang et al., 2022). However, our assembly was highly fragmented into 182,855 contigs (with >500 bp) with N50 of 8,173 bp. Nevertheless, the sequences are useful for microsatellite identification as 60.8% (320.8 Mb) and 45.1% (238.2 Mb) of the assembly are in contigs of at least 5 and 10 Kb, respectively. These sequences should be long enough to not only allow identification of microsatellite but also to design PCR primers in most of their flanking sequences.

Using the MISA script, 39085 microsatellite regions were identified in the genome of *T. ciliata* (Table 1). Of the scaffolds with microsatellites, 95.8% had only one positive locus. Only 1192 (3%) of the of microsatellites were classified as complex (Table 2). Microsatellite repeat units typically vary from one to six bases (Guichoux et al., 2011). In this study, SSR dinucleotides were the most abundant, comprising 56.8% of the identified loci, followed by mononucleotides (32.3%), trinucleotides (5.4%) and compounds (3%). Tetranucleotides, pentanucleotides and hexanucleotides accounted for 3.1% of the total SSR found (Table 2).

Table 1. Information of SSR identificat	tion on the <i>Toona ciliata</i> genor	ne
---	--	----

Parameter	Value
Genome size (pb)	527,537,615
Total number of contigs examined	182,855
Total number of identified SSRs:	39,085
Number of SSR containing sequences:	24,264
Number of sequences containing more than 1 SSR:	7,652
Number of SSRs present in complex formation	1,192

Shi et al. (2014) found 90% of SSR sequences among mono-, di-, tri- and tetranucleotides in *Brassica rapa*, *Brassica oleracea* and *Brassica napus*, while Wang et al. (2018) obtained mono-, di- and trinucleotide repeats accounting for >98% of SSR sequences in *Nicotiana* ssp. In *Eucalyptus* species, in general, di- and trinucleotides are the most abundant, corresponding to more than 60% of the SSR loci (Rabello et al., 2005; Sumathi and Yasodha, 2014). In general, the prevalent type of SSR loci in plant genomes depend on the evolutionary history of the species (Cai et al., 2019). For example, species with a large number of short repeat-type SSR loci generally exhibit a higher genomic mutation rate (Xiao et al., 2015).

Type of SSR	Number of SSRs	Percent
Mononucleotides	13,001	32.3%
dinucleotides	22,896	56.8%
Trinonucleotides	2,007	5.0%
Tetranucleotides	953	2.4%
Pentanucleotides	111	0.3%
hexanucleotides	117	0.3%
Complex	1,192	3.0%
Total	40277	100%

Table 2. Type and number information of SSR loci located on the Toona ciliata genome.

In general, the greater the number of tandem repetitions, the lower the frequency for all categories of SSRs (Temnykh et al., 2001). Here, a smaller range of variation was also noted in the number of repeats in tandem in function to increase of the SSR motif size. (Figure 1). In mononucleotides SSRs between 14 and 39 tandem repeats have been found. Dinucleotides ranged from 10 to 28, trinucleotides between 10 and 26 and tetra-, penta- and exanucleotides between 7 and 14 (Figure 1). Around 30% of the total SSR sequences identified were from dinucleotides with 10 and 11 of tandem repeats (Figures 1 and 2). These results are expected because longer SSRs are more difficult to evolve as they require more mutational steps and, therefore, are less likely to occur. It should be noted that microsatellites with a higher number of repeats in the progenitor allele and the mutation rate and therefore preferred as molecular markers (Vigouroux et al., 2002; Ellegren, 2004; Petit et al., 2005).



Figure 1. Distribution of the frequency of microsatellites identified in the genome of *T. ciliata* in relation to the type of loci and number of tandem repeats.



Figure 2. Number of individual microsatellites identified in the genome of *T. ciliata* classified by type of loci and number of tandem repeats.

