



**LUDMILA CRISTINA OLIVEIRA**

**PALINOLOGIA, CITOGENÉTICA E CONTEÚDO DE  
DNA NUCLEAR EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Euterpe***

**LAVRAS – MG**

**2011**

**LUDMILA CRISTINA OLIVEIRA**

**PALINOLOGIA, CITOGÉNÉTICA E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR EM  
ESPÉCIES DO GÊNERO *Euterpe***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Giovana Augusta Torres

**LAVRAS – MG**

**2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Oliveira, Ludmila Cristina.

Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe*/ Ludmila Cristina Oliveira. – Lavras : UFLA, 2011.

92 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Giovana Augusta Torres.

Bibliografia.

1. Arecaceae. 2. Melhoramento genético. 3. Citometria de fluxo.  
4. Cariótipo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.53

**LUDMILA CRISTINA OLIVEIRA**

**PALINOLOGIA, CITOGENÉTICA E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR EM  
ESPÉCIES DO GÊNERO *Euterpe***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de fevereiro de 2011.

Dra. Vânia Helena Techio UFLA

Dra. Maria do Socorro Padilha de Oliveira EMBRAPA

Dra. Giovana Augusta Torres  
Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2011**

*Aos meus pais, Francisco e Vilma, e à minha irmã Ludirrane: além de família,  
grandes amigos!*

DEDICO

*À Thaís, Jeanne, e Mariana Junqueira: além de amigas, minha família!*

OFEREÇO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter influenciado cada detalhe da minha vida de forma tão efetiva e positiva.

À professora Giovana, a quem devo a orientação desta dissertação, pela solicitude e constante presteza com que sempre me atendeu. Agradeço particularmente pela paciência, pelo muito que me ensinou e pela confiança depositada em mim.

Às professoras Lisete e Vânia Techio, pela inestimável colaboração, pelo apoio durante todo o decorrer do trabalho e pela gentileza de sempre.

Aos meus pais, que sonharam comigo esse sonho e, mesmo pagando o preço da distância, confiaram em mim, me incentivaram e me amaram, muito além do meu merecimento.

À Ludirrane, por ser, além de irmã, uma grande e fiel amiga, que sempre apoiou minha formação profissional e sempre entendeu minhas ausências com muito carinho e respeito.

À Jeanne, por ter acreditado desde o início na minha capacidade, por ter me adotado, me orientado e me ensinado com tanta clareza a beleza e a importância da citogenética. Agradeço a você, mamis, pela impagável ajuda na discussão dos dados, pelos tantos esclarecimentos e ensinamentos na parte experimental e, principalmente, por me ajudar a fazer com que a soma de tudo isso resultasse em uma grande e verdadeira amizade!

À Thaís, pela amizade incondicional e por tantos outros sentimentos nobres que me apresentou, pelas longas e intermináveis conversas que fizeram do mestrado um prazer ainda maior. Obrigada, Thatá, pela sintonia que traz o entendimento, ainda que sem explicações; que traz comunhão, mesmo sem as palavras e que traz ajuda, mesmo sem o pedido. Sua presença em minha vida se traduz como prova do amor de Deus por mim!

À Mariana Junqueira (Beleza), pela perseverança e pelo otimismo, por ter me acolhido tão bem desde o início e por ser tão companheira em bons e maus momentos, dividindo e multiplicando comigo tristezas e alegrias.

Ao Saulo, amigo de décadas, pela fidelidade de sempre e por me ajudar a fazer com que o tempo e as dificuldades só fortalecessem nossa amizade!

Ao amigo pe. Flávio Luís que, com muita humildade e generosidade, acolheu e incentivou meu desejo de ingressar na pós-graduação, regando meus sonhos como um fiel jardineiro (e eles têm florescido!). Agradeço, acima de tudo, pelo seu exemplo de vida, que sempre foi para mim sinônimo de luta e fé, independente das adversidades.

Aos amigos do laboratório de Citogenética, pelo convívio harmonioso, pela colaboração sempre que solicitada e pelo companheirismo.

Aos amigos que, mesmo na distância, se mantiveram próximos, compreendendo minha ausência e torcendo pela minha realização: André, Carol, Flávia (Bah), Heloísa, Juliana, Leila, Lucrécia, Nivaldo, Renata, pe. Antônio Carlos, pe. Patriky e pe. Ubiratan.

Aos companheiros de república, Fabiana, Glaúcia, Kris e Wesley, que celebraram cada vitória comigo e souberam ter paciência durante os momentos difíceis, sempre me apoiando e incentivando.

À Mariana Salomé, pelo incessante empenho e, muito além disso, pelo comprometimento e envolvimento não só com o que foi a ela atribuído, mas com a realização de todo este trabalho.

À Gabriela, pelo auxílio na parte experimental, de forma especial na adequação das metodologias.

Às amigas Kátia, Fernandinha e Rose, pela grande disponibilidade em ajudar nas análises.

À banca examinadora, pelas valiosas contribuições e criteriosa correção.

Aos ex-professores, mas sempre mestres, Lília e Pascoal, que acreditaram em mim, dando-me apoio sempre, mas em especial no momento de ingresso à pós-graduação.

À Embrapa Amazônia Oriental, principalmente à Dra. Maria do Socorro, pelo esforço em nos fornecer subsídios para a realização deste trabalho.

À Infrater Engenharia, especialmente aos senhores Rogério Vidal, Gleiser e Renato, pelo fornecimento de amostras, pelo bom humor nos dias de campo e por todo o apoio que nos deram.

À UFLA, pela oportunidade de realização do mestrado, e ao seu corpo docente, pela contribuição para o meu crescimento profissional.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, pelo pronto atendimento e colaboração durante a realização do curso.

À Capes e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos que acompanharam minha trajetória e acreditaram em mim!

"É graça divina começar bem. Graça maior persistir na caminhada certa. Mas graça das graças é não desistir nunca."

(Dom Hélder Câmara)

## RESUMO

*Euterpe* é um gênero tropical que apresenta destacada importância pelo fornecimento do palmito e da bebida açaí, produtos em ascensão no mercado nacional e internacional. *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatoria* têm sido envolvidas em programas de melhoramento genético que consideram a hibridação interespecífica como uma alternativa para a ampliação da variabilidade e introgressão de genes de interesse. A manipulação do germoplasma em programas de melhoramento é facilitada por informações relativas ao material genético e às características do grão de pólen das espécies envolvidas. O objetivo deste trabalho foi descrever e comparar características morfológicas, citogenéticas e relativas à quantidade de DNA nuclear de *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatoria*, gerando informações que subsidiem a manipulação do germoplasma dessas espécies e que possibilitem inferências sobre os processos evolutivos sofridos por elas. Houve grande homogeneidade para caracteres morfológicos e tipo de núcleo interfásico, não havendo sob estes aspectos possibilidade de distinção das espécies. Apesar da uniformidade numérica, *Euterpe* mostrou-se um grupo heterogêneo quanto à morfologia cromossômica, sugerindo que alterações estruturais podem ter contribuído para a diversificação do gênero. O comprimento total do lote haplóide e o conteúdo nuclear de DNA foram significativamente maiores para *E. precatoria*. Concluiu-se que a palinologia e a caracterização dos núcleos interfásicos não são ferramentas úteis para diferenciação das espécies analisadas. *E. precatoria* e *E. edulis* apresentam características cariotípicas que permitem inseri-las em uma categoria mais derivada evolutivamente que *E. oleracea*, sendo essas duas espécies cariotipicamente mais próximas. Nos programas de melhoramento e, principalmente, na escolha de espécies para hibridação interespecífica, deve-se atentar às divergências cromossômicas encontradas entre as espécies estudadas.

Palavras-chave: Arecaceae. Cariótipo. Citometria de fluxo. Melhoramento genético.

## ABSTRACT

*Euterpe* is a tropical genus that presents highlighted importance since some of its species provide palm heart and the Açaí drink, products widely accepted in domestic and international market. *E. edulis*, *E. oleracea* and *E. precatoria* have been involved in breeding programs that consider the interspecific hybridization as an alternative to increase the variability and introgression of genes of interest. The manipulation of germplasm in breeding programs can be facilitated by information about genetic material and pollen characteristics of the species involved. The aim of this paper was to describe and compare the morphopollinic, cytogenetic and nuclear DNA characteristics of *E. edulis*, *E. oleracea* and *E. precatoria*, generating information to support manipulation of the germplasm of these species and to allow inferences about the evolutionary processes suffered by them. There was great homogeneity for morphopollinic characters and for the interphasic nucleus, making these information useless for species distinction. Despite numerical homogeneity, *Euterpe* showed high variation on chromosome morphology, suggesting that structural changes may have contributed to the diversification of the genus. The total length of the haploid lot and nuclear DNA content were significantly higher for *E. precatoria*. We conclude that the palynological and interphasic nuclei characterization are not useful tools for species differentiation. *E. precatoria* and *E. edulis* presented karyotypic characteristics that allow us to insert them into a category more evolutionarily derived than *E. oleracea*, and these two species are closer karyotypically. In breeding programs, and especially in the choice of species for hybridization, it must be noted the chromosomal differences found between these species.

Keywords: Arecaceae. Karyotype. Flow cytometry. Plant Breeding.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	12
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
<b>2.1</b>	<b>Aspectos botânicos e fenológicos de <i>Euterpe oleracea</i> Mart., <i>Euterpe precatoria</i> Mart. e <i>Euterpe edulis</i> Mart.</b> .....	15
<b>2.2</b>	<b>Importância econômica</b> .....	18
<b>2.3</b>	<b>Palinologia</b> .....	24
<b>2.4</b>	<b>Aspectos citogenéticos</b> .....	27
<b>2.5</b>	<b>Citometria de fluxo e quantidade de DNA em palmeiras</b> .....	30
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b>	
	<b>ARTIGO 1 Palinologia de espécies de <i>Euterpe</i> Mart.</b> .....	44
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	50
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	60
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	62
	<b>ARTIGO 2 Citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies de <i>Euterpe</i></b> .....	65
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	68
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	71
<b>2.1</b>	<b>Material genético</b> .....	71
<b>2.2</b>	<b>Análise citogenética</b> .....	71
<b>2.3</b>	<b>Determinação da quantidade de DNA nuclear</b> .....	72
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	74
<b>3.1</b>	<b>Análise citogenética</b> .....	74
<b>3.2</b>	<b>Determinação da quantidade de DNA nuclear</b> .....	80
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	82
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	88
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	90

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

As palmeiras dividem-se em seis subfamílias, apresentando 236 gêneros e 3.400 espécies (JOLY, 1998). De acordo com Daniel (1997), é possível encontrar no Brasil aproximadamente 37 gêneros e 400 espécies.

*Euterpe* Mart. contém sete espécies distribuídas na América do Sul e Central, das quais cinco são encontradas no Brasil (HENDERSON; GALEANO, 1996). As espécies *Euterpe edulis* Mart., *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart. são consideradas por Castro (1992) como as mais importantes do gênero devido ao amplo uso comercial das mesmas.

O açazeiro (*E. oleracea*) e o açai mandoba (*E. precatoria*) são importantes recursos genéticos da Amazônia e se destacam pelo fornecimento de dois produtos alimentares economicamente rentáveis: os frutos e o palmito (OLIVEIRA et al., 2009). Os frutos são utilizados para a produção da bebida açai, cujo consumo está em expansão no Brasil e no exterior, movimentando milhões de dólares e sendo responsável por mais de 25 mil empregos diretos e indiretos só em Belém, capital do estado do Pará (ROGEZ, 2000). Apesar de terem aplicações similares, essas espécies apresentam diferenças morfológicas marcantes no caule e no tamanho, peso e número de cachos emitidos ao ano por planta.

A extração do palmito de *E. oleracea* passou a ser realizada a partir 1970 em substituição a *E. edulis*, que é uma palmeira monocaule. Em espécies com essa característica de estipes solitários, a retirada do palmito mata a palmeira, o que explica a quase extinção de populações nativas do palmito (*E. edulis*) no Sul e Sudeste do Brasil e a maior utilização de *E. oleracea* (JARDIM; ANDERSON, 1987). A preocupação com a extinção de *E. edulis* tem feito

surgir a tentativa de uma nova relação com a planta, enfatizando a importância de sua preservação por meio da aquisição do hábito de valorizá-la também pela produção de frutos (FARIAS, 2009).

A obtenção de híbridos envolvendo *E. precatória* e *E. edulis* é uma estratégia a ser adotada pela Embrapa Amazônia Oriental que, desde 1980, vem desenvolvendo um programa de melhoramento do açazeiro (*E. oleracea*) para aumento da produtividade, qualidade dos frutos e produção de sementes (OLIVEIRA et al., 2009). O sucesso da hibridação entre espécies de *Euterpe* é demonstrado por Bovi et al. (1987) que descreve a existência de híbridos naturais entre *E. edulis* e *E. oleracea*, ressaltando a grande potencialidade dessas plantas para o cultivo e produção de palmito.

Informações citogenéticas, além de fornecer importantes subsídios para manipulação de germoplasma em programas de melhoramento, podem auxiliar na elucidação de questões taxonômicas e filogenéticas (GUERRA, 1988), como algumas existentes em *Arecaceae*.

Os limites filogenéticos entre espécies de palmeiras são frequentemente obscuros pela falta de diferenças morfológicas bem definidas, por escassez de informações relevantes e por um potencial bastante frequente para a hibridação (HENDERSON, 2006). Em determinadas regiões ocorre dada variabilidade dentro de uma espécie que levanta questionamento sobre a necessidade de distinção de taxa interespecífico ou até mesmo de outra espécie. (HENDERSON, 2004; HENDERSON; MARTINS, 2002). Um exemplo de tal controvérsia taxonômica, segundo WENDT et al. (2011) inclui as espécies *E. edulis* e *E. espiritosantensis* do gênero *Euterpe*, que ocorrem em simpatria no município de Santa Teresa - ES e foram consideradas sinônimas por Henderson e Galeano (1996), mas vêm sendo tratadas como espécies diferentes em publicações posteriores (MARTINS; NAKAGAWA; BOVI, 1999; MARTINS;

BOVI; NAKAGAWA, 2007; MARTINS; BOVI; MORI, 2007) e pela população local.

Muito úteis para inferências filogenéticas e taxonômicas em grupos de plantas são as descrições palinológicas (DOYLE; THOMAS, 1997) e citogenéticas (GUERRA, 1988), bem como a quantidade de DNA nuclear (KRON et al., 2007), por fornecerem valiosas informações acerca do processo evolutivo sofrido pelas espécies.

Neste sentido o presente trabalho apresenta descrições e comparações do cariótipo, núcleo interfásico, palinologia e conteúdo de DNA nuclear entre *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos botânicos e fenológicos de *Euterpe oleracea* Mart., *Euterpe precatoria* Mart. e *Euterpe edulis* Mart.

As espécies de *Euterpe* encontram-se classificadas na divisão Magnoliophyta (=Angiospermae), classe Liliopsida (=Monocotyledoneae), subclasse Arecidae (=Espadicipflorae), super-ordem Arecanae, ordem Arecales (=Principes), família Arecaceae (=Palmae), subfamília Arecoideae, gênero *Euterpe* (HENDERSON; GALEANO, 1996).

*E. oleracea* é uma palmeira tipicamente tropical e de distribuição ampla, ocorrendo no norte da América do Sul, Panamá, Equador, Trinidad, Guiana Francesa, Suriname, Venezuela e Colômbia (HENDERSON; GALEANO, 1996). No Brasil, ocorre nos estados do Pará, Amazonas, Maranhão e no Amapá, sendo frequente em solos alagados e várzeas (LORENZI et al., 1996). *E. precatoria* tem distribuição desde a América Central (Belize, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Costa Rica e Panamá) até o norte da América do Sul (Colômbia, Venezuela, Trinidad, Guianas, Equador, Peru, Brasil e Bolívia). No Brasil, a palmeira ocorre nos estados amazônicos do Acre, Amazonas, Rondônia e Pará (HENDERSON, 1995), sendo encontrada em locais de terra firme e textura média (DANIEL, 1997). *E. edulis*, palmeira também tropical, ocorre na floresta Atlântica brasileira, desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, sendo encontrada também na Argentina e no Paraguai (SEOANE; SEBBENN; KAGEYAMA, 2005).

*E. oleracea*, também conhecida como açáí, açazeiro, assazeiro, ka-be-re, juçara, jicara e açáí-do-pará (HENDERSON, 2000) é uma planta adaptada às condições tropicais com temperatura média de 28° C, se desenvolvendo bem em condições de clima quente e, quando nativa, prefere regiões onde a pluviosidade

média alcance de 2000 a 2700 mm anuais e umidade elevada, em torno de 80% (VAZ, 2003). Segundo Daniel (1997) ela pode ser plantada em terras baixas, onde ocorra inundação em curtos períodos e tem preferência por solos com pH variando entre 1,1 e 5,5.

Por sua capacidade de perfilhamento, *E. oleracea* apresenta touceiras de até 25 caules, raramente aparecendo solitário. Seu estipe é delgado, alcançando de 3 a 20 m de altura e de 7 a 18 cm de diâmetro. Sustenta um capitel de 8 a 14 folhas pinadas, bainha incluindo uma pequena lígula marrom escura, roxa, verde, vermelho-esverdeada escura ou verde-amarelada. Já *E. precatória* é uma palmeira monocaule, também conhecida como açai, açai-da-mata, assai-da-mata e juçara, apresenta caule atingindo em média 3 a 20 m de altura e 4 a 23 cm de diâmetro, sustentando um capitel de 5 a 10 folhas (HENDERSON, 2000). As sementes se constituem em sua principal forma de propagação, já que não tem perfilhos (AGUIAR; MENDONÇA, 2003). *E. edulis*, conhecida como juçara, içara, ensarova, ripeira, jiçara, palmito-doce, palmito-juçara, palmito e ripa, também não perfilha e apresenta estipe ereto e cilíndrico, com 8 a 15 cm de diâmetro, sustentando um capitel de cerca de 10 a 20 folhas pinadas. Seu caule mede entre 10 e 20 metros, raramente alcançando maior altura (REITZ; KLEIN; REIS, 1983).

