

Marcio de Miranda Santos

Polimorfismo Isoenzimático de População
Subespontânea de Dendê (*Elaeis guineensis* Jacq)

do Estado da Bahia e sua Relação Genética
Com Seis Procedências Africanas

Ribeirão Preto

1991

Polimorfismo Isoenzimático
1991 TS-PP-1991.00052



CPAA-2913-1

1.00052

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

EMBRAPA - CPAA
Biblioteca

POLIMORFISMO ISOENZIMÁTICO DE POPULAÇÃO SUBESPONTÂNEA DE DENDÊ
(*Elaeis guineensis* JACQ.) DO ESTADO DA BAHIA E SUA RELAÇÃO GE
NÉTICA COM SEIS PROCEDÊNCIAS AFRICANAS

MARCIO DE MIRANDA SANTOS

T
04/91

EMBRAPA/DIE	
Valor Aquisição Cr\$
Nº N. Fiscal Fatura
Fornecedor	Autor
Nº Ordem Compra
Origem	Moacão
Nº de Tombo	52/91

TESE APRESENTADA À FACUL
DADE DE MEDICINA DE RIBEI
RÃO PRETO DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO, PARA A OB
TENÇÃO DO TÍTULO DE DOU
TOR EM GENÉTICA

ORIENTADOR: MOACYR ANTONIO MESTRINER

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A PESQUISA COM O DENDÊ NO MUNDO	2
1.2. A PESQUISA COM O DENDÊ NO BRASIL	4
1.3. TAXONOMIA	5
1.4. ASPECTOS GERAIS DO DENDÊ	6
1.5. ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO DENDÊ	8
1.6. O DENDÊ SUBESPONTÂNEO DO BRASIL	10
1.7. AS POPULAÇÕES AFRICANAS DE DENDÊ	11
1.7.1. Costa do Marfim	11
1.7.2. Angola	11
1.7.3. Zaire	14
1.7.4. Benin	14
1.7.5. Nigéria	14
1.7.6. Camarões	15
1.8. A ELETROFORESE DE ISOENZIMAS EM ESPÉCIES VEGETAIS	15
1.9. O INTERESE NOS ESTUDOS SOBRE A VARIABILIDADE DE ISOENZIMAS PRESENTES NO DENDÊ	18
1.10. ESTUDOS SOBRE A VARIABILIDADE DE ISOENZIMAS NO GÊNERO <i>Elaeis</i>	19
2. OBJETIVOS	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. COLETA DO MATERIAL EXPERIMENTAL	24
3.2. SOLUBILIZAÇÃO DE ENZIMAS	27
3.2.1. Pólen	27



3.2.2. Frondes	27
3.3. PREPARO DOS GÉIS	28
3.3.1. Gel de Amido	28
3.3.2. Gel de Poliacrilamida para Focalização Isoe <u>l</u> létrica	28
3.4. SISTEMAS DE MIGRAÇÃO	29
3.4.1. Eletroforese em Gel de Amido	29
3.4.2. Focalização Isoelétrica em Gel de Poliacri <u>l</u> lamida	29
3.5. MÉTODOS DE COLORAÇÃO	31
3.6. MÉTODOS DE ANÁLISE NÚMERICA	31
3.6.1. Tamanho da Amostra	31
3.6.2. Medição da Variabilidade Genética	33
3.6.2.1. Número de Locos Polimórficos	33
3.6.2.2. Número de Alelos (A) e Número de Alelos por Loco Polimórfico (AP)	33
3.6.2.3. Heterozigosidade Média Observada (H_o)	33
3.6.2.4. Freqüências Gênicas e Genotípicas	34
3.6.3. Teste de Aderência à Lei de Hardy-Weinberg	34
3.6.4. Cálculo do Coeficiente de Endocruzamento (F)	34
3.6.5. Análise de Distância Genética	34
3.6.6. Análise de Mistura Racial	36
4. RESULTADOS	38
4.1. ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA	38
4.2. ANÁLISE DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG	49
4.3. ANÁLISE DO COEFICIENTE DE ENDOCRUZAMENTO	49
4.4. ANÁLISE DE DISTÂNCIAS GENÉTICAS	51

4.5. ANÁLISE DE MISTURA RACIAL	54
4.6. ANÁLISE DE PADRÕES ENZIMÁTICOS OBTIDOS COM MATERIAL FOLIAR ADULTO	59
5. DISCUSSÃO	63
5.1. FENÓTIPOS E DETERMINAÇÃO GENOTÍPICA	63
5.1.1. Pólen	63
5.1.2. Fronde de Palmeiras Adultas	65
5.2. VARIABILIDADE GENÉTICA PRESENTE EM POPULAÇÃO DE DENDÊ SUBESPONTÂNEO DA BAHIA	67
5.3. ANÁLISE DE ADERÊNCIA A LEI DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG E DO COEFICIENTE DE CRUZAMENTO (F)	70
5.4. DISTÂNCIAS GENÉTICAS	72
5.5. ANÁLISE DE MISTURA RACIAL	75
6. CONCLUSÕES	80
7. RESUMO	82
8. SUMMARY	85
9. BIBLIOGRAFIA	88
10. ANEXOS	98

DEDICO esta tese à minha querida esposa
ISABEL e aos meus filhos PEDRO
AGOSTINHO, FRANCISCO e JOÃO CAR
LOS.

Este trabalho é também dedicado à memó
ria do Dr. ABÍLIO DE SOUZA MAIA pesqui
sador do CEPEC-CEPLAC, pioneiro no estu
do das populações subespontâneos de den
dê da Bahia.

AGRADECIMENTOS

Esta tese é resultante de esforços que se somaram durante as várias etapas da sua execução. Agradeço a DEUS a felicidade de ser instrumento deste processo, ao longo do qual fui beneficiário da ação desprendida de pessoas além de apoiado por várias instituições.

Primeiramente, devo agradecer à DIREÇÃO da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e ao DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E MATEMÁTICA APLICADA À BIOLOGIA da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, pela oportunidade deste treinamento. Sou muito grato pela permissão que me foi dada, pelo Dr. LUÍS ANTELMO MELO E SILVA, então chefe do CNPSD-EMBRAPA, para me candidatar ao doutoramento. Agradeço ainda a atual chefia do CENARGEN-EMBRAPA, na pessoa do Dr. EDUARDO VILELA MORALES, e demais colegas deste centro de pesquisa, pelo apoio e facilidades concedidas.

Dirijo-me com enorme gratidão ao meu orientador e amigo, Prof.Dr. MOACYR ANTONIO MESTRINER, repetindo o gesto de seus muitos ex-orientados que tiveram o privilégio de compartilhar da sua amizade e orientação. Tive de sua parte inúmeros exemplos gratificantes de conduta profissional e cidadania, responsáveis pelo ótimo ambiente de trabalho no laboratório e pelo alto nível da produção sob sua responsabilidade.

Com o mesmo sentimento me dirijo aos demais professores do Departamento de Genética e Matemática Aplicada à Biologia em especial aos docentes EUCLEIA PRIMO BETIOLI CONTEL e AGUIBALDO LUIS SIMÕES que, pelo convívio diário, muito contribuíram para a minha formação. Aos professores de outros departamentos da FMRP-USP agradeço pelos ensinamentos recebidos.

Agradeço a banca examinadora, composta pelos Drs(as) EUCLEIA PRIMO BETIOLI CONTEL, DALMO C. GIACOMETTI, PAULO SODERO MARTINS, PEDRO H. CABELLO, além do meu ORIENTADOR, pelas críticas e sugestões durante a cuidadosa revisão do manuscrito desta tese.

Esta tese não seria possível sem a ajuda dos estimados colegas Drs.EDSON BARCELOS e PHILIPPE AMBLARD, ambos pesquisadores do Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Ocidental-EMBRAPA, pelo cuidadoso trabalho de coleta, preparo e envio das amostras de pólen obtidas no Banco Ativo de Germoplasma de Dendê. Aos trabalhadores de campo que participaram desta etapa, meus sinceros agradecimentos.

Quero registrar aqui um especial agradecimento aos técnicos do Institut des Recherches pour les Huiles et Oleagineux

pela utilização dos dados referentes às procedências africanas analisadas além da pronta resposta às consultas realizadas.

Aos caros colegas pesquisadores do CEPEC-CEPLAC, Dr. JOSÉ ROBERTO VIEIRA DE MELO e Dr. JONAS DE SOUZA, agradeço o apoio durante as viagens realizadas para a coleta de germoplasma de dendê em populações subespontâneas da Bahia.

Devo muito da minha formação prática em laboratório aos ensinamentos que me foram transmitidos, pacientemente, pela Técnica Especializada ELISABETE M.S. BARRETO BEIRA. Aliás, a Bete ainda encontrou tempo para realizar o excelente trabalho de datilografia desta tese. Quero agradecer ainda aos demais Técnicos Especializados do laboratório de Genética Bioquímica, MENDELSON MAZUCATO, MENDERSON MAZUCATO, GENOVEVA V. AGUIAR, REGINA BENITEZ RAFAEL, CARLOS AUGUSTO COELHO C. ALMADA e PAULO GARCIA MACHADO, pela inestimável ajuda na execução dos experimentos.

O trabalho fotográfico desta tese foi realizado com grande dedicação e esmero pela Sra. MARIA HELENA MAMEDE DA COSTA.

Aos COLEGAS DE PÓS-GRADUAÇÃO no Laboratório de Genética Bioquímica agradeço pela cooperação profissional e pelos momentos agradáveis vividos.

Aos meus PARENTES e FAMILIARES agradeço pelo estímulo e pelo apoio aos nossos reclamos, quando já não parecia possível conciliar nossas demandas durante este período.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do dendê está em intensa expansão em regiões do trópico úmido. O consumo mundial de óleo de dendê cresceu de 5,94 milhões de toneladas em 82/83 para 9,09 milhões de toneladas em 88/89, a uma taxa anual de 7,35%, bem superior à da soja (1,87%), girassol (5,18%) e colza (6,35%). Mantendo-se este ritmo, em 10 anos o óleo de dendê passará a ocupar o primeiro lugar no mercado internacional de óleos vegetais (Folha de São Paulo, 1990).

Países em desenvolvimento do sudeste asiático, África e das Américas Central e do Sul elegeram o dendê como cultivo prioritário para programas de desenvolvimento rural. Fatores tais como, alta produtividade de óleo (médias de 5-6 toneladas de óleo por ha), emprego de uma família a cada 4 ha de plantação, alta competitividade no mercado internacional, adaptação ao clima tro

pical úmido e caráter perene, interessam tanto à implementação de programas governamentais de reforma agrária como a projetos da iniciativa privada.

A cultura do dendê constitui, também, atividade agro-industrial com fortes desdobramentos no desenvolvimento da indústria de beneficiamento primário da produção, além do fabrico de uma série de produtos como margarinas de mesa e industriais, sabões, sabonetes, cosméticos, velas. Dentre outros, destaca-se no Brasil o uso do óleo de dendê como lubrificante no processo de produção de aços finos.

A possibilidade técnica da substituição do diesel por óleos vegetais, confere dimensão estratégica a programas de fomento à eleicultura a nível governamental.

1.1. A PESQUISA COM O DENDÊ NO MUNDO

A expansão da área cultivada com o dendê requer o desenvolvimento de tecnologias que atendam às situações particulares de adaptação e aumento da produtividade. A maior parte dos países que investem na cultura do dendê possui centros de pesquisa modernos que contam com amplos recursos humanos e materiais.

Dinâmicos e avançados centros de pesquisa existem na Malásia, maior produtor mundial de óleo de dendê, Indonésia, Costa do Marfim, Nigéria, Costa Rica, Colômbia, Inglaterra e França. Nestes países, destacam-se o "Institut des Recherches pour

les Huiles et Oleagineux" - IRHO, da França, o "Palm Oil Research Institute of Malaysia" e o "Federal Land Development Authority", ambos órgãos da Malásia, em função da enorme tradição e volume de atividades em várias áreas de pesquisa básica e aplicada com o dendê.

A iniciativa privada participa intensamente dos esforços de pesquisa, financiando e executando, essencialmente, pesquisa tecnológica em alto nível.

O estágio atual de uso de tecnologia desenvolvida para a cultura do dendê implica na utilização exclusiva de sementes comerciais da variedade 'Tenera', produzidas por cruzamentos controlados de palmeiras das variedades 'Dura' e 'Pisífera' (cruzamentos D x P). Cada semente 'Tenera' custa US\$ 0.70 no mercado internacional. Plantios em escala semi-experimental têm sido recentemente implantados com mudas clonais, produzidas pela cultura de tecidos de palmeiras de alta produtividade. Experimentos de competição de clones de dendê revelaram materiais com produtividade de óleo 40% superiores aos controles sexuais (D x P) tradicionalmente utilizados.

Práticas culturais tais como, a recomendação de adubação por diagnose foliar, o uso de inseticidas biológicos, o controle integrado de pragas e o manejo de insetos polinizadores, estão amplamente difundidos em plantios comerciais de dendê.

A produção de híbridos interespecíficos entre *E. oleifera*, espécie que ocorre na América tropical, e *E. guineensis* possibilitará o desenvolvimento de cultivares que combinem porte

reduzido, alta qualidade de óleo e resistência a doenças potencialmente limitantes ao cultivo de híbridos D x P ou clones de *E. guineensis*.

1.2. A PESQUISA COM O DENDÊ NO BRASIL

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA criou, em 1980, o Programa Nacional de Pesquisa de Dendê - PNP de Dendê, atribuindo ao Centro Nacional de Pesquisa de Seringueira e Dendê - CNPSD (hoje Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental - CPAA) a função de execução e coordenação de pesquisa a nível nacional em várias áreas de pesquisa básica e aplicada (SANTOS *et al.*, 1984).

Além do CPAA, participam do PNP de Dendê o Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido - CPATU/EMBRAPA, o Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN, Brasília, DF, a Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Belém - UEPAE de Belém/EMBRAPA. O Centro de Pesquisa de Cacau CEPEC/CEPLAC, Itabuna, BA, conduz, tradicionalmente, programação de pesquisa com o dendê dentro de linha de diversificação de culturas para a região cacaueira. As mais antigas pesquisas com o dendê subespontâneo foram conduzidas por técnicos desse instituto.

Em 1981, a EMBRAPA deu início a implementação da Estação Experimental do Rio Urubú - EERU, pertencente ao então CNPSD, localizada a 140 km de Manaus, AM, que concentra as atividades

per ordem: Arecanae; **Ordem:** Arecales (= Principes); **Família:** Are caceae (= Palmae); **Sub-família:** Cocosoidae; **Gênero:** *Elaeis*; **Es** **pécie:** *Elaeis guineensis*, Jacq.

O gênero *Elaeis* (do grego *elaion* = óleo) foi estabelecido em 1763 por Nicholas Joseph Jacquin quando de seus estudos sobre palmeiras introduzidas na ilha de Martinica. O nome específico *E. guineensis* indica que Jacquin atribuiu sua origem à Costa da Guiné (HARTLEY, 1977). O gênero *Elaeis* se distribui na faixa equatorial do globo e compreende duas espécies bem definidas: *E. guineensis*, Jacq. e *E. oleifera* (H.B.K.) Cortés (anteriormente *Elaeis melanococoa*, Gaertner). Duas outras espécies, *E. madagascariensis*, Becc. e *E. odora*, Traill, são classificadas no mesmo gênero ainda que parem controvérsias quanto a estes taxa (HARTLEY, 1977).

1.4. ASPECTOS GERAIS DO DENDÊ

O dendê é uma palmeira de porte alto podendo atingir até 25 metros de altura quando adulta. Esta característica torna a colheita antieconômica após cerca de 25 anos de cultivo. Programas de melhoramento genético visam aliar alta produtividade e precocidade com crescimento reduzido.

O dendê é uma espécie monóica, ou seja, possui inflorescências unissexuais que são produzidas em ciclos alternados, de duração de 3-6 meses, em uma mesma planta (HARDON, 1969). Por esta razão o dendê é uma espécie que apresenta alogamia obrigato

ria.

A relação entre inflorescências masculinas e femininas, fator determinante da produtividade, é fortemente influenciada pelo regime pluviométrico. Déficits hídricos acentuados conduzem à produção de um excesso de inflorescências masculinas, limitando a exploração comercial do dendê à regiões do trópico úmido.

Palmeiras adultas produzem cerca de 10 cachos pesando de 20-30 kg com 2.000-2.500 frutos de 2,5 cm de comprimento e pesando de 5-20 g cada.

São conhecidas três variedades de dendê relacionadas com a espessura da casca da amêndoa: 'Dura' (D) com cerca 30-40% de casca no fruto; 'Tenera' (T) com 5-15% de casca e 'Pisífera' (P), variedade que não apresenta casca.

O controle genético destas variedades é determinado por um par de alelos apresentando ausência de dominância e foi estudado por BEIRNAERT e VANDERWEYEN no final da década de 30 (SPARNAAIJ, 1960 e HARDON, 1969). Nesta época os materiais comerciais eram constituídos de seleções dentro da variedade 'Dura'. Após a descoberta da herança da espessura da casca do fruto, deu-se início a programas de melhoramento voltados para a obtenção de híbridos F_1 intraespecíficos da variedade 'Tenera' procedimento utilizado até hoje na produção de sementes comerciais.

Assim, híbridos 'Tenera' (Dd) são comercialmente produzidos pelo cruzamento entre palmeiras dos tipos 'Dura' (DD) e 'Pisífera' (dd), este último sempre utilizado com progenitor ma

culino, uma vez que está quase sempre associado à esterilidade feminina (HARDON, 1969).

Gene controlador da espessura de casca numa foi encontrado na espécie *E. oleifera* onde os frutos são sempre do tipo 'Dura'.

1.5. ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO DENDÊ

O dendê é uma espécie tida como de origem africana ainda que isto seja objeto de discussão.

De acordo com ZEVEN, 1972, o dendê se originou na África, no final do Terciário, em pontes de terra que ligavam a África ao que é hoje a América do Sul. Este autor se fundamenta em achados de pólen fóssil, em sedimentos do mioceno do delta do Níger, idênticos aos do dendê. A tese deste autor é reforçada pelo fato do dendê não constar tanto de relatos dos primeiros exploradores das Américas como dos trabalhos de renomados botânicos nos trópicos americanos.

Os que advogam a tese de uma origem americana para o dendê (COOK, 1942 citado por ALVES e DEMATTE, 1987) e para as palmeiras em geral (MOORE e HULL, 1982) se baseiam no fato de que as espécies da sub-família Coccoideae são exclusivamente da América tropical, exceto algumas espécies dos gêneros *Elaeis* e *Jubaeopsis* que ocorrem na África, dentre as quais *E. guineensis*. *E. oleifera* e *E. odora* são espécies que só ocorrem na América.

Acredita-se, atualmente, que as palmeiras tenham se originado a oeste de Gondwana (em local que é hoje a América do Sul) no início do Cretáceo há 100 milhões de anos (MOORE e UHL, 1982). Provavelmente as palmeiras tenham se deslocado, juntamente com outras Monocotiledôneas, para o Norte e daí para o Leste e Oeste, acreditando-se, ainda, na possibilidade de uma terceira rota para o Sul.

Critérios atuais mostram que as palmeiras mais antigas são originárias da América do Sul, com gêneros correlatos no sudeste dos Estados Unidos, Europa e sudeste da Ásia (MOORE e UHL, 1982).

Elaeis oleifera e *Elaeis guineensis* se hibridizam facilmente (MEUNIER, 1975). A análise morfológica de híbridos interespecíficos mostram dominância de *E. oleifera* sobre *E. guineensis*, sugerindo ser *E. oleifera* espécie mais primitiva e *E. guineensis* derivada desta (CORLEY, 1982).

A hipótese de origens distintas para as duas espécies (*E. oleifera* e *E. guineensis*) se contrapõe às evidências citológicas que mostram grande homologia entre os genomas de ambas ($2n = 32$), o que permite pareamento cromossômico próximo do normal, apesar de fortes barreiras geográficas entre as espécies (YONG, 1982).

Extensas populações naturais ou semi-naturais de dendê se distribuem na costa ocidental africana, desde o Cabo Verde até Angola, e em países centro africanos como o Zaire (RAJANAIDU 1985).