The most frequent type of motif of *T. ciliata* was the dinucleotide AT/AT, corresponding to 42.8%, followed by the mononucleotide A/T (32.4%), and the dinucleotides AG/CT (9.3%) and AC/GT (6.4%), totaling 91% of all microsatellites found (Table 3). Generally, in dicots, A/T mononucleotide motifs are the most abundant microsatellite (Li et al., 2019; Kalia et al., 2020), such as for *Eucalyptus* ssp. (Rabello et al., 2005). The most common dinucleotides in plant genetic studies are those composed of AG/CT (Lagercrantz et al., 1993; Sumathi and Yasodha, 2014; Cai et al., 2019). However, in several species, for example in *Prunus persica*, *Fragaria xananassa*, *Prunus mume* and *Nicotiana* spp., AT/AT dinucleotides are the most frequent (Xiao et al., 2015; Wang et al., 2018), as observed in this study.

In this study, the trimer AAT/AAT motif was the most abundant among the trinucleotide loci, with 4.2% of total microsatellites. The trimer AAT/AAT is also predominant trinucleotide in Ziziphus jujuba, *Vitis* spp, and *Morus* spp.; CCG/GGC in *Eucalyptus* spp., *Sorghum bicolor*, *Oryza sativa and Zea mays*; AAG/CTT in *Fragaria xananassa*; AAC/GTT and AAG/CTT in *Malus domestica*; and AAT/ATT and AAG/CTT in *Pyrus* spp., *Prunus persica*, and *Prunus mume (Zhao and Kochert, 1993; Sonah et al., 2011; Shi et al., 2013, 2014; Sumathi and Yasodha, 2014; Xiao et al., 2015)*. These differences occur due to variation in GC content and distribution of microsatellite classes between organisms and regions of the genome (Tóth et al., 2000; Zhao et al., 2014).

In monocotyledons, CCG/CGG is the primary trinucleotide repeat motif, but this motif is very rare in dicots (Kantety et al., 2002; Sonah et al., 2011; Xiao et al., 2015). It is possible that trinucleotide repeats have a high GC content in monocots (Schlotterer, 2000; Kantety et al., 2002; Lee et al., 2006; Sonah et al., 2011). Among other lines of study, the most discussed is that the monocots species had more chromosomal duplications and these duplications increased the GC-rich regions. The duplicated regions are thought to have different selection pressures than other regions, which may be a reason for motif preference and frequency in monocots and dicots (Sonah et al., 2011).

In general, plant motifs are AT-rich, especially for tetra-, penta- and hexanucleotides (Tóth et al., 2000; Cardle et al., 2000). In this study, tetra-, penta- and hexamer motif show tetranucleotides also shows high levels of AT nucleotides. In tetranucleotides loci ACAT/ATGT represents 1,3% of total motifs, each one pentanucleotides motifs AAAAT/ATTTT and AACCT/AGGTT correspond for 0.06% for total, while among hexanucleotide, the motif ACATAT/ATATGT was the major representant, corresponding for 0.06% total found motifs.
AAAT, AAAAT, AAAAT are the dominant tetra-, penta- and hexanucleotide, respectively, motifs in dicots and (Shi et al., 2013). That is, the predominant motifs in *T. ciliata* for these categories of SSR are different from most plant species.

Shi et al. (2013) examining microsatelite regions in 40 species, found two wide groups that were largely represented by monocots and dicots, suggesting a complex and generally dichotomous evolutionary pattern of microsatellite distribution in angiosperms. Nonetheless, several microsatellite characteristics seemed to be constant in plant evolution, which can be explained by general biological rules, as observed for *T. ciliata*. On the other hand, there are differences in the SSRs of *T. ciliata* compared to several other angiosperms, such as the most abundant motifs and number of tandem repetitions.

## 4. Conclusions

In addition to the importance of the identification and characterization of the microsatellites regions in the genome, the development of microsatellites (SSR) markers is also very important, especially given the limited number of SSR markers for *T. ciliata*. This study enables great opportunities for the identification of microsatellites in the genome of *T. ciliata* and the next steps should be to select di and trinucleotide motifs microsatellites with long repeats to design primers for PCR amplification and genotyping of these loci. The existence of polymorphic and reliable SSR markers for *T. ciliata* is crucial for genetics studies of either natural and breeding populations of this species.

