

CARINA MENDES LOIOLA

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM COQUEIRO-GIGANTE
(*Cocos nucifera* L.) POR MEIO DE MARCADORES
MICROSSATÉLITES E CARACTERÍSTICAS
MORFOAGRONÔMICAS**

MOSSORÓ-RN

2014

CARINA MENDES LOIOLA

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM COQUEIRO-GIGANTE (*Cocos
nucifera* L.) POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES E
CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido, como parte das exigências para
obtenção do Grau de Doutor em Agronomia:
Fitotecnia. Área de Concentração: Agricultura
Tropical. Linha de Pesquisa: Melhoramento
Genético Vegetal.

ORIENTADOR: D.Sc. Paulo Sérgio Lima e Silva
COORIENTADORA: D.Sc. Semíramis Rabelo Ramalho Ramos

MOSSORÓ-RN

2014

**O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade
de seus autores**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência**

L834dLoiola, Carina Mendes

Diversidade de genética em coqueiro-gigante (*cocos nucifera* L.) Por meio de marcadores microssatélites e características morfoagronômicas./ Carina Mendes Loiola-- Mossoró, 2014.

100f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Lima e Silva

Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Extensão e Pós-Graduação.

1. *Cocos nucifera* L. 2.Diversidade genética. 3. Marcadores moleculares. 4.Recursos genéticos. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT /489-14

CDD: 634.51

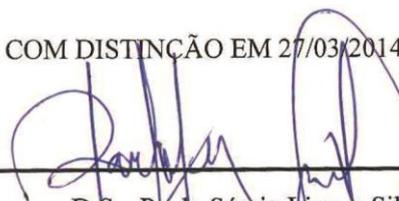
Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza Borba
CRB-15/452

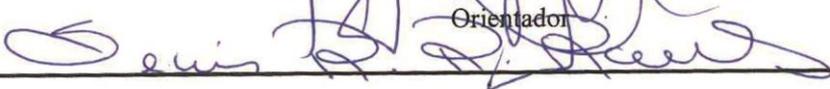
CARINA MENDES LOIOLA

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM COQUEIRO-GIGANTE (*Cocos nucifera*
L.) POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES E
CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS**

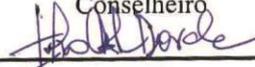
Tese apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido, como parte das exigências para
obtenção do Grau de Doutor em Agronomia:
Fitotecnia. Área de Concentração: Agricultura
Tropical. Linha de Pesquisa: Melhoramento
Genético Vegetal.

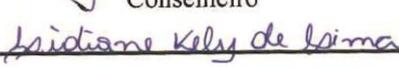
APROVADA COM DISTINÇÃO EM 27/03/2014


D.Sc. Paulo Sérgio Lima e Silva UFERSA
Orientador


D.Sc. Semíramis Rabelo Ramalho Ramos –Embrapa Tabuleiros Costeiros
Co-orientadora


Ph.D. Messias Gonzaga Pereira
Conselheiro


D.Sc. Júlio César do Vale Silva
Conselheiro


D.Sc. Lidiane Kely de Lima
Conselheira

Ouse sonhar...Pois, só os sonhadores veem o amanhã.
Ouse fazer um desejo, porque desejar abre caminhos para a esperança e ela é o que nos mantém vivos.
Ouse buscar as coisas que ninguém mais pode ver.
Não tenha medo de ver o que os outros não podem.
Acredite em seu coração e em sua própria bondade, pois, ao fazê-lo, outros acreditarão
nisso também.
Acredite na magia... A vida é cheia dela,
mas, acima de tudo, acredite em si mesmo...
...porque dentro de você reside toda a magia...
Da esperança, do amor e dos sonhos de amanhã...

Aos meus pais, pelo o amor incondicional;

Aos meus irmãos, pelo companheirismo;

Ao meu sobrinho, a quem eu amo muito.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, força superior a qual recorro;

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) por possibilitar a realização do meu curso de Doutorado;

À CAPES pelo concessão da bolsa de estudo;

À Embrapa Tabuleiros Costeiros por todo o apoio logístico para a realização deste trabalho;

Ao Projeto Nacional de Ações Integradas Público-Privadas para Biodiversidade – PROBIO II pela disponibilização de recursos financeiros e/ou infraestrutura para a realização do trabalho;

Ao Professor Paulo Sérgio Paulo Lima e Silva pela compreensão e pela permissão na realização deste trabalho;

Ao Dr. Wilson Menezes Aragão por toda a ajuda, amizade e ensinamentos em todos esses anos de trabalho com a cultura do coco;

À Dra. Semíramis Rabelo Ramalho Ramos por ter proporcionado a oportunidade da realização desse projeto e pelos ensinamentos, os quais me ajudaram a amadurecer enquanto pessoa e profissional;

Ao Dr. Leandro Diniz pela disposição em ajudar sempre e pela parceria;

Ao Professor Messias Pereira por ter aberto as portas do Laboratório de Melhoramento de Plantas da Universidade Rural do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho;

A toda a equipe do Campo Experimental do Betume e de Itaporanga, pertencentes a Embrapa, pela ajuda na coleta dos dados;

As empresas COHIBRA, Ceará, e SOCOCO, Pará, por ter permitido o uso dos acessos de suas coleções;

A empresa TECNOCOCO, Bahia, pelo apoio na coleta dos dados;

A Fundação Garcia D'Ávila, por meio do Projeto Floresta Sustentável, pela ajuda na coleta dos dados na Vila da Praia do Forte, Bahia;

À Silvio Gomes dos Santos , técnico do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, pela dedicação, contribuição nas análises e principalmente pela amizade;

Aos bolsistas da Embrapa Tabuleiros Costeiros do Laboratório de Biologia Molecular pela ajuda nas atividades de extração do DNA;

A toda equipe do Laboratório de Melhoramento de Plantas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela hospitalidade, treinamento e relevante contribuição nas atividades de manipulação de DNA;

À Profª Helaine Christine Ramos, pelas análises estatísticas dos dados;

À Alinne de Oliveira Nunes, pela contribuição na coleta dos dados;

À Carlos Diego e Pedro Henrique, pela ajuda e apoio na realização das análises molecular;

Aos amigos feitos durante essa caminhada, especialmente, Dinara Aires, Vianney Reinaldo, Patrícia Liany, Juliana Freire, Laíse Costa e Ana Carolina Dantas, por ter tornado mais prazerosa todas as etapas dessa conquista;

E, por fim, quero agradecer a todos que de uma forma ou de outra participaram e contribuíram para a realização deste trabalho. Muitíssimo Obrigada!

RESUMO

LOIOLA, Carina Mendes. **Diversidade genética em coqueiro-gigante (*Cocos nucifera* L.) por meio de marcadores microssatélites e características morfoagronômicas.** 2014. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia/Melhoramento Genético) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

O coqueiro-gigante representa cerca de 70% da exploração do coqueiro no Brasil. Apesar disso, as informações sobre a variabilidade genética existente nas populações brasileiras e suas relações genéticas ainda são incipientes. Os marcadores microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), e os marcadores morfológicos, são as técnicas mais indicadas para os estudos de diversidade genética. Assim, o conhecimento da variabilidade e da estruturação genética em coqueiro-gigante, torna-se necessário para direcionar as atividades de conservação e utilização do germoplasma nos programas de melhoramento da espécie. Os objetivos do presente estudo foram: 1) analisar a distribuição da variabilidade genética da população original de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (GBrPF-PO), localizada do litoral norte do Estado da Bahia, e de quatro acessos procedentes dessa população; 2) os níveis de diversidade e as relações genéticas entre dois acessos de coqueiro-gigante coletados no Brasil e sete acessos introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, conservados no Banco Internacional de Coco para a América Latina e Caribe (ICG- LAC). Os acessos foram analisados por meio de 25 *primers* SSR específicos e 16 descritores morfoagronômicos da lista do IPGRI, 1995. Os acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-Forte (GBrPF) são conservados em bases físicas no Ceará (GBrPF-CE), Pará (GBrPF-PA) e no ICG-LAC, este último em duas bases físicas em Sergipe: uma no campo experimental do Betume, no município de Neópolis (GBrPF-CEB) e a outra no campo experimental de Itaporanga, no município de Itaporanga d'Ajuda (GBrPF-CEI). Os demais acessos de coqueiro: gigante-do-Brasil-de-Merepe (GBrMe), coletado no litoral do Nordeste do país, gigante-da-Malásia (GML), gigante-de-Vanuatu (GVT), gigante-do-Oeste-Africano (GOA), gigante-da-Polinésia (GPY), gigante-de-Rennel (GRL), gigante-de-Tonga (GTG) e gigante-de-Rotuma (GRT) introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, também estão conservados no ICG-LAC no campo experimental do Betume. Três trabalhos oriundos deste projeto de pesquisa serão apresentados. No primeiro trabalho, constatou-se 18 primers polimórficos, 91 alelos, com média de 5,05 alelos/loco. Os

índices genotípicos indicam maior variabilidade genética dos acessos GBrPF-PA, GBrPF-CE e GBrPF-CEB, a análise da estrutura gênica identificou um compartilhamento de alelos da população e dos acessos, sugerindo que os acessos coletados, representam a estruturação genética da população original. O agrupamento (UPGMA), evidenciou a formação de 14 grupos, tendo os acessos GBrPF-CEB e GBrPF-PA mostrado maior similaridade com a população original. No segundo trabalho, para o estudo das relações genéticas entre acessos de coqueiro-gigante, 19 primers foram polimórficos, detectando 125 alelos, com média de 6,57 alelos/loco. Os índices genotípicos indicam uma maior variabilidade genética entre os acessos de coqueiros-gigantes introduzidos oriundos da região do Pacífico. A análise da estrutura gênica levou a formação de cinco grupos e os acessos coletados no Brasil apresentaram relação genética com o acesso Africano e o surgimento de ecótipos de coqueiro-gigante no Brasil. A análise de agrupamento pelo método do Vizinho mais Próximo formou dois grupos principais. No grupo I, os acessos foram agrupados em três subgrupos: Ia (GTG, GRT e GPY), Ib (GRL e GVT) e Ic (GML). No grupo II, os acessos foram separados em dois subgrupos : IIa (GOA) e IIb (GBrMe, GBrPF). Indicando que as relações genéticas dos acessos são fundamentadas nas regiões ecogeográficas. O terceiro trabalho, o estudo da diversidade genética, por meio de marcadores morfoagronômicos utilizando técnicas de análises uni e multivariadas, foi observada variabilidade genética entre os acessos. Os resultados da análise dos componentes principais, obtidos a partir de 16 caracteres morfoagronômicos mostra que foram necessários três componentes, para que a variância por eles explicada atingisse um mínimo de 80% e a seleção de seis caracteres de maior contribuição para o estudo da diversidade. Pelo método UPGMA formou-se cinco grupos. O grupo I reúne os acessos GVT e GML; o grupo II com o GPY, GTG e GBrPF; o grupo III e IV com apenas um acesso cada, GRT e o GOA, respectivamente e o grupo V com o GBrMe e GRL. Os grupos apresentaram uma incoerência com relação às origens dos acessos, provavelmente devido à natureza quantitativa das características avaliadas, que são controladas por muitos genes, sendo afetadas por fatores ambientais. As avaliações da diversidade e da estruturação genética evidenciam a variabilidade e as relações genéticas existentes em coqueiro-gigante. Esses resultados permitirão orientar as decisões sobre as atividades de conservação e uso do germoplasma do coqueiro no país.

Palavras-chave: *Cocos nucifera* L., Recursos genéticos, Relações genéticas, Diversidade genética, Marcadores Moleculares e Morfoagronômicos e Técnicas multivariadas.

ABSTRACT

LOIOLA, Carina Mendes. **Genetic diversity in the giant coconut palm (*Cocos nucifera* L.) using microsatellite markers and agronomic traits.** 2014. 100f. Thesis (Doctorate in Plant Science-Plant Breeding). Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

The tall coconut palm is about 70% of the coconut farm in Brazil. Nonetheless the information about the genetic variability existing in Brazilian populations and their genetic relationships are still incipient. Microsatellite markers or SSR (Simple Sequence Repeats) and morphological markers are the techniques most suitable for studies of genetic diversity. Thus, knowledge of the variability and genetic structure in the giant coconut palm, it is necessary to direct the activities of conservation and use of germplasm in breeding programs of this species. The objectives of this study were: 1) to analyze the distribution of the genetic variability of the original population of Tall-Brazil-Praia-Forte (GBrPF - PO), located on the north coast of Bahia, and four coming accesses this population; 2) levels of diversity and genetic relationships between two accesses tall coconut palm collected in Brazil and introduced seven accessions of different geographical regions, conserved in Banco Internacional de Coco for Latin America and the Caribbean (ICG - LAC). The accessions were analyzed using 25 SSR primers specific morphological descriptors and 16 of the list of IPGRI, 1995. Accesses tall- Brazil-Praia-Forte (GBrPF) are conserved in physical bases in Ceará (GBrPF-CE), Pará (GBrPF-PA) and ICG - LAC, the latter two physical bases in Sergipe: one in the experimental field of the Betume in the city of Neópolis (GBrPF-CEB) and the other in the experimental field Itaporanga in the municipality of Itaporanga d'Ajuda (GBrPF-CEI) . The other accesses greens: tall-do-Brazil-Merepe (GBrMe), collected in the coastal Northeast, tall-Malaysia (GML), tall-Vanuatu (GVT), tall-West African (GOA), tall-Polynesia (GPY), tall-Rennel (GRL), tall-Tonga (GTG) and tall-Rotuma (GRT) introduced in different geographic regions of the world, too are conserved in the ICG - LAC in the experimental field of the Betume. Three studies from this research project will be presented. In the first study, we found 18 polymorphic primers, 91 alelos, with a mean of 5.05 alleles/locus. Genotypic indices indicate greater

genetic variability of access GBrPF-PA, GBrPF-CE and GBrPF-CEB, the analysis of gene structure identified an allele sharing and access of the population, suggesting that accesses listed represent the genetic structure of the original population. The grouping (UPGMA) showed the formation of 14 groups, with the GBrPF-CEB and GBrPF-PA showed greater similarity to the original population accesses. In the second study, for the study of genetic relationships among accessions of tall coconut palm, 19 primers were polymorphic, detecting 125 alleles, with an average of 6.57 alleles/locus. Genotypic indices indicate greater genetic variability among accessions of coconut - derived giant introduced the Pacific region. The analysis of gene structure led to the formation of five groups and accessions collected in Brazil showed genetic relationship with the African access and the emergence of ecotypes giant coconut palm in Brazil. Cluster analysis by the Nearest Neighbor method formed two main groups. In group I, the accessions were grouped into three subgroups: Ia (GTG, GRT and GPY), Ib (GRL and GVT) and Ic (GML). In group II, the accessions were separated into two subgroups: Ila (GOA) and Iib (GBrMe, GBrPF), indicating that the genetic relationships of the accessions are based on ecogeographic regions. In the third work, the study of genetic diversity through morphological markers using techniques of univariate and multivariate genetic variability was observed among genotypes. The results of principal component analysis, obtained from 16 morphological characters shows that three components were needed, that the variance explained by them reached a minimum of 80% and the selection of six characters with the highest contribution to the study of diversity. UPGMA was formed by five groups. Group I meets the GVT and GML access; group II with GPY, GTG and GBrPF; group III and IV each with one access, GRT and GOA, respectively, while group V with GBrMe and GRL. Groups showed an inconsistency with respect to the origins of the accessions, probably due to the quantitative nature of those characteristics that are controlled by many genes, being affected by environmental factors. Diversity and genetic structure evaluations demonstrate the variability and genetic relations in giant coconut palm. These results will guide decisions about the activities of conservation and use of coconut germplasm in the country.

Keywords : *Cocos nucifera* L., Genetic Resources, Genetic Relationship, genetic diversity, Markers Molecular and morphological and multivariate techniques.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I		Pag.
Tabela 1.	Lista de <i>primers</i> de microssatélites específicos utilizados para a avaliação da diversidade genética na população original e quatro acessos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.	52
Tabela 2.	Números de alelos (A), números de alelos efetivos (N_e), frequência do alelo principal e conteúdo de informação polimórfica (PIC) por SSRs.	54
Tabela 3.	Índice de Shannon, heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_E), Qui-quadrado (X^2) para heterozigosidade e coeficiente de endogamia (F) para a estimativa da variabilidade genética dos indivíduos da população original e dos acessos de coqueiro-gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.	55
Capítulo II		
Tabela 1.	Lista com o código de identificação dos acessos do Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC), país e região geográfica de origem.	68
Tabela 2.	Números de alelos encontrados, números de alelos efetivos (N_e), frequência do alelo principal e conteúdo de informação polimórfica (PIC) obtidos por meio de SSRs.	71
Tabela 3.	Índice de Shannon, Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_E) Qui-quadrado para Heterozigosidade (X^2) e Coeficiente de endogamia (F).	73
Capítulo III		
Tabela 1.	Médias e resumo da análise de variância, obtidas para os 16 caracteres morfoagronômicos avaliados nos nove acessos de coqueiro-gigante, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).	89
Tabela 2.	Estimativas de autovetores obtidos da matriz de correlação entre 16 caracteres morfoagronômicas mensurados em coqueiro-gigante.	94
Tabela 3.	Estimativas dos coeficientes de correlação entre os caracteres morfoagronômicos selecionados e os descartados, avaliados em nove acessos de coqueiro-gigante conservado no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).	96

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I		Pag.
Figura 1.	Representação gráfica das 100 plantas selecionadas da população original de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, Vila da Praia do Forte, município de Mata de São João, BA.	50
Figura 2.	Análise da estruturação genética dos 50 indivíduos da população original e dos quatro acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.	57
Figura 3.	Dendrograma obtido pelo método UPGMA na análise de 50 indivíduos da população original e de quatro acessos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-forte (Distância genética de 0,17, Coeficiente de correlação cofenética= 0,85).	60
Capítulo II		
Figura 1.	Análise da estruturação genética dos 100 indivíduos dos dez acessos de coqueiro-gigante conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).	75
Figura 2.	Dendrograma obtido pelo método do vizinho mais próximo, ilustrando a relação genética entre os nove acessos de coqueiro-gigante coletados e introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC) (Distância genética 0,39 e Coeficiente de correlação cofenética = 0,91).	76
Capítulo III		
Figura 1.	Dendrograma de dissimilaridade genética de nove acessos de coqueiro-gigante, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAG), estabelecido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância Euclidiana média, obtido a partir de dezesseis descritores morfoagronômicos (Correlação cofenética= 0,96 e Distância genética= 21,5).	92

SUMÁRIO

Pag.

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1. Botânica e variedade.....	19
2.2. Importância Social e Econômica.....	20
2.3. Recursos Genéticos.....	22
2.3.1. Origem e Disseminação.....	24
2.3.1.1. Introdução e dispersão do coqueiro na América.....	26
2.3.1.2. Introdução do coqueiro no Brasil.....	27
2.3.2. Prospecção e Coleta de Germoplasma.....	29
2.4. Melhoramento Genético do Coqueiro.....	32
2.5. Diversidade Genética.....	34
2.6. Caracterização do coqueiro por meio de marcadores moleculares.....	35
2.7. Referências.....	38
Capítulo I - Distribuição da diversidade genética de coqueiros-gigantes da Praia do Forte	
Resumo.....	46
Abstract.....	46
Introdução.....	47
Materiais e Métodos.....	49
Resultados e Discussão.....	53
Referências.....	61
Capítulo II - Relações genéticas entre acessos de coqueiro-gigante (<i>Cocos nucifera</i> L.) conservados no Banco Internacional de Coco para América	

Latina e Caribe (ICG-LAC) utilizando marcadores microssatélites (SSRs)

Resumo.....	63
Abstract.....	63
Introdução.....	64
Materiais e Métodos.....	68
Resultados e Discussão.....	70
Referências.....	79

Capítulo III - Diversidade genética entre acessos de coqueiro-gigante utilizando técnica de análise multivariada

Resumo.....	83
Abstract.....	83
Introdução.....	84
Material e Métodos	86
Resultados e Discussão.....	87
Referências.....	96

3. Considerações Finais	100
--------------------------------	------------

1. INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma das mais importantes espécies tropicais, desempenhando um papel significativo na vida econômica, cultural e social das pessoas de mais de 86 países. O Grupo Consultivo de Pesquisa Agropecuária Internacional (CGIAR) identificou o coqueiro como uma das vinte e duas culturas mais valorizadas no mundo e enfatizou a necessidade de conservação de germoplasma e sua efetiva utilização (DASANAVAKA et al., 2009).

O centro de origem e de domesticação do coqueiro é o Sudeste Asiático e a Melanésia, especificamente a região biogeográfica que inclui a Península da Malásia, Indonésia, Filipinas e Nova Guiné (HARRIES, 1995). A distribuição do coqueiro se estende sobre as costas dos oceanos e ilhas do cinturão tropical, entre as latitudes 23° N e 23° S (FOALE;HARRIES, 2009). Esta disposição ocorreu pela flutuação das sementes em correntes oceânicas e pelo homem, que se tornou o principal disseminador do coqueiro quando transportavam nos navios frutos de coco, que eram utilizados como fonte de alimento e água potável (HARRIES, 1978; ZIZUMBO-VILLARREAL, 1996).

A evolução do coqueiro se baseia na existência de dois tipos (HARRIES, 1991). O Niu kafa, considerado como de morfologia mais ancestral do coqueiro e predominante na bacia do oceano Índico; e o tipo Niu Vai que seria o reflexo da seleção do coqueiro sob cultivo, com o evento da domesticação no Pacífico (HARRIES et al., 2004). A diversidade fenotípica e a distribuição geográfica reflete a interação ao longo do tempo entre o homem e o coqueiro.

Do Sudeste Asiático o coqueiro foi levado para a Índia e de lá para o leste da África. Após o descobrimento do Cabo da Boa Esperança foi levado para o Oeste Africano e desta região, para as Américas e toda região tropical do Globo (PURSEGLOVE, 1975). No Brasil, o coqueiro foi introduzido na Bahia, proveniente das Ilhas de Cabo Verde, em 1553, pelos portugueses. Outras introduções ocorreram, por exemplo, em 1939, proveniente de Kuala Lumpur na Malásia, em 1978, pela Comissão Executiva da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) e,

em 1981 pela empresa Sococo, para a implantação de um campo de hibridação. Em 1983, a Embrapa importou da Costa do Marfim sete acessos de coqueiro-gigante de diferentes regiões geográficas do mundo.

No Brasil, na década de 80, teve início o programa de recursos genéticos e melhoramento do coqueiro, conduzido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram introduzidos acessos de coqueiro anão e gigante que formaram o Banco Ativo de Germoplasma da espécie no país. Em 2006, o Banco integrou a Rede Internacional de Recursos Genéticos (COGENT), sendo base de conservação de germoplasma de coco para a América Latina e Caribe (ICG-LAC). A Embrapa também realizou coletas de acessos de coqueiro-gigante na região Nordeste do país, como a população gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, que veio a ser plantada no Campo Experimental de Betume, Neópolis/SE. Em 2000, a Embrapa Tabuleiros Costeiros decidiu organizar nova expedição de coleta à população original. Sementes dessa segunda coleta foram semeadas na Estação Experimental de Itaporanga, localizada no município de Itaporanga d'Ajuda, SE, em razão da mudança parcial do BAG para esta área. Acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte foram também implantados, em plantios comerciais, nos Estados do Ceará e Pará. Toda via, o conhecimento da distribuição da variabilidade e da estruturação genética desses acessos torna-se necessário para direcionar as atividades de conservação e manejo dos acessos preservados em diferentes bases físicas no país. Além disso, é preciso inferir sobre a constituição genética dos híbridos que foram desenvolvidos tanto pela Embrapa quanto pelas empresas privadas que utilizaram estes acessos em cruzamentos.

As informações advindas do processo de caracterização e avaliação do germoplasma são de fundamental importância, pois permitem a identificação de progenitores divergentes para a produção de híbridos e também a escolha de populações a serem utilizadas na seleção fenotípica de indivíduos. O estudo da diversidade genética das espécies é o primeiro passo para uma melhor compreensão das relações intra-específicas e da análise entre os grupos genéticos. Ainda, pode também auxiliar nas inferências sobre origem e variabilidade genética. No Brasil, são poucos os estudos dessa natureza em coqueiro, sendo necessária a

identificação das relações genéticas entre os acessos coletados no Brasil considerados promissores e os acessos introduzidos das diferentes regiões geográficas do mundo, que estão conservados no ICG-LAC. Dessa forma, há possibilidade de racionalizar o processo de conservação, assim como disponibilizar informações que possam auxiliar na ampla utilização desses acessos, principalmente nos programas de melhoramento, para o desenvolvimento de cultivares superiores agronomicamente e resistentes ou tolerantes às doenças.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos:

a) Avaliar a distribuição e estruturação da diversidade genética entre a população original de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte e de quatro os acessos coletados dessa população de coqueirogigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

b) Avaliar, os níveis de diversidade e as relações genéticas entre três acessos de coqueiro-gigante coletados no Brasil e sete acessos introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo.

c) Estimar a divergência genética entre os acessos de coqueiro-gigante do Banco Internacional de Coko para América Latina e Caribe.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. BOTÂNICA E VARIEDADE

O coqueiro pertence à classe Monocotyledoneae, ordem Palmales, família Arecaceae (família Palmae), subfamília Coccoideae e gênero *Cocos*. Este gênero é monoespecífico, apresenta apenas a espécie *Cocos nucifera* L.. Presume-se que o nome *Cocos*, bem como o nome popular coco são de origem espanhola, o que significa cara de macaco, provavelmente, é devido às três cicatrizes existentes na base do fruto (CHILD, 1964).

