



**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E MORFO-
AGRONÔMICA DE GERMOPLASMA DE
AÇAIZEIRO**

MARIA DO SOCORRO PADILHA DE OLIVEIRA

2005

MARIA DO SOCORRO PADILHA DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E MORFO-AGRONÔMICA DE
GERMOPLASMA DE AÇAIZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do
título de “Doutor”.

Orientador:
Prof. Dr. João Bosco dos santos

Co-orientador:
Daniel Furtado Ferreira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

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

Oliveira, Maria do Socorro Padilha de
Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de
açazeiro/ Maria do Socorro Padilha de Oliveira. -- Lavras: UFLA, 2005.
171p. : il.

Orientador: João Bosco dos Santos.
Tese (Doutorado) –UFLA.
Bibliografia.

1. Açaí. 2. RAPD. 3. SSR. 4. Caráter morfo-agronômico. 5. Diversidade. 6.
Diferenciação genética. 7. Bootstrap. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD-634.9745

MARIA DO SOCORRO PADILHA DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E MORFO-AGRONÔMICA DE
GERMOPLASMA DE AÇAIZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção
do título de “Doutor”.

APROVADA em 5 de setembro de 2005

Pesquisadora Dra. Ana Yamagushi Ciampi	CENARGEN/EMBRAPA
Pesquisador Dr. João Tomé de Farias Neto	CPATU/EMBRAPA
Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira	DEX/UFLA
Prof. Dr. Magno Antônio Patto Ramalho	DBI/UFLA

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

À Santíssima Trindade e à Nossa Senhora Aparecida, pela luz e força espiritual nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Ana e Joaquim, por terem me conduzido ao caminho do saber, meus exemplos de luta, coragem e dedicação.

DEDICO

Ao meu esposo e grande companheiro, Enéas,
e às nossas filhas, Natália e Lucianna,
orgulho de nossas vidas.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- À Embrapa Amazônia Oriental, pela oportunidade concedida na obtenção de novos conhecimentos.
- Ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, pela oferta do curso e aceite no treinamento e aos professores, pelos ensinamentos.
- Ao Fundo Estadual de Ciência e Tecnologia-FUNTEC e à Agência de Desenvolvimento da Amazônia-ADA, pelo apoio financeiro.
- Ao prof. Dr. João Bosco dos Santos, pelo incentivo, paciência e disponibilidade na orientação.
- Ao prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira, pela co-orientação e ensinamentos sobre o uso do SAS nas análises multivariadas.
- Ao prof. Magno, pelos ensinamentos e disponibilidade na solução de dúvidas;
- Ao Dr. João Tomé de Farias Neto, pela continuidade das pesquisas com o açazeiro e pleno cumprimento na função de conselheiro acadêmico.
- Ao Lamartine, pelo otimismo e ensinamentos em todas as etapas conduzidas no Laboratório de Genética Molecular do DBI/UFLA.
- Aos funcionários da Embrapa Amazônia Oriental, Nonato, Euclides, Antônio, João e Izaías, pela amizade e ajuda na coleta de dados no campo.
- Aos pesquisadores Adriano Venturieri e Orlando Watrin, pelo fornecimento dos dados sobre as distâncias geográficas.
- Ao amigo e afilhado, Edson Amorim, pela ajuda na interpretação dos géis, na análise de *bootstrap* e ensinamentos no uso dos softwares TFPGA e NTSYS.
- Ao colega Kaesel, pelos ensinamentos no uso do software Arlequin.
- À Vanusia, pela ajuda na obtenção de alguns reagentes utilizados nas reações moleculares.
- Aos estagiários, bolsistas e pós-graduandos do Laboratório de Genética Molecular do DBI/UFLA, em especial ao Lucas Rezende, Cleide, Bruno, Nádia,

Carol e Thaís, pelo apoio na extração e quantificação de DNA e no preparo de géis.

- A todos os colegas de curso, pela troca de experiência e momentos de descontração.

- À Elaine, secretária do curso de pós-graduação, pelo pronto atendimento e colaboração durante a realização do curso.

- Aos amigos Luis Antônio, Agnaldo, Edson e Vanúcia, pelo apoio nos momentos difíceis e pela agradável convivência em Lavras.

- À minha sogra, Lourdes, à minha irmã, Sandra e à minha mãe pela acolhida e por terem sido mães de minhas filhas nos momentos em que não pude estar presente.

- Ao Enéas, Natália e Lucianna, meus maiores incentivadores.

- A todos que contribuíram, direta e indiretamente, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Aspectos gerais do açaizeiro	3
2.1.1 Botânica, distribuição geográfica e principais características.....	3
2.1.2 Importância econômica e aspectos agrônômicos	8
2.2 Coleções de germoplasma de espécies do gênero <i>Euterpe</i>	12
2.3 Caracterização de germoplasma	14
2.3.1 Molecular.....	16
2.3.2 Morfo-agronômica.....	27
2.4 Medidas para estimar a diversidade.....	35
2.5 Comparação entre diversidades genética e fenotípica	40
2.6 Correlação entre diversidades e distâncias genéticas.....	42
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.1 Descrição do germoplasma	45
3.2 Caracterização molecular	46
3.2.1 Reação RAPD	47
3.2.2 Análises estatísticas	48
3.2.3 Reação SSR.....	53
3.2.4 Análises estatísticas.....	54
3.3 Caracterização morfo-agronômica.....	57
3.3.1 Coleta dos descritores.....	57
3.3.2 Análises estatísticas	61
3.4 Comparação entre diversidades genética e fenotípica	65

3.5	Correlação entre diversidades e distâncias geográficas	65
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4.1	Caracterização molecular por marcadores RAPD	67
4.1.1	Nível de polimorfismo	67
4.1.2	Diversidade genética.....	71
4.1.3	Estruturação genética.....	82
4.2	Caracterização molecular por marcadores SSR.....	86
4.2.1	Nível de polimorfismo	86
4.2.2	Diversidade genética.....	94
4.2.3	Estruturação genética.....	103
4.3	Caracterização morfo-agronômica.....	106
4.3.1	Variação fenotípica pela análise de variância univariada	106
4.3.2	Seleção de descritores.....	108
4.3.3	Eficiência do descarte	115
4.3.4	Diversidade fenotípica	117
4.4	Comparação entre diversidades genética e fenotípica	126
4.5	Correlações entre diversidades e distâncias geográficas.....	130
5	CONCLUSÕES	137
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
	ANEXOS.....	156

RESUMO

OLIVEIRA, Maria do Socorro Padilha de. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açaizeiro**. 2005. 171 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, MG¹.

Este trabalho teve como principal objetivo caracterizar as diversidades genética e fenotípica em germoplasma de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) amostrados na coleção da Embrapa Amazônia Oriental, por meio de marcadores moleculares e descritores morfo-agronômicos. A caracterização genética foi efetuada em 116 acessos de 26 procedências, com base em 28 *primers* RAPD e sete *primers* SSR. A caracterização fenotípica foi realizada em 87 acessos de 21 procedências, sendo avaliados para 28 caracteres: sete relativos à planta, quatro de floração, seis de frutos e onze de produção de frutos, no período de 1995 a 2001, em Belém, PA. Os dados obtidos foram analisados por acessos e procedências: os moleculares foram analisados por dendrogramas, gerados a partir dos complementos aritméticos das similaridades de Dice e de coincidência simples, e pela AMOVA; com os fenotípicos, foram efetuadas análises uni e multivariadas, envolvendo componentes principais e agrupamentos, sendo utilizada a distância euclidiana média padronizada. Os acessos e as procedências apresentaram ampla diversidade. Os 28 *primers* RAPD geraram 263 bandas polimórficas e os sete locos SSR revelaram 42 alelos com PIC de 0,75. Os marcadores moleculares foram eficientes na quantificação da diversidade genética, sendo de origem interlocos para RAPD e intralocos para SSR, e em agrupar acessos e procedências pelo método UPGMA. Níveis significativos de diferenciação genética foram registrados entre procedências pelos dois marcadores moleculares, porém, a maior parte da variação ficou contida dentro delas. Foram descartados 21,43% dos caracteres e os selecionados foram capazes de quantificar a diversidade fenotípica formando grupos, pelos métodos UPGMA e Tocher, sem perda significativa de informação. Os marcadores moleculares foram complementares na explicação da diversidade genética, sendo ambos discordantes em relação à diversidade fenotípica. As correlações entre as distâncias genética e fenotípica com as geográficas não forneceram subsídios para garantir que a distribuição geográfica explique a divergência no germoplasma estudado.

¹ **Comitê de Orientação:** Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador); Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira (Co-orientador) – Universidade Federal de Lavras.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Maria do Socorro Padilha de. **Molecular and morphoagronomical characterization of açai palm germplasm.** 2005. 171 p. Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, MG¹.

The objective of this research was to characterize the genetic and phenotypic diversities in açai palm (*Euterpe oleracea*) germplasm sampled in the Embrapa Eastern Amazon collection, through molecular markers and morphoagronomical traits. There were characterized 116 accessions from 26 origins by 28 RAPD and seven SSR primers. The 28 morphoagronomical traits were evaluated in 87 accessions from 21 origins, in the period from 1995 to 2001, at Belém, PA. Among the 28 traits, seven were relative to the plant, four to the flowering, six to the fruit, and eleven to the fruit production. The data were analyzed for accessions and origins. The molecular markers were analyzed using the complement of the Dice and simple matching similarity coefficients, displayed in dendrograms, and also by analysis of molecular variance. The morphoagronomical traits were analyzed using univariate and multivariate analysis, involving principal components, using the average euclidian distance with standardized data. The accessions and the origins presented wide diversity. A total of 263 polymorphic RAPD loci were detected, and the SSR loci revealed 42 alleles with PIC 0.75. The genetic diversity was quantified by RAPD markers, mainly based on interloci origin, and by SSR markers based on intraloci origin. Using these markers the accessions and origins were grouped by UPGMA criterion. According to AMOVA results significant levels of genetic differentiation were due to among origins by the two molecular markers, however most of the variation was observed within origins. The phenotypic diversity was estimated using 78.57% of the morphoagronomical traits, and those discarded did no represent any lost of information. The molecular markers were complementary to each other in the explanation of the genetic diversity, but both disagree in relation to the phenotypic diversity. The low correlations between geographic distances and genetic and phenotypic distances do not explain the germplasm diversity by the geographic distribution.

¹ **Guidance Committee:** Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Major Professor); Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira (Co-Major Professor) – Federal University of Lavras.

1 INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é um importante recurso genético da Amazônia, explorado para frutos e palmito, que, nos últimos anos, vem despertando interesse para o cultivo, visando à produção de frutos (Oliveira et al., 2000a). O mercado de frutos está em plena expansão no Brasil e no exterior, movimentando milhões de dólares (Muaná-Açaí, 2005). Em Belém, responde por mais de 25.000 empregos diretos e indiretos (Rogez, 2000). Mas, o grande entrave no estabelecimento de cultivos está na escassez de sementes melhoradas, em virtude da carência de informações sobre seu germoplasma.

A caracterização é uma atividade primordial na geração de conhecimentos sobre germoplasma conservado em bancos e ou coleções, por permitir um melhor manejo do germoplasma e fornecer subsídios ao melhoramento genético. O primeiro programa de melhoramento de açazeiro para frutos foi criado recentemente pela Embrapa Amazônia Oriental (Oliveira et al., 2000a), que dispõe de uma coleção formada por acessos de diferentes procedências (Lima & Costa, 1991). Tais acessos encontram-se conservados na forma de plantas vivas no campo, desde 1984, entretanto, têm sido pouco caracterizados (Costa et al., 2001; Oliveira, 1995; Oliveira et al., 1998).

Em plantas perenes, a caracterização tem sido realizada com o emprego de descritores botânicos, morfológicos e agronômicos, sejam eles quantitativos e ou qualitativos, sendo a molecular mais recente. A morfo-agronômica não apresenta custos adicionais, haja vista que pode ser aplicada sobre descritores tradicionalmente mensurados em coleções de germoplasma, necessitando apenas de recursos computacionais. Porém, na maioria das vezes, a coleta desses dados demanda muito tempo, além das informações obtidas serem fenotípicas, não reproduzindo com precisão a diversidade genética (Dias et al., 1997).

Vários marcadores moleculares estão disponíveis para a caracterização da diversidade genética. Os que usam a técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*), como o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e o microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) apresentam vantagens por permitir a análise de marcas polimórficas, em um curto espaço de tempo, de um número ilimitado de genótipos, sem a influência do ambiente, mas ainda são onerosos (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Milach, 1998). Atualmente, a caracterização molecular tem sido utilizada para complementar dados fenotípicos, pois fornece um estudo direto do genótipo.

Independente do tipo de caracterização, técnicas multivariadas envolvendo componentes principais, agrupamentos, variáveis canônicas, distâncias euclidiana e de Mahalanobis, têm sido úteis na interpretação dos dados (Cruz & Carneiro, 2003). Em coleções de germoplasma, essas técnicas quantificam e visualizam a diversidade, identificam genótipos desejáveis e grupos de similaridade que possam se constituir duplicatas e, ainda, otimizam seus manejos pela identificação dos caracteres mais informativos para serem empregados na caracterização e melhoramento genético (Cruz et al., 2004).

Com base no exposto, este trabalho teve como principais objetivos:

- quantificar a diversidade genética do germoplasma de açaizeiro conservado na coleção da Embrapa Amazônia Oriental, por meio de marcadores moleculares, RAPD e microssatélites;
- selecionar descritores morfo-agronômicos importantes na descrição da variabilidade desta coleção para produção de frutos e quantificar a diversidade fenotípica desse germoplasma, com base nos descritores selecionados;
- realizar um estudo comparativo entre as diversidades genéticas e fenotípica, com base nos agrupamentos obtidos pelas dissimilaridades;
- correlacionar as diversidades genéticas e fenotípica com as distâncias geográficas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais do açazeiro

2.1.1 Botânica, distribuição geográfica e principais características

O açazeiro encontra-se classificado botanicamente na divisão *Magnoliophyta* (=Angiospermae), classe *Liliopsida* (=Monocotyledoneae), subclasse *Arecidae* (=Espadiciiflorae), super-ordem *Arecanae*, ordem *Arecales* (=Principes), família *Arecaceae* (=Palmae), subfamília *Ceroxylineae*, gênero *Euterpe* (Henderson & Galeano, 1996).

A literatura disponível é muito confusa quanto ao número de espécies pertencentes ao gênero *Euterpe*, variando de 30 a 50 registros. Mas, sabe-se que dez delas são nativas do Brasil, sendo duas de forte expressão econômica, o palmito (*E. edulis* Mart.) e o açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), que se destaca como produtora de frutos e palmito (Calzavara, 1972; Lleras et al., 1983; Oliveira et al., 2000a). Outras espécies menos importantes, como o açai-da-terra-firme (*E. precatória* Mart.), natural da Amazônia e o palmito-vermelho (*E. spiritossantensis* Fernandes), nativo da mata Atlântica, vêm sendo empregadas na obtenção de híbridos interespecíficos, cruzadas com o açazeiro ou com o palmito, pois, apesar de serem alopátricas, não existe barreira genética entre elas (Ballvé, 1988).

O açazeiro é uma palmeira tipicamente tropical e de distribuição ampla, ocorrendo no norte da América do Sul, Panamá, Equador e Trinidad, onde recebe diferentes denominações (Henderson & Galeano, 1996). No Brasil, esta espécie encontra-se bem representada na região Amazônica, mais precisamente nos estados do Pará, Amapá e Maranhão, além de Tocantins e Mato Grosso

(Calzavara, 1972). Guiana Francesa, Suriname, Venezuela e Colômbia são outros países onde há relatos de sua ocorrência (Henderson & Galeano, 1996).

As maiores extensões naturais desta espécie estão na região do estuário do rio Amazonas (Calzavara, 1972; Cavalcante, 1991; Lleras et al., 1983). Nesta região, é vegetação comum em áreas de mata de terra firme, várzea e igapó, sendo predominante no delta amazônico (ecossistema de várzea), caracterizado por uma densa rede de rios (furos), onde o açazeiro forma populações homogêneas (Calzavara, 1972).

O centro de origem do açazeiro ainda não foi estabelecido, porém, há suposições que esteja situado no estuário amazônico, mais precisamente nos arredores de Óbidos, no Pará (Cavalcante, 1991; Ducke, 1946). Também não há registros sobre o centro de diversidade.

Para Lleras et al. (1983), o gênero *Euterpe* apresenta maior diversidade em áreas com variações em altitudes e mencionam a existência de dois principais centros de diversidade: 1) envolvendo o Noroeste da Colômbia e a costa ocidental úmida dos Andes; 2) localizado no escudo das Guiana e alto Rio Negro. Há fortes indícios do centro de diversidade do açazeiro estar localizado no segundo centro, coincidindo com o de origem e abrangendo os estados do Pará, Amapá e Maranhão. Nesses locais, as plantas apresentam variações bem acentuadas para características morfológicas (tipo de caule, cor da bainha foliar, formato da inflorescência, coloração, peso e tamanho dos frutos maduros, entre outras), fenológicas e fisiológicas (Cavalcante, 1991; Oliveira et al., 2000a).

Os aspectos morfológicos dessa espécie são relatados por vários autores (Calzavara, 1972; Cavalcante, 1991; Henderson & Galeano, 1996; Rogez, 2000). De modo geral, seu caule é um estipe, preferencialmente, multicaule na fase adulta, apresentando até 45 estipes por touceira. O estipe é cilíndrico, anelado, ereto, fibroso e sem ramificações, atingindo até 30m de altura e diâmetro de 12 a 18cm. Cada estipe contém, em média, dez a doze folhas compostas com 3,5m de

comprimento, dispostas de forma alternada. A folha possui uma bainha que envolve o estipe, constituída de pecíolo com 20 a 40cm de comprimento e limbo distintos, além de um pronunciado eixo central, contendo 70 a 80 pares de folíolos. As raízes são fasciculadas, densas e superficiais, providas de lenticelas e aerênquimas, sendo encontradas nos primeiros 30cm do solo, formando um agregado na base do estipe.

Na fase reprodutiva, surgem, embaixo das bainhas foliares, espatas fusiformes, coriáceas, persistentes, externamente lisa e de coloração esverdeada quando imaturas e amarelada quando maduras, que protegem as inflorescências (Calzavara, 1972). Cada ramo florífero é constituído por duas brácteas de tamanho e formatos distintos e pela inflorescência. A inflorescência é do tipo cacho, sendo constituída por uma ráquis onde estão inseridas dezenas de ráquias e, nestas, milhares de flores unissexuais, sésseis dispostas em espiral, atingindo 8.000 femininas e 37.000 masculinas (Calzavara, 1972; Henderson & Galeano, 1996). Cada ráquila contém, na sua maior extensão, flores femininas ladeadas por duas flores masculinas, formando a tríade e, na parte final, apenas flores masculinas (Cavalcante, 1991). Portanto, o açazeiro é uma espécie monóica.

O fruto é uma drupa globosa, pesando de 0,8g a 2,3g e diâmetro de 1 a 2cm, verde brilhante quando imaturo e violáceo ou verde opaco quando maduro, contendo mesocarpo fino, de 1 a 2mm de espessura, de coloração variável e parte comestível variando de 5% a 15% do fruto (Cavalcante, 1991; Rogez, 2000). A semente possui um envoltório fibroso, endocarpo duro e embrião diminuto com endosperma abundante e ruminado, sendo recalcitrante.

A variedade de açazeiro predominante é a violácea, mas há registros de outras como a verde, também denominada de branca ou tinga, da espada, da vareta e da una, que se diferenciam nos aspectos morfológicos (número e diâmetro do estipe, coloração dos frutos maduros, na inflorescência) e na

composição química dos frutos, especialmente no teor de lipídios e na presença de antocianinas (Rogez, 2000; Oliveira et al., 2000a).

A principal característica desta espécie é que, na sementeira de uma semente, ocorre a emissão de perfilhos na base do estipe principal, formando um conjunto denominado touceira (Cavalcante, 1991). Os estipes constituintes da touceira possuem diferentes estádios de crescimento e, por surgirem de um indivíduo, todos têm o mesmo genótipo. Logo, são clones, pois apresentam a mesma constituição genética. Assim sendo, é comum encontrar, em uma touceira, estipes com cachos em diferentes estádios fenológicos de frutificação, cada um produzindo, em média, 3 a 4 cachos, que são colhidos por volta de cinco a seis meses após a fecundação das flores (Jardim, 1991; Oliveira, 1995).

O açazeiro inicia sua fase reprodutiva por volta de quatro anos da germinação, 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 (Rogez, 2000).

O período de floração de uma inflorescência é lento e gradativo, dividido em fases: a primeira a ocorrer é a masculina, que inicia-se no mesmo dia da abertura da bráctea e exposição da inflorescência, com a antese das flores começando do ápice para a base das ráquias, durando, em média, doze dias, onde cada flor tem vida útil de quatro horas; a feminina é mais curta, dura, em média, cinco dias, havendo também gradação na antese das flores do ápice para a base das ráquias (Oliveira, 2002). Entre as fases masculina e feminina podem ocorrer intervalo curto de dois dias, em média, sobreposição de fases, de até quatro dias ou não haver intervalo ou sobreposição (Oliveira, 1995).

De modo geral, o açazeiro apresenta dicogamia do tipo protandria e preferência pela fecundação cruzada, sendo polinizado por minúsculos coleópteros, havendo também a participação do vento e da gravidade na fecundação das flores (Jardim, 1991; Ohashi, 1990; Oliveira, 1995; Oliveira,

2002). Apesar da alogamia ser mencionada como o sistema mais comum em consequência da possível incompatibilidade e da assincronia nas fases de floração de uma mesma inflorescência, a possibilidade de ocorrer autofecundação não pode ser descartada (Jardim, 1991).

A dispersão de frutos e sementes é realizada a curta distância, por pequenos animais roedores e a longa distância, por pássaros, como tucanos, jacus, aracarís, periquitos, papagaios e sabiás (Jardim, 1995). Porém, os rios e o homem também funcionam como agentes dispersores (Rogez, 2000).

O número cromossômico do açazeiro não está totalmente definido. Para Ricci (1989), é uma espécie diplóide com 36 cromossomos, todos do mesmo tamanho e forma ($n=18$). Mas, há registros de variações de 32 a 36 cromossomos para número somático contados pela técnica de raiz, além de distinção quanto ao comprimento e posição do centrômero (Pinto-Maglio et al., 1986 citado por Oliveira et al., 2000a). Estudo recente, realizado pela mesma técnica com sementes de diferentes procedências, contabilizou variação de 26 a 36 cromossomos, sendo todos bem diminutos e distintos quanto à morfologia, cujo número somático preferencial sugerido foi de $2n=32$ cromossomos (Oliveira et al., 2004).

Características peculiares, como caule múltiplo, perenilidade e frutos de excelente sabor, fizeram com que esta palmeira se estabelecesse como uma das principais fruteiras nas populações indígenas habitantes da região Amazônica, permanecendo até os dias atuais com a população cabocla (Ducke, 1946; Rogez, 2000). Pode-se considerar, então, que o açazeiro vem sendo domesticado, desde a época pré-colombiana, para a produção de frutos, mas, recentemente, vem conquistando outros mercados.

2.1.2 Importância econômica e aspectos agrônômicos

O açazeiro apresenta aproveitamento integral. Os frutos são utilizados no fabrico de uma bebida e como adubo orgânico; 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 para a obtenção de celulose e cobertura de casas rústicas; e as sementes para artesanato (Calzavara, 1972; Siqueira et al., 1998). Apesar da grande utilidade, é no fornecimento de dois produtos alimentares economicamente rentáveis que esta espécie se destaca, os frutos e o palmito.

A produção de frutos é a mais antiga, os quais são utilizados há milhões de anos pelos índios na obtenção da bebida denominada de “açai”. Atualmente, esta atividade, além de gerar divisas aos estados da região Norte, é responsável pela sobrevivência de milhares de famílias. No Pará, mais precisamente na capital, Belém, é uma das atividades mais rentáveis, respondendo por mais de 25.000 empregos diretos e indiretos (Mourão, 1996; Rogez, 2000).

O excelente valor nutritivo e alto valor energético da bebida açai, obtida pela maceração dos frutos, vêm conquistando e se consolidando no mercado nacional, com expansão até no exterior (Mourão, 1996; Muaná-Açai, 2005; Rogez, 2000). Essa bebida é comercializada nas mais diferentes formas, desde “in natura”, preferencialmente, no Pará e na região Amazônica, à congelada, adoçada, pasteurizada, na fabricação de bebidas energéticas, geléias, sorvetes e picolés nos demais locais (Rogez, 2000).

Estimativas atuais sobre a produção brasileira de frutos do açazeiro são muito variáveis, mas, em todas, o Pará destaca-se como o maior produtor e consumidor. Nos últimos anos, esse estado respondeu por mais de 90% da produção, cuja projeção total foi de 480.000 toneladas de frutos/ano e 300.000 toneladas de frutos/ano efetivamente comercializadas (Rogez, 2000). Na capital desse estado, o açai é o segundo alimento mais consumido, com média diária de

200.000 litros, sendo duas vezes maior que o consumo do leite, representando 63,8 litros/pessoa/ano, perdendo apenas para a farinha de mandioca (Mourão, 1999; Rogez, 2000). Nos demais estados, especialmente no Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Goiás, o volume comercializado vem aumentando desde 1992, sendo consumido principalmente nos meses da estação de verão (Mourão, 1996; Rogez, 2000).

A produção de palmito, o segundo produto dessa palmeira, foi iniciada por volta de 1970, em substituição ao palmito (*Euterpe edulis*). Por apresentar palmito de sabor, textura e coloração semelhantes ao palmito, teve boa aceitação, mas o grande impulso para este mercado deu-se em função da planta formar touceiras (Calzavara, 1972). Atualmente, o açazeiro responde por quase toda a produção nacional, sendo amplamente conhecido, inclusive no mercado internacional (Mourão, 1996; Rogez, 2000). Aliada a essa produção, tem-se a produção de celulose, extraída do grande volume de folhas e da parte do estipe descartado no processo de extração de palmito (Calzavara, 1972).

Mesmo com a queda na produção de palmito registrada nos últimos anos, o Brasil ainda se destaca como maior produtor, consumidor e exportador de palmito do açazeiro, com o estado do Pará detendo mais de 82% da produção nacional (Mourão, 1996; Rogez, 2000). Segundo Mourão (1996), a redução está aliada à legislação definida em 1988, que exige maior qualidade do produto por parte do mercado internacional, pois, o produto é obtido de produção extrativista. Mas, Rogez (2000) associa esta queda ao fato do mercado de frutos ser o mais rentável.

Os preços para a comercialização dos frutos variam em função da época do ano, da oferta local do produto e da procedência. No Pará, 15kg de frutos é vendidos a US\$1,50, no período da safra (setembro a novembro) e a US\$40,00, na entressafra (janeiro a abril), segundo Siqueira et al. (1998). Para Rogez (2000), o preço de venda de palmito para as empresas processadoras também

varia com o diâmetro do palmito, US\$0,039 o pequeno (< 2cm), US\$0,052 o médio (2-3cm) e US\$0,065 o grande (>3 cm).

Vale ressaltar que grande parte de produção de frutos e palmito ainda provém do extrativismo praticado em populações naturais, sendo responsável pela mobilização anual de mais de 200 milhões de dólares (Rogez, 2000). Para este autor, tais explorações são excludentes, pois a extração de palmito ocasiona a redução na produção de frutos, além de deixar uma touceira sem produzir frutos por, no mínimo, quatro anos. Além disso, nessas condições, o açazeiro apresenta baixas produtividades, menos de 12t de frutos/ha/ano e 200kg de palmito/ha/ano (Siqueira et al., 1998).

A produção de frutos obtida pelo extrativismo ainda apresenta outros problemas, como corte indiscriminado de plantas para a extração de palmito, dificuldades no acesso às áreas de exploração, produções irregulares, baixos rendimentos de frutos por cacho e de polpa por frutos, além da baixa qualidade do produto final (Oliveira et al., 2000a). Portanto, este tipo de exploração oferece uma situação instável para qualquer produto, inclusive, impedindo sua concorrência com os obtidos por plantios racionais.

Quanto aos aspectos agrônômicos, as informações são escassas. Sabe-se que o açazeiro pode ser propagado por sementes ou por perfilhos, porém, este último método demanda muita mão-de-obra e tem baixo vingamento (Calzavara, 1972). Estudos realizados para viabilizar a propagação vegetativa de indivíduos superiores por vários métodos “*in vitro*”, ainda não apresentam protocolos conclusivos (Lêdo et al., 2001). Por este motivo, o método de propagação predominante ainda é por sementes, cuja germinação é fácil e rápida se forem obtidas de frutos recém-colhidos e despolidos, atingindo percentagem superior a 90% (Oliveira et al., 2000a).

Detalhes sobre a condução das mudas, assim como plantio, espaçamento, tratos culturais e demais aspectos relacionados ao cultivo do açazeiro para produção de frutos, são abordados por Oliveira et al. (2000a).

Nas condições de cultivo, a floração se inicia por volta de 2,5 anos após o plantio, colhendo-se os primeiros cachos entre 3,0 e 3,5 anos. A partir desse período, a produção ocorre anualmente, por mais de quinze anos (Oliveira et al., 2000a).

Após a colheita dos cachos, os frutos são removidos manualmente e colocados em paneiros (recipientes confeccionados com fibras vegetais) com capacidade de 12 a 30kg, sendo transportados via fluvial ou terrestre. Em média, um paniero de 12kg é comercializado por US\$3,84, correspondendo a US\$0,32/kg (Rogez, 2000). Por serem bastante perecíveis, os frutos necessitam de cuidados especiais na pós-colheita (Oliveira et al., 2000a).