As populações de dendê são formações compostas unicamente por esta espécie, característica da flora palmítica africana, já que palmeiras da América do Sul e Central formam, em geral, populações ricas em espécies, normalmente ocorrendo conjuntamente com Dicotiledôneas (ALVES e DEMATTE, 1987).

1.6. O DENDÊ SUBESPONTÂNEO DO BRASIL

Populações subespontâneas são empiricamente caracterizadas como aquelas que sofreram a interferência do homem e de animais nas condições naturais de germinação, desenvolvimento e vegetação (MELO, 1985). São encontradas ao longo da costa brasileira entre os estados do Ceará e do Rio de Janeiro. Acredita-se que as áreas hoje ocupadas com o dendê tenham sido antigas plantações de cana de açúcar, abandonadas pelos colonizadores da região depois que se tornaram inférteis (HARTLEY, 1977).

Maiores concentrações são verificadas no Recôncavo Baiano e nos tabuleiros costeiros entre os municípios baianos de Valença e Camamu, em área total estimada de 20.000 ha (MELO, 1985).

Estas populações apresentam diferenças em função da densidade de plantas, espaçamento irregular além de possuir constituição etária variável. A Figura 1 mostra uma vista de população subespontânea representativa dos tabuleiros costeiros enquanto que a Figura 2 mostra plantio na EERU de material oriundo desta área.

As palmeiras das populações subespontâneas são essencialmente do tipo Dura podendo-se encontrar algumas do tipo 'Tenera', vulgarmente conhecida como "caroço mole", e, raramente, do tipo 'Pisífera'.

1.7. AS POPULAÇÕES AFRICANAS DE DENDÊ

As procedências africanas consideradas neste trabalho podem ser genericamente caracterizadas como se segue:

1.7.1. Costa do Marfim

Composta de duas populações a saber: **YOCOBUE** - identificada em prospecção realizada em 1968 em palmeirais espontâneos no litoral a oeste de Bandama (MEUNIER, 1969). **LA MÉ** - Composta por palmeiras originárias da fecundação livre de 3 palmeiras BRT10, B212 e TS3. B212 e TS3 são oriundas de material selecionado pelo serviço de agricultura em palmeiral espontâneo do jardim de Bengerville, Costa do Marfim. Suas progênes são estudadas desde 1925 pela estação de La Mé do IRHO. BRT10 é originária de uma plantação selecionada por M. Bret em 1917. Palmeiras famosas como L2T, L7T e L10T, foram selecionadas em progênes de fecundação livre da BRT10 (GHESQUIÈRE, 1983).

1.7.2. Angola

Este germoplasma é originário de duas populações naturais denominadas Salazar e Novo Redondo. A característica princi



Figura 1. Vista parcial de população de dende subespontâneo dos tabuleiros costeiros do litoral do estado da Bahia. Fazenda do Dr. Jacy Coutinho na estrada que liga Valença a Taperoá.



Figura 2. Vista panorâmica de coleção de germoplasma de dendê na Estação Experimental do Rio Urubú do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia da EMBRAPA. (Área total 3.000 ha - área plantada \pm 400 ha).

pal deste material é o alto peso dos cachos. Por esta razão, este germoplasma entra nos programas de melhoramento como progenitor feminino da mesma forma que o material 'Deli Dura' da Malásia (GHESQUIÈRE, 1983).

1.7.3. Zaire

Trata-se de germoplasma melhorado por 3 ou 4 ciclos após sua coleta em palmeirais naturais.

Duas linhagens principais compõem este material: Yangambi (Zaire) e Sibiti (Congo), nome de duas estações de pesquisa de onde o germoplasma melhorado utilizado se originou.

As palmeiras originárias de Yangambi são conhecidas pelos altos valores observados para peso de fruto e percentagem de polpa no fruto (GHESQUIÈRE, 1983).

1.7.4. Benin

As progênes analisadas são descendentes de 38 palmeiras 'Tenera' amostradas em 1927 em palmeirais naturais das regiões de Porto Novo e Pobé. Material de origem Pobé se caracteriza por apresentar altas percentagens de amêndoas no fruto e altos valores para número e peso total de cachos (GASCON e de BERCHOUX, 1964).

1.7.5. Nigéria

O material analisado é originário do programa de me

lhoramento realizado pelo Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR) da Nigéria, introduzido no IRHO (Costa do Marfim) entre 1960 e 1963. A coleta de germoplasma em população natural na localidade de Calabar deu origem aos cruzamentos D x P plantados e testados pelo NIFOR. Destes cruzamentos foi selecionado o material enviado para o IRHO. Novos cruzamentos foram feitos dando origem às progênes de onde foram selecionadas as plantas estudadas neste trabalho (ROSENQUIST, 1985).

1.7.6. Camarões

As palmeiras estudadas desta origem são, de uma parte, descendentes de progênes de polinização aberta existente na estação da Lobé - Camarões e, de outra parte, oriundas diretamente de palmeirais naturais. Palmeiras de Lobé apresentam em geral, baixa produção de cachos e baixa percentagem de óleo no cacho mas são palmeiras pequenas e compactas (ROSENQUIST, 1985).

1.8. A ELETROFORESE DE ISOENZIMAS EM ESPÉCIES VEGETAIS

A eletroforese de isoenzimas aparece, atualmente, como uma das metodologias mais utilizadas no exame da variabilidade genética em uma dada espécie.

De acordo com MOORE e COLLINS (1983), várias razões contribuíram para isto podendo ser destacadas as seguintes: Aloenzimas são codominantes para a maioria dos locos, permitindo a distinção entre homozigotos e heterozigotos. Isoenzimas raramen

te apresentam interações epistáticas. Os equipamentos e materiais necessários são relativamente baratos e permitem que várias plantas sejam examinadas rapidamente. O processo é, na maior parte dos casos, não destrutivo uma vez que pequenas porções de um determinado tecido são utilizadas; métodos de análise de plântulas permitem a seleção de genótipos desejáveis na fase juvenil. Isto pode ser de grande importância em programas de melhoramento de plantas perenes.

Virtualmente, qualquer tecido pode ser utilizado tornando a técnica extremamente versátil. Isto possibilita o emprego de isoenzimas em estudos sobre a regulação gênica durante o desenvolvimento. Neste particular, FREELING (1983) apresenta várias abordagens e exemplos de genes que codificam isoenzimas em sistemas geneticamente regulados.

Fenótipos distintos de um mesmo indivíduo são obtidos em tecidos diferentes, seja por modificações epigenéticas do produto primário do gene em questão ou devido a sistema de regulação genética controlando a expressão de isoenzimas codificadas por um ou mais locos. Isoenzimas desempenham funções metabólicas específicas de acordo com as demandas de cada tecido. Este tema específico foi revisto e discutido por SCANDALIOS (1974), SCANDALIOS e BAUM (1982), FINNERTY e JOHNSON (1979), WOLD (1981) e CHANDLEE e SCANDALIOS (1987) sobre regulação genética em plantas.

Trabalhos pioneiros como os de SMITHIES (1955), desenvolveram técnicas de coloração de isoenzimas em gel de amido, MARKERT e MOELLER (1959) utilizando o termo isoenzima para definir as múltiplas formas moleculares para uma dada enzima e McCUNE

(1961) um dos primeiros a estudar isoenzimas em espécie vegetal (milho), forneceram bases para a enorme diversidade de aplicações desta técnica nos últimos 30 anos.

TANKSLEY e ORTON (1983) editaram extensa revisão sobre o emprego de isoenzimas no melhoramento genético vegetal, compreendendo os seguintes itens: estudos sobre regulação genética durante o desenvolvimento; dosagem genética; mapeamento genético; herança citoplasmática; evolução; medição da variabilidade genética em populações naturais ou de melhoramento; detecção e quantificação da seleção natural; filogenia e sistemática e estimativa de sistemas reprodutivos.

A literatura útil inclui, também, a já clássica revisão de SHAW e PRASAD (1970) sobre métodos de migração e coloração, além dos trabalhos de SIMPSON e WHITHERS (1986) e KEPHART (1990) que permitem o acesso a grande número de trabalhos nas mais diversas áreas de aplicação da análise de isoenzimas.

HAMRICK e GODT (1990) revisaram a literatura sobre a genética de isoenzimas em vegetais de 1968 a 1988. Dados sobre a variação dentro e entre populações e os padrões de variação a nível de espécies são apresentados. Estes autores agruparam as espécies vegetais de acordo com 8 critérios, a saber: posição taxonômica, distribuição geográfica, amplitude de variação geográfica, ciclo de vida, reprodução (sexual, sexual-assexual), sistema de reprodução, mecanismo de produção de sementes e intervalo entre gerações. Os dados compilados por estes dois autores mostram que, em média, 50% dos locos de espécies vegetais são polimórficos e que a heterozigosidade média é igual a 0,15. A nível de

uma dada população, em média, 34% dos locos são polimórficos e a heterozigosidade média igual a 0,11. Para os locos polimórficos, 78% da variabilidade genética se distribui dentro de populações, restando os outros 22% para diferenças entre populações.

1.9. O INTERESSE NOS ESTUDOS SOBRE A VARIABILIDADE DE ISOENZIMAS PRESENTES NO DENDÊ

O programa de melhoramento genético do dendê adotado pela EMBRAPA é muito semelhante aquele praticado pelo IRHO.

Trata-se, na essência, de um programa de seleção recorrente recíproca adaptado para as particularidades do dendê (MEUNIER e GASCON, 1972). Este método busca identificar as melhores combinações híbridas intraespecíficas entre materiais genéticos distintos, explorando a capacidade geral e específica de combinação e propõe esquema de reprodução em grande escala das melhores combinações testadas (GASCON *et al.*, 1981).

No esquema de melhoramento proposto, as diferentes procedências de onde são escolhidas as palmeiras dos tipos 'Dura', 'Tenera' ou 'Pisífera', são mantidas isoladas durante o passo de recombinação de forma a manter e melhorar os caracteres que lhes são particulares.

Tradicionalmente, foram conduzidos cruzamentos do tipo D x T ou D x P entre 'Duras' de procedências asiáticas ('Deli Dura', por exemplo) com 'Teneras' ou 'Pisíferas' de procedências

africanas (Costa do Marfim, Zaire). Após testes de campo que duram cerca de 10 anos, as melhores palmeiras 'Dura' são cruzadas entre si, por procedência, de forma a se constituir um novo ciclo de seleção. Da mesma forma, as melhores palmeiras 'Tenera' ou 'Pisífera' são recombinadas, também dentro de cada procedência, dando origem às linhagens T x T ou T x P de um novo ciclo de seleção.

Os assim chamados cruzamentos Ásia x África podem ser substituídos por cruzamentos África x África desde que sejam utilizadas procedências geneticamente distintas. Assim, o grau de variabilidade dentro e entre procedências africanas e como estas estão geneticamente relacionadas são informações fundamentais para o melhoramento da espécie.

Os estudos sobre a eletroforese de isoenzimas foram idealizados de forma a proporcionar estas informações, complementando aquelas obtidas da genética quantitativa.

1.10. ESTUDOS SOBRE A VARIABILIDADE DE ISOENZIMAS NO GÊNERO *Elaeis*

Um dos problemas mais interessantes nos trabalhos com o dendê e que está diretamente relacionado com a condução de um programa de melhoramento genético nesta espécie, diz respeito à impossibilidade de se reconhecer precocemente, as diferentes variedades de *E. guineensis*. RAJANAIDU e WILLIAMS (1977) deram os primeiros passos no sentido de apontar os caminhos para ultrapassar esta dificuldade ao analisar padrões de proteína total de extratos de sementes das três variedades de *E. guineensis*, de *E.*

oleifera e do híbrido entre as duas espécies.

Os resultados não foram conclusivos na diferenciação das variedades de *E. guineensis* mas estão de acordo com a atual classificação botânica que mantém as duas espécies em separado. Além disso os padrões de híbridos se assemelham mais aos de *E. oleifera* em conformidade com aspectos morfológicos que mostram haver dominância desta espécie sobre *E. guineensis*.

GHESEQUIÈRE (1983, 1984 e 1985) padronizou e interpretou geneticamente nove sistemas enzimáticos (malato desidrogenase (MDH) - EC 1.1.1.37, shikimato desidrogenase (SKDH) - EC 1.1.1.25, fosfogliconato desidrogenase (PGD) - EC 1.1.1.44, fosfoglicoisomerase (PGI) - EC 5.3.1.9, glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) - EC 2.6.1.1, peptidase (PEP) - EC 3.4.11.6, fosfoglicomutase (PGM) - EC 5.4.2.2, fosfatase ácida (ACP) - EC 3.1.3.2 e isocitrato desidrogenase (IDH) - EC 1.1.1.42) utilizando amostras de 7 procedências distintas de dendê (Costa do Marfim, Benin, Nigéria, Camarões, Angola, Zaire e Deli). Os resultados mostram a existência de 52 alelos distribuídos por 15 locos dos 9 sistemas enzimáticos estudados.

Os resultados de GHESEQUIÈRE mostram que existe uma separação clara entre as procedências do Oeste Africano (Costa do Marfim e Benin) e o material proveniente de Angola, Camarões e Nigéria. Material originário do Zaire e populações 'Deli' formam um terceiro grupo de associação. Os resultados mostram, ainda, que germoplasma do Benin apresenta características intermediárias em relação ao das zonas mais a oeste e aquele do centro africano. Maior variabilidade genética foi observada na procedência Angola,

sendo o material da Nigéria considerado o mais homogêneo.

As investigações sobre o polimorfismo enzimático da espécie *E. oleifera* se concentram em material oriundo de 53 populações naturais da Amazônia brasileira obtido por expedição de coleta de germoplasma realizada conjuntamente pela EMBRAPA e IRHO em 1982 (GHESQUIÈRE *et al.*, 1987). Foram identificados 31 alelos de 14 locos de 11 sistemas enzimáticos (ACP, Amilase (AMY) - EC 3.2.1.1, PEP, Esterase (EST) - EC 3.1.1.1, GOT, IDH, MDH, PGI, PGM, SKDH, PGD) dos quais somente PGD não se mostrou polimórfico.

Os resultados obtidos com este material mostram que a Bacia Amazônica se constitui em centro secundário de dispersão da espécie, podendo-se estabelecer um limite entre áreas de distribuição natural e de populações dispersas pela influência do homem. Com base nos dados obtidos, as populações da Amazônia podem ser agrupadas como segue: Manaus, Madeira superior, Madeira inferior, Rio Negro e Estrada Manaus-Caracarái (muito semelhante ao material encontrado no Suriname, que se caracteriza pelo porte muito reduzido, mesmo para padrões de *E. oleifera*).

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo principal estudar a variabilidade genética de isoenzimas presentes em amostras de pólen obtidas de palmeiras originárias de populações subespontâneas de dendê do estado da Bahia e comparar estes resultados com aqueles obtidos por pesquisadores franceses em seis procedências africanas.

Outro objetivo importante deste trabalho foi o de desenvolver metodologia de análise de isoenzimas a partir de tecidos foliares obtido de palmeiras adultas, de forma a se permitir rápida avaliação genética do germoplasma em conservação no Banco Ativo de Germoplasma de Dendê da EERU pertencente ao CPAA-EMBRAPA.

Durante o transcorrer dos trabalhos optou-se por desenvolver metodologia para o exame de isoesterases presentes no pó

len, dada às dificuldades observadas por pesquisadores franceses para interpretar geneticamente este sistema enzimático neste tecido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DO MATERIAL EXPERIMENTAL

As 101 amostras de pólen e as 93 de frondes foram obtidas de 3 a 4 palmeiras originárias de cada uma das 31 progênies originárias de cachos amostrados em 3 áreas de ocorrência de dendê subespontâneo, nos tabuleiros costeiros do litoral do estado da Bahia.

Estas 31 progênies são oriundas de cachos selecionadas para plantio, de um conjunto de 95 amostrados em 1981 em pontos de entrega ao longo da rodovia que liga Santo Antônio de Jesus a Camamú (Figura 3). Análises de cacho e de fruto feitas por MAIA (1981), apresentadas no anexo 1, serviram de base para esta seleção.

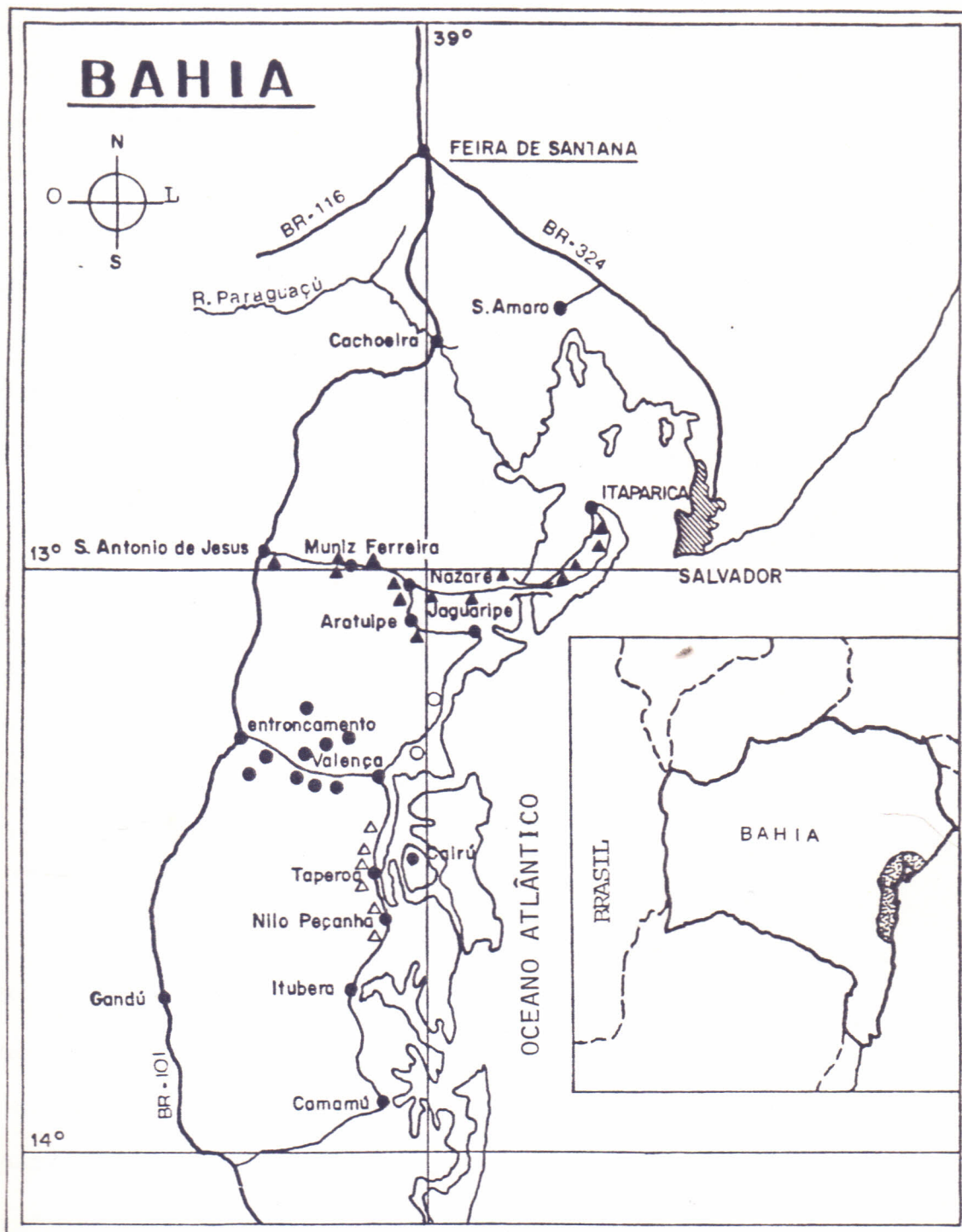


Figura 3. Pontos de amostragem de cachos na região de maior ocorrência de palmeiras subspontâneas dos tabuleiros costeiros do litoral da Bahia.