A new Chromosome-Level Genome Assembly of *T. ciliata* (Citar) became available when we had already performed this study. Nevertheless, given the higher quality of this published genome assembly, it should improve the identification and characterization of microsatellites in *T. ciliata*. In the future, we will redo the microsatellite identification in the chromosome-level genome assembly and compare it with our results, in addition to develop a new set of SSR markers for the public community.

Motif										Repea	ts										- Total
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	>25	
A/T	2	-	-	-	-	-	-	-	3526	2748	1906	1262	900	638	427	293	226	151	128	473	12680
C/G	-	-	-	-	-	-	-	-	68	47	35	33	29	29	10	18	11	10	7	26	323
AC/GT	4	-	-	700	508	339	224	181	125	80	73	52	40	37	28	22	14	15	15	70	2527
AG/CT	3	-	-	798	556	358	317	262	205	219	142	136	104	96	83	66	55	32	41	166	3639
AT/AT	1	-	-	8603	4618	2106	796	329	140	72	33	19	7	3	3	2	1	-	-	1	16734
CG/CG	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
AAC/GTT	-	-	-	10	9	10	3	9	3	3	4	1	2	4	2	2	-	-	1	2	65
AAG/CTT	-	-	-	70	44	16	17	17	4	3	4	3		3	3	5	2	1	2	1	195
AAT/ATT	-	-	-	442	321	254	145	143	114	92	52	39	21	16	11	13	6	3	4	3	1679
ACC/GGT	-	-	-	2	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
ACG/CGT	-	-	-	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
ACT/AGT	-	-	-	3	3	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
AGC/CTG	-	-	-	6		2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
AGG/CCT	-	-	-	1	3	1		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
ATC/ATG	-	-	-	8	11	3	1	1	1	-	-	2	-	-	3	1	-	1	-	-	32
Others	487	254	135	76	63	41	33	31	10	11	10	7	8	5	4	5	1	0	0	-	1180
Total	497	254	135	10723	6140	3131	1541	975	4197	3276	2259	1554	1112	831	574	427	316	213	198	742	39084

Table 3. Details of SSR repeat motifs in the genome of *Toona ciliata*. The table represents the number of SSRs identified for each category of repeat motif.

## References

- Babu, B.K., K.L.M. Rani, S. Sahu, R.K. Mathur, P. Naveen Kumar, et al. 2019. Development and validation of whole genome-wide and genic microsatellite markers in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.): First microsatellite database (OpSatdb). Sci. Reports 2019 91 9(1): 1–9. doi: 10.1038/s41598-018-37737-7.
- Beier, S., T. Thiel, T. Münch, U. Scholz, and M. Mascher. 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction. Bioinformatics 33(16): 2583–2585. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTX198.
- Bolger, A.M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30(15): 2114. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTU170.