Informações sobre a produtividade de frutos do açazeiro são bastante contraditórias (Calzavara, 1972; Rogez, 2000). As estimativas são baseadas em açazais nativos ou em pomares estabelecidos com sementes de procedências desconhecidas, devido ao pouco conhecimento sobre manejo e pela inexistência de cultivares (Oliveira et al., 2000a). Em condições experimentais, a produção por planta é altamente variável (0,1kg a 50,9kg de frutos/planta/ano), podendo ser ocasionada pela influência do genótipo, da procedência ou pelo ambiente (Oliveira et al., 2000a).

Apesar da existência de algumas variedades botânicas ou tipos, os frutos dessa palmeira são comercializados pela coloração, sendo 99% para o violáceo em detrimento do verde (Rogez, 2000).

Relatos sobre parâmetros bromatológicos dos frutos são variáveis. Segundo Rogez (2000), em média, têm-se 56,64% de matéria graxa; 10,05% de matéria nitrogenada total, 1,55% de glicose, 1,36% de frutose, 0,05% de sacarose, 25,22% de fibras; 440mg/kg de frutos de antocianinas (apenas nos

frutos violáceos) e 3,09% de cinzas totais, contendo, principalmente, potássio, cálcio, sódio, magnésio e fósforo.

Pelo exposto, pode-se verificar que a expansão de cultivos racionais do açaizeiro é uma realidade. Contudo, há preocupação na forma de como eles estão se estabelecendo, seja no Pará ou em outros estados brasileiros, cujos plantios vêm sendo realizados com sementes de procedências desconhecidas. Este panorama deve-se à escassez de informações básicas para a obtenção de cultivares, especialmente sobre a caracterização de germoplasma conservado em coleções que possam subsidiar programas de melhoramento.

2.2 Coleções de germoplasma de espécies do gênero *Euterpe*

O termo germoplasma representa a coleção de genótipos de uma espécie. O órgão oficial de recursos genéticos denomina como todo o material que constitui a base física da herança de uma espécie e que se transmite de uma geração para outra por meio de células reprodutivas (IBPGR, 1991). Assim, uma coleção de germoplasma pode ser formada de plantas, anteras, sementes, tecidos, células ou estruturas mais simples para manter disponível o máximo da diversidade genética da espécie, sendo conservada na forma *in situ* ou *ex situ*.

Na conservação *in situ*, o germoplasma é mantido no seu ambiente natural, enquanto na *ex situ* é feita fora dessas condições, freqüentemente em instituições de pesquisas. Esta última forma envolve a realização de coletas em áreas de distribuição natural da espécie, preferencialmente nos centros de origem e diversidade. Nas coleções de germoplasma *ex situ*, cada elemento é chamado de acesso, termo empregado para qualificar toda a amostra que representa a variação genética de uma população ou indivíduo obtido por coleta e ou intercâmbio (Vilela-Morales et al., 1997). Para esses autores, esta conservação possui um grande desafio que é evitar alterações genéticas nos acessos.

Espécies do gênero *Euterpe* apresentam sementes recalcitrantes e, por este motivo, só permitem a conservação *ex situ* nas seguintes formas: em coleções vivas no campo, *in vitro* e via criopreservação, porém, a primeira forma é a única tecnologia disponível até o momento. Na coleção de germoplasma formada por plantas vivas no campo, as plantas são mantidas em condições de cultivo experimental e, no caso de plantas perenes como as espécies do gênero em questão, necessitam de grandes áreas, de mão-de-obra permanente para a realização de manejo adequado, elevando os custos de instalação e de manutenção. Apesar de tudo, essa forma de conservação facilita a caracterização e a avaliação do germoplasma conservado, consideradas como atividades primordiais na geração de conhecimentos.

O Brasil é o maior detentor de germoplasma do gênero *Euterpe*, com registro de coleções em mais de onze instituições de pesquisa (Oliveira et al., 2000a). A coleção mais ampla encontra-se instalada na Embrapa Amazônia Oriental, constituída por 134 acessos, da qual grande parte deles é oriunda de coletas realizadas, no período de 1984 a 1988, em áreas de distribuição natural do açaizeiro (*E. oleracea*), envolvendo populações naturais, pomares caseiros e propriedades rurais (Lima & Costa, 1991). Nesses locais, a estratégia de coleta envolveu a obtenção de frutos de matrizes que apresentavam características desejáveis para a produção de frutos (Lima & Costa, 1997). Portanto, os acessos conservados nessa coleção representam famílias de meios-irmãos.

A coleção da Embrapa Amazônia Oriental apresenta informações completas sobre o registro dos acessos (Lima & Costa, 1991). Porém, as linhas de ação para estimar a diversidade genética potencial oferecida pelos complexos gênicos e a variabilidade genética disponível, assim como a definição de parâmetros que possam gerar informações sobre a eficiência do processo de coleta, manutenção e enriquecimento de novos acessos, são precárias, inclusive

a identificação de acessos desejáveis. Portanto, a caracterização desse germoplasma deve ser priorizada com vistas a preencher essas lacunas.

2.3 Caracterização de germoplasma

A caracterização é uma atividade essencial no manejo de coleções de germoplasma, pois consiste em tomar dados para descrever, identificar e diferenciar acessos dentro de espécies, classes ou categorias (Querol, 1988; Vicente et al., 2005). Em termos genéticos, refere-se à detecção da variação resultante de diferenças em seqüências de DNA ou genes específicos (Vicente et al., 2005).

Em plantas perenes, essa atividade desempenha papel preponderante por eliminar duplicatas, reduzir gastos consideráveis na manutenção, quantificar a diversidade, otimizar estratégias de amostragens, pelo conhecimento dos níveis de estruturação genética, além de identificar acessos desejáveis para programas de melhoramento genético. Em consequência disso, órgãos de pesquisas detentores de germoplasma desse grupo de plantas vêm envidando esforços para viabilizar estudos dessa natureza.

A caracterização de germoplasma pode ser realizada por diferentes métodos, incluindo desde práticas tradicionais, que envolvem o uso de lista de descritores morfológicos e agronômicos, a aplicações bioquímicas para detectar diferenças entre isoenzimas, proteínas e marcadores moleculares (Vicente et al., 2005).

Nas coleções e ou bancos de germoplasma de plantas perenes que possuem sementes recalcitrantes como é o caso do açazeiro, a caracterização tem sido feita tradicionalmente, com a utilização de descritores botânicos, morfológicos e agronômicos, os quais podem ser obtidos por mensuração (quantitativos) ou por observação (qualitativos). Neste tipo de caracterização, tem sido freqüente o emprego de estatísticas univariadas para quantificar a

diversidade, mas esta metodologia tem baixa precisão no aproveitamento dos dados, devido à interação entre genótipos x ambientes (Barros, 1991). Por este motivo, em algumas instituições, essa atividade vem sendo complementada pela aplicação de marcadores moleculares, que fornecem um estudo direto do genótipo por detectar diferenças ao nível do DNA.

Para Dias (1994), a caracterização por meio de marcadores moleculares, combinada à obtida por descritores morfológicos e agronômicos, parece mais apropriada para estudo de diversidade em bancos e coleções de germoplasma. Mesmo assim, em alguns casos, podem ocorrer discrepâncias, sugerindo que padrões evolutivos morfológicos e moleculares são distintos.

No Brasil, a maioria do germoplasma de plantas perenes conservado em coleções vivas é carente de informações sobre caracterização morfo-agronômica com o emprego de técnicas multivariadas e, especialmente, sobre a molecular. Este aspecto tem sido abordado em algumas espécies, como a mandioca (Cury, 1993; Pereira, 1989), o cajueiro (Barros, 1991), o cacauzeiro (Dias, 1994; Dias et al., 1997; Faleiro et al., 2001; Yamada et al., 2002), o cupuaçuzeiro (Alves, 2002; Araújo et al., 2002), a seringueira (Marques et al., 2002), o guaranazeiro (Nascimento Filho et al., 2001; Sousa, 2003), espécies do gênero *Citrus* (Koehler-Santos et al., 2003; Oliveira et al., 2002) e o maracujazeiro (Ganga et al., 2004). Em palmeiras, esses estudos ainda são mais escassos, havendo algumas informações sobre espécies promissoras para palmito (Ballvé, 1988; Sawazaki et al., 1998), dendê (Barcelos et al., 2002), coqueiro (Ribeiro et al., 1999) e pupunheira (Barbosa, 1997; Martel et al., 2003; Sousa et al., 2001).

Das coleções existentes sobre o gênero *Euterpe*, apenas duas vêm realizando estudos sobre caracterização: a do Instituto Agronômico de Campinas-IAC, envolvendo estudos morfológicos, bioquímicos e moleculares de ecotipos com e sem perfilhamento, cujo alvo principal é subsidiar programas de melhoramento para a produção de palmito (Ballvé, 1988; Sawazaki et al.,

1998) e a da Embrapa Amazônia Oriental, que possui informações preliminares sobre a caracterização morfológica, agrônômica (Oliveira, 1995; Oliveira et al., 1998) e molecular (Costa et al., 2001) de pouquíssimos acessos.

Na coleção da Embrapa Amazônia Oriental, as informações contemplam a produção de frutos e palmito. Inicialmente, a caracterização morfo-agronômica para frutos foi realizada em apenas 20 acessos e envolveu análises de estatísticas simples e univariadas de alguns caracteres (Oliveira, 1995; Oliveira et al., 1998), enquanto a molecular foi iniciada recentemente, com o uso de marcadores RAPD em dez genótipos (Costa et al., 2001). Portanto, essas atividades necessitam ser complementadas.

2.3.1 Molecular

Em coleções de germoplasma, a caracterização molecular tem sido realizada com vários objetivos, dentre eles têm-se a quantificação da diversidade e a determinação da estruturação genética. A interpretação da diversidade é feita por meio de uma medida de dissimilaridade, quase sempre visualizada por métodos de agrupamento. Já os níveis de variação genética podem ser obtidos por vários procedimentos, como pela análise de variância molecular.

Marcadores moleculares permitem acessar o genótipo e a variabilidade do DNA nas plantas, por identificar o polimorfismo e associar a genes de efeito maior (Milach, 1998). Mas, a proporção de DNA que está diretamente envolvida na codificação de proteínas é muito pequena em relação ao DNA total que compõe o genoma dos organismos. A maior parte do DNA não codificado é formada por seqüências repetitivas de várias naturezas, entre elas, os microssatélites (Litt & Luty, 1989). Grande parte das mutações ocorridas no DNA não codificado é seletivamente neutra, sendo responsável por um padrão de evolução diferente e mais rápido que a evolução fenotípica (Mühlen, 1999).

Várias técnicas de marcadores moleculares têm sido empregadas na caracterização da diversidade e na estruturação genética de germoplasma vegetal, especialmente as que detectam polimorfismo no DNA, utilizando amplificação via PCR, como o RAPD e SSR. Esta caracterização tem se mostrado útil, em virtude da diversidade molecular ser bem maior que a morfológica (Mühlen, 1999).

No que tange às palmeiras perenes, a diversidade e a diferenciação genética têm envolvido várias técnicas moleculares: RFLP (Lebrun et al., 1998), RAPD (Barbosa, 1997; Corniquel & Mercier, 1994; Costa et al., 2001; Moretzsohn et al., 2002; Rodrigues et al., 2004; Sawazaki et al., 1998; Sedra et al., 1998; Shah et al., 1994; Soliman et al., 2003; Sousa et al., 2001), SSR (Billote et al.; 2004; Conte, 2004; Gaiotto et al., 2003; Meerow et al., 2003; Perera et al., 2000; Perera et al., 2001; Souza, 2002; Zehdi et al., 2004a; Zehdi et al., 2004b) e AFLP (Adin et al., 2004; Barcelos et al., 2002; Cardoso et al., 2000; Lebrun et al., 1998). Em alguns desses estudos, há uma abordagem comparativa da eficiência de marcadores dominantes e codominantes.

Marcadores RAPD

A técnica RAPD foi descrita, inicialmente, por dois grupos de pesquisadores: Williams et al. (1990), que a denominaram de *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) e por Welsh & McClelland (1990), com o nome de *Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction* (AP-PCR) (citados por Milach, 1998). Embora as versões sejam distintas nos detalhes técnicos, são iguais no fundamento, pois se baseiam na amplificação de fragmentos de DNA por PCR, seguida da separação desses fragmentos por eletroforese em meio semi-sólido e visualização, com o auxílio da coloração em brometo de etídio e exposição em luz ultravioleta (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Milach, 1998).

Neste tipo de PCR, utilizam-se *primers* de composição arbitrária, freqüentemente com 10 bases, que podem apresentar homologia total ou parcial com uma ou mais regiões do genoma (Milach, 1998). Tais iniciadores permitem a amplificação de fragmentos de DNA não identificados *a priori*.

Apesar do baixo custo em relação às outras técnicas que detectam polimorfismo no DNA, apresenta baixa reprodutividade dos resultados entre laboratórios, ocasionada por diferentes fatores que afetam o padrão de bandas, como concentração de MgCl₂, temperatura de anelamento, tipo de polimerase e de termociclador, composição e comprimento dos *primers* e também baixo conteúdo de informação genética por loco, pois somente um alelo é detectado, sendo os outros interpretados como um alelo nulo (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Para esses autores, tais desvantagens podem ser minimizadas pela padronização de procedimentos e pelo emprego de maior número de *primers*.

Dois tipos de polimorfismo são detectados com o RAPD: 1) não ocorre pareamento na região de homologia do *primer* com o do genoma ou o pareamento é muito dificultado, não havendo amplificação desta região e, conseqüentemente, não há formação de bandas; 2) ocorre alteração do comprimento da região amplificada (por duplicação, inserção ou eliminação de nucleotídeos), resultando no aparecimento de bandas (Milach, 1998). Por este motivo, é considerado um marcador dominante, não fazendo distinção das regiões do genoma amplificadas, simultaneamente, ou seja, de bandas de um mesmo loco com diferentes alelos e das provenientes de diferentes locos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A caracterização molecular com o emprego de RAPD tem sido realizada na coleção de germoplasma de inúmeras espécies perenes. No Brasil, esta atividade vem sendo implementada no cacaueteiro (Faleiro et al., 2001; Yamada et al., 2002), na aceroleira (Salla et al., 2002), na seringueira (Marques et al., 2002), em espécies do gênero *Citrus* (Koelher-Santos et al., 2003; Oliveira et al.,

2002) e no guaranazeiro (Sousa, 2003), como também em palmeiras produtoras de palmito (Rodrigues et al., 2004; Sawazaki et al., 1998; Sousa et al., 2001).

Para o germoplasma de açaizeiro, há apenas um relato preliminar com o uso desse marcador (Costa et al., 2001).

Marcadores SSR

Microsatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) são marcadores relativamente novos, baseados em seqüências curtas, envolvendo 1 a 6 pares de bases, repetidas lado a lado no genoma (Milach, 1998). Essas seqüências estão presentes em todos os genomas, de procariotos e eucariotos já analisados, tanto em regiões codificadoras quanto em não codificadoras.

Souza (2002) relata que os microsatélites são diferenciados pela composição das unidades repetitivas, que pode ser: pura (formado por uma única unidade repetitiva), composta (com mais de uma unidade compondo a região) e interrompida (intercalada por diferentes nucleotídeos).

Seqüências repetidas em *tandem* representam regiões instáveis do genoma que estão sob alterações mutacionais, geralmente do tipo adição ou deleção de repetições em taxas variáveis, segundo o tipo de seqüência repetitiva, comprimento e posição no genoma, sendo mais elevadas que as observadas nas seqüências não repetitivas. Essa instabilidade pode ser ocasionada por dois mecanismos: 1) permuta desigual, devido ao pareamento errôneo das seqüências durante o quiasma ou 2) pareamento desalinhado da polimerase durante a replicação (*replication slippage*) do DNA. Tais eventos resultam em variação do número de cópias da unidade básica de repetição, tornando esses marcadores altamente polimórficos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os marcadores SSR possuem as seguintes características: são abundantes e estão uniformemente distribuídos por todo o genoma; apresentam polimorfismo do tipo codominância; são altamente multialélicos, possuindo o

maior conteúdo informativo por loco entre todas as classes de marcadores moleculares; são automatizáveis em sistemas multiplex, permitindo avaliar rapidamente um grande número de indivíduos para um grande número de locos; necessitam de pequenas quantidades de DNA e podem ser transferíveis entre espécies de um mesmo gênero e compartilhados entre diferentes laboratórios (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os principais limites de seu emprego em larga escala estão no custo elevado e nas tecnologias necessárias para a obtenção dos *primers* específicos que flanqueiam e amplificam regiões altamente repetitivas do DNA. Mas, se disponíveis, o custo assemelha-se à técnica RAPD, com exceção da separação dos fragmentos amplificados que normalmente é feita em géis de poliacrilamida, por permitirem maior resolução. Entretanto, pode ser realizada em géis de agarose de alta qualidade, em alta concentração (Milach, 1998). Mesmo assim, seu uso é compensado pelo elevado polimorfismo revelado, fazendo com que este marcador seja uma das melhores opções na caracterização da diversidade genética de germoplasma (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Em plantas, os microssatélites são cinco vezes menos abundantes que em humanos (Powell et al., 1996). Os primeiros trabalhos publicados foram feitos com milho e espécies arbóreas, sendo os dinucleotídeos AG e AC repetidos em grande abundância (Condit & Hubell, 1991). No genoma de vegetais, o dinucleotídeo mais repetido é o AT, seguido pelos AG e AC; nas monocotiledôneas, espera-se um microssatélite a cada 65 Kb, enquanto nas dicotiledôneas esta relação é de um a cada 21 Kb (Powell et al., 1996).

Esses marcadores vêm sendo empregados com sucesso na discriminação de acessos conservados em bancos de germoplasma (Kraic et al., 2002), no mapeamento genético, em genética de populações e na caracterização da diversidade e diferenciação genética (Charcosset & Moreau, 2004; Ferreira & Grattapaglia, 1998; Milach, 1998).

No Brasil, os microssatélites já foram obtidos para algumas espécies perenes, sendo aplicados em estudos de genética de populações (Ciampi & Grattapaglia, 2001; Conte, 2004; Gaiotto et al., 2003; Souza, 2002; Zucchi, 2002) e na caracterização da diversidade genética em coleções de germoplasma (Alves, 2002; Faleiro et al., 2002; Koehler-Santos et al., 2003).

Recentemente, 18 *primers* SSR foram desenvolvidos para *Euterpe edulis*, sendo sete transferíveis para *E. oleracea* (Gaiotto et al., 2001). Segundo esses autores, tais *primers* podem ser úteis na determinação de parâmetros genéticos populacionais, no sistema reprodutivo, no fluxo gênico, na estrutura genética e na diversidade genética. Mas, até o momento, esses *primers* foram aplicados apenas para avaliar a diversidade genética, o sistema reprodutivo e o fluxo gênico de uma população natural de açazeiro (Souza, 2002).

Diversidade genética

A diversidade genética é a porção hereditária de uma variação possível de ser observada e mensurada (Vilela-Morales et al., 1997). Segundo esses autores, pode ser empregado como termo alternativo para representar a variação genética, indicando o somatório da informação genética conhecida e potencial. Logo, quantifica o número de genótipos possíveis de ser detectado em uma população ou em qualquer hierarquia. Assim sendo, a caracterização com o uso de marcadores moleculares tem sido útil, em virtude da diversidade, em nível molecular, ser bem maior que a morfológica (Mühlen, 1999).

Vários trabalhos abordam a diversidade genética em palmeiras, tanto em populações naturais quanto em coleções de germoplasma, envolvendo diferentes tipos de marcadores moleculares, como RFLP (Lebrun et al., 1998), RAPD (Barbosa, 1997; Costa et al., 2001; Moretzsohn et al., 2002; Sedra et al., 1998; Shah et al., 1994; Negrão, 1999; Sawazaki et al., 1998), SSR (Conte, 2004; Gaiotto et al., 2003; Meerow et al., 2003; Perera et al., 2000; Perera et al., 2001;

Rivera et al., 1999; Souza, 2002; Zehdi et al., 2004b) e AFLP (Adin et al., 2004; Barcelos et al., 2002; Cardoso et al., 2000; Lebrun et al., 1998).

Os primeiros relatos sobre uso de marcadores SSR e RAPD em palmeiras, com o intuito de caracterizar a diversidade genética, foram realizados por Perera et al. (2000) e Shah et al. (1994), respectivamente. O estudo com RAPD foi desenvolvido em acessos da coleção de germoplasma de dendê da África, sendo detectada a geração de produtos polimórficos entre e dentro das populações. Já no trabalho com SSR, foram empregados oito *primers* recém-desenvolvidos para o coqueiro em 130 ecotipos da coleção de germoplasma do Sri Lanka, sendo 75 da variedade gigante e 55 da anã, obtidos de diferentes regiões, que geraram 51 alelos, a maioria deles nos acessos da variedade gigante, com diversidades médias de 0,589 para a gigante e 0,348 para a anã.

Para espécies do gênero *Euterpe*, estudos sobre a caracterização da diversidade genética com a utilização de marcadores RAPD e SSR são recentes, havendo relatos de quatro trabalhos: dois envolvendo RAPD em coleções de germoplasma (Costa et al., 2001; Sawazaki et al., 1998) e dois com SSR, abordando populações naturais (Gaiotto et al., 2003; Souza, 2002).

Sawazaki et al. (1998) caracterizaram a diversidade genética de nove ecotipos com e sem perfilhamento do gênero *Euterpe*, conservados na coleção de germoplasma do IAC-Campinas, SP. Foram utilizados 24 *primers*, os quais geraram 265 bandas, sendo observada ampla variabilidade intra e interespecífica, possibilitando, inclusive, a diferenciação entre os ecotipos, os quais apresentaram tendência de se agruparem por local de coleta.

Costa et al. (2001) também empregaram 24 *primers* para avaliar a variabilidade genética em dez genótipos de *E. oleracea* de diferentes procedências, conservados na coleção de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental. Esses autores constataram a amplificação de 177 produtos, os quais foram eficientes em detectar grande variabilidade, distribuída em cinco

agrupamentos e sugeriram o uso desses e de outros marcadores moleculares na caracterização de todos os acessos para subsidiar estudos de conservação e pré-melhoramento do açaizeiro.

Em uma população natural de açaizeiro sem ação antrópica, Souza (2002) aplicou sete *primers* SSR desenvolvidos por Gaiotto et al. (2001) e constatou altos valores para diversidade alélica e heterozigiosidade observada entre indivíduos adultos e também em plântulas. Gaitto et al. (2003) realizaram estudos semelhantes em duas populações naturais de *E. edulis*, com o uso de 18 *primers* que apresentaram elevados valores de diversidade. Concluíram que tais marcadores são adequados para estudos dessa natureza, como também para obter subsídios ao pré-melhoramento dessa espécie.

Estruturação genética

A estruturação genética refere-se à distribuição da variabilidade entre e dentro de populações e subpopulações. Nesta distribuição os alelos e os genótipos ocorrem de maneira heterogênea (não aleatória) no espaço e no tempo, sendo resultado da ação de forças evolutivas como a mutação, migração, seleção e deriva genética que atuam dentro do contexto de cada espécie e população (Hamrick, 1982).

O conhecimento da partição da variabilidade é um importante passo para se estabelecer estratégias de coletas e conservação de germoplasma. Segundo Brown (1992), as primeiras coletas devem ser baseadas na grande diversidade de regiões, sendo realizadas em um máximo de locais e a partir delas estudar a estruturação genética da espécie com intuito de sugerir estratégias de coletas mais eficientes.

A avaliação da diferenciação genética entre e dentro de populações naturais, como também de populações, procedências, tipos e variedades conservadas em bancos ou coleções de germoplasma, é primordial e requer

estudos específicos para que sejam bem manejadas, conservadas e domesticadas (Cardoso et al., 2000).

Diversos fatores podem afetar a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações da espécie ao longo de suas áreas de ocorrência, tais como: o tamanho da população, o modo de reprodução (sexual, assexual), o sistema de reprodução (autofecundação, cruzamento, misto), o fluxo gênico (dispersão de sementes e pólen) e os tipos de ambientes em que a espécie ocorre (Hamrick, 1982). Para este autor, populações de espécies alógamas tendem a trocar pólen entre si e, por isso, espera-se obter alto nível de diferenciação dentro das populações e baixo entre. Neste caso, as porcentagens de variação podem ser afetadas pelos mecanismos de dispersão de pólen e sementes.

Em espécies arbóreas nativas, outros fatores podem influenciar na estruturação genética como a fragmentação florestal (desflorestamento e exploração) e a ação antrópica, que ocasionam a redução no tamanho da população (Rotman & Boyle, 2000). Segundo esses autores, os principais efeitos desses fatores envolvem a redução da diversidade genética, a ocorrência de deriva genética e o aumento na taxa de endogamia, fazendo com que ocorra maior diferenciação genética entre populações, uma vez que o fluxo gênico fica prejudicado, principalmente se os polinizadores foram animais.

Inferências seguras sobre a estruturação genética podem ser obtidas por marcadores moleculares. O uso de marcadores moleculares neste estudo envolve diferentes metodologias, que dependem do tipo de marcador, se dominante ou codominante (Zucchi, 2002). Para esta autora, a caracterização da estrutura genética em populações naturais com o uso de marcadores codominantes pode ser abordada de três formas: 1) pelas estatísticas F de Wright, que permitem determinar a distribuição da variabilidade genética entre as populações (F_{st}) e os níveis médios de endogamia populacional (F_{is}) e total (F_{it}); 2) pelos coeficientes de coancestralidade de Cockerham (θ), que possibilitam a avaliação da

divergência em diferentes níveis de hierarquia (s =populações, n =indivíduos e $g=2$, organismos diplóides), como também a obtenção de estimativas de endogamia, a partir de uma base não viesada, e 3) pela análise da diversidade gênica em populações subdivididas, que compara os níveis de heterozigosidade entre e dentro das populações e obtém uma estimativa de divergência, tendo uma base diferente daquela fundamentada pelas estimativas de F_{st} e θ . Essas três abordagens possuem bases genéticas similares, além de serem complementares quanto ao significado biológico das estimativas obtidas (Reis, 1996). Já aquela obtida por marcadores dominantes só foi possível a partir da introdução da estatística ϕ_{st} , que proporcionou uma nova alternativa para esse tipo de marcador, uma vez que esses marcadores não permitem obter informações alélicas, a não ser em condições especiais, ou seja, admitindo equilíbrio em alogamia ($f=0$) ou em autogamia ($f=1$).

A estatística ϕ_{st} foi determinada por Excoffier et al. (1992). Esses autores incorporaram dados de diferentes haplótipos de DNA mitocondrial humano na forma de análise de variância (AMOVA), derivada da matriz de distâncias quadradas entre todos os pares de haplótipos e estimaram componentes de variâncias análogos às estatísticas F de Wright, sendo denominados de ϕ_{st} . Então, ϕ_{st} reflete a correlação da diversidade em diferentes níveis de hierarquias. Este método acomoda diversos tipos de matrizes de entrada fornecidas por diferentes tipos de marcadores moleculares, além de diferentes tipos de pressuposições evolutivas, sem modificar a estrutura básica da análise, sendo a significância dos componentes de variância testada por meio de permutações. Para esses autores, a AMOVA é facilmente aplicável em diferentes situações e constitui uma estrutura coerente e flexível para a análise de dados moleculares. Mohammadi & Prasanna (2003) consideram que este método pode ser empregado em qualquer grupo de indivíduos, seja com a aplicação de marcadores dominantes ou codominantes.

Exemplificando, no esquema da AMOVA, podem-se considerar as seguintes fontes de variação: entre populações, dentro de populações e total, em que P=número total de populações e N=número total de dados genotípicos ou número total de genes para dado haplótipo e ϕ_{st} representa a proporção da variabilidade molecular entre populações (Excoffier et al., 1992).

Muito embora a AMOVA não tenha sido desenvolvida para estudos com dados gerados por marcadores dominantes esta análise foi empregada pela primeira vez em plantas por Huff et al. (1993). Esses autores avaliaram a variação genética entre e dentro de seis populações naturais de *Buchloe dactyloides* com o emprego de marcadores RAPD. Mais tarde, Buso et al. (1998), utilizando esta metodologia para quantificar a variabilidade genética de populações de arroz da América do Sul por meio de marcadores isoenzimáticos e RAPD, encontraram diferentes padrões de diferenciação genética entre e dentro de populações para os tipos de marcadores aplicados. Recentemente, Zucchi (2002) empregou esta análise para avaliar a estrutura genética de dez populações da cagaiteira com marcadores RAPD, tendo detectado alto nível de diferenciação genética ($\phi_{st} = 0,2703$). Esta autora menciona vários trabalhos que utilizaram esta mesma metodologia aplicando RAPD em plantas.

A distribuição da variação genética em espécies de fecundação cruzada, monóica e ou dióica, de ciclo longo e clímax, é caracterizada por apresentar uma baixa variação entre populações ou procedências, sendo alta dentro da população (Loveless & Hamrick, 1984 citado por Zucchi, 2002). Mas, estudos desenvolvidos com espécies perenes que possuem estas características têm apresentado diferenciação genética variável conforme a espécie.

Em espécies arbóreas tropicais, a estrutura genética tem sido avaliada em algumas populações naturais com o emprego de diferentes marcadores moleculares (Cardoso et al., 1998; Ciampi & Grattapaglia, 2001; Zucchi, 2002). Em palmeiras, a partição da variação genética vem sendo realizada em

populações de *E. edulis* (Conte, 2004; Gaiotto et al., 2003), de *Syagrus romanzoffiana* (Negrão, 1999) e de *E. oleracea* (Souza, 2002), também com a utilização de diferentes marcadores moleculares.