△ - área 1 - Taperoá-Ituberá

● - área 2 - Valença norte e sul

▲ - área 3 - Santo Antônio de Jesus-Nazaré

Estas progênes são descendentes de 14 cachos da área de Santo Antônio de Jesus-Nazaré (área 3), 11 cachos da área de Valença (área 2) e 6 cachos da área de Taperoá-Ituberá (área 1). Foram plantadas em 1983 na EERU-CPAA/EMBRAPA no experimento BAG01 localizado na quadra A31, linhas 36 a 63. As palmeiras das quais se obteve as amostras do material experimental são identificadas por uma letra e seis números que indicam a quadra (A31), linha de plantio (2 números que neste experimento variam de 36 a 63) e, posição da palmeira na linha (2 números que variam de 01 a 33).

O pólen foi escolhido em função de apresentar alta atividade enzimática para todos locos estudados, ser de fácil manuseio quanto aos métodos de conservação e solubilização e, mais importante, ter sido o tecido estudado por GUESQUIÈRE (1984 e 1985) nos trabalhos realizados com as procedências africanas.

As amostras de pólen foram coletadas durante o ano de 1989 de acordo com procedimentos desenvolvidos pelo "Institut des Recherches pour les Huile et Oléagineux" da França, especificados nas Instructions Generales de Fecondations Artificielles et Preparation des Graines (IRHO, 1983). Estes procedimentos englobam, resumidamente, as operações de observação de emissão, desenvolvimento e ensacamento de inflorescências masculinas. Após a coleta, o pólen é seco, peneirado, embalado a vácuo e estocado a -18°C . Nestas condições, este material mantém sua viabilidade alta por 2-3 anos.

O material foliar foi coletado na EERU-CPAA em 1988, de acordo com métodos desenvolvidos para este caso particular e, posteriormente, publicados por SANTOS e MESTRINER, 1989. Foram ob

tidas amostras de folíolos da parte central da fronde nº 1 de 93 plantas do experimento BAG-01. De acordo com o proposto, os folíolos coletados foram lavados superficialmente com água destilada, cortados em pedaços de aproximadamente 15 cm, refrigerados e liofilizados por 48 horas. Após seco, o material foi moído, finamente peneirado, embalado e estocado a -18°C .

3.2. SOLUBILIZAÇÃO DE ENZIMAS

3.2.1. Pólen

Alíquotas de 100 mg de pólen foram solubilizadas em 1 ml de solução tampão de Tris 0,1 M pH 7,2. A homogeneização do material foi realizada a 4°C em tubo de ensaio plástico ao qual se ajustava bastão de teflon conectado a um misturador elétrico. O homogeneizado foi submetido à centrifugação a $15.000 \times g$ por 15 minutos a 4°C . Alíquotas de 20 μl do sobrenadante eram imediatamente aplicadas ao gel.

Todas eletroforeses foram conduzidas utilizando-se amostras de pólen preparadas imediatamente antes da aplicação destas no gel.

3.2.2. Frondes

Alíquotas de 300 mg por amostra de material liofilizado foram preliminarmente maceradas em gral e pistilo com ajuda de pequeno volume de areia lavada e imersas em nitrogênio líquido

do. Após a obtenção de pó fino de cor verde claro, procedeu-se à homogeneização em tubos de ensaio plástico de 15 ml ao qual se adicionou 0,6 ml de PVP-40 a 10% e 3 ml de solução tampão de KH_2PO_4 0,1 M pH 7,0, contendo cisteína 0,1 M e Ditio-eritritol (DTE) 0,01 M. Após a centrifugação do homogeneizado a 35.000 x g por 30 min a 4°C o sobrenadante foi imediatamente congelado e liofilizado por 24 horas. Alíquotas de 10 mg foram então resuspensas em 100 μl da solução tampão e aplicadas imediatamente no gel.

3.3. PREPARO DOS GÉIS

3.3.1. Gel de Amido

Géis de amido (Sigma - S4501) a 12% (24 g de amido em 200 ml de tampão) foram preparados de forma tradicional (HARRIS e HOPKINSON, 1976) e acondicionados em formas de vidro medindo 18,5 x 13 x 0,5 cm, aos quais eram aplicadas de 15 a 20 amostras.

Após eletroforese, cada gel foi cortado em duas partes, possibilitando a investigação de duas enzimas distintas.

3.3.2. Gel de Poliacrilamida para Focalização Isoelétrica

Géis medindo 190 x 11 x 0,7 mm foram preparados com 16 ml da seguinte solução: 1,6 g de sacarose; 8,8 ml de água desionizada; 2,8 ml de acrilamida a 28% (Merck); 2,8 ml de bisacrilamida a 2% (Serva); 720 μl de Pharmalyte (Sigma P0658) pH 4,5-5,4 e 80 μl de Pharmalyte (Sigma P1522) pH 3-10 (no caso de géis de

gradiente de pH entre 4,0-6,5 estes anfólitos foram substituídos por 800 μ l de Pharmalyte (Sigma P1772); 800 μ l de Persulfato de amônia (Merck); 27 μ l de TEMED (CANALCO). Acrilamida e Bisacrilamida foram recristalizadas no laboratório de acordo com a técnica da LOENING, 1967.

3.4. SISTEMAS DE MIGRAÇÃO

3.4.1. Eletroforese em Gel de Amido

A Tabela 1 apresenta os métodos de migração utilizados no estudo de 7 sistemas isoenzimáticos a saber: MDH, SKDH, IDH, PGD, PGM, PGI, ACP.

Os métodos empregados foram aqueles desenvolvidos por GHESQUIÈRE, 1983, com pequenas adaptações, no sentido de se obter resultados que permitissem as comparações previstas neste trabalho.

3.4.2. Focalização Isoelétrica em Gel de Poliacrilamida

Sistema empregado para o estudo de esterases que hidrolisam substratos fluorogênicos (EST).

Os valores máximos ajustados na fonte LKB 2297 MACRO DRIVE 5 foram: 1.500 V; 30 mA e 10 W. Histidina 0,2 M e ácido glutâmico 0,04 M foram utilizados como soluções eletrolíticas no cátodo e no anodo, respectivamente. Após 30 minutos de pré-focaliza

Tabela 1. Métodos de migração empregados para eletroforese em gel de amido de amostras de pólen e folha de dendê.

Método	Tampão do gel	Migração (cm)	Voltagem	Duração (hs)	Tampão dos Eletrodos
1*	Tris 0,009 M Ác. Cítrico 0,003 M pH 7,0	12	inicial 180V (20mA) final 350V (20mA)	5:00	Tris 0,135 M Ác. Cítrico 0,043M pH7,0
2**	Tris 0,076 M Ác. Cítrico 0,005 M pH 8,7	8	inicial 150V (20mA) final 250V (15mA)	5:30	Ác. Bórico 0,3 M NaOH 0,06 M pH 8,2

* utilizado para MDH, IDH, PGM, SKDH e ACP

** utilizado para PGD e PGI

ção papéis de aplicação (5-10 mm) foram embebidos com 20 μ l de amostras e aplicados em uma linha 1,5 cm distante do catodo e removidos após 20 minutos de corrida. A partir deste ponto o experimento continuou por mais 2,5 horas até a completa separação das isoenzimas.

3.5. MÉTODOS DE COLORAÇÃO

Os métodos de coloração, exceto para esterases e com algumas adaptações, foram semelhantes aos propostos por GHESQUIÈRE, 1983 e são apresentados na Tabela 2.

3.6. MÉTODOS DE ANÁLISE NUMÉRICA

3.6.1. Tamanho da Amostra

BROWN e WEIR (1983) mostram que amostras compostas por 120 alelos independentes por população são suficientes para se obter pelo menos uma cópia de cada alelo com frequência igual ou superior a 0,05% com 95% de probabilidade. Estes autores discutem ainda que, para espécies predominantemente alógamas, como o dendê, amostras de 200 alelos independentes são suficientes para uma boa estimativa das frequências gênicas. Como estes números são dependentes das frequências gênicas na população, levou-se em consideração nos cálculos, para ambos os casos, uma situação hipotética extrema na qual se prevê a existência de 20 alelos com

Tabela 2. Métodos de coloração empregados na revelação de isoenzimas sobre gel de amido e acrilamida

	A M I D O						ACRILAMIDA	
	IDH	MDH	PGD	PGI	PGM	SKDH	ACP	EST
Tampão Tris-HCL 0,5M pH 8,5	10 ml	10 ml	10 ml	20 ml	20 ml	10 ml	5ml tampão ace- tato de sódio pH 5,0	5ml tampão acetato Na 0,2M pH 5,5
Substrato	Isocitrato de sódio: 50 mg	Tampão malato de sódio 1M pH 7,0: 5 ml	Fosfogliconato de sódio: 10 mg	Frutose-6-fos- fato: 50 mg	Glicose-1-fos- fato: 50 mg	Shikimato de sódio: 25 mg	α -naftil fosfa- to: 25 mg	4-metil-umbe- liferil-ace- tato: 2 mg*
Catalisador MgCl ₂ 0,1 M	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	1 ml	
Cofator	NADP-5mg	NAD-10mg	NADP-5mg	NADP-5mg	NADP-5mg	NADP-5mg		
Agar 2%	10 ml	10 ml	10 ml	15 ml	15 ml	10 ml		
G-6-PD				15 ucl**	15 uc			
MIT	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	Fast Garnett G.B.C.: 25mg	
PMS	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg		

* dissolvidas em 0,5 ml de acetona antes da adição do tampão.

** unidade de atividade enzimática definida como a quantidade de enzima que transforma 1,0 μ mol (10^{-6} mol) de substrato por minuto a 25°C.

Todas enzimas reveladas durante incubação em estufa a 37°C até completa visualização.

freqüência igual a 0,05, por loco enzimático.

Deste modo, optou-se pela coleta de pólen de 3 a 4 palmeiras por progênie de modo a totalizar 101 amostras, número compatível, ainda, com a capacidade operacional de EERU-CPAA durante o ano de 1989.

3.6.2. Medição da Variabilidade Genética

A variabilidade genética do material subespontâneo foi avaliada em termos dos seguintes parâmetros:

3.6.2.1. Número de Locos Polimórficos (P)

Obtido pela contagem dos locos nos quais o alelo mais freqüente apresentou freqüência inferior a 0,99.

3.6.2.2. Número de Alelos (A) e Número de Alelos por Loco Polimórfico (AP)

Simple contagem dos alelos presentes na população (A) e divisão de A por P (AP).

3.6.2.3. Heterozigidade Média Observada (Ho)

Obtida pela média das percentagens de heterozigotos observados nos locos estudados.

3.6.2.4. Frequências Gênicas e Genotípicas

Estimada diretamente dos genótipos identificados.

3.6.3. Teste de Aderência à Lei de Hardy-Weinberg

Utilizou-se o teste de qui-quadrado (χ^2) para verificar se o número observado de indivíduos por classe genotípica por loco se distribuía de acordo com o número esperado pela lei do equilíbrio de Hardy-Weinberg ao nível de 0,05% de probabilidade. Somente aplicado em material subespontâneo da Bahia.

3.6.4. Cálculo do Coeficiente de Endocruzamento (F)

O programa Alfa (CABELLO e KRIEGER, 1991) foi utilizado para calcular o Coeficiente de Endocruzamento de Wright (F), de modo a se estimar a magnitude dos desvios das proporções esperadas pela Lei de Hardy-Weinberg provocados por ausência de panmixia.

3.6.5. Análise de Distância Genética

Valores de distância genética de acordo com o proposto por NEI (1973) foram obtidos entre populações africanas estudadas por GHESQUIÈRE (1985) e população de material subespontâneo da Bahia.

Utilizou-se a distância "standart" (D) definida como:

$$D = -\log_e I,$$

onde $I_{XY} = j_{XY}/\sqrt{j_X j_Y}$, representando a identidade normalizada entre genes das populações X e Y e,

j_X = probabilidade de identidade de 2 genes escolhidos ao acaso na população X.

j_Y = probabilidade de identidade de 2 genes escolhidos ao acaso na população Y.

j_{XY} = probabilidade de identidade de 2 genes escolhidos ao acaso em cada uma das populações X e Y. Igual a $\sum_i x_i y_i$ onde x_i e y_i são as frequências de um mesmo alelo nas populações X e Y.

Para n locos utilizou-se os valores J_X , J_Y e J_{XY} representando as médias aritméticas dos j_X 's, j_Y 's e j_{XY} 's obtidos em cada loco analisado.

Utilizou-se o programa SIMGEND (ROHLF, 1988) para a obtenção dos valores das distâncias genéticas. O mesmo programa foi utilizado para a confecção do dendograma pelo método UPGMA (Unweighted pair group arithmetic average) para o agrupamento das populações.

Duas análises de distância genética foram realizadas. Inicialmente, considerou-se uma divisão da área amostrada em três regiões geográficas de modo a se verificar a distância genética entre os materiais originários da área 2 (Valença norte e sul), área 1 (Taperoá-Ituberã) e área 3 (Santo Antônio de Jesus-Nazaré). Uma segunda análise agrupou os materiais destas três

áreas considerando-os uma população que foi comparada com material africano.

3.6.6. Análise de Mistura Racial

A composição genética do material subespontâneo da Bahia, em termos das procedências africanas ancestrais, foi estudada de acordo com a análise de mistura racial proposta por KRIEGER *et al.* (1965) para populações humanas.

De acordo com estes autores a frequência de um determinado alelo i na população híbrida é dada pela função

$$P_i = \sum_j^k R_j p_{ij}$$

R_j = contribuição proporcional da população ancestral j para a mistura.

p_{ij} = frequência do alelo i na população ancestral j ,

considerando-se a inexistência de acasalamentos preferenciais e ausência de seleção e que, $R_k = (1 - R_1 - R_2 - \dots - R_{k-1})$ onde $\sum R_i = 1$ e, $p(A_i A_i) = p_i^2$; $p(A_i A_j) = 2p_i p_j$ e $p(A_j A_j) = p_j^2$

Dois programas foram utilizados para a obtenção das estimativas de mistura racial. Inicialmente, empregou-se uma adaptação do programa MISTURA 3 feita por LOBO (1990, não publicado) de modo a se estimar, conjuntamente, a contribuição proporcional das 6 procedências africanas na composição do material subespontâneo da Bahia. As frequências gênicas das três procedências que

apresentaram as maiores contribuições proporcionais, nesta análise preliminar, foram utilizadas para estimar a composição do geroplasma subespontâneo da Bahia, empregando os programas de mistura racial contidos no GENIOC (CABELLO e KRIEGER, 1991). Nestas análises o número de palmeiras observadas dentro de duas classes genotípicas do sistema PGD (homozigoto 2-2 e heterozigoto 2-1) foram agrupadas em somente uma classe (2-) devido à imprecisão de tipagem dentro das classes mencionadas.

4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA

As Figuras 4 e 5 apresentam os fenótipos e genótipos identificados para 9 locos dos 7 sistemas enzimáticos estudados em gel de amido.

A Tabela 3 apresenta informações sobre o número de alelos por loco em material africano e oriundo de populações subespontâneas da Bahia, além de observações adicionais sobre a interpretação dos fenótipos obtidos, em gel de amido.

Identificaram-se 21 alelos em material subespontâneo da Bahia de um total de 31 alelos presentes em todas as populações africanas, para os nove locos enzimáticos analisados simul

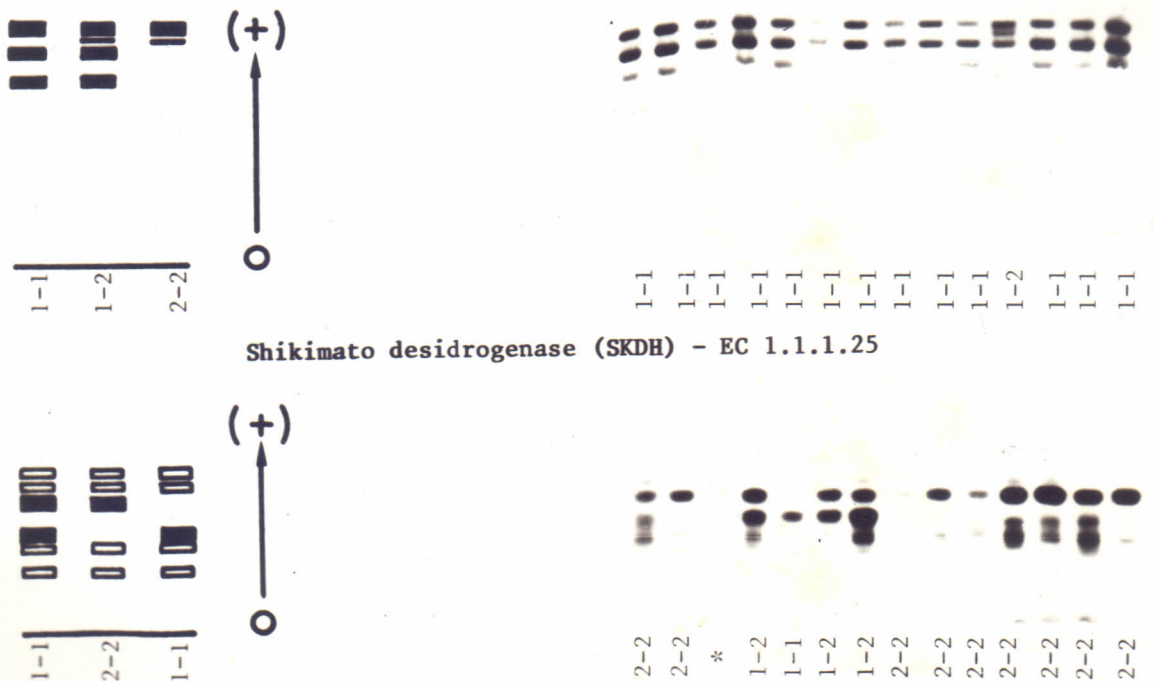
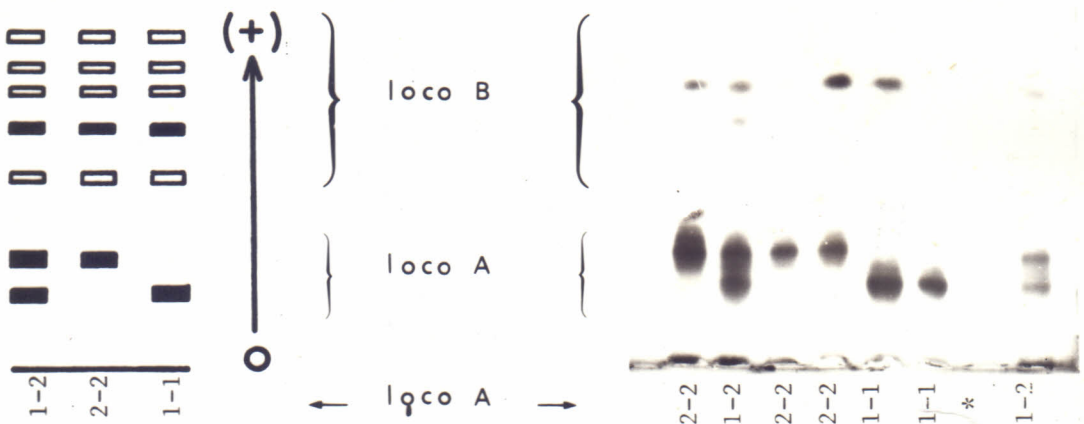
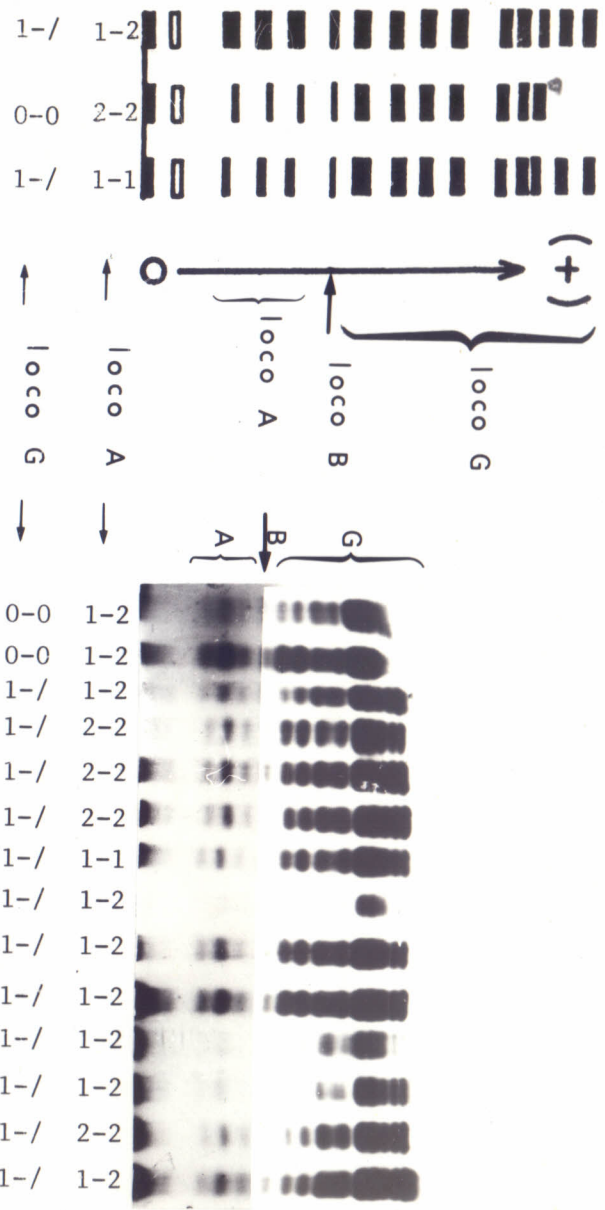
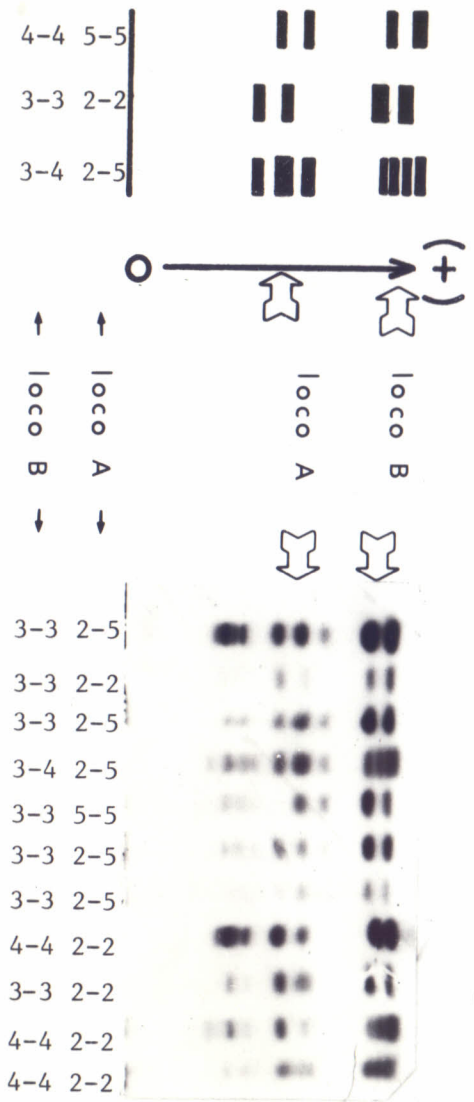