*E. oleracea* inicia sua fase reprodutiva por volta de quatro anos, com floração e frutificação contínuas, cujo pico de florescimento ocorre de fevereiro a julho e o de frutificação de agosto a dezembro, mas podem variar conforme a variedade e a procedência, conforme Rogez (2000). Sua inflorescência é do tipo cacho, sendo constituída por uma raque, onde estão inseridas dezenas de ráquias e, nestas, milhares de flores sésseis, unissexuais e dispostas em espiral. Cada inflorescência pode conter até 8.000 flores femininas e 37.000 masculinas (CALZAVARA, 1972; HENDERSON; GALEANO, 1996), com as flores femininas ladeadas por duas flores masculinas, formando a tríade e, na parte

final, apenas flores masculinas (CAVALCANTE, 1991). De acordo com Venturieri (2006) algumas variedades possuem relação de uma flor masculina para cada flor feminina (1:1) devendo receber maior atenção, pois esta peculiaridade botânica pode implicar em uma maior produção de frutos.

Em *E. precatoria* as inflorescências também são constituídas por raque e ráquulas. O número de ráquulas varia entre 70 e 170, dependendo do tamanho da inflorescência. O número médio estimado de flores (em tríades) por inflorescência é de 110.550, sendo 73.700 masculinas e 36.850 femininas (KÜCHMEISTER; GOTTSBERGER; GOTTSBERGER, 1997).

*E. edulis* apresenta inflorescência em forma de panícula, sendo composta por uma raque da qual partem de 96 a 175 ráquulas que, por sua vez, sustentam as flores. Em cada ráquila estão dispostas flores unissexuadas dispostas em tríades, uma flor feminina no meio de duas masculinas. Cada ráquila apresenta em sua base uma pequena porção sem flores e no ápice uma porção que só apresenta flores masculinas. O número de flores femininas por ráquila varia de 53 a 162 e as masculinas apresentam-se em mais que o dobro das flores femininas (MANTOVANI; MORELATTO, 2000).

O período de floração de uma inflorescência para as três espécies é lento e gradativo, sendo denominado de fase, e diferencia-se para flores masculinas e femininas. A duração das fases masculina e feminina é, respectivamente, de 12 e 5 dias para *E. oleracea* (OLIVEIRA, 2002), 17 e 3 dias para *E. precatoria* (KÜCHMEISTER; GOTTSBERGER; GOTTSBERGER, 1997) e 6 e 5 dias para *E. edulis* (MANTOVANI; MORELLATO, 2000).

Apesar das flores masculinas e femininas serem encontradas na mesma inflorescência, *E. precatoria*, *E. oleracea* e *E. edulis* são espécies preferencialmente alógamas. A auto-polinização (autogamia) dificilmente ocorre em uma inflorescência por causa da forte separação temporal das anteses de flores masculinas e femininas (KÜCHMEISTER; GOTTSBERGER;

GOTTSBERGER, 1997). No entanto Oliveira, Lemos e Santos (2000), ao avaliar a sucessão de fases da floração em *E. oleracea*, encontraram sobreposição de fases em alguns acessos, o que indica que, embora a espécie seja preferencialmente alógama, há possibilidade de auto-polinização.

Os frutos produzidos pelas três espécies são esféricos, na maioria das vezes de coloração roxo escuro e pequenos, variando entre 1,0 a 1,4 cm para *E. oleracea* (MUÑIZ-MIRET et al., 1996), entre 1,0 a 1,8 cm para *E. precatoria* (CLAY; CLEMENT, 1993) e entre 1,0 e 1,5 cm para *E. edulis* (HENDERSON, 2000). Eles são caracterizados por uma única semente que constitui aproximadamente 80% do seu volume total (CLAY; CLEMENT, 1993; GALETTI; ZIPPARO; MORELLATO, 1999).

## 2.2 Importância econômica

*E. oleracea* e *E. precatoria* geram produtos que têm sido apresentados em feiras internacionais na Europa e na América do Norte, despertando o interesse do público em geral. Amostras da polpa e de seus derivados têm sido remetidas para outros países, especialmente para Áustria, Alemanha, Estados Unidos, Itália e Japão (OLIVEIRA; FARIAS NETO; PENA, 2007). As exportações, tanto para outras regiões brasileiras, quanto para outros países, vêm aumentando significativamente, com taxas anuais superiores a 30% (SILVA; OLIVEIRA, 2007). Segundo Santana (2006), com os valores da exportação de açaí advindos dessas duas espécies de *Euterpe*, a partir de 2004 esse produto alcançou a posição de principal fruta do Estado do Pará, em termos de renda, emprego e ocupação de mão-de-obra.

O crescimento das exportações para vários estados das Regiões Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil, assim como para países do exterior, vem impulsionando a melhoria gradual no funcionamento da cadeia produtiva do

açai, que vai passando da comercialização de produtos *in natura* para produtos beneficiados, como polpas e produtos acabados como doces, geléias e bombons (SILVA et al., 2008).

De acordo com Rogez (2000), a polpa do açai, obtida a partir dos frutos de *E. oleracea* se constitui em fonte de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), fibras, manganês, cobre, boro e cromo. Destaca-se, dentre as frutas, quanto ao teor de lipídios, por ser capaz de suprir cerca de 65% das necessidades calóricas recomendadas para uma pessoa adulta. Em se tratando de proteínas, pode prover entre 25 e 65% das quantidades recomendadas; contém ainda: cálcio, magnésio, potássio e níquel; porém, é pobre (inferior a 25% do valor diário recomendado) em açúcares totais, fósforo, sódio, zinco e ferro. Conclui o autor que o açai pode ser tido como um dos frutos mais nutritivos da Amazônia.

Um dos grandes atrativos para comercialização da bebida açai, sendo ela originária de qualquer espécie do gênero *Euterpe*, é a presença de antocianinas, que são antioxidantes e anti-radicais livres, os quais prolongam a vida das células, retardam o envelhecimento, aumentam as defesas imunológicas, propiciam uma melhor circulação sanguínea e protegem o organismo contra o acúmulo de lipídeos nas artérias, além de possuírem a capacidade de adiar as perdas de visão e diminuir os efeitos da doença de Alzheimer (ROGEZ, 2000).

Segundo Iaderoza et al. (1992) a quantidade de antocianinas dos frutos do açazeiro (*E. oleracea*) é de 336 mg / 100 g e dos frutos do palmitero (*E. edulis*) é de 1.347 mg / 100 g, sendo, portanto, a concentração de antocianinas em *E. edulis* quatro vezes maior que em *E. oleracea*.

A produção de açai em 2006, advinda de *E. oleracea* e *E. precatória*, somou 101.341 t, sendo o estado do Pará o principal produtor com 87,4% do total (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE,

2007). No ano de 2004 gerou o valor de R\$ 317,83 milhões, cerca de US\$ 3,87 milhões em exportações, criando 5.650 empregos diretos (SANTANA, 2006).

Em açazais nativos de *E. oleracea*, manejados para a produção de frutos, com densidade de 1.500 plantas/ha e cerca de 53% delas em fase de produção, a produtividade alcançou 9 toneladas/ha/ano e para açazais não manejados, devido à baixa densidade de plantas, a produção é de 4,5 toneladas/ha/ano (OLIVEIRA; FARIAS NETO; PENA, 2007).

Em Belém, o açaí é o segundo alimento mais consumido, com média diária de 200.000 litros, o que corresponde ao dobro do consumo do leite, perdendo apenas para a farinha de mandioca. Nos demais estados, como Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Goiás, é consumido principalmente na estação de verão e o volume comercializado vem aumentando desde 1992 (ROGEZ, 2000).

Na região do estuário e em toda a Amazônia, *E. oleracea* possui aproveitamento integral. Os frutos são empregados no processamento da bebida açaí; as inflorescências na fabricação de vassouras; as raízes como vermífugo e antidiarréico; o caule na extração de palmito e celulose, na construção de casas, como lenha e como isolamento elétrico; as folhas na obtenção de celulose e cobertura de casas rústicas; e as sementes na confecção de artesanatos (biojóias) ou como adubo orgânico (CALZAVARA, 1972).

Além de fornecer um importante alimento para as populações locais, *E. oleracea* se constitui na principal fonte de matéria-prima para a agroindústria de palmito (NOGUEIRA; HOMMA, 1998). Produzido por diversas espécies de palmeiras no Brasil, o palmito é retirado cortando-se o estipe. Em espécies com estipes solitários, este procedimento mata a palmeira. Isto explica a quase extinção de populações nativas de *E. edulis* no Sul e Sudeste do Brasil e a maior utilização de *E. oleracea* (JARDIM; ANDERSON, 1987). Segundo Daniel

(1997), a partir do 5º ano a produção do açazeiro pode atingir 467 kg de palmito por ha, ou seja, 140 g por estipe.

De acordo com Oliveira, Mochiutti e Farias Neto (2009), embora *E. oleracea* seja uma das principais espécies exploradas para o palmito, as instituições de pesquisa detentoras de germoplasma dessa espécie têm voltado sua atenção para o agronegócio de frutos. Dentre elas está a Embrapa Amazônia Oriental que iniciou os primeiros trabalhos de melhoramento genético na década de 80 com a realização de coletas e o estabelecimento do banco de germoplasma. O programa se concentrou na década de 90 com a avaliação e caracterização do germoplasma disponível, o que deu base para a realização da seleção fenotípica de 25 melhores indivíduos em 1999.

Em 2004 o programa deu origem à cultivar BRS-Pará, a primeira de *E. oleracea* a ser lançada e também a única da espécie existente até o momento. Ela foi selecionada para as condições de terra firme, cujas características desejáveis são: bom perfilhamento, precocidade de produção, boa produtividade, frutos de coloração violácea e bom rendimento de polpa. A BRS-Pará produz frutos em quase todos os meses e apresenta bons níveis de produtividade, em torno de 10 t/ha/ano a partir do 10º ano de plantio, e bom rendimento de polpa, entre 15% e 25% (OLIVEIRA; FARIAS NETO, 2004).

Oliveira, Mochiutti e Farias Neto (2009) descrevem também o programa de melhoramento que tem sido desenvolvido pela Embrapa Amapá. Ao contrário daquele desenvolvido pela Embrapa Amazônia Oriental, que foi direcionado para a condição de terra firme, a Embrapa Amapá tem priorizado as condições de várzea.

Uma vez que um programa de melhoramento deve acompanhar as tendências e necessidades do mercado, do produtor, da agroindústria e do consumidor, a Embrapa Amazônia Oriental e a Embrapa Amapá continuam esforçando-se na continuidade do programa de melhoramento do açazeiro para

produção de frutos. De acordo com Oliveira, Mochiutti e Farias Neto (2009) os métodos de melhoramento adotados na continuidade do programa da Embrapa Amazônia Oriental são: a seleção fenotípica ou massal, seleção fenotípica com teste de progênie e seleção recorrente. Um método ainda não adotado, mas que deverá ser utilizado como alternativa, é a obtenção de híbridos interespecíficos entre o açazeiro, *E. edulis* e *E. precatória*.

Embora *E. precatória* também seja empregada para extração do palmito, a planta tem como parte mais utilizada o mesocarpo, de onde também é extraída a bebida açaí e através da qual são preparados sorvetes e sucos (CASTRO, 1992). Suas folhas são empregadas na cobertura de barracas provisórias e fechamento de paredes. Na etnomedicina, a raiz e o talo da folha são usados contra dores musculares e picadas de cobra e a folha para aliviar dores no peito. A raiz é utilizada no tratamento da malária e contra infecções hepáticas e renais (KAHN; GRANVILLE, 1992). A semente fornece um óleo verde escuro, usado popularmente como antidiarréico (PRANCE, 1975).

A produtividade de *E. precatória* em área nativa, com cerca de 50 a 100 plantas/ha, pode variar entre 900 a 2.000 kg/de frutos/ha/ano. Com boas práticas de manejo, para 200 a 500 plantas/ha, a produtividade pode variar entre 6.000 a 10.000 kg de frutos/ha/ano (BRASIL, 2010).

De acordo com Rodrigues e Durigan (2007) há escassez de dados referentes à abrangência em área das plantações de *E. precatória* e também em relação à sua importância econômica.

*E. edulis* caracteriza-se por produzir palmito de excelente qualidade, com valor econômico elevado e amplamente consumido na alimentação humana, porém é uma planta que não rebrota na base e o corte implica na sua morte (CARVALHO, 2003).

Graças à intensa exploração para extração do palmito sofrida pela espécie, principalmente a partir da década de 70, ela encontra-se hoje na lista

oficial de espécies ameaçadas de extinção (BRASIL, 2008). Além do palmito, essa planta possui, segundo Reitz (1973), outras aplicações alimentícias, industriais e ornamentais. Seus estipes são utilizados em construções rurais e urbanas, as folhas servem como cobertura e suas fibras são usadas em trançados. Os frutos são um rico alimento para suínos e aves e originam um açaí altamente nutritivo.

Nos últimos anos, a extração da polpa de frutos da juçara tem surgido como alternativa para populações rurais da Mata Atlântica, apresentando potencial de geração de emprego e renda. Ao contrário da extração do palmito, o beneficiamento da polpa mantém vivos os indivíduos, constituindo-se assim em uma atividade de restauração da diversidade local, o que amplia a potencialidade da espécie para manejo sustentável (TROIAN, 2009).

Segundo Silva Filho (2005) a possibilidade de retirada da polpa dos frutos de *E. edulis* proporciona ao agricultor uma nova opção de investimento na produção, além de valorizar um produto não madeireiro da floresta Atlântica, que pode ser produzido em sistemas agroflorestais e consórcios. Para Bovi, Godoy e Saes (1987) a juçara é uma das poucas plantas comercialmente exploradas que podem ser cultivadas em uma floresta nativa, em harmonia com seu ecossistema.

Farias (2009) propõe uma nova relação humana com *E. edulis*, enfatizando a importância de preservação da palmeira através da aquisição do hábito de valorizá-la também pela produção de frutos. Segundo este autor, desde 2003 o açaí é extraído dos frutos dessa espécie em escala comercial em uma agroindústria rural de pequeno porte instalada no município de Garuva, SC, tendo sido produzidas, em 2008, 48 toneladas de frutos.

O melhoramento genético pode contribuir para o desenvolvimento de populações com maior potencial em produtividade, mas não existem ainda cultivares ou populações melhoradas de *E. edulis* (NODARI; FANTINI, 2000).

A quase totalidade das iniciativas ou intenções de obtenção de materiais superiores têm em vista a produção de palmito, como é o caso do trabalho do Instituto Agrônomo de Campinas que vem desenvolvendo estudos na busca de subsídios para o melhoramento da juçara. Com a intenção de reunir características favoráveis das espécies comumente exploradas para palmito, Bovi, Godoy e Saes (1987) produziram híbridos entre *E. edulis* e *E. oleracea*. Esses autores constataram que cerca de 76,5% das plantas híbridas perfilharam e, comparadas com os genitores, foram superiores em desenvolvimento vegetativo e produtividade, mas ressaltaram que os híbridos, embora superiores, são desuniformes especialmente para o caráter perfilhamento e necessitam ser melhorados.

Segundo Nodari e Fantini (2000) os poucos estudos com *E. edulis* sobre as bases genéticas de características de importância econômica revelaram que é possível iniciar um programa de melhoramento genético para a espécie. Nesses estudos foi encontrada variação fenotípica para características altamente correlacionadas com a produção de palmito e também com a produção de frutos, o que possibilita que os dois produtos sejam alvos dos programas de melhoramento. De acordo com os mesmos autores uma das limitações para o programa de melhoramento da espécie é o baixo número de plantas produtoras de frutos em populações naturais.

### **2.3 Palinologia**

A palinologia é uma ciência que estuda os palinomorfos fósseis ou atuais, que são grãos de pólen de Angiospermas e Gimnospermas, esporos de Pteridófitas e fungos, cistos de algas, dinoflagelados, foraminíferos, acritarcas, entre outros (SALGADO-LABOURIAU, 1961).

Para Miranda e Andrade (1990) existem nos grãos de pólen e esporos quatro características nas quais residem os fundamentos da palinologia: sua grande resistência à degradação, o que facilita a fossilização; seu pequeno tamanho, o que facilita a dispersão e depósito em partículas sedimentares; sua complexidade morfológica, o que permite sua caracterização; e a produção em grande número, o que favorece levantamentos estatísticos confiáveis.

De acordo com Barth (2003) a palinologia constitui-se em uma das ferramentas utilizáveis em estudos retrospectivos que dizem respeito às mudanças climáticas, ambientais e à influência do homem sobre a paisagem em tempos históricos. Segundo Leite (2006) é uma ciência que pode solucionar diferentes problemas geológicos, podendo-se obter através dela informações sobre bioestratigrafia, paleobiogeografia, paleoclimatologia, ambiente deposicional e estágio de maturação termal. É aplicável também a vários outros campos do conhecimento, como a Paleocologia, a Arqueologia, análise da qualidade de mel e Sistemática Vegetal (SALGADO-LABOURIAU, 1961).

A morfologia dos palinomorfos, em especial dos grãos de pólen, tem oferecido excelentes informações à taxonomia e à filogenia vegetal. Até o final da década de 80, os taxonomistas raramente utilizavam a morfologia do pólen para fazer a descrição de grupos de plantas e, quando isso era feito, era de um modo incompleto e superficial, o que passou a mudar a partir do final desta década (MIRANDA; ANDRADE, 1990). No início do século XX, o estudo morfológico do pólen deixou de ser usado exclusivamente como fator acessório para estudos de classificação sistemática vegetal e passou a ter aplicação em estudos de paleontologia, em medicina (alergias, por exemplo), em arqueologia e na prospecção de petróleo (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

Estudos palinológicos são raros em *Arecaceae*, considerando o grande número de espécies contidas nesta família. Informações sobre a morfologia polínica de palmeiras foram encontradas em Bauermann et al. (2010), que

fizeram a diferenciação polínica de cinco gêneros, utilizando nove espécies, incluindo *E. edulis*. Esta espécie apresentou grãos de pólen de tamanho médio, bilateralmente simétricos, suboblato, de âmbito piriforme e monosulcados. A exina revelou-se com aproximadamente 1 µm, sendo finamente escabrada, com ectoexina e endoexina de mesma espessura. Para as outras oito espécies os grãos de pólen foram monocolpados, com ornamentação microrreticulada e tamanhos variando entre médio e grande. Grãos de pólen do tipo prolato-esferoidal incluíram *Butia capitata*, *Geonoma gamiova* e *Thritrinax brasiliensis*. As espécies *Butia eriospatha* e *Geonoma schottiana* tiveram seus grãos de pólen classificados como prolatos. *Butia paraguayensis* e *Syagrus romanzoffiana* foram classificados como subprolatos.

