

## EXTENSÃO E ORGANIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DA COLEÇÃO BRASILEIRA DE GERMOPLASMA DE *Elaeis oleifera*

Valquiria Martins Pereira<sup>1</sup>, André Pereira Leão<sup>2</sup>, Luiz Henrique Vargas<sup>3</sup>, Marcelo Picanço de Farias<sup>4</sup>, Eduardo Fernandes Formigheri<sup>5</sup>, Guy de Capdeville<sup>5</sup>, Manoel Teixeira Souza Junior<sup>5</sup>, Sara de Almeida Rios<sup>6</sup>, Alexandre Alonso Alves<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> Doutorado em Biotecnologia Vegetal - UFLA. Email: vaumarpe@hotmail.com, <sup>2</sup> Analista – Embrapa Agroenergia. Email: andre.leao@embrapa.br, <sup>3</sup> Mestrando em Biotecnologia Vegetal - UFLA. Email: luiz.vargas@colaborador.embrapa.br, <sup>4</sup> Mestre em Biotecnologia Vegetal - UFLA. Email: mpfarias@gmail.com, <sup>5</sup> Pesquisador – Embrapa Agroenergia. Email: eduardo.formigheri@embrapa.br, guy.capdeville@embrapa.br, manoel.souza@embrapa.br, alexandre.alves@embrapa.br. <sup>6</sup> Pesquisadora – Embrapa Amazônia Ocidental. Email: sara.rios@embrapa.br

\* Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica, Avenida W3 Norte (Final), <http://www.cnpae.embrapa.br>, +55 61 3448 2320.

### RESUMO

A Palma de Óleo é considerada a única espécie capaz de complementar a soja no abastecimento das usinas produtoras de biodiesel em curto e médio prazo. Como forma de responder à crescente demanda, vêm-se buscando desenvolver novos genótipos superiores, como forma de maximizar a produção verticalmente. Nesse sentido, cabe destacar que os programas de melhoramento genético da cultura tem progressivamente passado a explorar híbridos interespecíficos entre a Palma de Óleo Africana (*Elaeis guineensis*) e a Palma de Óleo Americana (*Elaeis oleifera*). Neste estudo foi avaliada a extensão e a organização da diversidade genética da coleção de *Elaeis oleifera* mantida pela Embrapa, por meio de um bateria de alta densidade de marcadores moleculares (3.187 marcadores). A utilização de uma bateria maior de marcadores moleculares forneceu resultados diferentes daqueles até então obtidos. Esses novos resultados reforçam a hipótese que a Amazônia Brasileira deve ser um centro de diversificação secundário da espécie e que dada à história dispersiva da espécie a maior parte da diversidade concentra-se entre e dentro das populações. Além disso, os resultados deste estudo podem embasar futuras ações de conservação e enriquecimento da coleção de germoplasma, além de indicar populações a serem exploradas para o desenvolvimento de novos híbridos interespecíficos.

**Palavras Chave:** Caiaué, Biodiesel; DArTSeq.

### EXTENT AND ORGANIZATION OF GENETIC DIVERSITY OF THE BRAZILIAN *E. oleifera* GERMOPLASM COLLECTION

### ABSTRACT

The Oil Palm is considered to be the only species able to complement soybeans in the supply of vegetable oil for biodiesel production in the short and medium term. In order to meet the growing demand, the development new genetic material superior to current, is seen as a way to maximize the production vertically. Oil Palm breeding programs are now progressively exploring interspecific hybrids between African Oil Palm (*Elaeis guineensis*) and American Oil Palm (*Elaeis oleifera*). Here we evaluated the extent and organization of the genetic diversity of the collection of *E. oleifera* maintained by Embrapa, through a battery of high-density molecular markers (3,187 markers). The use of a larger battery of molecular markers provided results different from those obtained so far. This new results reinforce the hypothesis that the Brazilian Amazon is a secondary center of diversification of species and that, given the dispersive history of the species, the highest diversity is concentrated among and within populations. Furthermore, the results of this study may be the basis for future conservation and enrichment actions of the germplasm collection, besides indicating populations to be exploited for the development of new interspecific hybrids.