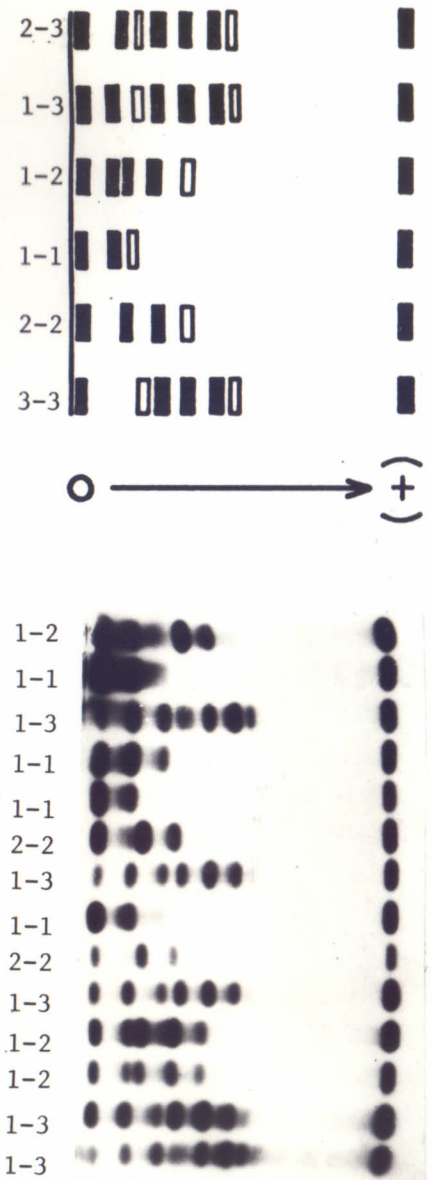
Figura 4 Determinação genotípica de fenótipos observados em 4 locos enzimáticos: IDH; ACP A; 6-PGD; SKDH.
* sem atividade



Posfoglicomutase (PGM) - EC 5.4.2.2



Fosfoglicoisomerase (PGI) - EC 5.3.1.9



Figuras 5 Determinação genotípica de fenótipos observados em 5 locos enzimáticos: MDH A; MDH G; PGM A; PGM B; PGI.

Tabela 3. Principais diferenças observadas na identificação dos alelos presentes em 7 sistemas enzimáticos estudados em material africano e aquele amostrado em populações subespontâneas do estado da Bahia.

LOCO	ALELOS/LOCO			OBSERVAÇÕES
	Total	Bahia	África	
1. IDH	5	4	4	1. Alelo 2 ausente pop. Bahia. Alelo 5 ausente pop. Africanas.
2. ACPAn.A	3	2	3	2. Locos ACPAn.B e ACPCat não analisados no material Bahia por dificuldade de interpretação. Alelo 3 loco ACPAn.A não encontrado na Bahia.
ACPAAn.B	3	-	3	
ACPCat	3	-	3	
3. PGD	4	2	4	3. Alelos nulo e 3 não encontrados na Bahia.
4. SKDH	2	2	2	
5. MDHA	2	2	2	5. Loco MDHB não analisado por dificuldades na diferenciação, entre Bl/ e BoBo.
MDHB	2	-	2	
MDHG	2	2	2	
6. PGMA	6	2	6	6. Alelos nulo, 1, 3 e 4 de PGMA e 1 e 2 de PGMB não encontrados em populações da Bahia.
PGMB	4	2	4	
7. PGI	4	3	4	7. Alelo 4 não identificado em populações da Bahia.
TOTAL	40	21	39	

taneamente no Brasil e na África. O número total de alelos identificados em procedências africanas sobe para 39 se considerados os 3 locos não analisados em populações subespontâneas (Tabela 3).

A maior parte dos alelos ausentes nas populações de dendê da Bahia se referem aqueles que são encontrados em frequências inferiores a 0,1 em populações africanas. A Tabela 4 mostra o número de alelos por classe de frequência (f) considerando-se, arbitrariamente, valores de $f < 0,1$ como raros, $0,1 < f < 0,6$ como intermediários e $f > 0,6$ como comuns.

Tabela 4. Distribuição de alelos presentes em 6 populações africanas e do estado da Bahia em 3 classes de frequências, para nove sistemas enzimáticos estudados.

Classe	População						
	COS	BEN	NIG	CAM	ANG	ZAI	BAH
Raros ($f < 0,1$)	2	2	4	6	2	2	1
Intermediários ($0,1 < f < 0,6$)	8	13	8	8	12	10	15
Comuns ($f > 0,6$)	8	5	8	8	6	7	5
TOTAL	18	20	20	22	24	19	21

Tabela 5. Variabilidade genética total apresentada por 7 procedências de dendê, para os 9 locos enzimáticos estudados.

	Total	Costa do Marfim	Benin	Nigéria	Camarões	Angola	Zaire	Bahia
P	9	8	8	8	8	9	8	9
A	31	18	20	20	22	24	19	21
A/P	3,4	2,13	2,38	2,38	2,63	2,67	2,25	2,33
Ho*	-	0,235	0,369	0,228	0,281	0,465	0,319	0,375

P = número de locos polimórficos; A = número de alelos total; A/P = número de alelos por loco polimórfico; Ho = heterozigosidade de média observada.

OBS: Os dados das origens africanas foram obtidos de GHESQUIÈRE, 1985. Locos enzimáticos analisados: ACPA, MDHA, MDHG, PGD, PGI, IDH, PGMA, PGMB, SKDH.

* - Para as origens africanas, Ho é calculada para 13 locos enzimáticos de acordo com GHESQUIÈRE, 1985. Para Bahia calculada sobre 9 locos enzimáticos, incluindo-se EST e retirando-se se MDHG que possui um alelo nulo.

Tabela 6. Freqüências gênicas observadas para 33 alelos pertencentes a 10 sistemas enzimáticos estudados em material de origem africana e de populações subespontâneas do litoral do estado da Bahia.

Alelos	Populações						
	Cos	Ben	Nig	Cam	Ang	Zai	Bah
ACPA-1	0,820	0,690	1,000	0,890	0,570	0,860	0,590
ACPA-2	0,000	0,310	0,000	0,110	0,410	0,140	0,410
ACPA-3	0,180	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000
MDHA-1	0,250	0,000	0,070	0,190	0,340	0,140	0,440
MDHA-2	0,750	1,000	0,930	0,810	0,660	0,860	0,560
MDHG-0	0,810	0,370	0,060	0,000	0,100	0,420	0,280
MDHG-1	0,190	0,630	0,940	1,000	0,900	0,580	0,720
PGD-0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,070	0,000	0,000
PGD-1	0,520	0,540	0,930	0,950	0,900	0,940	0,880
PGD-2	0,420	0,460	0,000	0,000	0,030	0,060	0,120
PGD-3	0,000	0,000	0,070	0,050	0,000	0,000	0,000
PGI-1	0,830	0,760	0,540	0,530	0,550	0,420	0,490
PGI-2	0,000	0,160	0,290	0,240	0,150	0,270	0,280
PGI-3	0,000	0,000	0,160	0,230	0,300	0,310	0,220
PGI-4	0,170	0,080	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IDH-1	0,000	0,000	0,000	0,050	0,030	0,040	0,250
IDH-2	0,000	0,000	0,150	0,000	0,000	0,000	0,000
IDH-3	0,870	0,420	0,100	0,200	0,300	0,200	0,300
IDH-4	0,130	0,580	0,750	0,750	0,670	0,760	0,445
IDH-5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005
PGMA-0	0,050	0,000	0,000	0,080	0,000	0,000	0,000
PGMA-1	0,050	0,000	0,000	0,040	0,040	0,000	0,000
PGMA-2	0,900	0,510	0,830	0,680	0,580	0,710	0,710
PGMA-3	0,000	0,000	0,070	0,000	0,000	0,000	0,000
PGMA-4	0,000	0,420	0,000	0,040	0,000	0,000	0,000
PGMA-5	0,000	0,070	0,100	0,160	0,380	0,290	0,290
PGMB-1	0,330	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000
PGMB-2	0,000	0,110	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PGMB-3	0,680	0,550	0,850	0,920	0,760	1,000	0,810
PGMB-4	0,000	0,340	0,150	0,080	0,230	0,000	0,190
SKDH-1	0,000	0,180	0,180	0,110	0,260	0,220	0,190
SKDH-2	1,000	0,820	0,820	0,890	0,740	0,780	0,810
ESTE1*							0,54
ESTE2*							0,46

* Estudado somente em material subespontâneo da Bahia.

As Figuras 6 e 7 mostram os padrões fenotípicos para as esterases reveladas após a focalização isoelétrica de extratos de pólen, em dois gradientes de pH.

No gradiente 4,0-6,5 (Figura 6) foram estabelecidas 5 regiões de atividade, preliminarmente denominados A, B, C, D e E. Regiões A, B e C apresentam-se invariáveis enquanto que os padrões fenotípicos observados na região D apresentam baixa repetibilidade e são da difícil interpretação. Por outro lado, os fenótipos identificados na região E são consistentes e apontam para a existência de 1 loco com dois alelos Est E1 e Est E2 de acordo com o padrão esperado para enzima monomérica. Est E1 e Est E2, representados pelas bandas E1 e E2, tiveram seus pI's estimados em aproximadamente 5,0, neste gradiente.

Os padrões fenotípicos obtidos no gel composto por 90% de anfólito de 4,5-5,4 e 10% de 3,0-10,0 (Figura 7) permitiram melhorar as estimativas de pI obtidas no gradiente anterior em função da maior separação entre as bandas observadas. A região A não é identificada neste gradiente uma vez que as esterases nesta região possuem pI fora do gradiente de pH produzido com esta mistura de anfólitos. O uso de gradiente mais expandido (menor faixa de pH) melhorou o fracionamento das formas identificadas na região D sem alterar, no entanto, a ausência de repetibilidade já evidenciada no gradiente de 4,0-6,5. A região E apresentou os mesmos fenótipos identificados no outro gradiente com clara melhoria no fracionamento das bandas E1 e E2, cujos pI's foram estimados em 5,02 e 4,98, respectivamente. As observações neste gradiente de pH reforça a hipótese da existência dos alelos EST1 e EST2, determinantes das bandas E1 e E2.

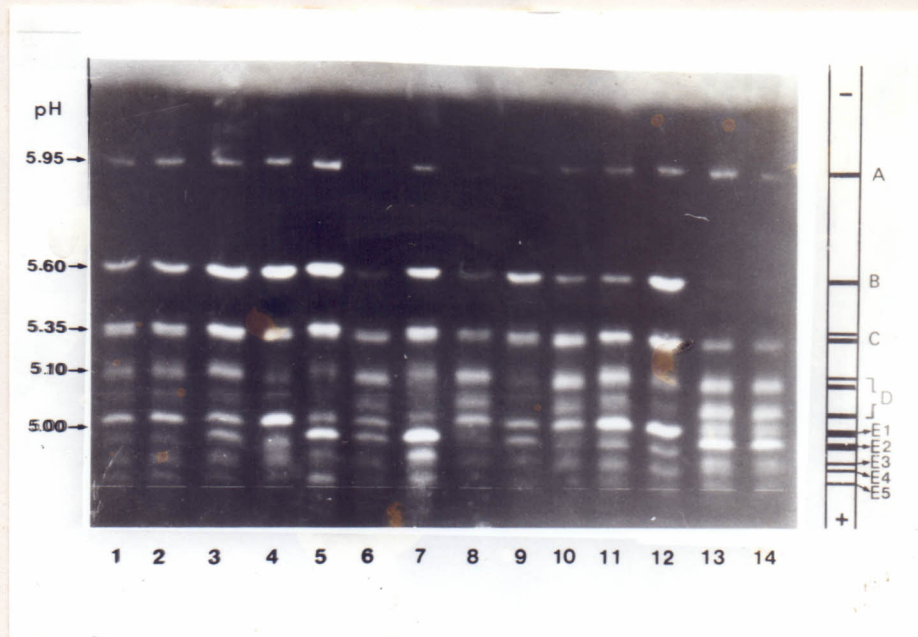


Figura 6. Isoesterases e respectivos pI's, reveladas após focali-
 zação isoelétrica no gradiente de pH 4,0-6,5. e 3,0-10,0
 Linhas 1 e 2 - amostra A315718; 3 - A314002; 4 - A314508;
 5 - A315610; 6 - A316110; 7 - A316007; 8 - A315005;
 9 - A316018; 10 - A315514; 11 - A314110; 12 - A314913;
 13 e 14 - A314604. A316110; 11 - A315515; 12 - A315908;
 13 e 14 - A314913.

4.2 - ANÁLISE DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

A Tabela 7 apresenta o número de indivíduos observados, o número esperado de acordo com o teste de Hardy-Weinberg e os valores de χ^2 calculados, para cada sistema enzimático estudado.

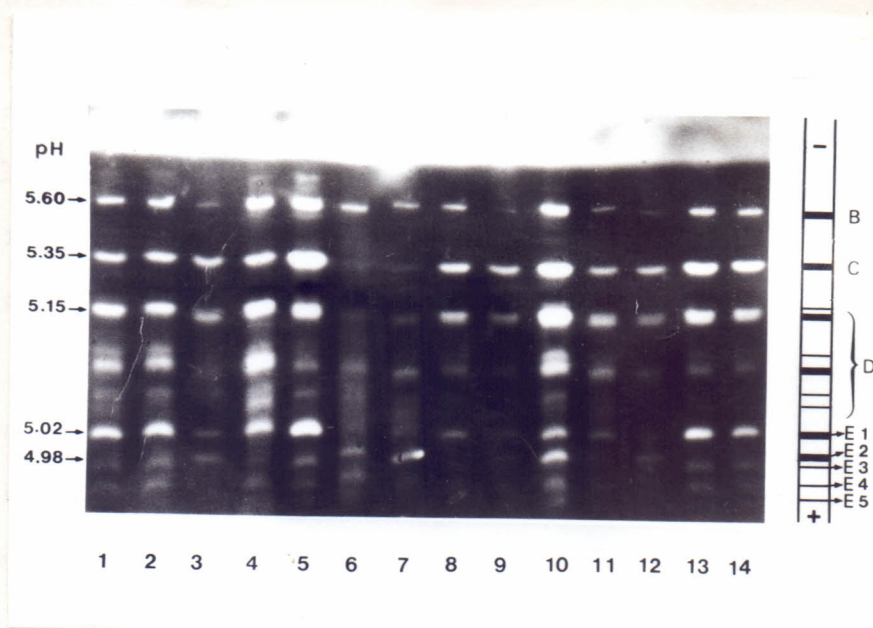


Figura 7. Isoesterases e respectivos pI's, reveladas após focalização isoeletrica no anfólitos 4,5-5,4 (90%) e 3,0-10,0 (10%).

Linhas 1 e 2 - amostras A314110; 3 - A316018; 4 - A315005; 5 - A314508; 6 - A315705; 7 - A314604; 8 - A315718; 9 - A314002; 10 - A316110; 11 - A315515; 12 - A315908; 13 e 14 - A314913.

4.2. ANÁLISE DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

A Tabela 7 apresenta o número de indivíduos observados, o número esperado de acordo com a lei de Hardy-Weinberg e os valores de χ^2 calculados, para cada sistema enzimático estudado.

Os resultados mostram que as frequências alélicas observadas nos locos PGD, PGMB e IDH não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ao nível de 5% de probabilidade. Os outros 7 locos enzimáticos encontram-se em equilíbrio.

Os dados da Tabela 7 mostram que existe uma tendência acentuada e consistente no sentido de um excesso de homozigotos observados ao nível dos locos estudados, excetuando-se PGMA, de acordo com o que seria esperado pela lei do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

4.3. ANÁLISE DO COEFICIENTE DE ENDOCRUZAMENTO

Estimou-se o coeficiente de endocruzamento (F) em 16,9% (desvio padrão = 3,2%).

Este resultado significa que existem desvios significativos da panmixia nos cruzamentos entre palmeiras das áreas subspontâneas.

Os valores de χ^2 calculados foram sempre baixos e não

Tabela 7. Número de indivíduos observados (O), esperados (E) e valor de qui-quadrado (χ^2) calculados de acordo com a Lei de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, coeficiente de endocruzamento (F) e proporção de mistura racial, para os genótipos obtidos em 9 locos enzimáticos analisados em material subespontâneo da Bahia.