Duas populações de *Orbignya phalerata*, outra espécie pertencente à família Arecaceae, foram estudadas por Chaves (2006), sendo uma população localizada em terra desmatada (antropizada) e outra em área conservada de floresta de terra firme. Nesse trabalho foi constatada a presença de grãos de pólen elípticos e piriformes na área conservada e triangulares e piriformes na área antropizada. Os tipos de abertura monocolpada ocorreram nos grãos de pólen dos indivíduos da área conservada e tricotomocolpada nos grãos dos indivíduos da área antropizada. Com esses resultados, a autora ressalta a importância de se intensificar as análises de pólen de plantas submetidas à pressão antrópica, uma vez que as alterações ambientais podem afetar seu metabolismo e, conseqüentemente, sua reprodução.

Investigações feitas por Harley e Dransfield (2003) revelaram que para o Gênero *Areca* (Arecaceae) a grande maioria das espécies apresenta grãos de pólen monosulcados, mas foi registrada também a presença de pólen tricotomosulcados. Segundo os autores, é provável que algumas espécies em *Areca* tenham o potencial para produzir os dois tipos de grãos de pólen.

Na subfamília Cocoideae, a capacidade de produzir mais de um tipo de grão de pólen também é observada, embora o tipo de abertura tricotomocolpada seja a principal, predominando em diversas espécies. Uma delas é *Elaeis guineensis*, na qual grãos de pólen monocolpados também ocorrem, ainda que em minoria. Nesta espécie foram encontrados também alguns grãos de pólen intermediários, entre tricotomocolpados e monocolpados (SOWUNMI, 1968). Em seu estudo, o autor relata também a existência de grãos de pólen bicolpados na espécie *Korthalsia laciniosa* e de um estágio intermediário, entre monocolpado e bicolpado, na espécie *Daemonorops sparsiflorus* (Arecaceae).

O número de colpos, para Mahabalé (1967), do ponto de vista filogenético é umas das mais confiáveis características polínicas, sendo também um caráter primitivo. De acordo com o autor os grãos de pólen monocolpados ocorrem na grande maioria das palmeiras, mesmo que sejam pertencentes a diferentes tribos, subtribos e gêneros. Apenas algumas palmeiras possuem grãos de pólen bissulcados ou bicolpados.

Embora a morfologia do pólen das palmeiras possa ser utilizada na distinção de alguns gêneros, bem como de algumas espécies, ela não esclarece a delimitação da maioria dos grandes subgrupos dentro das subfamílias (SOWUNMI, 1972). Arecaceae, mesmo com sua grande importância e com representantes ocorrendo em várias formações vegetacionais, tem seus registros polínicos quase sempre identificados em nível taxonômico de família, devido à similaridade dos grãos de pólen (BAUERMANN et al., 2010).

#### **2.4 Aspectos citogenéticos**

Na maioria das palmeiras, o número diplóide de cromossomos varia entre 26 e 36. Espécies do mesmo gênero normalmente exibem números

idênticos de cromossomos, que ainda podem ser constantes em grandes grupos de gêneros estreitamente relacionados (RÖSER, 1994).

No caso das espécies do gênero *Euterpe*, os relatos na literatura disponível são escassos. Não existe consenso a respeito do número cromossômico do açazeiro (*E. oleracea*). Para Môro et al. (1999) é uma espécie diplóide com 36 cromossomos ( $n=18$ ), todos do mesmo tamanho e forma. Mas há registros de variações de 32 a 36 cromossomos para número somático determinado pela técnica de esmagamento, além de distinção quanto ao comprimento e posição do centrômero (PINTO-MAGLIO; BOVI; DIAS, 1986 citado por OLIVEIRA; CARVALHO; NASCIMENTO, 2000). Estudo realizado pela mesma técnica com sementes de diferentes procedências contabilizou variação de 26 a 36 cromossomos, com predominância de  $2n=32$ , sendo todos bem diminutos e distintos quanto à morfologia. (OLIVEIRA et al., 2004).

Röser (1993) analisou o número cromossômico de 13 gêneros da subfamília Coryphoideae (Arecaceae), encontrando número cromossômico prevaemente de  $2n=36$ , além de detectar extrema heterogeneidade no que diz respeito ao tamanho e morfologia cromossômica, organização da heterocromatina constitutiva, estrutura do núcleo interfásico e quanto ao padrão de condensação na prófase. O mesmo autor, em 1994, apresentou dados sobre 56 espécies de palmeiras e o cariótipo de 17 espécies pertencentes a onze gêneros e seis subfamílias, observando uma variação de  $2n=26$  a  $2n=36$  dentro das subfamílias.

Espécies de diferentes gêneros da tribo Coccoineae (Arecaceae), tais como *Martinesia caryotaefolia*, *Martinesia erosa*, *Elaeis guineensis*, *Cocus nucifera*, *Orbihnya cohune*, *Butia capitata* e *Arecostrum vonazoflina* foram estudadas por Sharma e Sarkar (1956 citados por CARVALHO, 1986), sendo encontrado um número de  $2n=32$  cromossomos para todas elas. Os autores

concluíram que as espécies não apenas mostraram o mesmo número cromossômico, como também uma grande similaridade em seus cariótipos.

Geraldo (1998) estudou o cariótipo de dez espécies de palmeiras encontrando  $2n=28$  para *Mauritia flexuosa*;  $2n=30$  para *Aiphanes caryotaefolia*, *Desmoncus polycanthos* e *Syagrus schizophylla* e  $2n=32$  para *Attalea amylacea*, *Attalea lauromuelleriana*, *Attalea phalerata*, *Attalea sp.*, *Syagrus romanzoffiana* e *Syagrus coronata*.

Môro et al. (1999) realizaram um trabalho para obtenção de metodologia para o estudo do cariótipo de palmeiras brasileiras. Após vários testes, os autores concluíram que o melhor horário para coleta das raízes está entre 11 e 12 horas, quando é encontrado maior número de metáfases; a inibição do fuso mitótico pode ser feita tanto por 8-hidroxiquinoleína 0,03% por 5 horas, quanto por água fria (0°C) por 18 a 20 horas e a coloração deve ser feita com Giemsa 2%. As espécies estudadas e seus respectivos números cromossômicos foram: *Aiphanes acanthophylla* ( $2n = 30$ ), *A. caryotaefolia* ( $2n = 30$ ), *Syagrus quinquifaria* ( $2n = 32$ ), *S. coronata* ( $2n = 32$ ), *S. romanzoffiana* ( $2n = 32$ ), *Euterpe edulis* ( $2n = 36$ ), *Copernicia prunifera* ( $2n = 36$ ), *Scheelea lauromuelleriana* ( $2n = 32$ ) e *Bactris gasipaes* ( $2n = 30$ ).

Estudos citogenéticos evidenciaram o número cromossômico de outras palmeiras: *Brassiophoenix schmannii*,  $2n=32$  (JHONSON, 1985); *Raphia*,  $2n=28$  (OKOLO, 1988); *Ceratolobus*,  $2n=26$  (JHONSON, 1979); *Sommieria affinis*,  $2n=34$  (JOHNSON, 1979) e *Sabal*,  $2n=36$  (PALOMINO; QUERO, 1992).

Carvalho (1986) analisou o número cromossômico de três espécies de babaçu (*Orbignya martiana*, *Orbignya teixeirana* e *Orbignya eichleri*). Os resultados revelaram  $2n=32$  cromossomos para todas as espécies. O mesmo autor analisou o comportamento meiótico das três espécies e observou meiose normal, com formação de 16 bivalentes, não sendo observadas irregularidades e

concluiu que estes resultados sugerem a existência de uma única espécie de *Orbignya*, com três raças, populações ou ecótipos.

Sharma e Sarkar (1956 citados por NUCCI, 2007) realizaram estudos citogenéticos com 50 espécies de 28 gêneros de palmeiras, abrangendo algumas espécies de gêneros da subfamília Coccoideae. Neste estudo, os autores relatam que foram encontrados números de cromossomos variados em diferentes gêneros que pertencem às mesmas e diferentes subfamílias. Contudo, há uma homogeneidade geral e uma uniformidade de cromossomos claramente marcada dentro de cada subfamília. Eles consideram a subfamília Coccoideae como um bom exemplo de estabilidade evolutiva, pois em seis espécies diferentes, de gêneros distintos, foi encontrado o mesmo número de cromossomos,  $2n = 32$ , e uma semelhança total nos cariótipos. Todos os cariótipos são caracterizados por cromossomos aproximadamente médios com gradação no tamanho para cromossomos curtos. O número de cromossomos com constrictões secundárias varia de dois a três pares no complemento. Os autores concluem que a semelhança entre os cromossomos é tão acentuada que eles podem ser considerados membros de uma única linha de evolução.

Um estudo meiótico realizado por Gassner (1941 citado por CARVALHO, 1986) em algumas espécies da tribo Coccoideae revelou um pareamento normal com formação de bivalentes. Dados semelhantes foram obtidos por Sharma e Sarkar (1956 citados por CARVALHO, 1986) em 28 espécies distribuídas em 22 gêneros de Arecaceae.

## **2.5 Citometria de fluxo e quantidade de DNA em palmeiras**

A citometria de fluxo é um excelente método para analisar as propriedades ópticas (tais como fluorescência e dispersão da luz) de partículas em suspensão, que podem ser células, núcleos, cromossomos, organelas, dentre

outras (DOLEZEL, 1997). As partículas são medidas individualmente em alta velocidade, facilitando a análise de uma quantidade representativa de amostras e fazendo da citometria uma ferramenta comum na investigação biomédica. Embora menos freqüentemente empregada no estudo de plantas, essa técnica vem ganhando uma vasta gama de aplicações (DOLEZEL; GREILHUBER; SUDA, 2007).

Segundo Dolezel (1997), a citometria de fluxo é uma ferramenta útil no melhoramento de plantas para controlar a estabilidade do nível de ploidia, identificar haplóides e duplohaplóides em culturas de anteras e ovários, verificar novos níveis de ploidia em resultados de cruzamentos, detectar aneuplóides, identificar híbridos, polissomatia e o sexo em plantas dióicas, acompanhar o desenvolvimento da semente e identificar o produto de fusão de protoplastos.

De acordo com Bennett e Leitch (1995) a medição da quantidade de DNA por citometria emprega as seguintes etapas: (1) os núcleos são mecanicamente isolados da planta (geralmente do tecido foliar) por maceração. Em média 10.000 núcleos são necessários para a análise e esta quantidade pode ser obtida a partir de cerca de 50 mg de tecido; (2) os núcleos isolados são marcados com um fluorocromo; (3) a amostra é passada um citômetro de fluxo e a fluorescência emitida de cada núcleo, que é proporcional ao conteúdo de DNA, é medida e analisada.

Antes que a citometria de fluxo atingisse toda essa popularidade, um método para estimativa do conteúdo de DNA nuclear amplamente utilizado foi a Densitometria por Feulgen (DOLEZEL; GREILHUBER; SUDA, 2007), que se baseia na ligação específica do DNA a esse corante, havendo uma proporcionalidade entre a quantidade de DNA existente e a quantidade de corante que o núcleo incorpora (SHIFINO-WITTMANN, 2001). Uma vantagem dessa técnica é que as amostras de plantas podem ser armazenadas por longos

períodos antes de seu processamento e análise (DOLEZEL; GREILHUBER; SUDA, 2007).

Comparando-se as duas técnicas, a citometria de fluxo apresenta algumas vantagens em relação à Densitometria por Feulgen, como a facilidade e a rapidez no preparo das amostras, o grande número de núcleos que podem ser analisados em um pequeno intervalo de tempo, a demanda de pequenas quantidades de tecido e a possibilidade de detecção de pequenas diferenças na quantidade de DNA (SHIFINO-WITTMANN, 2001).

O valor C de DNA é uma informação de grande significado biológico e o conhecimento da quantidade de DNA nuclear de um grupo de organismos pode ser útil em vários campos da ciência, como biologia molecular e celular, ecologia e sistemática (BENNET; LEITCH, 1995). A disponibilidade de dados sobre o tamanho do genoma é crucial também para outros campos da investigação, incluindo taxonomia e evolução (KRON; SUDA; HUSBAND, 2007).

De acordo com Bennet e Leitch (1997), nas angiospermas os valores C variam até 600 vezes, de menos de 0.2 pg em *Arabidopsis thaliana* a 127, 4 pg em *Fritillaria assyriaca*. Segundo os mesmos autores informações sobre a quantidade de DNA em diferentes taxa de angiospermas são, muitas vezes, difíceis de localizar, pois os dados publicados são amplamente espalhados em uma gama muito diversificada de revistas. Além disso, uma significativa quantidade de dados é conhecida apenas pelos pesquisadores, não sendo divulgados.

A quantidade de DNA tem sido estudada em várias famílias de angiospermas: Rosaceae (SCHMIDT-LEBUHN et al., 2010), Caprifoliaceae (MIYASHITA; ARAKI; HOSHINO, 2011), Brassicaceae (MOROZOWSKA; CZARNA; JEDRZEJCZYK, 2010), Turneraceae (ELIAS; SARTOR; NEFFA, 2011), Ranunculaceae (CIRES et al., 2010), dentre outras.

Para as palmeiras (Arecaceae) Röser, Johnson e Hanson (1997) utilizaram a Densitometria por Feulgen e determinaram a quantidade de DNA de 83 espécies, pertencentes a 53 gêneros. O conteúdo 2C de DNA variou entre 1,94 e 27,81 pg em diplóides, mostrando uma variação aproximada 14,3 vezes no tamanho do genoma. Em poliplóides, o conteúdo 2C de DNA alcançou 78,2 pg, o que demonstra uma variação de 40,2 vezes. Diplóides com conteúdo de DNA elevado ocorrem em três subfamílias de palmeiras: Coryphoideae, Calamoideae e Arecoideae. As palmeiras das subfamílias Nypoideae e Phytelphantoideae têm quantidades menores de DNA, seguidas por Phoeniceae e Corypheae. Dentre as 83 espécies estudadas está *E. precatória*, que apresentou o conteúdo 2C de DNA de 10,62 pg, sendo este valor considerado relativamente alto pelos autores.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. O.; MENDONÇA, M. S. Morfo-anatomia da sementes de *Euterpe precatoria* Mart. (Palmae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n.1, p.37-42, jul. 2003.
- BARTH, O. M. A palinologia como ferramenta no diagnóstico e monitoramento ambiental da Baía de Guanabara e regiões adjacentes, Rio de Janeiro, Brasil. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 52-59, jan. 2003.
- BAUERMAN, S. G. et al. Diferenciação polínica de *Butia*, *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus* e *Thrinax* e implicações paleoecológicas de Arecaceae para o Rio Grande do Sul. **Iheringia: série botânica**, Porto Alegre, v. 65, n. 1, p. 35-46, jun. 2010.
- BENNET, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 2, p. 113-176, Aug. 1995.
- BENNET, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: 583 new estimates. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 2, p. 169-196, Aug. 1997.
- BOVI, M. L. A. et al. Densidade de plantio de palmitero em regime de sombreamento permanente. **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 329-341, jun. 1987.
- BOVI, M. L. A.; GODOY, J. R. G.; SAES, L. S. Híbridos interespecíficos de palmitero (*Euterpe oleraceae* x *Euterpe edulis*). **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 343-363, jun. 1987.
- BRASIL. Instrução normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 185, p. 75-83, 23 set. 2008. Seção 1.
- BRASIL. Secretaria do Estado do Meio ambiente e Desenvolvimento Sustentável. **Programas**. Brasília, 2009. Disponível em: <[http://www.sds.am.gov.br/programas\\_02.php?cod=2487](http://www.sds.am.gov.br/programas_02.php?cod=2487)>. Acesso em: 26 jul. 2009.
- CALZAVARA, B. B. G. **As possibilidades do açazeiro no estuário amazônico**. Belém: FCAP, 1972. 103p. (Boletim da FCAP, 5).

- CARVALHO, M. D. F. **Estudos citogenéticos do babaçu (*Orbignya spp.*)**. 1986. 48p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1986.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.
- CASTRO, A. O extrativismo do açaí no Amazonas. In: RELATÓRIO de resultados do projeto de pesquisa: extrativismo na Amazônia Central, viabilidade e desenvolvimento. Manaus: INPA/CNPq/ORSTOM, 1992. p. 779-782.
- CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 4. ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991. 279.
- CHAVES, L. S. **Indicadores palinológicos do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Arecaceae em ecossistemas antrópicos e naturais na Amazônia central**. 2006. 78 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) – Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas, Manaus, 2006.
- CIRES, E. et al. Intraspecific genome size variation and morphological differentiation of *Ranunculus parnassifolius* (Ranunculaceae), an Alpine-Pyrenean-Cantabrian polyploid group. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 101, n. 3, p. 251-271, Mar. 2010.
- CLAY, J.; CLEMENT, C. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian forests**. Rome: FAO, 1993.
- DANIEL, O. O potencial da palmicultura em Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE SISTEMAS FLORESTAIS PARA O MATO GROSSO DO SUL, 1997, Dourados. **Resumos...** Dourados: Embrapa, 1997. p. 63-77.
- DOLEZEL, J. Application of flow cytometry for the study of plants genomes. **Journal of Applied Genetics**, Olomouc, v. 38, n. 3, p. 285-302, 1997.
- DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using by citometric. **Nature Protocols**, London, v. 2, n. 9, p. 2203-2211, Sept. 2007.
- DOYLE, A. J.; THOMAS, A. L. Significance of palynology for phylogeny of Annonaceae: experiments with removal off pollen characters. **Plant Systematic Evolution**, Vienna, v. 206, n.1-4, p. 133-159, Jan. 1997.