É uma espécie diplóide com 32 cromossomos ($2n=32$) (NAMBIAR; SWAMINATHAN, 1960) que, por sua vez, é constituída de três variedades. Destas, as principais variedades usadas comercialmente são a *Typica* (coqueiro-gigante), *Nana* (coqueiro-anão) e *Aurantiaca* (coqueiro-intermediário) (LIYANAGE, 1958). Do cruzamento entre essas variedades obtém-se o híbrido intervarietal.

A variedade gigante representa, atualmente, cerca de 70% da exploração do coqueiro no Brasil, sendo utilizada, principalmente, pelo pequeno produtor (ARAGÃO et al., 2002a). É uma variedade rústica, alógama, germinação de semente lenta, crescimento rápido, fase vegetativa longa (cerca de cinco a sete anos), frutos grandes e produção de 60 a 80 frutos/planta/ano com aplicação de tecnologia. No Brasil, o coqueiro-gigante é muito empregado *in natura* para uso culinário (na produção de doces, bolos), bem como na agroindústria de alimentos como leite de coco, farinha de coco, entre outras (ARAGÃO et al., 2002b).

A variedade anã é composta pelas cultivares amarela, verde, vermelha da Malásia e vermelha de Camarões, as quais são distinguidas pela cor do pecíolo, da ráquis da folha e, principalmente, pela cor do epicarpo do fruto. A cor amarela é recessiva em relação à verde e à vermelha; e, quanto ao verde e vermelho, não há dominância (CHILD, 1964). Nos principais países produtores de coco do mundo o

coqueiro anão não tem utilidade comercial, sendo empregada apenas nos programas de cruzamento intervarietal e para fins ornamentais. Já no Brasil, além de utilizado em cruzamentos, o coqueiro-anão é também muito utilizado para comercialização de água de coco, com produção média em torno de 300 ml/fruto e com qualidade sensorial superior às outras cultivares de coqueiro (ARAGÃO et al., 2002b).

A variedade Aurantiaca não é encontrada no Brasil, sendo comum no Sri Lanka. É uma variedade de estatura intermediária, alógama e de longa fase vegetativa (5 a 6 anos). Apresenta baixa tolerância a seca e a pragas e doenças. O epicarpo é de cor laranja brilhante e a água é rica em sacarose, sendo bastante apreciada (EKANAYAKE et al., 2010).

O híbrido intervarietal (anão x gigante) é o tipo principal de cultivar utilizada mundialmente, nos programas de fomento à cultura do coqueiro. Isto ocorre devido a sua ampla utilidade comercial, podendo ser empregada para produção de água de coco (em média 500 ml/fruto), e de fibra e, principalmente, segundo Aragão et al., (2002b), para produção de polpa ou albúmen sólido (400g/fruto). Além disso, esse tipo de cultivar apresenta velocidade de germinação das sementes intermediária em relação aos parentais e é semi-precoce, florescendo em média 3,1 anos (ARAGÃO et al., 2004). Entretanto, sua maior dificuldade está na propagação, ou seja, na obtenção das sementes híbridas capazes de abastecer o mercado consumidor. Isto porque apresenta problemas de segregação genética quando se utiliza as sementes oriundas dos próprios híbridos.

2.2. IMPORTÂNCIA SOCIAL E ECONÔMICA

O coqueiro é a palmeira de maior importância sócio-econômica das regiões tropicais, gerando empregos, divisas e renda (ARAGÃO et al., 1999). De acordo com a FAO, o coqueiro ocupa no mundo uma área plantada em torno de 11,8 milhões de hectares com produção de frutos de aproximadamente 61,7 milhões de

toneladas (UNCTAD, 2013). O continente asiático, principalmente Indonésia, com produção de 19.500.000 toneladas, Filipinas, com 12.994.500 toneladas e Índia com 10.894.000 toneladas, no ano de 2012 (FAO, 2012) ocupam lugar de destaque com mais de 80% dessa produção. As Américas do Norte e Central, Oceania e África são responsáveis por 4% cada, enquanto a América do sul por apenas 2% da produção mundial.

As áreas de cultivo, em sua maioria, são conduzidas por pequenos produtores, em pequenas propriedades dotadas de solos arenosos. Ressalta-se que cerca de 90% da produção de coco do mundo advêm de pequenos agricultores, com áreas de até 5 hectares, sendo que esta produção é praticamente consumida internamente nos países produtores.

Como nos outros países produtores, cerca de 70% da exploração do coqueiro no Brasil ocorre em propriedades de 5 a 10 hectares (SIQUEIRA et al., 2002; ARAGÃO et al., 2009). Atualmente, o país é o quarto maior produtor de coco no mundo com uma produção superior a 2 milhões de toneladas, em uma área plantada de 257.742 mil hectares (FAO, 2012). Essa posição é resultante, principalmente, da expansão das fronteiras agrícolas, sobretudo, do incremento da comercialização do coco verde para atender o crescente mercado da água-de-coco, uma vez que a produção de frutos ainda é baixa, isto é, 20 a 30 frutos/planta/ano. Entretanto, o potencial do coqueiro pode ser de até cinco (coqueiro híbrido) a sete (coqueiro anão) vezes essa produção, dependendo da cultivar empregada e da tecnologia aplicada.

O cultivo do coqueiro é predominantemente realizado no litoral do Nordeste, região onde se concentra as principais agroindústrias de coco. Em 2009 essa região representou 85% da área colhida (220.259 ha) e 71% da produção brasileira, com 1.364.580 frutos (AGRIANUAL, 2013). O Estado da Bahia destaca-se como o maior produtor, com 28% da produção nacional, seguido pelos Estados do Ceará (14,73%), Sergipe (13%) e Pará (12,75%) (AGRIANUAL, 2013). O Brasil é o único país do mundo no qual o coco não é utilizado para a obtenção do óleo, apesar de existirem cultivares com altos teores na copra (albúmen sólido desidratado a 6% de umidade). Pode inclusive, produzir em torno

de 3.000 kg de óleo/há. No país, o coqueiro é explorado, basicamente, para uso do fruto verde (água-de-coco) e seco (uso culinário e agroindústria de alimentos). Nas agroindústrias sua utilização ocorre na fabricação de leite de coco, coco ralado, na conservação de água-de-coco, entre outros.

A evolução tecnológica e o avanço de técnicas de cultivo adequadas aos novos preceitos da sociedade vêm possibilitando a inserção de pequenos produtores às melhores condições de vida em diversas regiões do mundo. Além disso, a cultura do coqueiro favorece a consorciação com culturas anuais e perenes em todas as fases de seu cultivo e o manejo com animais na fase adulta de exploração. Estas atividades minimizam os custos para a implantação dos coqueirais e representam mais uma fonte de renda para o produtor. Todas estas características tornam o cultivo do coqueiro uma atividade que favorece a fixação do homem no campo.

2.3. RECURSOS GENÉTICOS

A distribuição geográfica do coqueiro está localizada entre as regiões de latitudes 23° N e 23° S (FOALE; HARRIES, 2009). Compreende 86 países situados nos continentes Asiático (15 países), Oceânico (19 países), Africano (22 países), centro e norte Americano (22 países) e sul Americano (8 países) (PERSLEY, 1992).

Em 1992, por meio do *Bioversity International*, o Grupo Consultivo de Pesquisa Agropecuária Internacional (CGIAR), incluiu o coqueiro em seus programas internacionais de pesquisa em recursos genéticos e organizou assim a Rede Internacional de Recursos Genéticos de Coco (COGENT), coordenada pelo IPGRI (*International Plant Genetic Resources Institute*) denominado, desde 2000 de *Bioversity International*. O COGENT tornou-se uma rede global bastante ativa e envolve atualmente 39 países membros, incluindo o Brasil e cinco sub-redes, distribuídas entre os continentes: 1) Sudeste e leste da Ásia, 2) Sul da Ásia e

Oriente Médio, 3) Pacífico Sul, 4) África e Oceano Índico e 5) América Latina e Caribe. O banco de dados internacional da rede, o CGRD (*The International Coconut Genetic Resources Database*), possui cadastro de 1.374 acessos caracterizados e com dados de passaporte, conservados em 24 bancos de 23 países membros (COGENT, 2013).

As maiores coleções de germoplasma de coqueiro e mais importantes mundialmente se encontram nas Filipinas (224 acessos), Índia (132 acessos), Indonésia (98 acessos), Costa do Marfim (92 acessos) e Malásia (72 acessos). O México, Vietnã, Moçambique, e Brasil, também possuem coleções só que com menores números de acessos (BATUGAL;JAYASHREE, 2005).

No Brasil, existem registros de três locais que conservam acessos de coco, localizados na Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EDBA), na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) e na Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC) (RAMOS et al., 2008). Nesta última, encontra-se o Banco Ativo de germoplasma de Coco que está vinculado à Rede Internacional de Recursos Genéticos de coco, sendo base para a América Latina e Caribe. Embora seja composto por um número reduzido de acessos, é o segundo mais importante das Américas e o principal da América do Sul, constituído por 29 acessos, sete acessos de coqueiro-gigante introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo e quatorze de coqueiro-gigante e quatorde coqueiro-anão coletados na região Nordeste do Brasil. A conservação dos acessos é feita *ex situ* e *in vivo*, com diferentes quantidades de indivíduos por acessos, em função da disponibilidade dos materiais.

Para que a diversidade genética disponível nos bancos de germoplasma seja utilizada é necessário que os acessos sejam caracterizados, avaliados e devidamente documentados. Isso é necessário para que os usuários, principalmente os melhoristas possam identificar aqueles que serão potencialmente úteis nos programas de melhoramento (BORÉM;MIRANDA, 2005).

Assim, a caracterização é uma das atividades mais importantes para a compreensão da variabilidade genética existente em uma coleção de germoplasma. A descrição minuciosa dos caracteres os quais proporcionam informações relativas

aos acessos em estudo carece do desenvolvimento prévio de listas de descritores. Para caracterização dos acessos, deve-se utilizar um mínimo de descritores, que contenham o máximo de informações essenciais para identificação e descrição da variabilidade contida nos acessos de um banco de germoplasma (MONÇATO, 1997). Por outro lado a avaliação é conduzida por uma equipe multidisciplinar e envolve caracteres quantitativos, que são controlados por muitos genes e altamente influenciados pelas condições ambientais (NASS, 2001).

Os trabalhos com recursos genéticos com coco no Brasil iniciaram com a criação da Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Quissamã (1975), posteriormente denominado Centro de Pesquisa Nacional de Coco (1985), atualmente Embrapa Tabuleiros Costeiros. As pesquisas com o coqueiro desenvolvidas pela instituição apresentaram um grande impulso e gerou diversas tecnologias importantes para a cocoicultura nacional. As atividades de pesquisa constituíram de ações específicas nas áreas de recursos genéticos e melhoramento, especificamente direcionado a prospecção e coleta de germoplasma de coco no Brasil, introdução de germoplasma exótico, caracterização morfológica do coqueiro, conservação de germoplasma, seleção fenotípica com testes de progênies, desenvolvimento e avaliação de híbridos e as atividades de cultura de embrião e cultura de tecido do coqueiro (ARAGÃO et al., 1999).

2.3.1. ORIGEM E DISSEMINAÇÃO DO COQUEIRO

Devido à falta de evidências diretas, principalmente, a da não existência de um ancestral comum, há controvérsias sobre o provável centro de origem do coqueiro (PERERA et al., 1999). Vários autores sugeriram diferentes lugares, como o oeste do Pacífico (HARRIES, 1978), Ásia (BECCARI, 1963), Melanésia (HARRIES, 1990) e a região neotropical/América do Sul (GUNN, 2004) como uns dos prováveis locais. Entretanto, atualmente, a maioria dos especialistas, fundamentados em registros históricos, etnobiológicos e paleontológicos, aceitam a

hipótese de que o centro de origem e de domesticação do coqueiro é o Sudeste Asiático, na região biogeográfica que inclui a Península da Malásia, Indonésia, Filipinas e Nova Guiné (HARRIES, 1995).

A distribuição do coqueiro se estende sobre as costas dos oceanos e ilhas do cinturão tropical (FOALE;HARRIES, 2009). Esta disposição ocorreu tanto pela flutuação das sementes em correntes oceânicas, quanto pelo homem, que se tornou o principal disseminador do coqueiro (HARRIES, 1978; ZIZUMBO-VILLARREAL, 1996).

Para que a disseminação natural do coqueiro ocorra com sucesso é necessário que haja um equilíbrio entre o número de frutos e o tamanho do fruto. Por um lado, o maior número de frutos aumenta as chances do coqueiro alcançar diversos locais e de se estabelecer. Por outro lado, os frutos maiores aumentam a capacidade do coco flutuar nas correntes marítimas e permanecer viáveis, até atingir um local. A seleção natural favoreceu o desenvolvimento de uma espécie de coqueiro que apresenta crescimento perene (50 a 100 anos), poucos frutos (50 a 100 por ano), frutos grandes (1 a 2 kg), mesocarpo espesso (até 70% de massa fresca), endosperma desenvolvido (200 a 300g), germinação lenta (mais de 200 dias) e grande capacidade de flutuar (HARRIES, 1978). Esse tipo selvagem evoluiu e flutuou entre as ilhas vulcânicas e atóis, nas margens continentais dos oceanos Índico e Pacífico (HARRIES, 1990).

Os austronésios, habitantes do sudeste asiático, foram provavelmente os primeiros a ter contato com o coqueiro naturalmente disseminado, valorizaram a água do coco que é potável, extremamente saborosa e portátil. Assim, a seleção praticada pelo homem atua para aumentar o endosperma (água nos frutos imaturos ou parte comestível no fruto maduro), alterando as proporções dos componentes dos frutos, aumentando em 50% a quantidade de endosperma líquido e reduzindo de cerca de 70% a casca do coco para próximo de 35% do peso fresco total. Por consequência, diminui a capacidade de flutuar e modifica a forma do fruto e o período de germinação das sementes (HARRIES, 1978). Os austronésios introduziram o coqueiro domesticado nas diversas ilhas existentes no Pacífico

e, posteriormente, os europeus e árabes também contribuíram para a dispersão pantropical dessa espécie (HARRIES, 1978).

Essa forma de dispersão e de seleção, tanto pela natureza quanto pelo o homem, dirigiu a evolução do coqueiro em dois tipos distintos, que representam um conjunto de genes do tipo selvagem (Niu Kafa) e outro do tipo domesticado (Niu Vai) a partir do qual todas as cultivares modernas se desenvolveram (ZIZUMBO-VILLARREAL et al., 2006).

2.3.1.1. INTRODUÇÃO E DISPERSÃO DO COQUEIRO NA AMÉRICA

Os relatos indicam que a dispersão do coqueiro na América iniciou no século XV, quando em 1499, Vasco da Gama introduziu, no arquipélago de Cabo Verde, costa oeste da África, sementes de coco da região do oceano Índico, (HARRIES, 1978). Das ilhas de Cabo Verde o coqueiro foi levado para Porto Rico, República Dominicana e outros países da costa Atlântica das Américas e Caribe. A dispersão da cultura foi rápida, e no século XVII o coqueiro foi relatado em praticamente todos os locais das Américas.

Na costa oeste do Pacífico os registros da presença do coqueiro são controversos. Gonçalo Fernandez de Oviedo e Valdés relataram a presença de coqueiros sobre a costa do Pacífico da América Latina em 1514, quando observou essa espécie na região de Chimán, na costa oeste do Panamá em Punta Burica, fronteira entre o Panamá e a Costa Rica (ZIZUMBO-VILLAREAL, 1996). Essas informações são contestadas por alguns autores que acreditam que Oviedo observou outras espécies de palmeiras com estaturas semelhantes e folhas pinadas iguais aos do coqueiro (CLEMENT et al., 2013).

Entretanto, várias hipóteses têm sido apresentadas para explicar a presença do coqueiro na costa oeste do Panamá. Evidências genéticas e morfológicas sugerem que o “Tall do Panamá” está relacionado com os coqueiros das Filipinas (BAUDOIN e LEBRUN, 2009). Registros relatam que descendentes de

austronésios conhecidos como Protopolinésios expandiram sua colonização para o leste do Pacífico, provavelmente introduzindo o coqueiro nessa região (BAUDOUIIN e LEBRUN, 2009). Embora nenhuma constatação arqueológica, etnobotânica ou linguística tivessem sido encontradas. Assim, a explicação mais parcimoniosa é que o coqueiro foi introduzido no Panamá após a conquista espanhola (CLEMENT et al., 2013).

No México, o coqueiro foi introduzido durante o período colonial espanhol. Relatos históricos mencionam que a primeira entrada do coqueiro na costa oeste foi do Panamá, em 1539 (BRUMAN, 1947), e uma segunda das Ilhas Salomão, em 1669, ambas para a região de Colima (ZIZUMBO-VILLAREAL, 1996). Outras introduções na costa oeste são associadas com a rota comercial entre Acapulco e Manila. Por essa via, navegadores espanhóis, traziam frutos de coco a bordo nos navios para fornecer albúmen sólido e água durante a viagem e os que não eram consumidos eram plantados na chegada (ELEAZER, 1981; GRUEZO;HARRRIES, 1984; HARRIES, 2012). Já as introduções na costa leste do México foram feitas pelo porto de Veracruz e Campeche por volta de 1550, originárias da região de Cabo Verde na África Ocidental (ZIZUMBO-VILLAREAL, 1996).

2.3.1.2. INTRODUÇÃO DO COQUEIRO NO BRASIL

No Brasil, as evidências históricas indicam que o coqueiro foi introduzido pela primeira vez pelos portugueses, em 1553, na Bahia, com a variedade gigante proveniente das Ilhas de Cabo Verde (HARRIES, 1977). Neste sentido, acredita-se que as populações que estão no Brasil foram formadas inicialmente a partir dos intercruzamentos de poucos indivíduos, representando uma pequena fração da variação genética da população original (N'CHO, 1993). Essas populações vêm se desenvolvendo no Brasil, há quase cinco séculos (HARRIES, 1977) e se adaptando a diferentes condições ambientais. Isso sugere que a estruturação gênica presente

nas populações é, provavelmente, devido à deriva genética, fortemente influenciada por um efeito fundador inicial. Além de numerosos outros eventos fundadores acompanhados por seleção natural e possivelmente uma seleção humana inconstante (RIBEIRO et al., 2010).

A posição estratégica das ilhas de Cabo Verde nas rotas que ligavam Portugal ao Brasil e ao resto da África contribuiu para essas ilhas fossem utilizadas como entreposto comercial e de abastecimento. A procedência desses coqueiros seria o leste da África, Índia e Sri Lanka (HARRIES, 1978), quando Vasco da Gama, em 1499, retornando de suas viagens à Índia introduziu sementes de Moçambique no arquipélago de Cabo Verde (HARRIES, 1977). Esta hipótese é confirmada pela proximidade genética entre o coqueiro Gigante-do-Oeste-Africano, o Gigante-de-Moçambique, o Gigante-do-Sri Lanka e Gigante-de-Andamam (Índia) (TEULAT et al., 2000).

A segunda introdução aconteceu em 1939, proveniente de Kuala Lumpur, Malásia, importada por Paulo Burle e Carlos Browne, pelo o porto do Rio de Janeiro, e plantadas no município de Cabo Frio (BURLE; BROWNE, 1954). Em 1978, a Comissão Executiva da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) importou o Gigante-do-Oeste-Africano, procedente da Costa do Marfim, decorrente de um convênio com o IRHO (*Institute de Recherches Pour Les Huiles et Oleagineux*), atualmente CIRAD (*Centre de Coopération Internationale em Recherche Agronomique pour le Développement*). A empresa Sococo também importou o Gigante-do-Oeste-Africano, em 1981, para instalar um campo de produção de híbridos no Pará. Entretanto, a introdução mais ampla para o programa de melhoramento do coco no Brasil aconteceu em 1983, quando a Embrapa importou da Costa do Marfim sete acessos de coqueiro-gigante (Oeste Africano, Rennel, Rotuma, Tonga, Polinésia, Vanuatu e Malásia) para implantar o Banco de Germoplasma da cultura.

A introdução do coqueiro-anão ocorreu em meados do século 20, com o anão-verde, em 1925, proveniente de Java; o anão-amarelo, em 1938, procedente do Norte da Malásia; os anões-verde e vermelho, introduzidos do Norte da Malásia, em 1939 e o anão-vermelho-de-Camarões, em 1978, importados da Costa do

Marfim pela CEPLAC (DIAS, 1980). Da mesma forma que ocorreu com os gigantes, em 1983, a Embrapa, introduziu no BAG de coco, os anões amarelo e vermelho-da-Malásia e o anão-vermelho-de-Camarões.

2.3.2. PROSPECÇÃO E COLETA DE GERMOPLASMA

A prospecção genética de coqueiro tem por objetivo identificar as populações legítimas e homogêneas, visando à coleta, introdução e caracterização do germoplasma que possa apresentar características de interesse socioeconômico atual e potencial para utilização em programas de melhoramento genético.

Os trabalhos de prospecção e coleta de germoplasma de coqueiro no Brasil foram iniciados em 1982 e até hoje já foram prospectadas e coletadas as seguintes populações: Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (BA); Gigante-do-Brasil-de-Pacatuba (SE); Gigante-do-Brasil-de-Merepe, Gigante-do-Brasil-Terra-do-Rei, Gigante-do-Brasil-Avenida e Gigante-do-Brasil-de-Santa-Rita (PE); Gigante-do-Brasil-de-São-José-do-Mipibu, Gigante-do-Brasil-de-Baía-Formosa, Gigante-do-Brasil-de-Barreirinhas e Gigante-do-Brasil-Senador-Georgino-Avelino (RN); Gigante-do-Brasil-Olho-de-Cravo (SE), Gigante-do-Brasil-de-Luís-Corrêa (PI), Anão-Amarelo-de-Gramame, Anão-Vermelho-de-Gramame e Anão-Verde-de-Souza (PB) e Anão-Verde-de-Jiqui (RN).

A coleção de germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros esta localizada em Sergipe, em duas bases físicas: uma no Campo Experimental do Betume (CEB), município de Neópolis/SE e a outra no Campo Experimental de Itaporanga (CEI), no município de Itaporanga d'Ajuda/SE. Além das populações coletadas, o banco de germoplasma de coco do Betume também é composto pelas populações de gigantes introduzidas: Gigante-Oeste-Africano (África), Gigante-de-Rennel (Salomão), Gigante-da-Polinésia (Taiti), Gigante-de-Rotuma (Fiji), Gigante-de-Tonga (Tonga), Gigante-de-Vanuatu (Vanuatu) e Gigante-da-Malásia (Malásia), e dos seguintes anões: Anão-Amarelo da Malásia e Anão-Vermelho-da-

Malásia (Malásia) e Anão-Vermelho-de-Camarões (Camarões). A maioria dos acessos do ICG-LAC está em produção e em fase de caracterização e avaliação, seguindo as recomendações do *International Plant Resources Institute* (IPGRI).

Uma das populações conservadas foi o Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (GBrPF), localizada no litoral norte da Bahia, na vila da Praia do Forte, município de Mata de São João. Esta população foi coletada inicialmente pela Embrapa, na década de 80, e instalada no Campo Experimental do Betume. No mesmo período, o acesso GBrPF foi introduzido em plantios comerciais nos Estados do Ceará e Pará. No início da década passada, a Embrapa Tabuleiros Costeiros organizou nova expedição de coleta à população original. Sementes dessa segunda coleta foram plantadas no Campo Experimental de Itaporanga, em razão da mudança parcial do ICG-LAC para esta nova área.

Os frutos do GBrPF são oblongos e de tamanho grande. Apresentam os maiores diâmetros polares e equatoriais, 25,4 e 18,9 cm, respectivamente, entre as populações, Gigante-do-Brasil-de-Pacatuba (GBrPC), Gigante-do-Brasil-de-Merepe (GBrMe), Gigante-do-Brasil-de-Santa-Rita (GBrSR) e Gigante-do-Brasil-de-São-José-de-Mipibu (GBrSJM), embora não sejam os de maior massa (1.738 g), pois a sua porcentagem de casca é elevada (59,3%). Essa população também apresenta maiores pesos de coque (256 g), porcentagem de matéria seca no albúmen (58,4%), além de elevada massa de albúmen (202 g) e exibe um bom rendimento de copra por árvore (RIBEIRO et al., 2000).

O GBrPF vem sendo utilizado no Brasil como parental masculino nos cruzamentos com o anão-amarelo-do-Brasil-de-Gramame (AABrG), anão-vermelho-do-Brasil-de-Gramame (AVBrG) e principalmente, com anão-verde-do-Brasil-de-Jiqui (AVeBrJ) para produzir sementes híbridas do BRS 001. Este híbrido é muito vigoroso, com florescimento em torno do terceiro ano após o plantio, produção de fruto quase igual ao anão e muito superior ao gigante (em torno de 130 frutos/planta/ano), e produções de polpa (350g a 400g) e água de coco (580ml) superior à produção do seu parental feminino (ARAGÃO et al., 2004). Além disso, o híbrido AVeBrJ x GBrPF apresenta porte menor em relação aos

AABrG x GBrPF e ao AVBrG x GBrPF e um pecíolo mais curto, dando melhor sustentabilidade ao cacho (RAMOS et al., 2004).