Souza (2002) encontrou alta variabilidade genética dentro de uma população de açazeiro aplicando marcadores SSR, mas, obteve 12,9% de cruzamentos entre indivíduos aparentados e relacionou esta ocorrência a vários fatores: fluxo gênico predominante à curta distância, influência da sazonalidade de floração e perfilhamento abundante, os quais podem favorecer a autofecundação, resultando em aumento da endogamia e no aparecimento de homozigotos. Segundo esta autora, a taxa de cruzamento nesta espécie indica alogamia, mas, com elevada probabilidade de gerar irmãos germanos dentro de famílias de polinização aberta.

A AMOVA tem sido utilizada para determinar níveis de diferenciação genética com o emprego de diferentes marcadores moleculares, em germoplasma de algumas palmeiras (populações, tipos, ecotipos etc.) conservado em bancos e ou coleções de germoplasma, como no palmitreiro (Cardoso et al., 2000), no coqueiro (Perera et al., 1998; Perera et al. 2001) e no dendezeiro (Hayati et al., 2004). Entretanto, não há registros de estudos dessa natureza em coleções de germoplasma de espécies do gênero *Euterpe*.

2.3.2 Morfo-agronômica

A caracterização morfo-agronômica tem sido efetuada em coleções de germoplasma para gerar informações sobre a descrição e a classificação do material conservado, na discriminação de caracteres mais importantes e, principalmente, para subsidiar programas de melhoramento genético por identificar indivíduos desejáveis e quantificar a diversidade disponível.

Na maioria das coleções é de praxe a obtenção de dados morfológicos e agronômicos concomitantemente, o que explica a fusão dos nomes. Em plantas

perenes, os caracteres podem ser obtidos em diferentes estádios (germinação, juvenil e adulto), grupos (vegetativo, reprodutivo, produtivo) e modos, ou seja, por observações, registradas em escalas de notas (qualitativos), e ou por mensurações (quantitativos). A obtenção de descritores em várias etapas é feita com o objetivo de identificar caracteres que possam ser úteis na seleção precoce. Dessa forma, têm sido comuns a observação e ou mensuração de vários caracteres em um mesmo genótipo (Cury, 1993).

Quase sempre, as inúmeras informações obtidas são manipuladas por análises univariadas, gerando dificuldades na seleção de indivíduos desejáveis e na determinação da diversidade, como também de medidas que visem a redução de custos e a otimização de coleções (Pereira, 1989).

Procedimentos multivariados avaliam o indivíduo na sua multidimensionalidade, proporcionando uma visão holística de cada genótipo (Dias, 1994). Para este autor, as técnicas multivariadas têm se mostrado muito adequadas em discriminar caracteres e estimar a diversidade sem representar custos adicionais.

No Brasil, técnicas multivariadas têm sido empregadas na seleção de caracteres e na quantificação da diversidade de espécies perenes, como a mandioca (Cury, 1993; Pereira, 1989), o cajueiro (Barros, 1991), o cacauzeiro (Dias, 1994; Dias et al., 1997), o cupuaçuzeiro (Alves, 2002; Araújo et al., 2002), *Paspalum* (Strapasson, 1997), *Sesbania* (Veasey, 1998), guandu (Santos et al., 1994), capim-elefante (Daher, 1993; Shimoya et al., 2002), algodão (Carvalho et al., 2003) e guaranazeiro (Nascimento Filho et al., 2001; Sousa, 2003), promovendo grandes avanços nos conhecimentos do germoplasma. Mas, em coleções de palmeiras, elas têm sido negligenciadas, havendo poucos trabalhos (Martel et al., 2003; Ribeiro et al., 1999).

A caracterização de germoplasma de açazeiro visando à produção de frutos é recente. Esforços foram envidados na elaboração da lista preliminar de

descritores (Oliveira, 1998), mas, até o momento, os dados disponíveis são inconsistentes para quantificar a diversidade da coleção da Embrapa Amazônia Oriental (Oliveira, 1995; Oliveira et al., 1998; Oliveira et al., 2000b) e a capacidade discriminatória dos caracteres é desconhecida, não havendo o número exato de descritores capazes de distinguir os acessos.

Seleção de descritores

Nas coleções de germoplasma, o termo descritor é utilizado para se referir a um atributo ou caráter que se observa ou se mensura nos acessos (Querol, 1988), sendo capaz de discriminar um acesso de outro. Nesses locais, freqüentemente, há um grande número de acessos que necessita ser caracterizado e avaliado, além de ser regra geral a observação e a mensuração de um grande número de caracteres (Pereira, 1989).

Em muitos casos, os caracteres são obtidos sem um critério da sua real contribuição para a variabilidade e esse tipo de procedimento, além de produzir a duplicação da mesma informação para muitos caracteres, tem contribuído para uma análise multivariada confusa e de difícil interpretação (Dias, 1994).

No geral, todo caráter deve apresentar uma parcela de contribuição na variação do germoplasma analisado. Mas, há uma tendência de que o aumento do número de descritores avaliados ocasione a presença de caracteres redundantes, estando esses caracteres quase sempre associados a outros (Daher, 1993). Logo, a eliminação dos redundantes seria uma decisão vantajosa, pois reduziria o trabalho de tomada de dados sem ocasionar perda na precisão da caracterização, especialmente se esses caracteres forem de difícil mensuração e apresentarem baixa variabilidade e estabilidade de expressão (Pereira, 1989).

O conjunto reduzido de caracteres após o descarte deve se mostrar efetivo na representação da variação total, além de proporcionar uma redução nos gastos com mão-de-obra e no tempo destinado à tomada de dados.

A seleção de descritores tem sido realizada com base em várias análises estatísticas, podendo-se mencionar: a regressão e interdependência de dados, o coeficiente de repetibilidade, variáveis canônicas e componentes principais (Cruz, 1990). Contudo, a análise de componentes principais vem se destacando como a metodologia mais empregada em bancos e ou coleções de germoplasma, pois além de identificar os caracteres mais importantes na contribuição de variação total disponível entre os indivíduos analisados, fornece indicação para eliminar os que pouco contribuem (Dias et al., 1997; Alves, 2002).

O emprego da análise de componentes principais no descarte de caracteres foi impulsionado a partir da publicação dos trabalhos de Jolliffe (1972 e 1973). Este autor, analisando quatro métodos de descarte com base em dados simulados e reais, concluiu que este procedimento era satisfatório quando o número de caracteres rejeitados fosse igual ao de componentes principais que apresentassem variâncias inferiores a 0,7. Posteriormente, Mardia et al. (1979) complementando esta metodologia, recomendaram o descarte com base na observação dos componentes principais que apresentassem autovalores inferiores a 0,70 e, em cada um desses componentes, fosse descartado o caráter com maior coeficiente de ponderação em valor absoluto (autovetor). Este procedimento foi denominado, por Cruz (1990), de seleção direta.

Wilches (1983), aplicando a análise de componentes principais em 34 variedades de amendoim, propôs uma seleção prévia antes da utilização da metodologia de Jolliffe (1972 e 1973) e descartou os caracteres altamente influenciados pelo ambiente, com base na informação da análise de variância univariada realizada para cada caráter. Cruz (1990) menciona outros trabalhos que empregaram a seleção prévia por meio de outras análises estatísticas.

No Brasil, a análise de componentes principais tem sido aplicada na seleção de descritores em coleções de germoplasma de várias espécies, como mandioca (Cury, 1993; Pereira, 1989), cajueiro (Barros, 1991), capim-elefante

(Daher, 1993), espécies do gênero *paspalum* (Strapasson, 1997), cacauzeiro (Dias, 1994; Dias et al., 1997) e cupuaçuzeiro (Alves, 2002; Araújo et al., 2002).

O primeiro trabalho que utilizou esta metodologia no descarte de caracteres redundantes foi realizado Pereira (1989), quando caracterizou 280 acessos de mandioca com base em 28 caracteres e conseguiu descartar 50% dos caracteres analisados, o que proporcionou redução no trabalho e facilidade na interpretação dos dados. Mais tarde, Daher (1993), empregando a mesma metodologia na aplicação de 22 caracteres em 60 acessos de capim-elefante, obteve uma redução de 63,6% no conjunto de caracteres analisados.

Cury (1993) e Strapasson (1997) propuseram algumas alterações para aumentar a eficiência do descarte com o emprego da análise de componentes principais. O primeiro autor modificou parcialmente a metodologia de Jolliffe (1972 e 1973) quando estudou 20 caracteres em 30 acessos de mandioca, propondo uma nova análise com os caracteres remanescentes após o descarte de cada caráter, além da observação da matriz de correlação fenotípica para auxiliar no descarte dos caracteres redundantes. Realizou este procedimento até não ser possível discriminar o maior autovetor no último componente principal e considerou, a partir desta situação, o processo inconsistente. Com esta modificação, reduziu 30% dos caracteres, em vez dos 65% propostos na metodologia inicial, sem perda significativa de informações e concluiu que o número de descarte não deve ser pré-fixado como sugerido na seleção direta. Cruz (1990) denominou este procedimento de seleção com reanálise. No segundo trabalho, o número de acessos era bem inferior ao número de caracteres avaliados, os quais pertenciam a diferentes grupos e o autor realizou as análises de componentes principais para cada grupo de caracteres, descartando os redundantes, dentro de cada grupo, com base na metodologia inicial de Jolliffe. Em seguida, procedeu a mais uma análise, utilizando todos os descritores previamente selecionados para definir o conjunto final de descritores e concluiu

que, dos 40 caracteres avaliados, apenas oito seriam importantes na quantificação da variação dos acessos.

De modo geral, a seleção direta tem sido o procedimento mais adotado no descarte de caracteres em bancos e ou coleções de germoplasma, especialmente quando se tomam dados de caracteres morfológicos e agronômicos, simultaneamente, em um grande número de acessos. Um outro procedimento que tem sido adotado, para dar maior segurança na seleção de descritores, é o emprego de mais de um procedimento no descarte dos caracteres redundantes (Alves, 2002; Daher, 1993; Dias et al., 1997).

Na literatura disponível, não foi encontrado nenhum trabalho empregando a análise de componentes principais no descarte de caracteres ou na seleção de descritores, para a caracterização de acessos em bancos e ou coleções de germoplasma de espécies pertencentes ao gênero *Euterpe*, especialmente para o açazeiro visando à produção de frutos.

Eficiência do descarte

Pelo fato de alguns trabalhos criticarem o emprego da análise de componentes principais no descarte de caracteres, especialmente quando se utiliza o método da seleção direta, considerado um procedimento drástico, faz-se necessária a avaliação de sua eficiência (Alves, 2002).

A avaliação da eficiência tem sido realizada com base na comparação do poder discriminatório do conjunto de caracteres original com o dos descritores selecionados. Alguns trabalhos sugerem que esta avaliação seja feita pela comparação dos agrupamentos formados antes e depois do descarte. Por exemplo, Cury (1993) comparou a eficiência do descarte por meio do número de agrupamentos formados por todos caracteres com os obtidos pelos descritores selecionados, levando em consideração no método de otimização de Tocher. Araújo et al. (2002) e Dias (1994) também utilizaram este mesmo método na

comparação da eficiência de descarte em acessos de cacaueteiro e de cupuaçuzeiro, respectivamente, obtendo agrupamentos próximos sem perda de informações.

Outras metodologias vêm sendo empregadas na avaliação da eficiência do descarte, como o estudo comparativo dos agrupamentos formados pelo dendrograma (Bekele et al., 1994) e a comparação por meio de medidas de similaridade, estimadas pelo coeficiente de correlação entre os pares obtidos (r_1) e entre dois conjuntos de componentes (Q_1), utilizada por Strapasson (1997). Essa última indicada para condições onde o número de caracteres é superior ao número de acessos.

Diversidade fenotípica

Em plantas perenes, a maioria do germoplasma conservado encontra-se instalado em coleções vivas no campo, estando freqüentemente distribuído em linhas, onde cada acesso é representado em média por dez plantas, independente de ser clone ou progênie, sem a observância dos princípios básicos experimentais, especialmente a casualização e o controle local (Dias et al., 1997). Portanto, a diversidade obtida nessas condições tem natureza fenotípica, ou seja, reproduz a diversidade genética sob a influência do ambiente.

No Brasil, a diversidade fenotípica por meio de análises multivariadas foi determinada em germoplasma de mandioca (Cury, 1993; Pereira, 1989); cajueiro (Barros, 1991), cacaueteiro (Dias, 1994; Dias et al., 1997), cupuaçuzeiro (Alves, 2002; Araújo et al., 2002), no gênero *Paspalum* (Strapasson, 1997), em espécies de *Sesbania* (Veasey, 1998), guandu (Santos et al., 1994), capim-elefante (Daher, 1993; Shimoya et al., 2002), algodão (Carvalho et al., 2003) e guaranazeiro (Nascimento Filho et al., 2001; Sousa, 2003).

Em palmeiras, essa diversidade tem sido quantificada em coleções de germoplasma de coqueiro (Balakrishnan & Namboodiri, 1987; Sugimura et al.,

1997; Ribeiro et al., 1999; Vargas & Blanco, 2000) e de pupunheira (Barbosa, 1997; Martel et al., 2003).

No coqueiro, Balakrishnan & Namboodiri (1987) avaliaram a divergência em 24 ecotipos da variedade gigante, por meio de 17 caracteres morfo-agronômicos, os quais foram analisados pela distância de Mahalanobis e conseguiram discriminar os acessos e escolher parentais mais divergentes. Sugimura et al. (1997) observaram 35 caracteres botânicos e agrônômicos em 39 acessos de diferentes tipos pertencentes à coleção das Filipinas e verificaram diferenças significativas entre tipos para doze caracteres com variação alta dentro deles. Ribeiro et al. (1999) analisaram cinco populações da variedade gigante de diferentes procedências para 19 caracteres de frutos, com o uso da distância de Mahalanobis e variáveis canônicas, constatando que as populações foram divergentes entre si, sendo as análises úteis e concordantes. Vargas & Blanco (2000), avaliando quatro populações da variedade gigante da coleção das Filipinas, com base em caracteres de frutos, constataram extrema heterogeneidade entre as populações, que formaram quatro grupos distintos.

Martel et al. (2003) aplicaram três técnicas multivariadas em quinze descritores morfológicos, para discriminar dezesseis populações do BAG-pupunha e obtiveram a formação de três grupos, concluindo que todas as técnicas foram eficientes.

Com relação ao açaizeiro, foi encontrado um estudo preliminar, abordando a diversidade em 39 matrizes procedentes de quatro locais do Amapá (Gazel Filho & Lima, 2002). Esses autores, aplicando a lista preliminar de descritores para esta espécie e com o emprego de três métodos de análise multivariada, obtiveram a formação de quatro grupos distintos entre si.

Informações dessa natureza, apesar de essenciais, são inexistentes no germoplasma de açaizeiro conservado na Embrapa Amazônia Oriental.

2.4 Medidas para estimar a diversidade

Há duas maneiras básicas para se inferir a diversidade genética: uma de natureza quantitativa e outra preditiva (Cruz & Carneiro, 2003). Segundo esses autores, dentre os métodos quantitativos têm-se as análises dialélicas, mas, em plantas perenes, a aplicação não é apropriada, por ser extremamente trabalhosa e de alto custo. Já os métodos preditivos são viáveis e tomam por base as diferenças morfológicas, agronômicas e moleculares, quantificando-as por alguma medida de dissimilaridade que expressa o grau de diversidade genética entre os genótipos. A inferência da diversidade genética com base na diversidade geográfica também é um exemplo preditivo, mas tem sido bastante criticado.

Assim, três medidas de dissimilaridades podem ser aplicadas para representar a diversidade em coleções de germoplasma, que diferenciam-se com o tipo de variável obtida, ou seja, se quantitativas, binárias ou multicategóricas (Cruz & Carneiro, 2003). Porém, independente da variável, essas medidas são freqüentemente interpretadas e visualizadas por técnicas multivariadas.

Os métodos multivariados empregados com freqüência na visualização e interpretação da diversidade em plantas perenes têm sido: análises de componentes principais, análises de agrupamentos e variáveis canônicas (Alves, 2002; Araújo et al., 2002; Barros, 1991; Cury, 1993; Dias, 1994; Dias et al., 1997; Martel et al., 2003; Moura, 2003; Sousa, 2003; Staton et al., 1994).

As técnicas de agrupamento dependem de uma medida de dissimilaridade que, para variáveis quantitativas, pode-se ser: a distância euclidiana ou a de Mahalanobis; a escolha de uma ou de outra distância está baseada na precisão experimental, sendo a distância euclidiana média padronizada a mais empregada na caracterização de coleções de germoplasma de plantas perenes onde os acessos estão instalados sem casualização e controle local (Cruz & Carneiro, 2003; Cruz et al., 2004). Para dados moleculares, onde se obtém uma matriz composta por dados binários, representados pelos números

0 (ausência) e 1 (presença de bandas), aplicam-se vários índices de similaridades que variam de 0 a 1, sendo as dissimilaridades obtidas de seus complementos (Cruz & Carneiro, 2003; Cruz et al., 2004; Dias, 1998).

As propriedades matemáticas e genéticas dos coeficientes de dissimilaridades, obtidos de frequências alélicas, e dos de similaridades, gerados de dados binários, empregados em marcadores moleculares, foram amplamente discutidas por Reif et al. (2005). Segundo esses autores, quando os dados são obtidos por marcadores que geram alelos não informativos ou são organizados em uma matriz binária, eles permitem a análise apenas pelo uso de coeficientes de similaridade e destacaram três deles como os mais importantes: o de coincidência simples (S_{SM}), o de Jaccard (S_J) e o de Dice (S_D), sendo que os dois últimos não contabilizam valores nulos (00). Relataram, ainda, que complementos aritméticos desses coeficientes representam dissimilaridades ($d = 1 - S$), as quais têm propriedades de distâncias e que a dissimilaridade obtida pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice (d_D) também pode ser denominada de distância de Nei-Li.

Análises de componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) baseia-se no estudo simultâneo de inúmeras variáveis, as quais são condensadas em poucas variáveis sem a perda de informação (Dias, 1994). A principal vantagem desse método está em permitir sua aplicação em dados obtidos de experimentos instalados sem obedecer a nenhum delineamento experimental (Cruz & Carneiro, 2003), um fato comum em coleções de espécies perenes.

Esta técnica foi desenvolvida por Pearson, segundo Morrison (1976) e envolve a matriz de correlação R ou a matriz de covariância H. A primeira é a mais empregada, porém, a padronização dos dados mensurados em escalas diferentes faz com que as matrizes R e H tornem-se idênticas. A estimação dos

componentes principais é feita por um sistema de combinações lineares de todas as variáveis envolvidas, sendo o primeiro componente o de maior variância, que corresponde ao autovalor λ_1 da matriz R (Mardia et al., 1979). O segundo componente detém a variável não correlacionada ao primeiro e a segunda maior variância e assim sucessivamente. Detalhes sobre esta técnica podem ser encontrados em Cruz et al. (2004).

Nesta análise, a importância de cada componente é explicada pela porcentagem da variância total que o mesmo representa. Segundo Morrison (1976), o melhor resumo para visualizar grupos de similaridade ocorre quando 75% ou mais da variância total são explicados pelos dois ou três primeiros componentes, permitindo a construção de gráficos bi ou tridimensionais, cujos eixos são formados pelos escores dos respectivos componentes.

Em coleções de germoplasma de plantas perenes, a análise de componentes principais vem sendo aplicada com diferentes finalidades: na identificação de genitores divergentes, na origem e evolução, na diferenciação de populações, na taxonomia de híbridos naturais, na avaliação da diversidade fenotípica e genética e, especialmente, no descarte de caracteres redundantes.

A aplicação na avaliação da diversidade deve ser feita quando os dois primeiros componentes principais contemplam mais de 80% da variação total, sendo interpretada pela representação gráfica desses componentes (Cruz et al., 2004). Contudo, se este limite não for alcançado, a análise deve ser complementada pela dispersão gráfica feita em relação ao terceiro e quarto componentes (Cruz & Carneiro, 2003; Cruz et al., 2004). Segundo Pereira (1989), a concentração da variância nos primeiros componentes está relacionada com a natureza (botânico, morfológico ou de produção) e com o número de caracteres utilizados na análise.

O descarte de caracteres redundantes é uma das principais finalidades desta análise, cuja tendência é concentrar as principais informações em uma

amostra de caracteres que represente o máximo de variação. Os caracteres indicados para descarte são pouco informativos e, na maioria das vezes, complicam os dados, por não proporcionarem informação adicional. Mesmo assim, é comum o descarte ocasionar pequenas alterações no resultado final (Cury, 1993). Mas, se um subconjunto de variáveis for bem selecionado não ocorrerão perdas de informações (Jolliffe, 1972 e 1973).

A utilização desta técnica em bancos de germoplasma de espécies tropicais perenes tem sido realizada, especialmente para descarte de caracteres redundantes, pois, nessas condições, é comum a variância encontrar-se diluída em vários componentes principais (Alves, 2002; Araújo et al., 2002; Dias, 1994; Dias et al., 1997; Pereira, 1989). Em alguns casos, esta análise também tem sido aplicada na avaliação da diversidade (Araújo et al., 2002; Martel et al., 2003; Nascimento Filho et al., 2001).

Análise de agrupamento

A análise de agrupamento tem por objetivo reunir diversos acessos (populações, clones, procedências, progênies, etc.) com o uso de medidas de dissimilaridades (Cruz & Carneiro, 2003). Então, é necessário estimar uma matriz de dissimilaridade e, com base nesta matriz, identificar os grupos similares. Para Dias (1994), a principal utilidade dessa técnica ocorre quando emprega-se em um grande conjunto de dados, transformando-o em pequenos subconjuntos de mais fácil interpretação e manipulação.

A matriz de dissimilaridade para dados moleculares dicotômicos, que envolve a presença (1) e ausência (0) de bandas, é obtida por meio do complemento aritmético de um índice de similaridade ($dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$). A similaridade (sg_{ij}) é uma medida estabelecida entre um genótipo (g_i) e outro (g_j), sendo expressa em valores que variam entre 0 e 1 (Cruz & Carneiro, 2003).

Há vários coeficientes de similaridades que se diferenciam por considerar ou não a ocorrência das quatro possíveis observações da banda no gel, sendo elas: 1) $a=11$, presença no par de genótipos, 2) $b=10$, presença no genótipo i e ausência em j , 3) $c=01$, ausência no genótipo i e presença em j , e 4) $d=00$, ausência no par de genótipos (Cruz & Carneiro, 2003; Dias, 1998). Segundo esses autores, os coeficientes de coincidência simples, Jaccard e Dice são os mais empregados.

A matriz de dissimilaridade de dados morfo-agronômicos quantitativos é comumente construída com medidas de distâncias euclidianas ou de Mahalanobis, sendo a última a mais precisa (Dias, 1994). Contudo, na caracterização de dados obtidos em coleções de germoplasma, em que os acessos são instalados sem atender às prerrogativas de um delineamento experimental (casualização e controle local), a distância euclidiana, baseada no teorema de Pitágoras e aplicada a múltiplos eixos ortogonais, é a mais adequada (Cruz & Carneiro, 2003). Para esses autores, a distância euclidiana torna-se mais eficiente se obtida de variáveis padronizadas, por não permitir a alteração da distância pelas diferentes escalas de mensuração e nem pelo número de caracteres, obtendo-se, então, a distância euclidiana média padronizada.

Os métodos de agrupamentos classificam-se em dois tipos: hierárquicos e não hierárquicos. A diferença entre eles está no fato do primeiro envolver a construção de dendrograma. Nos hierárquicos, o agrupamento é realizado em n genótipos aos pares com $n(n-1)/2$ combinações possíveis, porém, se o número de genótipos for grande, a identificação de grupos homogêneos apenas pela visualização da matriz é quase impraticável (Cruz & Carneiro, 2003).

Os hierárquicos se dividem em divisivos e aglomerativos. Nos aglomerativos, os genótipos mais similares são agrupados primeiro e, a partir deles, novos grupos são formados, de acordo com suas similaridades. Cruz & Carneiro (2003) descrevem vários tipos de agrupamentos hierárquicos aglomerativos, podendo-se destacar o método *Unweighted Paired Group*

Method Using Arithmetic Averages (UPGMA), que permite a construção de um diagrama de árvore denominado de dendrograma. Nele identificam-se os grupos homogêneos e a delimitação desses grupos ocorre nos pontos de alta mudança de nível. Dentro do não hierárquico, tem-se o método de otimização, desenvolvido por Tocher (Rao, 1952), o qual estabelece grupos cujas médias das distâncias intragrupos são sempre menores que as distâncias médias intergrupos, formando, assim, grupos homogêneos mutuamente exclusivos entre si (Dias, 1994; Pereira, 1989).

Os métodos hierárquicos aglomerativos, especialmente o UPGMA, são os mais usados na visualização e interpretação da diversidade genética de germoplasma conservados em coleções e obtidos por dados moleculares, independente do tipo de marcador (Alves, 2002; Moura, 2003; N’Goran et al., 1994; Sousa et al., 2001; Sousa, 2003). No caso da interpretação da diversidade fenotípica, é comum o uso dos dois métodos de agrupamento, sendo o descritor de natureza diferente ou não, como também com ou sem descarte (Dias, 1994; Dias et al., 1997; Moura, 2003; Pereira, 1989; Sousa, 2003).

2.5 Comparação entre diversidades genética e fenotípica

A diversidade genética entre genótipos pode ser avaliada com base em marcadores moleculares e bioquímicos, enquanto a fenotípica pode ser obtida por caracteres morfológicos, botânicos e agrônômicos, as quais são quantificadas pelas estimativas de dissimilaridades.

A comparação entre as dissimilaridades genética e fenotípica pode ser realizada por meio da correlação de Spermán ou com base no teste Z de Mantel. Este teste compara duas matrizes entre si, elemento por elemento, fornecendo um valor de correlação (valor cofenético) e quantificando o grau de relacionamento entre as matrizes por meio de permutações, sendo, portanto, um teste de significância (Manly, 1997). Valores de r superiores a 0,50 são

considerados estatisticamente significativos a 1% de probabilidade, se o número de unidades observadas for superior a 15 (Tatineni et al., 1996).

Segundo Dias (1994), a quantificação da diversidade entre acessos com o emprego da caracterização morfológica só tem sentido se ela refletir a diversidade genética. Entretanto, os marcadores moleculares normalmente usados encontram-se distribuídos aleatoriamente no genoma e, conseqüentemente, apenas uma minoria pode estar associada a genes. Logo, é esperado que esses marcadores não devam guardar concordância com caracteres fenotípicos.

Atualmente, muitos trabalhos envolvendo espécies perenes buscam explicar o grau de concordância entre essas duas dissimilaridades, seja por correlação ou pelo teste Z de Mantel, pois é uma forma de reduzir tempo na identificação de indivíduos desejáveis para programas de melhoramento genético e na otimização da conservação de germoplasma em bancos e ou coleções (Alves, 2002; Barros, 1991; Koehler-Santos et al., 2003; N’Goran et al., 1994; Sousa, 2003). Segundo N’Goran et al. (1994), a possibilidade de concordância entre a dissimilaridade genética e fenotípica varia com o tamanho da amostra, sendo, geralmente, reduzida quando a amostra apresenta tamanho pequeno. Porém, a concordância entre elas parece depender também, da espécie envolvida e da metodologia empregada.

Para diferentes espécies, esta concordância tem se mostrado variável com a aplicação de metodologias similares. Por exemplo, Barros (1991) não encontrou concordância entre dados morfométricos e isoenzimáticos em acessos de cajueiro. Mas, Daher (1993) e Veasey (1998) obtiveram concordâncias quando compararam os agrupamentos formados por padrões morfológicos e isoenzimáticos, o primeiro em acessos de capim-elefante e o segundo na separação de espécies anuais e perenes do gênero *Sesbania*.

Em outras espécies perenes, empregando diferentes metodologias, foram obtidas associações significativas e de altas magnitudes, como na avaliação de acessos de cupuaçuzeiro, por meio de marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos (Alves, 2002) e de guaranazeiro, com o uso de marcadores RAPD e caracteres morfológicos (Sousa, 2003). Porém, Koehler-Santos et al. (2003) não encontraram coincidências no padrão de variação entre marcadores SSR e caracteres morfológicos, quando avaliaram germoplasma de tangerineiras.

No caso de palmeiras perenes, os trabalhos também apresentam resultados variáveis. Barbosa (1997), analisando a variabilidade em progênies de pupunheira por meio de marcadores RAPD e caracteres vegetativos e de produção de palmito, não observou concordância no número e na distribuição dos agrupamentos formados pelo método de Tocher. Já Sawazaki et al. (1998), estudando várias espécies de palmeiras produtoras de palmito, visualizaram pontos coincidentes entre os dendrogramas produzidos por isoenzimas e RAPD, e sugeriram que as bandas de RAPD observadas seriam produtos de expressão gênica.

Na literatura disponível, não há registro de trabalhos com a espécie em questão.

2.6 Correlações entre diversidades e distâncias geográficas

Em situações nas quais não existem informações sobre a capacidade de combinação e a divergência entre genótipos, a associação ou não entre a diversidade fenotípica e a distância geográfica tem sido considerada como indicativo de divergência genética (Barros, 1991; Pereira, 1989).

A diversidade genética pode estar associada à distância geográfica, porém, cada espécie tem sua própria história. Fatores, como a seleção, deriva genética, fluxo gênico, entre outros, podem atuar de forma conjunta ou isolada,

em diferentes intensidades e determinar a existência ou não de algum paralelismo entre essas medidas (Dias, 1994).