ELÍAS, G.; SARTOR, M.; NEFFA, V. G. S. Patterns of cytotype variation of *Turnera sidoides* subsp. *pinnatifida* (Turneraceae) in mountain ranges of central Argentina. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 124, n. 1, p. 25-34, Jan. 2011.

FARIAS, M. **Reinventando a relação humano-*Euterpe edulis***: do palmito ao açaí. 2009. 85p. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

GALETTI, M.; ZIPPARRO, V. B.; MORELLATO, P. C. Fruiting phenology and frugivory on the palm *Euterpe edulis* in a lowland Atlantic forest of Brazil. **Ecotropica**, Bonn, v. 5, n. 1, p. 115-122, 1999.

GASSNER, G. G. **Über den bau der männlichen blüten und die pollenentwicklung einiger palmen der unterfamilie der ceroxylinae**. 1941. 40p. Tesis (Ph. D. in Botanik) - University of Zurich, Zurich, 1941.

GERALDO, J. S. **Caracterização de algumas palmeiras quanto ao estudo de seus cariótipos**. 1998. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 1998.

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 140p.

HARLEY, M. M.; DRANSFIELD, J. Triporate pollen in the Arecaceae. **Grana**, Stockholm, v. 42, n.1, p. 3-19, Jan. 2003.

HENDERSON, A. J. A multivariate analysis of *Hyospathe* (Palmae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 6, p. 953-965, June 2004.

HENDERSON, A. J. Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematic. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 151, n. 1, p.103-111, May 2006.

HENDERSON, A. J.; MARTINS, R. Classification of specimens in the *Geonoma stricta* (Palmae) complex: the problem of leaf size and shape. **Brittonia**: a series of botanical papers, Bronx, v. 54, n. 3, p. 202-212, Nov. 2002.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.) ***Euterpe edulis* Martius (palmititeiro): biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues, 2000.

HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. Oxford: University, 1995.

HENDERSON, A.; GALEANO, G. ***Euterpe, Prestoea, and Neonicholsonia (Palmae: Euterpeinae)***. New York: New York Botanical Garden, 1996. 90p. (Flora Neotropica, 72).

HEWOOD, V. H. **Flowering plants of the world**. London: B.T. Batsford, 1993.

IADEROZA, M. et al. Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea* Mart) and juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Tropical Science**, London, v. 32, n. 1, p. 41-46, 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.

**Comunicação social**. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <[http://74.125.47.132/search?q=cache:f2shw4XKSooJ:www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_imprensa.php%3Fid\\_noticia%3D1052+ibge+produ%C3%A7%C3%A3o+de+a%C3%A7a%C3%AD&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br](http://74.125.47.132/search?q=cache:f2shw4XKSooJ:www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_imprensa.php%3Fid_noticia%3D1052+ibge+produ%C3%A7%C3%A3o+de+a%C3%A7a%C3%AD&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br)>. Acesso em: 5 ago. 2009.

JARDIM, M. A. G.; ANDERSON, A. B. **Manejo de populações nativas de açazeiro no estuário amazônico: resultados preliminares**. Colombo: Embrapa, 1987. (Boletim de Pesquisa Florestal, 15).

JHONSON, M. A. T. Chromosomes of *Ceratolobus* (Palmae). **Kew Bulletin**, London, v. 34, n. 1, p. 35-6, 1979.

JHONSON, M. A. T. New chromosome counts in the Palmae. **Kew Bulletin**, London, v. 40, n. 1, p. 109-114, 1985.

KAHN, F.; GRANVILLE, J. **Palms in forest ecosystems of Amazonia**. New York: Spring Verlag, 1992. (Ecological Studies, 95).

KRON, P.; SUDA, J.; HUSBAND, B. C. Applications of flow cytometry to evolutionary and population biology. **Annual Review Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, n. 38, p. 847-876, Dec. 2007.

KÜCHMEISTER, H.; GOTTSBERGER, I. S.; GOTTSBERGER, G. Flowering, pollination, nectar standing crop, and nectaries of *Euterpe precatoria* (Arecaceae) an Amazonian rain forest palm. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 206, n. 1-4, p. 71-97, 1997.

LEITE, F. P. R. **Palinologia da formação Solimões, neógeno da bacia do Solimões, estado do Amazonas, Brasil**: implicações paleoambientais e bioestratigráficas. 2006. 59p. Dissertação (Mestrado em Geologia Regional) – Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LORENZI, H. et al. **Palmeiras do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 1996.

MACFADDEN, J. **A produção de açaí a partir do processamento dos frutos do palmito (*Euterpe edulis Martius*) na mata atlântica**. 2005. 112p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MAHABALÉ, T. S. Pollen grains in Palmae. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 4, n. 1-4, p. 299-304, Oct. 1967.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmito. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis Martius (Palmito)***: biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 23-38.

MARTINS, C. C. et al. Isoenzimas na diferenciação de sementes de três espécies do gênero *Euterpe*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 51-57, jan. 2007.

MARTINS, C. C.; BOVI, M. L. A.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de palmito-vermelho em função da desidratação e do armazenamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 188-192, 2007.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Tolerância à dessecação de sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirosantensis* Fernandes). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 391-396, dez. 1999.

MIRANDA, M. M. B.; ANDRADE, T. A. P. **Fundamentos de palinologia**. Fortaleza: UFC, 1990. 99p.

MIYASHITA, T.; ARAKI, H.; HOSHINO, Y. Ploidy distribution and DNA content variations of *Lonicera caerulea* (Caprifoliaceae) in Japan. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 124, n. 2, p. 1-9, Mar. 2011.

MÔRO, J. R. et al. Methodology for kariological study of brazilian palms. **Acta Horticulturae**, Hague, n. 486, p. 225-228, mar. 1999.

MOROZOWSKA, M.; CZARNA, A.; JEDRZEJCZYK, I. Estimation of nuclear DNA content in *Nasturtium R. Br.* by flow cytometry. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 93, n. 4, p. 250-25, Nov. 2010.

MUÑIZ-MIRET, N. et al. The economic value of managing the Açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in floodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 87, n. 1-3, p. 163-173, Oct. 1996.

NODARI, R. O.; FANTINI, A. C. Melhoramento genético do palmitheiro. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis Martius* (Palmitheiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 163-188.

NOGUEIRA, O. L.; HOMMA, A. K. O. Importância do manejo de recursos extrativos: o caso de açaizeiros (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico. In: AGUIAR, D. R. D.; PINHO, J. B. (Ed.). **Agronegócio brasileiro: desafios e perspectivas**. Brasília: Sober, 1998. v. 2, p. 139-150.

NUCCI, S. M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de Macaúba**. 2007. 90p. Dissertação (Mestrado Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo, Campinas, 2007.

OKOLO, E. C. Chromosome counts on nigerian species of the genus *Raphia*. **Principes**, Lawrence, v. 32, n. 4, p. 156-159, 1988.

OLIVEIRA, M. do S. P. **Biologia floral do açazeiro em Belém, PA**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 8).

OLIVEIRA, M. do S. P. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açazeiro**. 2005. 171 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

OLIVEIRA, M. do S. P. et al. Citogenética em acessos de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBG, 2004. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. do S. P.; CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 52 p. (Frutas Nativas, 7).

OLIVEIRA, M. do S. P.; FARIAS NETO, J. T. **Cultivar BRS-Pará: açaizeiro para produção de frutos em terra firme**. Belém: Embrapa, 2004. (Comunicado Técnico, 114).

OLIVEIRA, M. do S. P.; FARIAS NETO, J. T.; PENA, R. S. **Açaí: técnicas de cultivo e processamento**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2007. 104p.

OLIVEIRA, M. do S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. dos. Seleção de descritores para a caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 4, p. 1133-1140, abr. 2006.

OLIVEIRA, M. do S. P.; LEMOS, M. A.; SANTOS, E. O. **Avaliação da sucessão de fases da floração em acessos de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 19p. (Boletim de Pesquisa, 27).

OLIVEIRA, M. do S. P.; MOCHIUTTI, S.; FARIAS NETO, J. T de. Domesticação e melhoramento do açaizeiro. In: BOREÉ, A; LOPES, M. T. G; CLEMENT, C.R (Ed.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa, MG: UFV, 2009. cap. 11, p. 207-236.

PALOMINO, G.; QUERO, H. J. Karyotype analysis of three species os *Sabal* L. (*Palmae: Coryphoideae*). **Cytology**, Tokyo, v. 57, n. 4, p. 485-189, 1992.

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; BOVI, M. L.; DIAS, G da S. Estudos citológicos no gênero *Euterpe*. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 6., 1986, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Unicamp, 1986. p. 47.

PRANCE, G. H. **Árvores de Manaus**. Manaus: Inpa, 1975.

REITZ, R. **Palmeiras de Santa Catarina nativas e mais frequentemente cultivadas**. 1973. 185 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidades Estadual de Campinas, Campinas, 1973.

REITZ, R.; KLEN, R. M.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1983.

RODRIGUES, A. S.; DURIGAN, M. E. **O agronegócio do palmito no Brasil.**

Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 2007. Disponível em:

<[http://www.iapar.br/arquivos/File/zip\\_pdf/CT130.pdf](http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/CT130.pdf)> Acesso em: 26 jul. 2009.

ROGEZ, H. **Açaí**: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: UFPA, 2000. 313p.

RÖSER M. Variation and evolution of karyotype characters in palm subfamily Coryphoideae sl. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 106, n. 2, p. 170-182, 1993.

RÖSER, M. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 189, n. 1-2, p. 83-122, 1994.

RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA Amounts in Palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1997.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Contribuição à palinologia dos cerrados.** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1973. 291 p.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. Palinologia: fundamentos, técnicas e algumas perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 695-717, 1961.

SANTANA, A. C. **Dinâmica espacial da produção rural no Estado do Pará**: referências para o desenvolvimento sustentável. Belém: UFPA, 2006. 49p. (Série Acadêmica, 2).

SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Determinação da quantidade de DNA nuclear em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 897-902, set. 2001.

SCHMIDT-LEBUHN, A. N. et al. An andean radiation: polyploidy in the tree genus *Polylepis* (Rosaceae, Sanguisorbeae). **Plant Biology**, Stuttgart, v. 12, n. 6, p. 917-926, Nov. 2010.

SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 69, p.13-24, dez. 2005.

SHARMA, A. K.; SARKAR, S. K. Cytology of different species of palms and its bearing on the solution of the problems of phylogeny and speciation. **Genetica**, Dordrecht, v. 28, n. 1, p. 361-488, 1956.

SILVA FILHO, J. L. V. **Análise econômica da produção e transformação em ARPP, dos frutos de *Euterpe edulis* Mart. em açaí no município de Garuva estado de Santa Catarina.** 2005. 77 p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SILVA, J. C.; OLIVEIRA, M. S. P. Potencialidades de progênies de meio-irmãos de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) para produção de frutos em terra firme no estado do Pará. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 4.; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 10., 2007, Belém. **Anais...** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 1 CD-ROM.

SILVA, R. C. et al. Produção integrada de frutas PIF e a produção de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) no estado do Pará: ameaças ou oportunidades?. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 66., 2008, Brasília. **Anais...** Brasília: UFV, 2008. 1 CD-ROM.

SOWUNMI, M. A. Pollen morphology in the Palmae, with special reference to trends in aperture development. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 45-53, July 1968.

SOWUNMI, M. A. Pollen morphology of the Palmae and its bearing on taxonomy. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 1-80, Feb. 1972.

TROIAN, L. C. **Contribuições ao manejo sustentável dos frutos de *Euterpe edulis* Martius:** estrutura populacional, consumo de frutos, variáveis de habitat e conhecimento ecológico local no sul do Brasil. 2009. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

VAZ, A. P. L. **Caracterização e avaliação da qualidade de polpas de açaí industrializadas e perfil de ácidos graxos do fruto do açaizeiro.** 2003. 83 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

VENTURIERI, G. C.; PEREIRA, C. A. B.; RODRIGUES, S. T. Manejo de polinizadores autóctones de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) na Amazônia oriental. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 7., 2006, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: USP, 2006. 1 CD-ROM.

WENDT, T. et al. An evaluation of the species boundaries of two putative taxonomic entities of *Euterpe* (Arecaceae) based on reproductive and morphological features. **Flora:** morphology, distribution, functional ecology of plants, London, v. 206, n. 2, p. 144-150, Feb. 2011.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO 1**

**Palinologia de espécies de *Euterpe* Mart.**

## RESUMO

Arecaceae apresenta ampla distribuição, ocorrendo principalmente nos trópicos e subtropicais. A família vem sofrendo um aumento na diversidade taxonômica, o que tem levado alguns autores a propor uma reconstrução filogenética que contemple melhor as relações evolutivas das espécies. Estudos básicos, dentre eles a caracterização morfopolínica, podem trazer contribuições filogenéticas e taxonômicas. Objetivou-se descrever e relacionar a morfologia polínica de *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*. Os grãos de pólen foram analisados sob microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. A análise morfopolínica das três espécies mostrou grãos de pólen do tipo prolato, de tamanho médio, bilateralmente simétricos e de âmbito elíptico. A exina foi reticulada rugulada em toda extensão polínica, exceto na região delimitada pelo colpo, onde apresenta-se granulada. Os grãos de pólen são monocolpados, sendo seu único colpo contínuo, longo, estreito, raso e sem extremidades. Quando comparados aos dados da literatura, os resultados apontam uma uniformidade palinológica acentuada entre *Euterpe* e alguns gêneros de Arecaceae, reforçando o caráter estenopolínico da família.

Palavras-chave: Grãos de pólen. Taxonomia. Morfologia polínica. Arecaceae.

## ABSTRACT

Areaceae is widely distributed, occurring mainly in the tropics and subtropics. Its taxonomic diversity has increased, leading some authors to propose new phylogenetic hypothesis that better reflects the evolutionary relationships. Basic studies, including the morphoplinic characterization, can bring phylogenetic and taxonomic contributions. The objective was to describe and compare pollen morphology of *E. edulis*, *E. oleracea* and *E. precatorea*. Pollen grains were examined under light and scanning electron microscopy. The analysis of pollen morphology of the three species showed medium sized, prolate type, bilaterally symmetrical and elliptical shaped grains. The pollen exine was reticulate and rugulate, except in the colpus region, where it was granular. Pollen grains were monocolpate, and this single colpus was continuous, long, narrow, shallow and without extremity. The data revealed high uniformity among *Euterpe* species and among *Euterpe* and other genera of Areaceae, what reinforces the stenopalynous nature of the family.

Keywords: Pollen grains. Taxonomy. Pollen morphology. Areaceae.

## 1 INTRODUÇÃO

Arecaceae é uma família essencialmente tropical constituída por 3.400 espécies, pertencentes a 236 gêneros (JOLY, 1998). *Euterpe* Mart. é um dos gêneros de Euterpeinae, subtribo que contém 32 espécies (HENDERSON; GALEANO, 1996). Castro (1992) considera *Euterpe edulis* Mart., *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart. como as espécies mais importantes do gênero, dentre as ocorrentes no Brasil, devido ao amplo uso comercial das mesmas.

De acordo com Hahn (2002) várias abordagens têm sugerido uma reconstrução filogenética em Arecaceae, devido às rápidas radiações evolucionárias sofridas pela família. Entre as razões propostas para justificar essa reconstrução, o autor relata dificuldades na escolha de “outgroups” e da direção das mudanças evolutivas (polarização de caracteres).

Asmussen et al. (2006) apresentam uma nova classificação de Arecaceae com base em sequências de DNA de plastídeos e polimorfismos de fragmentos de restrição (RFLPs). Além de sugerirem mudanças em diversas subfamílias, os autores propõem que a subfamília Arecoideae, à qual pertence o gênero *Euterpe*, seja modificada com a exclusão da tribo Caryoteae e inclusão da tribo Hyophorbeae. De acordo com o trabalho, vários estudos fornecem muitos pontos de resolução filogenética para as palmeiras, mas nenhum oferece uma hipótese totalmente resolvida de relacionamento para a família.

Muito úteis para a filogenia são as variações na estrutura morfológica, que têm grande significado taxonômico e potencial para esclarecer relações evolutivas (DOYLE; THOMAS, 1997). Nesse sentido, diversos autores têm utilizado a palinologia como ferramenta (VITAL; SANTOS; ALVES, 2008; MENDONÇA; SOUZA; GONÇALVES-ESTEVEES, 2007; BURIL; SANTOS; ALVES, 2010; SOUZA; MENDONÇA; GONÇALVES-ESTEVEES, 2010,

LUMAGA; COZZOLINO; KOCYAN, 2006; MILWARD-DE-AZEVEDO et al., 2010; DETTKE; SANTOS, 2009), tomando geralmente o gênero como unidade básica nos estudos, uma vez que raramente é possível a diagnose palinológica em nível de espécies.

Estudos polínicos em *Arecaceae* são escassos quando comparados à quantidade de espécies contidas na família. Um estudo significativo foi realizado por Bauermann et al. (2010) que fizeram a diferenciação polínica de nove espécies pertencentes a cinco gêneros. As espécies apresentaram grãos de pólen com classificação variando entre oblatos, oblato-esferoidais, suboblatos e prolato-esferoidais, sendo monocolpados, com tamanho entre médio e grande e exina microrreticulada. Os autores encontraram variação morfopolínica dentro dos gêneros *Butia* e *Geonoma*, o que reforça o potencial sistemático da palinologia.

Para *Euterpe*, existem estudos palinológicos nas espécies *E. edulis* (BAUERMANN et al., 2010; THANIKAIMONI, 1966 citado por SOWUNMI, 1972), *E. oleracea* (SOWUNMI, 1972; THANIKAIMONI, 1966 citado por SOWUNMI, 1972) e *E. precatória* (RANGEL; BOGOTÁ; JIMÉNEZ-B, 2001). De forma geral, os grãos de pólen das três espécies foram classificados como de tamanho médio, âmbito elíptico e tipo oblato ou suboblato.