**Keywords:** Caiaué, Biodiesel; DArTSeq.

### INTRODUÇÃO

A palma de óleo (*Elaeis guineensis*) é considerada a cultura mais produtiva entre as oleaginosas cultivadas. Em função de sua alta capacidade de produção de óleo por unidade de área, seu rendimento médio é cerca de sete a dez vezes superior à produtividade da soja (RIOS et al., 2012). Como reflexo deste fato, estima-se que a Palma de Óleo ocupe atualmente apenas 5% da área total mundial utilizada para o cultivo de espécies

oleaginosas, embora responda por 33% da produção mundial de óleo vegetal (SINGH et al., 2013). Além disso, a demanda mundial por óleo de palma vem crescendo progressivamente, passando de 17 para 45,5 milhões de toneladas entre 1998 e 2010, respectivamente. Estimativas indicam que em 2015 a demanda possa chegar a 63 milhões de toneladas. Se considerar que o mercado de biocombustíveis está em plena expansão no mundo, e principalmente no Brasil e que a Palma de Óleo é considerada como a única espécie capaz de complementar a soja no abastecimento das usinas produtoras de biodiesel em curto e médio prazo (BECKER, 2010), a demanda poderá vir a ser maior. Como forma de responder a esta crescente demanda, além da expansão dos plantios comerciais para novas áreas (que no Brasil é regulamentada com base em dados de zoneamento agro-climáticos), vem-se buscando desenvolver novos materiais genéticos superiores aos atuais, como forma de maximizar a produção verticalmente. Nesse sentido, cabe destacar que os programas de melhoramento genético da cultura tem progressivamente passado a explorar híbridos interespecíficos entre a Palma de Óleo Africana ou Dendê (*E. guineensis*) e a Palma de Óleo Americana ou Caiuá (*Elaeis oleífera*). Isso porque, vem se buscando introduzir novas características aos materiais comercialmente disponíveis. Até muito recentemente os programas de melhoramento de Palma de Óleo tinham como objetivo primário a obtenção de cultivares com maior rendimento em óleo/ha. Entretanto, a principal área de expansão da cultura (estado Pará) coincide com a área de maior ocorrência de uma anormalidade conhecida como Amarelecimento Fatal - AF (SANTOS, 2010). Tal anormalidade vem dizimando os plantios de Dendê, já estabelecidos nessa região, forçando produtores e melhoristas a buscarem fontes de resistência em espécies relacionadas como o Caiuá. Além de apresentar resistência ao AF, tem sido demonstrado que tal espécie é também importante fonte de variabilidade para resistência à Fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*), porte reduzido e elevado teor de ácidos graxos insaturados. Sua incorporação aos programas de melhoramento genético de Palma de Óleo traz então enormes expectativas para incremento da produção e qualidade de óleo, e consequentemente, para a sustentabilidade para a palmicultura no país (RIOS et al., 2012).

A Palma de Óleo Americana é amplamente distribuída nas Américas Centrais e do Sul, principalmente na região da Amazônia. No Brasil, uma ampla coleção de germoplasma nativo foi estabelecida com base em uma série de expedições organizadas pela Embrapa e IRHO (Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux) atual CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement). Esta coleção vem sendo estudada desde então com a finalidade de se verificar a extensão e a organização da diversidade genética amostrada, uma vez que o conhecimento do modelo de variação entre os materiais é importante na definição das estratégias a serem utilizadas nos programas de melhoramento da espécie (OOI et al., 1981). Esses trabalhos foram em sua maioria realizados por meio de marcadores moleculares (MORETHZSOHN et al., 2000; BARCELOS et al., 1998). Entretanto, estes trabalhos se basearam em uma quantidade limitada de marcadores (em geral algumas dezenas). Considerando-se, entretanto, que o Caiuá é uma espécie alógama e nativa, o nível de diversidade existente talvez não possa ser adequadamente verificado com uma quantidade reduzida de marcadores. Isso porque ao mesmo se utilizar algumas centenas de marcadores (e.g. 200), para amostrar a diversidade, não mais que algumas dezenas de marcadores por grupo de ligação são esperados considerando que a espécie possui 16 pares de cromossomos. Nesta situação, se a extensão média do desequilíbrio de ligação em *E. oleífera* for bastante reduzida como em outras espécies alógamas e não melhoradas, a diversidade estimada com base em número reduzido de marcadores pode não se correlacionar com a diversidade fenotípica existente, pelo fato de os marcadores não amostrarem densamente todo o genoma da espécie. Atualmente, entretanto, com o desenvolvimento de novas plataformas de genotipagem, especialmente daquelas baseadas no princípio de genotipagem-por-sequenciamento, pode-se genotipar rapidamente um grande número de amostras para virtualmente milhares de marcadores. Há assim a possibilidade de se estimar de maneira precisa o nível de diversidade existente em coleções de germoplasma mesmo que a espécie em questão não apresente uma grande quantidade de recursos genômicos.