Assim como no item anterior, a associação entre as diversidades, obtidas pelas estimativas de dissimilaridades, e distâncias geográficas tem sido avaliada por meio de correlações de Sperman e pelo teste Z de Mantel.

Diversos trabalhos tentam explicar a relação das dissimilaridades genética e fenotípica com a origem geográfica, pois uma forte associação entre essas medidas poderia levar a um melhor planejamento e eficiência na caracterização e avaliação de germoplasma, como também nos programas de melhoramento.

O aumento da distância geográfica nem sempre implica em maior divergência genética, pois a deriva genética e a seleção em diferentes ambientes podem contribuir muito mais para a divergência do que a separação geográfica (Upadhyay & Murty, 1970). O intenso intercâmbio de germoplasma realizado por pesquisadores e instituições, adicionado às características dos índios e de colonos de levarem sementes das melhores plantas de suas roças sempre que mudam de local, tem ocasionado uma recombinação geral de todo o germoplasma o que tem contribuído para o desaparecimento de tipos locais e a não ocorrência de correlação (Cruz & Carneiro, 2003).

Peters et al. (1990), avaliando dados de quatro bancos de germoplasma diferentes, constataram que as informações sobre a diversidade geográfica foram eficientes na estratificação dos dados dessas coleções. Contudo, Barros (1991) menciona diversos trabalhos nos quais não foi verificada qualquer relação entre a divergência genética e a distância geográfica, apesar de ter sido detectada grande diversidade genética nas espécies avaliadas. A ausência de relação tem sido mencionada também no estudo de germoplasma de outras espécies tropicais, como a mandioca (Cury, 1993; Pereira, 1989) e o capim-elefante

(Daher, 1993). Segundo Pereira (1989), esta associação parece comum em espécies autógamas.

Em plantas tropicais perenes, a associação entre dissimilaridade genética e ou fenotípica com distâncias geográficas é variável, com registros indo desde a ocorrência de alta correlação (Telles et al., 2001), associação parcial (Bekele et al., 1994; Dias, 1994) até a não correlação (Alves, 2002; Barros, 1991; Dias et al., 1997; Nascimento Filho et al., 2001).

No caso de palmeiras, há relatos de associação (Cardoso et al., 2000; Collevatti et al., 2001; Costa et al., 2001; Fontaine et al., 2004; Hayati et al., 2004; Reis, 1996; Perera et al., 2001; Sawazaki et al., 1998) e de não correlação (Adin et al., 2004; Moretzohn et al., 2002; Zehdi et al., 2004b).

Na caracterização de várias espécies de palmeiras por isoenzimas e RAPD, Sawazaki et al. (1998) observaram uma tendência de similaridade entre ecotipos de *Euterpe* com e sem perfilhamento, de acordo com a região geográfica. Reis (1996), caracterizando a estrutura genética de populações de *E.edulis*, sugeriu o modelo de isolamento por distância como forma de organização da variabilidade genética dessa espécie.

Costa et al. (2001), analisando a variabilidade genética em dez genótipos de açazeiro da Coleção da Embrapa Amazônia Oriental por meio de RAPD, sugeriram a ocorrência de associação entre a similaridade genética e a distância geográfica. Mas, esses autores não realizaram nenhuma análise que pudesse comprovar a concordância ou a associação entre esses dados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição do germoplasma

Neste estudo foram utilizados acessos de açaizeiros pertencentes à coleção de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA (1°27'21"S e 48°30'16", com altitude de 10,8m). O clima local, segundo a classificação de Koppen, corresponde ao tipo quente e úmido (Af_i), caracterizado por uma estação chuvosa com precipitação média de 2.740mm, temperatura média de 26 °C e umidade relativa do ar próxima de 90%.

Essa coleção foi estabelecida a partir de novembro de 1985, sendo constituída por 134 acessos, representantes de 26 locais (procedências) de quatro estados brasileiros, Pará, Amapá, Maranhão e Espírito Santo. Nessa coleção, todos os acessos coletados foram registrados como pertencentes à espécie *Euterpe oleracea* (Lima & Costa, 1991), enquanto dois acessos recebidos por intercâmbio são híbridos interespecíficos entre *Euterpe oleracea* x *E. spiritossantensis* (Oliveira et al., 2000a).

Os acessos estabelecidos nesta coleção foram obtidos de sementes colhidas de plantas com características desejáveis para a produção de frutos, com a maioria coletada em pomares caseiros, pequenas propriedades e em populações naturais (Lima & Costa, 1991). Cada acesso deveria ser representado por dez plantas, mas devido às falhas na germinação e morte no plantio, este número passou a ser variável (2 a 10 plantas). As plantas encontram-se dispostas em linhas ao acaso, no espaçamento de 5m x 3m e cada acesso corresponde a uma família de meios-irmãos.

Nessa coleção, foram caracterizados 116 acessos, por meio de marcadores moleculares do tipo RAPD e SSR, os quais permitiram a coleta de folhas e 87 acessos por meio de descritores morfo-agronômicos, que

apresentaram frutificação em, pelo menos, uma planta. A identificação dos acessos consta na Tabela 1A.

3.2 Caracterização molecular

Para a análise de marcadores moleculares foram retirados folíolos da folha mais jovem das plantas adultas de 116 acessos, representantes de 26 procedências (Tabela 1A). As coletas dos folíolos foram realizadas em 536 plantas, com o auxílio de escada e podão. Os folíolos de cada planta foram identificados, secos em estufa, embalados em sílica gel e enviados ao Laboratório de Genética Molecular, pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), para efetuar a extração do DNA.

A extração do DNA genômico total foi realizada pelo procedimento semelhante ao de Nienhuis et al. (1995), utilizando-se cerca de 1,0g de folha seca de cada planta, que foi macerada em almofariz contendo 10mL de tampão para extração com CTAB a 65°C, acrescido de 100µL de β-mercaptoetanol e nitrogênio líquido. O macerado foi colocado em tubo plástico e mantido em banho-maria a 65°C por 40 minutos, agitando-se a intervalos de 10 minutos. Em seguida, foi feita a primeira extração de DNA pelo acréscimo ao macerado de 10mL da solução clorofórmio:álcool isoamil (24:1), sendo homogeneizado e centrifugado por dez minutos a 5.000 rpm para a separação das fases orgânicas e aquosas. O sobrenadante foi coletado e colocado em 30ml da solução de álcool etílico a 95%:acetato de amônia 7,5M (6:1) e armazenado sob baixa temperatura (-20°C) para a precipitação dos ácidos nucleicos. Procedeu-se a coleta do DNA, o qual foi colocado para secar a temperatura ambiente e, depois de seco, acrescentaram-se 300µL de TE (Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 7,7).

Foi realizada uma segunda extração com o DNA dissolvido, pelo acréscimo de clorofórmio álcool isoamil, sendo centrifugado a 12.000 rpm. O sobrenadante foi coletado em tubo tipo eppendorf de 1,5 ml e completado com o

triplo de seu volume pela solução de álcool etílico a 95%:acetato de sódio 3M (20:1), sendo mantido sob baixa temperatura por, no mínimo, uma hora. Em seguida, eliminou-se o sobrenadante e o DNA foi seco a temperatura ambiente e reidratado em 50-100 μ L de tampão TE.

Após este processo, o DNA foi quantificado em fluorímetro (Hoeffer Scientific TKO 100), colocando-se 2 μ L de DNA em 2mL de tampão (Tris 10mM, EDTA 1,0mM, NaCl 0,1M com pH de 7,4) contendo 0,1 μ L.mL⁻¹ do corante H32258. As amostras de DNA quantificadas foram diluídas em TE para a concentração de 10ng. μ L⁻¹ e armazenadas sob baixa temperatura (-20°C) para uso nas reações de RAPD e SSR.

Os DNAs empregados nas reações foram obtidos dos 116 acessos, sendo cada acesso formado pela mistura equitativa do DNA de cada planta que representa o acesso na coleção.

3.2.1 Reação RAPD

Inicialmente, foi realizada a pré-seleção dos *primers*, com o emprego de 120 *primers* RAPD em cinco acessos de açazeiro. Desse total, os 28 *primers* que se revelaram polimórficos foram aplicados nos 116 acessos.

O volume total utilizado nas reações foi de 16 μ L, preparado de modo semelhante ao procedimento de Nienhuis et al. (1995) e contendo: 35ng da mistura de DNA genômico, 50 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,4 μ M de um oligonucleotídeo iniciador (*primer*), 3 unidades da enzima Taq DNA polimerase e tampão de reação (50mM de tris pH 8,0; 2,0mM de MgCl₂; 20mM de KCl; 250 μ g.mL⁻¹ de albumina de soro bovino; 1% de ficoll 400 e 1mM de tartrazine).

As reações foram preparadas em microtubos de 0,2mL, sendo realizadas em termociclador *Mastercycler Gradiente 5331* programado para 40 ciclos e subdivididos em dois programas: 1) nos dois primeiros ciclos, foi efetuada a

desnaturação do DNA a 94°C por dois minutos, o anelamento a 37°C por 15 segundos e a elongação a 72°C por um minuto; 2) nos demais ciclos, a diferença ocorreu apenas no tempo de desnaturação do DNA, com duração de 15 segundos. Após os 40 ciclos, ocorreu a etapa de extensão final realizada a 72°C por dois minutos.

Os produtos da reação foram aplicados em gel de agarose ultrapura (Invitrogen), na concentração de 1% e preparado com tampão TBE (0,45M de Tris-Borato e 0,01M de EDTA) 0,5X. Em seguida, os produtos da reação foram separados por eletroforese, em cuba horizontal contendo TBE, conduzida em voltagem constante de 70V por 3 horas e 30 minutos. Ao término da eletroforese, os géis foram tratados com brometo de etídio, numa concentração de 0,5µg.mL⁻¹ por 20 minutos.

Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Fotodyne; as imagens capturadas em câmera digital EDAS 290 (Kodak Digital Science) e arquivadas em computador para avaliação dos padrões de bandas.

3.2.2 Análises estatísticas

Os dados obtidos por marcadores RAPD foram identificados por meio de bandas polimórficas, sendo cada banda designada como um único caráter no qual a presença em um acesso foi representada por “1” e a ausência em outro acesso por “0”. A matriz dicotômica obtida foi empregada para a estimar a similaridade, o número ótimo de bandas polimórficas desse marcador em estudo de diversidade e a estruturação genética.

Identificação do número ótimo de marcadores

Com a finalidade de verificar se o número de bandas polimórficas geradas pelos 28 *primers* de RAPD foi suficiente para determinar com precisão

as estimativas de similaridades genéticas entre acessos, foi realizada a análise de *bootstrap*.

Para cada par de acessos, a similaridade genética foi estimada a partir de simulações com reamostragens de diferentes tamanhos (10, 20, 30,..., 240, 250, 260 bandas), sendo cada uma repetida 10.000 vezes por meio do software GQMOL (Cruz & Schuster, 2004). Neste aplicativo, obtêm-se as estimativas de correlação de valores da matriz de similaridade original com os de outras matrizes de similaridade, as quais são obtidas levando em consideração diferentes números de bandas. O programa disponibiliza também dois outros parâmetros: a soma de quadrados dos desvios em relação às reamostragens e o valor de estresse (E), que indica o ajuste entre a matriz original e a matriz amostral, por meio da expressão:

$$E: \sqrt{\frac{(s_{ij}^* - s_{ij})^2}{\sum s_{ij}^{*2}}}$$

em que:

E : estresse;

s_{ij}^* : similaridade genética média entre todos os pares de acessos estimada para cada amostragem;

s_{ij} : similaridade genética média entre todos os pares de acessos estimada a partir do total de bandas polimórficas.

O número ideal de bandas polimórficas foi considerado quando o estresse assumiu valor menor que 0,05 (Kruskal, 1964).

Diversidade genética

Primeiramente, foi efetuado o cálculo das estimativas de similaridades genéticas (\hat{sg}_{ij}) entre o i -ésimo e o j -ésimo acesso, a partir da matriz binária

gerada na avaliação das bandas, pelo emprego do coeficiente de Dice (1945), no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000). O coeficiente de Dice foi escolhido por excluir a coincidência do tipo ausência de bandas (d=00), especialmente no caso em questão, no qual o parentesco dos acessos é desconhecido. A expressão para a estimativa da similaridade de Dice encontra-se discriminada abaixo.

$$\hat{g}_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c}$$

em que:

\hat{g}_{ij} : coeficiente de similaridade de Dice (1945).

a : presença de bandas (11) no par de genótipos i e j ;

b : discordância do tipo 10 no par de genótipos, com presença de banda no i -ésimo genótipo e ausência no j -ésimo genótipo;

c : discordância do tipo 01 no par de genótipos, com ausência de banda no i -ésimo genótipo e presença no j -ésimo genótipo.

Na análise de agrupamento dos 116 acessos, foi utilizada a matriz constituída pelas estimativas de dissimilaridades, obtidas a partir do complemento aritmético do coeficiente de similaridade ($dg_{ij} = 1 - \hat{g}_{ij}$), sendo elaborada pelo método da média não ponderada das dissimilaridades-UPGMA (*Unweighted pair-group method averages*). O dendrograma foi gerado com base nesta matriz genética, no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000).

Foi obtida também a matriz de similaridade para as 26 procedências dos referidos acessos, por meio da média das similaridades dos acessos de cada procedência. Após este procedimento, foram obtidas as dissimilaridades pelo complemento aritmético (dg_{ij}) para a análise de agrupamento das procedências, pelo método UPGMA, no software NTSYS-pc 2,1.

Acessos e procedências geneticamente diferentes foram identificados nos dendrogramas a partir da estimativa do complemento aritmético médio (dg_m), obtida pela expressão:

$$dg_m = \sum dg_{ij} / N$$

em que:

dg_{ij} : complemento aritmético entre cada par;

N : número de pares obtidos.

Foi analisada a consistência de cada agrupamento por meio do cálculo do valor da correlação cofenética entre as matrizes do complemento aritmético do coeficiente de similaridade (dg_{ij}) e as dos valores cofenéticos, denominado teste Z de Mantel (Manly, 1997), no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000). Mantel (1967) desenvolveu este teste que compara duas matrizes entre si, elemento por elemento, fornecendo um valor de correlação (r) que quantifica o grau de relacionamento entre duas matrizes.

Estruturação genética

O procedimento empregado foi a análise de variância molecular (AMOVA), sendo efetuado para 17 procedências que apresentaram, pelo menos, dois acessos e envolveram 107 acessos, conforme o resumo presente na Tabela 1 e processada no software Arlequin 2.000 (Schneider et al., 2000).

Nesta análise, utilizou-se uma estrutura hierárquica desbalanceada, em que cada procedência foi considerada uma população. A variância genética total σ_T^2 corresponde a $\sigma_p^2 + \sigma_a^2$, sendo os componentes de variância testados a partir do coeficiente ϕ_{st} , conforme descrito por Excoffier et al. (1992).

$$\phi_{st} = \frac{\sigma_p^2}{\sigma_T^2}$$

em que:

ϕ_{st} : representa o valor dos acessos tomados ao acaso dentro das procedências em relação aos acessos tomados ao acaso em toda a amostra;

σ_p^2 : componente de variância devido às diferenças entre procedências;

σ_a^2 : componente de variância devido às diferenças entre acessos dentro de procedências.

O teste de significância para esta estimativa foi realizado com base em *bootstrap*, considerando 10.100 reamostragens.

TABELA 1 Esquema da análise de variância molecular (AMOVA) para 17 procedências de açaizeiro com base em 263 bandas polimórficas de 28 *primers* RAPD, com as respectivas esperanças dos quadrados médios.

Fonte de variação	Graus de liberdade	E(QM)
Entre procedências	$P-1$	$\sigma_a^2 + n\sigma_p^2$
Dentro de procedências	$N-P$	σ_a^2
Total	$N-1$	σ_T^2

P : número de procedências; N : número total de acessos; n : valor ponderado, em função do número diferente de acessos para cada procedência; σ_p^2 : variância entre procedências; σ_a^2 : variância dentro de procedências; σ_T^2 : variância total.

Fonte: Adaptado de Schneider et al. (2000).

3.2.3 Reação SSR

Os 116 acessos foram genotipados para sete locos SSR que apresentaram transferibilidade de *Euterpe edulis* para *E. oleracea*, os quais foram desenvolvidos por Gaiotto et al. (2001). Estes *primers* foram sintetizados pela Invitrogen Life Technologies (Tabela 2).

As reações foram preparadas para um volume de 17 μ L, sendo constituído por: 33ng da mistura de DNA genômico, 50 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,18 μ M de cada par de *primer* (*Foward* e *Reverse*), 2,75 unidades da enzima Taq DNA polimerase e tampão de reação (50mM de tris pH 8,0, 2,0mM de MgCl₂, 20mM de KCl, 250 μ g.mL⁻¹ de albumina de soro bovino, 1% de ficoll 400 e 1mM de tartrazine) e colocado em microtubo com capacidade de 0,2mL.

As amplificações foram realizadas em termociclador *Mastercycler Gradiente* 5331, programado com desnaturação do DNA a 95°C por dois minutos, seguida de 32 ciclos. Cada ciclo foi constituído pela desnaturação a 94°C por 20 segundos; anelamento variando de 50°C a 64°C, conforme o *primer* empregado (Tabela 2), por 20 segundos; alongamento a 72°C por 20 segundos e extensão final a 72°C por dez minutos.

Os fragmentos foram separados em gel de agarose ultrapura 1000 (Invitrogen) na concentração de 2,5% e preparado com tampão TBE 0,5X, sendo separados por eletroforese, em cuba horizontal contendo TBE 0,5X, em voltagem constante de 100V por 2 horas e 45 minutos.

Após este período, os géis foram tratados com brometo de etídio numa concentração de 0,5 μ g.mL⁻¹ por 20 minutos, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Fotodyne. As imagens foram capturadas em câmara digital EDAS 290 (Kodak Digital Science) e armazenadas em computador para avaliação dos padrões de bandas.

TABELA 2 Identificação dos sete pares de *primers* microssatélites de *Euterpe edulis* transferíveis para o açaizeiro (*E. oleracea* Mart.).

<i>Primers</i> SSR	Nº de repetições	Seqüência dos primers (5' a 3')	Ta (°C) ¹	Ta (°C) ²
EE2	(AG) ₂₂	CCAAGGACGCAATCTCAA AGCGAGGCAGAACACGTA	62	56
EE3	(AG) ₁₁	TTCGCGCACACTGAGAG	56	56
	(AG) ₁₆	GGTAGCGTTGATTGGTCC		
EE8	(AG) ₂₀	GTATTCCAATGTGCTCACAG GTGCAGTAGGCTTCTAGTACC	58	52
EE15	(AG) ₂₁	CCACACAGACACGCAGATAG CCTCATGAAGCATCGACCT	64	64
EE23	(A) ₁₄ (AG) ₂₃	GTTCTGCGATTACTACTCCTG TACGAACCAAGATGGAGCAA	58	56
EE43	(AG) ₁₆	GCGAAAGGCTAACAACGTTAT AGCGAACCAACCAAGAAGAC	56	50
EE54	(AG) ₂₅	CATGTATCTAAGGAACAAGG CTGTGCTCTCTCATTCTCA	56	50

Ta¹: temperatura de anelamento sugerida por Gaiotto et al. (2001); Ta²: temperatura de anelamento utilizada.

3.2.4 Análises estatísticas

As bandas geradas pelos marcadores SSR foram avaliadas como alelos múltiplos por loco. Porém, os alelos identificados foram analisados de duas maneiras: 1) como alelos múltiplos em cada um dos sete *primers* avaliados, para a obtenção do nível de polimorfismo por *primer* e por procedência e para a análise da AMOVA; 2) como bandas independentes, do mesmo modo que as bandas de RAPD para o estudo da diversidade.

Nível de polimorfismo

Foi realizada a estatística descritiva dos alelos por *primer* e por procedência dos 116 acessos, a partir das frequências alélicas, utilizando o

software TFPGA v, 13 (Miller, 1997). Nesta análise foi obtido o número total de alelos por loco, o número médio de alelos por loco e a percentagem de locos polimórficos. Estimou-se o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) por *primer* com o emprego da expressão:

$$\text{PIC} = 1 - \sum p_{ij}^2$$

em que: p_{ij}^2 : frequência do i -ésimo alelo no j -ésimo loco.

A expressão do PIC para procedência foi similar, sendo:

$$\text{PIC} = 1 - \sum p_i^2$$

em que: p_i^2 corresponde à frequência do i -ésimo alelo na procedência.

O valor do PIC é considerado similar à estimativa da heterozigosidade esperada (H_e) quando se trata de populações naturais, em que a frequência alélica pode ser relacionada à proporção de heterozigotos na população (Mühlen, 1999).

Diversidade genética

O cálculo das estimativas de similaridades genéticas (\hat{g}_{ij}) entre o i -ésimo e o j -ésimo acesso foi realizado com o emprego da matriz binária, gerada considerando os alelos como bandas independentes, utilizando-se o coeficiente de coincidência simples (*simple matching*) no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000). O coeficiente de coincidência simples foi escolhido por levar em consideração todas as coincidências e discordâncias.

$$\hat{g}_{ij} = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

em que:

\hat{g}_{ij} : coeficiente de coincidência simples.

a: coincidência do tipo 11, em que ocorre a presença de bandas no par de genótipos *i* e *j*;

b: discordância do tipo 10 no par de genótipos, com presença de banda no *i*-ésimo genótipo e ausência no *j*-ésimo genótipo;

c: discordância do tipo 01 no par de genótipos, com ausência de banda no *i*-ésimo genótipo e presença no *j*-ésimo genótipo;

d: coincidência do tipo 00, com ausência de bandas no par de genótipos *i* e *j*.

O agrupamento dos 116 acessos foi elaborado a partir da matriz formada pelas estimativas de dissimilaridades, obtidas pelo complemento aritmético do coeficiente de similaridade ($dg_{ij} = 1 - \hat{g}_{ij}$), feito pelo método da média não ponderada das dissimilaridades-UPGMA (*Unweighted pair-group method averages*). O dendrograma gerado foi obtido com base na matriz genética no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000).

Foi obtida a matriz de similaridade para 26 procedências por meio da média das similaridades dos acessos de cada procedência. As estimativas das dissimilaridades foram obtidas também com base no complemento aritmético das similaridades (dg_{ij}) para a análise de agrupamento pelo método UPGMA, no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000).

Foram calculados os valores das correlações cofenéticas entre a matriz do complemento aritmético do coeficiente de similaridade e a matriz dos valores cofenéticos, para acessos e para procedências, com a finalidade de estabelecer o grau de adequação dos agrupamentos, no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000).

Acessos e procedências geneticamente diferentes foram identificados nos dendrogramas a partir da estimativa do complemento aritmético médio (dg_m), obtida pela expressão mencionada no item 3.2.2.

Estruturação genética

O estudo da estruturação genética das procedências foi efetuado para as mesmas 17 procedências dos 107 acessos utilizados no marcador RAPD. Assim, a AMOVA foi realizada conforme o resumo contido na Tabela 1, apresentada no item 3.2.2, levando em consideração os 42 alelos obtidos nos sete *primers* SSR, sendo executada no software Arlequin 2.000 (Schneider et al., 2000).

A análise seguiu a mesma estrutura hierárquica desbalanceada empregada para o marcador RAPD. A variância genética total σ_r^2 corresponde a $\sigma_p^2 + \sigma_a^2$, sendo os componentes de variância testados a partir do coeficiente ϕ_{ST} , expresso no item 3.2.2.

O número de acessos por procedência também foi diferente e calculou-se um valor ponderado (n) pela expressão descrita no item 3.2.2.

A significância desta estimativa foi obtida pelo método de randomização (*bootstrap*) utilizando-se 10.100 reamostragens.

3.3 Caracterização morfo-agronômica

Na análise dos descritores morfo-agronômicos foram utilizados dados de 87 acessos, pertencentes a 21 procedências (Tabela 1A), que apresentaram número de plantas variável (1 a 8 plantas), totalizando 247 plantas. Nesses acessos foram estudados 28 caracteres quantitativos: sete relativos à planta, quatro de floração, seis de frutos e onze agronômicos, os quais fazem parte da lista preliminar de descritores proposta para o açazeiro (Oliveira, 1998).

3.3.1 Coleta dos descritores

Os descritores da planta foram obtidos em uma avaliação realizada em abril de 1997, antes da realização do primeiro corte de estipes para palmito.

Nesta ocasião, foram mensurados, em todas as plantas do acesso, os seguintes caracteres:

- número de estipe por planta (NEP): obtido pela contagem de todos os estipes existentes na planta;
- número de estipe em frutificação por planta (NEF): obtido pela contagem de todos os estipes que apresentavam cicatrizes de coleta de cachos na planta;
- altura do estipe (AE): mensurada no estipe mais velho da planta, a partir do ponto de inserção das folhas até a emissão das raízes, expressa em metros;
- número de folhas (NF): obtido por meio da contagem de todas as folhas existentes no estipe mais velho da planta, com exceção das senescentes;
- comprimento da bainha foliar (CBF): mensurada na folha mais externa do estipe mais velho da planta, indo do ponto de inserção da folha ao estipe até o início da ráquis foliar, expresso em metros;
- circunferência do estipe (CAP): mensurada a altura do peito (1,20m) do estipe mais velho da planta e expressa em centímetros;
- comprimento do entrenó (CEN): mensurado de cinco entrenós (cicatrizes foliares) do estipe mais velho da planta, tendo como ponto de partida a altura do peito para baixo, expresso em centímetros.

Os caracteres de floração foram observados em uma inflorescência por planta de cada acesso, a partir da abertura da bráctea que a envolve, sendo eles:

- duração da fase masculina (DFM): período que inicia desde a antese das primeiras flores masculinas, que coincide com a queda da bráctea e exposição da inflorescência e vai até a senescência das últimas flores masculinas, expressa em dias;

- intervalo entre fases (IEF): período compreendido entre a senescência das últimas flores masculinas e o início da antese das primeiras flores femininas, expresso em dias;
- duração da fase feminina (DFF): período coberto da antese das primeiras flores femininas até a fecundação das flores (estigmas escuros e ovário túrgido) e expressa em dias;
- duração total da floração (DFT): obtido pelo somatório dos caracteres DFM, IEF e DFF, expresso em dias.

Os descritores dos frutos foram obtidos de três cachos, sendo retirados aleatoriamente cinco frutos por cacho, de cada planta do acesso, sendo eles:

- diâmetro longitudinal do fruto (DLF): determinado pela média das mensurações feitas, em quinze frutos, no sentido longitudinal, a partir do ponto de inserção dos restos florais (cálice e corola) até o vestígio de estigma, realizado com paquímetro digital e expresso em milímetros;
- diâmetro transversal do fruto (DTF): determinado pela média das mensurações feitas em quinze frutos, no sentido transversal, realizadas com paquímetro digital e expresso em milímetros;
- peso do fruto (PF): determinado pela média do peso de quinze frutos, efetuado em balança de precisão e expresso em gramas;
- peso da semente (PS): obtido pela média do peso de quinze sementes, logo após a retirada parte comestível (epicarpo mais mesocarpo), realizado em balança de precisão e expresso em gramas;
- peso da polpa (PP): obtido pela diferença entre os caracteres PF e PS, expresso em gramas;
- rendimento de polpa por fruto (RPF): obtido pela razão entre os caracteres PP pelo PF e multiplicado por 100, expresso em porcentagem.

As características agronômicas envolveram, principalmente, as relativas à produção de frutos, as quais foram avaliadas durante o período de sete anos

(1995 a 2001). A totalização dos dados foi realizada ao final de cada ano agrícola, exceto para o descritor dias após a polinização, que foi obtido pelo acompanhamento de uma inflorescência recém-fecundada por planta. Os descritores mensurados foram:

- dias após a polinização (DAP): contados a partir da fecundação das flores até a colheita do cacho, estando mais de 50% dos frutos em maturação completa, expresso em dias;
- número de anos em produção (NAP): período que envolveu a colheita de pelo menos um cacho em cada ano agrícola;
- número de meses em produção (NMP): contagem dos meses em cada ano agrícola onde foi registrada a colheita de pelo menos um cacho;
- peso total do cacho (PTC): obtido pela média do peso de todos os cachos colhidos nos anos em produção; a pesagem foi feita em balança tipo prato, com capacidade de 10kg; expresso em kilogramas;
- peso de frutos por cacho (PFC): obtido pela média do peso de todos os frutos produzidos por cacho e colhidos nos anos em produção; a pesagem foi efetuada em balança tipo prato, com capacidade de 10kg; expresso em kilogramas;
- rendimento de frutos por cacho (RFC): obtido pela média da razão entre os descritores PFC e PTC e multiplicado por 100, de todos os cachos colhidos nos anos em produção, expresso em porcentagem;
- número de ráquias por cacho (NRC): obtido pela média de todos os cachos colhidos nos anos de produção, por meio da contagem das ráquias existentes em cada cacho;
- comprimento da ráquis do cacho (CRC): obtido pela média do comprimento da ráquis de cada cacho, levando em consideração todos os cachos colhidos nos anos em produção, sendo expresso em centímetros;

- peso de cem frutos (PCF): obtido pela média do peso de 100 frutos retirados de cada cacho, levando em consideração todos os cachos colhidos nos anos em produção, expresso em gramas;
- número total de cachos (NTC): obtido pela média de todos os cachos colhidos por planta em cada ano agrícola, durante os anos de produção;
- produção total de frutos (PTF): obtido pela média da produção total de frutos por planta em cada ano agrícola, durante os anos de produção, expressa em kilogramas.