A maior discussão morfopolínica para o gênero *Euterpe*, que pode ser expandida para a família, é em relação ao número de colpos. Há relatos da existência de grãos de pólen tricotomocolpados e monocolpados, no entanto em outros estudos apenas grãos de pólen com um colpo foram descritos. De acordo com Zavada (1983) o número de colpos é uma característica com alto potencial informativo a respeito do processo evolutivo, o que reafirma a necessidade de esclarecimento desta questão.

Objetiva-se comparar a morfologia polínica de *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*, apresentando uma descrição minuciosa de seus caracteres

morfopolínicos e contribuindo assim com a caracterização das espécies desse gênero, com a resolução de problemas filogenéticos em Areaceae e com a elucidação da controvérsia sobre o número de colpos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Anteras das espécies *E. oleracea* e *E. precatoria*, provenientes do Banco de Germoplasma de Açaí, BAG-Açaí, da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém - PA e de *E. edulis*, coletadas em propriedades particulares no município de Marliéria - MG foram fixadas em Carnoy (3 álcool etílico: 1 ácido acético) e armazenadas a -20°C. O material polínico foi preparado segundo o método acetolítico de Erdtman (1952).

Foram avaliados três indivíduos por espécie, sendo montadas cinco lâminas de cada indivíduo. As lâminas foram examinadas no microscópio de campo claro, equipado com microcâmera para digitalização das imagens. Os grãos de pólen foram medidos por meio do programa Image Tool 3.00 da UTHSCA (The University of Texas Health Science Center in San Antonio). As medidas do eixo polar (P), diâmetro equatorial (E), comprimento e largura do colpo e espessura da exina foram obtidas em dez grãos de pólen de cada uma das cinco lâminas preparadas para cada indivíduo, totalizando 150 grãos de pólen mensurados por espécie. Foram estabelecidas as relações P/E por meio das quais foi classificado o tipo polínico de acordo com Punt et al. (2007). O tamanho do grão de pólen foi determinado a partir da medida do eixo polar com base na terminologia adotada por Punt et al. (2007).

Para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) as anteras foram lavadas três vezes por dez minutos em tampão cacodilato e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por uma hora, à temperatura ambiente. Após este período foram lavadas por três vezes em água destilada, desidratadas em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, por três vezes) e levadas ao aparelho de ponto crítico (CPD 030). Em seguida os grãos de pólen foram retirados sobre stubs e levados ao evaporador de ouro (SCD 050), sendo analisados em aparelho MEV-LEO-EVO40.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grãos de pólen de *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatoria* são muito semelhantes, recebendo a mesma classificação, de acordo com Punt et al. (2007), para todas as características avaliadas. A razão do eixo polar sobre o diâmetro equatorial (P/E) foi de 1,79  $\mu\text{m}$  para *E. edulis*, 2,00  $\mu\text{m}$  para *E. oleracea* e 1,96  $\mu\text{m}$  para *E. precatoria*, sendo seus grãos de pólen classificados como prolatos. Este tipo polínico se refere a grãos de pólen que, em vista equatorial, apresentam o eixo polar maior que o diâmetro equatorial. Esta classificação diverge da proposta por Bauermann et al. (2010), que classificaram os grãos de pólen de *E. edulis* como suboblatos. No entanto, as imagens dos grãos de pólen apresentadas por estes autores mostraram grande semelhança com as obtidas pelo presente trabalho. A discrepância na classificação dos grãos de pólen pode residir em diferenças na consideração do que seriam o eixo polar e o diâmetro equatorial.

Por meio das médias do eixo polar, 46,39  $\mu\text{m}$  para *E. edulis*, 50,00  $\mu\text{m}$  para *E. oleracea* e 46,43  $\mu\text{m}$  para *E. precatoria*, os grãos de pólen foram classificados como de tamanho médio, sendo possível ainda identificar seu aspecto bilateralmente simétrico e de âmbito elíptico.

Os grãos de pólen das três espécies apresentaram exina reticulada rugulada, formada por muros largos, simplescolumelados e de lúmens heterogêneos (Fig. 1D, 2D, 3D). Pela MEV observa-se que em algumas regiões o retículo tem o aspecto de rúgula, devido à redução do espaço entre os lúmens, como observado por Gonçalves-Esteves e Mendonça (2001) em espécies de restinga (Clusiaceae). Frequentemente considera-se que os grãos de pólen sem ornamentação da exina são associados com polinização abiótica, como pelo vento ou pela água, enquanto que os reticulados ou equinulados relacionam-se com polinização biótica, particularmente com entomofilia (LUMAGA et al.

2006). Essa relação pode ser confirmada em *Euterpe*, uma vez que as espécies avaliadas apresentam grãos de pólen reticulados e, segundo Oliveira (2009) e Bovi (1987), polinização entomófila, realizada por minúsculos coleópteros e abelhas.

Sowunmi (1972) já havia relatado a exina reticulada dos grãos de pólen de *E. oleracea*, porém sem a descrição de qualquer detalhe acerca de seu aspecto. A exina das espécies avaliadas é também caracterizada por perfurações ao longo da extensão polínica. Em *E. edulis* essas perfurações são menos frequentes que nas outras espécies e são distribuídas irregularmente (Fig.1F). *E. oleracea* apresenta um nível intermediário de perfurações (Fig. 2F), sendo elas mais frequentes em *E. precatória*. (Fig.3F). Para as três espécies a endoexina é mais espessa que a ectoexina (Tab.1).

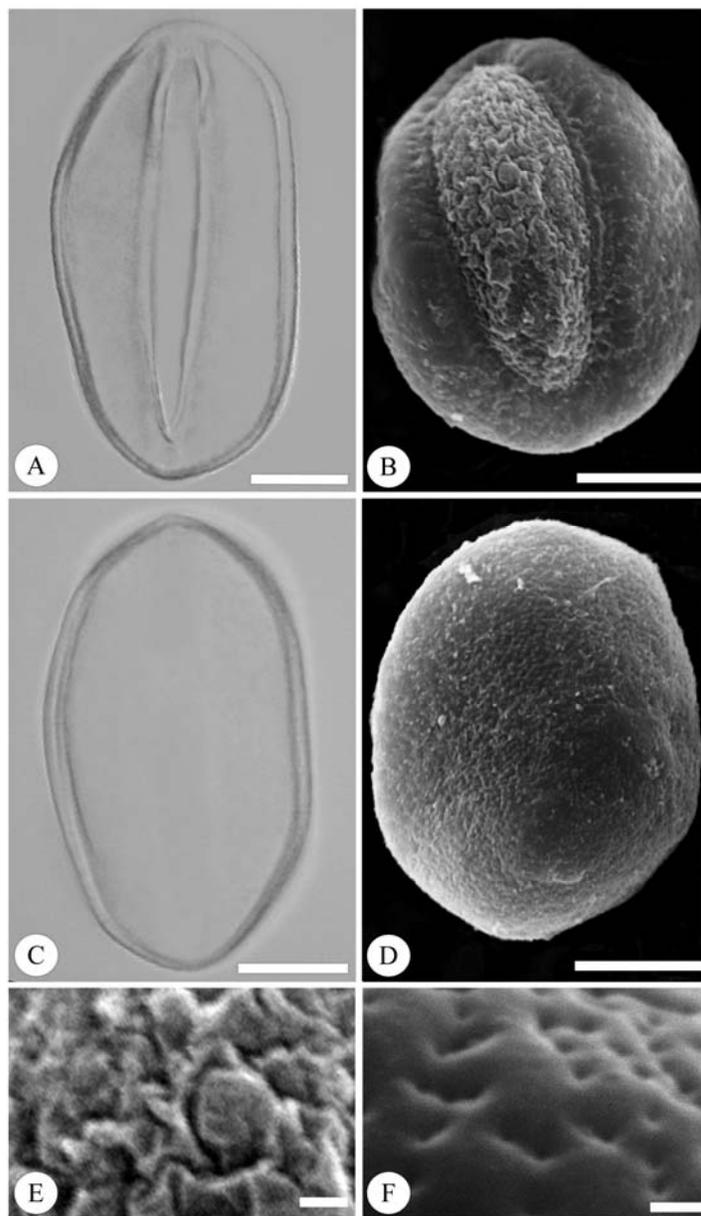


Figura 1 Visão equatorial de grãos de pólen de *E. edulis* (A e C) Pólen acetolisado e (B e D) em MEV (barra: 10 $\mu$ m). (E) Exina granulada (barra: 2  $\mu$ m). (F) Exina reticulada rugulada (barra: 2  $\mu$ m)

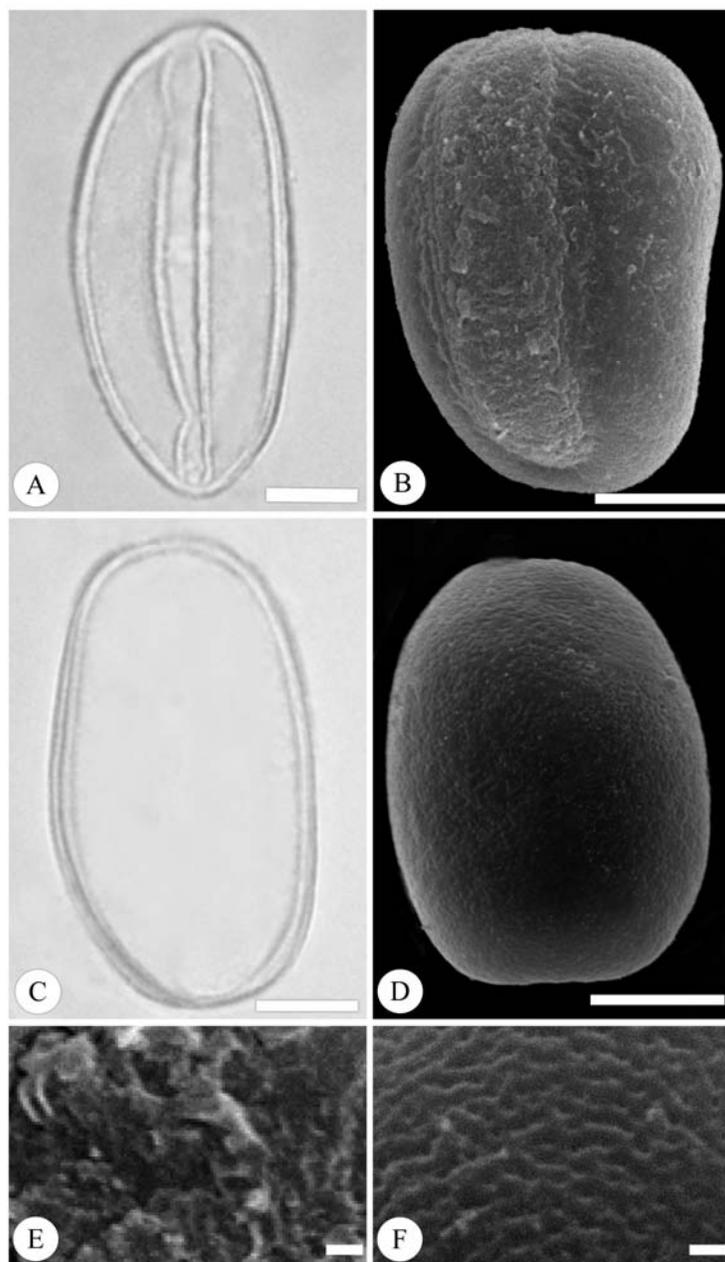


Figura 2 Visão equatorial de grãos de pólen de *E. oleracea* (A e C) Pólen acetolisado e (B e D) em MEV (barra: 10 $\mu$ m). (E) Exina granulada (barra: 2  $\mu$ m). (F) Exina reticulada rugulada (barra: 2  $\mu$ m)

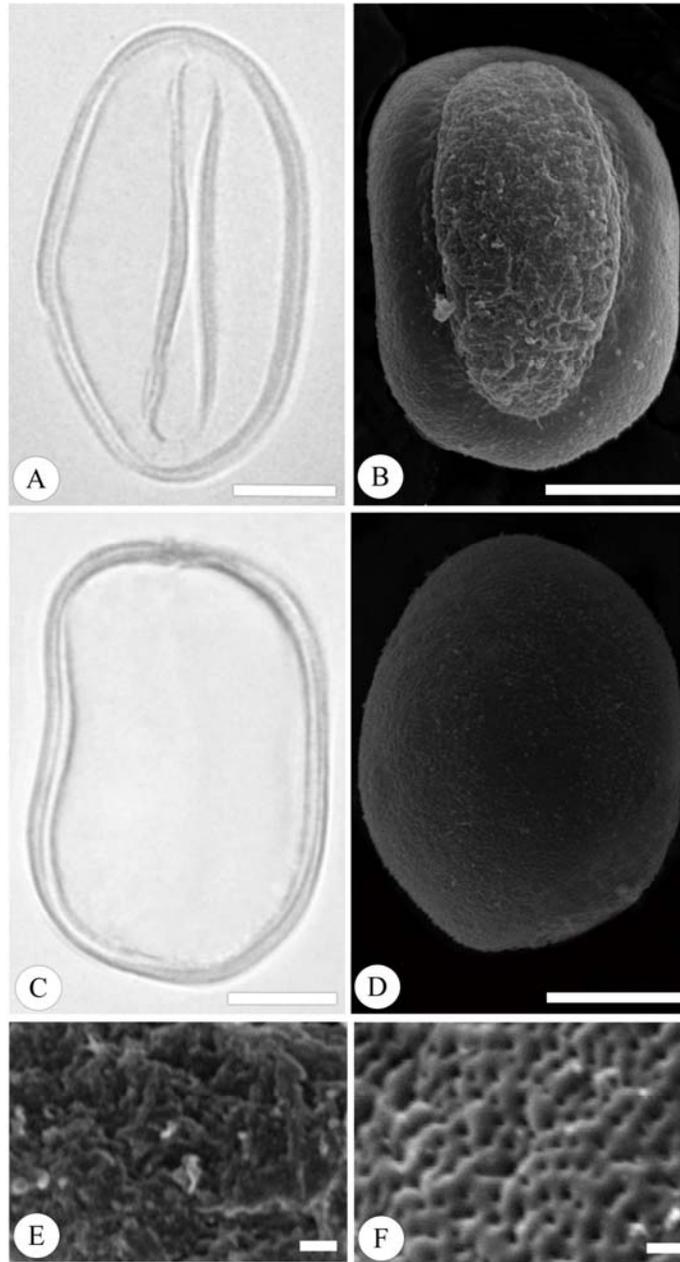


Figura 3 Visão equatorial de grãos de pólen de *E. precatória* (A e C) Pólen acetolizado e (B e D) em MEV (barra: 10 $\mu$ m). (E) Exina granulada (barra: 2  $\mu$ m). (F) Exina reticulada rugulada (barra: 2  $\mu$ m)

Tabela 1 Médias, em  $\mu\text{m}$ , das medidas dos grãos de pólen de *Eutierpe* em vista equatorial

Espécies	Parâmetros	E	Endoexina	Ectoexina	C	L
<i>E. edulis</i>	X $\pm$ s	26,04 $\pm$ 3,64	0,99 $\pm$ 0,20	1,05 $\pm$ 0,21	85,16 $\pm$ 14,61	1,01 $\pm$ 0,22
	Mín - Máx	15,41 - 34,07	0,34 - 1,64	0,48 - 1,71	57,42 - 116,92	0,54 - 2,06
	IC 95%	25,46 - 26,62	0,96 - 1,02	1,02 - 1,08	82,82 - 87,50	0,98 - 1,04
<i>E. oleracea</i>	X $\pm$ s	25,16 $\pm$ 2,35	0,92 $\pm$ 0,23	1,04 $\pm$ 0,23	96,60 $\pm$ 12,00	1,23 $\pm$ 0,30
	Mín - Máx	18,10 - 31,38	0,38 - 1,40	0,60 - 1,62	62,89 - 128,64	0,48 - 2,30
	IC 95%	24,78 - 25,54	0,89 - 0,96	1,00 - 1,08	94,68 - 98,52	1,18 - 1,28
<i>E. precatória</i>	X $\pm$ s	23,77 $\pm$ 2,19	1,00 $\pm$ 0,24	1,16 $\pm$ 0,22	71,62 $\pm$ 27,49	1,29 $\pm$ 0,36
	Mín - Máx	18,18 - 32,35	0,50 - 1,69	0,61 - 1,78	25,40 - 112,08	0,72 - 2,53
	IC 95%	23,42 - 24,12	0,96 - 1,04	1,10 - 1,19	67,22 - 76,02	1,23 - 1,35

X – média aritmética, s – desvio padrão da média, IC – intervalo de confiança, E – Diâmetro Equatorial,

C – Comprimento do Colpo, L – Largura do Colpo

Na região delimitada pelo colpo, a exina apresenta-se diferenciada com regiões arredondadas e curtas, assemelhando-se a grânulos, porém em *E. edulis* o aspecto granuloso é mais evidente que nas outras duas espécies (Fig. 1E, 2E, 3E). Em descrições anteriores, a caracterização da exina nessa região polínica não foi apresentada, sendo relatada pela primeira vez neste trabalho.

Os grãos de pólen são monocolpados, sendo esse colpo único, contínuo, longo, estreito, raso e sem extremidades (Fig 1AB, 2AB, 3AB). Esses dados corroboram resultados encontrados para *E. edulis* por Bauermann et al. (2010), para *E. oleracea* por Sowunmi (1972) e para *E. precatória* por Rangel, Bogotá e Jiménez (2001), que descreveram apenas grãos monocolpados para as espécies. No entanto, ao analisar o número de colpos em *E. oleracea* e *E. edulis* Thanikaimoni (1966 citado por SOWUNMI, 1972) encontrou, além de grãos monocolpados, alguns tricotomocolpados, que são grãos de pólen com três colpos ligados. Este resultado também foi encontrado por Erdtman (1952) para *E. oleracea*.

De acordo com investigações feitas por Harley e Dransfield (2003) a grande maioria das espécies pertencentes ao gênero *Areca* (Arecaceae) apresentam grãos de pólen monosulcados, sendo encontrados também, mas em menor quantidade, grãos tricotomosulcados. Os autores afirmam que é provável que algumas espécies pertencentes a esse gênero tenham potencial para produzir os dois tipos de pólen.