Frente ao exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar a dissimilaridade de 206 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *E. oleífera* mantido pela Embrapa, como forma de investigar a extensão e organização da diversidade genética amostrada nesta coleção.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O material vegetal (tecido foliar) foi coletado no Banco Ativo de Germoplasma mantido pela Embrapa Amazônia Ocidental (CPAA) e armazenadas em freezer -80°C até extração de DNA. A população amostrada foi composta por 206 subamostras (acessos), oriundos de coletas realizadas em 6 regiões distintas no Amazonas (Tabela 1). A extração de DNA foi realizada seguindo o protocolo CTAB padrão com as seguintes modificações: (i) o material vegetal foi incubado a uma temperatura de 65°C durante 60 minutos (sendo vertidos a cada 10 minutos); (ii) o pellet formado, quando colocado em isopropanol foi deixado em 4°C durante 30 minutos; (iii) se realizou uma lavagem com etanol 70% por 30 minutos e (iv) RNAase foi adicionada no TE antes da adição do

pellet. Após a extração, todas as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop® ND-1000) (considerou-se amostras de boa qualidade aquelas que apresentaram razão 260/280 nm  $\geq$  1,8), E verificadas quanto a integridade em géis de agarose 2% corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL). As amostras de DNA purificadas foram então enviadas para a DArT Pty (Austrália) para genotipagem em plataforma DArTSeq.

**Tabela 1.** Origem e número de subamostras de Palma de Óleo Americana analisados. *Table 1. Origin and number of subsamples of American Oil Palm.*

Regiões	Nº. Subamostras	Regiões	Nº. Subamostras	Regiões	Nº. Subamostras
<b>Reg. de Manaus:</b>		<b>Rio Solimões:</b>		<b>Reg. de Caracará:</b>	
Careiro	25	Tefé	05	BR 174 (Caracará)	01
Manacapuru	01	Anori	03	(Km 157)	01
Irاندuba	02	Tonantins	04	(Km 365)	04
Caldeirão	07	Benj. Const.	01	(Km 490)	05
<b>Rio Amazonas:</b>		Coari	19	(Km 500)	01
Amatari	11	<b>Rio Negro:</b>		V. Mod. (Per. Norte)	06
Autazes	11	Acajatuba	10	<b>Rio Madeira:</b>	
Maués	11	Moura	11	Manicoré	58
		Barcelos	02	Novo Aripuanã	07
<b>TOTAL 206</b>					

Para tanto as amostras individuais tiveram sua complexidade reduzida por meio de uma combinação de enzimas de restrição, e foram então marcadas individualmente por meio de barcodes e sequenciadas em conjunto em plataforma Illumina's HiSeq 2000. Após sequenciamento, os reads foram identificados e separados com base no barcodes em pipeline da empresa. Na ausência de um genoma de referência que pudesse ser utilizado para a chamada dos genótipos (genotype call), os reads únicos obtidos neste estudo foram utilizados para se montar uma sequência de referência, a qual os reads individuais foram mapeados (reads praticamente idênticos foram combinados de modo que um ou mais SNPs no read não confundisse a análise). A partir deste mapeamento foi realizado o score dos silico-DArTs (marcadores dominantes). Os marcadores resultantes foram então selecionados por meio da aplicação de filtros de qualidade baseados em Call Rate ( $>0,90$ ), Minor Allele Frequency (MAF  $> 0,10$ ) e Q-value ( $> 2$ ). Ao final um total de 3.187 marcadores DArTs selecionados para serem utilizados no estudo da diversidade genética.