3.3.2 Análises estatísticas

Variação fenotípica pela análise de variância univariada

Apesar dos acessos existentes na coleção de germoplasma de açaizeiro encontrarem-se instalados em linhas, sem obedecer a nenhum delineamento experimental, optou-se por realizar análises de variância univariada pelo delineamento inteiramente casualizado para todos os caracteres avaliados, com o intuito de constatar a ocorrência de variação entre os acessos e obter informações sobre o poder discriminatório dos caracteres.

A análise envolveu 87 tratamentos (acessos) e de uma a oito repetições (plantas por acesso), sendo cada observação representada pela mensuração feita em cada caráter. Em virtude da variação para número de repetição nos tratamentos, esta análise foi efetuada no procedimento GLM do software SAS v.8.1 (SAS Institute, 2000), segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + p_i + d_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : é o valor observado na unidade experimental referente ao i-ésimo acesso da j-ésima planta;

m : média geral;

p_i : efeito do i -ésimo acesso;

d_{ij} : efeito da j -ésima planta ($j= 1, 2, \dots, n_i$) do i -ésimo acesso ($i=1,2,\dots,87$), sendo n_i o número de plantas em cada acesso. Os erros foram considerados como independentes, com distribuição normal, média zero e variância comum $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

Seleção dos descritores

A seleção dos descritores foi realizada pela análise de componentes principais, uma vez que os dados foram obtidos de experimento que não atende aos princípios básicos da experimentação (Cruz et al., 2004). A análise de componentes principais foi executada com base na média de cada caráter, a partir da matriz de correlação, utilizando-se o procedimento PRINCOMP do software SAS v.8.1 (SAS Institute, 2000).

Primeiramente, realizou-se o descarte das variáveis por dois procedimentos: 1) a seleção direta, proposta por Jolliffe (1972 e 1973); neste caso, foram eliminados todos os caracteres que apresentaram maior coeficiente de ponderação em valor absoluto (autovetor) no componente principal de menor autovalor, partindo do último componente até aquele cujo autovalor não excedesse a 0,70; 2) a seleção com reanálise, sugerida por Cury (1993), em que a cada caráter descartado, foi realizada uma nova análise com os caracteres remanescentes, examinando os coeficientes de correlação do caráter sugerido para descarte com os demais caracteres. O descarte final dos caracteres foi efetuado levando em consideração as informações coincidentes nos dois procedimentos, ou seja, foram eliminados os caracteres sugeridos como redundantes nos dois procedimentos, simultaneamente.

Para auxiliar na decisão de descarte do caráter redundante e na finalização da análise no método de seleção com reanálise, foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson entre todos os caracteres no software SAS v. 8.1 (SAS Institute, 2000).

Eficiência do descarte

A eficiência do descarte foi analisada por meio do estudo comparativo entre os agrupamentos formados pelo método de otimização de Tocher, levando em consideração todos os caracteres e os descritores selecionados, gerados no software GQMOL (Cruz & Schuster, 2004).

Diversidade fenotípica

As estimativas das dissimilaridades fenotípicas obtidas para acessos e procedências foram realizadas com os descritores selecionados na análise de componentes principais, com vistas a minimizar o problema da influência do número de caracteres (Cruz et al., 2004).

Para a obtenção de tais estimativas, utilizou-se a distância euclidiana média ($d_{ii'}$), calculada dos dados padronizados para eliminar o problema de escala, no software GQMOL (Cruz & Schuster, 2004). Esta distância foi escolhida pelo fato de não necessitar de experimentos que envolvam delineamentos experimentais (Cruz et al., 2004), como é o caso do estudo em questão. As expressões para a padronização dos dados e da distância euclidiana foram obtidas de Cruz et al. (2004), sendo descritas a seguir:

- Padronização dos dados:

$$x_{ij} = \frac{X_{ij}}{S(X_j)}$$

em que:

x_{ij} : dado padronizado;

X_{ij} : observação feita no i -ésimo genótipo ($i= 1,2,\dots, 87$ para acessos e $i= 1,2,\dots,21$ para procedências) em relação ao j -ésimo caráter selecionado ($j= 1,2,\dots,10$);

$S(X_{ij})$: desvio padrão dos dados do j -ésimo caráter.

- Distância euclidiana média, baseada em dados padronizados:

$$dg_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_j (x_{ij} - x_{i'j})^2}$$

em que:

$dg_{ii'}$: distância euclidiana média entre os genótipos i e i' ;

n : número de caracteres analisados.

A matriz simétrica gerada pelas distâncias entre os pares de acessos, como também a obtida para os pares de procedências, foi empregada para a formação dos agrupamentos por dois métodos, com vistas a comparar os padrões dos mesmos. Os métodos empregados foram: o hierárquico aglomerativo de ligação média não ponderada-UPGMA e o não hierárquico, proposto por Tocher (Rao, 1952), ambos mencionados por Cruz et al. (2004). O método UPGMA foi gerado no software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000) e o de otimização de Tocher no software GQMOL (Cruz & Schuster, 2004).

Os acessos e as procedências divergentes foram identificados nos dendrogramas pela mesma expressão da dissimilaridade média (dg_m) contida no item 3.2.2, onde dg_{ij} representa a distância euclidiana entre cada par.

3.4 Comparação entre diversidades genética e fenotípica

A comparação entre as diversidades genéticas e fenotípicas foi realizada com base nas matrizes de dissimilaridades, levando-se em consideração os 87 acessos e as 21 procedências comuns as duas diversidades.

As dissimilaridades genéticas, obtidas pelas matrizes do complemento aritmético da similaridade genética (dg_{ij}) com dados dos marcadores RAPD e SSR, e as fenotípicas, geradas pelas matrizes da distância euclidiana obtidas tanto para os 28 caracteres morfo-agronômicos quanto para os descritores selecionados, foram comparadas por meio do teste Z de Mantel (Manly, 1997). Este teste compara duas matrizes entre si, elemento por elemento, fornecendo um valor de correlação (r) que quantifica o grau de relacionamento entre as matrizes, sendo testada a significância de r por meio de permutações (Mantel, 1967).

As matrizes foram comparadas pelo módulo MAXCOMP do software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000), que utiliza o teste Z de Mantel, com a significância obtida por meio de 10.000 permutações.

3.5 Correlações entre diversidades e distâncias geográficas

O padrão de variação espacial das procedências foi analisado por meio das estimativas do coeficiente de correlação de Spermán entre os dados obtidos das matrizes de dissimilaridades genéticas e fenotípicas e os dados da matriz de distâncias geográficas.

Os dados da matriz de distâncias geográficas das procedências foram fornecidos pelo Laboratório de Sensoriamento Remoto e Geoprocessamento da Embrapa Amazônia Oriental. Neste local, as distâncias foram calculadas com base na projeção cartográfica POLICÔNICA/SAD-69 e gentilmente enviadas pelo responsável desse laboratório (Venturieri, 2005).

As estimativas das correlações entre as distâncias geográficas e as dissimilaridades genéticas obtidas para cada marcador molecular foram analisadas com base nas 26 (n=325) e nas 21 (n=210) procedências, sendo realizadas no software SAS v.8.1 (SAS Institute, 2000). A significância dessas correlações foi obtida por meio do teste *t*.

As estimativas das correlações entre as distâncias geográficas e as dissimilaridades fenotípicas foram obtidas com base nas 21 procedências (n=210), levando em consideração todos os caracteres avaliados e também os descritores selecionados, sendo efetuadas no mesmo software e com o mesmo teste de significância das correlações obtidas entre as dissimilaridades genéticas e as distâncias geográficas.

As matrizes de dissimilaridades genéticas e fenotípicas, também foram comparadas com a matriz de distâncias geográficas, pelo módulo MAXCOMP do software NTSYS-pc 2,1 (Rohlf, 2000), que utiliza o teste Z de Mantel, com a significância deste teste feita por 10.000 permutações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização molecular por marcadores RAPD

4.1.1 Nível de polimorfismo

Os 28 *primers* selecionados para a análise da diversidade genética nos 116 acessos de açaizeiro encontram-se listados na Tabela 3. Um exemplo de polimorfismo detectado por esses *primers* pode ser visto na Figura 1B. Nesta figura encontram-se as bandas polimórficas geradas nos acessos de 1 a 20, pelo *primer* OPBA-04.

As reações efetuadas com estes *primers* proporcionaram 263 produtos de amplificação, os quais forneceram uma média de 9,4 bandas por *primer*. O maior número de bandas foi registrado no *primer* OPM-04, que amplificou 15 bandas, enquanto o menor número ocorreu no *primer* OPB-01, apresentando apenas cinco bandas úteis.

Sawazaki et al. (1998), avaliando 20 ecotipos de palmeiras, incluindo *E. oleracea* e *E. Espiritosantensis*, com o emprego de 24 *primers* RAPD, obtiveram basicamente, o mesmo número de bandas (265), com 96% sendo polimórficas e altos níveis de polimorfismo, tanto intra como interespecífico. Já Costa et al. (2001), utilizando também o mesmo número de *primers* em dez genótipos de açaizeiro, encontraram um número menor de produtos de amplificação (177) e baixa taxa de bandas polimórficas (43%), sendo a amplitude de variação das bandas por *primer* bem inferior a aqui obtida, indo de uma a sete.

Resultados semelhantes também foram relatados por Sousa et al. (2001) e Rodrigues et al. (2004), quando empregaram oito *primers* RAPD em 91 e em 237 genótipos do banco ativo de germoplasma de pupunheira para a discriminação de raças primitivas, respectivamente.

TABELA 3 Número de bandas polimórficas geradas por 28 *primers* RAPD em 116 acessos de açazeiro.

Nº	Primer	Nº de bandas polimórficas
1	OPAR-11	10
2	OPAZ-03	14
3	OPAZ-11	13
4	OPB-01	05
5	OPB-02	08
6	OPB-05	08
7	OPB-09	08
8	OPB-10	08
9	OPB-11	11
10	OPB-14	07
11	OPB-16	10
12	OPB-18	11
13	OPBA-01	07
14	OPBA-02	08
15	OPBA-03	06
16	OPBA-04	12
17	OPBA-05	11
18	OPBA-06	12
19	OPBA-07	09
20	OPBA-08	09
21	OPBA-09	06
22	OPBA-10	07
23	OPL-01	11
24	OPL-07	10
25	OPL-15	08
26	OPM-04	15
27	OPM-11	08
28	OPS-19	11
Total	-	263

No entanto, na análise da diversidade genética de 43 acessos de tâmara, uma palmeira dióica, Sedra et al. (1998) encontraram nível de polimorfismo bem menor, produzindo apenas 56 bandas polimórficas e média de 2,9 bandas por *primer*. O mesmo fato foi registrado por Moretzsohn et al. (2002), quando

avaliaram a diversidade em 175 acessos de caiaué, palmeira monóica conhecida como dendê da Amazônia, que apresentaram de uma a oito bandas polimórficas, com média de 3 bandas por *primer*.

Germoplasma de outras plantas arbóreas tropicais também demonstraram alto nível de polimorfismo com o uso desse marcador, como clones de cacauero (Faleiro et al., 2001; Marques et al., 2002; N' Goran et al., 1994), clones de seringueira (Yamada et al., 2002) e progênies de *Vitellaria paradoxa*, uma espécie da África (Fontaine et al., 2004).

De modo geral, pode-se aventar que há uma tendência de germoplasma de plantas arbóreas e alógamas, especialmente aquelas pouco melhoradas, apresentarem alto polimorfismo, exceção feita apenas ao caiaué. Assim sendo, o elevado polimorfismo detectado nos 116 acessos de açazeiro pode estar relacionado ao fato dessa espécie ser monóica, de fecundação cruzada e encontrar-se em fase de domesticação. Conseqüentemente, há possibilidades da ocorrência de ganhos genéticos significativos com o emprego desse germoplasma em programas de melhoramento.

Um aspecto importante a ser ressaltado é que os acessos analisados foram coletados em localidades que apresentam fortes indícios de formarem o centro de diversidade dessa palmeira. Com base no exposto, deve-se esperar que esses acessos sejam possuidores de ampla diversidade genética.

Apesar de tudo, há dúvidas sobre se o número de bandas polimórficas avaliadas pode ser capaz de representar a diversidade existente, uma vez que a maioria dos trabalhos mencionados utilizou números variáveis de bandas polimórficas na amostragem do genoma das espécies. Esta observação tem sido registrada em estudos de diversidade por meio de RAPD em outras espécies agrícolas (Moura, 2003; Sousa, 2003).

Para constatar tal fato, foram realizadas análises de reamostragens (*bootstrap*) empregando-se as 263 bandas geradas nos 116 acessos. Os resultados obtidos encontram-se resumidos no gráfico da Figura 1.

Nota-se que houve uma relação direta entre o número de bandas e a magnitude de correlação dos valores da matriz de similaridade original com os das outras matrizes de similaridade, a partir das amostras dos diferentes números de bandas. Contudo, somente a partir de 150 bandas, a estimativa de correlação apresentou alta magnitude ($r=0,93$). Mesmo assim, para este número de bandas, a soma dos quadrados dos desvios em relação às reamostragens e o valor do estresse ainda foram altos ($SQ_d=11,05$ e $\text{estresse}=0,07$), sugerindo baixa consistência na associação das matrizes, segundo Kruskal (1964).

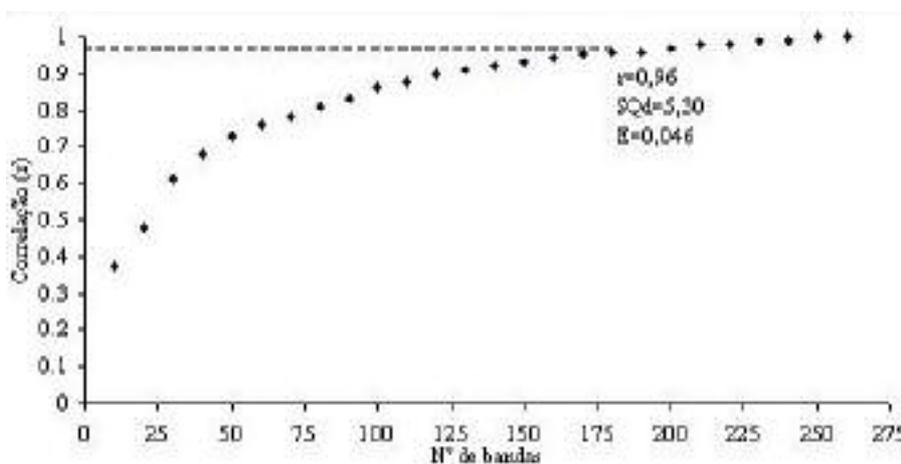


FIGURA 1 Resumo da análise *bootstrap* contendo as correlações obtidas para diferentes números de bandas polimórficas do marcador RAPD na determinação do número ideal de bandas.

O número ótimo foi considerado quando atingiu 180 bandas, pois, neste valor, houve um bom ajuste entre os valores da matriz de similaridade original com os das outras matrizes de similaridade. Isso porque, para este número de bandas, a magnitude da correlação foi bem próxima do valor máximo ($r=0,96$), apresentando alta confiabilidade, uma vez que cada reamostragem foi repetida 10.000 vezes. Como também a soma de quadrados dos desvios (SQ_d) e o valor do estresse (E) atingiram valores baixos 5,30 e 0,046, respectivamente. Para Kruskal (1964) valores de estresse inferiores a 0,05 representam um excelente indicativo de precisão, o que confirma o valor mencionado.

Salienta-se ainda que, intervalo entre 50 a 100 bandas tem se mostrado suficiente nas estimativas de relações genéticas entre e dentro de espécies vegetais (Colombo et al., 2000; Dudley, 1994).

Como neste trabalho foram geradas 263 bandas polimórficas desse marcador dominante (RAPD) para estimar os complementos aritméticos das similaridades genéticas entre acessos, valor bem acima do intervalo mencionado e do número ótimo de bandas determinado nas análises de reamostragens, sendo, inclusive, um pouco maior que número de bandas cuja estimativa de correlação alcançou valor máximo ($r=0,999$) e menor estresse (0,01). Pode-se, então, sugerir que as bandas polimórficas empregadas neste estudo sejam suficientes para avaliar as relações genéticas entre os acessos de açaizeiro.

4.1.2 Diversidade genética

As estimativas das dissimilaridades genéticas obtidas para os 116 acessos de açaizeiro, a partir da matriz do complemento aritmético de similaridade do coeficiente de Dice, gerada pelas 263 bandas polimórficas, estão presentes na Tabela 2A e nas Figuras 2 e 3.

Como se pode constatar, as dissimilaridades entre os acessos variaram de 0,06 a 0,67, apresentando média de 0,40 (Tabela 2A). As dissimilaridades

mínimas foram registradas nos acessos 102 e 103, os quais foram coletados em localidades próximas no Maranhão, Cururupu e Mirinzal, mas em condições distintas, em pomar caseiro e população natural, respectivamente. Por outro lado, os acessos 14 e 22 foram os detentores das maiores dissimilaridades, ambos da mesma população natural do município de Chaves, PA. Um outro aspecto que pode ser ressaltado é que quase a metade dos acessos (43,97%) alcançou dissimilaridades médias iguais ou acima da média geral, permitindo supor que os acessos dessa coleção possuam ampla diversidade genética.

Costa et al. (2001), caracterizando, preliminarmente, dez genótipos de açazeiro desta coleção, encontraram valores próximos, variando de 0,19 a 0,64. Esses autores também observaram maior similaridade entre indivíduos próximos geograficamente (Mosqueiro e Benfica) e coletados em pomares caseiros, mas obtiveram a menor similaridade entre genótipos de locais distantes (Guimarães, MA e Benfica, PA) e procedentes de população natural e pomar caseiro.

Tais resultados contribuem para mostrar que novas coletas de açazeiro devam ser implementadas em populações naturais, pois há fortes indícios de que genótipos existentes em pomares caseiros e propriedades rurais, especialmente de localidades próximas, sejam oriundos de frutos coletados de uma mesma planta desejável e, portanto, tenham grande afinidade no genoma. Acrescente-se a isto a possibilidade de cruzamentos entre indivíduos aparentados e a ocorrência de autofecundação relatada por alguns autores (Oliveira, 1995; Souza, 2002). Tais eventos devem ser mais freqüentes em populações de tamanhos reduzidos, como em pomares e em propriedades rurais.

No que diz respeito à distribuição de freqüência das dissimilaridades obtidas entre os 6.670 pares formados na matriz genética, pode-se verificar que 34,5% dos pares ficaram incluídos nas classes com dissimilaridades variando de 0,37 a 0,42, cujo ponto médio apresentou valor de 0,39. Nesta classe, ficou contida também a dissimilaridade genética média (Figura 2). Outra observação

relevante é que menos de 1% dos pares ficaram distribuídos nas classes das extremidades e que a maioria deles (83,7%) apresentou dissimilaridades variando de 0,31 a 0,53, fazendo com que o padrão de distribuição das classes mostrasse um perfil contínuo e exibindo uma tendência de distribuição normal.

Estes resultados reforçam a possibilidade dos acessos conservados nesta coleção serem possuidores de ampla diversidade genética e fornece indícios de que a amostra de germoplasma analisada represente bem a variabilidade dessa espécie, pelo menos entre os acessos mais distintos geneticamente. Também ajudam a pressupor que o centro de diversidade genética do açaizeiro deva ocorrer na região de coletas dos acessos, uma vez que essas áreas coincidem com os locais onde foram registradas variações bem acentuadas para características morfológicas, fenológicas e fisiológicas desta espécie (Cavalcante, 1991; Oliveira, 1995; Oliveira et al., 2000a).

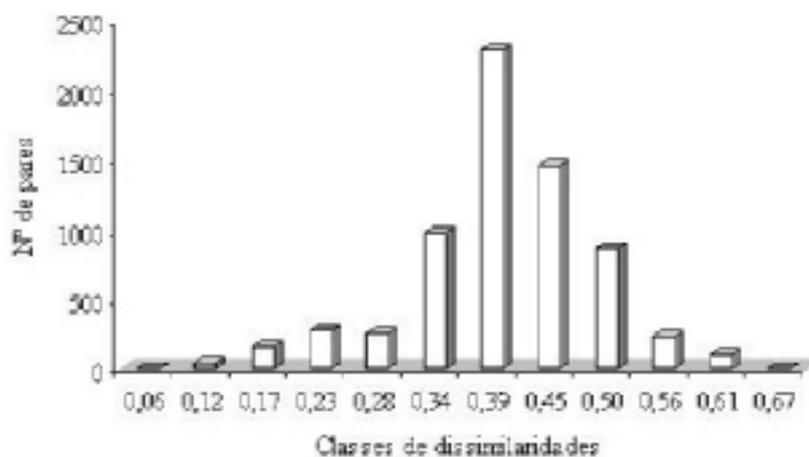


FIGURA 2 Distribuição de frequência das estimativas de dissimilaridades genéticas, obtidas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice, com base nas 263 bandas polimórficas de RAPD geradas nos 116 acessos de açaizeiro.

A maior parte dos acessos exibiu considerável diversidade genética, pois as dissimilaridades apresentaram magnitudes semelhantes às relatadas em acessos de outras palmeiras com uso desse mesmo marcador (Moretzsohn et al., 2002; Sedra et al., 1998). Em tâmara, uma palmeira estritamente alógama, as dissimilaridades variaram de 0,13 a 0,77 (Sedra et al., 1998). Enquanto no caiaué, uma espécie monóica, a amplitude de variação registrada foi de 0,03 a 0,71, com média um pouco menor atingindo 0,32 (Moretzsohn et al., 2002). Já na discriminação de raças do BAG-pupunha, Rodrigues et al. (2004), obtiveram estimativas muito inferiores, com média de 0,05 e valores mínimo e máximo de 0,00 e 0,11, respectivamente. Em germoplasma de outras plantas perenes tropicais, também foram encontrados valores de dissimilaridades inferiores aos aqui obtidos (Faleiro et al., 2001; Marques et al., 2002; Yamada et al., 2002).

No dendrograma gerado, observa-se a formação de vários grupos, dos quais oito deles foram delimitados pela dissimilaridade genética média como distintos (Figura 3). Os grupos apresentaram boa confiabilidade, pois o valor cofenético obtido foi alto e significativo ($r=0,81$, $P \leq 0,0001$). Visualiza-se também, que os quatro primeiros grupos foram formados por poucos acessos: o primeiro, apenas pelo acesso 14; o segundo, pelo acesso 34; o terceiro, pelos acessos 99 e 100 e o quarto, pelos acessos 81 e 82. Os demais agrupamentos foram constituídos por, pelo menos, dezenove acessos, sendo o sétimo grupo o mais numeroso, abrangendo 39 acessos. Vale destacar que os acessos dos quatro primeiros grupos correspondem àqueles mais divergentes e devem ser úteis em programas de hibridação dessa palmeira, especialmente os acessos 14 e 34, que formaram grupos individuais, sendo geneticamente distintos dos demais. Tais acessos foram coletados no Pará, mais precisamente em duas localidades do estuário amazônico (Chaves e Muaná), em áreas de várzea que sofrem a influência de uma rede de rios e distam em mais de 186km, o que reforça, mais uma vez, esta região como centro de diversidade genética do açaizeiro.

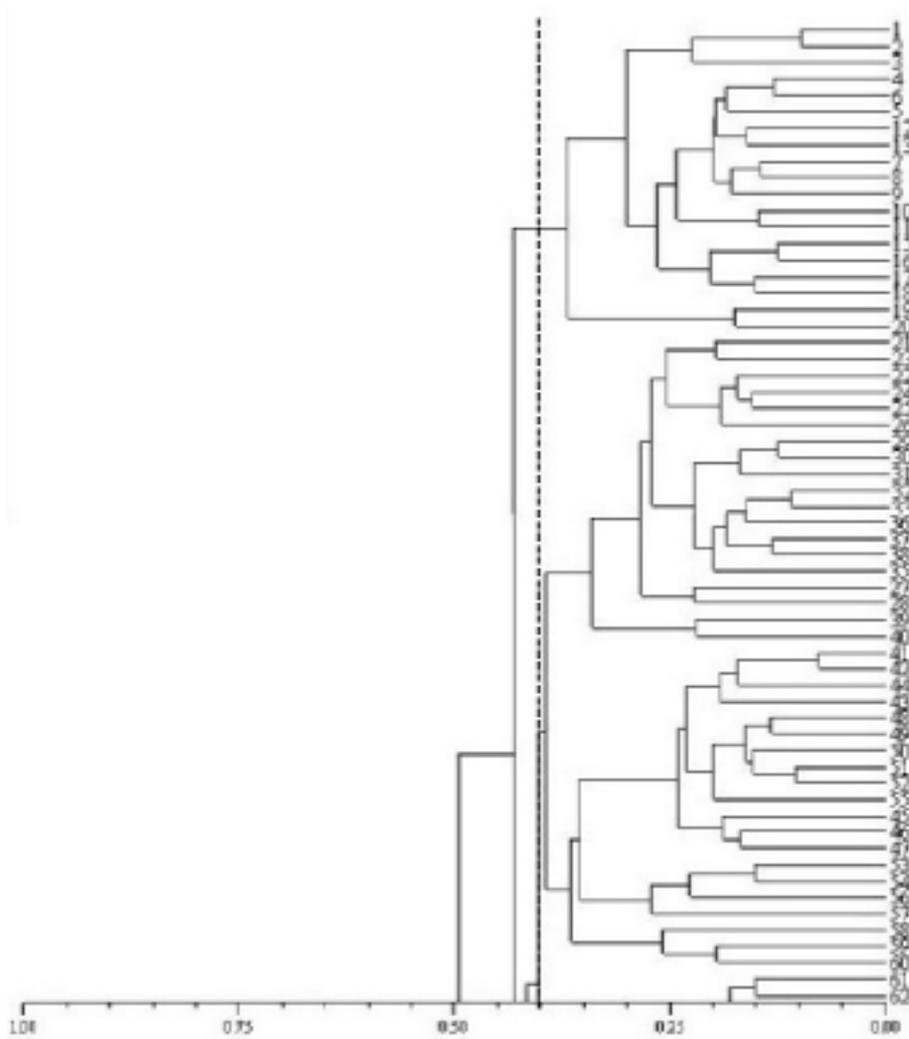
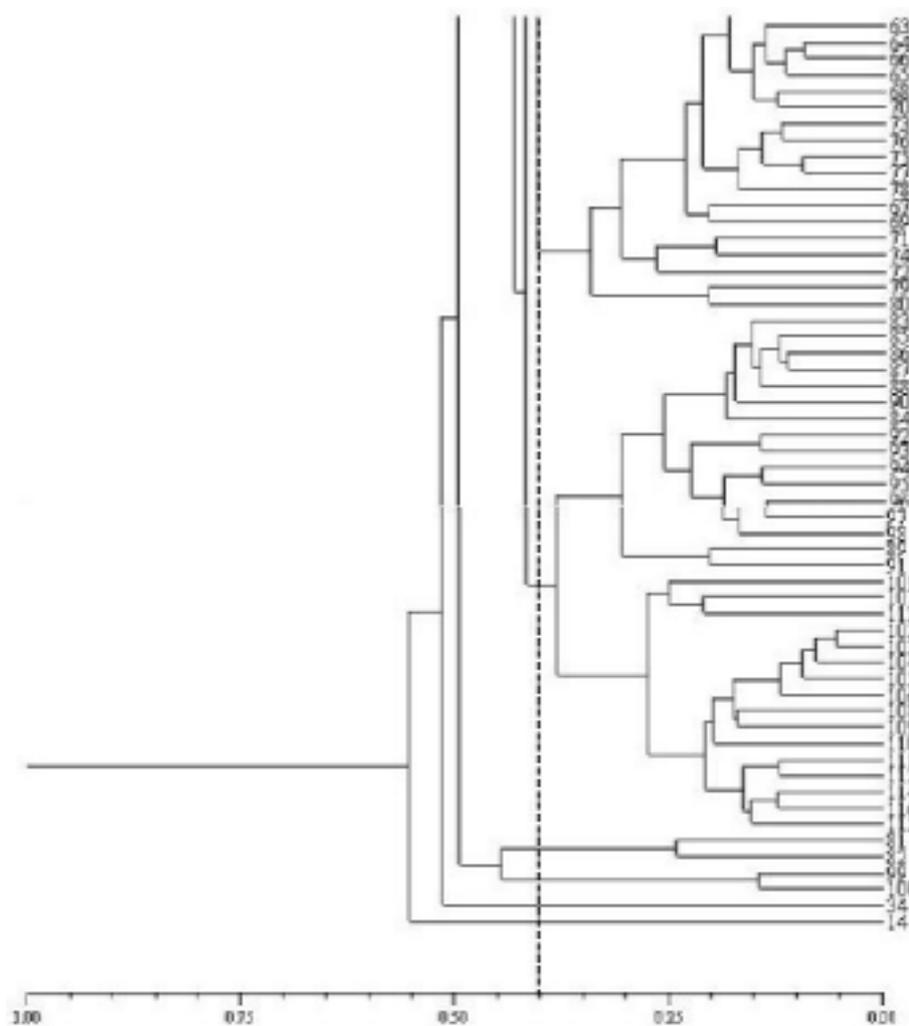


FIGURA 3 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das estimativas de dissimilaridades genéticas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice, com base em 263 bandas polimórficas de RAPD geradas nos 116 acessos de açazeiro. $dg_D = 0,40$ (Continua...)



“FIGURA 3, Cont.”

