



VEGETAL

Estabelecimento de Coleção Nuclear da Palma de Óleo Americana [*Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés]

Jaire Alves F. Filho^{1,3}; André P. Leão¹; Raimundo N.
V. da Cunha²; Eduardo F. Formighieri¹; Alexandre
A. Alves¹; Manoel T. Souza Junior^{1,3*}

¹ Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

² Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³ Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

* manoel.souza@embrapa.br



V CBRG

www.cbrg2018.com.br

Estabelecimento de coleção nuclear da Palma de Óleo Americana [*Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés]

Jaire Alves Ferreira Filho^{1,3}; André P. Leão¹; Raimundo N. V. da Cunha²; Eduardo F. Formighieri¹; Alexandre A. Alves¹;

Manoel T. Souza Junior^{1,3*}

¹ Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, Brasil. ² Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brasil. ³ Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

*manoel.souza@embrapa.br - Agradecimentos: CAPES-MEC & FINEP-MCTIC (Projeto DendePalm).

Introdução

A cadeia de produção de óleo de palma no mundo é baseada quase exclusivamente na exploração econômica da espécie *Elaeis guineensis*. De origem africana, essa espécie é conhecida popularmente no Brasil como dendê. O dendê foi responsável pela produção de 59,4 milhões de toneladas de óleo na safra 2015/16, o equivalente a aproximadamente 32% de todo o óleo vegetal produzido no mundo (STATISTA, 2017). A versatilidade do óleo de palma tornou o dendê uma cultura importante para atender à crescente demanda por óleos vegetais advinda de diversos setores agroindustriais, tais como as indústrias de alimentos, higiene, cosméticos, fármacos, e, mais recentemente, a de biocombustíveis.

O gênero *Elaeis* é composto apenas por duas espécies, a *Elaeis guineensis* e a *Elaeis oleifera*. Esta segunda espécie é popularmente conhecida no Brasil como Caiaué e tem origem no Continente Americano. Populações naturais de Caiaué podem ser encontradas desde a América Central até o norte da América do Sul (Suriname, Colômbia e extremo noroeste do Brasil) (GHESQUIÈRE et al., 1987). Características como a resistência ao ataque de pragas, a tolerância a terrenos úmidos e a resistência a doenças tornam o Caiaué um importante ativo para o melhoramento genético do dendê. Uma das características mais importantes do Caiaué é a resistência ao amarelecimento fatal (AF), que é o maior problema do cultivo do dendê na América. Outra importante característica é a resistência à *Fusarium* spp., doença que limita a produção do dendê na África (MICHIELSE; REP, 2009). Essas duas espécies se cruzam com relativa facilidade, produzindo híbridos interespecíficos (HIE) viáveis. As populações de HIE reúnem características favoráveis das duas espécies e se constituem em uma fonte de grande variabilidade genética a ser explorada pelos melhoristas (CUNHA et al., 2009). A Embrapa já utiliza o Caiaué no seu programa de melhoramento genético de Palma de Óleo, tendo inclusive desenvolvido e lançado no mercado a variedade BRS Manicoré. Este é um híbrido entre essas duas espécies, recomendado para áreas de incidência do AF (CUNHA; LOPES, 2010).

A Embrapa é detentora de um dos maiores BAGs da Palma de Óleo Americana (*Elaeis oleifera*) do mundo. São mais de 200 acessos coletados em seis macrorregiões da Floresta Amazônica. Com o enorme avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS), têm-se hoje técnicas robustas que permitem a genotipagem de milhares de marcadores moleculares distribuídos ao longo de todo o genoma a custos bem reduzidos. Estas técnicas são conhecidas como genotipagem por sequenciamento (GBS). Uma aplicação importante de marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas é na seleção de subamostras que melhor representam a diversidade genética em um banco de germoplasma, gerando assim o que é conhecido como coleção nuclear. Com o desenvolvimento de uma coleção nuclear é possível diminuir o custo de manutenção do germoplasma e delimitar subamostras mais representativas de interesse do programa de melhoramento para fins de caracterização.