Os colpos são aberturas caracterizadas por exina mais delgada por onde emergirá o tubo polínico durante a fecundação (MIRANDA; ANDRADE, 1990). Considerando sua função, quanto maior for o número de colpos, maiores serão as chances de sucesso da emergência do tubo polínico e, conseqüentemente, da fecundação da oosfera. A característica “número de colpos” é, portanto, um importante subsídio para inferências evolutivas sendo que segundo Miranda e

Andrade (1990) grãos com apenas uma abertura são mais primitivos que aqueles com três aberturas.

De acordo com Zavada (1983) a maior tendência evolucionária em monocotiledôneas é o aumento no número e no tipo de aberturas. Essa tendência é exibida em *Arecidae*, subclasse à qual pertence *Euterpe*. O autor relata que grãos de pólen monocolpados são característicos de taxa mais primitivos e os outros tipos de abertura derivadas do tipo monocolpado, como tricotomocolpado, são comuns em taxa evolutivamente mais adiantados.

Thanikaimoni (1966 citado por SOWUNMI, 1972) e Erdtman (1952), que encontraram grãos de pólen monocolpados e tricotomocolpados em *E. edulis* e *E. oleracea*, analisaram plantas de diferentes procedências (Índia e Indonésia, respectivamente) daquelas que apresentaram apenas grãos de pólen monocolpados. Estas foram procedentes da Nigéria, no estudo realizado por Sowunmi (1972), e do Brasil, estudadas por Bauermann et al. (2010) e pelo presente trabalho. Isto sugere que as populações nas quais foram encontrados os dois tipos polínicos (monocolpados e tricotomocolpados) estão em processo evolutivo mais avançado que aquelas que apresentaram apenas um colpo.

Baseando-se nas características descritas para as três espécies de *Euterpe* é possível constatar sua divergência morfológica com alguns gêneros pertencentes à *Arecaceae* descritos por Erdtman (1952), cujos grãos de pólen são bicolpados (*Calamus*), apresentam exina pilada (*Caryota*) ou tegilada (*Jubaea*). Os grãos de pólen do tipo prolato das espécies *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatoria* permite também diferenciá-las de outras espécies pertencentes a gêneros da mesma família estudados por Bauermann et al. (2010): *Butia capitata* e *Trithrinax brasiliensis*, que apresentaram grãos de pólen prolato-esferoidais e *Butia paraguayensis*, *Butia yatay* e *Syagrus romanzoffiana*, cujos grãos de pólen são subprolatos. Diferentes também são os grãos de pólen de *Atrocaryum*

*aculeatissimum* que são triangulares ou subtriangulares (BARTH; BARBOSA, 1971).

As diferenças existentes entre as espécies de *Euterpe* e outros gêneros de *Arecaceae* podem ser úteis taxonomicamente e para as diversas áreas que utilizam a palinologia como ferramenta, mas mediante comparação fica evidente a proximidade morfológica entre *Euterpe* e vários gêneros estudados por Rangel, Bogotá e Jiménez (2001): *Aiphanes*, *Chamaedorea*, *Hyospathe*, *Mauritia* e *Sygarus*, além de *Elaeis* (MARTINS; MIRANDA; NUNES, 2003), *Bactris* (BARTH; BARBOSA, 1971), *Orbygnia* (CHAVES, 2006), *Geonoma* (BAUERMANN et al., 2010) e *Cocos* (ERDTMAN, 1952). Excetuando-se poucas divergências, o tamanho, âmbito e tipo polínico e o número e formato de colpos parecem ser características bem conservadas em *Arecaceae*.

Embora seja possível a distinção de alguns gêneros através de características morfológicas, os dados apresentados, comparados a outros existentes na literatura, apontam para a grande homogeneidade morfológica existente em *Arecaceae* e corroboram com a proposição de Bauermann et al. (2010). Segundo estes autores, *Arecaceae* comumente tem seus registros polínicos identificados em nível taxonômico de família, sendo difícil a distinção em níveis taxonômicos menores devido à similaridade dos grãos de pólen.

#### 4 CONCLUSÕES

Não existe diversidade morfológica entre *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, reforçando o caráter estenopolínico de Arecaceae e inviabilizando o uso da análise palinológica para a diferenciação de categorias taxonômicas inferiores a gênero.

**AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq e à CAPES, pela concessão de bolsa; à Embrapa Amazônia Oriental, pelos auxílios concedidos, à Infrater Engenharia LTDA, pelo fornecimento de material botânico e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFLA, pelo apoio nas análises.

## REFERÊNCIAS

- ASMUSSEN, C. B. et al. A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 151, n. 1, p. 15-38, May 2006.
- BARTH, O. M. A palinologia como ferramenta no diagnóstico e monitoramento ambiental da Baía de Guanabara e regiões adjacentes, Rio de Janeiro, Brasil. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 52-59, jan. 2003.
- BAUERMANN, S. G. et al. Diferenciação polínica de *Butia*, *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus* e *Thrinax* e implicações paleoecológicas de Arecaceae para o Rio Grande do Sul. **Iheringia: série botânica**, Porto Alegre, v. 65, n. 1, p. 35-46, jun. 2010.
- BOVI, M. L. A.; GODOY, J. R. G.; SAES, L. S. Híbridos interespecíficos de palmito (*Euterpe oleracea* x *Euterpe edulis*). **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 343-363, jun. 1987.
- BURIL, M. T.; SANTOS, F. A. R.; ALVES, M. Diversidade polínica das Mimosoideae (Leguminosae) ocorrentes em uma área de caatinga, Pernambuco, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 24, n. 1, p. 53-64, jan. 2010.
- CASTRO, A. O extrativismo do açaí no Amazonas. In: RELATÓRIO de resultados do projeto de pesquisa: extrativismo na Amazônia Central, viabilidade e desenvolvimento. Manaus: INPA/CNPq/ORSTOM, 1992. p. 779-782.
- CHAVES, L. S. **Indicadores palinológicos do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Arecaceae em ecossistemas antrópicos e naturais na Amazônia central**. 2006. 78 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas, Manaus, 2006.
- DETTKE, G. A.; SANTOS, R. P. Tipos de aberturas dos grãos de pólen de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 23, n. 4, p. 1119-1128, out. 2009.
- DOYLE, A. J.; THOMAS, A. L. Significance of palynology for phylogeny of Annonaceae: experiments with removal of pollen characters. **Plant Systematic Evolution**, Vienna, v. 206, n. 1-4, p. 133-159, Jan. 1997.

ERDTMAN, V. **Pollen morphology and plant taxonomy**: angiosperms. Stockholm: Almqvist & Wilsell, 1952.

GONÇALVES-ESTEVEZ, V.; MENDONÇA, C. B. Estudo polínico em plantas de restinga do Estado do Rio de Janeiro: *Clusiaceae* Lindl. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 527-536, out. 2001.

HAHN, W. J. A molecular phylogenetic study of the palmae (Arecaceae) based on atpB, rbcL, and 18S nrDNA sequences. **Systematic Biology**, Washington, v. 51, n. 1, p. 92-112, Jan. 2002.

HARLEY, M. M.; DRANSFIELD, J. Triporate pollen in the Arecaceae. **Grana**, Stockholm, v. 42, n.1, p. 3-19, Jan. 2003.

HENDERSON, A.; GALEANO, G. **Euterpe, Prestoea, and Neonicholsonia (Palmae: Euterpeinae)**. New York: Botanical Garden, 1996. 90 p. (Flora Neotropica, 72).

JOLY, A. B. **Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Nacional, p. 439, 1998.

LUMAGA, M. R. B.; COZZOLINO, S.; KOCYAN, A. Exine micromorphology of orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae): phylogenetic constraints or ecological influences? **Annals of Botany**, London, v. 98, n.1, p. 237-244, July 2006.

MARTINS, L. H. P.; MIRANDA, I. P. A.; NUNES, C. D. Morfologia polínica de populações amazônicas de *Elaeis oleifera*. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 33, n. 2, p. 159-166, 2003.

MENDONÇA, C. B. et al. Palinotaxonomia de espécies de *Chrysolaena* H. Rob., *Echinocoryne* H. Rob. e *Stenocephalum* Sch. Bip. (Vernonieae-Compositae) ocorrentes no sudeste do Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 21, n. 3, p. 627-639, jul. 2007.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. et al. Palinotaxonomia de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 24, n. 1, p. 133-145, jan. 2010.

MIRANDA, M. M. B.; ANDRADE, T. A. P. **Fundamentos de palinologia**. Fortaleza: UFC, 1990. 99p.

PUNT, W. et al. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Paleobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 143, n. 1-2, p. 1-81, Jan. 2007.

RANGEL-CH, J. O.; BOGOTÁ, R. G.; JIMÉNEZ-B, L. C. Atlas palinológico de la Amazonia Colombiana IV: Família Arecaceae. **Caldasia**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 281-300, 2001.

SOUZA, M. A.; MENDONÇA, C. B. F.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. Palinologia de espécies de Nyctaginaceae Juss. ocorrentes nas restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, Feira de Santana, v. 24, n. 1, p. 104-110, jan. 2010.

SOWUNMI, M. A. Pollen morphology of the Palmae and its bearing on taxonomy. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 1-80, Feb. 1972.

THANIKAIMONI, G. Contribution à l'étude palynologique des Palmiers. **Travaux de la section scientifique et technique de l'Institut Français de Pondichery**, Pondichery, v. 5, n. 2, p. 1-191, 1966.

VITAL, M. T. A. B.; SANTOS, F. A. R.; ALVES, M. Diversidade palinológica das convolvulaceae do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, PE, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, Feira de Santana, v. 22, n. 4, p. 1163-1171, out. 2008.

ZAVADA, M. S. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. **Botanical Review**, Bronx, v. 49, n. 4, p. 331-379, 1983.

**ARTIGO 2**

**Citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies de *Euterpe***

## RESUMO

Características cromossômicas e quantidade de DNA nuclear são informações com grande potencial para o entendimento dos mecanismos evolutivos, bem como para o subsídio de programas de melhoramento genético. *Euterpe* é um gênero em destaque, dada a importância de suas espécies para a produção de frutos e palmito. O objetivo deste trabalho foi comparar as espécies *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória* com relação ao cariótipo, tipo de núcleo interfásico e quantidade de DNA nuclear. Os cromossomos metafásicos e os núcleos interfásicos foram obtidos pela técnica de esmagamento em ácido acético 45%. A coloração foi feita com Giemsa 5% para observação dos núcleos interfásicos e com carmin propiônico 1% para visualização dos cromossomos metafásicos. A determinação da quantidade de DNA foi feita por citometria de fluxo, utilizando o tampão Marie e como padrão interno de comparação a espécie *Vicia faba*. Embora já existissem descrições do número cromossômico de *E. edulis* e *E. oleracea*, os cariótipos dessas duas espécies, juntamente com o número cromossômico e cariótipo de *E. precatória* foram descritos pela primeira vez. Todas as espécies apresentaram  $2n=36$  cromossomos, sugerindo  $x = 18$  como número básico para o gênero. As três espécies apresentaram diferenças quanto às fórmulas cariotípicas e aos cromossomos portadores de constrição secundária, mas foram homogêneas quanto à caracterização dos núcleos interfásicos classificados como semi-reticulados. A quantidade de DNA nuclear foi significativamente maior em *E. precatória* que nas outras duas espécies, sugerindo a ocorrência de rearranjos estruturais que poderiam ter levado a essa diferenciação. Apesar da uniformidade numérica, *Euterpe* mostrou-se um grupo heterogêneo quanto à morfologia cromossômica, sugerindo que alterações estruturais podem ter contribuído para a diversificação do gênero.

Palavras-chave: Cariótipo. Núcleo interfásico. Evolução cromossômica. Citometria de fluxo.

## ABSTRACT

Chromosome characteristics and nuclear DNA content can provide information of great potential to understand the evolutionary mechanisms, as well as to support genetic breeding programs. *Euterpe* is a highlighted genus given the importance of their species for the production of fruits and palm hearts. The objective of this paper was to compare *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatoria* regarding the karyotype, interphasic nucleus type and nuclear DNA amount. Metaphasic chromosomes and interphasic nuclei were obtained by squashing technique with 45% acetic acid and stained with 1% propionic carmine and 5% Giemsa, respectively. The determination of DNA content was performed by flow cytometry using the Marie buffer. *Vicia faba* was used as internal standard for comparison. Although chromosome number of *E. edulis* and *E. oleracea* has already been described, the karyotypes of these species, chromosome number and karyotype of *E. precatoria* were described for the first time. All species showed  $2n = 36$  chromosomes, suggesting  $x = 18$  as the basic number for the genus. The three species showed differences in the karyotypic formulae and in the chromosomes bearing secondary constriction, but all of them showed semi-reticulated interphasic nucleus. The nuclear DNA content was significantly higher in *E. precatoria* than in other two species. These observations suggest the occurrence of structural rearrangements that led to this differentiation. Despite numerical homogeneity, *Euterpe* showed high variation on chromosome morphology, suggesting that structural changes may have contributed to the diversification of the genus.

Keywords: Karyotype. Interphasic nucleus. Chromosome evolution. Flow cytometry.

## 1 INTRODUÇÃO

A família das palmeiras (Arecaceae = Palmae) é uma das maiores famílias vegetais do mundo e, pela forma e aspecto, é a mais característica da flora tropical (HEWOOD, 1993). Ela se divide em seis subfamílias, que apresentam 236 gêneros e 3.400 espécies (JOLY, 1998).

O gênero *Euterpe* é composto por sete espécies que se distribuem da América Central à América do Sul (HENDERSON, 1995). No Brasil, *Euterpe edulis* Mart., *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart. são consideradas as mais importantes do gênero devido à amplitude fitogeográfica e à exploração extrativista que sofrem para uso dos frutos e do palmito (CASTRO, 1992). Além do extrativismo essas espécies têm sido alvos de programas de melhoramento genético visando a obtenção de cultivares para produção de palmito (*E. edulis*) e frutos (*E. oleracea* e *E. precatoria*).

Informações citogenéticas são importantes subsídios para manipulação do germoplasma nestes programas, especialmente quando a utilização de híbridos interespecíficos é considerada como uma estratégia de ampliação da variabilidade e introgressão de genes de interesse. Contudo, são poucas as informações sobre o complemento cromossômico de espécies de *Euterpe* e algumas informações são contraditórias. Môro et al. (1999) observaram  $2n=36$  cromossomos em *E. oleracea*, mas há registros de variações de 32 a 36 cromossomos (PINTO-MAGLIO; BOVI; DIAS, 1986 citado por OLIVEIRA et al., 2005) e de 26 a 36 cromossomos (OLIVEIRA et al., 2004) para esta espécie. Môro et al. (1999) descreveram também  $2n=36$  cromossomos para *E. edulis*. De forma geral, os trabalhos citogenéticos que envolvem espécies do gênero em foco não trazem detalhes da morfologia, nem tampouco a descrição cariotípica das espécies, sendo que para *E. precatoria* não foram encontrados dados referentes à citogenética na literatura.

Escassas também são as informações sobre a estrutura e organização da cromatina durante a intérfase, as quais podem facilitar o entendimento de questões evolutivas, uma vez que sua estrutura geralmente é constante dentro de uma espécie, mas pode variar dentro do gênero ou outra categoria taxonômica superior (GUERRA, 1985). O trabalho de Röser (1994) confirma essa aplicabilidade da caracterização do núcleo interfásico em *Arecaceae*. O autor estudou 56 taxa pertencentes a seis subfamílias e encontrou núcleos interfásicos altamente diferenciados, variando de reticulados e semi-reticulados a um estágio intermediário entre semi-reticulados e arreticulados.

A determinação do conteúdo de DNA nuclear em plantas tem sido reconhecida como um relevante parâmetro para caracterização genômica, podendo também auxiliar estudos evolutivos (KNIGHT; BEAULIEU, 2008), melhoramento genético (DOLEZEL, 1997), ecologia, sistemática e biologia molecular e celular (BENNET; LEITCH, 1995).

Dentre os estudos citogenéticos envolvendo *Arecaceae*, o mais significativo foi realizado por RÖSER et al. (1997), que utilizaram a densitometria por Feulgen para determinar a quantidade de DNA em 83 espécies de palmeiras, pertencentes a 53 gêneros. O conteúdo 2C de DNA variou entre 1,94 e 27,81 pg em diplóides, mostrando uma variação aproximada de 14,3 vezes no tamanho do genoma. Dentre as espécies estudadas estava *E. precatória*, que apresentou o conteúdo 2C de DNA de 10,62 pg. Entretanto, não foram encontrados registros de quantidade de DNA nuclear para *E. oleracea* e *E. edulis*.

Diante da escassez e contraditoriedade dos dados existentes para o gênero *Euterpe*, os objetivos deste trabalho foram descrever o cariótipo, caracterizar o núcleo interfásico e determinar a quantidade de DNA nuclear de *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*, reunindo subsídios para programas de

melhoramento envolvendo tais espécies e que permitam inferir sobre a evolução cariotípica do gênero.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material genético

As sementes de *E. oleracea* e *E. precatoria* utilizadas nas análises foram coletadas de plantas disponíveis no Banco de Germoplasma de Açaizeiro, BAG-Açaí, da Embrapa Amazônia Oriental em Belém-PA. As sementes de *E. edulis* foram cedidas pela empresa Infrater Engenharia LTDA, sediada em Ipatinga-MG.

### 2.2 Análise citogenética

Raízes provenientes de sementes germinadas foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína 2mM por 7 horas em geladeira. Em seguida foi feita a digestão da parede celular com pectinase/celulase (100/200u), a 37° C, por 1:30 h. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 1% para análise das metáfases mitóticas. Para visualização dos núcleos interfásicos a coloração foi feita com Giemsa 5% por 1 minuto, sendo avaliadas cinco lâminas por indivíduo e dez núcleos por lâmina.

As imagens foram capturadas em microscópio de campo claro (Leica DMLS), equipado com microcâmera (Nikon Digital Sight DS-Fi1). Os cromossomos foram medidos por meio do programa Image Tool 3.00 da UTHSCA (The University of Texas Health Science Center in San Antonio). Para a construção dos idiogramas foram usadas as médias dos comprimentos do braço curto e do braço longo (BC e BL, respectivamente) de cada par homólogo, medidos em cinco metáfases mitóticas de cada espécie. Foram calculados o comprimento total do cromossomo ( $CT = BC + BL$ ), o comprimento total do lote haplóide ( $CTLH = \sum Cti$ ), o índice centromérico ( $IC = [BC / (BC + BL)] \times 100$ )

e o comprimento relativo de cada cromossomo ( $CR = Cti/CTLH$ ). Os dados de CTLH foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR.