- Cai, K., L. Zhu, K. Zhang, L. Li, Z. Zhao, et al. 2019. Development and characterization of EST-SSR markers from RNA-Seq data in phyllostachys violascens. Front. Plant Sci. 10: 50. doi: 10.3389/FPLS.2019.00050/BIBTEX.
- Cardle, L., L. Ramsay, D. Milbourne, M. Macaulay, D. Marshall, et al. 2000. Computational and Experimental Characterization of Physically Clustered Simple Sequence Repeats in Plants. Genetics 156(2): 847–854. doi: 10.1093/GENETICS/156.2.847.
- Chowdhury, R., C.M. Hasan, and M.A. Rashid. 2003. Antimicrobial activity of Toona ciliata and Amoora rohituka. Fitoterapia 74(1–2): 155–158. doi: 10.1016/S0367-326X(02)00322-2.
- Edmonds, J.M. 1993. The potential value of Toona species (Meliaceae) as multipurpose and plantation trees in Southeast Asia. Commonw. For. Rev. 72(3): 181–186. https://www.jstor.org/stable/pdf/42616713.pdf (accessed 21 January 2019).
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nat. Rev. Genet. 2004 56 5(6): 435–445. doi: 10.1038/nrg1348.
- Fan, L., M.Y. Zhang, Q.Z. Liu, L.T. Li, Y. Song, et al. 2013. Transferability of Newly Developed Pear SSR Markers to Other Rosaceae Species. Plant Mol. Biol. Report. 31(6): 1271–1282. doi: 10.1007/S11105-013-0586-Z/FIGURES/4.
- Ferreira, R.T., A.P. Viana, D.G. Barroso, M.D.V. de Resende, and A.T. do Amaral Júnior. 2012. Toona ciliata genotype selection with the use of individual BLUP with repeated measures. Sci. Agric. 69(3): 210–216. doi: 10.1590/S0103-90162012000300006.
- Gautam, A., D. Jhade, D. Ahirwar, M. Sujane, and G.N. Sharma. 2010. Pharmacognostic evaluation of toona ciliata bark. J. Adv. Pharm. Technol. Res. 1(2): 216–20. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22247848 (accessed 30 January 2019).
- Geetha, C.M., and E.A. Siril. 2022. Cross-species transferability of genomic SSR markers and genetic diversity among Asparagus racemosus Willd. Accessions. Plant Gene 31: 100361. doi: 10.1016/J.PLGENE.2022.100361.
- Guichoux, E., L. Lagache, S. Wagner, P. Chaumeil, P. Léger, et al. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. Mol. Ecol. Resour. 11(4): 591–611. doi: 10.1111/J.1755-0998.2011.03014.X.
- Kalia, R.K., S. Chhajer, and R. Pathak. 2020. Cross genera transferability of microsatellite markers from other members of family Bignoniaceae to Tecomella undulata (Sm.) Seem. Acta Physiol. Plant. 42(9): 1–14. doi: 10.1007/S11738-020-03138-5/TABLES/7.
- Kantety, R. V., M. La Rota, D.E. Matthews, and M.E. Sorrells. 2002. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat. Plant Mol. Biol. 2002 485 48(5): 501–510. doi: 10.1023/A:1014875206165.