Objetivo

Estabelecimento de coleção nuclear do BAG da Palma de Óleo Americana (*Elaeis oleifera*) da Embrapa mediante emprego de marcadores moleculares do tipo SNPs.

Material & Métodos

O BAG de Caiaué da Embrapa foi estabelecido na Estação Experimental do Rio Urubu da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada a 140 km de Manaus, no município de Rio Preto da Eva/AM, com latitude 2°35' S, longitude 59°28' W e altitude 200 m. Um total de 553 plantas, oriundas de 206 famílias de meios-irmãos, coletadas em 19 localidades distribuídas em seis macrorregiões dos Estados do Amazonas e Roraima, foram utilizadas neste presente estudo (Figura 1).

Utilizou-se um conjunto inicial de 7.461 marcadores SNPs gerados pelo pipeline DArT Pty®. Este conjunto foi filtrado com base no Call Rate (>0,90) e MAF (>0,05), e destes foi selecionado um subconjunto de 500 SNPs com o maior índice de diversidade de Shannon gerado pela análise no software PowerCore (KIM et al., 2007). Este subconjunto foi utilizado para o delineamento de coleções nucleares em caiaué. O mesmo foi alinhado contra o genoma de referência de *E. guineensis* (SING et al., 2013) por meio da ferramenta BLASTN (parâmetros padrão). Os resultados foram filtrados, aceitando somente sequências em regiões únicas no genoma e de no máximo dois gaps por sequência.

Para estabelecimento da coleção nuclear foram testados dois algoritmos, o primeiro foi baseado na estratégia M padrão que foi implementada pelo software MSTRAT (GUESNARD et al., 2001). Para cada modelo gerado pelo MSTRAT foram utilizadas 100 replicações independentes e 100 interações. O segundo algoritmo foi baseado em um modelo heurístico implementado pelo software PowerCore (KIM et al., 2007).

Os parâmetros genéticos avaliados para a coleção inteira de caiaué foram: número total de alelos (N_A), conteúdo informativo de polimorfismo (PIC), heterozigidade esperada (H_E), heterozigidade observada (H_O), heterozigidade esperada (H_E) e índice de diversidade de Shannon (Sh). Os parâmetros genéticos avaliados para a coleção inteira foram estimados separadamente para cada um dos modelos obtidos, o software utilizado nestas análises foi o PowerMaker v3.25 (LIU; MUSE, 2005).

Resultados

Dos 500 marcadores SNPs utilizados neste trabalho, foi possível mapear 245 (49%) contra o genoma de *E. guineensis*. Estes foram distribuídos ao longo de todos os 16 cromossomos do genoma. O número de marcadores variou de 5 a 31 SNPs, para o cromossomo 1 e 16 respectivamente (Figura 2).

Foram avaliados seis modelos de coleção nuclear com 6, 10, 20, 23, 25 e 50% (37, 55, 109, 127, 138, 276 indivíduos respectivamente), nomeados MS1, MS2, MS3, MS4, MS5 e MS6, respectivamente, esses modelos foram gerados pelo software MSTRAT. A coleção nuclear estabelecida por meio da pesquisa aleatória do software PowerCore foi composta por 26 indivíduos (4,7%), e aquela realizada por meio do algoritmo heurístico foi composta por 16 indivíduos (2,8%), nomeados PC1 e PC2 respectivamente.

Todos os alelos detectados na coleção inteira de *E. oleifera* foram mantidos nos diferentes modelos de coleção nuclear (Tabela 1). Um maior valor de PIC em relação a CI (coleção inteira) foi observado somente no modelo MS6, já os modelos MS4 e MS5 apresentaram o mesmo valor que a CI e o restante dos modelos apresentaram um valor menor. O valor de H_O foi maior que o observado para a CI (0,271) em todos os modelos, sendo o modelo PC1 o com maior valor (0,314) e MS5 com o menor (0,273). Em contraste, o valor de H_E só foi maior que o apresentado pela CI (0,463) para o modelo MS6 (0,464) e o modelo MS4 apresentou o mesmo valor (0,463). Foi observado que os valores de H_E são superiores aos de H_O (Tabela 1).