O GBrMe prospectado no Estado de Pernambuco, também foi coletado na década de 80 e implantado no BAG de coco do Campo Experimental do Betume. Os frutos desta população são oblongos e de tamanho grande, cujos diâmetros polar e equatorial medem 25 cm e 18,1 cm, respectivamente, com massa do fruto de 1.927 g. O GBrMe apresenta as maiores massas para todos os componentes de fruto, exceto massa de coque (249 g). Em relação à porcentagem de albúmen sólido, foi semelhante ao GBrPF (18,6%). Essa população apresenta a maior massa de albúmen (357 g) e de copra (212 g) devido ao sua maior massa de fruto e menor porcentagem de coque no fruto (RIBEIRO et al., 2000). O GBrMe também apresenta maior divergência genética em relação as populações GBrSR, GBrPF e GBrSJM, sendo menos divergente do GBrPC (RIBEIRO et al., 1999). Apresentando-se como material genético bastante promissor, principalmente, no que diz respeito a sua utilização em cruzamentos visando à obtenção de híbridos. Ribeiro et al., (2010) também analisaram essas populações por meio de marcadores moleculares e inferiram que o GBrMe apresentou maior distância genética entre a população GBrPF.

A escolha das populações prospectadas de coqueiro-gigante-do-Brasil foi realizada de acordo com os princípios de populações puras da variedade. A pureza é avaliada com base nos critérios de legitimidade, homogeneidade e isolamento. A primeira é definida em função da idade. Essas populações apresentaram mais de 80 anos e quando comparada com a variedade anão, introduzida no país em 1925 não apresentavam o risco de ocorrência de híbridos intervarietais, pois para coleta de germoplasma e produção de sementes certificadas não deve haver a presença de materiais que possam segregar na geração seguinte. Para a homogeneidade considera a constituição das populações, onde estas devem ser compostas apenas por plantas da variedade gigante. As condições de isolamento dessas populações é outro fator importante e necessita de uma distância mínima de 1000 metros, ou pelo menos 500 metros se houver barreira de vegetação, isolando-as de outros coqueirais, principalmente, de anões (RIBEIRO;SIQUEIRA, 1995).

2.4. MELHORAMENTO GENÉTICO DO COQUEIRO

Os primeiros trabalhos com a cultura do coqueiro foram registrados há, aproximadamente, 250 anos na Indonésia, com a descrição de variedades (HARRIES, 1991). Já as pesquisas com o a cultura foram iniciadas na Índia, em 1932, com estudos visando à obtenção de híbridos provenientes do cruzamento entre as variedades gigante e anão (PATEL, 1938). Entretanto, o maior desenvolvimento nas pesquisas ocorreu depois da segunda guerra mundial, a partir da década 60 (NUCÉ DE LAMOTHE et al., 1980).

Pesquisadores do IRHO intensificaram a produção de híbridos baseado na capacidade de combinação entre origens e indivíduos e, simultaneamente, na seleção fenotípica para os caracteres com maior herdabilidade. Depois de identificadas as melhores combinações, por meio de ensaios comparativos em campo, reproduziram-se os melhores híbridos em campos de produção de sementes (NUCÉ DE LAMOTHE et al., 1980).

Nos programas de melhoramento conduzidos pelo CNRA e pelo CIRAD (BOURDEIX et al., 1993), os principais objetivos são o aumento do rendimento de copra e a precocidade. De acordo com o World Bank (GREEN, 1991) os melhores ecótipos de gigantes selecionados, raramente produzem mais que duas toneladas de copra/ha, enquanto os híbridos cultivados em condições ecológicas favoráveis, podem produzir entre 6 e 6,5 t/ha. Existe um grande interesse entre os principais países produtores de coco do mundo, como Filipinas, Indonésia, Índia, Tailândia e países do Pacífico, na avaliação e seleção de híbridos para solucionar seus problemas de produção, doenças e adaptações edafoclimáticas (NUCÉ DE LAMONTHE et al., 1991).

A seleção do coqueiro para um rápido progresso genético por unidade de tempo é limitada pelo longo ciclo de vida da cultura, o pequeno número de sementes produzidas e a ausência de métodos de propagação vegetativa (RIBEIRO

et al., 1999). Direcionados pelas exigências edafoclimáticas e de mercado, o programa de melhoramento genético do coqueiro têm sido conduzido, por meio de seleção massal, a qual se mostrou desfavorável devido à baixa herdabilidade dos caracteres; seleção com teste de progênes; híbridos simples intra e intervarietais, envolvendo no caso de híbridos intervarietais, cruzamentos recíprocos; híbridos complexos, tais como híbridos duplos e híbridos triplos; e, por fim, mais recentemente, o desenvolvimento de variedades sintéticas, a qual envolve o cruzamento entre linhas selecionadas com aferida capacidade combinatória (BATUGAL;BOURDEIX, 2005).

Atualmente, existem várias ações de pesquisa com o coqueiro no mundo que visam aumentar a produtividade, a estabilidade de produção e a sustentabilidade do agroecossistema por meio da seleção de variedades altamente produtivas, tolerantes à seca, às doenças e as pragas. Como no Brasil, praticamente toda a produção de coco é utilizada na alimentação humana, o número de frutos e as características organolépticas também são importantes. Nas Américas e no Caribe, os principais programas estão no Brasil, México, Jamaica e Trinidad (PERSLEY, 1992). No Brasil, o primeiro programa de melhoramento de coqueiro que se teve registro foi coordenado por José Pereira de Miranda Junior, no ano de 1938, no Campo de Sementes de Coqueiro, em Aracaju, e durou até 1951, não tendo continuidade. As ações desenvolvidas compreendiam prospecções, cruzamentos, autopolinizações e estudos sobre a biologia floral e caracterização de frutos (MIRANDAJÚNIOR, 1948). Posteriormente, durante a década de 80 e 90 as empresas Sococo, Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN), desenvolveram atividades de produção de sementes híbridas, por meio de cruzamentos entre coqueiros anão e gigante (SIQUEIRA et al., 2002).

As atividades de melhoramento genético do coqueiro na Embrapa iniciaram-se, no começo da década de 80, com a implantação do BAG. Uma das primeiras atividades realizadas foi à prospecção e coleta de populações naturalizadas de coqueiro, basicamente no Nordeste do país, sendo coletadas inicialmente dez acessos da variedade gigante e três acessos da variedade anão. Na

mesma época também foram introduzidos sete acessos de coqueiro-gigante e três de anão, da Costa do Marfim (SIQUEIRA et al., 1998).

2.5. DIVERSIDADE GENÉTICA

O estudo de diversidade genética em populações compreende a descrição dos níveis de variação genética mantida dentro das populações e como esta se encontra entre e dentro das mesmas (HAMRICK, 1983). Fatores evolutivos, como deriva genética e seleção afetam a dinâmica populacional de plantas e proporcionam modificações na estrutura das mesmas (GAIOTTO et al., 2003).

A variação genética é condição fundamental para que ocorra evolução, pois a seleção natural atua nas diferenças que ocorrem dentro das populações (TORGGLER et al., 1995). Com maior variabilidade genética, maiores serão as chances de sucesso diante das mudanças ambientais (FLEISHMAN et al., 2001). No coqueiro, a variabilidade é pequena devido à existência de uma única espécie e com apenas três variedades (Nana, Aurantiaca e Typica). Portanto, conhecer a variabilidade genética entre e dentro de acessos de coqueiro-gigante é um valioso instrumento que poderá ajudar na adoção de práticas mais eficientes de conservação e na identificação de características de interesse para o melhoramento genético das espécies.

A quantificação da diversidade pode ser feita a partir de marcadores morfológicos, bioquímicos ou moleculares. Diversos trabalhos têm utilizado marcadores morfológicos para formar grupos heteróticos de genótipos em diferentes espécies. Estes estudos estão baseados na pressuposição de que similaridade morfológica indicará similaridade genética (BERED et al., 1997).

Dentre os métodos preditivos utilizados no estudo da divergência genética, estão às análises multivariadas baseadas em caracteres fenotípicos. Essas técnicas têm sido uma ferramenta de grande utilidade em estudos genéticos, por considerar simultaneamente um conjunto de caracteres de interesse (FONSECA et al., 2006). Segundo Cruz (2001), há uma grande variedade de procedimentos multivariados, sendo mais utilizados aqueles que avaliam a similaridade ou dissimilaridade entre

acessos, com o objetivo de direcionar cruzamentos entre parentais divergentes em programas de hibridação ou para administrar informações disponíveis em bancos de germoplasma.

Vários são os procedimentos multivariados utilizados e entre eles estão a Distância Euclidiana, Distância de Mahalanobis, Análise por Componentes Principais e Variáveis Canônicas e Métodos Aglomerativos. A escolha do método mais adequado é determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma em que os dados foram obtidos (CRUZ; REGAZZI, 2004).

No Banco de Germoplasma de coco do Sri Lanka a caracterização e avaliação morfológica com descritores isoladamente não foram suficientes para elucidar variação genética. No entanto, trabalhos anteriores demonstraram que descritores baseados na inflorescência (ASHBURNER et al., 1997), na morfologia e fisiologia da folha (ZIZUMBO-VILLARREAL; GARCÍA-MARÍN, 2001) e nos componentes dos frutos (ZIZUMBO-VILLARREAL; PIÑERO, 1998) foram úteis no estudo da diversidade genética de germoplasma de coco.

No Brasil, estudos de divergência genética com marcadores morfoagronômicos, mais especificamente para componentes do fruto, foram realizados em populações de coqueiro-gigante por meio da Distância de Mahalanobis e Variáveis Canônicas. Foi detectada variabilidade genética entre as populações avaliadas e constatada divergência entre as mesmas (RIBEIRO et al., 1999). Sobral et al. (2012), utilizando descritores morfológicos e técnicas de análises multivariadas (Distância Euclidiana e componentes principais) detectaram divergência genética entre seis acessos de coqueiro-anão.

2.6. CARACTERIZAÇÃO DO COQUEIRO POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

Diversos estudos no mundo vêm sendo realizados usando os marcadores moleculares para caracterizar, avaliar suas relações e identificar possíveis introgressões em coqueiro.

Estudos com RFLPs (LEBRUN et al., 1998), SSRs (PERERA et al., 1999) e AFLPs (TEULAT et al., 2000), identificaram dois conjuntos de genes importantes que representam fontes do tipo selvagem e do tipo doméstico das populações, a partir do qual se desenvolveram todas as cultivares modernas de coqueiro (HARRIES, 1995; PERERA et al., 2009; ZIZUMBO-VILLAREAL et al., 2006). Com base nos resultados destes estudos, foi proposto por Lebrun et al. (2005) a formação de dois grupos de coqueiros geneticamente distintos, relacionados com as regiões geográficas.

O COGENT, juntamente com o CIRAD e apoiado pelo Programa de Geração de Desafio (GCP: <http://gcpcr.grinfo.net/index.php>), caracterizaram as variações genéticas de diversas populações da coleção mundial de coco, por meio de um kit de marcadores microssatélites desenvolvido para o coqueiro (BAUDOUIN;LEBRUN, 2002). O germoplasma caracterizado serviu na elaboração de uma classificação baseada na combinação de critérios, como fenotípicos, moleculares, distribuição geográfica e conhecimento histórico (BAUDOUIN;LEBRUN, 2002).

A classificação da diversidade genética das populações proposta pelo GCP/CIRAD divide o coqueiro em dois grupos geneticamente distintos que correspondem à zona ecogeográfica, que abrange o sul do Pacífico, sudeste Asiático e costa do Pacífico da América, inclusos no grupo denominado A ou Pacífico, o qual é subdividido em sete níveis (A1-anões do sudeste Asiático, A2-anões do sul do Pacífico, A3-gigantes do sudeste Asiático, A4-gigantes da Melanésia, A5-gigantes da Micronésia, A6-gigante da Polinésia e A7-gigante do Panamá) e o grupo que abrange o sul da Ásia, África e costa Atlântica da América e Caribe, inclusos no grupo denominado B ou Indo-Atlântico, o qual é subdividido em três níveis (B1- Indo-Atlântico Típico, B2- Indo-Atlântico com baixa taxa de introgressão e B3-Indo-Atlântico com alta taxa de introgressão) (BAUDOUIN;LEBRUN, 2002).

Perera et al. (2000) estudaram os níveis de diversidade genética, a distribuição da variação e o parentesco genético em acessos de coqueiro obtidos de várias partes do mundo. Os autores observaram elevada diversidade genética entre os acessos e similaridade entre os coqueiros do Sri Lanka e da África. Teulat et al. (2000) também verificaram o mesmo padrão de agrupamento entre os gigantes do Sri Lanka e do oeste Africano. Contudo, Daher et al., (2002) averiguaram relações genéticas entre os gigantes da África e do Brasil e Martinez et al. (2011) entre os gigantes da República Dominicana e do Brasil.

Manimekalai e Nagarajan et al. (2006) analisaram as relações genéticas entre coqueiros de diferentes origens geográficas. Esses autores observaram uma ligação genética entre os acessos do sudeste da Ásia e sul do Pacífico e entre os do sul da Ásia, África e costa Atlântica da América. Gunn et al. (2011) também verificaram relações entre os coqueiros do sul da Ásia com a África e Caribe, sudeste da Ásia e costa do Pacífico da América.

Estudos genéticos em coqueiro também estão sendo realizados com o objetivo de avaliar as propriedades genéticas de acessos identificados como tolerantes à doença amarelecimento letal (KONAN et al., 2007). Esta doença é causada por um fitoplasma que tem atingido os coqueiros que circundam as praias da costa Atlântica, do Pacífico e algumas ilhas da América do Norte e Central. Os coqueiros afetados morrem em um período de 3 a 6 meses após o aparecimento dos primeiros sintomas. No Brasil o fitoplasma causador do amarelecimento letal é considerado uma praga de quarentena A1, contemplada na lista de “Alerta Máxima” pelo Ministério da Agricultura.

Países como o México (ZIZUMBO-VILLARREAL et al., 2002) e República Dominicana (MARTINEZ et al., 2011) vêm estudando possíveis relações genéticas entre populações locais e acessos importados de diferentes partes do mundo, com relação à doença amarelecimento letal. Esses estudos identificaram que as populações presentes na costa Atlântica do México e na República Dominicana apresentam características genéticas do grupo Indo-Atlântico e muito próximas geneticamente das populações de coqueiro do oeste Africano. Esse resultado está de acordo com relatos históricos de introdução de

coqueiros das Ilhas de Cabo Verde para esses países. O Gigante-do-Oeste-Africano em teste de campo apresentou alta susceptibilidade ao amarelecimento letal. Entretanto, os coqueiros da costa oeste do Pacífico do México apresentaram características genéticas do grupo Pacífico, sendo geneticamente próximos aos coqueiros do Panamá que juntamente com o Gigante-de-Vanuatu e o Anão-do-Sri Lanka, apresentam ser tolerante a esta doença.

2.7. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2013: **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2013. 458p.

ARAGÃO, W.M.; TUPINAMBÁ, E.A.; ÂNGELO, P.C. da S.; RIBEIRO, F.E. Seleção de cultivares de coqueiro para diferentes ecossistemas do Brasil. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 1999. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/catalogo/livrorg/temas.html>. Acesso em: 20 de janeiro de 2014.

ARAGÃO, W.M.; RIBEIRO, F.E.; TUPINAMBÁ, E.A.; SIQUEIRA, E.R. Variedades e híbridos do coqueiro. In: Aragão WM (eds) **Coco: pós-colheita**. Brasília. 2002. p26-34.a

ARAGÃO, W.M.; RIBEIRO, F.E.; TUPINAMBÁ, E.A.; SIQUEIRA, E.R. Variedades e híbridos do coqueiro. In: ARAGÃO, W.M. (Ed) **COCO: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2002. 76p.b

ARAGÃO, W.M.; COSTA, A.S.; SANTOS, H.C.Á. C.; PEDROSO, G.T. Florescimento, produção e composição morfológica de frutos de cultivares de coqueiro. **Agrotropica**, v.14, p.151-158, 2004.

ARAGÃO, W.M.; RIBEIRO, F.E.; MELO, M. F. V. Cultivares de coqueiro para a produção de coco seco: coqueiro gigante vs híbridos. In: CINTRA, F.L.D.; FONTES, H.R.; PASSOS, E.E.M.; FERREIRA, J.M.S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 232p.

ARAGÃO, W.M. Cultivares de coqueiros. In: FONTES, H.R.; FERREIRA, J.M.S.; SIQUEIRA, L.A. (Ed.). **A cultura do coqueiro**. Aracaju: Embrapa

Tabuleiros

Costeiros,2007.Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FonteHTML/Coco/ACulturadoCoqueiro/cultivares.htm>>. Acesso em 20 de novembro de 2013.

ASHBURNER, G.R.; THOMPSON, W.K.; HALLORAN, G.M.RAPD analysis of South Pacific coconut palm populations, **Crop Science**, v.37, p.992-997, 1997.

BAUDOUIN, L.; LEBRUN, P.The development of a microsatellite kit and dedicated software for use with coconuts. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). **Burotrop Bull**, v.17, p.16-20, 2002.

BAUDOUIN, L.; LEBRUN, P.Coconut (*Cocos nucifera* L.) DNA studies support the hypothesis of an ancient Austronesian migration from Southeast Asia to America. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.56, p.257–262, 2009.

BATUGAL, P.; BOURDEIX, R. Conventional Coconut Breeding. In: BATUGAL, P.; RAO, V.R.; OLIVER, J. (eds) **Coconut Genetic Resources. International Plant Genetic Resources Institute – Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO)**, Serdang, Selangor, Malaysia, 2005. p.1-10.

BATUGAL, P.; JAYASHREE, K. COGENT's multi-site International Coconut Genebank. In: BATUGAL, P.; RAMANATHA, R.; OLIVER, J (Ed). **Coconut Genetic Resources**.IPGRI-APO, Serdang, Selangor, Malaysia, 2005. 797p.

BECCARI, O. The origin and dispersal of *Cocos nucifera*.**Principes**,v.7, p.57-69, 1963.

BERED, F.; BARBOSA-NETO, J.F.; CARVALHO, F.I.F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento e sua aplicação no melhoramento de plantas. **Ciências Rural**, v.27, p.513-520, 1997.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de Plantas**. 4ªed.Viçosa: UFV, 2005. 525p.

BOURDEIX, R.; N'CHO, Y.P.; SANGARE, A.; BAUDOUIN, L. **Coconut genetic improvement, results and prospects**.Montpellier, 1993.p.29-3.

BOURDEIX, R.; BAUDOUIN, L.; BILLOTE, N.; LABOUISSSE, J.P.; NOIRET, J.M. Le cocotier. In:CHARRIER, A.; JACQUOT, M.; HAMON, S.; NICOLAS, D. (Ed) **L'amélioration des plantes tropicales**. Montpellier, CIRAD-ORSTOM, 1997, p.217-239.

BRUMAN, H.J. Notes and comment a further note on coconuts in Colima. **Hispanic American Historical Review**,v.27, p.212-223, 1947.

BURLE, A.; BROWNE, C.M. **Cultura do coqueiro anão**. Boletim do Campo, Rio de Janeiro, v.10, p.7-10, 1954.

CHILD, R. **Coconuts**. London: Logmans, 1964. 216p.

CLEMENT, C.R.; ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; BROWN, C.H.; WARD, R.G.; PERERA, A.A.; HARRIES, H.C. Coconuts in the Americas. **The Botanical Review**, v.79, p.342-370, 2013.

COGENT. **International Coconut Genetic Resources Network**. Disponível em: <http://www.cogentnetwork.org/cgrd-version-6-0-test-version>. Acesso em 15 de dezembro 2013.

CRUZ, C.D. A informática no melhoramento genético. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-ILGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.1085-1118.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004.480p.

DAHER, R.F.; PEREIRA, M.G.; TUPINAMBÁ, E.A.; AMARAL-JUNIOR, A.T.; ARAGÃO, W.M., RIBEIRO, F.E.; OLIVEIRA, L.O.; SAKIYAMA, N.S. Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.2, p.431-438, 2002.

DASANAYAKA, P.N.; EVERARD, J.M.D.T.; KARUNANAYAKA, E.H.; NANDADASA, H.G. Analysis of coconut (*Cocos nucifera* L.) diversity using microsatellite markers with emphasis on management and utilisation of genetic resources. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v.37, p.99-109, 2009.

DIAS, B.C. **Subsídios ao Grupo de Trabalho para Elaboração de Diretrizes da Política Nacional de Coco**. Maceió: CEPLAC, 1980. 15p.

EKANAYAKE G.K.; PERERA S.A.N.; DASSANAYAKE P.N.; EVERARD J.M.D.T. Varietal Classification of New Coconut (*Cocos nucifera* L.) Forms Identified from Southern Sri Lanka. **Cocos**, v.19, p.41-50, 2010.

ELEAZAR. **Coconut production and marketing with small farmers**. 1981. 10p.

FAO 2012. **World Production**. Disponível em: <www.faostat.org.br>. Acesso em: 10 outubro de 2013.

FLEISHMAN, E.; LAUNER, A.E.; SWITKY, K.R. Rules and exceptions in conservation genetics: Genetic assessment of the endangered plant *Cordylanthus*

palmarum and its implications for management planning. **Biological Conservation**, v.98, p.45-53, 2001.

FOALE, M.; HARRIES, H. C. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Coconut (*Cocos nucifera*). 2009. In: Elevitch, C.R. (ed.). **Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry**. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii. Disponível em: <http://agroforestry.net/scps>. Acesso em 15 de novembro de 2013.

FONSECA, A.F.A. da; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C.D.; SAKAIYAMA, N.S.; FERRÃO, M.A.G.; FERRÃO, R.G.; BRAGANÇA, S.M. Divergência genética em café conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.599-605, 2006.

GAIOTTO, F.A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOVKSY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). **Journal of Heredity**, v.94, p.399-406, 2003.

GREEN, A.H. **Coconut production: present status and priorities for research**. Washington: The world Bank, 1991. 150p.

GRUEZO, W.S.; HARRIES, H.C. Self-sown, wildtype coconuts in the Philippines. **Biotropica**, v.16, p.140-147, 1984.

GUNN, B.F. The phylogeny of the Cocoeae (Arecaceae) with emphasis on *Cocos nucifera* L. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.91, p.505-522, 2004.

GUNN, B.F.; BAUDOUIN, L.; OLSEN, K. M. Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Old World Tropics. **PLoS ONE**, v.6 e 21143, 2011.

HAMRICK, J.L. 1983. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C.M; CHAMBERS, S.H.; MACBYDE, B.; THOMAS, L. (eds) Genetics and conservation. **Benjamin Cummings Publishing Company**, 198.p.335-348.

HARRIES, H.C. The cape verde region (1499–1549); the key to coconut culture in the western hemisphere? **Turrialba**, v.27, p.227–231, 1977.

HARRIES, H.C. The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. **Botanical Review**, v.44, p.265–320, 1978.

HARRIES, H.C. Malesian origin for a domestic *Cocos nucifera* L. In: BAAS, P. KALKMAN, K.; GEESINK, R. (Eds) **The Plant Diversity of Malesia**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1990.p.351-357.

HARRIES, H.C. The promise, performance and problems of F1 Hybrid coconuts. In: SILAS, E.G.; ARAVINDAKSHAN, M.; JOSE, A. L. **Coconut breeding and management**. Vellanikkara: Kerala Agricultural University, 1991.p.39-44.

HARRIES, H.C.**Coconut (*Cocos nucifera*L.) in Evolution of Crop Plants**. 2ed. London and New York: Longman, 1995.p.389–394.

HARRIES, H.C.; BAUDOUIN, L.; CARDEÑA, R.Floating, boating and introgression: Molecular techniques and the ancestry of coconut palm populations on Pacific islands.**Ethnobotany Research Applications**, v.2, p.37-53, 2004.

HARRIES, H. Key to Coconut Cultivation on the American Pacific Coast: the Manila–Acapulco Galleon Route (1565–1815).**Palms**, v.56, p.72-77, 2012.

IPGRI. Descriptors for Coconut(*Cocos nucifera* L.). **International Plant Genetic Resources Institute**, 1995, 68p.

KONNAN, K.J.N.; KOFFI, K.E.; KONNAN, J.L.; LEBRUN, P.; DERY, S.K.; SANGARE, A. Microsatellite gene diversity in coconut (*Cocos nucifera*L.) accessions resistant to lethal yellowing disease. **African Journal of Biotechnology**,v.6, p.341-347, 2007.

LEBRUN, P.; N'CHO, Y.P.; SEGUIN, M.; GRIVET, L.; BAUDOUIN, L. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. **Euphytica**, v.101, p.103–108, 1998.

LEBRUN, P.; BERGER, S.A.; HODGKIN, T.; BAUDOUIN, L. 2005, Biochemical and molecular methods for characterizing coconut diversity, Coconut genetic resources, In: BATUGAL, P.A.; RAMANATHA RAO, V.; OLIVER, J. (eds)**Coconut genetic resources, International Plant Genetic Resources Institute-Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO)**.Serdang, 2005.p.225-251.

LIYANAGE, D.V. Varieties and forms of the coconut palm grown in Ceylon.**Ceylon Coconut Quarterly**, v.9, p.1-10, 1958.

MANIMEKALAI, R.; NAGARAJAN, P. Interrelationships among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions using RAPD technique.**Genetic Resources Crop Evolution**, v.53, p.1137-1144. 2006.

MARTINEZ, R.T.; BAUDOUIN, L.; BERGER, A.; DOLLET, M. Characterization of the genetic diversity of the Tall coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Dominican Republic using microsatellite (SSR) markers.**Tree Genetics & Genomes**, v.6, p.73-81, 2011.

MIRANDA JÚNIOR, J.P. de. **O coqueiro anão**. Rio de Janeiro: SIA,1948. 57p.