A matriz de dupla entrada obtida (subamostras x marcadores) foi então utilizada para se calcular a matriz de dissimilaridade par-a-par por meio do coeficiente de Jaccard. Esta análise foi realizada por meio do Software DARwin v. 5.5. Esta matriz de dissimilaridade foi posteriormente utilizada para a construção de um dendrograma por meio do método de UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) e para a definição de grupos por meio do método de Otimização de Tocher. A verificação da qualidade do dendrograma obtido foi realizada pela computação do coeficiente de correlação cofenética. Os dados originais foram também utilizados para se analisar a partição da variação genética total entre regiões, entre populações e populações dentro de regiões por meio de uma análise de variância molecular (AMOVA). Os níveis de significância para os componentes de variância foram calculados adotando-se o critério de 1000 permutações. Esses procedimentos foram realizados por meio do programa computacional GENES (CRUZ, 2013).

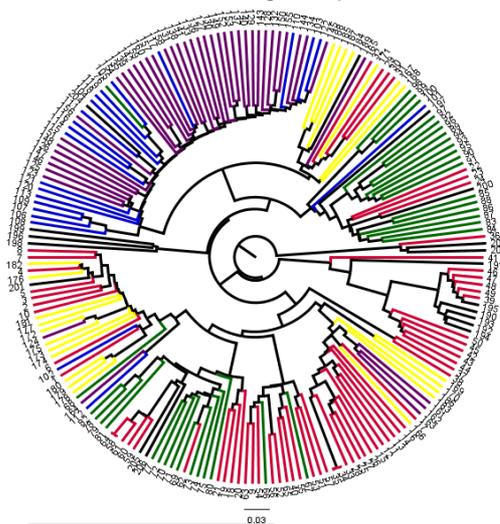
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dissimilaridade média entre as 206 subamostras que compõe o BAG verificada por meio de 3.187 marcadores moleculares foi de 0,4079 (variando de 0,0016 a 0,6064). Em se tratando de uma espécie alógama e de ocorrência natural na região de coleta, a extensão da diversidade genética pode ser considerada moderada. Moretzsohn et al. (2002) já haviam demonstrado que a diversidade da coleção de Palma de Óleo Americana (dissimilaridade média - 0,325) era mais restrita que a da coleção de Palma de Óleo Africana (dissimilaridade média - 0,528), mesmo considerando-se as diferenças de amostragem das mesmas. Isso pode estar relacionado ao fato da bacia Amazônica não ser o centro de origem da espécie, mas sim um centro de diversificação secundária. Dados levantados por Mohd Din et al. (2000) avaliando a diversidade de subamostras de *E. oleifera* coletas em regiões da Costa-Rica e Honduras reforçam essa hipótese, pois mostram uma ampla diversidade genética.

Um ponto interessante a ser destacado é que os resultados deste trabalho, embora corroborem aqueles obtidos por Moretzsohn et al. (2002), demonstram que a diversidade da coleção de Palma de Óleo Americana é de fato um pouco superior ao que se supunha. Tal fato pode estar relacionado à quantidade de marcadores utilizados no estudo. Enquanto Moretzshon et al. (2002) fizeram uso de 96 marcadores RAPDs (o que

equivaleria a em média 6 marcadores por grupo de ligação considerando distribuição aleatória dos mesmos), o estudo aqui relatado fez uso de 3.187 silico-DArTs (o que equivaleria a em média 200 marcadores por grupo de ligação considerando distribuição aleatória dos mesmos). Como anteriormente exposto, um pequeno número de marcadores pode não ser suficiente para amostrar todo o genoma se considerar que a extensão do genoma e do DL. Assim, o maior número de marcadores aqui utilizados pode ter favorecido a identificação de diferenças entre subamostras imperceptíveis para uma quantidade limitada de marcadores. Os dados aqui levantados indicam ainda que a menor dissimilaridade ocorre entre uma subamostra de uma população Novo Aripuanã - (Região do Rio Madeira) e uma subamostra da população Manicoré - (Região do Rio Madeira), enquanto que a maior dissimilaridade ocorre entre duas subamostras da população de Manicoré (Região do Rio Madeira). É interessante ressaltar que os pares de subamostras menos e mais divergentes aqui identificados correspondem aos mesmos que haviam sido identificados por Moretzsohn et al. (2002). Esse fato indica novamente que uma maior amostragem do genoma pode levar a resultados e conclusões diferentes. Em geral, no entanto, verifica-se que subamostras da região de Manicoré estão entre as mais divergentes. Isso pode ajudar a explicar o sucesso obtido na produção de híbridos interespecíficos entre *E. guineensis* e *E. oleifera*. Tais híbridos têm sido produzidos principalmente utilizando-se material proveniente da região de Manicoré. Como esses materiais parecem estar entre os mais divergentes de *E. oleifera*, a heterose manifestada em cruzamentos com materiais de *E. guineensis* pode estar sendo maximizada.