Em relação às regiões de coleta do material da coleção inteira (Manaus, Rio Amazonas, Rio Solimões, Rio Negro, Caracará e Rio Madeira) todas as coleções mantiveram pelo menos um indivíduo de cada região (Figura 3). A região mais representada na coleção inteira foi a do Rio Madeira e a de menor representação foi a da Região Caracará, essa mesma proporção foi mantida nos modelos MS3, PC2 e MS6.

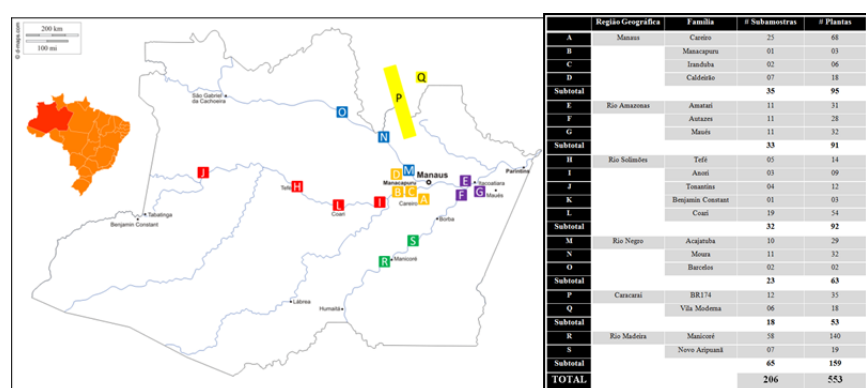


Figura 1. Origem e número de 553 plantas coletadas do Banco de Germoplasma de *Elaeis oleifera* na Embrapa Amazônia Ocidental (CPAA). Plantas de 19 localidades diferentes originalmente coletadas em seis regiões distintas da floresta amazônica brasileira (Manaus, Rio Amazonas, Rio Solimões, Rio Negro, Caracará e Rio Madeira).

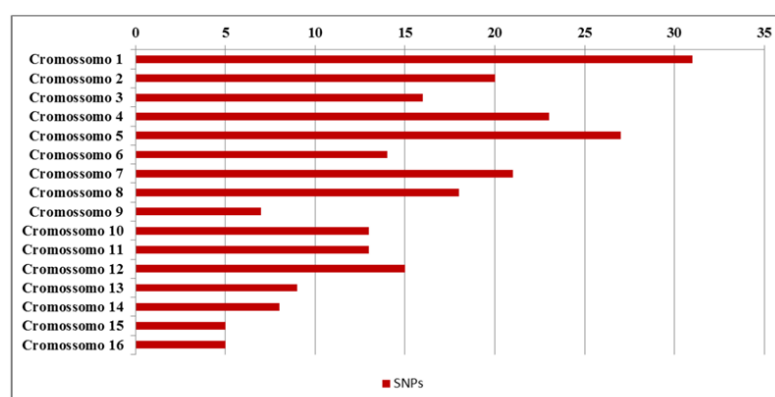


Figura 2. Distribuição de marcadores SNPs gerado pelo pipeline da DArT Pty utilizados para geração de coleção nuclear de *Elaeis oleifera* ao longo dos 16 cromossomos do genoma de *E. guineensis*.