- Kuleung, C., P.S. Baenziger, and I. Dweikat. 2004. Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. Theor. Appl. Genet. 108(6): 1147–1150. doi: 10.1007/S00122-003-1532-5/TABLES/1.
- Lagercrantz, U., H. Ellegren, and L. Andersson. 1993. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. Nucleic Acids Res. 21(5): 1111–1115. doi: 10.1093/NAR/21.5.1111.
- Lee, S.B., C. Kaittanis, R.K. Jansen, J.B. Hostetler, L.J. Tallon, et al. 2006. The complete chloroplast genome sequence of Gossypium hirsutum: Organization and phylogenetic relationships to other angiosperms. BMC Genomics 7(1): 1–12. doi: 10.1186/1471-2164-7-61/FIGURES/3.
- Lemmens, R.H.M.J. 2008. Toona ciliata M.Roem. PROTA Plant Resour. Trop. Africa 7(1): <a href="http://www.prota4u.org/search.asp">http://www.prota4u.org/search.asp</a>>.
- Li, D., C.M. Liu, R. Luo, K. Sadakane, and T.W. Lam. 2015. MEGAHIT: an ultra-fast singlenode solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. Bioinformatics 31(10): 1674–1676. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTV033.
- Li, G. qi, L. xiao Song, C. qing Jin, M. Li, S. pei Gong, et al. 2019. Genome survey and SSR analysis of Apocynum venetum. Biosci. Rep. 39(6). doi: 10.1042/BSR20190146/219225.
- Lin, N., M.J. Moore, T. Deng, H. Sun, L. Yang, et al. 2018. Complete plastome sequencing from *Toona* (Meliaceae) and phylogenomic analyses within Sapindales. Appl. Plant Sci. 6(4): e1040. doi: 10.1002/aps3.1040.
- Liu, J., Y.T. Chen, and J.M. Jiang. 2019. Study on Population Genetic Structure in Toona ciliata var.pubescens with SSR. For. Res. 22(1): 37–41. http://lykxyj.xml-journal.net/en/article/id/20090107 (accessed 3 December 2022).
- Liu, J., J. Jiang, and Y. Chen. 2014. Genetic diversity of central and peripheral populations of Toona ciliata var. pubescens, an endangered tree species endemic to China. Genet. Mol. Res. 13(2): 4579–4590. doi: 10.4238/2014.June.17.10.
- Liu, J., Z.X. Sun, Y.T. Chen, and J.M. Jiang. 2012. Isolation and characterization of microsatellite loci from an endangered tree species, Toona ciliata var. pubescens. Genet. Mol. Res. 11(4): 4411–4417. doi: 10.4238/2012.SEPTEMBER.19.4.
- Medeiros, F.L.B., C.A.F. Santos, and A.E.S. Costa. 2021. In silico microsatellite transferability from Psidium guajava to Eucalyptus globulus validated by PCR. Genet. Mol. Res. 20(4). doi: 10.4238/GMR18985.
- Nassur, O.A.C., L.R. Rosado, S.C. da S. Rosado, and P.M. Carvalho. 2013. VARIAÇÕES NA QUALIDADE DE TORAS DEToona ciliataM. Roem. COM DEZOITO ANOS DE IDADE. CERNE 19(1): 43–49. https://www.redalyc.org/html/744/74425783006/ (accessed 29 January 2019).
- Petit, R.J., M.F. Deguilloux, J. Chat, D. Grivet, P. Garnier-Géré, et al. 2005. Standardizing for microsatellite length in comparisons of genetic diversity. Mol. Ecol. 14(3): 885–890. doi: 10.1111/J.1365-294X.2005.02446.X.
- Piquemal, J., E. Cinquin, F. Couton, C. Rondeau, E. Seignoret, et al. 2005. Construction of an oilseed rape (Brassica napus L.) genetic map with SSR markers. Theor. Appl. Genet. 111(8): 1514–1523. doi: 10.1007/S00122-005-0080-6/FIGURES/4.
- R Core Team, D. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Rabello, E., A.N. de Souza, D. Saito, and S.M. Tsai. 2005. In silico characterization of microsatellites in Eucalyptus spp.: abundance, length variation and transposon associations. Genet. Mol. Biol. 28(3 SUPPL.): 582–588. doi: 10.1590/S1415-47572005000400013.
- Saha, M.C., M.A.R. Mian, I. Eujayl, J.C. Zwonitzer, L. Wang, et al. 2004. Tall fescue EST-