Além do cálculo da distância genética par-a-par procedeu-se a análise agrupamento por meio da técnica de UPGMA. O dendrograma obtido, demonstrando o relacionamento genético das 206 subamostras amostradas é apresentado na Figura 1. O coeficiente de correlação cofenético, que mede a associação entre as distâncias expressas graficamente na árvore e as distâncias reais, foi bastante elevado ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,0001$ ), demonstrando que a árvore pode ser utilizada para inferências sobre a organização da diversidade genética.



**Figura 1.** Dendrograma gerado pelo método UPGMA com base no índice de dissimilaridade de Jaccard para as 206 subamostras de *E. oleifera* que compõe o banco ativo de germoplasma da Embrapa (cor vermelha: Rio Madeira; cor verde: Região de Manaus; cor azul: Rio Amazonas; cor lilás: Rio Solimões; cor amarelo: Rio Negro e cor preto: Região Caracará). *Figure 1.* Dendrogram generated by UPGMA method based on Jaccard dissimilarity index for 206 subsamples of *E. oleifera* comprising Embrapa's active germoplasm bank (red: Rio Madeira; green: Region of Manaus, blue: Rio Amazonas; lilac: Rio Solimões, yellow: Rio Negro and black color: Region Caracará).

De imediato nota-se que o agrupamento geográfico é evidente, uma vez que subamostras de uma mesma população/região tendem a ser agrupadas conjuntamente (Figura 1). Entretanto, o dendrograma não permite a clara definição de grupos ao ser inspecionado visualmente. Esse resultado contrasta com aquele apresentado por Moretzsohn et al. (2002), que identificou 3 grandes grupos de subamostras de *E. oleifera*. Isso pode estar relacionado a dois fatos, a saber: (i) este trabalho amostrou 206 subamostras de 6 regiões distintas ao passo que Moretzsohn et al. (2002) amostrou 175 subamostras das mesmas regiões (i.e. a diversidade amostrada neste estudo pode de fato ser maior como evidenciado pela dissimilaridade média) e (ii) este trabalho utilizou uma densidade de marcadores pelo menos 33 vezes maior, nos permitindo amostrar regiões do genoma antes não exploradas, contribuindo para estimativas diferentes de dissimilaridade. Dada a impossibilidade de se verificar agrupamentos pela inspeção visual do dendrograma procedeu-se então com a análise de agrupamento pelo método aglomerativo de Tocher e Tocher modificado. Tal análise resultou em 18 e 9 grupos, respectivamente

(Tabela 2). Cabe salientar que dado ao principio do método a distância média entre indivíduos de um mesmo grupo é menor que a distância média entre grupos.

**Tabela 2.** Grupos formados pelo método de Tocher e Tocher Modificado, utilizando o coeficiente de dissimilaridade de Jaccard como medida de distância genética, referentes a 206 subamostras de *E. oleifera*.  
**Table 2.** Groups formed by Tocher's method and modified Tocher's method using Jaccard dissimilarity coefficient as a measure of genetic distance, regarding 206 subsamples of *E. oleifera*.