ACPA					MDHA									
	O	EHW	ECE	EMR		O	EHW	ECE	EMR					
1-1	35	32,5	36,3	41,2	1-1	21	17,0	20,7	6,5					
1-2	40	44,9	37,3	40,1	1-2	35	42,9	35,6	34,6					
2-2	18	15,5	19,4	9,8	2-2	31	27,0	30,7	45,9					
χ^2		1,13	0,33	9,9*	χ^2		2,96	0,02	37,03*					
PGD					SKDH									
	O	EHW	ECE	EMR		O	EHW	ECE	EMR					
1-1	76	72,3	75,0	77,2	1-1	6	3,4	5,9	5,8					
1-2	12	19,4	15,3	7,4	1-2	24	29,2	24,2	25,4					
2-2	5	1,3	2,7	8,4	2-2	65	62,3	64,9	53,8					
χ^2		13,5*	2,64	21,1*	χ^2		3,03	0,00	6,0					
IDH					PGI									
	O	EHW	ECE	EMR		O	EHW	ECE	EMR					
1-1	10	5,7	8,6	0,1	1-1	26	22,5	26,4	23,9					
1-3	12	14,3	11,9	1,8	1-2	24	25,7	21,6	17,9					
1-4	15	21,3	17,6	4,7	1-3	15	20,3	16,6	28,0					
3-3	13	9,0	12,5	7,0	2-2	9	7,3	10,7	3,4					
3-4	21	26,7	22,3	36,3	2-3	10	11,6	9,6	10,5					
4-4	26	20,0	24,1	47,1	3-3	8	4,6	7,1	8,2					
χ^2		10,38*	0,86	931,8*	χ^2		5,20	0,82	17,9*					
PGMA				PGMB				EST						
	O	EHW	ECE	EMR		O	EHW	ECE	EMR		O	EHW	ECE	EMR
2-2	46	46,4	48,9	34,9	3-3	67	63,5	66,4	68,5	1-1	31	27,9	31,9	**
2-5	38	37,2	31,2	39,6	3-4	23	30,0	24,7	24,6	1-2	42	48,2	40,1	-
5-5	7	7,4	10,9	11,2	4-4	7	3,5	5,9	2,2	2-2	24	20,9	25,0	-
χ^2		0,04	3,06	10,4*	χ^2		5,21*	0,30	12,2	χ^2		1,62	0,16	

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

** Este loco não foi utilizado na análise de mistura racial

EHW = Esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg

ECE = Esperado de acordo com Coeficiente de Endocruzamento

EMR = Esperado de acordo com mistura racial

significativos quando se verificou a aderência dos dados observados com aqueles esperados para as diferentes classes genotípicas (Tabela 7), de acordo com modelo que inclui o valor de F estimado $|(p^2 + Fpq) + (2pq - 2pqF) + (q^2 + Fpq)|$, para loco com 2 alelos p e q|.

4.4. ANÁLISE DE DISTÂNCIAS GENÉTICAS

A Tabela 8 apresenta a matriz das distâncias genéticas obtidas levando-se em consideração a divisão arbitrária da região dos tabuleiros costeiros em três áreas.

Tabela 8. Distâncias genéticas entre amostras de dendê oriundas de três áreas dos tabuleiros costeiros do litoral da Bahia.

Área	2	1	3
2	0,000		
1	0,018	0,000	
3	0,080	0,058	0,000

Os resultados mostram grande semelhança entre os materiais das áreas 1 e 2 ($D = 0,018$), geograficamente mais próximas. O maior valor obtido ($D = 0,080$) diz respeito à distância entre as áreas 3 e 2, quais sejam Santo Antônio de Jesus - Nazaré

e Valença Norte e Sul. Estes resultados mostram que as três áreas não apresentam grau elevado de diferenciação genética em função de valores de D relativamente pequenos. Em função disto os dados das 3 áreas foram agrupados no que se convencionou chamar de Bahia.

A matriz das distâncias genéticas (D) entre as 7 procedências estudadas é apresentada na Tabela 9. Valores muito pequenos foram obtidos entre Bahia x Angola (0,025) e Bahia x Zaire (0,051), de acordo com o esperado tomando-se por base comparações entre os valores absolutos das frequências gênicas.

O dendograma apresentado na Figura 8 mostra, claramente, que Bahia e Angola compõem um grupo de materiais geneticamente estreitamente relacionados, próximos de Zaire, Camarões e Nigéria e bastante distantes de Benin e Costa do Marfim.

Tabela 9. Matriz de distâncias genéticas (D) entre 7 procedências de dendê.

Populações	Cos	Ben	Nig	Cam	Ang	Zai	Bah
Cos	0,000						
Ben	0,160	0,000					
Nig	0,267	0,119	0,000				
Cam	0,273	0,112	0,012	0,000			
Ang	0,289	0,124	0,061	0,034	0,000		
Zai	0,208	0,121	0,038	0,036	0,055	0,000	
Bah	0,216	0,134	0,081	0,054	0,025	0,051	0,000

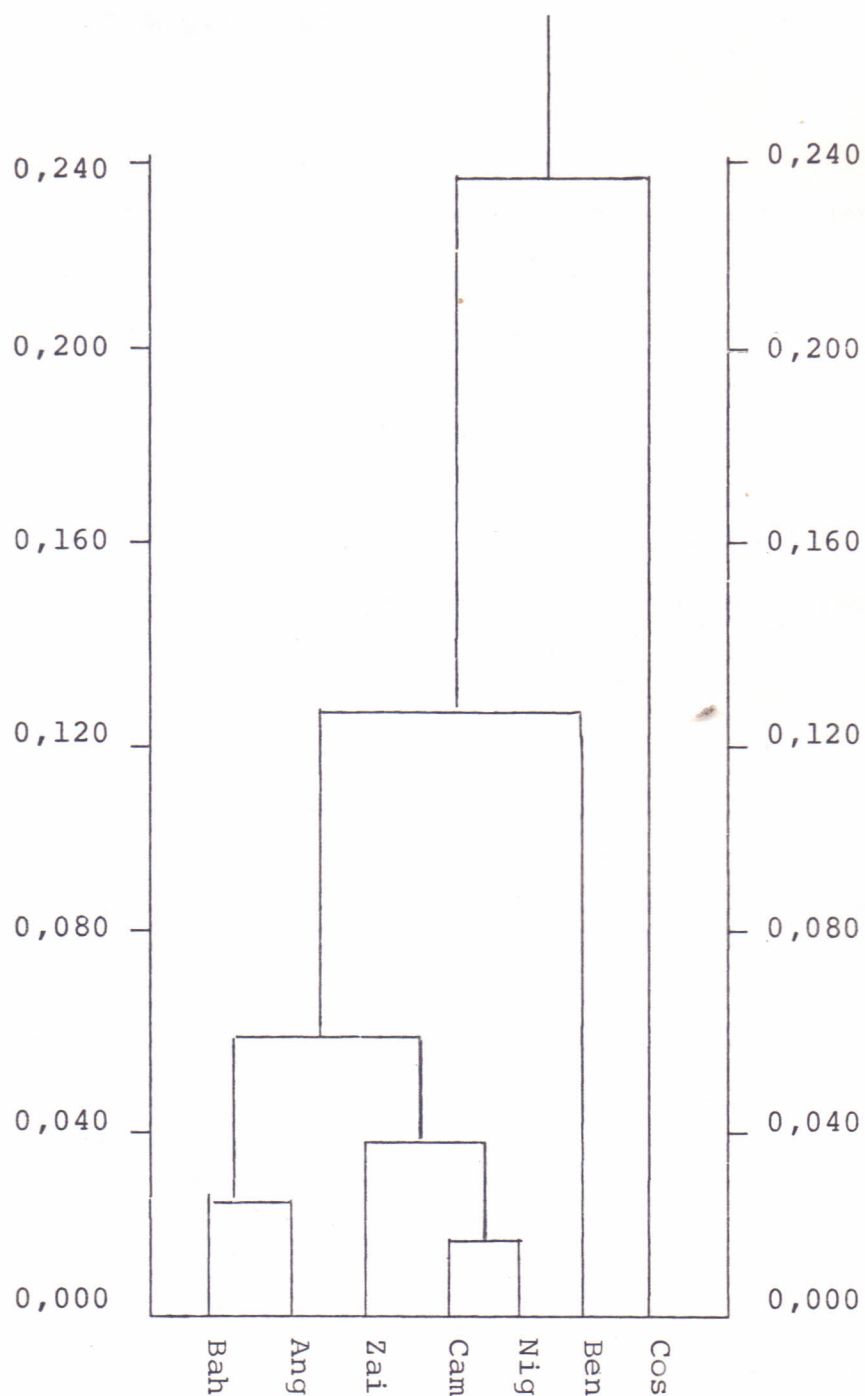


Figura 8. Dendrograma elaborado a partir dos valores das distâncias genéticas entre 7 procedências de dendê pelo método UPGMA.

4.5. ANÁLISE DE MISTURA RACIAL

A contribuição proporcional de cada uma das 6 procedências africanas para a composição genética do material subespontâneo da Bahia é apresentada na Tabela 10.

Tabela 10. Contribuição proporcional de 6 procedências Africanas na composição genética do material subespontâneo de Bahia.

Procedência	% de Contribuição
Costa do Marfim	2,7
Benin	0,0
Nigéria	0,0
Camarões	0,0
Angola	65,5
Zaire	31,8

Estes dados mostram que as maiores contribuições para a composição do subespontâneo da Bahia são fornecidas por Angola (65,5), Zaire (31,8) e Costa do Marfim (2,7), em análise que inclui as 6 procedências Africanas.

A Tabela 11 apresenta os resultados da proporção de mistura existente em material subespontâneo, considerando-se nos cálculos somente as três procedências que mostraram maiores contribuições proporcionais na análise anterior.

Tabela 11. Estimativas das proporções de mistura racial em populações subespontâneas de dendê da Bahia em relação a três procedências Africanas.

Procedência	Proporção	Erro Padrão
Angola	67,1	29,07
Zaire	32,5	31,3
Costa do Marfim	0,4	10,9

Os resultados mostram que Angola e Zaire são responsáveis por 99,6% da mistura dentre as procedências africanas que compõem o material subespontâneo da Bahia. Por esta razão realizou-se uma nova análise de mistura racial excluindo a procedência Costa do Marfim e cujos resultados são apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14.

Os valores elevados do erro padrão obtidos nas estimativas de mistura racial (Tabelas 11 e 14) são originários de uma alta heterogeneidade entre os sistemas enzimáticos na definição da proporção de mistura. Em outras palavras, enquanto alguns sistemas apontam para maior contribuição de uma determinada procedência para a mistura, outros sistemas indicam exatamente o contrário.

Valores altos dos desvios-padrão são, também, originários de valores de frequências gênicas elevadas de alguns alelos na população descendente em contraposição ao que seria esperado pelos valores calculados de mistura racial. Melhor exemplo disso

Tabela 12. Escores de mistura racial e valores de qui-quadrado de aderência e parâmetros por loco enzimático para análise de mistura racial em população subespontânea do estado da Bahia.

Loco enzimático	Escore-U	Informação	Qui-Quadrado			
			Aderência	gl	Parâmetros	gl
MDH-A	29,2367	59,8839	37,29	2	14,27	1
MDH-G	- 9,4500	69,9474	2,14	1	1,28	1
PGM-A	-14,4733	9,8798	10,46	3	21,20	1
PGM-B	11,1225	116,9440	11,96	3	1,06	1
IDH	- 1,3838	15,4463	924,78	5	0,12	1
PGI	-10,2120	27,3246	17,54	5	3,82	1
PGD	-19,2315	9,4532	22,26	2	39,12	1
SKDH	- 2,1513	1,3278	6,08	2	3,49	1
ACPA	16,6231	85,8004	9,73	3	3,22	1
TOTAL	0,0802	396,0074	1042,24	26	87,66	9

Tabela 13. Análise de variância do estudo de mistura racial em população subespontânea da Bahia, para 9 locos enzimáticos.

Fonte de Variação	gl	Qui-Quadrado	Quadrado Médio
Entre locos	8	87,58	10,948
Dentro de locos	17	954,64	56,155
Parâmetros	1	0,000	0,000
TOTAL	26	1042,22	40,09

Tabela 14. Estimativas das proporções de mistura racial em população subespontânea de dendê da Bahia, em relação a duas procedências africanas.

Procedência	Proporção (%)	Erro Padrão
Angola	67,1	16,63
Zaire	32,9	16,63

é fornecido pelo sistema IDH onde o alelo Idh1 apresenta $f = 0,25$ na população subespontânea da Bahia e valores de f sempre pequenos em todas as procedências africanas estudadas ($f = 0,04$ no Zaire, $f = 0,03$ em Angola, $f = 0,05$ em Camarões e $f = 0,000$ na Costa do Marfim, Benin e Nigéria).

Pelos valores estimados de proporção de mistura racial, Idh1 deveira ter $f = 0,034$ enquanto que o valor observado na população de dendê subespontâneo foi $f = 0,25$ (Tabela 6).

Estas discrepâncias entre valores observados e esperados pela mistura, são responsáveis pelos altos qui-quadrados de aderência ao modelo de mistura racial estudado, especialmente para IDH, onde o valor 924,78 é responsável por quase 90% do valor total do χ^2 total de aderência (Tabela 12). Em função disto, estimou-se as proporções de mistura racial retirando-se das análises os dados relativos ao sistema enzimático IDH. Nesta análise (Tabela 15), as estimativas de mistura racial tem menor precisão, como pode ser depreendido pela comparação dos erros-padrão em análise com IDH (16,62) e sem IDH (18,13) observados nas Tabelas 14 e 15.

Os diferentes critérios utilizados para se estimar as proporções de mistura racial não alteram estas estimativas de forma significativa (Tabelas 11, 14 e 15), cujos valores estão sempre próximos de 67% e 33% para Angola e Zaire, respectivamente.

Por outro lado estas estimativas são mais precisas quando a procedência Costa do Marfim não é incluída e as duas clas

Tabela 15. Estimativas das proporções de mistura racial em população subespontânea de dendê da Bahia, em relação à duas procedências africanas (análise não incluindo o sistema enzimático IDH).

Procedência	Proporção (%)	Erro Padrão
Angola	67,5	18,13
Zaire	32,4	18,13

ses de PGD são agrupadas, de acordo com procedimentos mencionados anteriormente.

A análise de variância apresentada na Tabela 13 mostra que o quadrado médio para a fonte de variação "dentro de loco" é bem superior à "entre locos" o que pode ser também explicado pelas discrepâncias observadas ao nível do sistema enzimático IDH. As variações observadas neste loco são responsáveis pela quase totalidade do valor de qui-quadrado na fonte de variação "dentro de loco". Ainda assim, sua manutenção nas análises de mistura racial produzem estimativas mais precisas.

4.6. ANÁLISE DE PADRÕES ENZIMÁTICOS OBTIDOS COM MATERIAL FOLIAR ADULTO

Dentre os sistemas enzimáticos estudados em gel de amil

do, MDH e PGM apresentaram genótipos distintos para cada um dos tecidos empregados, a saber: pólen e folha adulta.

A Figura 9 apresenta os fenótipos de MDH para extra_{tos} de pólen (linhas de 1 a 4) e folha adulta (linhas 5 e 6). Dos três locos ativos em pólen, somente o loco G se encontra ativo em extratos foliares. Entretanto, a mobilidade e o número de iso_{enzimas} presentes no loco G é sempre menor em material foliar do que em pólen.

A Figura 10 mostra os fenótipos de PGM obtidos após eletroforese de extratos de pólen (linhas 3 a 6) e folha adulta (linhas 1 e 2). Somente o loco B se encontra ativo em folhas adul_{tas}. Neste tecido, indivíduos homozigotos apresentam uma banda enquanto heterozigotos mostram duas bandas de acordo com o espe_{rado} para padrão fenotípico de enzima monomérica em loco com 2 alelos.

A migração da banda mais lenta do padrão fenotípico pa_{ra} homozigotos em pólen coincide com a altura de migração da ban_{da} que representa o mesmo genótipo em material foliar.

Para todos os sistemas estudados a atividade enzimáti_{ca} é sempre menor em material foliar do que em pólen, excetuan_{do-se} para PGD onde atividades equivalentes foram obtidas com a metodologia de solubilização utilizada.

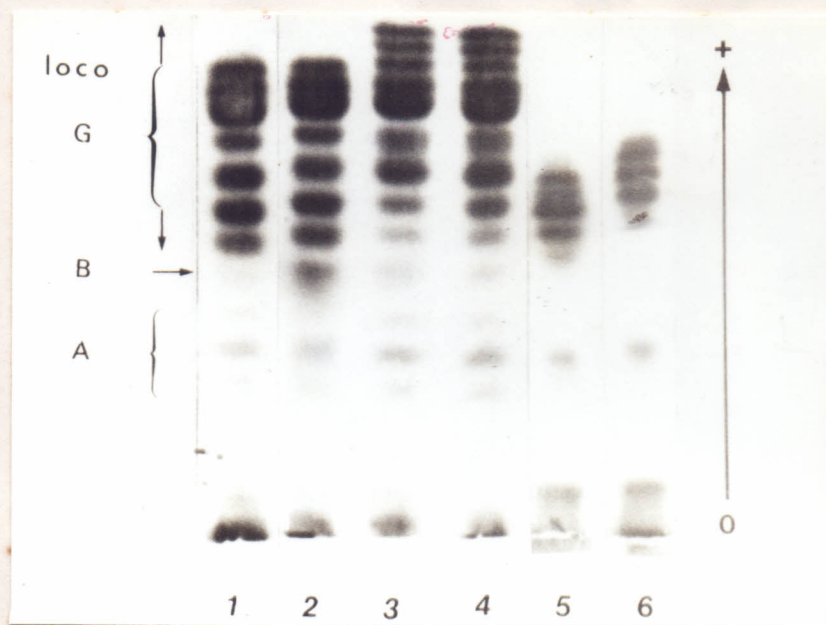


Figura 9. Fenótipos de MDH para extratos de pólen (linhas 1 a 4) e folha adulta (5 e 6) de dendê.

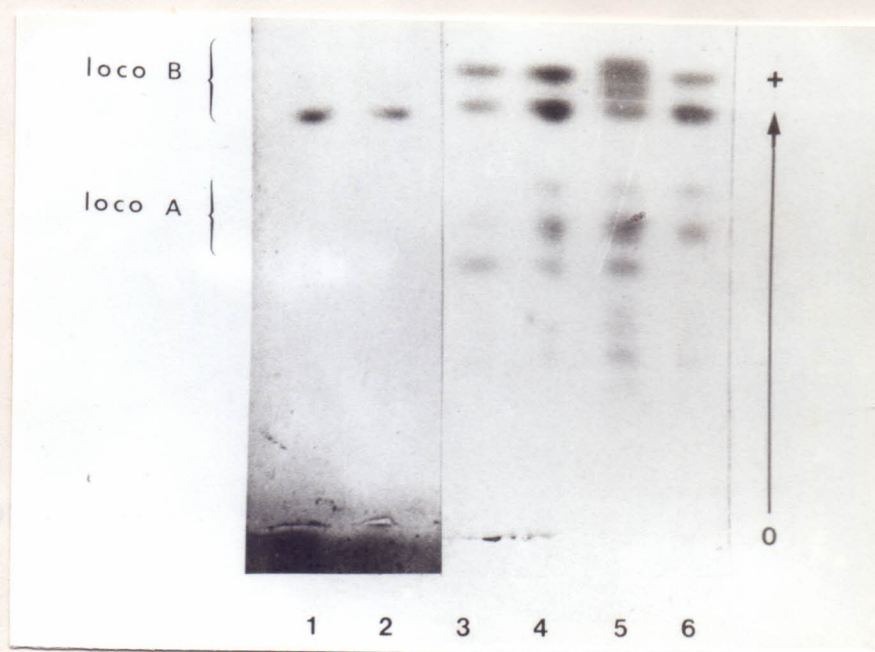


Figura 10. Fenótipos de PGM para extratos de pólen (linhas 3-6) e folha adulta (linhas 1 e 2) de dendê.

5. DISCUSSÃO

5.1. FENÓTIPOS E DETERMINAÇÃO GENOTÍPICA

5.1.1. Pólen

Os zimogramas obtidos, para os sete sistemas enzimáticos estudados em gel de amido, correspondem aqueles apresentados por GHESQUIÈRE, 1983, exceto para ACP, onde se preferiu adotar o sistema Tris-ácido cítrico pH 7,0 para os tampões do gel e da cuba (Tabela 1), método hoje em dia utilizado no IRHO (AMBLARD, 1988)

Por outro lado, no que diz respeito à determinação genotípica, verificou-se impossível a distinção entre o homozigoto 1-1 e o heterozigoto 1-2 para o loco MDHG, na forma proposta por

GHESQUIÈRE, 1983, que previa a existência de dois alelos (Mdh1 e Mdh2) neste loco. Os dados mais recentes sobre o determinismo genético neste loco (GHESQUIÈRE, 1985, AMBLARD, 1988) propõem a existência de 2 alelos sendo um deles nulo, dando origem a somente 2 fenótipos, de acordo com nossas observações.