Costa et al. (2001) obtiveram a formação de cinco agrupamentos, quando analisaram dez genótipos de açazeiro desta mesma coleção no dendrograma gerado pelo método UPGMA. Neste trabalho, os primeiros grupos também foram constituídos por um genótipo de localidades distintas das aqui

relatadas (Guimarães, MA e Breves, PA), porém, pertencentes à região do estuário amazônico.

Para o caiaué, outra palmeira perene nativa da Amazônia, Moretzsohn et al. (2002) constataram a formação de um menor número de grupos (apenas três), quando avaliaram a diversidade genética de 175 acessos, coletados em diferentes procedências com o uso de 27 *primers* RAPD.

Destaca-se, ainda neste dendrograma, que os dois acessos híbridos (115 e 116) ficaram contidos no quinto agrupamento, onde também se encontram a maioria dos acessos coletados em localidades do Maranhão e alguns acessos do Pará. Como esses dois acessos são híbridos interespecíficos entre *E. spiritossantensis* e *E. oleracea*, há grandes possibilidades do genoma do açazeiro empregado na obtenção desses híbridos ser procedente de uma dessas localidades, especialmente de Cametá, PA, pois esses híbridos apresentaram fortes semelhanças genéticas com os acessos 111, 112 e 114, coletados nesta localidade com a participação no mesmo grupo.

Resultados equivalentes foram obtidos por Ballvé (1988) e Sawazaki et al. (1998), ao caracterizarem, por meio de sistemas enzimáticos e marcadores RAPD, respectivamente, vários ecotipos, com e sem perfilhamento, de espécies pertencentes ao gênero *Euterpe* promissoras para palmito, incluindo o açazeiro, o palmito, o híbrido interespecífico entre *E. edulis* x *E. oleracea* e seu recíproco. O dendrograma gerado por 265 bandas de 24 *primers* RAPD, no trabalho de Sawazaki et al. (1998), agrupou os híbridos em posições intermediárias aos agrupamentos formados pelo ecotipos com e sem perfilhamento.

Um outro aspecto importante que pode ser observado neste dendrograma é que poucos acessos formaram subgrupos com dissimilaridades relativas inferiores a 10%, sendo, porém, de grupos distintos. Os que apresentaram este comportamento foram coletados na mesma procedência ou em localidades

próximas, como os acessos 41 e 42, pertencentes ao sétimo grupo e os acessos 64 e 66, do sexto grupo, que foram coletados em duas populações de Breves, PA; os acessos 75 e 77, outro subgrupo do sexto grupo, coletados em pomares caseiros de Macapá; e os acessos 102, 103, 104 e 105, que formaram subgrupos do quinto grupo, com o primeiro obtido em pomar caseiro e os demais em populações naturais de três procedências do Maranhão geograficamente próximas (Cururupu, Mirinzal e Guimarães), distando menos de 40km. Esses resultados tornam evidentes que esta espécie ainda encontra-se em fase inicial de domesticação.

Acredita-se que as dissimilaridades de baixas magnitudes detectadas entre os acessos da mesma população devam ser decorrentes de cruzamentos entre indivíduos aparentados, especialmente nos acessos de Breves e em Macapá. Isso porque as populações dessas localidades têm sofrido redução de seus tamanhos, em consequência da forte exploração de palmito, que ocasiona a eliminação de milhares de indivíduos. Souza (2002) também sugeriu a mesma ocorrência quando avaliou uma população de açaizeiro por SSR. No caso dos acessos do Maranhão, que têm menores tamanhos amostrais, a baixa dissimilaridade pode ser explicada pela ocorrência de autofecundação, pela irregularidade da floração entre touceiras ocasionando alta proporção de pólen de poucas plantas e também pelo fluxo gênico à curta distância (Jardim, 1995; Souza, 2002).

Analisando as dissimilaridades genéticas em relação às 26 procedências, detecta-se uma variação de 0,07 a 0,61 e média de 0,38 (Tabela 4). O menor valor ocorreu entre as localidades maranhenses de Mirinzal e Cururupu, estando dentro do esperado, uma vez que se encontram separadas geograficamente por menos de 50km. Por outro lado, o maior valor incidiu entre Benfica e Turiaçu que, além de pertencerem a diferentes estados, distam mais de 360km. Entretanto, a dissimilaridade genética média apresentou baixa magnitude, em

consequência de mais da metade das procedências ter exibido médias baixas, como as do Maranhão e, inclusive, a dos acessos híbridos.

TABELA 4 Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice, com base nas 263 bandas polimórficas de RAPD obtidas nas 26 procedências de açaizeiro.

Procedências	Média	Mínimo	Máximo
Benfica,PA	0,44	0,25	0,61
Benevides,PA	0,42	0,19	0,57
Mosqueiro,PA	0,38	0,19	0,52
Stº Antº Tauá,PA	0,41	0,21	0,56
Chaves,PA	0,42	0,33	0,53
Muaná,PA	0,42	0,37	0,53
Breves,PA	0,41	0,37	0,54
Gurupá,PA	0,37	0,18	0,47
Melgaço,PA	0,34	0,17	0,49
Santarém,PA	0,37	0,22	0,45
Prainha,PA	0,37	0,18	0,49
Stª Maria,PA	0,35	0,15	0,48
Cametá,PA	0,36	0,19	0,48
Oiapoque,AP	0,43	0,32	0,50
Macapá,AP	0,44	0,32	0,51
Carutapera,MA	0,34	0,17	0,44
Maracaçumé,MA	0,34	0,14	0,45
Stª Luzia,MA	0,33	0,14	0,43
Zé Doca,MA	0,35	0,15	0,47
Turiaçu,MA	0,47	0,32	0,61
Stª Inêz,MA	0,39	0,17	0,50
Cururupu,MA	0,33	0,07	0,46
Mirinzal,MA	0,34	0,07	0,48
Guimarães,MA	0,32	0,11	0,45
Alcântara,MA	0,38	0,19	0,51
Linhares,ES	0,36	0,19	0,46
Geral	0,38	0,07	0,61

É conveniente ressaltar que, na maioria das localidades, as coletas foram efetuadas em pouquíssimos indivíduos, preferencialmente em pomares caseiros e propriedades rurais. Tais ambientes devem ter contribuído para valores similares aos obtidos no estudo dos 116 acessos, sugerindo que a diversidade genética esteja igualmente distribuída entre e dentro das procedências. Mesmo assim, acredita-se que essas pequenas amostras não sejam suficientes para representar a diversidade genética dessa espécie, além dessas condições não permitirem o conhecimento da real procedência dos acessos. Segundo Vilela-Morales et al. (1997), a amostragem mínima para a coleta de plantas alógamas deve atingir 2.500 sementes por população (50 matrizes e 50 sementes por matriz), mas este número parece irreal para a conservação de plantas arbóreas.

Como já relatado, dissimilaridades de magnitudes próximas foram encontradas em estudos dessa natureza com outras palmeiras tropicais, alógamas e perenes, é caso da pupunheira (Sousa et al., 2001), do dendezeiro (Barcelos et al., 2002; Moretzsohn et al., 2002) e da tamareira (Sedra et al., 1998), assim como em outras espécies tropicais e alógamas (Moura, 2003; Sousa, 2003).

O dendrograma obtido com as dissimilaridades genéticas entre procedências está representado na Figura 4. Vêr-se que Turiaçu formou um grupo geneticamente distinto das demais procedências em, pelo menos, 45% de dissimilaridade relativa, enquanto Cururupu e Mirinzal constituíram o subgrupo mais similar, com menos de 10% de dissimilaridade, pertencente ao segundo grupo. Outras localidades, como Muaná, Breves, Chaves, Oiapoque e Macapá, também se destacaram formando grupos geneticamente diferentes das demais. O valor cofenético obtido para este dendrograma foi alto e significativo ($r = 0,83$, $P \leq 0,0001$ para 10.000 permutações), evidenciando a confiabilidade na formação dos grupos.

O ponto de corte no dendrograma efetuado com base na dissimilaridade genética média ($dg_D = 0,38$) permitiu a formação de seis agrupamentos com os

grupos I, IV e V sendo constituídos por apenas uma procedência, Turiaçu, MA e Breves, PA e Muaná, PA, respectivamente. O contrário pode ser visto no grupo II, que apresentou a maior abrangência, sendo representado por dezesseis procedências (todas as do Maranhão, a do Espírito Santo e seis do Pará) distribuídas em dois grandes subgrupos. Com exceção do terceiro grupo, formado apenas pelas procedências do Amapá, e do sexto, constituído por procedências do Pará, nos demais agrupamentos, não foi verificada nenhuma tendência das procedências se organizarem por área geográfica.

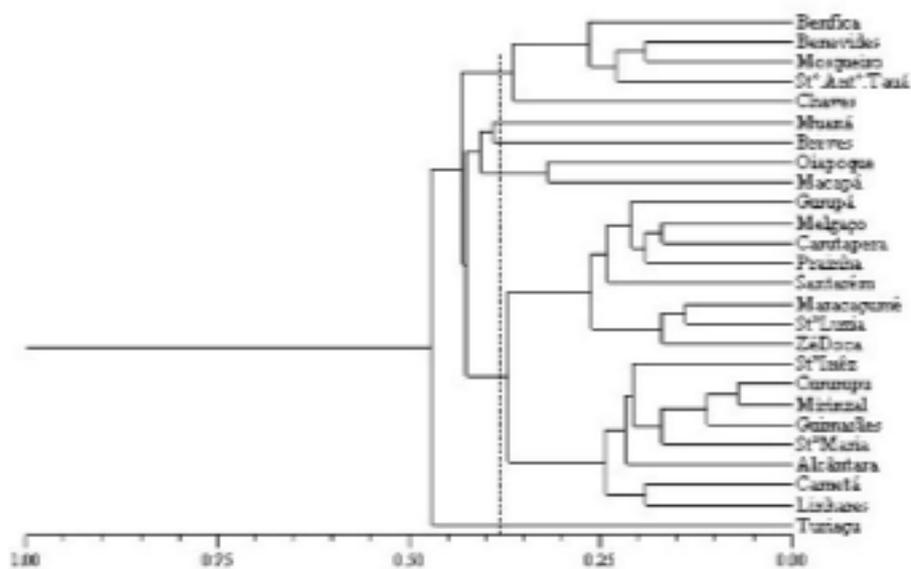


FIGURA 4 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das estimativas de dissimilaridade, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice, com base em 263 bandas polimórficas de RAPD geradas nas 26 procedências de açaizeiro. $dg_D=0,38$

Estes resultados são contrários aos obtidos por Sawazaki et al. (1998), que relataram a tendência à formação de grupos com ecotipos de *Euterpe* da mesma origem geográfica.

O fato de Linhares não ter formado um grupo à parte, mesmo sendo a procedência mais distante, dever ter sido influenciado pela origem híbrida dos dois acessos, obtida do cruzamento entre *E. oleracea*, distribuída naturalmente nos estados do Pará, Amapá e Maranhão e *E. spiritosantisensis*, que ocorre na região Sudeste, mais precisamente no Espírito Santo. Portanto, tais acessos compartilham os genomas das duas espécies. Como esta procedência ficou agrupada com a de Cametá, permite inferir que os genótipos de açazeiro participantes da obtenção dos híbridos possam ser oriundos dessa localidade.

Os resultados obtidos permitem confirmar que as 263 bandas polimórficas obtidas dos 28 *primers* RAPD foram eficientes para quantificar a diversidade genética do germoplasma de açazeiro, pois os dendrogramas gerados agruparam os acessos e suas procedências com alta confiabilidade. Também sugerem que as procedências de Turiaçu, Breves, Muaná, Chaves, Oiapoque e Macapá devam ser úteis para compor programas de seleção recorrente recíproca, especialmente se os acessos forem portadores de fenótipos promissores para frutos e apresentarem elevados valores de heterose.

4.1.3 Estruturação genética

Os dados relativos à análise de variância molecular realizada para as 17 procedências dos 107 acessos de açazeiro, estão presentes na Tabela 5.

Como pode-se constatar, a variância entre procedências foi alta e significativa ($\phi_{st} = 0,301$, $P \leq 0,0001$), respondendo por 30,12% da variação genética total, porém, grande parte da variação ainda ficou retida dentro de procedências. O valor de 0,301 revelado pelos dados deste marcador dominante

(RAPD) indica níveis relativamente altos de diferenciação entre as procedências estudadas, não estando condizente com valores obtidos em espécies alógamas. Mas, é importante esclarecer que o açazeiro, mesmo sendo uma planta de fecundação cruzada, apresenta taxas consideráveis de autofecundação (Jardim, 1995; Ohashi, 1990; Souza, 2002). Segundo Bawa (1992), plantas arbóreas tropicais de fecundação cruzada podem apresentar variações na porcentagem de diferenciação genética entre populações, dependendo da espécie.

No palmitreiro, uma espécie próxima do açazeiro, a partição da variação genética estimada pelo marcador dominante AFLP, entre onze populações naturais de diferentes localidades por meio da estatística F de Wright, também foi alta atingindo $F_{st}=0,426$ (Cardoso et al., 2000).

Em outras palmeiras, foram encontrados percentuais variáveis na diferenciação genética entre procedências, populações, raças, variedades e tipos, com o emprego de marcadores moleculares dominantes. Por exemplo, a diferenciação entre procedências de caiaué foi alta e significativa, respondendo por 18,71% da variação total, com a aplicação do marcador RAPD (Moretzohn et al., 2002).

TABELA 5 Análise de variância molecular obtida de 17 procedências de açazeiro, com base em 263 bandas polimórficas de RAPD geradas em 107 acessos.

Fonte de variação	Variância	Varição %	<i>P</i>	ϕ_{st}
Entre procedências	8,300	30,12	0,0001	0,301
Dentro de procedências	19,260	69,88		

Maior ϕ_{st} para 10.100 permutações=0,305

Percentagem similar (17,8%) foi detectada pelo mesmo marcador no estudo de diferenciação entre nove raças de pupunheira (Rodrigues et al., 2004). Com o uso do marcador AFLP, a partição da variação entre variedades de coqueiro foi mais alta ainda, representando 47% da variação (Perera et al., 1998). Todavia, na pupunheira, o nível de diferenciação entre populações coletadas ao longo de dois rios da Amazônia peruana foi baixo e significativo, com $G_{st}=0,0497$ (Adin et al., 2004).

Ciampi & Grattapaglia (2001), avaliando a variabilidade genética em quatro populações de copaíba por meio de três marcadores moleculares com o emprego da AMOVA, encontraram diferentes proporções de variabilidade entre e dentro de populações. Para o marcador dominante (AFLP), esses autores obtiveram diferenciação entre populações altas e significativas ($\phi_{st}=15,5\%$).

Em outras espécies tropicais, perenes e alógamas, a partição da variação entre populações apresentou percentagem próxima ou mais elevada que a encontrada neste estudo, também por marcadores moleculares dominantes (Araújo, 2001; Cardoso et al., 1998; Fontaine et al., 2004; Gillies et al., 1997; Zucchi, 2002). Para Zucchi (2002), o alto nível de diferenciação genética entre populações de cagaiteira ($\phi_{st}=0,2703$) sugere que as populações estão sofrendo efeitos da deriva genética ocasionados pela ação antrópica e pela predominância de fluxo gênico a pequenas distâncias.

Resultado coincidente foi obtido por Moura (2003), quando analisou a distribuição da variabilidade genética entre dez áreas de coleta de jaborandi, uma espécie alógama e herbácea, por meio de RAPD com a aplicação da AMOVA, obtendo 24,16% da variação entre áreas. Para esta autora, a existência de considerável proporção de diferenciação genética entre as áreas indica que o sistema de dispersão de pólen e sementes dessa espécie não é tão eficiente.

Valores moderados de variação genética dentro de populações de origens geográficas distintas são comuns em espécies que possuem distribuição

ampla, sendo reflexo do isolamento geográfico (Cardoso et al., 2000). Esta mesma observação foi feita por Adin et al. (2004) que consideram isoladas, reprodutivamente, populações distantes em mais de 300km.

Como a AMOVA foi realizada apenas com as procedências que apresentaram pelo menos dois acessos. Dessa forma, pode-se sugerir que o pequeno tamanho amostral presente na maioria das procedências, especialmente nas do Maranhão, tenha contribuído para a alta diferenciação entre procedências. Landergott et al. (2001) também atribuíram a grande diferenciação entre populações de *Dryopteris cristata* (49%) ao efeito de redução populacional.

O conhecimento da distribuição da variabilidade genética entre e dentro dessas procedências é um quesito essencial para a adoção de estratégias eficientes na coleta e na conservação de germoplasma dessa espécie. Portanto, os resultados permitem pressupor que as procedências constituídas por poucos acessos estejam mal representadas, havendo necessidade de implementar novas coletas, especialmente, no Maranhão.

Um outro fator que pode ter contribuído para o alto nível de diferenciação entre procedências estar relacionado com a ocorrência de altas taxas de autofecundação e de cruzamentos entre indivíduos aparentados dentro dessas procedências. No caso das procedências cujos acessos são oriundos de populações naturais, este fato pode ter sido incrementado com a ocorrência de deriva genética, ocasionada pela redução no tamanho que vêm sofrendo as populações do açazeiro, em consequência da exploração predatória para palmito. Já nas constituídas por acessos coletados em pomares e propriedades rurais, esta situação parece ainda mais grave, pois a deriva genética deve ser mais intensa, em virtude do tamanho reduzido. Mas, este acontecimento parece um evento comum nesta espécie, pois foi registrado em uma população natural sem a ação antrópica (Souza, 2002) e em outras populações (Jardim, 1995; Ohashi, 1990), causado pelo longo e irregular período de floração e frutificação,

produzindo vários estádios fenológicos de floração no mesmo estipe e na mesma touceira e pelo fluxo gênico à curta distância. Cardoso et al. (2000) também corroboram com estas ocorrências no palmiteiro.

Como grande parte da variação genética ainda ficou retida dentro de procedências, pode-se deduzir que o processo de dispersão, provavelmente, impede a formação de procedências isoladas. Além disso, houve registro de distribuição contínua das estimativas de dissimilaridades entre os acessos. Portanto, pode-se considerar que o germoplasma analisado contenha uma amostra representativa da variabilidade genética do açazeiro dessa região.

4.2 Caracterização molecular por marcadores SSR

4.2.1 Nível de polimorfismo

Por *primers*

Os sete *primers* SSR utilizados na genotipagem dos 116 acessos de açazeiro foram todos polimórficos e apresentaram facilidade na interpretação dos géis (Figura 2B). Estes *primers* foram responsáveis pela amplificação de 42 alelos, com variação de três a dez alelos e média de seis alelos por *primer*.

O maior número de alelos foi registrado no loco EE23, que amplificou dez alelos, enquanto o menor número ocorreu no loco EE3, com apenas três alelos. Nos *primers* EE8 e EE15 foram identificados seis alelos e nos locos EE2, EE43 e EE54 foram detectados quatro, cinco e oito alelos, respectivamente.

A média para o conteúdo da informação de polimorfismo (PIC) foi de alta magnitude (0,75), variando de 0,60 (EE3) a 0,86 (EE23 e EE54). É importante salientar que a correlação entre o PIC e o número de alelos também foi significativa e de alta magnitude ($r=0,78$, $P \leq 0,04$), existindo uma relação

direta entre eles, ou seja, há uma tendência de que quanto maior o número de alelos maior será o valor do PIC.

Resultados concordantes foram obtidos por Conte (2004) e Gaiotto et al. (2003) ao aplicarem os mesmos *primers* em populações de palmito com interferência antrópica, tendo registrado altos níveis de variação alélica. Podendo-se esperar que os locos EE23 e EE54 devam ser considerados como os mais informativos para estudos genéticos do açazeiro.

Elevados níveis de polimorfismos foram detectados também em germoplasma de outras palmeiras com o emprego de microssatélites. No caso de populações de coqueiro de diferentes variedades e origens geográficas, Meerow et al. (2003), Perera et al. (2000) e Perera et al. (2001) observaram alta diversidade alélica em todos os oito locos analisados, atingindo valores de amplitudes de variação alélica e médias bem próximas aos obtidos neste estudo. Acessos de tâmara apresentaram alto polimorfismo em 9 dos 12 *primers* avaliados e, pela nitidez no padrão de bandas gerado, foram indicados para estudos de diversidade genética (Zehdi et al., 2004a; Zehdi et al., 2004b). Segundo Oliveira et al. (2002), o número de fragmentos com polimorfismo é diretamente proporcional ao número de locos em heterozigose.

Polimorfismo alto gerado por este mesmo marcador também foi encontrado em germoplasma de algumas plantas perenes (Alves, 2002; Ciampi & Grattapaglia, 2001; Faleiro et al., 2001; Lanaud et al., 1999; Motamayor et al., 2001), inclusive de palmeiras (Gaiotto et al., 2003; Meerow et al., 2003; Perera et al., 2000; Perera et al., 2001; Zehdi et al., 2004a; Zehdi et al., 2004b).

Como o conteúdo de informação de polimorfismo representa a diversidade genética (Weir, 1996), pode-se inferir que os 116 acessos envolvidos neste estudo sejam detentores de alta variabilidade nos locos testados.

A identificação de alto polimorfismo no germoplasma estudado permite que os *primers* sejam utilizados como marcadores genéticos na quantificação da diversidade de acessos e procedências de açaizeiro.

O sucesso na transferibilidade de locos de *Euterpe edulis* para *E. oleracea* mencionado por Gaiotto et al. (2001) foi confirmado neste trabalho. Contudo, houve a necessidade de ajuste na temperatura de anelamento de alguns *primers* (Tabela 2), no volume e componentes da reação. Esta constatação levanta a possibilidade de que tais *primers* possam ser empregados em outras espécies desse gênero, uma vez que amplificaram fragmentos em dois acessos, registrados como híbridos interespecíficos (*E. oleracea* x *E. spiritossantensis*). Alves (2002) obteve uma eficiência de 62,5%, quando transferiu locos de *Theobroma cacao* para *T. grandiflorum* e considerou a divergência evolutiva entre as espécies como baixa, pois as seqüências que flanqueiam os locos microsatélites foram conservadas. Esta observação também pode ser extrapolada com maior intensidade para as espécies do gênero *Euterpe*, apesar do pequeno número de locos testados.

Por procedências

O nível de polimorfismo gerado pelos sete *primers* SSR, em relação às 26 procedências correspondentes aos 116 acessos de açaizeiro, encontra-se discriminado na Tabela 6.

No que diz respeito ao número total de alelos, foi constatada uma variação de oito (Carutapera,MA) a 37 (Breves,PA) alelos, apresentando média de 16,54 alelos por procedência. Em consequência disso, o número médio de alelos/loco foi bastante variável, com o menor e o maior valor atingindo 1,14 e 5,29, registrados em Carutapera, MA e Breves, PA, respectivamente, o que acarretou média baixa, alcançando 2,36 alelos por loco.

TABELA 6 Polimorfismo gerado nas 26 procedências dos 116 acessos de açazeiros com base nos 42 alelos obtidos nos sete locos SSR.

Procedências	N	Nº de Alelos	Nº médio de alelos/loco	% de locos polimórficos	PIC ¹
Benfica,PA	2	12	1,71	71,43	0,32
Benevides,PA	4	17	2,43	100,00	0,47
Mosqueiro,PA	1	12	1,71	71,43	0,36
Stº Antº Tauá,PA	5	17	2,43	71,43	0,43
Chaves,PA	15	33	4,71	100,00	0,62
Muaná-PA	11	25	3,57	100,00	0,64
Breves,PA	32	37	5,29	100,00	0,73
Gurupá,PA	5	19	2,71	85,71	0,49
Melgaço,PA	1	12	1,71	71,43	0,36
Santarém,PA	2	19	2,71	100,00	0,57
Prainha,PA	1	13	1,86	85,71	0,43
Stª Maria,PA	1	10	1,43	42,86	0,21
Cametá,PA	5	23	3,29	100,00	0,55
Oiapoque,AP	9	31	4,43	100,00	0,69
Macapá,AP	5	27	3,86	100,00	0,66
Carutapera,MA	1	8	1,14	14,29	0,07
Maracaçumé,MA	2	14	2,00	71,43	0,36
Stª Luzia,MA	1	10	1,43	42,86	0,21
Zé Doca,MA	1	10	1,43	42,86	0,21
Turiaçu,MA	2	9	1,29	28,57	0,13
Stª Inêz,MA	1	10	1,43	42,86	0,21
Cururupu,MA	1	9	1,29	28,57	0,14
Mirinzal,MA	2	12	1,71	42,86	0,25
Guimarães,MA	2	10	1,43	42,86	0,21
Alcântara,MA	2	12	1,71	42,86	0,23
Linhares,ES	2	19	2,71	100,00	0,59
Média	4,46	16,54	2,36	69,23	0,39

n: número de acessos amostrados; ¹: conteúdo de informação de polimorfismo.

Em relação à percentagem de locos polimórficos, nove procedências se destacaram apresentando polimorfismo máximo (Benevides,PA, Chaves,PA, Muaná,PA, Breves,PA, Santarém,PA, Cametá,PA, Oiapoque,AP, Macapá,AP e Linhares,ES). Por outro lado, três localidades maranhenses, Carutapera, Turiaçu

e Cururupu, exibiram os menores índices, com 14,29%, 28,57% e 28,57%, respectivamente.

Quanto ao conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), Breves foi a procedência que registrou a maior magnitude, atingindo 0,73, seguida por Oiapoque, Macapá, Muaná e Chaves com valores de 0,69, 0,66, 0,64 e 0,62, respectivamente. Os menores valores ocorreram em Carutapera, MA (0,07), Turiaçu, MA (0,13) e Cururupu, MA (0,14). Os baixos valores encontrados nestes locais foram decorrentes da baixa riqueza alélica (menos de 10 alelos por loco), pequenas percentagens de locos polimórficos e do grande número de locos fixados, que devem ter sido ocasionados pelo pequeno número de acessos nessas procedências. O alto número de locos fixados pode ser devido a ocorrência de acasalamentos entre indivíduos aparentados, o que deve favorecer o surgimento de indivíduos indesejáveis nas próximas gerações.

Souza (2002), estudando a diversidade genética em uma população natural de açazeiro sem ação antrópica com a aplicação dos mesmos *primers*, apesar de ter encontrado alta riqueza alélica (número de alelos por loco igual a 14) e diversidade gênica ($He=0,84$), também detectou a presença de excesso de homozigotos na população, indicando a existência de endogamia, em consequência de acasalamentos não aleatórios e de autofecundação.

Na avaliação da diversidade genética de quatro origens de tâmara com tamanhos amostrais variáveis ($n= 5, 6, 7$ e 30) e utilizando SSR, Zehdi et al. (2004b) obtiveram heterozigosidades esperadas variando de 0,62 ($n=7$) a 0,71 ($n=30$) e também relataram a ocorrência de indivíduos homozigotos. Ressalta-se que o número de amostras variáveis tem sido comum na caracterização de germoplasma de outras espécies (Meerow et al., 2003; Moura, 2003).

Níveis de polimorfismo similares aos aqui obtidos foram relatados na caracterização de populações, tipos e cultivares de coqueiro, com a aplicação de *primers* SSR (Meerow et al., 2003; Perera et al., 2000; Perera et al., 2001; Teulat

et al., 2000). Pode-se mencionar o trabalho de Meerow et al. (2003), que utilizaram 15 *primers* na análise da diversidade de 17 populações estabelecidas em um banco de germoplasma com tamanhos amostrais variáveis (n=1 a 12) e obtiveram de 5 a 33 alelos por população e heterozigosidades de 0,01 a 0,62.

Em populações naturais de outras palmeiras, as magnitudes para heterozigosidades esperadas têm sido semelhantes aos valores dos PIC obtidos neste trabalho para algumas procedências do açazeiro, como em *Syagrus ramanzoffiana* (Negrão, 1999), *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte et al., 1992), *Acrocomia aculeata* (Lopez et al., 1992) e *Euterpe edulis* (Conte et al., 2003; Cardoso et al., 2000; Gaiotto et al., 2001; Reis, 1996).

Segundo Jardim (1991), os padrões de polinização e dispersão do açazeiro estão diretamente relacionados aos eventos de floração nos períodos chuvoso e seco. Assim sendo, é possível que os vetores de polinização sejam específicos ou variem de comportamento nos períodos de floração, como também as distâncias efetivas entre touceiras (Souza, 2002). Tais fatores facilitam a ocorrência de endogamia e o surgimento de indivíduos indesejáveis. Apesar de tudo, acredita-se que a maior contribuição para valores de PIC baixos na maioria das procedências esteja relacionada ao pequeno tamanho da amostra e às condições do local de coleta.

Fazendo uma análise das treze procedências representantes do Pará nesta coleção de germoplasma, pode-se considerar que uma pequena parte esteja bem representada, sendo detentora, inclusive, de alelos exclusivos presentes nos locos EE15 e EE23, como é o caso de Chaves, Muaná e Breves. Porém, mais da metade delas (Benfíca, Benevides, Mosqueiro, Santo Antônio do Tauá, Gurupá, Melgaço, Prainha e Santa Maria) apresentou valor de PIC baixo e a presença de pelo menos um loco em homozigose. Logo, as procedências com baixo PIC devem ter sido influenciadas pelo pequeno número de acessos coletados nesses locais, os quais não permitiram contemplar todo o genoma do açazeiro contido

nessas localidades. O local de coleta também deve ter exercido influência no PIC, uma vez que os acessos dessas procedências foram estabelecidos por frutos colhidos em pomares caseiros ou pequenas propriedades rurais (Tabela 1A). Nessas condições, é comum os agricultores adquirem suas sementes por compra, troca ou doação de outras pessoas quase sempre colhidos da mesma planta.