Os cromossomos foram classificados de acordo com a posição do centrômero segundo Guerra (1986). A assimetria cariotípica foi calculada de acordo com os métodos propostos por Stebbins (1958) e Zarco (1986), sendo este último estimado pelo índice de assimetria intracromossômica ( $A_1$ ) e intercromossômica ( $A_2$ ), por meio das equações:

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{b_i}{B_i}}{n} \qquad A_2 = \frac{s}{\bar{x}}$$

, onde:  $A_1$  = Índice de Assimetria intracromossômica, variando entre 0 e 1 (não depende do número e tamanho do cromossomo);  $n$  = número de pares de cromossomos homólogos,  $b_i$  = comprimento médio dos braços curtos em cada par de cromossomos homólogos;  $B_i$  = comprimento médio dos braços longos em cada par de cromossomos homólogos;  $A_2$  = Índice de Assimetria intercromossômica (não depende do número cromossômico e não tem unidade de medida);  $s$  = desvio padrão e  $\bar{x}$  = média do comprimento dos cromossomos.

### 2.3 Determinação da quantidade de DNA nuclear

A estimativa da quantidade de DNA por citometria de fluxo foi obtida a partir de tecido foliar de três indivíduos por espécie. Para cada amostra utilizou-se aproximadamente 20-30 mg de folhas jovens, sendo usadas como padrão interno de referência folhas jovens de *Vicia faba*. As amostras foram trituradas em uma placa de Petri contendo 1 mL de tampão Marie gelado para a obtenção da suspensão nuclear (DOLEZEL, 1997), a qual foi corada com 25  $\mu$ L de iodeto

de propídeo (1 mg/mL). Para cada amostra foram analisados pelo menos 10.000 núcleos. Os histogramas foram obtidos no citômetro FacsCalibur (Becton Dickinson) com o programa Cell Quest (Becton, Dickinson e Companhia, San Jose, CA, USA) e analisados no software WinMDI 2.8 (2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Análise citogenética

*E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória* apresentaram  $2n = 36$  cromossomos, sendo eles distintos quanto ao tamanho e morfologia (Figuras 1 e 2). É possível observar variação gradual no tamanho dos cromossomos das três espécies (Figura 2 e Tabela 1), que apresentaram as seguintes medidas, em  $\mu\text{m}$ , para o maior e menor cromossomo, respectivamente: 4,1 e 1,29 para *E. edulis*; 4,08 e 1,39 para *E. oleracea* e 4,7 e 1,5 para *E. precatória*.

Embora o número cromossômico tenha sido constante, as espécies analisadas apresentaram fórmulas cariotípicas bem distintas: *E. edulis* (24M + 6SM + 6A), *E. oleracea* (28M + 8SM) e *E. precatória* (22M + 12SM + 2A), por meio das quais é possível perceber maior proporção de cromossomos acrocêntricos em *E. edulis* (três pares) e em *E. precatória* (um par), sendo esses ausentes em *E. oleracea*.

Nota-se similaridade, quanto à posição do centrômero, nos pares cromossômicos de 1 a 12 de *E. edulis* e *E. oleracea*, dos quais oito tiveram classificação coincidente no cariógrama, sendo sete metacêntricos e um submetacêntrico. Os mesmos pares de *E. precatória* se diferenciaram dessas duas espécies principalmente pela presença de cinco pares de cromossomos submetacêntricos, além de um par acrocêntrico para o qual destina-se atenção por ser o maior e único par de cromossomos com essa morfologia no complemento da espécie (Tabela 1).

Para a posição do centrômero nos pares cromossômicos de 13 a 18 houve coincidência em cinco pares (13, 14, 15, 16 e 18) de *E. oleracea* e *E. precatória*, os quais foram todos metacêntricos. A mesma comparação para *E. edulis* mostra sua distinção devido à presença de dois pares de cromossomos

acrocêntricos (15 e 18) e um submetacêntrico (13). O par cromossômico 17 foi o único, em todo o complemento, que se mostrou diferente quanto à posição do centrômero nas três espécies, sendo metacêntrico em *E. oleracea*, submetacêntrico em *E. precatoria* e acrocêntrico em *E. edulis* (Tabela 1).

As diferenças na posição do centrômero e no tamanho dos cromossomos se refletem, respectivamente, no Índice de Assimetria Intracromossômica ( $A_1$ ) e Assimetria Intercromossômica ( $A_2$ ). As três espécies apresentaram níveis muito semelhantes de assimetria no que diz respeito ao tamanho cromossômico, no entanto, quanto à posição do centrômero *E. oleracea* se diferenciou das outras duas, apresentando um cariótipo mais simétrico (Tabela 1, Gráfico 1). Essa diferença de assimetria não foi observada quando se utilizou o modelo proposto por Stebbins (1958), o qual agrupou o cariótipo das três espécies na categoria 2b. Esta categoria se caracteriza por apresentar de 1 a 50% de cromossomos com razão de braços (BL/BC) maior que 2 e razão entre o maior e o menor cromossomo (CT 1/ CT 18) entre 2 e 4. No entanto, esse critério é criticado por Paszko (2006) e por Zarco (1986) por se tratar de classes muito amplas para distinguir pequenas diferenças cariotípicas entre taxa relacionados.

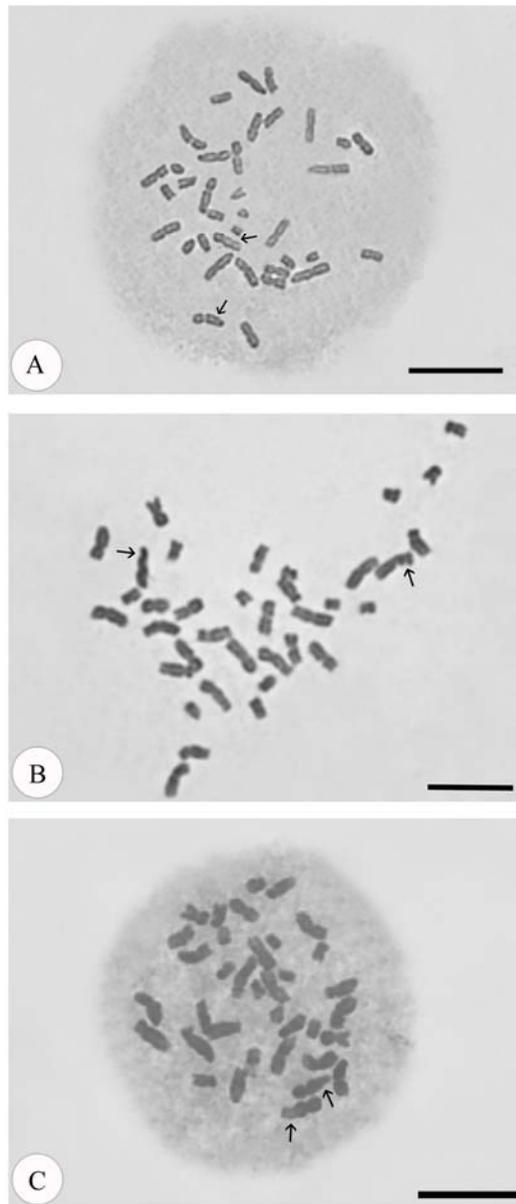


Figura 1 Metáfases mitóticas de *Euterpe* com  $2n=36$  cromossomos: *E. edulis* (A), *E. oleracea* (B) e *E. precatória* (C). As setas indicam as constrições secundárias. Barra =  $10\mu\text{m}$

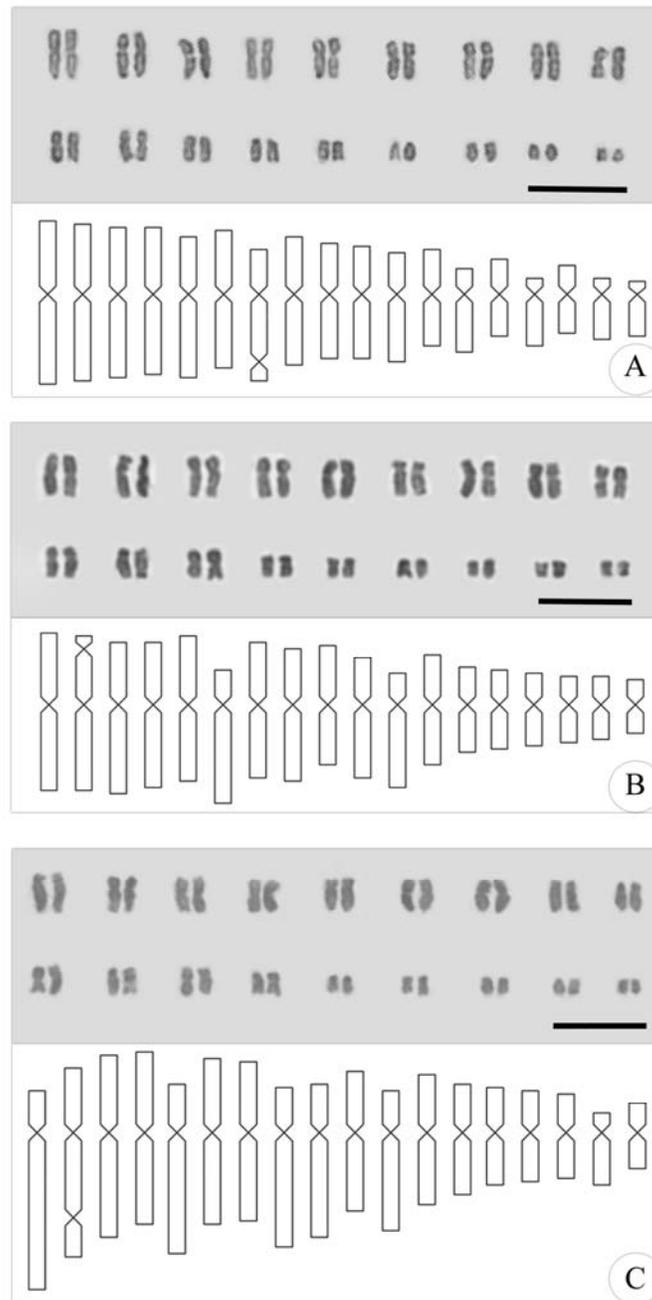


Figura 2 Idiogramas para as espécies *E. edulis* (A), *E. oleracea* (B) e *E. precatoria* (C). Barra = 10 $\mu$ m

Tabela 1 Índice centromérico e comprimento relativo médios dos cromossomos e comprimento total do lote haplóide (CTLH) das espécies *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*. m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; a=acrocêntrico; A<sub>1</sub>=índice de assimetria intracromossômica; A<sub>2</sub>=índice de assimetria intercromossômica

Cromossomo	Comprimento relativo médio (%)			Índice centromérico médio (tipo cromossômico)		
	<i>E. edulis</i>	<i>E. oleracea</i>	<i>E. precatoria</i>	<i>E. edulis</i>	<i>E. oleracea</i>	<i>E. precatoria</i>
1	8,439	7,963	8,019	45,053 (m)	45,366 (m)	20,423 (a)
2	7,856	7,758	7,677	44,072 (m)	45,026 (m)	31,563 (sm)
3	7,529	7,477	7,359	44,042 (m)	39,189 (sm)	44,257 (m)
4	7,257	7,302	7,089	45,869 (m)	41,389 (m)	47,078 (m)
5	6,984	7,150	6,847	40,640 (m)	45,513 (m)	28,512 (sm)
6	6,902	6,814	6,788	46,539(m)	26,865 (sm)	45,219 (m)
7	6,628	6,719	6,648	34,261 (sm)	44,968 (m)	45,172 (m)
8	6,406	6,557	6,463	45,294 (m)	41,418 (m)	27,621 (sm)
9	5,935	5,900	6,123	46,123 (m)	47,100 (m)	30,432 (sm)
10	5,594	5,838	5,714	44,297 (m)	39,518 (sm)	44,869 (m)
11	5,390	5,421	5,598	38,182 (sm)	25,994 (sm)	29,542 (sm)
12	4,774	5,356	5,273	45,484 (m)	46,258 (m)	45,163 (m)
13	4,179	4,009	4,406	29,295 (sm)	44,036 (m)	43,261 (m)
14	3,704	3,695	3,779	45,201 (m)	45,119 (m)	45,280 (m)
15	3,480	3,350	3,518	23,547 (a)	44,563 (m)	44,948 (m)
16	3,349	3,134	3,345	41,756 (m)	43,030 (m)	44,635 (m)
17	2,933	2,941	2,811	23,487 (a)	44,423 (m)	26,681 (sm)
18	2,652	2,608	2,533	23,892 (a)	47,202 (m)	45,713 (m)
<b>CTLH<sup>1</sup></b>	<b>49,60 a</b>	<b>51,30 a</b>	<b>59,39 b</b>	-	-	-
<b>A1</b>	0,327	0,259	0,346	-	-	-
<b>A2</b>	0,329	0,327	0,315	-	-	-

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

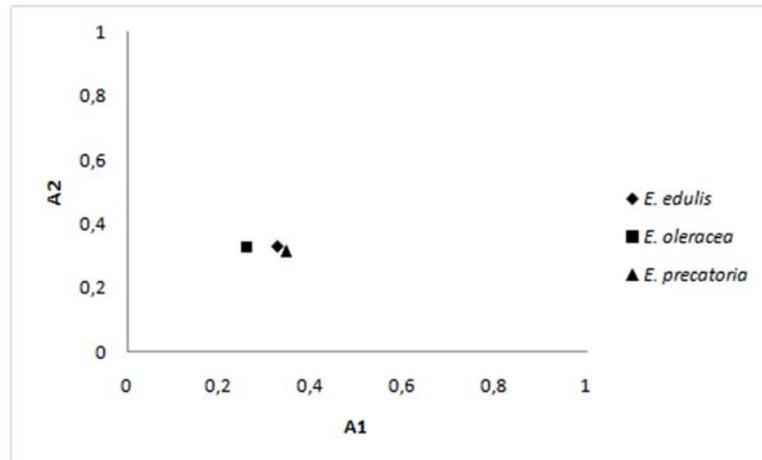


Gráfico 1 Diagrama de dispersão mostrando a assimetria cariotípica das espécies *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*, segundo Zarco (1986)

As observações cariotípicas permitiram identificar ainda cromossomos com constrições secundárias (Figuras 1 e 2). Elas foram visíveis em apenas um par de cromossomos nas três espécies avaliadas. Observa-se na figura 2 uma variação com relação ao cromossomo e ao braço portador da constrição. Em *E. edulis* ela está localizada no braço longo do par sete (submetacêntrico), em *E. oleracea* no braço curto do par dois (metacêntrico) e em *E. precatória* no braço longo também do par dois (submetacêntrico).

Quanto à caracterização do núcleo interfásico, não foi observada diferença entre as espécies, uma vez que todas tiveram seus núcleos classificados como semi-reticulados, caracterizando-se pela formação de estruturas cromatínicas fortemente pigmentadas de contorno irregular (Figura 3).

### 3.2 Determinação da quantidade de DNA nuclear

*E. precatória* apresentou conteúdo de DNA significativamente maior que *E. edulis* e *E. oleracea* (Tabela 3). As médias dos coeficientes de variação (CV) obtidas foram próximas de 0,52%, o que demonstra a qualidade dos resultados e a confiabilidade nas estimativas da quantidade de DNA, uma vez que valores de até 2% são considerados de alta qualidade (MARIE; BROW, 1993). Foram avaliados cerca de 10 mil núcleos por espécie, podendo ser observada na figura 5 a formação de picos bem definidos para cada uma delas.