As esterases presentes em extratos de tecidos vegetais são, normalmente, codificadas por vários locos, em geral polimórficos, produzindo fenótipos de difícil interpretação genética tal como relatado por TANKSLEY e RICK (1980) para tomate, KAHLER e ALLARD (1981) em cevada, REBORDINOS e DE LA VEGA (1988) em trigo e GOODMAN e STUBER (1983) em trabalhos com milho.

Neste sentido, os estudos realizados na França com esterases presentes em extratos de pólen (GHESQUIÈRE, 1983) identificaram um grande número de bandas em padrões de baixa repetibilidade. O exame deste material em focalização isoelétrica em dois gradientes de pH mostra a existência de várias isoenzimas com pI variando entre 4,0 e 6,5.

Os resultados com o emprego desta técnica são consistentes em apontar a presença de 2 alelos em 1 loco, preliminarmente denominados de EstE1 e EstE2. As Figuras 6 e 7 mostram que as mesmas amostras apresentam o mesmo fenótipo nos dois gradientes de pH estudados, para a região E.

Apesar das evidências que sustentam esta hipótese, a confirmação do controle genético das variantes destacadas na região E dependerá de estudos futuros que incluam a análise de gerações segregantes de cruzamentos controlados.

Híbridos F_1 e seus respectivos parentais, em gradientes de pH ainda mais expandidos, poderão elucidar o controle genético de outras isoesterases presentes em extratos de pólen, considerando-se somente aquelas que hidrolisam a ligação éster de 4-metil-umbeliferil-acetato.

5.1.2. Fronde de Palmeiras Adultas

As dificuldades observadas na manutenção da atividade enzimática inicial de tecidos foliares de dendê, após solubilização, já eram esperadas e estão associadas à presença de altos teores de compostos fenólicos e da ação sobre estas de fenol oxidases. Trata-se de fenômeno bem estudado que, não raramente, direciona as pesquisas para tecidos de manuseio mais simples como pólen, tecidos da semente, materiais estiolados, plântulas, folhas cotiledonares, dentre outros (LOOMIS e BATTLE, 1966; LOOMIS, 1969 e 1974).

De maneira geral, estudos com material foliar adulto implicam no estabelecimento e na laboriosa execução de complexos protocolos de solubilização (SANTOS, 1990). Por outro lado, a existência de protocolos que utilizam tecido foliar no preparo de extratos para eletroforese, permitem que a variabilidade de isoenzimas seja prontamente estudada, especialmente em coleções de germoplasma de espécies perenes, o que tem muita importância para se estabelecer esquemas de cruzamentos em projetos de melhoramento genético.

Os resultados obtidos para os sistemas enzimáticos estudados, exceto esterases as quais foram exclusivamente analisa

das em pólen, mostram padrões eletroforéticos de material foliar muito semelhantes ao de pólen para SKDH, IDH, PGI, PGD e ACP. As maiores diferenças foram observadas para os sistemas enzimáticos MDH e PGM conforme se vê nas Figuras 9 e 10, de acordo com resultados não publicados obtidos no IRHO da França (AMBLARD, 1988).

As comparações dos padrões isoenzimáticos de pólen e fronde de dendê mostraram que os locos MDHA, MDHB e PGMA não se expressam em frondes de palmeiras adultas. Neste caso, além da facilidade de manuseio, trabalhar com pólen tem a vantagem adicional de permitir o estudo de um maior número de locos enzimáticos.

Pelo menos dois mecanismos parecem atuar na expressão diferencial dos padrões observados em pólen e fronde. Inicialmente, MDHA, MDHB e PGMA parecem estar sendo regulados geneticamente, sob a ação de fatores desconhecidos, de modo a não se expressarem no estágio fisiológico do tecido foliar empregado. Fenômenos como estes desempenham papel fundamental em estudos sobre a regulação genética durante o desenvolvimento de tecidos (SCANDALIOS e BAUM, 1982). Em segundo lugar, modificações epigenéticas parecem ser responsáveis pelas diferenças fenotípicas observadas ao nível do loco PGMB (WOLD, 1981). Casos como estes, onde homozigotos de uma mesma enzima podem ser representados fenotipicamente em tecidos diferentes por 1 ou 2 bandas, conduzem à dificuldades para o estabelecimento do controle genético de algumas formas isoenzimáticas.

O controle genético destes dois sistemas isoenzimáticos foi determinado, da mesma forma que os outros estudados neste trabalho, através do exame da segregação de cruzamentos con

trolados (GHESQUIÈRE, 1983). Adicionalmente, os resultados da comparação de padrões de fronde e pólen concordam com a decisão de se considerar como produto de 1 loco o conjunto de bandas visualizadas na região MDHG e o estabelecimento de 2 locos de PGM.

Os resultados obtidos permitem a pronta análise de germoplasma de dendê a partir de frondes, sem que seja necessária a obtenção de pólen, especialmente em períodos de produção de inflorescência femininas ou durante a imaturidade (primeiros 3 anos). Estes resultados podem ser facilmente comparados com determinações genotípicas feitas a partir de pólen, para aqueles locos que se expressam nestes dois tecidos. X

5.2. VARIABILIDADE GENÉTICA PRESENTE EM POPULAÇÃO DE DENDÊ SUBESPONTÂNEO DA BAHIA

De um total de 31 alelos presentes nas procedências africanas, 21 foram identificados em material subespontâneo da Bahia considerando-se os 9 locos estudados em ambos os casos. Este valor só é menor do que aqueles obtidos em Camarões (22) e em Angola (24), resultado de certa forma surpreendente para material exótico. Os alelos ausentes nas localidades amostradas no estado da Bahia apresentam frequências que variam de 0,00 a 0,42 em populações africanas como pode ser observado na Tabela 12.

Tabela 12. Freqüências em procedências africanas de 11 alelos identificados na África mas ausentes em população subspontânea do estado da Bahia.

Alelos	Freqüências Observadas por Procedência					
	Cos	Ben	Nig	Cam	Ang	Zai
AcpA3	☒ 0,18				☒ 0,02	
Pgd0					0,07	
Pgd3			☒ 0,07	☒ 0,09		
Pgi4	☒ 0,17	☒ 0,08				
Idh2			☒ 0,15			
PgmA0	☒ 0,05			☒ 0,08		
PgmA1				0,04	☒ 0,04	
PgmA3			☒ 0,07			
PgmA4		☒ 0,42		☒ 0,04		
PgmB1	☒ 0,33				☒ 0,01	
PgmB2		☒ 0,11				



Presença na procedência respectiva



Também ausente na procedência respectiva

A Tabela 12 mostra que os 11 alelos ausentes na Bahia estão igualmente ausentes no Zaire, 8 estão ausentes no Benin e Nigéria, 7 não foram identificados em Camarões e Angola e, finalmente, 6 também não estão presentes na Costa do Marfim. Além disso, alelos que estão presentes em freqüências intermediárias na Costa do Marfim (PgmB1, $f = 0,33$; AcpA3, $f = 0,18$; Pgi4, $f =$

0,17), Benin (Pgm4, $f = 0,42$; PgmB2, $f = 0,11$) e Nigéria (Idh2, $f = 0,15$) não foram identificados em material subespontâneo da Bahia.

Esta análise indica que a origem do material subespontâneo deve se localizar em poucas das procedências africanas estudadas. Isto porque é de se esperar que alelos de frequências intermediárias fossem identificados na Bahia da mesma forma que alelos raros de algumas procedências africanas não fossem encontrados no material introduzido. De qualquer modo, deve-se sempre considerar que algumas procedências estudadas possuem base genética bastante estreita, além do grau de seleção artificial à que foram submetidas, como é o caso, principalmente, do germoplasma da Costa do Marfim e do Benin utilizados nestas análises.

Além disso, outros aspectos chamam a atenção no que diz respeito à composição genética do material subespontâneo da Bahia. Inicialmente, percebe-se que nenhum alelo se encontra fixado, ainda que alguns possam ter sido perdidos após introdução. O número médio de alelos por loco polimórfico (AP) para material subespontâneo igual a 2,33 (Tabela 5) é aproximadamente igual à média dos valores obtidos para as seis procedências africanas (2,40) e superior aos valores obtidos para Costa do Marfim (2,13) e Zaire (2,25). Adicionalmente, nota-se que as maiores diferenças entre as procedências residem na composição característica de cada população no que diz respeito a alelos raros, principalmente no que se refere aos locos PGMA e PGMB. Além disso, dos 21 alelos identificados na Bahia, 17 (81%) são encontrados em pelo menos 5 das 6 procedências africanas estudadas (Tabela 6). Em função destes números, pode-se inferir que os fenômenos responsáveis pela

redução da variabilidade, após introdução, não foram de grande magnitude.

De acordo com BARRETT e HUSBAND, 1990, se o tamanho de uma população fundadora como a da Bahia fosse pequena o suficiente de modo a proporcionar deriva genética de grande magnitude, seria de se esperar alta diminuição no número de alelos, aumento da endogamia e diferenciação entre populações. Além disso, a heterozigosidade média observada deveria diminuir da ordem de $1/2N$ por geração. Todos os valores mostrados nas Tabelas 4, 5 e 6, heterozigosidade média inclusive, indicam que o material introduzido deve ter sido amostras razoavelmente representativas de algumas poucas procedências africanas e que o tamanho da população fundadora não teria permanecido pequeno por muitas gerações.

Estas afirmativas encontram respaldo no fato do dendê ser espécie predominantemente alógama, produzir em média mais de 1.500 sementes por cacho, contar com insetos polinizadores eficientes (*Elaeidobius subvittatus*), também introduzidos no Brasil (LUCCHINI e MORIN, 1984), possuir eficientes mecanismos de dispersão de sementes (aves, homem) e, ainda, encontrar condições ecológicas similares às aquelas verificadas na África em ampla faixa do litoral do estado da Bahia.

5.3. ANÁLISE DE ADERÊNCIA A LEI DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG E DO COEFICIENTE DE CRUZAMENTO (F)

Dados sobre o equilíbrio de Hardy-Weinberg mostram que

para os dez locos estudados, três (PGD, IDH e PGMB) não se encontram em equilíbrio. A maior parte do valor de χ^2 calculado para PGD (13,7) deve-se à diferença entre o valor observado (5) e o esperado (1,4) para indivíduos de genótipo Pgd2-Pgd2, o mais difícil de ser determinado experimentalmente.

De uma maneira geral, nota-se que o número de homozigotos observado é superior ao esperado pelo equilíbrio, demonstrando um déficit em heterozigotos de certa forma esperado para material introduzido.

Os números de indivíduos esperados, nas diversas classes genotípicas dos locos estudados, quando se assume o valor estimado de F (16,9), produzem valores de χ^2 quase sempre inferiores aqueles esperados pela lei de equilíbrio de Hardy-Weinberg e não significativos (Tabela 7).

O valor estimado de F indica, ainda, que foram verificados importantes desvios da panmixia em populações de dendê subespontâneo.

Este valor relativamente alto de F pode ser explicado de duas maneiras. Primeiramente, a amostra utilizada nos cálculos de F foi composta por 31 famílias de meios-irmãos. Adicionalmente, é provável que as primeiras populações ou agrupamentos de palmeiras introduzidas da África tivessem tamanho bastante reduzido, ocupando áreas próximas a fazendas ou em torno de pequenos povoados. Nestas condições, a endogamia teria sido um processo importante para a redução da variabilidade genética ao nível destes pequenos agrupamentos.

Após terem sido abandonadas as plantações dos tabuleiros costeiros, deu-se início a processo de colonização que culminou com a ocupação praticamente integral destas áreas, dando origem à população praticamente contínua, ainda hoje existente ao longo da estrada que liga Santo Antônio de Jesus a Camamú.

Com a evolução do processo de colonização e com o aumento do fluxo gênico foram criadas condições para restauração parcial da variabilidade genética, ainda que mantida de acordo com estrutura apresentando o excesso de homozigotos observado.

5.4. DISTÂNCIAS GENÉTICAS

Os resultados obtidos para as distâncias genéticas entre as 7 procedências (6 Africanas e subespontânea da Bahia) apresentados na Tabela 9, mostram alta identidade genética entre o material subespontâneo da Bahia com Angola ($D = 0,025$) e Zaire ($D = 0,051$). Por outro lado, os valores relativamente altos de D obtidos para Bahia com Costa do Marfim (1216) e Benin (0,134) são indicativos de pouca identidade genética entre o material subespontâneo e estas duas procedências africanas.

Estes dados estão de acordo com aqueles discutidos anteriormente em termos de variabilidade genética onde se evidenciou que a composição genética do material subespontâneo da Bahia, em termos de alelos raros e intermediários é, aproximadamente, aquela identificada no Zaire e Angola e contrasta com os dados obtidos para Benin e Costa do Marfim.

Com relação aos dados de procedências africanas (GHESQUIÈRE, 1985) evidencia-se o fato que os valores das distâncias genéticas aumentam à medida em que são maiores as distâncias geográficas entre procedências. A Figura 8 mostra uma distribuição ordenada de acordo com a posição geográfica das procedências no Continente Africano. Claramente, os maiores valores de distância são observados entre Costa do Marfim e Benin e as outras procedências (Figura 8). Ainda que estas constatações reflitam um certo grau de diferenciação geográfica entre procedências, parte deste resultado deve ser creditada ao grau de seleção artificial e à baixa representatividade verificada ao nível do material utilizado no exame das procedências Costa do Marfim, Benin e Nigéria (GHESQUIÈRE, 1985).

De qualquer forma, os valores de distâncias genéticas obtidos estão de acordo com a estratégia até então empregada pelo IRHO na produção de híbridos F_1 comerciais, onde se procuram as melhores combinações entre materiais de características genéticas contrastantes (MEUNIER e GASCON, 1972; GASCON *et al.*, 1981). Neste particular, já há bastante tempo se reconhece o alto valor em cruzamentos de material 'Deli' (palmeiras do tipo 'Dura', selecionadas na Malásia e Indonésia) e 'Pisífera' de diversas origens africanas. Por outro lado, cruzamentos entre palmeiras 'Dura' e 'Pisífera' de uma mesma origem estão sempre entre os piores resultados (GASCON e DE BERCHOUX, 1963 e 1964; ESCOBAR, 1980; GASCON *et al.*, 1981).

Os efeitos da depressão pela endogamia em cruzamentos de materiais genéticos de diversas procedências africanas e asiáticas foram estudadas por GASCON *et al.*, 1969).

Mais recentemente, GHESQUIÈRE (1985) apresenta dados que mostram uma alta correlação entre os valores de distância genética e dados de produção de cruzamentos entre 'Duras' de Angola e palmeiras de diversas origens. De acordo com o esperado pelos valores de distância, os melhores resultados foram obtidos em cruzamentos entre as procedências Angola e Costa do Marfim, em 4 estações de pesquisa localizadas em 3 países africanos (Costa do Marfim, Camarões e Benin). Os piores resultados foram observados em cruzamentos do tipo Angola x Angola.

Analogamente, espera-se que seleção de palmeiras 'Dura' de material subespontâneo da Bahia produzam bons resultados em cruzamento com palmeiras 'Tenera' ou 'Pisífera' selecionadas de linhagens africanas da Costa do Marfim e do Benin ou das procedências asiáticas mais tradicionais.

Na hipótese de se identificar 'Teneras' com caracteres favoráveis para cacho e fruto em germoplasma de dendê subespontâneo da Bahia, outra linha de melhoramento seria o teste destas palmeiras em cruzamentos com duras 'Deli', dos quais se poderia esperar alto grau de heterose.

Nas duas abordagens acima joga-se com a alta probabilidade de serem selecionadas, em material subespontâneo da Bahia, palmeiras 'Dura' de Angola e 'Tenera' do Zaire procedências que mostraram maior identidade genética com Bahia.

5.5. ANÁLISE DE MISTURA RACIAL

Existem determinadas situações em estudos populacionais onde o maior interesse reside em se verificar a contribuição proporcional de raças ou origens distintas na composição de populações híbridas. Este objetivo ficou claramente explicitado no trabalho de KRIEGER *et al.* (1965) ao determinar o grau de mistura racial de populações humana do nordeste brasileiro e nos estudos de LOBO *et al.* (1989) sobre a diferenciação e mistura racial em populações de abelhas africanizadas no Brasil.

Os resultados obtidos sobre a proporção de origens africanas na composição do material subespontâneo da Bahia, utilizando a abordagem científica e metodologia idêntica aos dois trabalhos anteriormente citados, mostram que as maiores contribuições são fornecidas por material de Angola e do Zaire, com pequena participação de germoplasma da Costa do Marfim (Tabelas 10, 11, 14 e 15). Os altos valores dos desvios-padrão observados sugerem que os níveis de amostragem praticados, principalmente no que se refere às procedências africanas estudadas, precisam ser ampliados de modo a se aumentar a precisão das estimativas de frequências gênicas e genotípicas para os locos estudados. O loco IDH é, novamente, bastante informativo na explicação deste tipo de problema. Como já foi dito, Idh1 apresenta $f = 0,25$ em material subespontâneo da Bahia e $f = 0,04$ no Zaire. Por outro lado, de acordo com GUESQUIÈRE (1983) em 7 descendentes da linhagem YA3 (originária do cruzamento das procedências Yawenda e Eala, ambas do Zaire) e frequência de Idh1 foi estimada em 0,21, muito próxima, portanto, dos valores observados em material subespontâneo.

Melhorando-se os níveis de amostragem, certamente se aumentará a precisão das estimativas de mistura racial mas isto não deverá provocar alterações significativas nos resultados obtidos, haja visto o discutido anteriormente sobre a análise da presença e ausência de alelos raros ou freqüentes nas diferentes procedências africanas.

Estes dados estão de acordo com outras análises feitas nesta tese, tais como distâncias genéticas e o exame da variabilidade genética presente nas procedências estudadas.

No seu conjunto, estes resultados dizem respeito aos materiais genéticos empregados e aos níveis de amostragem praticados, considerando-se a representatividade de determinados cruzamentos controlados em relação à variabilidade genética presente nas seis procedências estudadas.

O conhecimento atual credita a introdução do dendê no Brasil aos escravos africanos que foram trazidos para a América durante o período colonial (MILLER, 1968; citado por HARTLEY, 1977). É possível, também, que os colonizadores portugueses tenham participado, simultaneamente, da introdução desta palmeira, assim como o fizeram em relação a outras culturas, como o café e cana-de-açúcar.

Na hipótese de terem sido os escravos os maiores responsáveis pela introdução do dendê no Brasil, seria de se esperar uma composição genética bastante heterogênea para o material subespontâneo da Bahia. Isto porque foram trazidos escravos de todas as procedências estudadas neste trabalho, além de várias

outras (RODRIGUES, 1977).

Como todos dados aqui apresentados, mistura racial inclusive, apontam para importante contribuição de germoplasma de Angola e Zaire na composição genética do material subespontâneo da Bahia, poder-se-ia imaginar que destes países tenham imigrado mais escravos para a Bahia ou que, por alguma razão, destes paííses tenha sido introduzida maior proporção de sementes de dendê. Neste último caso, o papel dos colonizadores portugueses teria sido fundamental. Negros africanos e seus descendentes usavam o óleo de dendê, de forma rotineira na sua alimentação, razão da importância da introdução do dendê no novo continente.

Deve-se considerar, no entanto, que as condições de extrema penúria e degradação humana pela qual passavam os escravos antes e depois de embarcarem nos super lotados navios negreiros, desprovidos de quaisquer bens materiais (PIERSON, 1971), nos leuvam a imaginar quão difícil seria para estes seres pensarem em carregar algumas sementes ou, pior, cachos de dendê para posteurior disseminação no Brasil. Neste sentido, seria mais lógico penusar que os colonizadores portugueses se desincubissem desta tareufa com maior facilidade.

Os estudos sobre o comércio de escravos estão cercaudos de incertezas que impedem o estabelecimento de fortes assouciações entre as procedências de escravos e a origem do dendê subespontâneo da Bahia. Sabe-se por exemplo, que os navios neugreiros registravam somente o último porto africano dentre os muitos em que teriam atracado antes da viagem para o Brasil. Além disso, durante os cerca de 300 anos de comércio, várias travesu

sias foram feitas sem registros, seja por ausência de obrigação em determinados períodos seja para evitar a fiscalização depois que o comércio foi declarado tráfico em 1811, por pressão dos ingleses (RODRIGUES, 1977; PIERSON, 1971). As proibições legais feitas ao comércio de escravos, ao mesmo tempo que contribuíram para desacreditar as estatísticas aduaneiras, limitaram o tráfico português de escravos à costa ocidental africana entre 8 e 18 graus de latitude sul, a partir dessa época. Por outro lado, o tráfico de escravos trazidos do Golfo da Guiné continuava tão forte como antes com a participação de navios de outras nacionalidades, algumas vezes financiados por capital inglês (RODRIGUES, 1977).