Com base nesses argumentos, pode-se sugerir que Breves, Chaves e Muaná sejam as melhores representantes do Pará na coleção de germoplasma, pois apresentam alta riqueza alélica e altos valores de PIC. Com exceção de Muaná, onde os acessos foram coletados em propriedade rural, nas demais procedências os acessos são oriundos de populações naturais. É conveniente lembrar que essas localidades estão situadas no estuário amazônico e estão interligadas por furos (rede de rios) que têm confluência ora com o rio Pará, ora com o rio Amazonas, facilitando o processo de dispersão de sementes de várias espécies nativas via água (Rogez, 2000), inclusive do açaizeiro. Este tipo de disseminação pode favorecer a ocorrência de fluxo gênico à longa distância, sendo um dos fatores responsáveis pelo aumento no nível de polimorfismo dessas procedências, principalmente dentro delas.

Em relação ao estado do Amapá, ele está representado por apenas duas procedências, que tiveram 100% de locos polimórficos e valores de PIC altos. Nesses locais, o número máximo de acessos foi nove e, apesar de alguns deles terem sido coletados em pomares caseiros, não apresentaram locos fixados. Como estas localidades estão situadas também, na região do estuário, acredita-se que seja comum a disseminação de sementes via água e, por conseguinte, que ocorra grande contribuição de fluxo gênico a longas distâncias.

No caso do Maranhão, todas as procedências tiveram níveis de polimorfismo baixo, seja para número de alelos, número médio de alelos por loco e pelos baixíssimos valores de PIC. Logo, a variação genética do açaizeiro existente neste estado encontra-se mal representada nesta coleção, sendo

detentoras de alelos em homozigose em, pelo menos, dois locos dos sete *primers* avaliados. A maioria possui homozigose nos locos EE2 e EE3, mas Carutapera encontra-se em situação crítica, pois dos sete locos avaliados seis apresentam-se fixados. Pelos dados da Tabela 6, constata-se que essas localidades estão representadas por um ou no máximo dois acessos, os quais foram coletados tanto em pomares caseiros quanto em populações naturais (Tabela 1A). Portanto, é quase impossível capturar todos os alelos existentes de cada um dos locos estudados, com esta pequena amostra. Acrescente-se a este fato, ainda, a influência do gel de agarose que deve ter dificultado a separação dos pequenos e muito semelhantes fragmentos de DNA gerados por este marcador.

Em uma análise geral, pode-se evidenciar a forte influência do reduzido tamanho amostral no nível de polimorfismo dessas procedências, mas também é possível refletir que elevados números de acessos nem sempre contribuem para aumentar a diversidade intralocos. Estas considerações permitem recomendar que tamanhos amostrais entre nove e quinze acessos seriam suficientes para representar a diversidade do germoplasma de açazeiro nessas procedências. Dessa forma, no estabelecimento de estratégias para coletas de açazeiro, sugere-se a obtenção de um grande número de frutos (no máximo 50 frutos por planta) que devem ser coletados de, no mínimo, nove plantas por local, sendo, porém, efetuado em poucos locais.

Estas considerações reforçam a estratégia de coleta estabelecida para plantas alógamas, onde se deve implementar coletas em poucos locais, porém, com grande número de amostras por local (Vilela-Morales et al., 1997). Este procedimento também tem sido mencionado para a conservação *ex situ* de germoplasma do palmitreiro (Gaitto et al., 2003).

Com os resultados obtidos, pode-se considerar primordial a realização de novas coletas no estado do Maranhão, para que a variabilidade do açazeiro existente nesse estado esteja bem representada na coleção de germoplasma.

4.2.2 Diversidade genética

As estimativas das dissimilaridades mínima, máxima e média obtidas para os 116 acessos de açaizeiro com base no complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, encontram-se na Tabela 3A.

Percebe-se, nesta tabela que os acessos apresentaram dissimilaridades variando de 0,00 a 0,57, com média de 0,34. Quatorze deles (5, 6, 11, 12, 33, 34, 45, 48, 79, 80, 88, 89, 99 e 100) registraram valores mínimos de 0,02, enquanto os acessos 105 e 106 exibiram valores nulos. Os acessos de dissimilaridades nulas foram coletados em Guimarães, MA e os demais em diferentes localidades do Pará, do Amapá e do Maranhão.

Por outro lado, apenas dois acessos foram detentores de máxima dissimilaridade: o 84, coletado em pomar caseiro do município de Gurupá, PA, e o 112, oriundo de uma população natural de Cametá, PA. Esses acessos são procedentes de condições ambientais diferentes (Tabela 1A) e de locais que distam mais de 260km. Adin et al. (2004), estudando populações de pupunheira, consideraram isoladas geneticamente aquelas separadas por longas distâncias (próximas de 300 km ou mais).

Um outro ponto importante a ser ressaltado nesta tabela é que exatamente a metade dos acessos apresentou dissimilaridades médias iguais ou acima da média geral, fornecendo indícios de que os acessos dessa coleção sejam possuidores de ampla diversidade genética.

Esses resultados permitem fazer algumas indagações. Como o açaizeiro tem sido mencionado como uma planta alógama (Jardim, 1991; Ohashi, 1990) e todos os acessos dessa coleção foram estabelecidos por sementes, além das dissimilaridades obtidas pelo marcador RAPD, pode-se inferir que as elevadas similaridades identificadas por este marcador SSR estejam superestimadas, as quais podem ter sido influenciadas pelo pequeno número de *primer* ou pelo gel de agarose empregado na identificação das bandas polimórficas. Mas, há fortes

indícios da contribuição do gel, pois, mesmo utilizando-se agarose de alto poder de resolução e em concentração elevada, o gel não foi tão eficiente em discriminar fragmentos de DNA muito semelhantes, ou seja, que diferem em 10 ou menos pares de base.

No gráfico da Figura 5, encontra-se a distribuição de freqüência das estimativas de dissimilaridades genéticas obtidas entre os 6.670 pares de acessos de açazeiro. Observa-se que o maior número de pares (30,3%) ocorreu na sétima classe, a qual apresentou intervalo de 0,28 a 0,34 e ponto médio de 0,31. A maioria dos pares apresentou dissimilaridades de magnitudes variando de 0,23 a 0,44, estando situado entre a quinta e décima classes.

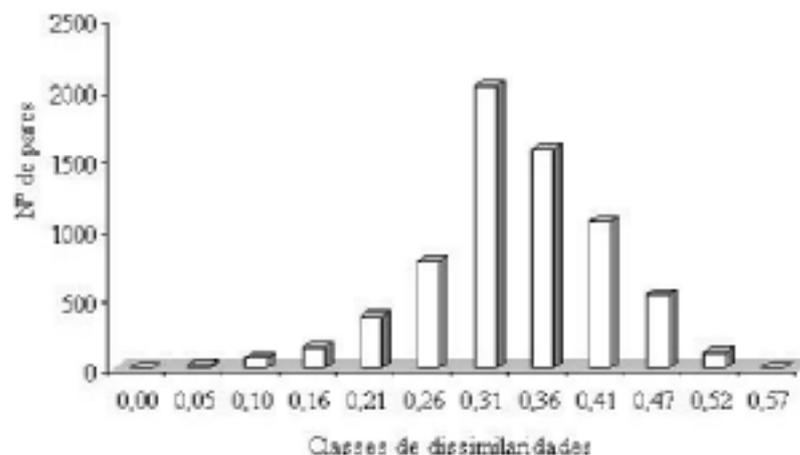


FIGURA 5 Distribuição de freqüência das estimativas de dissimilaridades genéticas obtidas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, com base nas 42 bandas polimórficas de SSR geradas nos 116 acessos de açazeiro.

O ponto mais relevante a ser destacado nesta figura é que a distribuição dos pares de dissimilaridades foi bem semelhante à obtida na caracterização por meio de marcadores RAPD (Figura 2), ou seja, com poucos pares incluídos nas classes das extremidades. Porém, houve uma tendência do maior número de pares pertencer às classes de dissimilaridades com magnitudes superiores a 0,26, mesmo assim de valores baixos. Ressalte-se, mais uma vez, que esta tendência pode ser reflexo do pequeno número de *primers* empregado e, principalmente, do sistema de resolução do polimorfismo em agarose que, provavelmente, não permitiu realizar uma boa amostragem da diversidade genética dos acessos. Mas, serve também para enfatizar o valor e a eficiência dos microssatélites em amostrar a variabilidade intralocos.

O dendrograma gerado a partir da matriz do complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, pelo método hierárquico UPGMA, está representado na Figura 6. O valor cofenético deste dendrograma foi significativo ($r=0,64$, $P \leq 0,0001$ para 10.000 permutações) e bem próximo do sugerido por Rohlf (2000) como indicativo de boa adequação do método de agrupamento em resumir a informação do conjunto de dados ($\geq 0,7$), sendo maior que o considerado por Vaz Patto et al. (2004) como ideal para analisar a diversidade genética em germoplasma de milho por microssatélites (0,56).

Neste dendrograma, percebe-se a formação de inúmeros grupos e subgrupos. Mas, com base no ponto de corte realizado a partir da dissimilaridade genética média entre todos os acessos ($dg_{SM} = 0,34$), houve a distinção de seis grupos: I) constituído por sete acessos (19, 79, 80, 20, 40, 99 e 100) pertencentes a quatro procedências que abrangem o Pará, o Amapá e o Maranhão; II) formado por dez acessos (83, 84, 85, 90, 91, 87, 86, 88, 89 e 92), todos procedentes do Pará; III) por onze acessos (37, 38, 39, 41, 42, 43, 96, 97, 98, 113 e 115) de seis localidades, envolvendo o Pará, o Maranhão e Espírito Santo; IV) por doze acessos (33, 34, 35, 36, 61, 63, 62, 64, 65, 66, 68 e 74), todos do Pará, com

exceção do 74, que é do Amapá; V) o menor grupo, formado pelos acessos 82, 116 e 114, procedentes do Oiapoque, AP, Linhares, ES e Cametá, PA, respectivamente e o VI) o maior grupo, abrangendo 73 acessos. De modo geral, o número de grupos formados por este marcador foi próximo ao obtido na caracterização por marcadores RAPD (Figura 3), porém, de arranjo distinto e apresentando alguma tendência na formação dos grupos com acessos do mesmo estado.

Nota-se que os acessos 115 e 116, possuidores de genoma híbrido entre *E. oleracea* e *E. spiritossantensis*, ocorreram em grupos distintos, o primeiro incluído no grupo III e o segundo no grupo V, ao contrário do observado no marcador dominante. Como a procedência desses acessos apresentou 100% de locos polimórficos e valor do PIC de 0,59, pode-se constatar o alto poder dos microssatélites em detectar pequenas diferenças que, neste caso, deve-se a alelos diferentes em todos dos locos. Estendendo essa afirmativa aos demais acessos, pode-se supor que os resultados obtidos com os dois marcadores são complementares e, portanto, devem aumentar a eficiência na análise da diversidade genética desses acessos.

Resultados concordantes foram obtidos por Perera et al. (2000) e Perera et al. (2001), quando agruparam acessos de coqueiro de diferentes variedades, tipos e locais utilizando marcadores SSR. Em alguns trabalhos formando, inclusive, poucos agrupamentos, como o realizado por Meerow et al. (2004) utilizando 92 indivíduos de diferentes cultivares do tipo anão e também por Zehdi et al. (2004b), em acessos de tâmara de diferentes localidades. Nesses estudos os autores salientaram a eficiência dos microssatélites em discriminar os acessos. Para clones de cacaueteiro, o número de grupos formados foi ainda menor (Faleiro et al., 2001).

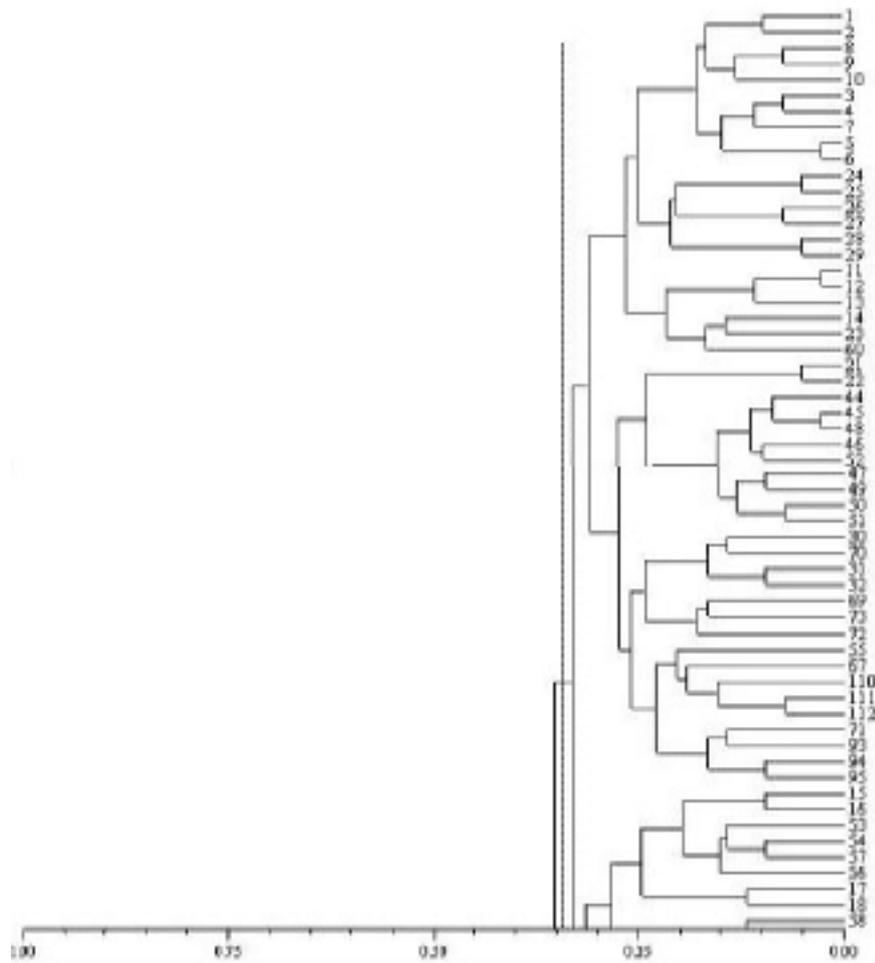
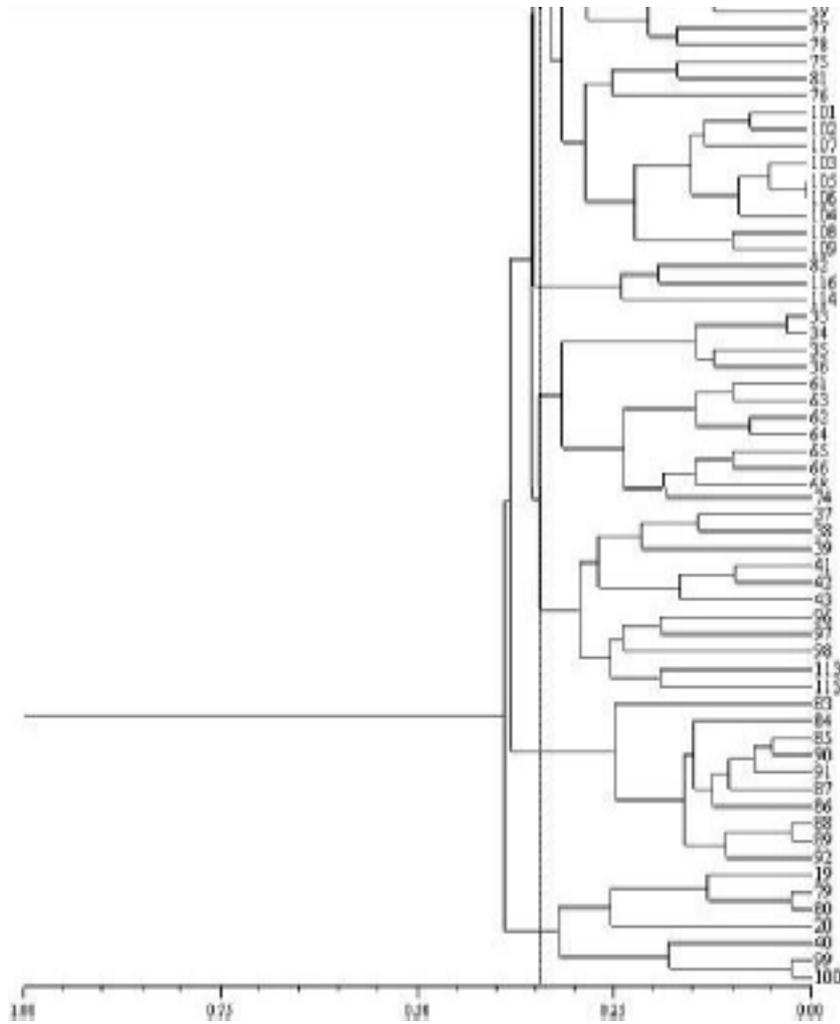


FIGURA 6 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das estimativas de dissimilaridades, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, com base em 42 bandas polimórficas de SSR geradas nos 116 acessos de açaizeiro. $dg_{SM} = 0,34$ (Continua...)



“FIGURA 6, Cont.”

Analisando as dissimilaridades obtidas entre as 26 procedências desses acessos, pode-se observar que houve uma variação um pouco menor indo de 0,06 a 0,51, mas a média foi semelhante, alcançando 0,33 (Tabela 7). Os

menores valores foram registrados entre as localidades de Guimarães e Mirinzal (0,06) e Cururupu e Santa Inêz (0,07), todas do Maranhão.

TABELA 7 Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, obtidas com base em 42 bandas polimórficas de SSR geradas nas 26 procedências de açaizeiro.

Procedências	Média	Mínimo	Máximo
Benfica,PA	0,32	0,17	0,48
Benevides,PA	0,32	0,11	0,48
Mosqueiro,PA	0,33	0,11	0,49
Stº Antº Tauá,PA	0,32	0,20	0,47
Chaves,PA	0,35	0,27	0,42
Muaná,PA	0,35	0,27	0,43
Breves,PA	0,34	0,29	0,41
Gurupá,PA	0,37	0,12	0,49
Melgaço,PA	0,37	0,12	0,49
Santarém,PA	0,34	0,16	0,50
Prainha,PA	0,34	0,16	0,51
Stª Maria,PA	0,30	0,15	0,40
Cametá,PA	0,32	0,24	0,45
Oiapoque,AP	0,35	0,31	0,41
Macapá,AP	0,34	0,27	0,39
Carutapera,MA	0,29	0,15	0,43
Maracaçumé,MA	0,31	0,15	0,44
Stª Luzia,MA	0,34	0,23	0,43
Zé Doca,MA	0,33	0,24	0,42
Turiaçu,MA	0,43	0,35	0,51
Stª Inêz,MA	0,32	0,07	0,44
Cururupu,MA	0,31	0,07	0,43
Mirinzal,MA	0,31	0,06	0,44
Guimarães,MA	0,30	0,06	0,45
Alcântara,MA	0,29	0,15	0,42
Linhares,ES	0,38	0,31	0,45
Geral	0,33	0,06	0,51

Em relação ao dendrograma gerado, verificou-se também a formação de vários grupos e subgrupos. Mas, tomando como ponto de corte a média das dissimilaridades ($dg_{SM} = 0,33$), as procedências permitiram a formação de sete agrupamentos: o I) por Linhares, ES; II) Turiaçu, MA; III) Gurupá, Melgaço, Santarém e Prainha, todas do Pará; IV) Muaná, PA, Oiapoque e Macapá, AP; V) Chaves, PA; VI) Breves, PA e o VI) por 16 procedências, sendo a grande maioria do Maranhão e cinco do Pará (Figura 7). No caso do grupo IV, ressalta-se que Muaná, dista mais de 270km das demais localidades. Já no sexto grupo, a maioria dos subgrupos constituiu-se de locais próximos. A confiabilidade dos agrupamentos formados foi alta e significativa ($r=0,83$ com $P \leq 0,0001$ para 10.000 permutações), evidenciando que o dendrograma obtido conseguiu agrupar com eficiência as procedências.

Comparando este dendrograma com o gerado pelo marcador RAPD (Figura 4), pode-se observar que eles guardam alguma semelhança, pois discriminaram, igualmente, as procedências Breves e Turiaçu, mas apenas os microssatélites conseguiram separar as procedências de Chaves e Linhares, esta última constituída por acessos híbridos. É importante observar que o marcador codominante apresentou uma tendência bem maior de formar grupos afins, seja por proximidades geográficas ou por alguma característica em comum, fornecendo indícios de ser mais eficiente que o RAPD no arranjo dos grupos e que o número de *primers* não foi um fator limitante.

Com base nesses resultados pode-se considerar que o pequeno número de *primers* utilizados, apenas sete, foi eficiente em avaliar a diversidade genética, principalmente a intralocos, complementando os resultados obtidos com RAPD.

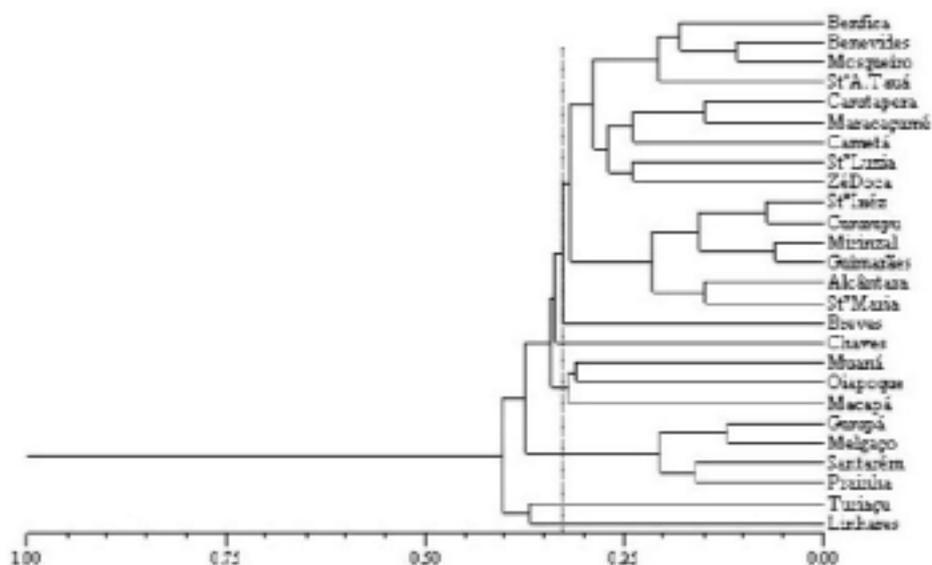


FIGURA 7 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das estimativas de dissimilaridades, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, com base em 42 bandas polimórficas de SSR geradas nas 26 procedências de açaizeiro. $dg_{SM} = 0,33$

Segundo Amorim (2005), o número mínimo de *primer* SSR para estudos dessa natureza deve ser, pelo menos, igual ao número de cromossomos que, no estudo em foco deveria atingir 26 ou 32 *primers*. Contudo, acredita-se que o número considerado por este autor seja essencial na predição de valores fenotípicos, pois Alves (2002) usou 21 *primers* SSR para caracterizar a diversidade genética em populações de cupuaçuzeiro, que possui número somático de 40 cromossomos e conseguiu atingir seus objetivos com eficiência.

De maneira geral, em estudos de diversidade genética com palmeiras (Conte et al., 2003; Conte, 2004; Perera et al., 2000; Perera et al., 2001; Souza, 2002; Zehdi et al., 2004a; Zehdi et al., 2004b) e com outras espécies perenes

(Ciampi & Grattapaglia, 2001; Faleiro et al., 2001; Fontaine et al., 2004; Koehler-Santos et al., 2003; Zucchi, 2002), tem sido comum o emprego de poucos *primers* SSR. Para Billotte et al. (2004), um grande número de *primers* microssatélites é necessário quando se pretende estudar o centro de domesticação de espécies ou obter mapas genéticos saturados, com a finalidade de associar de marcadores moleculares às características quantitativas de interesse econômico (QTLs).

4.2.3 Estruturação genética

Os resultados da análise de variância molecular constam da Tabela 8. Como se pode verificar, a AMOVA revelou diferença altamente significativa entre procedências para a distribuição da variabilidade genética (0,242, $P \leq 0,0001$), contendo 24,15% da variação global. Entretanto, grande parte da proporção ainda ficou retida dentro de procedências, respondendo por 75,85% da variação total evidenciando ampla variabilidade entre acessos.

TABELA 8 Análise de variância molecular obtida de 17 procedências de açazeiro, com base em 42 alelos de sete locos SSR obtidos em 107 acessos.

Fonte de variação	Variância	Varição %	<i>P</i>	ϕ_{st}
Entre procedências	1,769	24,15	0,0001	0,242
Dentro de procedências	5,555	75,85		

Maior ϕ_{st} para 10.100 permutações=0,242

Apesar de ter-se detectado alto nível de diferenciação genética entre procedências, a percentagem de variação particionada contida entre elas foi um pouco menor que a observada pelo marcador dominante (Tabela 5). Porém, como esses valores foram próximos, pode-se confirmar a concordância do procedimento da AMOVA na análise da distribuição da variabilidade das procedências de açazeiro, independente do tipo de marcador.

Níveis de diferenciação genética semelhantes foram obtidos em germoplasma de outras palmeiras com o uso de marcadores SSR e de outros codominantes, como no dendezeiro (Hayati et al., 2004) e em populações de palmitero submetidas à ação antrópica (Conte et al., 2003, Conte, 2004). Utilizando dez locos alozímicos e oito SSR em quatro populações, Conte (2004) atribuiu a alta diferenciação entre populações de palmitero ao fato da espécie apresentar cruzamentos não aleatórios entre indivíduos aparentados (5%) e biparentais (10%), apesar dessa espécie se reproduzir por alogamia.

Como já relatado nos itens anteriores, Souza (2002) também registrou taxa de cruzamento de 12,9% entre indivíduos aparentados em uma população natural de açazeiro. Essas mesmas prerrogativas podem ter favorecido as altas taxas de diferenciação registradas neste trabalho, tanto por RAPD quanto por SSR. Essas inferências tornam-se mais evidentes em função da ocorrência de fluxo gênico via pólen à curta distância (no mesmo estipe e entre estipes da mesma touceira), especialmente quando realizado pela gravidade (Jardim, 1991; Souza, 2002).

No coqueiro, Perera et al. (2001), empregando a estatística F de Wright, detectaram baixos níveis de diferenciação genética entre populações da variedade gigante, quando analisaram a distribuição da diversidade genética em 33 populações com o uso de oito *primers* microssatélites ($F_{st} = 5,4\%$). Todavia, há relatos desta variação encontrar-se distribuída de forma equitativa entre e

dentro de populações da variedade gigante e, no caso no tipo anão, a diversidade ser maior entre populações (Perera et al., 1998).

Em populações naturais de palmitreiro avaliadas pela estatística F de Wright, com a aplicação de microssatélites, a variação genética entre populações foi bem menor, atingindo $F_{st} = 0,07$ (Gaitto et al., 2003). Para esses autores, o baixo nível de significância interpopulacional ocorreu devido ao alto nível de fluxo gênico à longa distância, tanto por pólen quanto por sementes.

Pouca diferenciação genética ($\phi_{st} = 0,0503$) foi detectada, também entre populações de copaíba analisada com o emprego de microssatélites, pelo procedimento da AMOVA (Ciampi & Grattapaglia, 2001). Todavia, esses autores obtiveram magnitudes de diferenciação distintas nas três classes de marcadores moleculares utilizadas (SSR, AFLP e cpDNA), sendo a porcentagem de variação maior no dominante (AFLP) que no codominante (SSR). Este fato também foi registrado entre as procedências de açazeiro aqui estudadas, em que constatou-se maior porcentagem de variação na análise com RAPD.

Esses resultados também foram obtidos com base em 17 procedências, as quais foram representadas por, pelo menos, dois acessos. As procedências que participaram desse estudo foram: nove do Pará (Benfica, Benevides, Santo Antônio do Tauá, Chaves, Muaná, Breves, Gurupá, Santarém e Cameté), duas do Amapá, quatro do Maranhão (Turiaçu, Mirinzal, Guimarães e Alcântara) e uma do Espírito Santo. Apesar da eliminação das procedências com um acesso, há fortes indícios de que o reduzido tamanho amostral da maioria das localidades tenha contribuído para a alta porcentagem de variação entre procedências, fato já mencionado no estudo com o marcador dominante.

Tais resultados reforçam a existência de grande diferença genética entre acessos da mesma procedência, já relatada nos tópicos anteriores, e confirma a necessidade de novas coletas no Maranhão, para que suas procedências possam representar a variabilidade do açazeiro na coleção de germoplasma.

4.3 Caracterização morfo-agronômica

4.3.1 Variação fenotípica pela análise de variância univariada

O resumo das análises de variância para os 28 caracteres morfo-agronômicos avaliados nos 87 acessos de açaizeiro encontra-se na Tabela 9. Verifica-se que o teste F revelou diferenças altamente significativas entre acessos para quase todas as características, exceção feita apenas para a duração da fase feminina (DFF com $P \leq 0,05$), duração da fase masculina (DFM) e rendimento de polpa por fruto (RPF), as duas últimas sendo não significativas.

No aspecto geral, os acessos apresentaram características desejáveis para a produção de frutos, possuindo, em média, bom perfilhamento (acima de cinco estipes por planta) e altos rendimentos de frutos por cacho e de polpa por frutos. Contudo, as médias para número total de cachos e a produção total de frutos por planta/ano foram baixas, demonstrando que tais caracteres sofreram pouca influência de seleção. Sendo assim, indivíduos dessa coleção que apresentem valores acima da média para esses caracteres devem ser indicados para programas de melhoramento.