Grupo	Tocher			Tocher Md		
	Nº Acessos	% BAG	Composição	Nº Acessos	% BAG	Composição
1	54	26,31	Manacapuru, Moura, Caldeirão, Transcal, Careiro, Amajari, Autazes, Manicoré, Maués, Tonantins e Acajatuba.	54	26,31	Manacapuru, Moura, Caldeirão, Transcal, Careiro, Amajari, Autazes, Manicoré, Maués, Tonantins e Acajatuba.
2	16	7,76	BR 174 e Perimetral Norte.	16	7,76	BR 174 e Perimetral Norte.
3	66	32,03	Manicoré, N. Aripuanã, Careiro, Autazes e Tonantins.	94	45,63	Manicoré, N. Aripuanã, Amajari, Autazes, Maués, Anori, Coari, Tefé, Tonantins e Acajatuba.
4	20	9,70	Amajari, Autazes Maués e N. Aripuanã.	20	9,70	Amajari, Autazes, Caldeirão, Careiro, Moura e BR 174.
5	02	0,97	Moura	13	6,31	Coari e Tefé.
6	12	5,82	Caldeirão, Careiro, Acajatuba e BR 174.	02	0,97	Barcelos.
7	03	1,45	Coari.	03	1,45	Benjamin Constant e Tonantins.
8	02	0,97	Barcelos.	03	1,45	Tefé.
9	17	8,25	Anori, Coari e Tefé.	01	0,48	BR 174.
10	03	1,45	Benjamin Constant e Tonantins.			
11	02	0,97	Maués.			
12	03	1,45	Tefé.			
13	01	0,48	Tefé.			
14	01	0,48	Coari.			
15	01	0,48	Anori.			
16	01	0,48	Anori.			
17	01	0,48	Maués.			
18	01	0,48	BR 174.			

Nota-se que independentemente da técnica de agrupamento aglomerativa que dois grandes grupos são formados (Tabela 2). Estes dois grupos concentram cerca de 60% de todas as subamostras que compõem o banco ativo de germoplasma da Embrapa. A distância genética média entre subamostras dos dois maiores grupos formada pelo método de Tocher é respectivamente 0,29 e 0,25. Este resultado indica ainda que a formação dos mesmos parece estar relacionada à distribuição geográfica da subamostras. Tal tendência havia sido verificada anteriormente por Moretzshon et al. (2002), que demonstrou que subamostras coletadas em mesmo rio, tendem a ser mais relacionadas entre si. Entretanto, neste trabalho verificou-se também uma grande dispersão das demais subamostras, havendo um conjunto de 6 subamostras que não se agrupam com outras pelo método de Tocher. Isso pode indicar que a variação genética ocorre em nível bastante elevado entre populações e em alguns casos mesmo dentro destas, pois se a maior parte de variação estive concentrada em termos de regiões haveria tendência de serem formados grupos exatamente correspondentes às seis regiões amostradas, ao passo que se a maior parte de variação estive concentrada em termos de populações haveria tendência de se formar grupos correspondentes a essas populações. A fim de corroborar esta hipótese e de se verificar a partição da variação genética total entre regiões, entre populações e populações dentro de regiões, procedeu-se a análise dos dados originais por meio de uma análise de variância molecular (AMOVA). Esta análise demonstrou que diversidade genética de Palma de Óleo Americana esta concentrada dentro das populações (57,16 %) e não entre regiões ou entre populações (Tabela 3). Os resultados indicam também que há diferenças significativas entre as regiões ( $p < 0,001$ ), bem como entre as populações ( $p = 0,001$ ), como esperado para uma espécie perene alógamas e de longo ciclo (HAMRICK & GODT, 1989). Este mesmo comportamento foi observado por Moretzsohn et al. (2002), quando avaliou a diversidade genética entre 175 acessos de caiaué.

**Tabela 3.** AMOVA de 206 indivíduos de *E. oleifera*, 19 populações coletadas e distribuídas em seis regiões geográficas da Floresta Amazônica Brasileira. **Table 3.** AMOVA analysis of 206 individuals of *E. oleifera*, 19 populations collected and distributed into six geographic regions of Brazilian Amazon Forest.

FV	GL	SQ	QM	C. da variância	% da variação	Signif.
<b>Regiões</b>	5	31207.68	6241.53	127.21	24.33	**
<b>Pop/Região</b>	13	9871.45	759.34	96.73	18.50	**
<b>Dentro</b>	187	55892.19	298.88	298.88	57.16	**
<b>Total</b>	205	96971.33	473.03	522.84	100	

\*\*Significativo a 1% de probabilidade.