SSR markers with transferability across several grass species. Theor. Appl. Genet. 109(4): 783–791. doi: 10.1007/S00122-004-1681-1/FIGURES/3.

- Santos, H.G., L. Rodrigues Rosado, S. Carlos da Silva Rosado, L. Amaral de Melo, and F. Maria Avelar Gonçalves. 2021. Parâmetros genéticos para caracteres silviculturais em cedro australiano Genetic parameters for silvicultural traits in cedro australiano. Sci. For. 49(130). doi: 10.18671/scifor.v49n130.05.
- Schlotterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. Chromosoma 109(6): 365–371. doi: 10.1007/S004120000089.
- Shekhar, C., A. Rawa, M. S. Bhandari, S. Barthwal, H. S. Ginwal, et al. 2021. Crosstransferability-based identification and validation of simple sequence repeat (SSR) markers in oaks of wes... . Silvae Genet. 70(1): 108–116. doi: 10.2478/sg-2021-0009.
- Shi, J., S. Huang, D. Fu, J. Yu, X. Wang, et al. 2013. Evolutionary Dynamics of Microsatellite Distribution in Plants: Insight from the Comparison of Sequenced Brassica, Arabidopsis and Other Angiosperm Species. PLoS One 8(3): e59988. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0059988.
- Shi, J., S. Huang, J. Zhan, J. Yu, X. Wang, et al. 2014. Genome-Wide Microsatellite Characterization and Marker Development in the Sequenced Brassica Crop Species. DNA Res. 21(1): 53–68. doi: 10.1093/DNARES/DST040.
- Sonah, H., R.K. Deshmukh, A. Sharma, V.P. Singh, D.K. Gupta, et al. 2011. Genome-Wide Distribution and Organization of Microsatellites in Plants: An Insight into Marker Development in Brachypodium. PLoS One 6(6): e21298. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0021298.
- Sumathi, M., and R. Yasodha. 2014. Microsatellite resources of eucalyptus: Current status and future perspectives. Bot. Stud. 55(1): 1–16. doi: 10.1186/S40529-014-0073-3/TABLES/6.
- Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, et al. 2001. Computational and Experimental Analysis of Microsatellites in Rice (Oryza sativa L.): Frequency, Length Variation, Transposon Associations, and Genetic Marker Potential. Genome Res. 11(8): 1441–1452. doi: 10.1101/GR.184001.
- Tóth, G., Z. Gáspári, and J. Jurka. 2000. Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. Genome Res. 10(7): 967–981. doi: 10.1101/GR.10.7.967.
- Vieira, M.L.C., L. Santini, A.L. Diniz, C. de F. Munhoz, M.L.C. Vieira, et al. 2016. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. Genet. Mol. Biol. 39(3): 312–328. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.
- Vigouroux, Y., J.S. Jaqueth, Y. Matsuoka, O.S. Smith, W.D. Beavis, et al. 2002. Rate and Pattern of Mutation at Microsatellite Loci in Maize. Mol. Biol. Evol. 19(8): 1251–1260. doi: 10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEV.A004186.
- Wang, X., Y. Xiao, Z.H. He, L.L. Li, H.Y. Song, et al. 2022. A Chromosome-Level Genome Assembly of Toona ciliata (Meliaceae). Genome Biol. Evol. 14(8). doi: 10.1093/GBE/EVAC121.
- Wang, X., S. Yang, Y. Chen, S. Zhang, Q. Zhao, et al. 2018. Comparative genome-wide characterization leading to simple sequence repeat marker development for Nicotiana. BMC Genomics 19(1): 1–12. doi: 10.1186/S12864-018-4878-4/FIGURES/5.
- Xiao, J., J. Zhao, M. Liu, P. Liu, L. Dai, et al. 2015. Genome-Wide Characterization of Simple Sequence Repeat (SSR) Loci in Chinese Jujube and Jujube SSR Primer Transferability. PLoS One 10(5): e0127812. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0127812.
- Yang, W., Y. Dan, and L. Xinzhi. 2020. Genetic Diversity of Toona ciliata Populations Based on SSR Markers. J. Resour. Ecol. 11(5): 466. doi: 10.5814/j.issn.1674-764x.2020.05.004.

- Yi, G., J.M. Lee, S. Lee, D. Choi, and B.D. Kim. 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. Theor. Appl. Genet. 114(1): 113–130. doi: 10.1007/S00122-006-0415-Y/TABLES/4.
- Zhan, X., P. Li, W. Hui, Y. Deng, S. Gan, et al. 2019. Genetic diversity and population structure of Toona ciliata revealed by simple sequence repeat markers. http://mc.manuscriptcentral.com/tbeq 33(1): 214–222. doi: 10.1080/13102818.2018.1561210.
- Zhan, X., H. Lu, S. Zhao, X. Chen, and X. Deng. 2016. Establishment and Primer Screening of SSR-PCR Reaction System for Toona ciliata. For. Sci. Res. 29(4): 565–570. http://lykxyj.xml-journal.net/en/article/id/20160414 (accessed 3 December 2022).
- Zhao, Z., C. Guo, S. Sutharzan, P. Li, C.S. Echt, et al. 2014. Genome-Wide analysis of tandem repeats in plants and green algae. G3 Genes, Genomes, Genet. 4(1): 67–78. doi: 10.1534/G3.113.008524/-/DC1.
- Zhao, X., and G. Kochert. 1993. Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)n microsatellite from rice (Oryza sativa L.). Plant Mol. Biol. 1993 214 21(4): 607–614. doi: 10.1007/BF00014544.
- Zhou, W., X.X. Zhang, Y. Ren, P. Li, X.Y. Chen, et al. 2020. Mating system and population structure in the natural distribution of Toona ciliata (Meliaceae) in South China. Sci. Reports 2020 101 10(1): 1–10. doi: 10.1038/s41598-020-74123-8.