MONÇATO, L. **Descritores morfológicos aplicados a germoplasma de espécies de Arachis da seção Caulorrhizae.** Anais... I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS. Campinas, 1997.

NAMBIAR, M.C.; SWAMINATHAN, M.S. (1960) Chromosome morphology, microsporogenesis and pollen fertility in some varieties of coconut. **Indian Journal Genetic Plant Breed**, v.20, p.200–211, 1960.

NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L. et al. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis, Fundação MT, 2001. 1183p.

N'CHO, Y.P.; SANGARE, A.; BOURDEIX, R.; BONNOT, F.; BAUDOVIN, L. Evolution de quelques écotypes de cocotier par une approche biométrique 1. Etude des populations de grands. **Oleagineux**, v.48, p.121-132, 1993.

NUCE de LAMOTHE, M. WUIDART, W.; ROGNON, F. Premier bilan de 12 années de recherches génétiques sur le cocotier en cote-d'ivoire. **Oleagineux**, v.35, p.131-144, 1980.

NUCE DE LAMONTE, M, SANGARE A.; MEUNIER, J.; LE SAINT, J.P. Coconut hybrid – Interest and prospects; IRHO contribution to research and development. In: SILAS, E.G.; ARAVINDAKHAN, M.; JOSE, A.I. **Coconut breeding and management**. Vellinakkara: Kerala Agricultural University, 1991. p.26-38.

PATEL, J.S. **The coconut, a monograph**. Madras, Government Press, 1938. 315p.

PERERA, L.; RUSSELL, J.R.; PROVAN, J.; POWELL, W. Identification and characterization of microsatellite loci in coconut (*Cocos nucifera* L.) and the analysis of coconut populations in Sri Lanka. **Molecular Ecology Notes**, v.8, p.344–346, 1999.

PERERA, L.; RUSSELL, J.R.; PROVAN, J.; POWELL, W. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). **Genome**, v.43, p.15–21, 2000.

PERERA, L.; PERERA, S.A.C.N.; BANDARANAYAKE, C.K.; HARRIES, H.C. Coconut In: VOLLMANN, J.; RAJCAN, I. (eds) **Oil Crop Breeding**. Handbook of Plant Breeding Series, Springer-Verlag, 2009. p.369-396.

PERSLEY, G.J. **Replanting the tree of life: toward an international agenda for coconut palm research**. Wallingford: CAB/ACIAR, 1992. 156p.

PURSEGLOVE, J.W. **Tropical crops: monocotyledons**. Burnt Will:Longman, 1975. 607p.

RAMOS, V.H.V.; PINTO, A.C.Q.; ARAGÃO, W.M.; GOMES, A.C.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, S.R.M.; CORDEIRO, M.C.R.; DIAS, J.N.; ANDRADE, G.A. Comportamento de cultivares de coqueiro anão e híbrido no distrito federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, p.363-365, 2004.

RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A. de; ROMÃO, R.L.; SILVA JUNIOR, J.F. Germoplasma Vegetal Conservado no Nordeste Brasileiro: Situação atual, prioridades e perspectivas. **Magistra**, v.20, p.205-217, 2008.

RIBEIRO, F.E.; SIQUEIRA, E.R. **Introdução, coleta e conservação de germoplasma de coqueiro no Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1995. 15p.

RIBEIRO, F.E.; SOARES, A.R.; RAMALHO, M.A.P. Caracterização física dos frutos de cinco populações de coqueiro gigante (*Cocos nucifera* L.) no Nordeste do Brasil. **Revista Científica Rural**, v.2, p.28-34, 1997.

RIBEIRO, F.E.; SOARES, A.R.; RAMALHO, M.A.P. Divergência genética entre populações de coqueiro gigante do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.1615-1622, 1999.

RIBEIRO, F.E.; SIQUEIRA, E.R.; ARAGÃO, W.M.; TUPINAMBÁ, E.A. **Ecótipos de coqueiro gigante no Brasil**. Aracaju:Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2000. 25p.

RIBEIRO, F.E.; BAUDOUIN, L.; LEBRUN, P.; CHAVES, L.J.; BRONDANI, C.; ZUCCHI, M.I.; VENCOYSKY, R. Population structures of Brazilian tall coconut (*Cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.33, p.696-702, 2010.

SIQUEIRA, E.R. de **Caracterização de População de Coqueiros Gigantes do Brasil para Coletas de Sementes**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1988. 11p.

SIQUEIRA, E.R.; RIBEIRO, F.E.; ARAGÃO, W.M.; TUPINAMBÁ, E.A. Melhoramento genético do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARWICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. (Ed.). **A cultura do coqueiro no Brasil**. Brasília: Embrapa Serviço de Produção e Informação, 1998. p.73-98.

SIQUEIRA, L.A.; ARAGÃO, W.M.; TUPINAMBÁ, E.A. **A introdução do coqueiro no Brasil: importância histórica e agrônômica**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 24p.

SOBRAL, K.M.B.; RAMOS, S.R.R.; GONÇALVES, L.S.A.; AMARAL-JUNIOR, A.T. do A.; ARAGÃO, W.M. Variabilidade genética entre acessos de coqueiro-anão utilizando técnicas de análise multivariada. **Magistra**, v. 24, p.348-359, 2012.

TEULAT, B.; ALDAM, C.; TREHIN, R.; LEBRUN, P.; BARKER, J.H.A.; ARNOLD, G.M.; KARP, A.; BAUDOUIN, L.; ROGNON, F. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. **Theoretical Applied Genetics**, v.100, p.764–771, 2000.

TORGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B.; TORGGGLER, S.P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética; 1995.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D. History of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Mexico: 1539–1810. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.43, p.505–515, 1996.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; PIÑERO, D. Pattern of morphological variation and diversity of *Cocos nucifera* (Arecaceae) in Mexico. **American Journal of Botany**, v.85, p.855-865, 1998.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P.; Morpho-physiological variation and phenotypic plasticity in Mexican populations of coconut (*Cocos nucifera* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.48, p.547-554, 2001.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; CARDEÑA-LOPEZ, R.; PIÑERO, D. Diversity and phylogenetic analysis in *Cocos nucifera* L. in Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.49, p.237-245, 2002.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; RUIZ-RODRIGUEZ, M.; HARRIES, H.; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P. Population Genetics, Lethal Yellowing Disease, and Relationships among Mexican and Imported Coconut Ecotypes. **Crop Science**, v.46, p.2509-2516, 2006.

Distribuição da diversidade genética de coqueiros-gigantes do Brasil da Praia do Forte

Resumo

Pouco se sabe sobre a dispersão do coqueiro no Brasil desde a sua introdução até os dias de hoje. Informações sobre a distribuição da variabilidade genética existentes nas populações brasileiras ainda são incipientes e precisam ser melhor exploradas. O objetivo deste estudo foi analisar a distribuição da variabilidade genética da população original de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (GBrPF-PO), coletado no litoral norte da Bahia, e de quatro acessos procedentes dessa população conservados em quatro bases físicas: uma no Ceará (GBrPF-CE), uma no Pará (GBrPF-PA) e duas no Banco Internacional de Coco para a América Latina e Caribe, distribuídas entre o Campo Experimental do Betume (GBrPF-CEB) e o Campo Experimental de Itaporanga (GBrPF-CEI), ambas no estado de Sergipe. Foram analisados dez indivíduos da população original e de cada base, utilizando 25 loci microssatélite. Dezoito microssatélite foram polimórficos e detectaram entre 3 e 8 alelos por loco, com média de 5,05. A heterozigosidade observada variou entre 0,426 (GBrPF-CEI) a 0,517 (GBrPF-PA) e a heterozigosidade esperada entre 0,557 (GBrPF-CE) a 0,596 (GBrPF-CEI). Os acessos GBrPF-CEB, GBrPF-CE e GBrPF-PA apresentam predominância de panmixia. A análise da estrutura genética dos 50 indivíduos analisados identificou uma composição mista da população e dos acessos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, sugerindo que os acessos coletados representam a estruturação genética da população original. A partir do método de agrupamento UPGMA, houve a formação de 14 grupos, tendo os acessos GBrPF-CEB e GBrPF-PA mostrado maior similaridade com o GBrPF-PO. Esses dois acessos são os que melhores representam a variabilidade genética da população da Praia do Forte.

Abstract

Little is known about the dispersal of the coconut palm in Brazil since its introduction to the present day. Information on the distribution of existing genetic

variability in Brazilian populations is still nascent and it needs to be further explored. The aim of this study was to analyze the distribution of the genetic variability of the original population of Tall-Brazil-In-Praia-Forte (GBrPF-PO), collected on the northern coast of Bahia greens, and four hits that kept people coming four physical bases: one in Ceará (GBrPF-CE), one in Pará (GBrPF-PA) and two in the International Bank for Coco for Latin America and the Caribbean, distributed between the Experimental Field of Betume (GBrPF-CEB) and Field Experimental Itaporanga (GBrPF-CEI), both in the state of Sergipe. Ten individuals of the original population and each base were analyzed using 25 microsatellite loci. Eighteen polymorphic microsatellite were detected and between 3 and 8 alleles per locus, with an average of 5.05. The observed heterozygosity ranged from 0.426 (GBrPF-CEI) to 0.517 (GBrPF-PA) and expected heterozygosity between 0.557 (GBrPF-CE) to 0.596 (GBrPF-CEI). The GBrPF-CEB, GBrPF-CE and GBrPF-PA access show predominance of panmixia. The analysis of the genetic structure of 50 individuals analyzed identified a mixed composition of the population and the Tall-Brazil-Praia-Forte coconut accessions, suggesting that accesses listed represent the genetic structure of the original population. From the UPGMA clustering method, thus forming 14 groups, with the GBrPF-CEB and GBrPF-PA showed greater similarity with GBrPF-PO accesses. These two hits are the ones that best represent the genetic variability of the population of Praia do Forte.

Introdução

O coqueiro-gigante representa cerca de 70% da exploração do coco no Brasil (Aragão et al. 2002) e devido a sua rusticidade é utilizado, principalmente, pelo pequeno produtor. É uma variedade que apresenta germinação de semente lenta e crescimento rápido, fase vegetativa de cerca de cinco a sete anos, frutos grandes e vida econômica de 65 a 75 anos, podendo continuar produzindo por mais de 100 anos. No Brasil, o fruto do coqueiro-gigante é muito empregado *in natura* para uso culinário, bem como na agroindústria de alimentos (Aragão et al. 2002). Essa variedade, segundo Sugimura et al. (1997), apresenta variabilidade genética

para as inúmeras características morfológicas e reprodutivas de interesse agrônomo e econômico. Genótipos elites de coqueiro-gigante são utilizados em países como Índia, Malásia, Indonésia e Brasil, tanto para produção de mudas para plantio, quanto para cruzamentos intra e intervarietais (Rethiman et al. 2005).

O melhoramento genético do coqueiro no Brasil iniciou-se com os trabalhos desenvolvidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em 1983, por meio da implantação do Banco de germoplasma que, em 2004, vinculou-se à Rede Internacional de Recursos Genéticos de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC). De acordo com Siqueira et al. (1998), uma das primeiras atividades foi a prospecção e coleta de populações de coqueiro-gigante, basicamente na região Nordeste do país, com o objetivo de preservar o material genético existente e na possibilidade de sua utilização futura. A escolha das populações prospectadas foi realizada de acordo com os princípios de populações puras da variedade, com base nos critérios de legitimidade (idade superior a 80 anos), homogeneidade (composta apenas por plantas da variedade gigante) e isolamento (de pelo menos 500 m) (Ribeiro e Siqueira 1995).

Uma das populações coletadas foi a gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, localizada no litoral norte da Bahia, na vila da Praia do Forte, município de Mata de São João. Esta população foi coletada, inicialmente, pela Embrapa, na década de 80, e instalada no Banco de germoplasma, no Campo Experimental do Betume, município de Neópolis, SE. No mesmo período, o acesso gigante-do-Brasil-da-Praia-Forte foi introduzido em plantios comerciais nos Estados do Ceará e Pará. No início da década passada, a Embrapa Tabuleiros Costeiros organizou nova expedição de coleta à população original. Sementes dessa segunda coleta foram plantadas no Campo Experimental de Itaporanga, situado no município de Itaporanga d'Ajuda, SE, em razão da mudança parcial do BAG para esta nova área. Atualmente, essa população é utilizada como parental masculino nos cruzamentos com as variedades anão-amarelo, anão-verde e anão-vermelho na produção de sementes híbridas nas áreas comerciais, principalmente, no Ceará (Aragão et al. 2003).

No Brasil, o coqueiro vem sofrendo forte erosão genética, ocasionada pela ação do homem com a eliminação de grandes áreas de cultivo para dar lugar a projetos urbanísticos, turísticos, estradas e substituição por outras espécies para cultivo como, por exemplo, a cana de açúcar (Siqueira et al. 2002), o que coopera para o estreitamento da base genética. A vila da Praia do Forte, que foi a base física para a coleta do gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, atualmente é uma região onde o turismo e o setor imobiliário são fortemente explorados, o que contribui para redução significativa do tamanho desta população.

Em virtude da existência das diversas coleções, coletadas em diferentes épocas, e da erosão genética que vem sofrendo a população gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte é que o conhecimento da distribuição da variabilidade e da estruturação genética dos acessos do gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte torna-se necessário para direcionar as atividades de conservação *in situ* e *ex situ*, além do manejo dos acessos, que estão conservados em diferentes bases físicas no país. Inclusive, inferir sobre a constituição genética dos híbridos que foram desenvolvidos tanto pela Embrapa quanto pelas empresas privadas que utilizaram estes acessos nos cruzamentos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a distribuição e estruturação da diversidade genética entre a população original e os acessos coletados de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

Materiais e Métodos

Foram analisadas a população original do coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte e quatro acessos procedentes dessa população. A população original (GBrPF-PO) está localizada em uma faixa de 14 km ao longo da costa norte do Estado da Bahia, entre os rios Pojuca (12°35'30"S) e Imbassáí (12°30'30"N), na Vila da Praia do Forte, pertencente ao município de Mata de São João, BA, distante 80 km de Salvador, com cerca de 100.000 plantas. Em 1980, a população foi identificada e selecionada como pura da variedade gigante, de acordo com os critérios de legitimidade, homogeneidade e isolamento (Ribeiro e Siqueira 1995).

Os acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, coletados nos anos 80 estão conservados no Banco de germoplasma, na Embrapa Tabuleiros Costeiros, no Campo Experimental do Betume (GBrPF-CEB), no município de Neópolis, SE, com 110 plantas. Nas empresas privadas nos Estados do Ceará (GBrPF-CE), estão cerca de 1420 plantas e no Pará (GBrPF-PA), 220 plantas. O acesso localizado no Campo Experimental de Itaporanga (GBrPF-CEI), no município de Itaporanga d’Ajuda, SE, foi coletado no ano 2000 e é constituído por 160 plantas.

Ao acaso selecionaram-se para a coleta do material vegetal para a análise molecular, 100 indivíduos da população original, que estão representados no mapa do município de Mata de São João, BA (Figura 1) e 100 indivíduos de cada acesso. Posteriormente, foram sorteadas, considerando as plantas selecionadas da população original e de cada acesso, 10 indivíduos, em um total de 50 amostras. Essa quantidade de indivíduos por população e acessos, sorteados para a análise molecular é o número mínimo sugerido por Baudouin (2009) para caracterizar uma população de coqueiro-gigante com precisão. Todas as análises de campo e laboratório foram realizadas no ano de 2012.

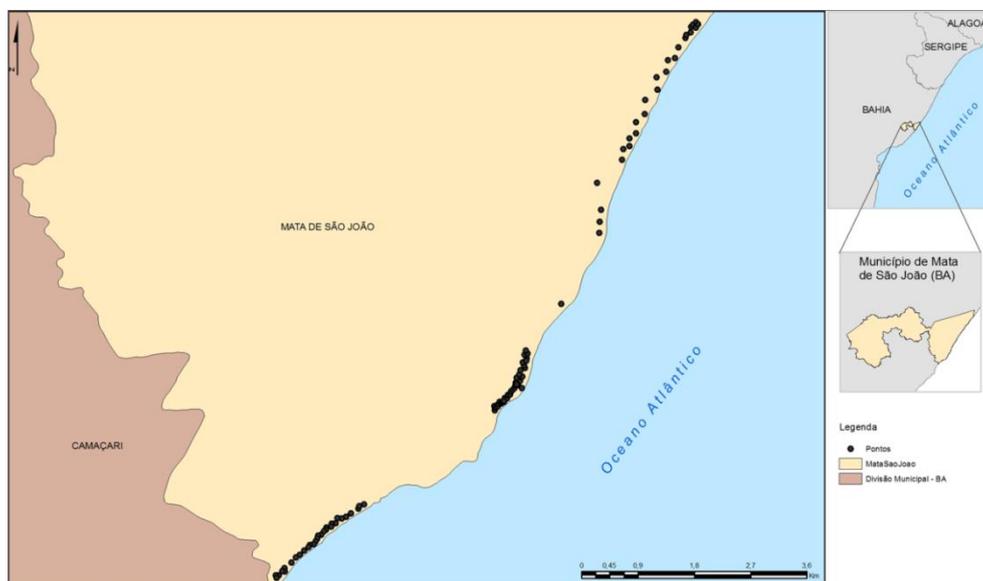


Figura 1. Representação gráfica das 100 plantas selecionadas da população original de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, Vila da Praia do Forte, município de Mata de São João, BA.

Extração de DNA e Análise com SSR

O DNA foi extraído a partir de folíolos da folha n° 1, pelo o protocolo modificado de CTAB (Doyle e Doyle 1987) e quantificado por meio de espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (Thermo Scientific®).

As análises com os marcadores SSR foram realizadas como descrito por Baudouin (2009) estando os *primers* utilizados e as informações associadas descritas na Tabela 1.

Para cada reação de PCR, foi realizado um mix de reagentes com volume de 20 µL, com concentração final de tampão 1XPCR; 0,2mM dNTP; 0,8mM de MgCl₂; 0,08µM de cada *primer* ; 1 U Taq DNA polimerase e 5ng de DNA.

O programa utilizado para a reação de PCR consistiu em um ciclo por 5 min a 94°C para a desnaturação inicial do DNA, seguido de 35 ciclos com 30 segundos a 94°C para desnaturação, 1 min a 51°C para o anelamento dos iniciadores e 1 min a 72°C para a extensão dos *primers* e, posteriormente, mais um ciclo de 30 minutos a 72° C para a extensão final.

Para a separação dos fragmentos de DNA por sistema de eletroforese capilar foi usado 1 µL de cada produto das ampliações diluído em 79 µL de água ultra pura, e aplicadas em microplacas de 96 amostras. No último poço da microplaca foi usado o marcador de DNA Ladder (Invitrogen USA) de 50pb, para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados. As microplacas foram submetidos ao sistema de eletroforese capilar sob fluorescência, pelo equipamento AdvanCE™ FS96 (Advanced analytical), utilizando o gel DNF900, por 120 minutos em uma corrente de 7,50 Kw, para separar os fragmentos de DNA, com sensibilidade de 5pg/ µL e resolução de 5 pares de base.

Tabela 1. Lista de *primers* de microssatélites específicos utilizados para a avaliação da diversidade genética na população original e quatro acessos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

<i>Primer</i>	Motif	Primer (5'-3')	Referências
CnCir A3	(TG) ₁₅	F-AATCTAAATCTACGAAAGCA R-AATAATGTGAAAAAGCAAAG	Rajesh et al. 2008
CnCir A9	(GT) ₉ (GA) ₈	F-TGTTTGTGTCTTTGTGCGTGTGT R-CCTTATTTTTCTTCCCCTTCCTCA	Rajesh et al. 2008
CnCir B6	(GT) ₄ (CT) ₂ (GT) ₁₀ (GA) ₁₁	F-GAGTGTGTGAGCCAGCAT R-ATTGTTACAGTCCTTCCA	Rajesh et al. 2008
CnCir B12	(CA) ₂₀ (GA) ₁₅	F-GCTCTTCAGTCTTCTCAA R-CTGTATGCCAATTTTTCTA	Rajesh et al. 2008
CnCir C3'	(CA) _{12x21} (GC) ₆ (AC) ₁₀ (AG) ₁₂	F-AGAAAGCTGAGAGGGAGATT R-GTGGGGCATGAAAAGTAAC	Rajesh et al. 2008
CnCir C7	(GT) ₇ (GA) ₁₆	F-ATAGCATATGGTTTTCTT R-TGCTCCAGCGTTCATCTA	Rajesh et al. 2008
CnCir C12	(CA) ₁₂ (TA) ₆	F-ATACCACAGGCTAACAT R-AACCAGAGACATTGAA	Rajesh et al. 2008
CnCir E2	(CT) ₁₇ (GA) ₁₆	F-TCGCTGATGAATGCTTGCT R-GGGGCTGAGGGATAAACC	Rajesh et al. 2008
CnCir E10	(CA) ₈ (GA) ₁₁	F-TGGGTTCCATTTCTTCTCATC R-CTCTTAGGGTTCGCTTCTTAG	Rajesh et al. 2008
CnCir E12	(CT) ₆ (CCT) ₂	F-TCACGCAAAAAGATAAAAACC R-ATGGAGATGGAAAGAAAGG	Rajesh et al. 2008
CnCir G11	(GT) ₉ (GA) ₉ TA(GA) ₄	F-TATCTCCAAAAATCATCGAAAAG R-TCATCCACACCCCTCTCT	Rajesh et al. 2008
CnCir H7	(CT) ₁₆ (CA) ₁₃	F-GAGATGGCATAAACACCTA R-TGCTGAAGCAAAAAGAGTA	Rajesh et al. 2008
CNZ10	(CT) ₁₈ (GT) ₁₇	F-CCTATTGCACCTAAGCAATTA R-AATGATTTTCGAAGAGAGGTC	Perera et al. 2000
CNZ43	(GA) ₂₁	F-TCTTCATTTGATGAGAATGCT R-ACCGTATTCACCATCTAACA	Perera et al. 2000
CNZ44	(GA) ₁₅	F-CATCAGTTCACCTCTCATTTC R-CAACAAAAGACATAGGTGGTC	Perera et al. 2000
CnCir F3	(TC) ₁₇ (CA) ₁₆	F-CCCTACTACTCCCTCAT R-TGCCTAGTCAATCATAAC	Kumar et al. 2011
CNZ01	(CT) ₁₅ (CA) ₉	F-ATGATGATCTCTGGTTAGGCT R-AAATGAGGGTTTGAAGGATT	Kumar et al. 2011
CNZ02	(GA) ₁₅	F-CTCTTCCCATCATATACCAGC R-ACTGGGGGGATCTTATCTCTG	Kumar et al. 2011
CAC2	(CA) ₁₂ (AG) ₁₄	F-AGCTTTTTCATTGCTGGAAT R-CCCCTCCAATACATTTTTCC	Perera et al. 2000
CNZ40	(CT) ₂₀	F-CTTGATTGCTATCTCAAATGG R-CTGAGACCAAATACCATGTGT	Kumar et al. 2011
CAC21	(CA) ₁₁	F-AATTGTGTGACACCTAGCC R-GCATAACTCTTTCATAAGGA	Kumar et al. 2011
CAC23	(CA) ₈	F-TGAAAACAAAAGATAGATGTCA R-GAAGATGATTTGATATGGAAC	Kumar et al. 2011
CAC71	(CA) ₁₇	F-ATAGCTCAAGTTGTTGCTAGG R-ATATTGTCATGATTGAGCCTC	Kumar et al. 2011
CAC84	(CA) ₁₅	F-TTGGTTTTTGTATGGAACCTCT R-AACCAAAAATGCTAACATCTCA	Kumar et al. 2011
CAC50	(TA) ₆ (CA) ₂₁	F-CTTACTCACCCATAACAAAG R-TTGTAGTTGCCCATATCTCTT	Perera et al. 1999

Análises Estatísticas

A distância genética entre a população e os acessos de gigante-do-Brasil-da-praia-do-Forte foi calculada pelo coeficiente de similaridade utilizando o índice ponderado com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2013). A análise de agrupamento dos acessos via dendrograma foi feita com base no método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average) (Saitou e Nei 1987), por meio do programa Mega versão 5 (Kumar et al. 2009). O ajuste entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Sokal e Rolf 1962) no programa R (R Development Core Team, 2006), pelos pacotes “cluster” e “Rcmdr”. O programa Genalex 6.3 (Peakall e Smouse 2009) foi utilizado para estimar o número de alelos, número de alelos efetivos, frequência do alelo principal, conteúdo de polimorfismo (PIC), índice de Shannon (I), heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O) e coeficiente de endogamia (F). O teste de hipótese Qui-quadrado foi aplicado a H_E e H_O para verificar a significância entre as duas variáveis. Para investigar a estrutura da população foram utilizados métodos de agrupamento Bayesianos pelo programa STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard et al. 2000).

Resultados e Discussão

Em um total de 50 indivíduos foram analisados 25 loci de microssatélites para à detecção da diversidade genética da população original e dos quatro acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte. Desses, sete apresentaram amplificações indefinidas e foram descartados.

Os dezoito *primers* SSRs utilizados na avaliação geraram um total de 91 alelos. O número de alelo por loco variou de três, para os iniciadores CnCirC12, CAC21, CAC23 e CAC71, a oito para os marcadores CAC02 e CNZ10, com média de 5,05 alelos por loco (Tabela 2). Este valor médio é igual ao encontrado por Rivera et al. (1999) e Ribeiro et al. (2010) que utilizaram 38 e 13 marcadores SSRs, respectivamente. Porém é superior ao encontrado por Kumar et al. (2011) que obtiveram média de 3,5 alelos por loco com oito SSRs em diferentes populações de coqueiro-gigante. Este resultado evidencia a existência de

variabilidade genética entre os indivíduos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte analisados neste trabalho.