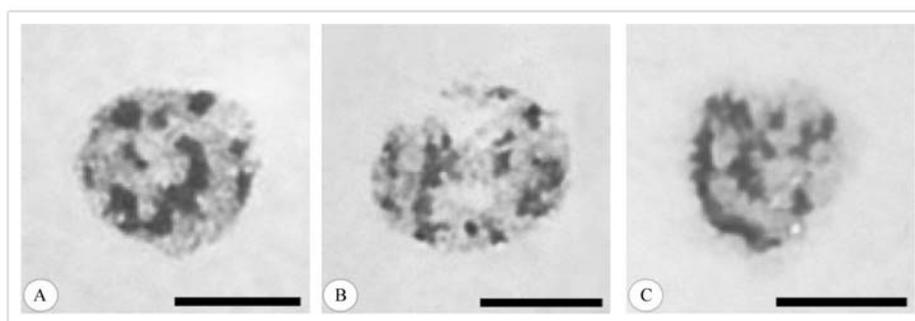


Figura 3 Núcleos interfásicos semi-reticulados de *E. edulis* (A), *E. oleracea* (B) e *E. precatória* (C) (barra: 10 $\mu$ m)

Tabela 3 Médias da quantidade 2C de DNA obtida por citometria de fluxo e coeficiente de variação para as espécies *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*

	DNA (pg) <sup>1</sup>	CV (%)
<i>E. edulis</i>	8,17 a	0,52
<i>E. oleracea</i>	8,44 a	0,48
<i>E. precatória</i>	9,41 b	0,56

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

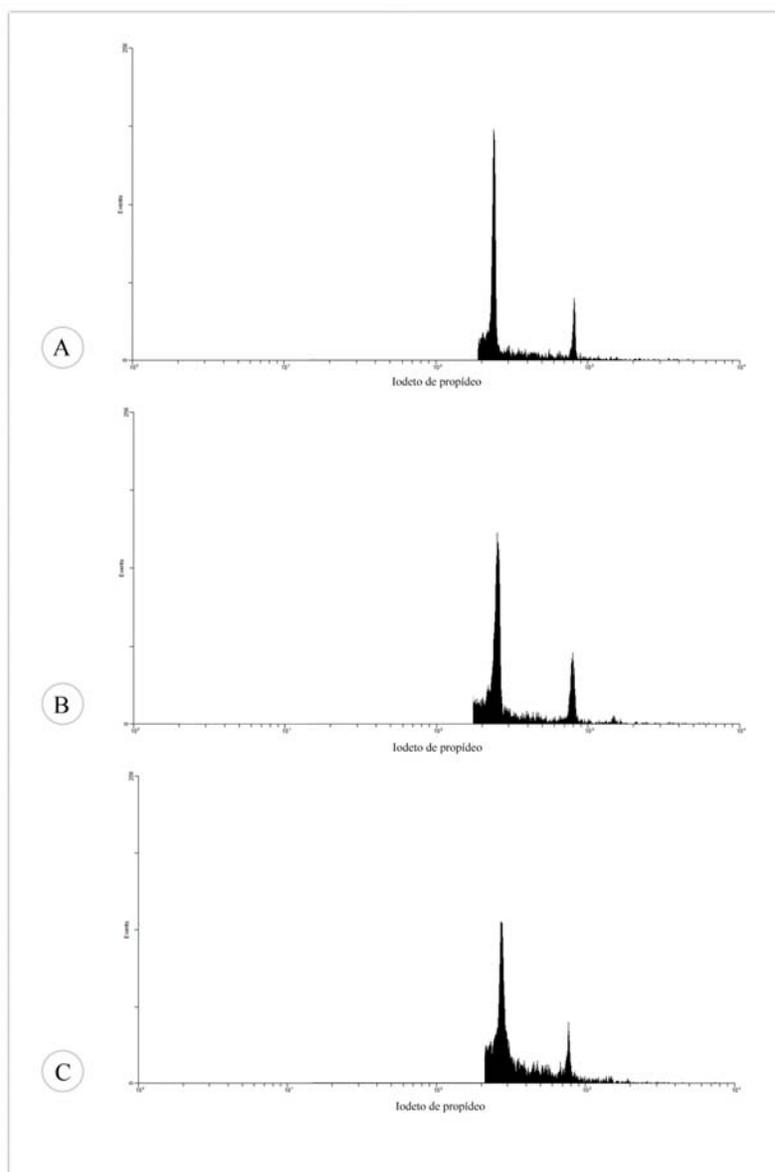


Gráfico 2 Histograma de citometria de fluxo em núcleos de (A) *E. edulis*, (B) *E. oleracea* e (C) *E. precatória*. O primeiro pico em cada histograma é referente ao Pico G1 de cada uma das espécies de *Euterpe* e o segundo é o Pico G1 da amostra de referência (*Vicia faba*)

#### 4 DISCUSSÃO

O número cromossômico  $2n=36$  para *E. edulis* e *E. oleracea* coincide com a contagem realizada por Môro et al. (1999), que encontraram 36 cromossomos para estas duas espécies. No entanto, Pinto-Maglio, Bovi e Dias (1986 citado por OLIVEIRA et al., 2005) descreveram variação de 32 a 36 cromossomos no número somático de *E. oleracea*. Resultado semelhante foi observado por Oliveira et al. (2004) que, analisando acessos com diferenças na coloração de frutos e de diferentes procedências, encontraram variação de 26 a 36 cromossomos, com predominância de  $2n=32$ .

Os grupos de palmeiras que apresentam 36 cromossomos, segundo Röser (1994), são considerados primitivos e, embora seja comum a ocorrência desse número em Arecaceae, o autor encontrou frequente redução do número de cromossomos em diversas subfamílias, como Coryphoideae ( $2n=28$  a  $2n=36$ ), Calamoideae ( $2n=26$  a  $2n=36$ ) e Ceroxyloideae ( $2n=26$  a  $2n=34$ ).

Com base nos resultados obtidos, o número básico de cromossomos proposto para o gênero é  $x = 18$ , conforme proposto por Moore e Uhl (1973 citados por CÔRREA et al., 2009) para Arecaceae, julgando pela sua ocorrência em palmeiras das subfamílias Coryphoideae, Phenicoideae e alguns gêneros de Arecoideae e de Borassoideae. Outra evidência de  $x = 18$  como número básico para *Euterpe* é apresentada por Oliveira et al. (2010), que analisaram, além de células mitóticas, células meióticas de *E. oleracea*. Foram observados 36 cromossomos nas células somáticas e 18 bivalentes nas células em diacinese, revelando o comportamento diplóide da espécie.

No entanto, Stebbins (1971) sugere que todos os gêneros ou famílias que têm números básicos  $x = 12$  ou superiores foram derivados por poliploidia dos grupos com números mais baixos. Sob este aspecto surge a hipótese de que as espécies de *Euterpe* sejam, na verdade, poliplóides que, ao longo de seu

processo evolutivo, passaram a se comportar como diplóides. A observação dos bivalentes na meiose pode trazer informações que auxiliem na elucidação desta questão. Técnicas como FISH (Fluorescent *in situ* hybridization) e bandejamento C também podem ser aplicadas para testar essa hipótese, apresentando ainda potencial para auxiliar na identificação da natureza da poliploidia (autopoliploidia ou alopoliploidia).

Os cariótipos analisados apresentaram diferenças quanto ao tamanho dos cromossomos, a posição do centrômero e da constrição secundária. Os cromossomos podem se diferenciar quanto à posição do centrômero, segundo Stebbins (1971), por inversões pericêntricas ou por translocações desiguais, rearranjos que contribuem substancialmente para o aumento da assimetria cariotípica. Assim sendo, é plausível imaginar que esses rearranjos tenham ocorrido e causado a diferenciação cariotípica das três espécies de *Euterpe* estudadas. Inversões pericêntricas podem ter ocorrido no par cromossômico de número 17, o que explicaria as diferenças na posição do centrômero, uma vez que esse par foi metacêntrico em *E. oleracea*, submetacêntrico em *E. precatoria* e acrocêntrico em *E. edulis*.

Os resultados encontrados para a localização das constrições secundárias em *E. oleracea* e *E. precatoria* são outro indício da ocorrência de inversões pericêntricas, uma vez que, mesmo apresentando constrição secundária no par dois, o complemento das espécies se diferenciou quanto ao braço cromossômico no qual elas estão inseridas. A ocorrência de translocação, por sua vez, parece estar envolvida na diferenciação do complemento cromossômico de *E. edulis*, que dentre as espécies estudadas foi a única a apresentar constrição secundária no par sete.

Grande parte dos estudos cariotípicos feitos com palmeiras não trazem informações quanto ao número e localização dessas constrições. O trabalho feito por Röser (1993) apresenta a descrição do cariótipo de 13 espécies, pertencentes

a 13 gêneros diferentes da subfamília Coryphoideae, descrevendo a presença de constrições secundárias em dez deles. O autor também encontrou apenas um par de cromossomos portador de constrição secundária em oito espécies: *Livistona chinensis*, *Pritchardia thurstonii*, *Brahea edulis*, *Copernicia macroglossa*, *Washingtonia robusta*, *Sabal minor*, *Bismarckia nobilis* e *Phoenix canariensis*. As outras espécies estudadas apresentaram dois ou nenhum par de cromossomos com constrição secundária. A confirmação da presença de Regiões Organizadoras do Nucléolo nas espécies de *Euterpe* ou sua detecção em outros cromossomos onde a constrição não estivesse visível deve ser realizada pela coloração com prata (bandeamento NOR) e/ou pela observação dos cromossomos bivalentes associados ao nucléolo durante a divisão meiótica.

De acordo com Stebbins (1958) cariótipos simétricos são considerados mais primitivos e cariótipos assimétricos mais especializados, sendo a assimetria cariotípica expressa em dois caminhos: maior proporção de cromossomos com centrômero subterminal (acrocêntricos) e maior diferença entre o maior e menor cromossomo.

A grande vantagem dos cromossomos acrocêntricos, segundo a teoria da interação mínima proposta por Imai, Satta e Takayata (2001, citado por SCHUBERT, 2007) é que eles minimizam os rearranjos deletérios causados pela fissão e fusão, mecanismos através dos quais pode ocorrer a diminuição do número básico. A quebra dos cromossomos acrocêntricos ocorre na região do centrômero, ou em suas proximidades, seguida da união entre os segmentos mais longos para formar um cromossomo metacêntrico. Os segmentos mais curtos formam um fragmento, muito pequeno, que geralmente é perdido (JOHN; FREEMAN, 1975). Segundo Jones (1979) a perda desse fragmento não tem aparentes consequências genéticas na maioria dos casos, pois eles são formados pelos braços curtos dos cromossomos acrocêntricos fissionados que, por serem regiões próximas ao centrômero, são frequentemente compostas de

heterocromatina com poucos ou nenhum gene estrutural. Os cromossomos acrocêntricos, dessa forma, permitem a diminuição do número básico de cromossomos sem grandes perdas de material genético.

*E. edulis* foi a espécie que apresentou maior proporção de cromossomos acrocêntricos e, portanto, teria maior chance que as outras duas espécies de passar por rearranjos estruturais, visando diminuir o número básico de cromossomos, sem grandes perdas de material genético. Por outro lado, a espécie *E. precatória* apresentou nível de assimetria, de acordo com Zarco (1986), similar a *E. edulis*.

A diferença no tamanho dos cromossomos é uma das variáveis contempladas pelos índices de assimetria cariotípica, os quais, segundo Paszko (2006) têm sido extensamente utilizados para inferir mecanismos de evolução cromossômica em plantas. As três espécies de *Euterpe* não foram diferenciadas pelos critérios de Stebbins (1958) e tampouco pelo índice de assimetria intercromossômica (A1) de Zarco (1986).

Levando-se em consideração a assimetria média dos cariótipos, *E. oleracea* se diferenciou das outras duas espécies, apresentando um cariótipo mais simétrico (Figura 3). Por serem mais próximas no que diz respeito à assimetria, *E. edulis* e *E. precatória* são candidatas a um processo de hibridação interespecífica com boas possibilidades de sucesso, uma vez que a similaridade cariotípica entre as espécies envolvidas nesse processo está intimamente relacionada com a possibilidade de troca de genes através do pareamento dos cromossomos e, por conseqüência, com a estabilidade meiótica do híbrido.

Além dos índices de assimetria cromossômica, o conhecimento da estrutura e organização dos cromossomos na intérfase pode facilitar a elucidação de questões taxonômicas e evolutivas. Porém, de acordo com Corrêa et al. (2009) pouco se pode inferir sobre os mecanismos envolvidos na evolução

cromossômica em Arecaceae devido ao pequeno número de espécies avaliadas citogeneticamente.

No presente trabalho, a caracterização do núcleo interfásico das três espécies de *Euterpe* possibilitou inferências evolutivas com base no que é proposto por Röser (1994). O autor comparou a classificação sistemática de algumas subfamílias de Arecaceae, feita principalmente com base em características morfológicas das plantas, com a caracterização dos núcleos interfásico e com as características cariotípicas dessas subfamílias. Por meio dessa comparação o autor fez inferências sobre a evolução do cariótipo da família e segundo ele a direção evolutiva das mudanças cariológicas passou de núcleos interfásicos reticulados para arreticulados. Com base nessas informações a posição filogenética das três espécies de *Euterpe* para o caráter núcleo interfásico estaria numa faixa evolutiva intermediária dentro da família.

Quando aliada à caracterização do núcleo interfásico e às informações cariológicas, a quantificação do DNA nuclear pode ser um diferencial, pois permite detectar pequenas diferenças na quantidade de DNA das espécies. Por meio dessas diferenças torna-se possível a inferência sobre pequenos rearranjos cromossômicos que podem não ter tamanha dimensão a ponto de influenciarem na estrutura física dos cromossomos. Além disso, segundo Schifino-Wittmann (2001), informações sobre a quantidade de DNA nuclear das espécies auxiliam no manejo de grandes coleções de germoplasma e no controle dos níveis de ploidia em resultados de cruzamentos.

Os resultados obtidos por citometria de fluxo para as três espécies de *Euterpe* foram diretamente coincidentes com os valores do comprimento total do lote haplóide (CTLH). Análises realizadas pelo teste de Tukey revelaram que *E. precatória* apresentou valores significativamente maiores para as duas análises, quando comparada às outras espécies.

O conteúdo de DNA nuclear de *E. precatória* já havia sido determinado, através de densitometria por Feulgen, por Röser, Johnson e Hanson (1997). Os autores encontraram um valor 2C de DNA de 10,62 pg e o consideraram relativamente alto. Comparando o valor 2C de DNA encontrado neste trabalho com o proposto por Röser (1993), verifica-se uma diferença de cerca de 1,21 pg. Segundo Schifino-Wittmann (2001) quando os resultados de determinação da quantidade de DNA por diferentes autores são divergentes, vem à tona a dúvida se as variações relatadas refletem uma plasticidade do genoma nuclear ou se são relacionadas às metodologias aplicadas.

As diferenças na quantidade de DNA e na morfologia dos cromossomos das três espécies de *Euterpe* sugerem a ocorrência de rearranjos estruturais, tais como deleções, duplicações, inversões e translocações. Essa hipótese, no entanto, não pode ser conclusiva a partir dos dados apresentados. Assim, para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos neste processo, bem como em todo o processo de evolução cariotípica, sugere-se a aplicação de bandeamento cromossômico C e hibridização molecular (FISH). Estas técnicas são capazes de fornecer um detalhamento minucioso dos cariótipos, permitindo o reconhecimento de pequenas variações cromossômicas, difíceis de serem detectadas por técnicas convencionais. De qualquer forma, na escolha de espécies para hibridação interespecífica deve-se atentar às divergências cromossômicas encontradas entre as espécies estudadas.

## 5 CONCLUSÕES

*E. precatória* e *E. edulis* apresentam características cariotípicas que permitem inseri-las em uma categoria mais derivada evolutivamente que *E. oleracea*, sendo que *E. edulis* pode ser considerada uma espécie intermediária, uma vez que assemelha-se a *E. precatória* em relação ao cariótipo e está próxima a *E. oleracea* quando se trata da quantidade de DNA nuclear.

Apesar da uniformidade numérica, *Euterpe* mostrou-se um grupo heterogêneo quanto à morfologia cromossômica, sendo que as alterações estruturais dos cromossomos devem ter contribuído para a diversificação e evolução cariotípica do gênero.

**AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq e à CAPES, pela concessão de bolsa; à Embrapa Amazônia Oriental, pelos auxílios concedidos, à Infrater Engenharia LTDA, pelo fornecimento de material botânico e ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFLA, pelo apoio nas análises.

## REFERÊNCIAS

BENNET, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 2, p. 113-176, Aug. 1995.

CASTRO, A. O extrativismo do açaí no Amazonas. In: RELATÓRIO de resultados do projeto de pesquisa: extrativismo na Amazônia Central, viabilidade e desenvolvimento. Manaus: INPA/CNPq/ORSTOM, 1992. p. 779-782.

CORRÊA, L. B. et al. Caracterização citológica de palmeiras do gênero *Butia* (Arecaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n.4, p. 1111-1116, dez. 2009.

DOLEZEL, J. Application of flow cytometry for the study of plants genomes. **Journal of Applied Genetics**, Olomouc, v. 38, n. 3, p. 285-302, 1997.

GUERRA, M. S. Estrutura e diversificação dos núcleos interfásicos em plantas. In: COLÓQUIO SOBRE CITOGENÉTICA E EVOLUÇÃO DE PLANTAS, 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p. 137-153.

GUERRA, M. S. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.* **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p.741-743,1986.

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 140p.

HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. Oxford: University, 1995.

IMAI, H. T.; SATTA, Y.; TAKAYATA, N. Integrative study on chromosome evolution of mammals, ants and wasp based on the minimum interaction theory. **Journal of Theoretical Biology**, London, v. 210, n. 4, p. 475-497, June 2001.

JOHN, B.; FREEMAN, M. Causes and consequences of robertsonian exchange. **Chromosoma**, Berlin, v. 52, n. 2, p. 123-136, 1975.

JONES, K. Aspects of chromosome evolution in higher plants. **Advances in Botanical Research**, London, v. 6, p. 119-194, 1979.

KAHN, F.; GRANVILLE, J. **Palms in forest ecosystems of Amazonia**. New York: Spring Verlag, 1992. (Ecological Studies, 95).

KNIGHT, C. A.; BEAULIEU, J. M. Genome Size through Phenotype Space. **Annals of Botany**, London, v. 101, n. 6, p. 759-766, Apr. 2008.

MARIE, D.; BROWN, S. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, Paris, v. 78, n. 1-2, p. 41-51, 1993.

MOORE, H. E.; UHL, N. W. Palms and the origin and evolution of monocotyledons. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 48, n. 3, p. 414-436, Sept. 1973.

MÔRO, J. R. et al. Methodology for karyological study of Brazilian palms. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.486, p. 225-228, June 1999.

OLIVEIRA, L. C. et al. Chromosome number of acai palm (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá. **Anais...** Guarujá: Sociedade Brasileira de Genética, 2010. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. do S. P. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açazeiro**. 2005. 171 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

OLIVEIRA, M. do S. P. et al. Citogenética em acessos de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBG, 2004. p.1244. 1 CD-ROM.

PASZKO, B. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 258, n. 1-2, p. 39-48, 2006.

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; BOVI, M. L.; DIAS, G da S. Estudos citológicos no gênero *Euterpe*. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 6., 1986, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Unicamp, 1986. p. 47.

RÖSER, M. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 189, n. 1-2, p. 83-122, 1994.

RÖSER, M. Variation and evolution of karyotype characters in palm subfamily Coryphoideae sl. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 106, n. 2, p. 170-182, 1993.

RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA Amounts in Palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1997.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Determinação da quantidade de DNA nuclear em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 897-902, set. 2001.

SCHUBERT, I. Chromosome evolution. **Current Opinion in plant Biology**, Stuttgart, v. 10, p. 109-115, Feb. 2007.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. New York: Addison-Wesley, 1971.

STEBBINS, G. L. Longevity, habitat, and release of genetic variability in the higher plants. **Cold Spring Harbor Symposia Quantitative Biology**, New York, v. 23, p. 365-378, Jan. 1958.

ZARCO, C. R. A new method for estimating karyotype asymetry. **Taxon**, Utrech, v. 35, n. 3, p. 526-530, 1986.