SALDANHA (1957), citado por GROVE e NANCE (1973), generaliza e simplifica demasiadamente a questão da imigração de negros para o Brasil. De acordo com este estudo, negros Bantos, originários principalmente de Angola, Zaire e Moçambique foram levados fundamentalmente para a costa entre o Maranhão e Pará, Alagoas e Pernambuco com posterior migração para o Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Por outro lado, a imigração de negros Sudaneses, oriundos de Gana, Benin, Nigéria e Costa do Marfim foi dirigida principalmente para a Bahia.

Em contraposição ao discutido acima, somam-se as citações sobre a imigração de negros de Angola diretamente para a Bahia (SALZANO e FREIRE MAIA, 1970; PIERSON, 1971 e RODRIGUES, 1977).

Calcula-se que cerca de 1 milhão de escravos de Angola entraram no Brasil entre 1815 e 1859 (PIERSON, 1971). Este au

tor, referindo-se ao comércio com Angola, afirma: "os navios cruzavam diretamente entre portos brasileiros da Bahia, Pernambuco, Rio de Janeiro, Maranhão, e os portos de Angola, São Paulo de Loanda Benquela e, principalmente, Novo Redondo". No tocante aos resultados de mistura racial de dendê, esta afirmação é bastante significativa uma vez que uma das duas populações de Angola estudadas neste trabalho é Novo Redondo.

De qualquer modo, parece haver consenso sobre a importância da Bahia como centro de chegada e distribuição de escravos de diversas procedências africanas (SALZANO e FREIRE MAIA, 1970; PIERSON, 1971). Mais ainda, existem evidências de que na navios portugueses procedentes de vários países africanos passavam pelos portos de Angola antes de cruzarem o Atlântico (RODRIGUES, 1977).

Ainda que não seja possível se determinar a importância relativa dos escravos e portugueses na introdução do dendê no Brasil, os dados de mistura racial sobre a composição genêtica de material subespontâneo estão de acordo com quaisquer das hipóteses mais prováveis.

6. CONCLUSÕES

1. O germoplasma de dendê amostrado nas áreas de maior ocorrência, nos tabuleiros costeiros do estado da Bahia, detém parte importante da variabilidade genética identificada a nível da espécie, para os sistemas isoenzimáticos estudados.

2. A comparação dos resultados obtidos com material subespontâneo da Bahia e seis procedências africanas de dendê indicam que o material encontrado no Brasil possui composição genética fortemente influenciada por material genético de Angola e Zaire. Com base nestes resultados, boas combinações híbridas são esperadas do cruzamento de palmeiras 'Dura' selecionadas em material subespontâneo com palmeiras 'Tenera' ou 'Písifera' de material africano da Costa do Marfim e Zaire.

3. A focalização isoelétrica de extratos de pólen de

dendê permitiu a identificação de várias isoesterases que hidrolisam substrato fluorogênico. Os padrões fenotípicos observados na região E (EstE1 e EstE2) sugerem que, o controle genético destas duas esterases é determinado por dois alelos codominantes e que a enzima tem estrutura monomérica.

4. A metodologia apresentada para a solubilização de isoenzimas a partir da folha número um de palmeiras adultas e os padrões eletroforéticos obtidos para este material permitem que plantas no ciclo reprodutivo feminino ou no estágio de imaturidade sejam prontamente analisadas. Os resultados com material foliar são comparáveis com aqueles obtidos com pólen, para os locais que se expressam nestes dois tecidos.

7. RESUMO

O programa de melhoramento do dendê, conduzido pela EMBRAPA, orienta os cruzamentos de forma a produzir híbridos intraespecíficos entre procedências geneticamente distintas. Para isto, torna-se necessário conhecer o nível de variabilidade dentro e entre populações, naturais ou melhoradas, e como estas estão geneticamente relacionadas.

[Este trabalho analisou a variabilidade isoenzimática existente em amostras de palmeiras pertencentes a 31 progênies de polinização aberta, formadas a partir de cachos que foram obtidos em pontos de coleta ao longo da rodovia que liga os municípios bahianos de Santo Antônio de Jesus a Camamú, área de maior ocorrência de dendê subsespontâneo do país.

Utilizou-se a eletroforese em gel de amido de extratos

de pólen para o exame de 9 locos de 7 sistemas enzimáticos a saber: Isocitrato desidrogenase (IDH - EC 1.1.1.42), Malato desidrogenase (MDH - EC 1.1.1.37); Fosfoglicomutase (PGM - EC 5.4.2.2), Fosfatase ácida (ACP - EC 3.1.3.2), Fosfoglico desidrogenase (PGD - EC 1.1.1.44), Fosfoglicoisomerase (PGI - EC 5.3.1.9) e Shikimato desidrogenase (SKDH - EC 1.1.1.25). Esterases que hidrolisam substrato fluorogênico (Est - EC 3.1.1.1) foram estudadas utilizando-se a focalização isoelétrica de extratos de pólen em gel de poliacrilamida em dois gradientes de pH (4,0-6,5 e 4,5-5,4).

Dados de eletroforese foram comparados com aqueles obtidos de pesquisas anteriores utilizando a mesma metodologia em amostras de seis procedências africanas de dendê.

Tomando-se por base as análises de distância genética e mistura racial realizadas, pode-se concluir que a composição genética do material subespontâneo da Bahia contém, aproximadamente, 67% de participação de germoplasma de Angola, 33% do Zaire, considerando-se os níveis de amostragem praticados e a natureza dos materiais empregados nas análises.

O exame das isoesterases, pela focalização isoelétrica de extratos de pólen, revelou a existência de um grande número de bandas distribuídas em 5 regiões de atividade arbitrariamente definidas. Os padrões fenotípicos observados na região E sugerem que o controle genético de duas variantes identificadas em um loco é determinado por dois alelos codominantes (EstE1 e EstE2) e que a enzima tem estrutura monomérica. As frequências destes dois alelos na amostra analisada foram estimadas em 0,54 e 0,46 para EstE1 e EstE2, respectivamente.

Adicionalmente, estabeleceu-se metodologia para a extração de isoenzimas de folhas adultas. Dentre os sistemas enzimáticos estudados, diferenças fenotípicas significativas foram observadas para MDH e PGM. A análise dos zimogramas de pólen e folha mostra que os locos MDHA, MDHB e PGMA não se expressam em tecido foliar. O método desenvolvido permite que se analisem coleções de germoplasma em fase de imaturidade ou palmeiras em ciclo reprodutivo feminino.

8. SUMMARY

EMBRAPA's Oil Palm Breeding Program employs crossings that will result in intraespecific hybrids between genetically distinct procedences. Therefore, the level of variability within and among natural or breeding populations is being determined as well as how these procedences are genetically related.

The isozyme variability present in oil palm samples derived from 31 open pollinated progenies were analyzed. The mother trees of these progenies were taken from an area with the highest occurrence of subspontaneous oil palms in Brazil along the road that connects the counties of Santo Antônio de Jesus and Camamú.

Starch gel electrophoresis was employed to examine nine loci for seven enzyme systems in pollen extracts. These systems

were Isocitrate dehydrogenase (IDH - EC 1.1.1.42), Malate dehydrogenase (MDH - EC 1.1.1.37), Phosphoglucose mutase (PGM - EC 5.4.2.2), Acid phosphatase (ACP - EC 3.1.3.2), Phosphoglucose dehydrogenase (PGD - EC 1.1.1.44), Phosphoglucose isomerase (PGI - EC 5.3.1.9) and Shikimate dehydrogenase (SKDH - EC 1.1.1.25). Fluorogenic esterases (Est - EC 3.1.1.1) were studied employing isoelectric focusing (PAGIF) in two gradients (4.0-6.5 and 4.5-5.4).

Data obtained from starch gel electrophoresis were compared with those derived from other studies which employed the same methodology for the study of samples from six African provinces. Analysis of genetic distances and racial admixtures indicate that proportions of approximately 67% of germoplasm from Angola and 33% from Zaire were found in the subspontaneous sample studied.

Examination of isoesterases by PAGIF of pollen extracts revealed a great number of bands distributed in 5 arbitrarily defined regions of activity. The phenotypic patterns obtained for region E suggest that the genetic control for two variants identified at one locus is determined by 2 codominant alleles (EstE1 and EstE2) and that the enzyme has a monomeric structure. The frequency of these two alleles in the analyzed samples was estimated at 0,54 and 0,46 for EstE1 and EstE2, respectively.

A methodology for the extraction of isozyme from adult leaves was also established. Among the different enzymatic systems studied, significant phenotypic differences were observed for MDH and PGM. A comparative analysis of the zymograms obtained from

pollen and leaves, shows that the MDHA, MDHB and PGMA loci are not expressed in foliar tissue. This methodology permits the rapid analysis of immature germplasm collections or of palms in their feminine reproductive cycle.

9. BIBLIOGRAFIA

ALVES, M.R.P. e DEMATTE, M.E.S.P. (1987). *Palmeiras. Características Botânicas e Evolução*. Campinas, Fundação Cargill, 129p.

AMBLARD, P. (1988). Comunicação pessoal.

BARRET, S.C.H. e HUSBAND, B.C. (1990). *The genetic of plant migration and colonization*. In: *Plant population genetics, Breeding and genetic resources*. Sinauer. Associates Inc. Massachusetts, 449p.

BROWN, A.H.D. e WEIR, B.S. (1983). *Mesuring genetic variability in plant populations*. In: *Isozymes in plant genetics and Breeding*. Part A. Ed. Tanksley S.D. e Orton T.J. Elsevier, Amsterdam, 516p.

- CABELLO, P.H. e KRIEGER, H. (1991). *GENIOC-PROGRAMOTECA*. Ed. Fundação Osvaldo Cruz. Rio de Janeiro.
- CHANDLEE, J.M. e SCANDALIOS, J.G. (1987). Regulatory gene action during eucaryotic development. *Advances in Genetics*, 24:73-125.
- CORLEY, R.H.V. (1982). *The genus Elaeis*. In: *Developments in crop science 1. Oil Palm Research*. Elsevier, Amsterdam, 532p.
- ESCOBAR, E. (1980). Productividad potencial de diferentes cruces comerciales D x P de palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Coto, Costa Rica. *Turrialba*, 30(3):250-256.
- FINNERTY, V. e JOHNSON, G. (1979). Post-translational modification as a potential explanation of high levels of enzyme polymorphism: Xanthine dehydrogenase and Aldehyde oxidase in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 91:695-722.
- FOLHA DE SÃO PAULO (1990). Lobby americano faz guerra contra o dendê. Artigo publicado em 23.01.90.
- FREELING, M. (1983). *Isozyme systems to study gene regulation during development: A lecture*. In: *Isozymes in plant genetic and breeding*. Part A. Ed. Tanksley S.D. e Orton J.J. Elsevier, Amsterdam, 516p.
- GASCON, J.P. e DE BERCHOUX, C. (1963). Quelques relations entre les Dura et Tenera d'une même descendance et leur application a l'amélioration des semences. *Oleagineux*, 18(6):411-415.

- GASCON, J.P. e DE BERCHOUX, C. (1964). Caracteristiques de la production d'*Elaeis guineensis* (Jacq.) de diverses origines et de leurs croisements. Application a la sélection du palmier a huile. *Oleagineux*, 19(2):75-84.
- GASCON, J.P.; JACQUEMARD, J.C.; HOUSSOU, M.; BOUTIN, D.; CHAILLARD, H. e KANGAFONDJO, F. (1981). La production de semences sélectionnées de palmier à huile *Elaeis guineensis*. *Oleagineux*, 36(10): 481.
- GASCON, J.P.; NOIRET, J.M. e MEUNIER, J. (1969). Effets de la consanguinité chez *Elaeis guineensis*, Jacq.. *Oleagineux*, 21(11): 603-607.
- GHESQUIÈRE, M. (1983). Contribution a l'etude de la variabilité génétique du palmier a huile (*Elaeis guineensis*, Jacq.): Le polymorphisme enzymatique. Orsay Université de Paris-Sud. Tese de doutorado, 116p.
- GHESQUIÈRE, M. (1984). Polymorphisme enzymatique chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis*, Jacq.). I - Contrôle génétique de neuf systèmes enzymatiques. *Oleagineux*, 39(12):561-574.
- GHESQUIÈRE, M. (1985). Polymorphisme enzymatique chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis*, Jacq.). II - Variabilité et structure génétique de sept origines de palmiers. *Oleagineux*, 40(11):529-540.
- GHESQUIÈRE, M.; BARCELOS, E.; SANTOS, M.de M. e AMBLARD, P.(1987). Polymorphisme enzymatique chez *Elaeis oleifera* H.B.K. (*E. mela*

- nococca*). Analyse des populations du Bassin amazonien. *Oleagineux*, 42(4):143-153.
- GOODMAN, M.M e STUBER, C.W. (1983). *Maize*. In: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Part B. Ed. Tanksley S.D. e Orton T.J. Elsevier, Amsterdam, 472p.
- GROVE, S.J. e NANCE, W.E. (1973). *Abnormal hemoglobins in northeastern Brazil*, In: Morton, N.E. ed. *Genetic structure of populations*. University of Hawaii Press. Honolulu, 313p.
- HAMRICK, J.L. e GODT, M.J. (1990). *Allozyme diversity in plant species*. In: *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer Associates Inc. Massachusetts, 449p.
- HARDON, J.J. (1969). Breeding in some perennial industrial crops. *SABRAO Newsletter*, 1(1):37-50.
- HARRIS, H. e HOPKINSON, D.A. (1976). *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. Amsterdam. Elsevier.
- HARTLEY, C.W.S. (1977). *The Oil Palm*. Longman, London. 806p.
- INSTITUTE DES RECHERCHES POUR LES HUILES ET OLEAGINEUX. (1983). *Instructions generales de fecundations artificielles et preparation des graines - Palmier à huile*. Paris, IRHO. 62p.
- KAHLER, A.L. e ALLARD, R.W. (1981). Worldwide patterns of genetic variation among four esterase loci of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 59:101-111.

- KEPHART, S.R. (1990). Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. *American Journal of Botany*, 77(5):693-712.
- KRIEGER, H.; MORTON, N.E., MI, M.P.; AZEVEDO, E.; FREIRE MAIA, A. e YASUDA, N. (1965). Racial admixture in northeastern Brazil. *Annals of Human Genetics*, 29:113-125.
- LOBO, J.A.; DEL LAMA, M.A. e MESTRINER, M.A. (1989). Populational differentiation and racial admixture in the africanized honey bee (*Apis mellifera* L.). *Evolution*, 43(4):794-802.
- LOENING, V.E. (1967). The fractionation of high molecular weight ribonucleic acid by polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochemical Journal*, 102:251-275.
- LOOMIS, W.D. (1969). Removal of phenolic compounds during the isolation of plant enzymes. *Methods in Enzymology*, 13:555-563.
- LOOMIS, W.D. (1974). Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. *Methods in Enzymology*, 31:528-545.
- LOOMIS, W.D. e BATTAILE, J. (1966). Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry*, 5:423-438.
- LUCCHINI, F. e MORIN, J.P. (1984). Distribuição e importância do *Elaeidobius subvittatus* (Col., CURCULIONIDAE) Polinizador do dendê, *Elaeis guineensis*, no Brasil. EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Seringueira e Dendê. Pesquisa em andamento nº 24. 5p.

- MAIA, A.de S. (1981). *Relatório Trimestral de Atividades*. Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC/DIDIC. 5p. (datilografado).
- MARKERT, C.L. e MOELLER, F. (1959). Multiple forms of enzymes: tissues, ontogenetic and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 45:753-763.
- Mc CUNE, D.C. (1961). Multiple peroxidase in corn. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 94:723-730.
- MELO, J.R.V. de (1985). Prospecção e caracterização de populações subespontâneas de dendezeiros (*Elaeis guineensis*, Jacq.) nos tabuleiros costeiros de Valença-Bahia. Fortaleza, Universidade Federal do Ceará. Dissertação de Mestrado, 74p.
- MEUNIER, J. (1969). Étude des populations naturelles d'*Elaeis guineensis* en Côte d'Ivoire. *Oleagineux*, 24(4).195-201.
- MEUNIER, J. (1975). Le "palmier à huile" américain, *Elaeis melanococca*. *Oleagineux*, 30:51-62.
- MEUNIER, J. e GASCON, J.P. (1972). Le schéma général d'amélioration da palmier à huile à l'I.R.H.O. *Oleagineux*, 21(1):1-12.
- MOORE, H.E. e UHL, N.W. (1982). Major trends of evolution in palms. *The Botanical Review*, 48:1-69.
- MOORE, G.A. e COLLINS, G.B. (1983). *New challengers confronting plant breeders*. In: *Isozymes in plant genetics and breeding*. Part A Ed. Tanksley S.D. e Orton T.J. Elsevier, Amsterdam. 516p.

- NEI, M. (1973). *The theory and estimation of genetic distance*. In: *Genetic structure of populations*. Ed. Morton, N.E. University of Hawaii Press. Honolulu, 313p.
- PIERSON, D. (1971). *Branços e pretos na Bahia. (Estudo de contato racial)*. Companhia Editora Nacional. São Paulo. Coleção Brasileira, 241, 2ed. 429p.
- RAJANAIDU, N. (1985). *The Oil Palm (Elaeis guineensis) collections in Africa*. In: *Annals of the International Workshop on Oil Palm Germplasm and Utilization*. Kuala Lumpur. Malaysia.
- RAJANAIDU, N. e WILLIAMS, J.T. (1977). Comparative disc electroforetic studies of the seed protein of *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera* and their F₁ hybrids. *MARDI Research Bulletin*, 6(1). 1-5.
- REBORDINOS, L. e de la VEGA, P. (1988). Extend of genetic variability of endosperm esterases in *Triticum aestivum* L. 2n=6x=42. *Theoretical and Applied Genetics*, 78:728-734.
- RODRIGUES, N. (1977). *Os africanos no Brasil*. Companhia Editora Nacional. São Paulo. Coleção Brasileira, 9, 5a. ed. 283p.
- ROHLF, J.F. (1988). *Numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Version 1-4, Setemket, New York.
- ROSENQUIST, E.A. (1985). *The Genetic Base of Oil Palm Breeding Populations*. In: *Annals of the International Workshop on Oil Palm Germplasm and Utilization*. Kuala Lumpur. Malaysia.

- SALZANO, F.M. e FREIRE MAIA, N. (1970). *Problems in human genetics. A study of Brazilian populations*. Wayne State University Press. Detroit, 200p.
- SPARNAAIJ, L.D. (1960). The analysis of bunch production in the Oil Palm. *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*, 3(10).109-180.
- SANTOS, M. de M. (1990). Solubilização de enzimas a partir de tecidos vegetais: uma contribuição para a compreensão dos problemas relacionados com a manutenção da atividade enzimática em extratos vegetais submetidos à eletroforese. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Exame de Qualificação a nível de doutoramento apresentada ao Departamento de Genética. 37p.
- SANTOS, M. de M.; BARCELOS, E. e NASCIMENTO, J.C. (1985). Genetic resources of *Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortês in the Brazilian Amazon. In: *Annals of the Workshop on Oil Palm Germplasm and Utilization*. Kuala Lumpur. Malaysia.
- SANTOS, M. de M. e MESTRINER, M.A. (1989). Isozyme extraction from mature Oil Palm (*Elaeis guineensis*, Jacq.) leaves for electrophoretic studies. *Revista Brasileira de Genética*, 12(3): 655-657.
- SANTOS, M. de M.; VALOIS, A.C.C. e ROCHA NETO, D.G. (1984). Programa Nacional de Pesquisa de Dendê da EMBRAPA: Bases sólidas para o desenvolvimento desta cultura no Brasil. In: *Anais do 1º Simpósio do Trópico Úmido*. Belém, Pará.