Tabela 2. Números de alelos (A), números de alelos efetivos (N_e), frequência do alelo principal e conteúdo de informação polimórfica (PIC) por SSRs.

<i>Primer</i>	Nº de Alelos	Nº de Alelos Efetivos (N_e)	Frequência do alelo principal	PIC
CnCir A3	5	1,49	0,80	0,31
CnCir B12	6	3,01	0,38	0,66
CnCir C12	3	1,77	0,70	0,36
CnCir E2	7	4,66	0,22	0,80
CnCir E10	4	2,48	0,44	0,56
CnCir E12	5	2,69	0,36	0,69
CNZ40	6	2,64	0,53	0,59
CAC02	8	3,87	0,37	0,75
CNZ10	8	3,44	0,35	0,73
CNZ43	7	2,86	0,36	0,73
CNZ44	4	2,42	0,46	0,58
CnCir B3	5	2,46	0,56	0,57
CNZ02	5	3,38	0,31	0,73
CAC21	3	2,32	0,50	0,54
CAC23	3	1,27	0,86	0,22
CAC71	3	2,12	0,48	0,42
CAC84	4	2,68	0,36	0,62
CAC50	5	2,41	0,43	0,57
Média	5,05	2,66	0,47	0,57

O número efetivo de alelos por loco polimórfico (N_e) variou de 1,27 (CAC23) a 4,66 (CnCirE2). Esses resultados fornecem uma tendência de distribuição de frequências alélicas. Em todos os locos o número de alelos foi maior que o número efetivo de alelos, o que confirma a distribuição desigual de frequências alélicas, com número elevado de alelos com baixa frequência.

Nos marcadores CnCirA3 e CAC23 a frequência do alelo principal ou comum foi igual ou superior a 0,80%, o que reduziu o poder informativo do marcador. Isto porque apresentaram os menores valores do conteúdo de informação de polimorfismo (PIC). O PIC é empregado para quantificar o polimorfismo genético, no qual valores baixos indicam pouca variação genética para os locos. Os maiores valores para o PIC foram encontrados para os locos CnCirE2, CAC02,

CNZ10, CNZ4 e CNZ02, com média de 0,57. Isso demonstra que esses marcadores possuem bom poder discriminatório entre os locos analisados. Os índices descritivos analisados indicam que os 18 marcadores microssatélites utilizados neste estudo são satisfatório para acessar a diversidade genética em populações de coqueiro-gigante.

O índice de informação de Shannon tem sido empregado em estudos genéticos como medida de diversidade dentro de uma população. Tal índice define que a diversidade será tanto maior quanto mais próximos da unidade forem os valores estimados. Considerando todos os 50 indivíduos analisados, os valores desse índice variaram de 1,00 (GBrPF-CEB e GBrPF-PA) a 1,05 (GBrPF-CEI) (Tabela 3). Kumar et al. (2011) analisou 14 acessos de coqueiro-gigante do sul do Pacífico e observaram valores bem abaixo aos encontrados no presente estudo, com média de 0,26. Isso revela a existência de alta variação genotípica nos indivíduos GBrPF.

Tabela 3. Índice de Shannon, heterozigosidade observada (H_O), heterozigosidade esperada (H_E), Qui-quadrado (X^2) para heterozigosidade e coeficiente de endogamia (F) para a estimativa da variabilidade genética dos indivíduos da população original e dos acessos de coqueiro-gigante-do Brasil-da-Praia-do-Forte.

População e Acessos	Índice de Shannon	Heterozigosidade observada (H_O)	Heterozigosidade esperada (H_E)	X^2 Calculado	Coeficiente de endogamia
GBrPF-CE	1,02	0,516	0,557	26,30	0,059
GBrPF-PO	1,01	0,441	0,562	32,16*	0,217
GBrPF-CEI	1,05	0,426	0,596	36,76*	0,295
GBrPF-CEB	1,00	0,514	0,564	25,20	0,109
GBrPF-PA	1,00	0,517	0,570	24,29	0,091
X^2 tabelado = 27,6					

A análise da diversidade genética estimada entre os 50 indivíduos a partir da estimativa da heterozigosidade mostrou que os valores esperados foram maiores que os observados, sugerindo uma tendência dos indivíduos à endogamia. Entretanto, pelo cálculo do Qui-quadrado não houve diferenças significativas entre a heterozigosidade observada (H_O) e a Heterozigosidade esperada (H_E), fração

estimada de todos os indivíduos que poderiam ser heterozigóticos de um loco escolhido randomicamente, para os acessos GBrPF-CE, GBrPF-CEB e GBrPF-PA, indicando predominância de panmixia, ou seja, não ocorreu processos que gerasse uma endogamia expressiva. Verificou-se também que entre a população original e os acessos analisados, a H_o foi maior, para esses mesmos acessos, 0,517, 0,516 e 0,514, respectivamente. Enquanto o acesso GBrPF-CEI e a população original GBrPF-PO apresentaram diferenças significativas entre H_o e H_e e valores de H_o menores, 0,426 e 0,441, levando a coeficientes de endogamia mais elevados, 0,295 e 0,217, respectivamente (Tabela 3). Esses resultados fornece uma tendência dos tipos de cruzamentos ocorrido na população GBrPF, pois foi analisado um número mínimo de indivíduos.

Os relatos históricos indicam que o coqueiro-gigante chegou ao Brasil em 1553 (Harries 1977) e desta forma, acredita-se que a população foi formada inicialmente a partir dos intercruzamentos de poucos indivíduos. Implica dizer que, apenas uma pequena fração da variação genética da população original, resultado de efeito fundador (N'cho et al. 1993), favoreceu o desenvolvimento de características da população de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte. Podem ter ocorrido fatores como deriva genética, endogamia e seleção involuntária, contribuindo para a diminuição da variabilidade genética. Conseqüentemente, levado a perdas de alelos importantes e/ou contribuindo para fixação de alguns homozigotos. A população original está localizada em uma faixa de aproximadamente 14 km de praia, mas já foi maior e vem sofrendo nos dias atuais forte erosão genética devida à supressão de plantas. Atualmente, a população é composta por aproximadamente 100.000 plantas de coqueiro em áreas descontínuas (Fundação Garcia D'Avila 1996), número bem menor ao que era na década de 80 quando foi inicialmente prospectada pela Embrapa e Empresas privadas do Brasil.

Os acessos GBrPF-CE, GBrPF-CEB e GBrPF-PA foram coletados em 1982, quando a população original estava praticamente intacta. Os dados indicam que esses acessos apresentam maior variabilidade, quando comparadas à população original (GBrPF-PO), que vem sendo suprimida paulatinamente e ao acesso

conservado no Campo Experimental de Itaporanga (GBrPF-CEI), o qual foi coletada no início de 2000. A coleta do acesso GBrPF-CEB seguiu critérios específicos como o tamanho efetivo populacional (N_e) para a captação da diversidade genética na população original. Os registros indicam que cerca de 150 plantas foram coletadas para garantir a integridade genética, selecionadas ao acaso, e coletadas duas sementes por planta (Ribeiro e Siqueira, 1995). Os acessos GBrPF-CE e GBrPF-PA foram coletados no mesmo período e seguiram os mesmos critérios, apesar dos objetivos serem para instalação de áreas comerciais de produção. A coleta do GBrPF-CEI seguiu outra metodologia, pois as sementes foram coletadas de uma única área de armazenagem de frutos e 20 anos depois das outras coletas, o que pode ter contribuído para a menor captação da variabilidade genética.

A população original e os quatro acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte também foram analisados quanto a sua estrutura gênica (Figura 2). Os indivíduos estão representados por linhas verticais coloridas. A mesma cor em indivíduos diferentes indica que eles têm a mesma estruturação gênica e cores diferentes em um mesmo indivíduo indica a porcentagem do genoma que é compartilhado.

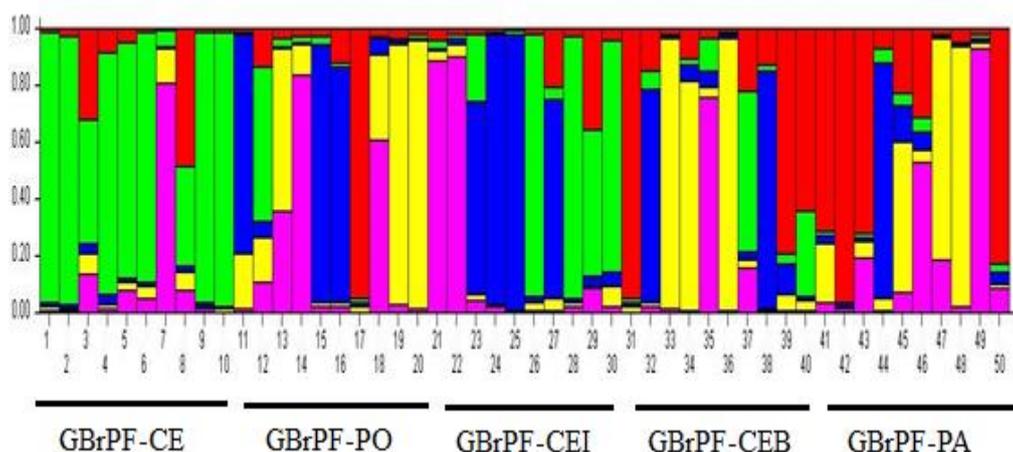


Figura 2. Análise da estruturação genética dos 50 indivíduos da população original e dos quatro acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

A análise estrutural com os 50 indivíduos identificou uma composição mista da população e dos acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte. De acordo com os registros históricos, o coqueiro-gigante vem se desenvolvendo no Brasil, desde sua introdução, há quase 5 séculos (Harries, 1977). Durante esse período as populações de coqueiro-gigante se adaptou as diferentes condições ambientais, o que sugere que a estruturação gênica presente no gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte é, provavelmente, devido à deriva genética, fortemente influenciada por um efeito fundador e pela seleção humana (Ribeiro et al. 2010).

Os indivíduos de uma geração da variedade gigante permanecem viáveis de 80 a 100 anos. Tal situação implica em cerca de quatro ou cinco gerações evolutivas da população de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte. Os acessos coletados dessa população tem entre 14 (GBrPF-CEI) a 32 (GBrPF-CEB, GBrPF-CE e GBrPF-PA) anos. Isso indica que pouco provavelmente tenha ocorrido processos como mutação, migração, seleção natural, deriva genética e cruzamento preferencias, de modo a ter alterado as frequências alélicas e/ou genotípicas dos acessos. Isso sugere que os acessos coletados representam a estruturação genética da população original do gigante-do-Brasil-da-Praia-Forte. Essa sugestão é evidenciada, também, pela não formação de grupos homogêneos na análise estrutural o que é interessante para as atividades de recursos genéticos e de melhoramento, pois os acessos ainda apresentam a variabilidade genética da população original para serem acessadas.

Apesar da não separação dos indivíduos em grupos homogêneos, foi possível observar que os acessos GBrPF-CE e GBrPF-CEI apresentaram grande porção de compartilhamento de alelos, o que os tornam geneticamente mais próximos. A população original (GBrPF-PO) tem grande porcentagem de mistura alélica. Fato que explica a derivação de todos os acessos a partir da mesma. A constituição genética dos acessos GBrPF-CEB e GBrPF-PA, coletados no início dos anos 80, se aproximaram geneticamente da população original (GBrPF-PO). Ribeiro et al. (2010) também analisaram a estrutura genética de diferentes populações de coqueiro-gigante coletados no Brasil e entre as populações, o

gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte. Esses autores verificaram grande variabilidade genética e uma grande porção de compartilhamento de alelos, o que possibilitou a formação de dois grupos principais, confirmando essa diferenciação recente das populações brasileiras.

O conhecimento gerado da distribuição da variabilidade genética no coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte auxiliará na tomada de decisões sobre a conservação dos acessos, mantidos em diferentes bases físicas. Além de na utilização da variabilidade em programas de melhoramento da espécie. Os acessos, principalmente os conservados no ICG-LAC, no Campo Experimental do Betume e da base física no Pará, representam adequadamente a diversidade genética inicial da população original. Além disso, o acesso conservado no Campo Experimental de Itaporanga representa a diversidade atual da população, sendo importante a conservação, principalmente do acesso conservado, no Campo Experimental do Betume, pois a população original vem sofrendo forte erosão genética. Assim, a conservação *ex situ* é uma valiosa rede de segurança contra a perda de variabilidade genética existente na população de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

A análise de agrupamento entre os indivíduos da população original e os quatro acessos de gigante proporcionou a formação de 14 grupos distintos, com distância média de 0,17 e correlação cofenética de 0,85 (Figura 3), confirmando a existência de variabilidade genética entre os indivíduos.

Verificou-se que os grupos I, IV e VII aglomeraram maior número de indivíduos procedentes das cinco localidades (GBrPF-CE, GBrPF-PO, GBrPF-CEB, GBrPF-CEI e GBrPF-PA). O grupo I reuniu cinco indivíduos do GBrPF-CEB e dois da GBrPF-PO, o grupo IV sete indivíduos do GBrPF-CE e um GBrPF-PO e o grupo VII, o mais heterogêneo com três indivíduos do GBrPF-PO, dois do GBrPF-CEB e do GBrPF-CEI e um do GBrPF-PA.

O grupo II reuniu três indivíduos do GBrPF-PA, um do GBrPF-PO e GBrPF-CEB e o grupo VIII com três do GBrPF-PA e um do GBrPF-PO. Os demais grupos foram formados por um (V, IX e XIV), dois (XI, XII e XIII) e três indivíduos (III,VI e X). Observa-se que a GBrPF-PO ficou disperso no

dendrograma, o que evidencia a variabilidade genética existente na população original e com maior proximidade genética com os acessos do GBrPF-CEB e do GBrPF-PA. Esse resultado corrobora com a análise estrutural (Figura 2) que também apresentou a mesma tendência de aproximação genética entre GBrPF-PO e os acessos GBrPF-CEB e GBrPF-PA. A análise de dissimilaridade genética foi eficiente em expressar o grau de diversidade genética entre os indivíduos de coqueiro-gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte.

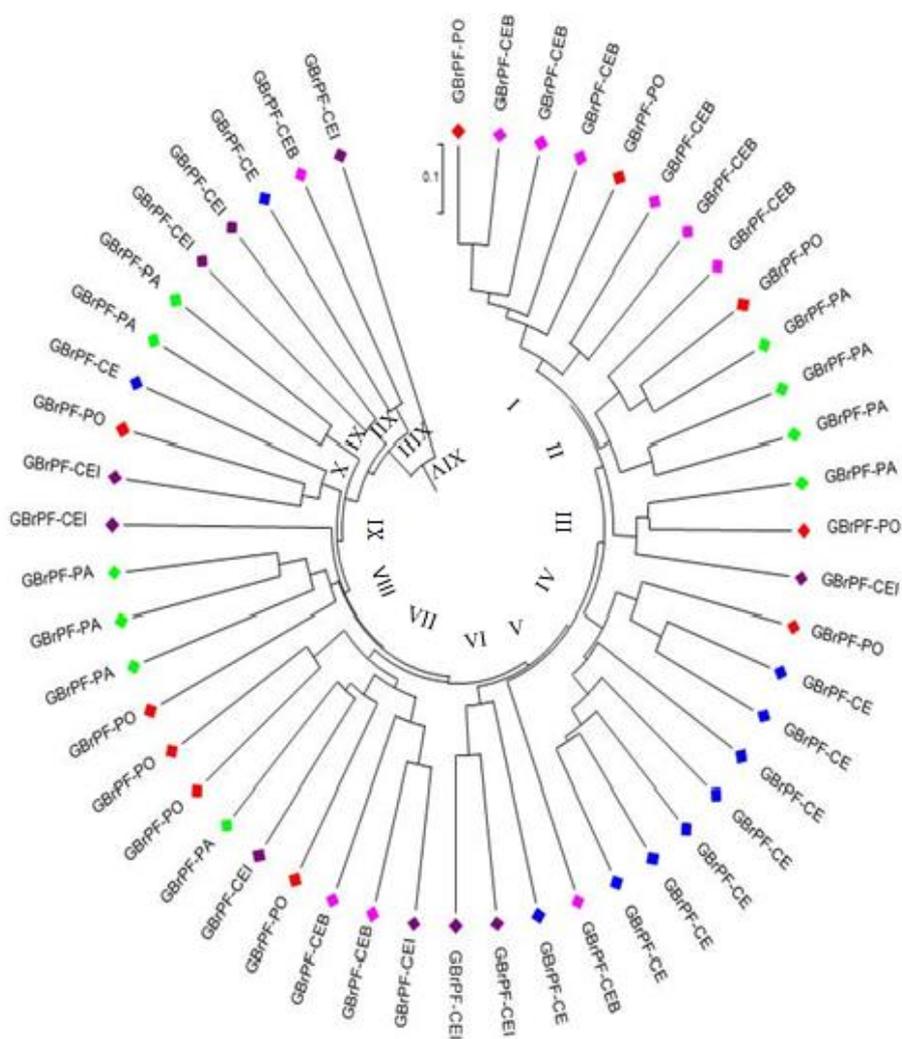


Figura 3. Dendrograma obtido pelo método UPGMA na análise de 50 indivíduos da população original e de quatro acessos de coqueiro gigante-do-Brasil-da-Praia-do-forte (Distância genética de 0,17, Coeficiente de correlação cofenética= 0,85).

Referências

Aragão WM, Ribeiro FE, Tupinambá EA, Siqueira ER (2002) Variedades e híbridos do coqueiro. In: Aragão WM (eds) *Coco: pós-colheita*. Brasília, pp 26-34.

Aragão WM, Ribeiro FE, Tupinambá EA, Siqueira ER (2003) Variedades e híbridos In: Fontes HR, Ribeiro FE, Fernandes MF (eds) *Coco Produção Aspectos Técnicos*. Brasília, pp 21- 26.

Baudouin L (2009) Consolidate microsatellite data on coconut diversity: Final report LOA APO/08/007, pp 1-14.

Cruz CD (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35:271-276.

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small amounts of leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19: 11–15.

Fundação Garcia D'Avila (1996) Plano de ação para reserva da Sapiranga e Fazenda Praia do Forte. [Mata de São João], pp 31.

Harries, HC (1977) The Cape Verde region (1499 to 1549); the key to coconut culture in the Western Hemisphere? *Turrialba* 27: 227-231.

Kumar SP, Nei M, Dudley J, Tamura K (2009) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings Bioinformatics*, 9: 299-306.

Kumar SP, Manimekalai R, Ranjitha Kumari BD (2011) Microsatellite Marker based Characterization of South Pacific Coconut (*Cocos nucifera* L.) Accessions. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 5:34-43.

N'Cho YP, Sangare A, Bourdeix R, Bonnot F, Baudouin L (1993) Evolution de quelques écotypes de cocotier par une approche biométrique 1. Etude des populations de grands. *Oleagineux*, 48:121-132.

Peakall R, Smouse P (2009) GenAlEx Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia, pp 1-51.

Pritchard JK., Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.

R Development Core Team (2006) A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Rethinam P, Batugal P, Rognon F, (2005) Performance evaluation of coconut varieties and farmers' varietal preferences. In: Batugal P, Ramanatha Rao V, Oliver J (eds) Coconut genetic resources, International Plant Genetic Resources Institute-Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO), Serdang, Selangor DE, Malaysia, pp 302-308.

Ribeiro FE, Siqueira ER (1995) Introdução, coleta e conservação de germoplasma de coqueiro no Brasil. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, pp 15.

Ribeiro FE, Baudouin L, Lebrun P, Chaves LJ, Brondani C, Zucchi MI and Vencovsky R (2010) Population structures of Brazilian tall coconut (*Cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, 33:696-702.

Rivera R, Edwards KJ, Barker JHA, Arnold GM, Ayad G, Hodgkin T (1999) Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. *Genome*, 42:668-675.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.

Siqueira ER, Ribeiro FE, Aragão WM, Tupinambá, EA (1998) Melhoramento genético do coqueiro. In: Ferreira JMS, Warwick ORN, Siqueira LA (eds) A cultura do coqueiro no Brasil. 2 edition. Embrapa-SPI, Brasília, pp 73-98.

Siqueira LA, Aragão WM, Tupinambá EA (2002) A introdução do coqueiro no Brasil. Importância histórica e agrônômica. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, pp 24.

Sokal RR, Rohlf FJ (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon* 11: 33-40.

Sugimura Y, Itano M, Salud CD, Otsuji K, Yamaguchi H (1997) Biometric analysis on diversity of coconut palm: cultivar classification by botanical and agronomical traits. *Euphytica*, 98:29-35.

**Relações genéticas entre acessos de coqueiro-gigante (*Cocos nucifera* L.)
conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe
(ICG-LAC) utilizando marcadores microssatélites (SSRs)**

Resumo

A diversidade e as relações genéticas entre dois acessos de coqueiro-gigante coletados no Brasil e sete acessos introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo foram analisadas utilizando 25 primers microssatélites destes dezoito foram polimórficos e detectaram entre 4 e 10 alelos por loco, com média de 6,57. A heterozigiosidade observada e esperada variou entre 0,25 e 0,40 no Gigante-de-Rennel (GRL) a 0,54 e 0,62 no Gigante-da-Polinésia (GPY), respectivamente. A análise da estrutura genética dos 100 indivíduos analisados levou a formação de cinco grupos. O primeiro grupo formado pelos acessos Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (GBrPF) e Gigante-do-Brasil-de-Merepe (GBrMe); o segundo grupo por Gigante-de-Tonga (GTG), Gigante-de-Rotuma (GRT) e Gigante-da-Polinésia (GPY); o terceiro Gigante-da-Malásia (GML) e Gigante-de-Vanuatu (GVT) e os outros dois grupos com apenas um acesso cada, Gigante-de-Rennel (GRL) e Gigante-de-Tonga (GOA), respectivamente. A análise da estrutura genética revelou relações genéticas entre os acessos coletados no Brasil e África e entre os do sudeste Asiático e sul do Pacífico, confirmando a origem comum destes acessos. O agrupamento pelo método do Vizinheiro mais Próximo detectou a formação de dois grupos principais e cinco subgrupos, indicando que as relações genéticas dos acessos são fundamentadas nas regiões ecogeográficas. Os resultados evidenciam a maior variabilidade genética dos acessos da região do Pacífico e o surgimento de ecótipos de coqueiro-gigante no Brasil.

Abstract

The diversity and genetic relationships between two accesses tall coconut palm collected in Brazil and introduced seven accessions from different geographical regions of the world were analyzed using 25 microsatellite primers of these

nineteen were polymorphic and detected between 4 and 10 alleles per locus, with an average of 6.57. The observed and expected heterozygosity ranged between 0.25 and 0.40 in Tall-Rennel (GRL) to 0.54 and 0.62 in Tall-Polynesia (GPY), respectively. The analysis of the genetic structure of the 100 individuals examined led to the formation of five groups. The first group formed by Tall-Brazil-Praia-Forte (GBrPF) and Tall-Brazil-Merepe (GBrMe); the second group by Tall-Tonga (GTG), Tall-Rotuma (GRT) and Tall-Polynesia (GPY); the third Tall-Malaysia (GML) and Tall-Vanuatu (GVT) and the other two groups each with one access, Tall-Rennel (GRL) and Tall-Tonga (GOA), respectively. The analysis of the genetic structure revealed genetic relationships among accessions collected in Brazil and Africa and between Southeast Asia and the South Pacific, confirming the common origin of these accesses. Grouping by Nearest Neighbor method detected the formation of two major groups and five subgroups, indicating that the genetic relationships of the accessions are based on ecogeographic regions. The results show the greatest genetic variability of the accession of the Pacific region and the emergence of ecotypes tall coconut palm in Brazil.

Introdução

A existência de gêneros de palmeiras, como *Syagrus* e *Attalea* na América do Sul, e a longa história do coqueiro no hemisfério oriental levaram a controvérsias sobre o seu provável centro de origem (Perera et al. 2000). Contudo, a maioria dos especialistas, fundamentados em registros históricos, etnobiológicos e paleontológicos, concordam que o provável centro de origem e domesticação do coqueiro é o sudeste Asiático, na região biogeográfica que inclui a Península Malaia, Indonésia, Filipinas e Nova Guiné (Harries 1995).

Análises da morfologia dos frutos levaram Harries (1978) a propor dois tipos de coqueiro: Niu Kafa e Niu Vai. O primeiro grupo apresenta frutos grandes, alongados, seções triangulares, abundância em mesocarpo fibroso, endosperma reduzido, além de germinação lenta que, segundo o autor, favorece a disseminação por flutuação em correntes marítimas. O tipo Niu Kafa é considerado o tipo mais ancestral do coqueiro e é predominante na bacia do oceano Índico. O segundo

grupo apresenta frutos redondos, endosperma aumentado, mesocarpo diminuído e germinação precoce, portanto, não apropriado para a disseminação por flutuação. O tipo Niu Vai seria o reflexo da seleção do coqueiro sob cultivo, com o evento da domesticação iniciada na região do Pacífico (Harries et al. 2004).