| Parâmetros | CI | PC1 | PC2 | MS1 | MS2 | MS3 | MS4 | MS5 | MS6 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| N _i | 553 | 16 | 26 | 37 | 55 | 109 | 127 | 138 | 276 |
| N _s | 206 | 16 | 25 | 35 | 52 | 86 | 105 | 108 | 197 |
| N _A | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| PIC | 0,355 | 0,351 | 0,351 | 0,352 | 0,352 | 0,354 | 0,355 | 0,355 | 0,356 |
| H _O | 0,271 | 0,314 | 0,289 | 0,275 | 0,277 | 0,274 | 0,280 | 0,273 | 0,282 |
| H _E | 0,463 | 0,457 | 0,456 | 0,458 | 0,459 | 0,461 | 0,463 | 0,462 | 0,464 |
| Sh | 0,693 | 0,677 | 0,683 | 0,687 | 0,689 | 0,691 | 0,691 | 0,691 | 0,692 |

N_i = número de indivíduos; N_s = número de subamostras; N_A = número total de alelos; PIC = conteúdo informativo de polimorfismo; H_O = heterozigidade observada; H_E = heterozigidade esperada; Sh = Índice de Diversidade de Shannon.

Tabela 1. Parâmetros genéticos avaliados para a coleção inteira e para os diferentes modelos de coleção nuclear de *Elaeis oleifera*.

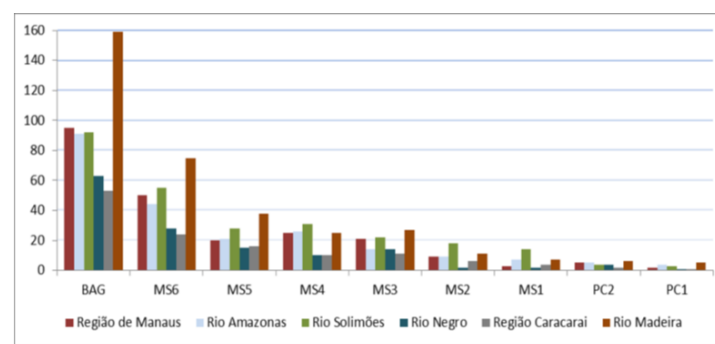


Figura 3. Histograma de distribuição das subamostras da coleção inteira (553 indivíduos) e para modelos de coleção nuclear PC1 (16 indivíduos), PC2 (26 indivíduos), MS1 (37 indivíduos), MS2 (55 indivíduos), MS3 (109 indivíduos), MS4 (127 indivíduos), MS5 (138 indivíduos) e MS6 (276 indivíduos) de *Elaeis oleifera* em relação às regiões de coleta.

Conclusão

O modelo MS3 apresentou um índice de diversidade de Shannon de 0,691 mantendo-se muito próximo do avaliado para a coleção inteira (0,693), os demais parâmetros genéticos avaliados também apresentaram pouca variação, dessa forma esse modelo que reteve 20% do total de indivíduos da coleção inteira é a escolha mais apropriada como coleção nuclear de *E. oleifera*. Por maximizar a diversidade genética e reduzir o número de genótipos, a coleção MS3 pode facilitar estudos de variabilidade e correlação com características morfológicas de interesse agrônomo no programa de melhoramento genético de *E. oleifera* desenvolvido pela Embrapa.

Referências

- STATISTA. The Statistics Portal. 2017. Disponível em: <www.statista.com>. Acesso em: out. 2017.
- GHESQUIÈRE, M.; BARCELOS, E.; SANTOS, M. M.; AMBLARD, P. Polymorphisme enzymatique chez *Elaeis oleifera* H.B.K. (*Elaeis melanococca*). Analyse des populations du Bassin amazonien. Oléagineux, Montpelliercedex, v. 42, p. 143-153, 1987.
- MICHIELSE, C. B.; REP, M. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Molecular Plant Pathology, Hoboken v. 10, n. 3, p. 311-324, 2009.
- CUNHA, R. N. V. da; LOPES, R.; BARCELOS, E. Domesticação e melhoramento de Caiaué. In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Ed.). Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas. Viçosa, MG, 2009. p. 275-296.
- CUNHA, R. N. V. da; LOPES, R. BRS Manicoré: híbrido interespecífico entre o caiaué e o dendezeiro africano recomendado para áreas de incidência de amarelecimento-fatal. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. 4 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado técnico, 85).