Esse resultado é coerente com a história dispersiva da espécie. Como anteriormente mencionado o centro de origem da espécie parece ser a região da Amazônia Central e a bacia amazônica brasileira parece ser um centro de dispersão secundário. Isso porque, a dispersão da espécie de suas áreas de ocorrência natural para a região onde as subamostras foram coletadas parece ter ocorrido por influência antrópica. Assim as populações de *E. oleifera* se concentram as margens da rede fluvial da Amazônia Brasileira por serem os rios rotas de migração de populações humanas locais. Além disso, as populações de Palma de Óleo Americana parecem ter passado por um processo fundador, resultante da dispersão de poucas sementes coletadas em poucas árvores mães. Isso pode explicar o padrão de agrupamento, baseado na rede fluvial e a consequente diferenciação entre e dentro de populações. Esses resultados indicam ainda que talvez apenas uma pequena parcela da diversidade da espécie tenha sido explorada ao se coletar subamostras apenas nas regiões dos rios de maior destaque na região. A fim de se ampliar a diversidade da coleção e fazendo uso destes dados, uma estratégia seria coletar novas subamostras em regiões distantes dos rios (menos sujeitas assim a efeito antrópico e fundador), priorizando-se a amostragem de um grande número de populações e de indivíduos destas populações.

## CONCLUSÕES

Frente ao exposto fica claro que a utilização de uma bateria maior de marcadores moleculares para estudo da diversidade genética de *E. oleifera* forneceu resultados diferentes daqueles até então obtidos. Esse novos resultados reforçam a hipótese que a Amazônia Brasileira deve ser um centro de diversificação secundário e que dada à história dispersiva da espécie a maior parte da diversidade concentra-se entre e dentro das populações. Além disso, é patente que o conhecimento sobre a organização da diversidade genética da coleção de germoplasma de *E. oleifera* pode embasar futuras ações de conservação e enriquecimento da coleção de germoplasma, além de indicar populações a serem exploradas para o desenvolvimento de híbridos interespecíficos entre *E. oleifera* e *E. guineensis*.

## REFERÊNCIAS

- BARCELOS, E. Étude de la diversité génétique du genre *Elaeis* (*E. oleifera* (Kunth) et *E. guineensis* Jacq.), par marqueurs moléculaires (RFLP et AFLP). These (Doutorado) – École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France. 137p. 1998.
- BECKER, B. K. Recuperação de áreas desflorestadas da Amazônia: será pertinente o cultivo da palma de óleo (Dendê)? 10 | 2010: Número 10. Disponível em: <http://confins.revues.org/6609>. Visualizado em 26.09.2013.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- HAMRICK, J. L. & GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: Plant population genetics, breeding and germplasm resources (ed. A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler & B. S. Weir), pp. 43-63. Sunderland, MA: Sinauer. 1989.
- MOHD DIN, A.; RAJANAIDU, N.; & JALANI, B. S. Performance of *E. oleifera* from Panamá, Costa Rica, Colombia and Honduras in Malaysia. Journal of Oil Palm Research, Vol.12, No. I, June, p.71-80. 2000.
- MORETZSOHN, M. C.; FERREIRA, M. A.; et al. Genetic diversity of Brazilian oil palm (*Elaeis oleifera*) germoplasm collected in the Amazon Forest. **Euphytica**. V. 124, p. 35-45, 2002.
- OOI, S. C.; SILVA, E. B. da; MÜLLER, A. A.; NASCIMENTO, J. C. Oil palm genetic resources: native *E. oleifera* populations in Brazil offer promising sources. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 16(3):385-395. 1981.
- RIOS, S. da. A.; CUNHA, R. N. V. da.; LOPES, R.; BARCELOS, E. Recursos genéticos de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) e caiaué (*Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortés). Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, **Documentos 96**, 39p. 2012.
- SANTOS, E. A. dos. Caracterização de Dendezeiros Subespontâneos com Base na Produção de Frutos e Cachos. Ilhéus, BA: Universidade Estadual de Santa Cruz / Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, 2010.
- SINGH, R.; ONG-ABDULLAH, M.; LOW, ENG-TI. L.; et al. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. 00 month, vol. 000, p. 1-7. **Nature**. 2013.