A existência desses dois conjuntos de genes importantes, que representam o tipo silvestre e o tipo domesticado já foi confirmada por técnicas baseadas em análises de DNA, tais como, ISTRs (Rohde et al. 1995; Duran et al. 1997), RAPD (Ashburner et al. 1997; Manimekalai e Nagarajan 2006), RFLPs e AFLPs (Lebrun et al. 1998; Teulat et al. 2000), SSR (Rivera et al. 1999; Perera et al. 2000; Ribeiro et al. 2010) e ISSR (Zizumbo-Villarreal et al. 2006). Esses estudos também têm revalidado possíveis rotas de dispersão do coqueiro, efetuadas principalmente por navegantes europeus que introduziram, da região do oceano Índico, coqueiros do tipo Niu kafa na costa Atlântica da África e das Américas, e coqueiros do tipo Niu Vai, da região do oceano Pacífico, na costa do Pacífico das Américas (Harries 1978). Com base nesses conhecimentos foi proposto por Lebrun et al. (2005) e Gunn et al. (2011) uma classificação com dois grupos, relacionando os dois tipos de coqueiros existentes às diferentes regiões geográficas: 1- o grupo do Pacífico e 2- o grupo Indo-Atlântico. Essa classificação tem contribuído para uma melhor compreensão da dispersão e da diversidade genética existentes nas populações de coqueiro.

Os relatos indicam que a dispersão do coqueiro na América iniciou no século XV, quando em 1499, Vasco da Gama introduziu, no arquipélago de Cabo Verde, costa oeste da África, sementes de coco da região do oceano Índico (Harries 1978). Das ilhas de Cabo Verde o coqueiro foi levado para Porto Rico, República Dominicana e outros países da costa Atlântica das Américas e Caribe. Em 1549, também via Ilhas de Cabo Verde, o coqueiro foi introduzido no golfo do México (Zizumbo-Villarreal 1996). Já os coqueiros da costa do Pacífico das Américas, do México até o Peru, foram trazidos das Filipinas pelos navegantes espanhóis entre os séculos XVI a XVIII (Zizumbo-Villarreal 1996, Harries 2012, Clement et al. 2013). A dispersão da espécie foi rápida e no século XVII, o coqueiro já tinha sido relatado em praticamente todos os locais das Américas.

No Brasil, procedentes das ilhas de Cabo Verde, o coqueiro foi introduzido pela primeira vez em 1553, pelos colonizadores portugueses, no estado da Bahia, e de lá se expandiu por todo o litoral da região nordeste do país (Ribeiro et al. 2010). A segunda introdução aconteceu em 1939, proveniente de Kuala Lumpur na Malásia (Burle e Browne 1954). Outras introduções foram realizadas pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), em 1978, pela empresa privada Sococo, em 1981 e também pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em 1983, que importou da Costa do Marfim acessos de coqueiro-gigante de diferentes regiões geográficas do mundo. Provavelmente, outras introduções ocorreram no período entre os séculos XV a XX, já que o arquipélago das ilhas de Cabo Verde servia de entreposto comercial entre Portugal, Brasil e África. Entretanto, não foram encontrados registros sobre essas possíveis entradas, o que provoca um vácuo na história da introdução do coqueiro-gigante no Brasil.

As atividades com recursos genéticos e melhoramento do coqueiro no Brasil iniciaram-se com a introdução, pela EMBRAPA, de sete acessos de coqueiro-gigante procedentes do Banco Internacional de Coco para a África e Oceano Índico (ICG- AIO), pertencente ao Centro Nacional de Investigação Agronômica (CNRA), na Costa do Marfim e implantação do Banco Ativo de Germoplasma, no Estado de Sergipe. Foram também realizadas pela Embrapa a prospecção e coleta de acessos de coqueiro-gigante na região Nordeste do Brasil, especificamente nos Estados da Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe, Piauí e Maranhão. Essas populações existentes no Nordeste estão estabelecidas há mais de 450 anos e ainda se tem poucas informações sobre a sua estruturação e diversidade genética.

Alguns estudos de divergência genética com as populações prospectadas foram realizados. Ribeiro et al. (1999) avaliaram, por meio dos componentes do fruto, cinco populações de coqueiro-gigante e identificou as populações de Gigante-do-Brasil-de-Santa-Rita e o Gigante-do-Brasil-de-Merepe como as mais divergentes. Ribeiro et al. (2010) também estudou a diversidade genética de dez populações por meio de SSRs e inferiram que a população de coqueiro gigante-do-

Brasil-da-Praia-do-Forte é mais distante geneticamente da população de gigante-do-Brasil-de-Merepe. Esses autores indicaram as duas populações como excelentes fontes de germoplasma para os programas de melhoramento da cultura no Brasil. Adicionalmente, essas duas populações apresentam características superiores quanto aos componentes dos frutos, principalmente, maiores pesos do fruto e albúmen sólido (Ribeiro e Ribeiro 2011), o que as tornam interessantes para as agroindústrias de coco do país. Vale ressaltar que o gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte já vem sendo utilizado no país, tanto por instituições privadas quanto públicas, como parental masculino na produção de híbridos com as variedades anãs amarela, verde e vermelha (Aragão et al. 2003).

O estudo da estrutura e da diversidade genética das espécies são os primeiros passos para melhor compreensão das relações intra-específicas. Ainda, pode também auxiliar nas inferências sobre origens e variabilidade genética. Vários estudos genéticos vêm sendo realizados em coqueiro, em centros de pesquisa de diversos países. No Brasil, Daher et al. (2002) estimaram a divergência genética entre os acessos de coqueiro conservados no Banco da Embrapa por meio de marcadores RAPD. Entretanto, esse tipo de marcador molecular é dominante, o que dificulta a obtenção de informações genotípicas precisas e consistentes para estudos genéticos. Assim, para melhor estimar a divergência e as relações genéticas entre os acessos coletados e aqueles que foram introduzidos das diferentes regiões geográficas do mundo, torna-se necessário o uso de técnicas mais robustas, tal como os SSRs. Dessa forma, há possibilidade de racionalizar o processo de conservação, assim como disponibilizar informações que possam auxiliar na mais ampla utilização dos acessos nos programas de melhoramento que objetivam desenvolver cultivares superiores agronomicamente e resistentes ou tolerantes à doenças e pragas.

Neste sentido objetivou-se com este trabalho avaliar os níveis de diversidade e as relações genéticas entre três acessos de coqueiro-gigante coletados no Brasil e sete acessos introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo.

Materiais e Métodos

Os acessos avaliados fazem parte da coleção de germoplasma conservada no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC), localizado no Campo Experimental do Betume, município de Neópolis, Sergipe, Brasil (Tabela 1).

Foram selecionados de forma aleatória, cerca de 100 indivíduos provenientes de cada acesso. Posteriormente, foi conduzido o sorteio de 10 indivíduos de cada acesso para a realização da análise molecular. Baudouin (2009) sugere essa quantidade de indivíduos por acesso de diferentes regiões geográficas suficientes para caracterizar geneticamente uma população com precisão.

Tabela1. Lista com o código de identificação dos acessos do Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC), país e região geográfica de origem.

Acessos	Código	País	Região Geográfica
Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte	GBrPF	Brasil	América
Gigante-do-Brasil-de-Merepe	GBrMe	Brasil	América
Gigante-do-Oeste-Africano	GOA	Costa do Marfim	África
Gigante-de-Rennel	GRL	Salomão	Sul do Pacífico
Gigante-da-Polinésia	GPY	Tahiti	Sul do Pacífico
Gigante-de-Rotuma	GRT	Fidji	Sul do Pacífico
Gigante-de-Tonga	GTG	Tonga	Sul do Pacífico
Gigante-de-Vanuatu	GVT	Vanuatu	Sul do pacífico
Gigante-da-Malásia	GML	Malásia	Sudeste da Ásia

Extração de DNA e Análise com SSR

O DNA foi extraído a partir de folíolos da folha nº 1, pelo protocolo CTAB (Doyle e Doyle 1987) com algumas modificações e quantificado por meio de espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (Thermo Scientific®).

As análises com os marcadores SSR foram realizadas como descrito por Baudouin (2009). Para cada reação de PCR, foi realizado um mix de reagentes com volume total de 20 μ L, com concentração final de tampão 1XPCR; 0,2mM dNTP; 0,8mM de $MgCl_2$; 0,08 μ M de cada primer; 1 U Taq DNA polimerase e 5ng de DNA.

O programa utilizado para a reação de PCR consistiu em um ciclo por 5 min a 94° C para a desnaturação inicial do DNA, seguido de 35 ciclos com 30 s a 94° C para desnaturação. Posteriormente, 1 min a 51° C para o anelamento dos iniciadores e 1 min a 72° C para a extensão dos *primers* e, finalmente, mais um ciclo de 30 min a 72° C para a extensão final.

Para a separação dos fragmentos de DNA por sistema de eletroforese capilar foi usado 1 μ L de cada produto das ampliações diluído em 79 μ L de água ultra pura, e aplicadas em microplacas de 96 amostras. No último poço da microplaca foi usado o marcador de peso molecular (Invitrogen USA) de 50pb, para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados. As microplacas foram submetidas ao sistema de eletroforese capilar sob fluorescência, pelo equipamento AdvanCE™ FS96 (Advanced analytical), utilizando o gel DNF900, por 120 minutos em uma corrente de 7,50 Kw, para separar os fragmentos de DNA, com sensibilidade de 5pg/ μ L e resolução de 5pb.

Análises estatísticas

A distância genética entre os acessos estudados foi calculada pelo coeficiente de similaridade utilizando o índice ponderado com o auxílio do programa GENES (Cruz 2013). A análise de agrupamento dos acessos via dendrograma foi feita com base no método do Vizinho mais Próximo (Saitou e Nei 1987), por meio do programa MEGA versão 5 (Kumar et al. 2009). O ajuste entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Sokal e Rolf 1962) no programa R (R Development Core Team, 2006), pelos os pacotes “cluster” e “Rcmdr”. O programa GENALEX 6.3 (Peakall e Smouse 2009) foi utilizado para estimar o número de alelos, número

de alelos efetivos, frequência do alelo principal, conteúdo de polimorfismo (PIC), índice de Shannon (I), heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O) e coeficiente de endogamia (F). O teste de hipótese Qui-quadrado foi aplicado a H_E e H_O para verificar a significância entre as duas variáveis e se essas frequências genotípicas estão de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para investigar a estrutura da população foram utilizados métodos de agrupamento Bayesianos pelo programa STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard et al. 2000). Para a análise da estrutura, o número de grupos (K), foi determinado pelo o método ΔK proposto por Evano et al. (2005). O modelo de presença de mistura (“admixture model”) e frequência alélica correlacionada foi usado com 20 corridas para cada valor K, que variou de 4 a 12 (10,000 burn-in, 1,000,000 permutações). Escolheu-se o $k=5$, pois apresentou o ΔK mais alto.

Resultados e Discussão

Vinte e cinco pares de primers SSRs foram analisados em 100 indivíduos de dez acessos de coqueiro-gigante procedentes de diferentes regiões geográficas, dos quais 19 mostraram padrões polimórficos. O número de alelos, número de alelos efetivos, frequência do alelo principal e o conteúdo de informação polimórfica indicam níveis elevados de polimorfismo (Tabela 2).

Um total de 125 alelos foram identificados a partir da análise dos 19 SSRs polimórficos, o que gerou uma média de 6,57 alelos/loco, com números entre 4 (CnCirC12, CAC21, CAC23 e CAC71) e 10 alelos (CNZ10). Esses resultados são próximos aos observados em estudo, que analisaram indivíduos de coqueiro, pertencentes a ecótipos de diferentes regiões geográficas do mundo (Perera et al. 2000). Porém são inferiores aos observados em acessos de coqueiro do oeste e leste da África, sudeste e sul da Ásia, sul do Pacífico e América Latina (Teulat et al. 2000).

O valor médio obtido para o número de alelos efetivos por loco polimórfico (N_e) foi de 2,49, e variou de 1,35 (CAC71) a 3,88 (CAC02) (Tabela3). N_e foi menor do que o número de alelos, indicando a presença de alelos raros. Alelos raros são aqueles que ocorrem em frequência menor que 0,05

na população e alelos comuns são os que ocorrem em frequência maior ou igual a 0,05 (Marshall e Brown 1975). A presença dos alelos raros está diretamente relacionada com o tamanho da amostra. Assim, o número de indivíduos analisados foi suficiente para caracterizar geneticamente com precisão os acessos de coqueiro-gigante conservados no IAC-LAC.

Tabela 2. Números de alelos encontrados, números de alelos efetivos (N_e), frequência do alelo principal e conteúdo de informação polimórfica (PIC) obtidos por meio de SSRs.

Primers	Nº de Alelos encontrados	Nº de Alelos Efetivos (N_e)	Frequência do alelo principal	PIC
CnCir A3	8	2,44	0,24	0,80
CnCir B12	8	3,31	0,25	0,79
CnCir C12	4	2,35	0,40	0,63
CnCir E2	8	2,59	0,38	0,76
CnCir E10	5	2,25	0,47	0,60
CnCir E12	8	3,52	0,31	0,78
CNZ40	7	2,48	0,38	0,74
CAC02	9	3,88	0,28	0,80
CNZ10	10	2,85	0,36	0,75
CNZ43	9	2,31	0,20	0,82
CNZ44	8	2,69	0,30	0,80
CnCir B3	7	2,79	0,34	0,73
CNZ 01	5	1,89	0,37	0,72
CNZ02	5	2,76	0,32	0,74
CAC21	4	2,06	0,46	0,63
CAC23	4	1,97	0,41	0,59
CAC71	4	1,35	0,55	0,44
CAC84	5	1,53	0,48	0,60
CAC50	7	2,87	0,23	0,80
Total	125			
Média	6,57	2,52	0,35	0,71

A frequência do alelo principal ou comum (frequência $\geq 0,05$) variou de 20 a 55% nos locos CNZ43 e CAC71, respectivamente (Tabela 2). Estes são valores considerados relativamente baixos, o que diminui o estabelecimento ou fixação de um dado alelo na população. A fixação de alelos resulta em redução da variabilidade genética e aumento da homozigiosidade dentro das diferentes

subpopulações derivadas. Assim, o nível de diversidade genética é influenciado pelos fatores que afetam a frequência alélica em populações de acasalamentos ao acaso e são derivados de processos evolutivos, como tamanho efetivo, mutação, migração e seleção natural.

De maneira geral, os locos analisados apresentaram um elevado conteúdo de informação polimórfica (PIC), que variou de 0,44 a 0,82 com valor médio de 0,71. Os valores elevados de PIC refletem o poder de discriminação dos locos de SSRs. Além disso, indica que os marcadores SSRs utilizados foram eficientes para caracterizar a diversidade genética e identificar polimorfismo dentro dos acessos. Os valores de PIC estimados nesse trabalho foram, na maioria, superiores aos encontrados por outros autores (Kumar et al. 2011).

Os acessos analisados foram comparados por meio do índice de Shannon, o qual tem sido empregado especificamente em estudos genéticos como uma medida de diversidade dentro da população e se assemelha a um índice de riqueza genotípica (Holcomb et al. 1977). Este índice informa que quanto mais próxima estiver a estimativa do valor unitário, maior será a divergência dentro das populações analisadas. Os acessos denominados GTG, GRT, GML e GPY apresentaram valores acima do valor unitário e o GRL apresentou o menor valor (Tabela 3). Isto demonstra a grande diversidade ou riqueza genotípica dos acessos conservados no Banco (ICG-LAC).

As estimativas da heterozigiosidade dos acessos mostraram que os valores esperados (H_e) foram um pouco maiores que os observados (H_o). As estimativas de H_o variaram de 0,25 (GRL) a 0,54 (GPY) (Tabela 3). Este parâmetro foi ligeiramente maior para os acessos procedentes do Sul do Pacífico e Sudeste da Ásia, corroborando com resultados já encontrados (Gunn et al. 2011). Pelo teste do Qui-quadrado não houve diferenças significativas entre a H_o e H_e para a maioria dos acessos, indicando predominância de panmixia, ou seja, ocorrência de cruzamentos ao acaso nas populações, mantendo-se a frequência dos alelos na população, o que implica dizer que os acessos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Apenas os acessos GBrMe e GOA foram significativos, provavelmente, nestes acessos ocorreram processos que geraram uma endogamia expressiva.

Assim, os resultados fornecem uma tendência do padrão de cruzamento que ocorreram nos acessos.

Tabela 3. Índice de Shannon, Heterozigosidade observada (H_O), Heterozigosidade esperada (H_E) Qui-quadrado para Heterozigosidade (X^2) e Coeficiente de endogamia (F) dos nove acessos de coqueiro-gigante conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).

Acessos	Índice de Shannon	Heterozigosidade observada (H_O)	Heterozigosidade esperada (H_E)	X^2	F
GBrPF	0,90	0,43	0,50	22,29	0,16
GBrMe	0,89	0,33	0,50	31,35*	0,37
GTG	1,08	0,50	0,60	13,13	0,17
GRT	1,05	0,41	0,59	24,42	0,35
GML	1,12	0,44	0,59	18,24	0,27
GRL	0,66	0,25	0,40	25,71	0,33
GVT	0,95	0,40	0,54	18,93	0,26
GOA	0,85	0,33	0,48	31,00*	0,28
GPY	1,13	0,54	0,62	12,71	0,12

X^2 tabelado a 5% probabilidade= 28

O coeficiente de endogamia (F) entre os nove acessos variou de 0,12 (GPY) a 0,37 (GBrMe) (Tabela 3). Apesar de significativamente diferente de zero, os valores são baixos. Os valores positivos de coeficiente de endogamia nos acessos de coqueiros se devem, principalmente, ao processo de origem e disseminação das populações. Presume-se que as populações de coqueiro-gigante sofreram cruzamentos preferenciais com indivíduos aparentados por estarem geograficamente próximos e isolados de outros indivíduos. Isso resultou em um mosaico de ecótipos morfologicamente diferenciados, que apresentam grau variável de endogamia. O cruzamento de materiais geneticamente distintos pode, entretanto, restaurar certa heterozigosidade.

A análise da estrutura genética dos 100 indivíduos levou a formação de cinco grupos (Figura 1). O primeiro grupo foi formado exclusivamente pelos dois acessos coletados no Brasil (GBrPF e GBrMe), o segundo grupo foi formado com os acessos procedentes do Sul do Pacífico (GTG, GRT e GPY), o terceiro grupo

entre os acessos do Sudeste Asiático (GML) e do Sul do Pacífico (GVT), o quarto grupo com outro acesso do Sul do Pacífico (GRL) e finalmente, o quinto grupo, formado com o acesso procedente do Oeste da África (GOA).

Os acessos coletados no Brasil, principalmente GBrMe, apesar de formarem um grupo distinto, apresentaram relação genética com o GOA (Figura 1). Tal proximidade tem relação com a introdução da espécie no Brasil, visto que os registros históricos relatam a introdução do coqueiro-gigante oriundos das Ilhas de Cabo Verde. A posição estratégica do arquipélago de Cabo Verde nas rotas que ligavam Portugal ao Brasil e ao resto da África contribuiu para essas ilhas fossem utilizadas como entreposto comercial e de abastecimento. A procedência desses coqueiros seria o leste da África, Índia e Sri Lanka (Harries 1995), quando Vasco da Gama, em 1499, retornando de suas viagens à Índia introduziu sementes de Moçambique no arquipélago de Cabo Verde (Harries 1977). Esta hipótese é confirmada pela proximidade genética entre o coqueiro GOA, o Gigante-de-Moçambique, o Gigante-do-Sri Lanka e o Gigante-de-Andamam (Índia) (Teulat et al. 2000). Isso comprova a teoria de movimentação de sementes originárias destas regiões para a costa Atlântica da África no final do século XV.

No Brasil, as populações de coqueiro-gigante foram inicialmente formadas por poucos indivíduos aparentados, representando uma pequena fração da variação genética da população original. Do estado da Bahia, região Nordeste do Brasil, o coqueiro-gigante se expandiu por todo litoral nordestino, pois apresenta ótimas condições edafoclimáticas para o desenvolvimento da espécie, o que tornou essa região a maior produtora do país (Martins e Jesus Junior 2011) e onde estão as maiores agroindústrias do coco (Abreu e Rosa 2002). O coqueiro vem se desenvolvendo no Brasil há quase cinco séculos e adaptando-se as diferentes condições ambientais existentes, o que sugere que a estruturação gênica é, provavelmente, devido a processos sistemáticos e dispersivos. Esses, por sua vez, podem ter sido fortemente influenciados principalmente, pela migração, provavelmente de introduções sucessivas não registradas, seleção natural e possivelmente uma seleção humana inconstante, alterando as frequências gênicas. Isso explica a diferenciação genética encontrada entre os acessos coletados no

Brasil e o gigante Africano, apesar da origem comum. Essa diferenciação entre os acessos aponta para a formação de ecótipo de coqueiro-gigante no Brasil.

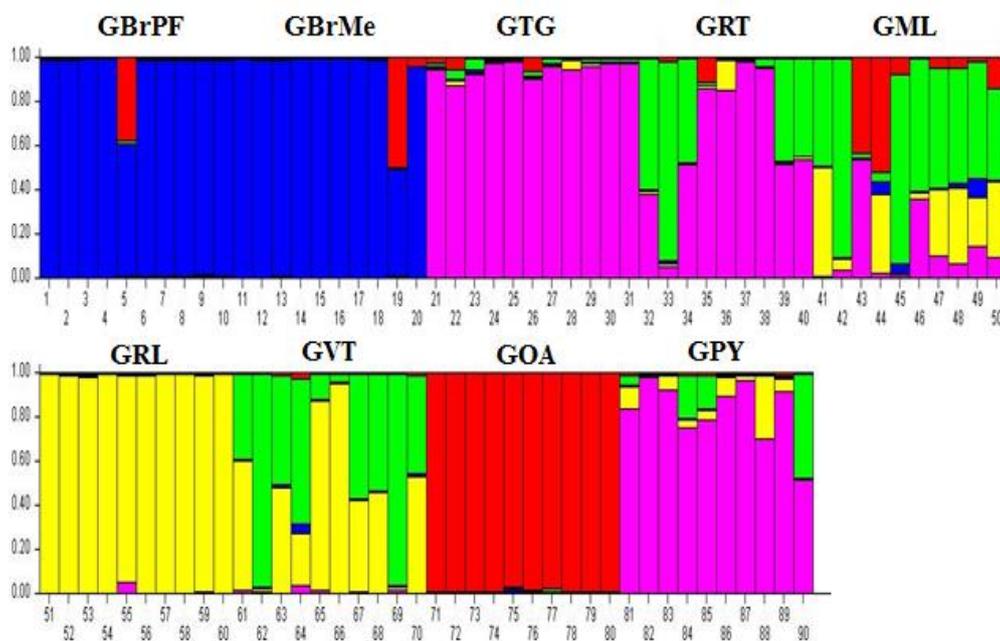


Figura 1. Análise da estruturação genética dos 100 indivíduos dos dez acessos de coqueiro-gigante conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC). As cores representam os cinco grupos identificados por meio da análise da estrutura genética e o comprimento de cada cor em cada uma das barras representa a composição genômica de cada indivíduo. GBrPF= Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, GBrME= Gigante-do-Brasil-de-Merepe, GTG= Gigante de Tonga, GRT= Gigante-de-Rotuma, GML= Gigante-da-Malásia, GRL= Gigante-de-Rennel, GVT= Gigante-de-Vanuatu, GOA= Gigante-do-Oeste-Africano, GPY= Gigante-da-Polinésia.

Os acessos GML e GVT apresentaram o maior grau de mistura alélica, indicando maior variabilidade genética. Tal resultado é justificado em virtude dos acessos serem originários do sudeste Asiático e Melanésia, regiões referidas como o provável centro de domesticação do coqueiro (Harries 1995). Os acessos GTG, GRT e GPY, originários de ilhas do sul do Pacífico, apresentaram relações genéticas com os grupos formados tanto com GML e GVT quanto com GRL,

também da região do Pacífico. Essas relações são explicadas pela origem comum, evolução e disseminação do coqueiro.

A análise dos agrupamentos detectou a formação de dois grupos principais e boa concordância entre o dendrograma formado e a matriz de distância (Figura 2). No primeiro grupo, o maior em número de acessos, ficou alocados os acessos de coqueiro introduzidos Sul do Pacífico e Sudeste da Ásia, subdivididos em três subgrupos: I-a (GTG, GRT e GPY), I-b (GRL e GVT) e I-c (GML). O segundo grupo, formado pelos coqueiros oriundos da América e da África, inclui dois subgrupos: II-a (GOA) e II-b (GBrPF e GBrMe). Portanto, os acessos avaliados neste estudo foram facilmente distinguíveis por meio de marcadores SSRs, demonstrando a diferenciação genética e as relações existentes entre os acessos de coqueiro-gigante conservados no Brasil.

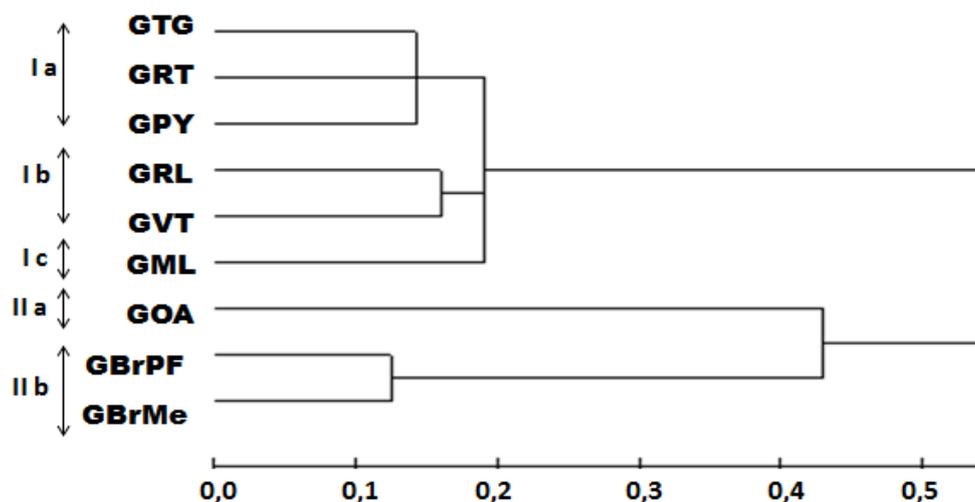


Figura 2. Dendrograma obtido pelo método do vizinho mais próximo, ilustrando a relação genética entre os nove acessos de coqueiro-gigante coletados e introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC) (Distância genética 0,39 e Coeficiente de correlação cofenética = 0,91). GBrPF= Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, GBrME= Gigante-do-Brasil-da-Praia-de-Merepe, GTG= Gigante-de-Tonga, GRT= Gigante-de-Rotuma, GML= Gigante-da-Malásia, GRL= Gigante-de-Rennel, GVT= Gigante-de-Vanuatu, GOA= Gigante-do-Oeste-Africano, GPY= Gigante-da-Polinésia.