- SCANDALIOS, J.G. (1974). Isozymes in development and differentiation. *Annual Review of Plant Physiology*, 25:225-258.
- SCANDALIOS, J.G. e BAUM. J.A. (1982). Regulatory gene variation in higher plants. *Advances in Genetics*, 21:347-370.
- SHAW, C.R. e PRASAD, R. (1970). Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, 4:297-320.
- SIMPSON, M.J.A. e WHITHERS, L.A. (1986). *Characterization using isozyme electrophoresis: A guide to the literature*. Documentation of genetic resources. International Board for Plant Genetic Resources. Rome, 102p.
- SMITHIES, O. (1955). Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum protein of normal human adults. *Biochemical Journal*, 61:629-641.
- TANKSLEY, S.D. e ORTON, T.J. (1983). *Isozymes in plant genetics and breeding*. Part A. Ed. Tanksley S.D. e Orton T.J. Elsevier, Amsterdam, 516p.
- TANKSLEY, S.D. e RICK, C.M. (1980). Genetics of esterases in species of *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 56:209-219.
- WOLD, F. (1981). In vivo chemical modification of proteins (Post-translational modification). *Annual Review of Biochemistry*, 50: 783-814.

YONG, T.G. (1982). *Cytology and cytogenetics*. In: *Developments in crop science 1. Oil Palm Research*. Elsevier, Amsterdam, 532p.

ZEVEN, A.C. (1972). The partial and complete domestication of the Oil Palm (*Elaeis guineensis*). *Economic Botany*, 26(3):274-279.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Análises de cachos para % frutos normais (FN), peso médio de fruto (PMF), percentagem de polpa no fruto (P/F), percentagem de amêndoa no fruto (A/F) e percentagem de óleo na polpa fresca (O/PF) e seca (O/PS), referentes a 95 cachos amostrados durante prospecção nos tabuleiros costeiros do estado da Bahia, 1981.

AMOSTRA	ÁREA	FN	PMF	P/F	A/F	O/PF	O/PS
1*	2	85,20	10,10	55,91	15,44	47,62	76,80
2*	2	76,41	4,35	47,23	16,89	47,12	81,60
3*	2	75,41	5,09	41,61	21,20	42,59	79,60
4	2	87,98	13,86	49,82	9,16	44,25	76,30
5	2	86,69	7,11	39,18	14,34	42,40	70,20
6*	2	85,21	8,87	48,76	12,46	47,03	77,10
7	2	86,11	9,49	47,13	11,27	43,77	72,50
8	2	87,65	13,39	45,41	12,73	48,63	78,55
9	1	85,90	10,99	43,49	16,06	46,31	79,30
10	1	89,59	13,66	46,77	ç3,17	29,93	64,70
11	1	86,88	9,10	42,43	11,54	43,58	73,90
12	1	86,64	13,75	46,70	11,64	33,83	69,60
13	1	81,42	10,65	42,30	11,88	38,59	72,00
14*	1	86,70	6,36	45,05	16,59	37,31	71,20
15	1	88,59	15,10	40,73	11,26	22,30	54,40
16	1	82,40	6,87	45,32	16,08	44,78	72,00
17	1	85,93	8,94	45,05	18,61	40,47	67,00
18	1	89,98	13,01	56,14	7,23	36,66	68,40
19*	1	89,06	9,32	47,75	13,62	38,88	71,20
20	1	82,72	19,16	46,16	13,57	36,00	72,00
21	1	85,34	18,53	54,66	8,02	46,10	80,06
22	1	83,51	10,89	47,05	12,07	38,00	74,80
23	1	93,09	19,40	51,76	9,49	55,80	80,40
24	1	87,90	12,13	49,91	9,48	45,81	75,60
25*	2	83,33	15,43	66,31	8,33	52,67	77,00
26	2	88,89	17,83	53,63	9,70	45,30	75,00
27*	2	-	6,53	55,87	9,72	63,34	84,00
28*	2	88,92	10,54	56,10	10,01	59,52	83,60

CONTINUAÇÃO

AMOSTRA	ÁREA	FN	PMF	P/F	A/F	O/PF	O/PS
29*	2	89,08	6,29	41,48	16,77	30,98	64,00
30	2	79,41	13,01	85,80	4,61	44,97	73,00
31*	2	83,51	8,66	52,16	10,16	47,86	82,80
32	2	90,21	7,82	43,65	15,59	49,29	80,80
33	2	84,31	9,03	44,83	13,06	29,62	69,20
34	2	88,11	8,25	49,42	13,32	42,46	72,30
35	2	90,91	9,14	49,27	11,70	49,68	84,20
36	2	80,95	7,89	45,17	12,42	48,45	82,40
37	2	82,32	6,72	45,28	15,32	38,47	78,20
38	2	85,21	12,78	59,50	8,06	49,32	82,20
39	2	87,50	12,21	43,59	13,44	40,70	76,80
40	2	-	-	-	-	-	-
41	2	85,58	9,07	52,38	10,20	39,81	74,00
42	2	88,95	8,42	47,49	14,07	38,02	70,40
43	3	-	11,37	58,67	8,22	49,93	82,40
44	3	88,69	17,35	57,71	9,22	50,16	76,00
45*	3	82,85	9,94	47,10	13,53	22,98	56,60
46*	3	-	8,73	61,74	10,94	58,30	84,00
47*	3	-	12,13	60,47	12,16	51,36	85,60
48*	3	85,19	10,54	54,41	10,25	47,27	76,00
49*	3	84,23	11,62	57,23	12,69	47,88	80,60
50	3	86,71	15,30	56,30	8,50	67,21	97,40
51	3	85,13	18,95	51,95	13,43	46,91	76,40
52*	3	-	-	-	-	-	-
53	3	84,49	11,01	62,12	7,81	47,39	78,20
54	3	87,92	14,58	51,22	9,60	38,59	71,20
55	3	89,72	13,33	55,59	9,41	56,33	81,40
56	4	86,89	9,32	42,17	12,34	22,24	55,60
57	4	-	13,08	56,76	9,36	28,16	44,00
58	4	87,33	11,90	51,38	9,66	29,72	61,40
59	4	88,59	11,12	51,49	9,89	43,50	75,00
60	4	87,35	9,29	53,45	11,84	44,72	73,80
61	4	85,10	14,67	55,90	10,60	45,44	74,00
62	4	88,27	10,45	50,37	11,05	46,66	77,00

CONTINUAÇÃO

AMOSTRA	ÁREA	FN	PMF	P/F	A/F	P/PF	O/PS
63	4	85,75	10,82	46,86	10,26	51,83	82,80
64	4	84,02	11,26	50,62	11,32	42,86	75,20
65	4	83,95	8,29	61,09	8,87	37,27	72,80
66	4	85,59	12,19	57,07	9,85	50,85	80,20
67	4	83,33	11,38	52,17	11,11	45,83	78,20
68	4	91,55	17,74	53,56	6,62	34,50	70,40
69	4	87,24	13,86	40,86	9,95	43,93	76,80
70*	5	85,28	9,76	64,06	9,28	41,90	72,00
71*	5	81,16	7,99	57,45	9,20	30,58	66,20
72*	5	79,89	9,57	51,23	10,04	45,67	78,20
73*	5	-	8,46	57,86	9,34	52,59	79,20
74	5	77,95	10,10	51,83	8,91	50,60	74,20
75	5	85,17	14,40	58,42	7,33	36,45	72,60
76	5	75,15	6,83	54,21	10,04	28,94	67,00
77	5	78,64	13,16	54,07	9,80	44,23	81,60
78*	5	78,84	9,23	55,15	9,21	15,30	47,80
79	5	85,05	15,26	57,50	8,13	41,06	80,20
80*	5	81,33	8,50	47,06	15,29	47,72	79,00
81*	5	-	12,55	43,72	13,15	49,10	72,10
82	5	87,37	11,84	54,42	7,81	52,05	77,00
83*	5	79,82	7,89	48,35	12,17	35,23	68,80
84*	5	-	11,71	56,53	10,25	49,27	78,20
85*	5	-	13,20	94,16	4,50	53,59	77,00
86	5	72,86	12,38	60,22	7,74	47,12	73,40
87	5	85,31	17,60	61,35	7,24	43,92	73,20
88*	5	-	14,81	56,31	7,12	48,02	74,80
89	5	84,29	10,33	53,92	9,87	36,86	68,00
90*	5	-	18,50	52,01	8,45	38,91	76,00
91	5	90,06	11,69	51,56	10,13	41,89	68,00
92	5	87,50	18,56	64,80	5,55	41,70	77,80
93*	5	-	11,83	52,24	8,03	48,36	74,40
94	5	85,07	12,35	45,65	12,87	52,55	87,00
95*	5	88,76	11,48	50,39	12,72	49,87	77,20

CONTINUAÇÃO

AMOSTRA

\bar{X} TOTAL (σ)	85,22 (3,91)	11,50 (3,39)	52,38 (8,32)	10,99 (3,01)	43,48 (8,85)	77,55 (7,89)
\bar{X} SELEÇÃO (σ)	83,51 (4,08)	10,00 (3,06)	52,81 (6,39)	11,65 (3,49)	44,96 (10,33)	75,08 (8,19)

* Amostras selecionadas para plantio no BAG-Dendê.

** Áreas: 1 - Valença Sul; 2 - Valença Norte; 3 - Taperoá-Ituberã; 4 - Camamú; 5 - Santo Antônio de Jesus.

OBS. Neste trabalho considerou-se somente três áreas, conforme consta no item Material e Métodos.

ANEXO 2. Resultados das análises para determinação genotípica das 101 amostras de pólen de dendê subespontâneo dos tabuleiros costeiros da Bahia.

AMOSTRA	PROGENIE	REGIÃO	PGM		IDH	SKDH	MDH		PGI	PGD	ACP	EST
			A	B			A	G				
A315712	19	1	2-2	3-3	1-3	2-2	1-2	1-1	-	-	1-1	1-1
A315210	19	1	2-2	3-4	1-1	2-2	2-2	1-1	2-3	1-1	1-2	1-2
A315208	19	1	2-5	3-3	1-1	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1	1-2
A315009	14	1	2-5	3-3	1-4	1-2	1-2	1-1	1-3	1-1	1-1	1-1
A314913	14	1	5-5	3-3	1-1	2-2	1-2	1-1	1-1	1-1	2-2	1-1
A315008	14	1	2-5	3-3	4-4	2-2	1-2	1-1	2-2	1-1	2-2	1-2
A315110	27	2	2-2	3-3	1-3	1-2	1-2	1-1	1-3	1-1	1-2	1-2
A315108	27	2	2-2	3-3	1-3	1-2	2-2	1-1	1-3	1-1	2-2	2-2
A315109	27	2	2-5	3-3	1-3	2-2	2-2	1-1	2-2	1-1	1-1	2-2
A314603	02	2	2-2	3-3	4-4	1-2	1-2	1-1	1-1	1-1	1-2	1-1
A314308	02	2	2-2	3-3	3-3	2-2	1-1	0-0	1-3	1-1	1-2	1-2
A314604	02	2	-	-	-	1-2	-	1-1	-	1-1	1-2	2-2
A316018	03	2	2-5	3-4	4-4	2-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-1	1-2
A314110	03	2	2-5	3-4	3-4	-	-	1-1	3-3	1-1	2-2	1-1
A314108	03	2	2-5	3-3	3-4	-	-	1-1	3-3	1-1	2-2	1-1
A314409	01	2	2-2	3-3	1-1	2-2	1-1	0-0	1-2	1-1	1-2	1-2
A314408	01	2	2-5	3-3	1-4	1-2	1-1	1-1	2-3	1-1	1-2	1-2
A314410	01	2	2-2	3-3	3-3	2-2	1-1	0-0	2-2	1-1	-	1-2
A314810	31	2	-	-	3-3	2-2	1-2	0-0	1-2	1-1	2-2	2-2
A315217	31	2	2-2	3-3	3-4	1-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-2	1-1
A315221	31	2	2-5	3-3	1-3	2-2	2-2	1-1	1-2	1-1	-	1-1
A315420	25	2	2-2	3-3	1-3	2-2	1-2	1-1	3-3	1-1	2-2	2-2
A315602	25	2	2-2	3-3	3-4	2-2	1-1	1-1	1-2	1-2	-	2-2
A315419	25	2	2-2	3-4	1-1	-	1-2	1-1	2-2	1-1	1-2	2-2
A315812	29	2	2-2	3-3	3-3	2-2	1-1	1-1	1-2	1-2	1-2	2-2
A315816	29	2	2-5	3-3	3-4	1-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-2	1-2
A315407	29	2	2-2	3-3	4-4	2-2	1-1	1-1	1-3	1-1	1-2	1-2
A315411	29	2	5-5	3-3	-34	2-2	1-2	1-1	2-2	2-2	2-2	1-2
A315015	28	2	2-5	3-3	3-3	-2-	1-2	1-1	1-2	1-1	2-2	1-2
A315504	28	2	-	3-3	3-4	2-2	-	1-1	1-2	1-1	-	1-1
A315506	28	2	2-2	3-3	1-4	2-2	-	1-1	1-1	1-1	1-2	1-2
A315003	06	2	2-2	3-3	1-3	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1	1-1
A313805	06	2	-	-	3-3	-	-	-	-	-	1-2	2-2

AMOSTRAS	PROGENIE	REGIÃO	PGM		IDH	SKDH	MDH		PGI	PGD	ACP	EST
			A	B			A	G				
A315005	06	2	2-2	3-3	3-3	-	-	1-1	-	1-1	1-2	1-1
A315405	85	5	2-5	3-4	3-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-2
A314205	85	5	5-5	3-4	3-4	2-2	1-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1
A314203	85	5	2-2	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-2	1-1
A315704	90	5	2-5	3-3	3-5	2-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-1	1-2
A315705	90	5	-	4-4	4-4	1-1	1-2	1-1	-	-	-	1-2
A315713	90	5	-	3-3	1-3	2-2	1-1	1-1	2-2	1-1	1-1	1-2
A315609	95	5	5-5	3-3	3-4	1-2	1-2	1-1	1-3	1-1	1-2	2-2
A315610	95	5	2-2	3-4	3-4	1-2	2-2	1-1	1-2	1-1	1-2	1-2
A316219	95	5	2-5	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	1-2	1-1	1-2	1-2
A315708	71	5	2-2	3-3	3-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-2
A315312	71	5	2-2	3-3	3-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1
A315710	71	5	5-5	3-4	3-3	1-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1
A316011	72	5	2-5	3-3	3-3	2-2	1-2	1-1	1-3	1-1	1-2	1-2
A316120	72	5	2-5	3-4	4-4	2-2	1-2	1-1	1-1	1-1	1-2	1-1
A316007	72	5	2-2	3-4	4-4	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1	2-2
A316119	72	5	2-5	3-4	1-4	1-2	1-1		1-1	1-1	1-1	1-2
A315317	73	5	2-2	4-4	4-4	1-2	2-2	1-1	-	-	1-1	1-2
A314608	73	5	2-5	4-4	4-4	1-1	-	1-1	1-2	1-2	1-1	1-2
A314611	73	5	2-2	3-3	4-4	1-1	2-2	1-1	1-3	1-1	1-2	2-2
A316107	70	5	2-2	3-3	3-3	2-2	1-1	1-1	-	-	1-2	2-2
A314406	70	5	2-5	3-3	3-3	2-2	1-1	1-1	1-3	1-1	1-2	2-2
A314403	70	5	2-2	3-3	3-3	2-2	1-1	1-1	2-2	1-1	2-2	-
A316110	70	5	2-2	3-3	3-4	1-2	1-2	1-1	1-2	1-1	2-2	1-2
A315910	81	5	2-2	3-4	3-4	2-2	2-2	1-1	1-3	1-2	1-1	2-2
A314619	81	5	2-5	3-4	1-3	2-2	1-2	1-1	2-3	1-2	1-1	2-2
A315908	81	5	2-2	3-4	3-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-2	1-2
A315811	80	5	2-5	3-3	1-4	2-2	-	1-1	3-3	1-1	1-1	1-1
A314716	80	5	2-5	3-3	1-3	1-2	2-2	1-1	1-3	1-1	1-1	1-1
A314715	80	5	2-2	3-3	4-4	1-2	-	1-1	3-3	-	1-1	1-1
A315205	78	5	5-5	3-3	4-4	1-2	2-2	1-1	2-3	1-1	1-1	1-2
A314006	78	5	2-2	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	2-3	1-1	-	2-2
A314002	78	5	2-5	3-4	4-4	2-2	-	1-1	1-1	1-2	1-2	1-2
A314505	84	5	2-2	3-4	1-4	1-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	2-2
A314504	84	5	-	3-3	1-4	1-2	2-2	1-1	1-1	1-1	-	2-2
A314503	84	5	2-2	3-3	4-4	1-1	1-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1
A315803	83	5	2-5	4-4	4-4	2-2	1-2	1-1	2-3	2-2	1-1	1-1
A314302	83	5	2-5	4-4	1-4	2-2	1-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1
A314304	83	5	2-2	4-4	1-1	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1	-

AMOSTRA	PROGÊNIE	REGIÃO	PGM		IDH	SKDH	MDH		PGI	PGD	ACP	EST
			A	B			A	G				
A315718	83	5	5-5	3-4	1-1	2-2	1-2	1-1	1-1	1-2	1-1	1-1
A315304	88	5	2-2	3-3	1-4	2-2	1-2	1-1	1-3	1-1	1-2	1-2
A315302	88	5	2-5	3-4	3-4	2-2	-	1-1	3-3	1-2	1-2	1-2
A314105	88	5	-	4-4	4-4	1-2	-	1-1	1-1	-	1-2	2-2
A314908	93	5	2-5	3-4	4-4	1-1	2-2	1-1	1-1	2-2	1-1	1-2
A314907	93	5	-	3-4	3-4	2-1	2-2	1-1	1-1	2-2	1-2	1-2
A314910	93	5	2-2	4-4	4-4	1-2	1-2	1-1	1-2	2-2	1-2	1-2
A315310	48	3	2-5	3-4	1-1	2-2	1-2	0-0	1-1	1-1	-	1-1
A315309	48	3	2-2	3-3	1-1	2-2	2-2	1-1	2-2	1-1	2-2	2-2
A314812	48	3	2-2	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	2-3	1-1	1-2	2-2
A313705	45	3	2-5	3-4	1-4	2-2	2-2	1-1	-	-	1-1	-
A313704	45	3	2-5	3-3	-	1-2	1-2	1-1	3-3	1-1	1-2	-
A314906	45	3	2-5	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1
A314904	45	3	2-5	3-3	1-1	2-2	2-2	0-0	1-3	1-1	1-1	1-2
A314706	46	3	2-5	3-3	1-3	2-2	1-2	0-0	1-2	1-1	1-2	1-2
A314708	46	3	2-2	3-3	1-4	1-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-1	1-2
A315117	46	3	2-2	3-3	1-4	2-2	1-1	1-1	2-3	1-1	1-2	1-1
A315118	46	3	2-2	3-3	3-4	2-2	-	1-1	2-2	1-1	1-2	1-1
A315508	47	3	2-5	3-3	1-4	2-2	1-2	1-1	2-3	1-1	2-2	1-2
A314112	47	3	2-2	3-3	4-4	2-2	2-2	1-1	2-3	1-1	2-2	1-2
A314115	47	3	2-5	3-3	4-4	2-2	1-2	1-1	1-2	1-1	1-2	2-2
A315509	47	3	-	-	4-4	-	1-1	-	3-3	1-1	2-2	1-1
A314508	49	3	2-2	3-3	-	2-2	1-1	1-1	1-2	1-1	2-2	1-1
A314805	49	3	2-2	3-3	3-3	2-2	2-2	1-1	1-2	1-1	1-2	1-2
A314802	49	3	2-2	3-4	1-3	2-2	1-2	0-0	1-1	1-1	1-2	1-1
A314803	49	3	2-2	3-3	1-4	1-1	-	1-1	1-3	1-1	1-2	2-2
A315103	52	3	2-5	3-3	3-4	2-2	2-2	1-1	1-3	1-2	2-2	1-2
A314102	52	3	2-2	3-3	1-4	2-2	2-2	1-1	1-1	1-1	1-1	1-1
A315514	52	3	2-5	3-3	3-3	2-2	1-1	1-1	-	1-1	2-2	1-1