Vale ressaltar que houve diferença na formação dos subgrupos ao comparar estes resultados com os de outros autores (Daher et al. 2002). Principalmente, com relação à separação dos acessos GBrPF e GOA em subgrupos distintos. Isso se deve, provavelmente, ao fato das amostras de DNA analisadas pelos autores terem sido formadas pela combinação de 21 indivíduos (amostras compostas) e as limitações da técnica RAPD em repetibilidade e dominância.

A classificação da diversidade genética das populações proposta pelo Centro de Cooperação Internacional em pesquisa Agrícola para o Desenvolvimento, através do Programa Geração de Desafios (GCP/CIRAD), divide o coqueiro em dois grupos geneticamente distintos que correspondem às zonas ecogeográficas, abrangendo o sul do Pacífico, sudeste Asiático e costa do Pacífico da América, inclusos no grupo denominado A ou Pacífico, o qual é subdividido em sete níveis e o grupo que abrange o sul da Ásia, África e costa Atlântica da América e Caribe, inclusos no grupo denominado B ou Indo-Atlântico, o qual é subdividido em três níveis (Baudouin e Lebrun 2002). O padrão de agrupamento observado pelo Vizinheiro mais Próximo confirma as relações genéticas entre os acessos fundamentados nas regiões ecogeográficas, que se deve aos eventos separados de domesticação na bacia do oceano Índico e no Pacífico e concordam com o esquema de classificação do GCP/CIRAD.

A proximidade genética entre os acessos coletados no Brasil, introduzidos a partir das Ilhas de Cabo Verde, com o GOA, confirma a origem comum dos dois acessos. Ao mesmo tempo, as relações genéticas entre as populações de coqueiro gigante-da-República-Dominicana, gigante-do-Atlântico-do-México, classificados no grupo Indo-Atlântico, e as populações de coqueiro gigante-do-Brasil já foram também estimadas (Martinez et al. 2011). Isto indica semelhanças na história da introdução do coqueiro para estes três países e a inclusão dos acessos coletados no Brasil no grupo Indo-Atlântico.

Os coqueiros introduzidos do sul do Pacífico e sudeste da Ásia, os quais fazem parte do grupo do Pacífico (Baudouin e Lebrun 2002) apresentam tolerância

a algumas doenças epidêmicas como, por exemplo, o amarelecimento letal. Esta doença é causada por um fitoplasma e que vem destruindo milhares de hectares de coqueiros na África, em coqueirais que circundam as praias da costa Atlântica e algumas ilhas da América do Norte e Central (Marinho et al. 2002). Se a disseminação continuar, o fitoplasma que é transmitido por insetos vetores, provavelmente atingirá a Nicarágua, Costa Rica, Panamá e América do Sul.

O CNRA, na Costa do Marfim, promoveu triagens em área endêmica em Gana para a identificação de cultivares de coqueiros tolerantes ao amarelecimento letal. O Anão-verde-do-Sri-Lanka e o GVT (ambos pertencentes ao grupo Pacífico) apresentaram tolerância à doença (Dery et al. 2008). Contudo, verificou-se que GOA, pertencente ao grupo Indo-Atlântico, demonstrou ser suscetível (Dery et al. 2008). As populações coletadas no Brasil são próximas geneticamente a GOA e apresentam também relações genéticas com os Gigantes-da-República-Dominicana e Gigante-do-Atlântico-do-México (Martinez et al. 2011), todos pertencentes ao mesmo grupo ecogeográfico (Indo-Atlântico) e susceptíveis ao amarelecimento letal. Neste sentido, é muito provável que as populações coletadas no Brasil também sejam susceptíveis.

Esses conhecimentos permitem indicar o acesso GVT para o plantio de novas áreas produtoras, assim como para cruzamentos inter e intravarietais com as cultivares brasileiras. Isso serviria como medida preventiva para uma possível entrada do amarelecimento letal no Brasil, já que métodos de controles eficientes ainda não foram identificados para combater essa doença. Híbridos obtidos com o anão-verde-do-Sri-Lanka e o anão-amarelo-da-Malásia utilizaram o GVT como parental e estão sendo avaliados em Gana para as características de interesse econômico como, por exemplo, água, albúmen e copra (Dare et al. 2010). Esses híbridos apresentaram desempenhos satisfatórios, possibilitando a sua indicação para o desenvolvimento de cultivares superiores e tolerantes ao amarelecimento letal.

O uso dos SSRs aumentou as informações já disponíveis sobre as relações genéticas entre os acessos coletados no Brasil e os introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, conservados no ICG-LAC. Essas informações

permitem orientar as decisões sobre as atividades de conservação e a seleção eficiente de genitores geneticamente divergentes para serem utilizados nos programas de melhoramento do coqueiro no país visando dentre outros aspectos, resistência a doenças.

Referências

Abreu FAP, Rosa MF (2002) Aproveitamento industrial do coco seco. In: Aragão WM (ed). Coco: pós-colheita. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Brasília pp 29-65.

Aragão WM, Ribeiro FE, Tupinambá EA, Siqueira ER (2003) Variedades e híbridos In: Fontes HR, Ribeiro FE, Fernandes MF (eds) Coco Produção Aspectos Técnicos. Brasília, pp 21- 26.

Ashburner GR, Thompson WK, Halloran GM (1997) RAPD Analysis of South Pacific coconut palm populations. *Crop Science* 37:992–997.

Baudouin L, Lebrun P (2002) The development of a microsatellite kit and dedicated software for use with coconuts. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). *Biotrop Bull* 17:16-20.

Baudouin L (2009) Consolidate microsatellite data on coconut diversity: Final report LOA APO/08/007, pp 1-14.

Burle A, Browne CM (1954) Cultura do Coqueiro Anão. *Boletim do Campo*, Rio de Janeiro 10:7-10.

Cruz CD (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35:271-276.

Daher RF, Pereira MG, Tupinambá EA, Amaral Junior AT, Aragão WM, Ribeiro ER, Oliveira LO, Sakiyama NS (2002) Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 2:431-438.

Dare D, Andoh-Mensah E, Owusu-Nipah J, Yankey N, Quaicoe RN, Nkansah-Poku J,

Dery SK (2010) evaluation of some basic traits of a promising coconut hybrid: Sri Lankan green dwarf crossed to Vanuatu tall (SGD x VTT). *Journal of Science and Technology* 30:9-14.

- Dery SK, Philippe R, Baudouin L, Quaicoe RN, Nkansah Poku J, Owusu-Nipah J, Arthur R, Dare D, Yankey N, Dollet M (2008) Genetic diversity among coconut varieties for susceptibility to CSPWD. *Euphytica* 164:1-11.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small amounts of leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11–15.
- Duran Y, Rohde W, Kullaya A, Goikoetxea P, Ritter E (1997) Molecular analysis of East African tall coconut genotypes by DNA marker technology. *Journal Genetics Breed* 51:279–288.
- Evano G, Regnaut S, Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study 14:2611-2620.
- Gunn BF, Baudouin L, Olsen KM (2011) Independent Origins of Cultivated Coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Old World Tropics. *PlosOne* 6(6) 21143.
- Harries, H.C. (1977) The Cape Verde region (1499 to 1549); the key to coconut culture in the Western Hemisphere? *Turrialba* 27:227-231.
- Harries HC (1978) The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *Botanical Review* 44:265–320.
- Harries HC (1995) Coconut. *Cocos nucifera* L. (Palmae). In: Smartt J, Simmonds NW (eds) *Evolution of crop plants*. Longman Scientific & Technical, New York pp 389–395.
- Harries H, Baudouin L, Cardeña R (2004) Floating, boating and introgression: Molecular techniques and the ancestry of coconut palm populations on Pacific islands. *Ethnobotany Research & Applications* 2:37-53.
- Holcomb J, Tolbert, DM, Jain K. (1977) A diversity analysis of genetic resources in rice. *Euphytica* 26: 441-449.
- Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K (2009) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform* 9: 299-306.
- Kumar SP, Manimekalai R, Kumari BDR (2011) Microsatellite Marker based Characterization of South Pacific Coconut (*Cocos nucifera* L.) Accessions. *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 5:34-43.
- Lebrun P, N'cho YP, Seguin M, Grivet L, Baudouin L (1998) Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica* 101:103-108.

Lebrun P, Berger A, Hodgkin T, Baudouin L (2005) Biochemical and molecular methods for characterizing coconut diversity. In: Batugal P, Ramanatha R, Oliver J (eds) Coconut genetic resources. International plant genetic resources Institute regional office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO). Serdang, Selangor pp 225–247.

Manimekalai R, Nagaraja P (2006) Interrelationships among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions using RAPD technique. Genetic Resources and Crop Evolution 53:1137-1144.

Marinho VLA, Batista MF, Miller R (2002) Praga Quarentenária A1 Amarelecimento Letal do Coqueiro “Coconut Lethal Yellowing”. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília pp 4.

Marshall DK, Brown AHD (1975) Optimum sampling strategies in genetic conservation. In Frankel OH and Hawkes JGR (eds.) Crop genetic resources for today and tomorrow, Cambridge University Press, Cambridge pp 53-70.

Martinez RT, Baudouin L, Berger A, Dollet M (2011) Characterization of the genetic diversity of the Tall coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Dominican Republic using microsatellite (SSR) markers. Tree Genetics & Genomes 6:73-81.

Martins CR, Jesus Junior LA (2011) Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional - Panorama 2010. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju pp 30.

Peakall R, Smouse P (2009) GenAlEx Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia.

Perera L, Russell JR, Provan J, Powell W (2000) Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). Genome 43:15–21.

Pritchard JK., Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.

R Development Core Team (2006) A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Ribeiro FE, Soares AR, Ramalho MAP (1999) Divergência entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34:1615-1622.

Ribeiro FE, Baudouin L, Lebrun P, Chaves LJ, Brondani C, Zucchi MI and Vencovsky R (2010) Population structures of Brazilian tall coconut (*cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. Genetics and Molecular Biology 33:696-702.

Ribeiro FE, Ribeiro MMJ (2011) Caracterização de populações de coqueiro gigante no Nordeste do país. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju pp16.

Rivera R, Edwards KJ, Baker JHA, Arnold GM, Ayad G, Hodkin T, Karp A (1999) Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. *Genome* 24:668–675.

Rohde W, Kullaya A, Rodriguez J, Ritter E (1995) Genome analysis of *Cocos nucifera* L. by PCR amplification of spacer sequences separating a subset of copia-like EcoRI repetitive elements. *Journal Genetics Breed* 49:179–186.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.

Sokal RR, Rohlf FJ (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon* 11: 33-40.

Teulat B, Aldam C, Trehin R, Lebrun P, Barker JHA, Arnold GM, Karp A, Baudouin L, Rognon F (2000) An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. *Theoretical and Applied Genetics* 100:764–771.

Zizumbo-Villarreal D, Ruiz-Rodriguez M, Harries H, Colunga-GarcíaMarín P (2006). Population Genetics, Lethal Yellowing Disease, and Relationships among Mexican and Imported Coconut Ecotypes. *Crop Science* 46: 2509-2516.

Diversidade genética entre acessos de coqueiro-gigante conservados no Banco Internacional de coco para América Latina e Caribe

Resumo

A diversidade genética pode ser verificada por meio de análises multivariadas baseadas em caracteres fenotípicos. O trabalho teve como objetivo avaliar a divergência genética entre nove acessos de coqueiro-gigante do Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC), por meio de dezesseis descritores morfoagronômicos. Foram efetuadas análises uni e multivariadas, com estimativas das dissimilaridades pela distância Euclidiana média padronizada. O agrupamento foi o UPGMA e a análise dos Componentes Principais foi realizada para definir as variáveis de maior contribuição para o estudo da diversidade. Os acessos apresentaram variabilidade para os descritores avaliados. Pelo método UPGMA foram formados cinco grupos. Foram necessários quatro componentes principais, para que a variância por eles explicada atingisse um mínimo de 80%. Esses resultados ajudarão na seleção de genitores a serem utilizados nos programas de melhoramento do coqueiro.

Abstract

The genetic diversity may be verified by multivariate analyzes based on phenotypic characters. The study aimed to evaluate the genetic divergence among nine accessions of tall coconut from the International Coconut Genebank for Latin America and the Caribbean (ICG-LAC), through sixteen morphological descriptors. Were performed univariate and multivariate analysis, with estimated dissimilarities by Euclidean distance for the standardized mean. The clustering was the UPGMA and the Principal Component Analysis was done to define the variables with the highest contribution to the study of diversity. The accessions showed variability for the evaluated descriptors. By UPGMA method was formed five groups. It was necessary four main components to explain the variance

reached a minimum of 80%. These results will help in selecting parents for use in coconut breeding programs.

Introdução

A variação genética é condição fundamental para que ocorra evolução, pois a seleção natural atua nas diferenças que ocorrem nas populações. Com maior variabilidade genética, maiores serão as chances de sucesso diante das mudanças ambientais (Fleishman et al. 2001). No coqueiro, a variabilidade é pequena devido à existência de uma única espécie no gênero, a *Cocos nucifera* L., com apenas três variedades: nana, típica e aurantiaca (Ekanayake et al. 2010). Consequentemente, estimar a variabilidade genética entre e dentro de populações é de grande valia, pois poderá ajudar na adoção de práticas mais eficientes na conservação do germoplasma, assim como no melhoramento genético da espécie.

Os programas de melhoramento genético do coqueiro visam aumentar a produtividade e a estabilidade de produção e têm sido conduzidos com base na seleção massal, cruzamentos recíprocos e cruzamento entre linhas selecionadas com aferida capacidade combinatória (Batugal e Bourdeix 2005).

A seleção do coqueiro para um rápido progresso genético por unidade de tempo é limitada pelo longo ciclo de vida da cultura, o pequeno número de sementes produzidas e a ausência de métodos de propagação vegetativa (Ribeiro et al. 1999). Desse modo, o conhecimento da variabilidade genética entre populações de coqueiro é fundamental para o desenvolvimento de cultivares superiores adaptadas a diferentes condições ambientais e, sobretudo, para a seleção de parentais divergentes a fim de potencializar a heterose em hibridações futuras.

A quantificação da diversidade genética entre as populações pode ser feita a partir de marcadores morfológicos, bioquímicos ou moleculares. Diversos trabalhos têm utilizado os marcadores morfológicos para caracterizar diferentes espécies de palmeiras, como tamareira (Hammadi et al. 2009), açazeiro (Galate et al. 2012) e pupunheira (Negreiros et al. 2013). Em coqueiro são encontrados trabalhos, como os de Zizumbo-Villarreal e Piñero (1998), Ribeiro et al. (1999), Vargas e Blanco (2000), Cambuí et al. (2007) e Sobral et al. (2012).

Técnicas biométricas, com natureza preditiva, tais como as análises multivariadas baseadas em caracteres fenotípicos, têm sido uma ferramenta de grande utilidade em estudos genéticos por considerar simultaneamente um conjunto de caracteres de interesse (Cruz 2001; Fonseca et al. 2006). Entre as medidas de distâncias utilizadas estão a Distância Euclidiana (d_{ij}), Distância de Mahalanobis (D^2), Análise por Componentes Principais (PCA) e variáveis Canônicas (Y_{ij}) e Métodos Aglomerativos. A escolha do método mais adequado é determinado pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma com que os dados foram obtidos (Cruz et al. 2012).

A vantagem dos métodos multivariados está no fato de estes permitirem combinar as múltiplas informações contidas na unidade experimental. Dessa forma possibilita a caracterização dos genótipos com base em um complexo de variáveis (Cruz et al. 2012). Adicionalmente, é possível selecionar materiais mais promissores e avaliar a sua divergência, levando em consideração a contribuição e a importância relativa dos descritores para a variância total existente entre as populações (Oliveira et al. 2003).

No Brasil, Ribeiro et al. (1999) estudaram a divergência genética em cinco populações de coqueiro-gigante, por meio da análise multivariada. Para isso utilizaram 19 descritores do fruto e verificaram que as populações foram divergentes entre si. Sobral et al. (2012) também utilizaram descritores morfológicos e técnicas de análises multivariadas e detectaram divergência genética entre seis acessos de coqueiro-anão, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).

O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Coco está vinculado à Rede Internacional de Recursos Genéticos de Coco, localizado em duas bases físicas: uma no Campo Experimental do Betume, município de Neópolis/SE e a outra no Campo Experimental de Itaporanga, no município de Itaporanga d'Ajuda/SE. Embora seja composto por um número reduzido de acessos é o segundo mais importante das Américas e o principal da América do Sul. É constituído por 29 acessos de coqueiro-gigante e anão os quais foram introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo, assim como coletados no litoral do Nordeste do

país. O conhecimento da diversidade genética existente entre os acessos é importante para uma melhor conservação e utilização do germoplasma conservado no ICG-LAC e utilização nos programas de melhoramento do coqueiro.

Este trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética entre os acessos de coqueiro-gigante do Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe.

Materiais e Métodos

Foram avaliados acessos de coqueiro-gigante do ICG-LAC, localizado no Campo Experimental do Betume (CEB), no município de Neópolis/SE, pertencente à Embrapa Tabuleiros Costeiros (10°26' S, 36°32' W e 28 m de altitude).

De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região de Neópolis é do tipo A's (tropical chuvoso com verão seco). A pluviosidade média anual é de 1.270 mm, dos quais 71,8% ocorrem nos períodos de chuva (abril a setembro) e 28,2% nos de seca (outubro a março). A evapotranspiração média anual é de 177,09 mm, com temperaturasmédias máximas de 30°C e mínimas de 19,4°C, com média anual em torno de 24,7°C. A umidade relativa média é de 76,67 %.

O solo do campo experimental é classificado como Neossolo Quartzarênico, de baixa fertilidade natural. As plantas estão dispostas em blocos ao acaso no espaçamento de 9 m x 9 m x 9 m, em triângulo equilátero. As adubações são realizadas de acordo com as análises foliar e de solo e as plantas são cultivadas em condições de sequeiro. Os tratos culturais consistem no coroamento manual das plantas de coqueiro e na roçagem mecânica e química entre as linhas de plantio. O controle das pragas e doenças é realizado de acordo com o recomendado para a cultura.

Foram avaliados dois acessos de coqueiro-gigante coletados no litoral do Nordeste do Brasil: Gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte (GBrPF) e Gigante-do-Brasil-de-Merepe (GBrMe) e sete acessos de coqueiro-gigante introduzidos de diferentes regiões geográficas do mundo: Gigante-da-Malásia (GML), Gigante-do-Oeste-Africano (GOA), Gigante-da-Polinésia (GPY), Gigante-de-Rennel (GRL), Gigante-de-Rotuma (GRT), Gigante-de-Tonga (GTG) e Gigante-de-Vanuatu

(GVT). Os acessos tem 22 anos (GBrMe), 31 anos (GBrPF) e 30 anos (acessos introduzidos) de idade. Os dados foram coletados no período de junho a agosto de 2012 e foram avaliados 20 indivíduos ao acaso de cada acesso num total de 180.

Na caracterização dos acessos utilizou-se 16 descritores que constam na lista descritiva publicada pelo *Bioversity International* (IPGRI, 1995): altura do estipe (AE), circunferência do estipe a 20 cm do solo (CE20), circunferência do estipe a 1,50 m do solo (CE1,5), comprimento de 11 cicatrizes foliares a 1,50 m do solo (C11c), número de folhas vivas (NFV), comprimento da folha (CF), comprimento do pecíolo (CPEC), espessura do pecíolo (EPEC), largura do pecíolo (LPEC), número de folíolos (NFOL), comprimento do folíolo (CFOL), largura do folíolo (LFOL), número de Frutos (NFR), número de Flores Femininas (NFF), número de inflorescência (NINF) e número de cachos (NC).

Os caracteres foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA) com aleatorização das plantas representantes dos acessos. A ANOVA foi realizada para constatar a existência de variação entre (9 acessos) e dentro (20 plantas) dos acessos, seguindo uma classificação hierárquica a partir do modelo:

$Y_{ijk} = m + P_i + M_{j/i}$ em que:

m = média geral;

P_i = efeito do acesso i ;

$M_{j/i}$ = efeito da planta j dentro do acesso i .

Para a análise foi utilizado o programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute 2004). Para quantificar a divergência genética entre os acessos foi empregada a distância euclidiana média a partir das médias padronizadas. A matriz de dissimilaridade gerada foi utilizada para a realização da análise de agrupamento pelo método *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average* (UPGMA) (Sneath e Sokal 1973). A validação do agrupamento foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (Sokal e Rohlf 1962). A análise dos Componentes Principais (CP) foi realizada a fim de definir as características de maior contribuição para o estudo de diversidade. Para todas as análises estatísticas foi utilizado o programa GENES (Cruz 2013).

Resultados e Discussão

Os acessos diferiram estatisticamente ($p \leq 0,01$) para todos os caracteres, exceto para o número de folhas vivas (Tabela 1). Isto demonstra a existência de variabilidade genética, o que era presumível, em virtude do coqueiro-gigante ser uma espécie alógama e as diferentes idades dos acessos. Assim, possibilita a seleção de genótipos superiores para a maioria dos caracteres de interesse.

Para a composição da variância total, os valores da variação entre os acessos de coqueiro-gigante, variaram de 1,04% para o número de folhas viva a 35,77% para a espessura do pecíolo. Isto indica que a maior parte da variação ocorre entre plantas dentro dos acessos. Os valores corroboram com o resultado da análise de variância indicando haver divergência genética para a maioria dos caracteres avaliados.

Tabela 1. Médias e resumo da análise de variância, obtidas para os 16 caracteres morfoagronômicos avaliados nos nove acessos de coqueiro-gigante, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).

¹ Caracteres	Média	GBrPF	GBrMe	GTG	GRT	GML	GRL	GVT	GOA	GPY	Quadrado médio		² Var. %
	Geral										Média de cada acesso		
AE (m)	8,77	8,84	7,76	8,02	9,44	10,91	8,67	9,01	8,55	9,04	18,05**	1,62	33,60
CE (20cm)	1,30	1,32	1,60	1,25	1,34	1,41	1,10	1,23	1,11	1,38	0,42**	0,04	32,20
CE (1,50m)	0,84	0,84	0,89	0,82	0,91	0,90	0,79	0,81	0,78	0,87	0,04**	0,01	13,04
C11c (m)	0,47	0,47	0,53	0,44	0,50	0,55	0,44	0,48	0,42	0,44	0,04**	0,009	14,76
NFV	20,80	18,68	17,38	19,93	20,36	21,55	18,59	17,94	18,51	21,47	280 ^{ns}	231	1,04
CF (m)	4,89	4,76	5,15	4,57	4,87	5,23	4,98	4,66	4,71	5,06	0,95**	0,13	23,97
CPE (m)	1,08	1,06	1,18	1,01	1,08	1,10	1,15	1,03	0,98	1,09	0,07**	0,01	23,07
EPE (cm)	3,08	3,13	3,42	2,88	2,98	3,11	3,07	2,86	3,32	2,98	0,86**	0,07	35,77
LPE (cm)	7,72	7,67	8,48	7,13	7,50	8,00	7,36	7,22	7,85	7,80	4,88**	0,47	31,86
NFOL	225,13	228,77	223,16	218,94	232,48	239,91	221,55	214,19	224,66	220,27	1090,40**	152,52	23,51
CFOL (m)	1,24	1,21	1,32	1,20	1,20	1,22	1,21	1,20	1,16	1,26	0,03**	0,01	9,09
LFOL (cm)	5,16	4,81	5,99	5,11	5,42	5,10	4,89	5,10	5,20	5,08	2,53**	0,76	9,43
N°FR	40,35	32,01	14,53	46,26	42,85	41,76	29,30	45,16	54,59	58,08	4527,77**	436,16	31,92
N°C	6,59	6,18	4,02	7,07	7,00	6,52	6,43	7,47	7,19	8,62	36,34**	3,18	33,95
N°FF	18,30	19,61	21,41	17,41	17,85	17,82	12,74	14,97	19,48	22,70	270,43**	57,66	15,56
N°INF	3,50	3,38	3,44	3,47	3,66	3,70	3,26	3,19	3,48	3,70	1,05**	0,35	9,09

^{ns}Não-significativo e ^{**}Significativo pelo teste F, 1% de probabilidade.

¹ AE= altura do estipe; CE 20= circunferência do estipe a 20 cm do solo; CE 1,5= circunferência do estipe a 1,5 m do solo; C11c= comprimento de 11 cicatrizes foliares; NFV= número de folhas vivas; CF= comprimento da folha; CPE= comprimento do pecíolo; EPE= espessura do pecíolo; LPE= largura do pecíolo; NFOL= número de folíolos; CFOL= comprimento do folíolo; LFOL=largura do folíolo; NFR= número de frutos; NC= número de cachos; NFF =número de flores femininas e NINF= número de inflorescências.

²Composição da Variância total entre os acessos de coqueiro-gigante conservados no ICG-LAC

A média da altura do estipe foi de 8,77 m, com a maior média para o GML e a menor para o GBrMe, isso se deve as diferentes idades entre os acessos. O GBrMe tem 22 anos de cultivo enquanto os demais acessos tem mais de 30 anos. O coqueiro-gigante é uma cultura perene com vida econômica de 65 a 75 anos, podendo continuar produzindo por mais de 100 anos e cresce até uma altura de 20 a 30 m (Aragão et al. 2002). Entretanto, o GBrMe apresentou a maior circunferência de estipe a 20 cm do solo, mostrando ser bastante rústico, já que é uma característica que indica vigor. Algumas variedades de gigante chegam a atingir 1,75 m de circunferência. O GML também apresentou os maiores valores para a circunferência do estipe a 1,50 m do solo, juntamente com o GRT, comprimento de 11 cicatrizes foliares, número de folhas vivas e comprimento da folha, exibindo um bom desempenho para as condições ambientais do BAG de coco.

O coqueiro perde por ano de 14 a 17 folhas e as cicatrizes foliares que circundam o troco do coqueiro e mostram às inserções das folhas caídas. A distância entre as cicatrizes indica a taxa de crescimento e desenvolvimento da planta. A média para o comprimento das 11 cicatrizes foliares foi de 0,47 m, com o menor valor para o GOA e o maior para GML. Esses valores estão abaixo do ideal, que em coqueiro-gigante é acima de 0,61 m (Bourdeix et al, 2005). Isto indica provavelmente, que os acessos passaram por algum estresse hídrico, o que deve ter provocado o encurtamento das distâncias das cicatrizes.

Em condições ambientais favoráveis o coqueiro-gigante emite de 12 a 14 folhas por ano, apresentando uma copa com 20 a 30 folhas (Child 1974). A média do número de folhas variou de 21,55 (GML) a 17,38 (GBMe), com média de 20,80. Segundo Persley (1996) a produção de folhas é controlada pela idade, cultivar e condições do meio ambiente. A média para os caracteres da folha para todos os acessos estão dentro do descrito em coqueiro-gigante. O GOA apresentou a menor média, para o comprimento do pecíolo, esta característica é de grande importância na manutenção da produção de frutos, porque menores comprimentos do pecíolo suportam melhor o peso dos cachos.

O número médio de flores femininas por inflorescência observados foi de 18,30, valor bem abaixo ao descrito por Chan e Elevitch, (2006) que é de 40 a 60. O número de flores femininas é um dos caracteres mais importantes, porque, maior número de flores resultará em um maior número de frutos, conseqüentemente, maior produção. Esse

caráter é fortemente influenciado por condições ambientais desfavoráveis como, por exemplo, estiagens prolongadas. Ohler citado por Passos et al, (2007) observou que a média do número de flores femininas por inflorescência durante uma prolongada seca foi de aproximadamente 20 flores.

O clima da região de Neópolis, SE, onde esta localizada o Campo Experimental do Betume é do tipo A's (tropical chuvoso com verão seco), com períodos de seca que vai de outubro a março, com média pluviométrica anual de 1,270 mm. O regime pluviométrico ideal para o coqueiro é de 1,500 mm com boa distribuição das chuvas durante o ano, com pluviosidades ideais de 130 mm mensais. As avaliações dos caracteres foram tomadas nos meses de junho a agosto de 2012, período de início das chuvas na região e posterior a um prolongado período de seca. Passos et al, (2007) e Pedroso et al, (2007), também verificaram em coqueiro-anão e híbridos, no Platô de Neópolis, uma redução acentuada no número de flores femininas por inflorescência logo após o período de seca e início das chuvas. Entre todos os acessos, o GPY foi quem apresentou a maior média para o número de flores femininas, número de cachos e número de frutos.

As diferenças observadas evidenciam a variabilidade para todos os caracteres, Sugimura et al, (1997) e Vargas e Blanco (2000), também observaram diferenças significativas avaliando caracteres morfológicos e agronômicos em diferentes cultivares de coqueiro. Esses resultados indicam a possibilidade da utilização dos acessos conservados no ICG-LAC no melhoramento da cultura.

Com base na média dos dezesseis caracteres avaliados, foi obtida a matriz de dissimilaridade pela distância média padronizada, O dendrograma gerado apresentou valor cofenético alto e significativo ($r = 0,96$), o que mostra fidelidade na representação do conjunto de dados. Ao fazer um corte vertical a uma distância de ligação de 21,5 no agrupamento hierárquico dos acessos (Figura 1), observa-se a formação de cinco grupos, O grupo I reúne os acessos GVT e GML; o grupo II o GPY, GTG e GBrPF; o grupo III e Grupo IV com apenas um acesso cada, estão os GRT e o GOA, respectivamente e o grupo V com o GRL, GBrMe.

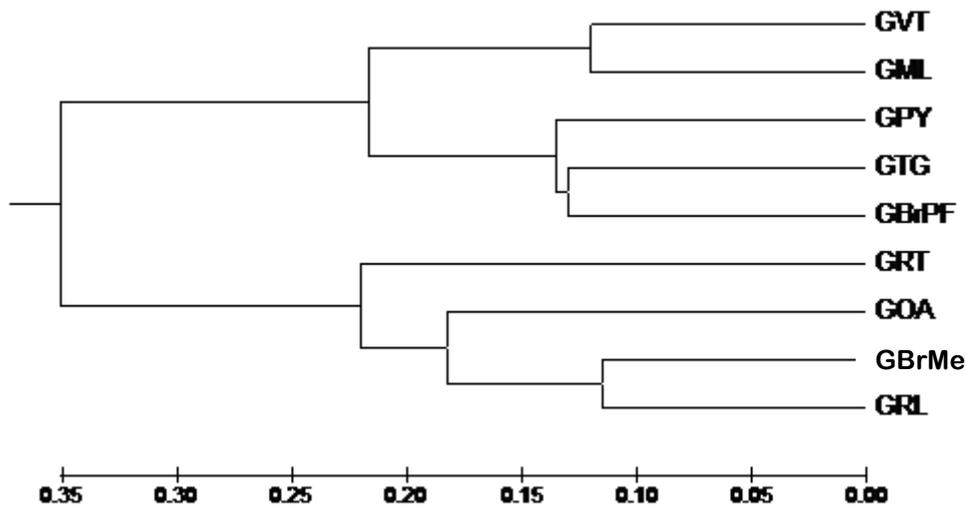


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética de nove acessos de coqueiro-gigante, conservados no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAG), estabelecido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância Euclidiana média, obtido a partir de dezesseis descritores morfoagronômicos (Correlação cofenética= 0,96 e Distância genética= 21,5). GBrPF= gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, GBrME= gigante-do-Brasil-de-Merepe, GTG= gigante-de-Tonga, GRT= gigante-de-Rotuma, GML= gigante-da-Malásia, GRL= gigante-de-Rennel, GVT= gigante-de-Vanuatu, GOA= gigante-do-Oeste-Africano, GPY= gigante-da-Polinésia.

Se esperava a formação de um grupo com os acessos GBrPF, GBrMe e GOA, pois apresentam a mesma origem e com base em dados moleculares (Daher et al. 2002). Registros históricos apontam que o coqueiro-gigante foi introduzido no Brasil das Ilhas de Cabo Verde, pelos portugueses em 1553. Zizumbo-Villarreal e Piñero (1998) observaram similaridade genética entre os coqueiros-gigantes da costa leste do México e o GOA. Registros mencionam que os coqueiros da costa Atlântica das Américas e do Caribe também foram introduzidos das Ilhas de Cabo Verde, explicando a proximidade genética entre esses materiais.

Um provável motivo para a falta de coerência observada no agrupamento dos acessos seria a natureza quantitativa dos caracteres avaliados, que são controlados por muitos genes, sendo afetadas por fatores ambientais, Trabalhos realizados com caracteres dos frutos (Zizumbo-Villarreal e Piñero, 1998) e de folhas (Zizumbo-Villarreal e GarcíaMarin, 2001) diferenciaram ecótipos de coqueiro, correspondentes a grupos de

populações anteriormente observados, Caracteres dos frutos têm alta herdabilidade (Harries 1978) e caracteres vegetativos, tais como parâmetros de folha, quando obtidos sob condições de crescimento semelhantes, em plantas de mesma idade, tem permitido a diferenciação de grupos populacionais em coqueiro com boa precisão.

O resultado da análise dos Componentes Principais, obtidos a partir dos 16 caracteres morfoagronômicos (Tabela 2), mostra que foram necessários três componentes para que a variância por eles explicada atingisse um mínimo de 80% (Cruz e Regazzi 2012). O componente I explicou 43,03%, o componente II - 23,98%, o componente III - 12,91% e o componente IV - 8,82%. Em populações de coqueiro-gigante do México, Zizumbo-Villarreal e Piñero (1998) encontraram 80% da variação total nos dois primeiros componentes, em 17 caracteres do fruto, Sobral et al, (2012) caracterizaram seis acessos de coqueiro-anão, por meio de 49 descritores morfológicos, e verificaram que os dois primeiros componentes explicaram 80% de variação. Isso indica uma dispersão, de forma mais equitativa, da variância total nos caracteres avaliados.

Tabela 2. Estimativas de autovetores obtidos da matriz de correlação entre 16 caracteres morfoagronômicas mensurados em coqueiro-gigante.

Raiz	Raiz%	%	¹ Caracteres															
			acumulada	AE	CE (20cm)	CE (1,50m)	C11c	NFV	CF	CPE	EPE	LPE	NFOL	CFOL	LFOL	N°FR	N°C	N°FF
6,88	43,03	43,03	-0,06	-0,33	-0,07	-0,32	-0,01	-0,32	-0,28	-0,26	-0,33	-0,18	-0,34	-0,27	0,21	0,25	-0,18	-0,15
3,83	23,98	67,02	0,31	0,07	0,33	-0,01	0,44	0,12	-0,09	-0,14	-0,01	0,22	0,02	-0,11	0,36	0,34	0,18	0,42
2,06	12,91	79,93	-0,48	0,13	0,34	-0,22	-0,15	-0,14	-0,15	0,07	0,17	-0,37	0,02	0,20	0,17	0,09	0,50	0,07
1,41	8,82	88,75	0,01	-0,07	-0,38	-0,16	-0,00	-0,15	-0,39	0,45	0,23	0,42	-0,29	0,07	0,10	-0,14	0,17	0,19
0,76	4,77	93,53	0,16	-0,35	0,23	-0,06	-0,41	0,35	0,08	0,38	0,26	-0,01	0,04	-0,41	0,18	0,18	-0,01	-0,18
0,50	3,12	96,65	0,35	0,20	-0,08	0,50	-0,32	-0,23	-0,48	-0,15	0,03	-0,09	0,21	-0,05	0,15	0,04	0,17	-0,18
0,43	2,74	99,40	0,09	-0,30	-0,07	0,18	0,09	0,14	-0,02	0,09	0,12	-0,25	-0,06	0,69	0,34	0,18	-0,29	-0,05
0,09	0,57	99,98	-0,30	0,01	-0,22	0,01	-0,01	0,11	-0,23	0,17	-0,13	-0,22	0,50	-0,23	0,18	-0,07	-0,36	0,46
0,0	0,0	99,98	-0,32	-0,12	0,28	0,42	0,23	0,31	-0,43	-0,08	0,14	-0,02	-0,35	-0,15	-0,21	-0,18	-0,12	-0,04
0,0	0,0	99,98	0,11	0,18	0,13	-0,23	-0,26	-0,14	-0,01	-0,38	0,59	0,01	-0,12	0,01	0,02	-0,13	-0,42	0,25
0,0	0,0	99,98	-0,01	-0,07	-0,45	-0,12	-0,21	0,59	-0,04	-0,46	0,01	-0,05	-0,08	0,03	0,01	0,01	0,34	0,12
0,0	0,0	99,98	-0,18	0,65	-0,24	0,03	0,12	0,17	0,10	0,14	0,10	-0,06	-0,26	-0,16	0,27	0,30	-0,17	-0,29
0,0	0,0	99,98	-0,48	-0,15	0,02	0,14	-0,12	-0,07	0,06	-0,26	0,07	0,63	0,26	0,07	0,21	0,20	-0,06	-0,19
0,0	0,0	99,98	-0,03	-0,08	-0,17	0,08	0,02	-0,11	-0,05	0,05	0,24	-0,06	0,06	-0,01	-0,58	0,70	-0,01	0,16
0,0	0,0	99,98	0,01	0,26	0,27	-0,05	-0,48	0,20	-0,16	0,12	-0,48	0,22	-0,19	0,26	-0,15	0,16	-0,20	0,19
0,0	0,01	100,0	-0,12	-0,10	-0,09	0,49	-0,23	-0,23	0,44	0,01	-0,06	-0,07	-0,38	-0,14	0,18	0,01	0,10	0,42

¹AE (m)-Altura do estipe; CE20 (m)-Circunferência do estipe a 20 cm do solo; CE1,5(m)- Circunferência do estipe a 1,5 m do solo; C11c (m)-Comprimento de 11 cicatrizes; NFV-Número de folhas vivas; CF (m)- Comprimento da folha; CPE (m)- Comprimento do pecíolo; EPE (cm)- Espessura do pecíolo; LPE (cm)- Largura do pecíolo; NFOL- Número de folíolos; CFOL (m)- Comprimento do folíolo; LFOL (cm)- Largura do folíolo; N°FR- Número de frutos; N°C- Número de cachos; N°FF-Número de flores feminina; N°INF-Número de Inflorescências

A técnica de análise multivariada de componentes principais tem a vantagem, em relação aos métodos de análise univariada, de avaliar a importância de cada caracter estudado sobre a variação total disponível entre os acessos avaliados. Isso possibilita o descarte dos caracteres menos discriminantes, por já estarem correlacionados com outros redundantes ou pela sua invariância (Cruz et al, 2012). Com isso se reduz mão-de-obra, tempo e custo despendidos na experimentação agrícola,

Um critério muito utilizado é descartar os caracteres de maior contribuição nos últimos autovalores ($\lambda_i < 0,7$) a partir dos valores absolutos das estimativas dos coeficientes dos autovetores (Jolliffe 1972), Com base nos resultados, os caracteres de menor importância em ordem de descarte foram: comprimento das 11 cicatrizes (0,49), largura do pecíolo (-0,48), número de folhas viva (-0,48) número de cachos (0,70), número de folíolos (0,63), circunferências do estipe a 20 cm do solo (0,65), comprimento da folha (0,59), comprimento do pecíolo (-0,43) comprimento do folíolo (0,50) e largura do folíolo (0,69), Este descarte traz uma redução de 68,75% dos descritores morfoagronômicos avaliados, podendo facilitar o processo de avaliação,

O procedimento de descarte, no entanto, pode eliminar caracteres importantes para caracterização e avaliação da cultura. Segundo Beale et al, (1967) e Arunachalam (1981), diversas questões sobre divergência genética têm sido levantadas como, por exemplo, qual seria o critério de escolha dos caracteres a serem utilizadas na medida de distância. Esses autores, contudo, relatam que a resposta dessa e de outras questões não são facilmente obtidas. Em coqueiro características reprodutivas, tais como número de frutos, cachos, flores femininas e inflorescências, são relevantes para o desenvolvimento agrônomo da cultura. Devendo-se dar ênfase a utilização desses caracteres nos estudos de melhoramento do coqueiro.

As estimativas da correlação entre o conjunto de descritores redundantes e os selecionados, demonstraram que o descarte não provocará perda considerável de informação. Isso porque a maioria dos descritores descartados apresentam correlações significativas com os descritores selecionados, que foram na maioria caracteres reprodutivos (Tabela 3).

Tabela 3. Estimativas dos coeficientes de correlação entre os caracteres morfoagronômicos selecionados e os descartados, avaliados em nove acessos de coqueiro-gigante conservado no Banco Internacional de Coco para América Latina e Caribe (ICG-LAC).

¹ Descartados	² Selecionados					
	AE	CE (1,50m)	EPE	NFR	NFF	NINF
CE (20,cm)	0,16	-0,12	-0,01	-0,02	0,22	-0,23
C11c	-0,29	0,50*	0,17	0,44	0,28	0,05
NFV	-0,53*	0,89**	0,04	0,86**	0,32	0,06
CF	0,63**	-0,95**	-0,02	-0,91**	-0,42	0,04
CPE	-0,55**	0,99**	-0,04	0,97**	0,52*	-0,08
LPE	-0,53*	0,75**	-0,44	0,75**	0,36	0,05
NFOL	0,37	-0,28	-0,19	-0,30	-0,38	0,36
CFOL	-0,58*	0,78**	-0,27	0,75**	0,45	-0,02
LFOL	0,16	-0,45	-0,38	-0,46*	-0,21	-0,07
NC	-0,44	0,68**	-0,23	0,59*	0,55*	-0,17

¹CE 20= circunferência do estipe a 20 cm do solo; C11c= comprimento de 11 cicatrizes foliares; NFV= número de folhas vivas; CF= comprimento da folha; CPE= comprimento do pecíolo; LPE= largura do pecíolo; NFOL= número de folíolos; CFOL= comprimento do folíolo; LFOL=largura do folíolo e NC= número de cachos,

² AE= altura do estipe; CE 1,5= circunferência do estipe a 1,5 m do solo; EPE= espessura do pecíolo; NFR= número de frutos; NFF =número de flores femininas e NINF= número de inflorescências,

Referências

Aragão, WM, Ribeiro, FE, Tupinambá EA, Siqueira ER (2002) Variedades e híbridos do coqueiro In: ARAGÃO WM (ed.) **Coco: Pós-colheita**, Editora Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p, 26-34,

Arunachalam V (1981) Genetic distance in plant breeding, **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding** 41: 226-236,

Batugal P, Bourdeix R (2005) Conventional Coconut Breeding, In: Batugal P, Rao VR, Oliver J, (eds) **Coconut Genetic Resources**, International Plant Genetic Resources Institute – Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO), Serdang, Selangor DE, Malaysia, p,1-10,

- Beale EML, Kendal MG and Mann DW (1967) The discarding of the variables in multivariate analysis, **Biometrika** 54: 357- 365,
- Bourdeix R, Santos G, Labouisse JP, Baudouin L (2005) Useful definitions of terms and nomenclature, In: Batugal P, Rao VR, Oliver J, (eds) **Coconut Genetic Resources**, International Plant Genetic Resources Institute – Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO), Serdang, Selangor DE, Malaysia, p,1-10,
- Cambuí EVF, Aragão WM and Leal MLS (2007) Variabilidade genética entre cultivares de coqueiro anão (*Cocos nucifera*, L,- Var, Nana), **Revista Brasileira de Biociências** 5: 165-167,
- Chan E and Elevitch CR (2006) *Cocos nucifera* (coconut), In: Elevitch CR (ed.) **Species profiles for Pacific Island Agroforestry**, Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, p, 1-27,
- Child DR (1974) **Coconuts**, Editora Logman, Londres, 335p,
- Cruz CD (2001) A informática no melhoramento genético, In: Nass LL, Valois ACC, Melo IS and Valadares-Ilgis MC (Eds,) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**, Editora Fundação Mato Grosso, Rondonópolis, p, 1085-1118,
- Cruz CD (2008) **Programa Genes - Diversidade Genética**, Editora UFV, Viçosa, 278p,
- Cruz CD, Regazzi AJ and Carneiro PCS (2012) **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**, Editora UFV, Viçosa, 514p.
- Daher RF, Pereira MG, Tupinambá EA, Amaral Junior AT, Aragão WM, Ribeiro ER, Oliveira LO and Sakiyama NS (2002) Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 2:431-438.
- Ekanayake GK, Perera SAN, Dassanayake PN and Everard JMDT (2010) Varietal classification of New coconut (*Cocos nucifera* L.) forms identified from southern Sri Lanka, **Cocos** 19: 41-50,
- Fleishman E, Launer AE and Switky KR (2001) Rules and exceptions in conservation genetics: Genetic assessment of the endangered plant *Cordylanthus palmatus* and its implications for management planning, **Biological Conservation** 98: 45-53,
- Fonseca AFA, Sedyama T, Cruz CD, Sakaiyama NS, Ferrão MAG, Ferrão RG and Bragança SM (2006) Divergência genética em café conilon, **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41: 599-605,
- Galate R dos S, Mota MG da C, Gaia JMD and Costa M do SS (2012) Caracterização morfoagronômica de germoplasma de açaizeiro no Nordeste paraense, **Revista Brasileira de Fruticultura** 34: 540-550,

- Hammadi H, Mokhtar R, Mokhtar E and Ali F (2009) New approach for the morphological identification of date palm (*Phoenix dactylifera* L) cultivars from Tunisia, **Pakistan Journal of Botany** 41: 2671-2681,
- Harries HC (1978) The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L, **Botanical Review** 44: 265–320,
- IPGRI, Descriptors for Coconut(*Cocos nucifera* L,) (1995) **International Plant Genetic Resources Institute**, 68p,
- Jolliffe IT (1972) Discarding variables in a principal component analysis, I, Artificial DATA, **Applied Statistics** 21: 160-173,
- Negreiros JR da S, Bergo CL, Miqueloni DP and Lunz AMP (2013) Divergência genética entre progênies de pupunheira quanto a caracteres de palmito, **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 48: 496-503,
- Oliveira FJ, Anunciação Filho CJ, Bastos GQ and Reis OV (2003) Divergência genética entre cultivares de caupi, **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 38: 605-611,
- Passos EEM (1998) Morfologia do coqueiro, In: Ferreira JMS, Warwick DRN and Siqueira LA (eds) **A cultura do coqueiro no Brasil**, Editora Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p, 57-64,
- Passos CD and Passos EEM (2003) **Aspecto morfológicos do caule e da folha do coqueiro anão (*Cocos nucifera* L.)**, Editora Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, 4p,
- Passos CD, Passos EEM, Aragão WM (2007) **Comportamento fenológico do coqueiro anão verde nos tabuleiros costeiros de Sergipe**, Revista Brasileira de Biociências 5: 393-395,
- Pedroso GT, Santos HCAC dos (2007) **Características da inflorescência de cultivares de coqueiro nas épocas de seca e chuvosa do ano**. Editora Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, 15p,
- Persley GJ (1996) **Replanting the tree of life: Towards an international agenda for coconut palm research**, Wallingford: CABI/ACIAR, 156p,
- Ribeiro FE, Soares AR and Ramalho MAP (1999) Divergência entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil, **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 1615-1622,
- SAS INSTITUTE (Cary, Estados Unidos) (2004) **SAS language and procedures: usage**, Version 9,1, Cary, 1 CD-ROM,
- Sneath PH and Sokal RR (1973) **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**, W,H, Freeman, San Francisco, 573p,

Sobral KMB, Ramos SRR, Gonçalves LSA, Amaral Junior AT and Aragão WM (2012) Variabilidade genética entre acessos de coqueiro-anão utilizando técnicas de análise multivariada, **Magistra** 24: 348-359,

Sokal RR and Rohlf FJ (1962) The comparison of dendrograms by objective methods, **Taxon** 11: 33-40,

Sugimura Y, Itano M, Salud CD, Otsuji K and Yamaguchi H (1997) Biometric analysis on diversity of coconut palm: cultivar classification by botanical and agronomical traits, **Euphytica** 98: 29-35,

Vargas A and Blanco FA (2000) Fruit characterization of *Cocos nucifera* L, (Arecaceae) cultivars from the Pacific coast of Costa Rica and the Philippines, **Genetic Resources and Crop Evolution** 47: 483-487,

Zizumbo-Villarreal D and Piñero D (1998) Pattern of morphological variation and diversity of *Cocos nucifera* (Arecaceae) in Mexico, **American Journal of Botany** 85: 855-865,

Zizumbo-Villarreal D and Colunga-GarcíaMarín P (2001) Morpho-physiological variation and phenotypic plasticity in Mexican populations of coconut (*Cocos nucifera* L.), **Genetic Resources and Crop Evolution** 48: 547-554,

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho:

- Existe variabilidade genética entre os coqueiro-gigante.
- Os acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte, conservados no ICG-LAC, no Campo Experimental do Betume e das Empresas privadas nos Estados do Ceará e Pará apresentam maior variabilidade genética.
- Os acessos de gigante-do-Brasil-da-Praia-do-Forte conservado no ICG-LAG, no Campo Experimental do Betume e da Empresa privada do Estado do Pará são os que melhor representam a variabilidade genética da população original da Praia do Forte.
- Os acessos introduzidos da região do Pacífico apresentam maior variabilidade genética.
- Há relações genéticas entre os acessos coletados no Brasil e o acesso Africano e entre os acessos do sudeste Asiático e sul do Pacífico.
- Os acessos coletados no Brasil apresentam diferenciação genética do acesso Africano, apontando para a formação de ecótipos de coqueiro-gigante no Brasil.
- Os acessos de coqueiro-gigante conservados no ICG-LAC apresentam variabilidade para os caracteres morfoagronômicos analisados.
- A quantificação da diversidade genética, com base nos dezesseis descritores morfoagronômicos, permite a formação de cinco grupos pelo método UPGMA.
- O agrupamento, por meio de características morfoagronômicas, não reflete as relações genéticas entre os acessos conservados no ICG-LAC.
- Dos dezesseis caracteres avaliados seis: altura do estipe, circunferência do estipe a 1,50 m do solo, espessura do pecíolo, número de frutos, número de flores femininas e número de inflorescência, têm maior contribuição para a variação total.