No caso dos coeficientes de variação, constata-se que eles assumiram percentagens bastante variáveis entre os caracteres, com os menores valores sendo registrados para os diâmetros de fruto (DLT e DTF), rendimento de frutos por cacho (RFC), comprimento da bainha foliar (CBF), número de folhas (NF), altura da planta (AP) e peso de cem frutos (PCF), os quais não atingiram 10% e, portanto, devem apresentar pouca variação fenotípica entre os acessos. Por outro lado, a maior percentagem ocorreu na característica intervalo entre fases de floração (IEF), considerado o caráter que exerceu maior influência entre os acessos.

TABELA 9 Resumo das análises de variância obtidas para os 28 caracteres morfo-agronômicos avaliados em 87 acessos de açaizeiro.

Caracteres	Quadrados médios		Média	C.V (%)
	Acessos	Erro		
NEP (unid.)	14,170**	5,211	5,05	45,18
NEFP (unid.)	7,377**	2,482	3,85	40,91
AE (m)	4,006**	0,271	6,34	8,21
NF (unid.)	1,210**	0,715	10,75	7,87
CBF (m)	0,016**	0,005	1,04	6,85
CAP (cm)	42,175**	13,426	32,11	11,41
CEN (cm)	320,440**	91,131	59,67	16,00
DFM (dias)	3,852 ^{ns}	2,929	11,20	15,54
IEF (dias)	3,755**	1,863	2,02	67,55
DFE (dias)	0,763*	0,557	4,18	17,85
DFT (dias)	5,716**	2,994	17,19	10,06
DLT (mm)	1,173**	0,333	11,89	4,86
DTF (mm)	1,600**	0,388	13,63	4,57
PF (g)	0,152**	0,034	1,41	13,09
PP (g)	0,010**	0,004	0,32	19,52
PS (g)	0,091**	0,024	1,08	14,34
RPF (%)	10,707 ^{ns}	8,350	23,27	12,42
DAP (dias)	883,153**	340,786	181,01	10,20
NAP (unid.)	3,642**	1,500	4,40	27,85
NMP (unid.)	0,565**	0,369	1,89	32,20
NTC (unid.)	3,360**	2,107	3,49	41,64
PTF (kg)	20,923**	12,300	6,72	52,19
PTC (kg)	0,823**	0,344	2,53	23,19
PFC (kg)	0,559**	0,245	1,88	26,38
RFC (%)	43,945**	20,558	71,04	6,38
NRC (unid.)	228,053**	111,011	98,93	10,65
CRC (cm)	114,616**	60,614	52,25	14,90
PCF (g)	985,841**	172,161	145,39	9,02

NEP e NEFP: número de estipes por planta e frutificando por planta; AE: altura do estipe; NF: número de folhas; CBF: comprimento da bainha foliar; CAP: circunferência do estipe; DFM: duração da fase masculina; IEF: intervalo entre fase; DFE: duração da fase feminina; DFT: duração total da floração; DLT e DTF: diâmetro longitudinal e transversal do fruto; PF: peso do fruto; PP: peso da polpa; PS: peso da semente; RPF: rendimento de polpa por fruto; DAP: dias após a polinização; NAP: número de anos em produção; NMP: número de meses em produção; NTC: número total de cachos; PTF: produção total de frutos; PTC e PFC: peso total do cacho e de frutos por cacho; RFC: rendimento de frutos por cacho; NRC: número de ráquias por cacho; CRC: comprimento da ráquia do cacho; PCF: peso de cem frutos; * e **: significativo a 5% e a 1% pelo teste F; ^{ns}: não significativo.

Contudo, deve ser salientado que esses caracteres foram mensurados em experimento (coleção de germoplasma) no qual não houve controle local e nem aleatorização, o que pode ter contribuído para maiores estimativas do erro experimental e, por conseguinte, toda a variação exceto a dos tratamentos acumulou-se no erro. Mas, supõe-se que a precisão experimental foi boa, uma vez que permitiu detectar diferença significativa entre os acessos para a maioria dos caracteres avaliados.

Estes resultados estão condizentes com os obtidos por Oliveira et al. (1998), quando avaliaram a variação fenotípica entre 20 acessos dessa coleção, procedentes de três localidades do estado do Pará (Breves, Muaná e Chaves) e, encontraram alta variação para a maioria dos caracteres aqui abordados.

No coqueiro, também foram encontradas amplas variações fenotípicas para caracteres botânicos e agrônômicos entre acessos da coleção de germoplasma da Filipinas (Sugimura et al., 1997; Vargas & Blanco, 2000).

Alves (2002), analisando a variação fenotípica entre 30 clones de cupuaçuzeiro conservados em um Banco de Germoplasma e instalados na mesma condição experimental do estudo em foco, ressaltou que caracteres pouco afetados pelo ambiente devam ser mais discriminativos. Porém, Oliveira (1995), quando avaliou acessos de açaizeiro da coleção aqui analisada, não encontrou diferenças entre os tratamentos ao aplicar o teste de Tukey na comparação de médias para os caracteres NF, DAP e RFC, que apresentaram coeficientes de variação menores que 11%.

4.3.2 Seleção de descritores

As estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas respectivas variâncias relativas e acumuladas obtidas para os 28 caracteres estão contidas na Tabela 10. Como se pode notar pelas percentagens da variância relativa, grande parte da variação ficou diluída até o décimo sétimo

componente principal, os quais responderam por 96,77% da variação acumulada e que os dois primeiros componentes conseguiram explicar somente 35,84% da variação total.

TABELA 10 Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e de suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas dos 28 caracteres avaliados em 87 acessos de açaizeiro.

Componentes	Autovalores	%	% Acumulada
1	6,4334	22,98	22,98
2	3,6005	12,86	35,84
3	3,0870	11,02	46,86
4	2,5595	9,14	56,00
5	1,9408	6,93	62,93
6	1,6566	5,92	68,85
7	1,4084	5,03	73,88
8	1,1026	3,94	77,82
9	1,0696	3,82	81,64
10	0,9589	3,42	85,06
11	0,6821	2,44	87,50
12	0,5897	2,11	89,60
13	0,5329	1,90	91,51
14	0,4300	1,54	93,04
15	0,3987	1,42	94,47
16	0,3413	1,22	95,69
17	0,3043	1,09	96,77
18	0,2204	0,79	97,56
19	0,1670	0,60	98,16
20	0,1549	0,55	98,71
21	0,1309	0,47	99,18
22	0,0946	0,34	99,51
23	0,0580	0,21	99,72
24	0,0337	0,12	99,84
25	0,0223	0,08	99,92
26	0,0140	0,05	99,97
27	0,0058	0,02	99,99
28	0,0023	0,01	100,00

Resultados semelhantes foram encontrados por Barros (1991) e Pereira (1989), quando avaliaram acessos do banco de germoplasma de cajueiro e mandioca, respectivamente, por componentes principais. Para esses autores, a distribuição da variância está associada à natureza e ao número de caracteres empregados na análise, estando concentrada nos primeiros componentes principais, apenas quando avaliam-se poucos caracteres de interesse agrônomo ou de um mesmo grupo. Assim, os resultados obtidos estão dentro do esperado.

Em palmeiras, resultados com a análise de componentes principais e com variáveis canônicas reforçam essa tendência. Por exemplo, no coqueiro, Sugimura et al. (1997), estudando 35 caracteres botânicos e agrônômicos em 39 acessos, encontraram 24,43% da variação total retida nos quatro primeiros componentes principais. Já Ribeiro et al. (1999), avaliando 19 caracteres de frutos em cinco populações constataram que as três primeiras variáveis canônicas acumularam 95,12% da variação contida nos caracteres originais. Em pupunheira, Martel et al. (2003), utilizando quinze descritores morfológicos envolvendo cacho e frutos na discriminação de 83 acessos, verificaram que os dois primeiros componentes principais armazenaram 59,2% da variância total.

Esses mesmos aspectos foram observados em outras espécies tropicais (Ferreira, 1993; Miranda et al., 2003; Moura, 2003; Shimoya et al., 2002; Veiga et al., 2001), especialmente em plantas arbóreas (Alves, 2002; Araújo et al., 2002; Dias et al., 1997; Santos et al., 1994).

Neste estudo, a seleção dos descritores foi efetuada, preliminarmente, por dois procedimentos: a seleção direta (Jolliffe, 1972 e 1973) e a seleção com reanálise (Cury, 1993). Pela seleção direta, foram sugeridos para descarte 18 caracteres (Tabela 4A), os quais apresentaram os maiores coeficientes de ponderação nos componentes principais cujos autovalores foram inferiores a 0,7, iniciando o descarte a partir do último componente (Tabela 10).

Analisando os dados da Tabela 4A, percebe-se que o primeiro caráter indicado para descarte foi a duração da floração total (DFT), que apresentou o maior coeficiente de ponderação em módulo com o último componente principal (-0,611), seguido pelos caracteres peso de frutos por cacho (PFC), peso do fruto (PF) e produção total de frutos (PTF), que tiveram os mais altos coeficientes de ponderação em módulo com os componentes principais 27, 26 e 25, respectivamente. Com base na seleção direta, os 18 caracteres considerados redundantes, conforme a seqüência de descarte, foram: DFT, PFC, PF, PTF, DTF, PP, DLF, PCF, NEFP, AE, NRC, CEN, RFC, CAP, NF, CBF, DAP e NAP.

Pela seleção com reanálise, foram indicados para descarte apenas sete caracteres que, seguindo esse procedimento, assumiram a seguinte ordem: DFT, PFC, PF, PTF, DTF, PP e PS. A partir do último descritor eliminado (PS), os caracteres passaram a infringir as normas preestabelecidas, apresentando alta correlação com uma variável já descartada. Por exemplo, o oitavo descritor sugerido para descarte foi o DLF altamente associado aos caracteres PF, DTF e PP, todos já descartados.

Comparando os dois procedimentos, verifica-se que a seleção direta foi extremamente drástica, uma vez que eliminou sete dos oito caracteres da planta e onze caracteres considerados importantes na avaliação da produção de frutos (Oliveira et al., 2000b; Oliveira et al., 2000c; Oliveira, 2005b). Em contrapartida, a seleção com reanálise mostrou-se mais adequada, apesar de ter sugerido para descarte todos os caracteres empregados na obtenção do rendimento de polpa por fruto (RPF). Então, para atenuar a drasticidade do primeiro método (Daher, 1993) e minimizar possíveis erros no descarte foram eliminados apenas os seis caracteres coincidentes nos dois procedimentos, sendo eles: DFT, PFC, PF, PTF, DTF e PP.

Esta decisão permitiu o descarte de 21,43% dos caracteres avaliados, devendo trazer melhorias na caracterização e avaliação dos acessos de açaizeiro desta coleção. A possibilidade do descarte de caracteres que pouco contribuem para a discriminação do germoplasma avaliado é fundamental, por ocasionar a redução considerável no tempo destinado a estas atividades, além de promover economias de recursos materiais e na mão-de-obra (Cruz et al., 2004), os quais são elevados em espécies perenes.

As estimativas da correlação de Pearson entre os seis caracteres descartados e os 22 selecionados, encontram-se na Tabela 11. Observa-se que o descarte efetuado não ocasionou perda significativa de informações, pois todas as características redundantes apresentaram-se associadas a, pelo menos, seis das selecionadas.

Deve-se salientar que dois caracteres de frutos descartados neste estudo, PF e DTF, têm sido relatados como importantes na avaliação de açaizeiros (Gazel & Lima, 2002; Oliveira, 2005b). Porém, tais caracteres foram altamente associados com três dos caracteres selecionados, DLF, PS e PCF e, conseqüentemente, não devem causar perdas de informações. Ainda no caso do caráter PF, segundo Rogez (2000), não há relação entre o teor de matéria seca e o peso do fruto, sugerindo que o rendimento do “açai”, esteja associado ao rendimento da parte comestível do fruto, ou seja, com o caráter RPF.

Dois caracteres agronômicos descartados, PFC e PTF, também têm sido mencionados como relevantes na seleção de indivíduos desejáveis para frutos (Gazel & Lima, 2002). Contudo, outros estudos confirmam a existência das altas associações aqui obtidas entre PFC x PTC e PTF x NTC e, inclusive, enfatizam que o caráter PTF pode ser totalmente explicado pelo NTC (Oliveira et al., 2000b; Oliveira et al., 2000c).

TABELA 11 Coeficientes de correlação fenotípica entre os descritores morfo-agronômicos selecionados e descartados, avaliados em 87 acessos de açaizeiro.

Descritores selecionados	Descritores descartados					
	DFT	PFC	PF	PTF	DTF	PP
NEP	0,04	-0,10	0,16	0,14	0,13	0,18
NEFP	0,04	0,04	0,32**	0,42**	0,31**	0,26*
AE	-0,10	0,03	-0,08	0,22*	-0,04	-0,16
NF	-0,10	-0,08	-0,17	0,08	-0,14	-0,20
CBF	0,02	0,13	-0,13	-0,09	-0,07	-0,05
CAP	0,04	0,39**	-0,10	0,09	-0,11	-0,11
CEN	0,07	0,20	0,10	0,35**	0,09	0,03
DFM	0,65**	0,24*	-0,03	0,14	-0,02	-0,05
IEF	0,40**	-0,06	-0,13	-0,22*	-0,14	-0,08
DFF	0,42**	0,26**	-0,00	0,16	0,03	-0,03
DAP	0,16	0,13	0,18	-0,00	0,11	0,17
DLF	-0,09	0,30**	0,94**	0,17	0,96**	0,78**
PS	-0,09	0,27**	0,92**	0,21*	0,88**	0,67**
RPF	-0,04	0,05	-0,07	-0,15	-0,10	0,40**
NAP	-0,03	0,04	0,21*	0,12	0,23*	0,15
NMP	0,06	0,03	0,04	0,49**	0,01	-0,08
NTC	-0,14	-0,02	0,08	0,82**	0,09	-0,05
PTC	0,22*	0,98**	0,27**	0,49**	0,24*	0,26*
RFC	0,26*	0,59**	0,28**	0,33**	0,28**	0,27**
NRC	0,13	0,55**	0,29**	0,16	0,26*	0,30**
CRC	0,24*	0,36**	0,01	0,05	-0,00	0,07
PCF	-0,00	0,41**	0,84**	0,21*	0,84**	0,72**

NEP e NEFP: número de estipes por planta e frutificando por planta; AE: altura do estipe; NF: número de folhas; CBF: comprimento da bainha foliar; CAP: circunferência do estipe; DFM: duração da fase masculina; IEF: intervalo entre fase; DFF: duração da fase feminina; DFT: duração total da floração; DLT e DTF: diâmetro longitudinal e transversal do fruto; PF: peso do fruto; PP: peso da polpa; PS: peso da semente; RPF: rendimento de polpa por fruto; DAP: dias após a polinização; NAP: número de anos em produção; NMP: número de meses em produção; NTC: número total de cachos; PTF: produção total de frutos; PTC e PFC: peso total do cacho e de frutos por cacho; RFC: rendimento de frutos por cacho; NRC: número de ráquias por cacho; CRC: comprimento da ráquis do cacho; PCF: peso de cem frutos; * e **: significativo aos níveis de 5% e a 1%.

Quanto aos demais caracteres descartados, DFT e PP, não há informações na literatura sobre suas importâncias na inferência da produção de

frutos dessa palmeira. Mas, há registros que o caráter PP apresenta-se altamente influenciado pelo ambiente (Oliveira, 2005b). Em virtude de esses caracteres terem mostrado associações consideráveis com dois dos caracteres selecionados (DFM e DLF), pode-se esperar que o descarte dos mesmos não traga prejuízos na interpretação da diversidade fenotípica nem na avaliação de indivíduos desejáveis.

No que tange aos caracteres selecionados, Gazel & Lima (2002), também enfatizaram a importância de oito deles (AE, CAP, NF, PS, NTC, PTC, NRC e CRC) no estudo de diversidade genética de 39 matrizes de açaizeiro, as quais foram agrupadas em quatro conglomerados. Já para as mesmas condições deste estudo, o caráter PCF tem sido apontado como altamente regular na avaliação da superioridade de açaizeiros (Oliveira, 2005a).

Resultados discordantes foram mencionados por Oliveira et al. (2000c) para caracteres da planta. Esses autores, avaliando 100 plantas desta coleção, não encontraram nenhuma correlação de alta magnitude entre os caracteres NEP, NF, CBF, AE, CEN e CAP e nove caracteres de produção de frutos.

Martel et al. (2003), aplicando a análise de componentes principais em 15 descritores morfológicos na discriminação de raças de pupunheira, selecionaram dez deles para a realização da análise discriminante, ou seja, eliminaram 33,33% dos caracteres e destacaram o número de ráquias por cacho, o comprimento da ráquis do cacho e o peso da semente, por terem apresentado o maior poder discriminante.

Estas informações fornecem respaldos para considerar que todos os descritores selecionados sejam importantes no estudo da divergência fenotípica entre os acessos e procedências de açaizeiro. Elas também possibilitam deduzir que os mesmos passem a compor a lista mínima de descritores, a qual deve ser complementada com caracteres qualitativos, especialmente a cor dos frutos, tipo de estipe, precocidade de produção e de emissão de perfilhos.

4.3.3 Eficiência do descarte

Apesar de os caracteres selecionados serem importantes no estudo da divergência, foi avaliada a eficiência do descarte dos redundantes pela comparação dos grupos de dissimilaridades formados pelo método de otimização de Tocher, os quais constam na Tabela 12.

Os resultados demonstram que os 28 caracteres proporcionaram a formação de quatro grupos distintos, os quais foram obtidos com base nas 21 procedências de açazeiro, o primeiro abrangendo 16 procedências, o segundo e o terceiro agrupamentos formados por duas procedências e o quarto grupo contendo apenas uma procedência (Melgaço, PA).

Levando em consideração os 22 caracteres selecionados, pôde-se constatar que o número e a distribuição dos grupos sofreram pequenas modificações, pois houve a formação de sete grupos com a seguinte constituição: um com dez procedências; outro por cinco procedências; outro envolvendo duas procedências, e os demais grupos constituídos por uma procedência.

Fazendo uma análise dos grupos formados pelos 28 caracteres e pelos 22 selecionados, percebe-se que houve coincidência total no último grupo, constituído pela procedência de Melgaço, sendo parcial no segundo e penúltimo grupos. As maiores modificações ocorreram nos grupos 3 e 4, formados pelos 22 descritores selecionados (Tabela 12, grupo b), cujas procedências pertenciam ao primeiro grupo formado pelos 28 caracteres (Tabela 12, grupo a) e a inclusão de três procedências desse mesmo grupo no segundo formado pelos caracteres selecionados. Mas, aventa-se que os agrupamentos formados pelos caracteres remanescentes foram bem mais adequados, por terem discriminado mais grupos.

Dias (1994) e Dias et al. (1997), aplicando este mesmo método na comparação da eficiência do descarte em clones de cacaueiro, com o emprego da distância euclidiana, verificaram pequenas alterações na formação dos grupos

pelo conjunto de caracteres originais e os remanescentes, tendo atestado a eficiência da metodologia de seleção com reanálise no descarte dos caracteres.

Araújo et al. (2002) também analisaram a eficiência do descarte com base na formação de grupos pelo método de Tocher, a partir da distância de Mahalanobis, quando avaliaram descritores de frutos em clones de cupuaçuzeiro e observaram pouca alteração no número e na constituição dos grupos.

TABELA 12 Grupos formados pelo método de otimização de Tocher, a partir das dissimilaridades expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas para os 28 caracteres (a) e os 22 selecionados (b) nas 21 procedências de açaizeiro.

Grupos (a)	Procedências
1	St ^o Ant ^o Tauá, St ^a Inêz, Mirinzal, Guimarães, Mosqueiro, Chaves, Alcântara, Muaná, Cametá, Benfíca, Benevides, Turiaçu, Breves, St ^a Luzia, Maracaçumé, Macapá
2	Santarém, Prainha
3	Oiapoque, Gurupá
4	Melgaço
Grupos (b)	Procedências
1	Mosqueiro, Mirinzal, St ^a Inêz, Muaná, Turiaçu, Chaves, Guimarães, Breves, Cametá, Alcântara
2	Santarém, Prainha, Benfíca, Maracaçumé, Benevides
3	St ^o Ant ^o Tauá, St ^a Luzia
4	Macapá
5	Oiapoque
6	Gurupá
7	Melgaço

Maior distância entre os mínimos: 1,45 (a) e 1,33 (b).

A comparação efetuada com as informações dos dendrogramas gerados pelo método UPGMA, como sugerido por Bekele et al. (1994), também mostrou

pequenas distorções. Utilizando como ponto de corte a distância média, os dendrogramas obtidos com os dados dos 28 caracteres e dos 22 selecionados, formaram seis e quatro grupos, respectivamente, os quais possuem algumas coincidências na constituição.

Para Cury (1993), num processo de descarte, é normal ocorrerem perdas de informações. Com base nesta afirmativa, pode-se sugerir que, caso tenham ocorrido perdas de informações com o descarte realizado, essas devem ter sido mínimas. Dessa forma, considera-se que os caracteres selecionados conseguiram representar a divergência genética do conjunto avaliado e devem proporcionar redução nos custos da avaliação.

4.3.4 Diversidade fenotípica

As estimativas das dissimilaridades fenotípicas entre cada par de acessos foram obtidas por meio da distância euclidiana média padronizada, com base nos 22 caracteres selecionados.

A variação fenotípica entre os 87 acessos de açaizeiro pode ser analisada pelas dissimilaridades médias, mínimas e máximas contidas na Tabela 5A, pela distribuição de frequência das dissimilaridades obtidas entre os 3.741 pares formados na matriz fenotípica (Figura 8) e por meio do dendrograma gerado com base nestas estimativas (Figura 9).

Pelos resultados contidos na Tabela 5A, constata-se que os acessos alcançaram dissimilaridades variando de 0,09 a 1,87, com média geral de 1,39. As dissimilaridades mínimas ocorreram nos acessos 26 (Chaves,PA) e 49 (Breves,PA), enquanto os acessos 68 (Breves,PA) e 78 (Oiapoque,AP) foram os representantes das dissimilaridades máximas. Um outro aspecto importante a ser ressaltado é que mais da metade dos acessos (52,87%) teve médias iguais ou acima da média geral, evidenciando que grande parte dos acessos dessa coleção detém acentuada divergência.

Estas informações podem ser úteis para programas de hibridação do açaizeiro visando à produção de frutos, uma vez que grande parte dos caracteres analisados abrange esta produção e, principalmente, porque fornece subsídios para restringir o número de genitores a ser escolhido. Porém, devem ser acompanhadas pela avaliação da capacidade geral e específica de combinação, pois, além de o açaizeiro ser uma planta alógama, os acessos aqui estudados foram propagados por sementes e, portanto, representam médias de famílias de meios-irmãos.

No que diz respeito à distribuição de frequência, observa-se que, nas seis primeiras classes, figuram poucos pares de acessos, os quais foram detentores de estimativas de dissimilaridades entre 0,09 e 0,90 e que a maioria deles (92%) ficou concentrada nas classes cujas dissimilaridades variaram de 1,06 a 1,71, o que permite caracterizar esta distribuição como tendo forte assimetria à direita (Figura 8). Este tipo de distribuição revela que os acessos existentes nesta coleção são bastante divergentes para os 22 descritores selecionados. Tomando por base tais argumentos, pode-se inferir que os acessos ainda não sofreram pressão de seleção para as características analisadas e que ganhos genéticos consideráveis podem ser esperados com a seleção de indivíduos desejáveis nesta coleção.

Uma análise comparativa entre as distribuições de frequências obtidas por meio de marcadores moleculares com a constituída pelos 22 caracteres morfo-agronômicos remanescentes permite interpretar que, além dos acessos apresentarem ampla variação genética, eles também se mostraram divergentes para os caracteres analisados. Deve-se reforçar que a grande maioria dos acessos dessa coleção foi coletada no Pará, Amapá e Maranhão, em localidades do estuário amazônico, o que explica as grandes variações morfológicas encontradas para o açaizeiro nesses locais e também permite confirmar as suposições levantadas sobre a ocorrência do centro de diversidade genética do açaizeiro (Lleras et al., 1983; Oliveira, 2000c).

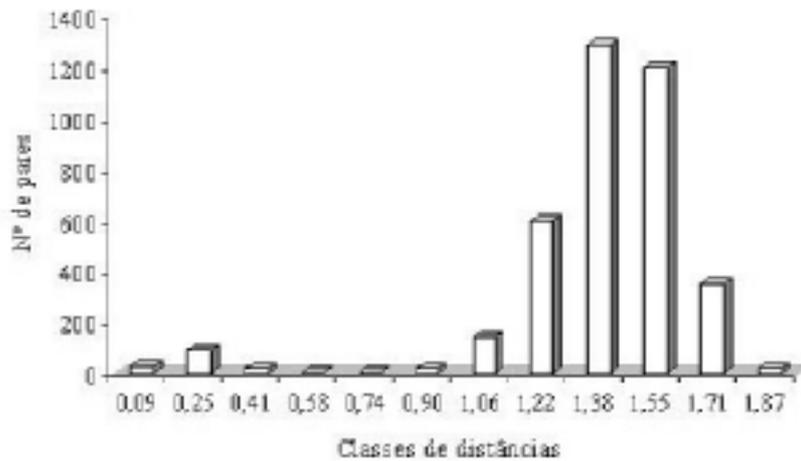


FIGURA 8 Distribuição de freqüência das estimativas de dissimilaridades, expressas pela distância euclidiana média padronizada, com base nos 22 descritores selecionados e avaliados nos 87 acessos de açazeiro.

Na Figura 9, encontra-se o dendrograma gerado a partir da matriz de distâncias euclidianas entre os acessos. Por meio dele, pode-se visualizar a formação de vários grupos, sendo cinco deles formados partindo do ponto de corte feito com base na média geral ($dg_E=1,39$), os quais contemplam um emaranhado de subgrupos. Observa-se também que os acessos 26 e 49, 7 e 33, 59 e 97, representantes de diferentes localidades, foram os mais similares, estando classificados numa distância relativa menor que 12%. Todavia, esses acessos formaram subgrupos distintos dentro dos grupos I, II e V, respectivamente. Este dendrograma apresentou valor cofenético alto e significativo ($r=0,88$, $P \leq 0,0001$), indicando uma fidelidade adequada do método de agrupamento na representação do conjunto de dados.

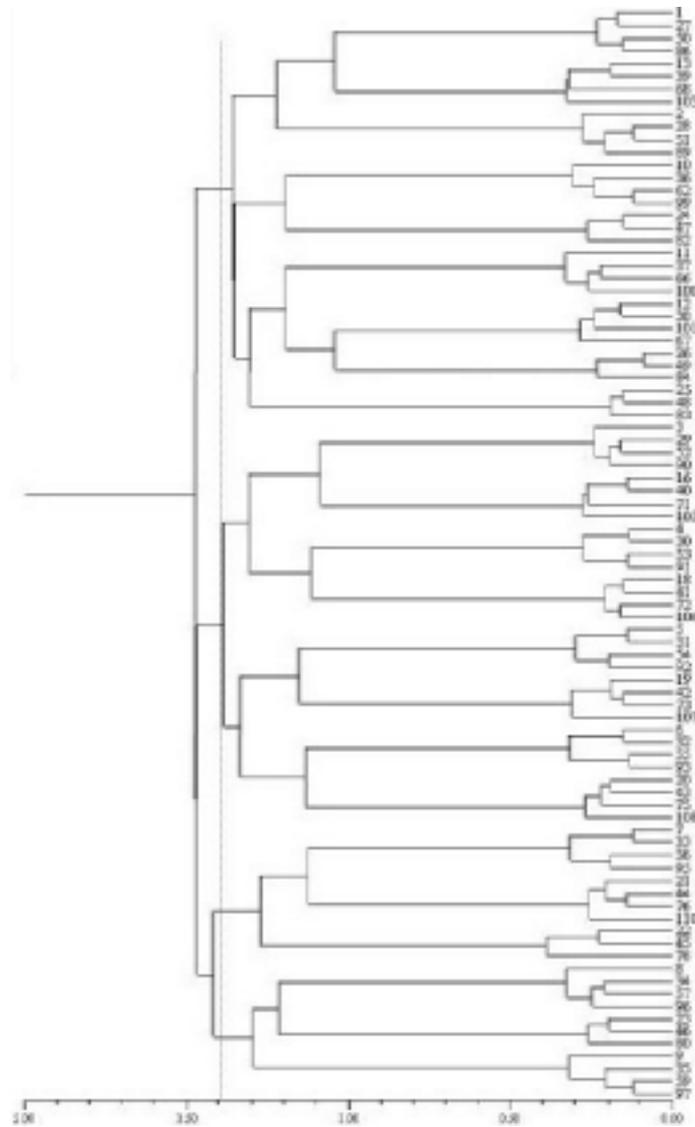


FIGURA 9 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das dissimilaridades fenotípicas, expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas dos 22 descritores selecionados com base nos 87 acessos de açazeiro. $dg_E=1,39$

A formação de poucos grupos também foi verificada na caracterização da diversidade genética desses acessos por meio de marcadores RAPD (Figura 3) e SSR (Figura 6). Mas, neste caso, houve pouca tendência de os acessos coletados na mesma procedência pertencerem ao mesmo grupo, mostrando que a variação dentro das procedências é maior que entre elas.

O não agrupamento de indivíduos por local de coleta também foi observado por Moura (2003), quando avaliou acessos de jaborandi. Porém, Alves (2002), analisando clones de cupuaçuzeiro, verificou uma tendência de acessos coletados no mesmo local possuírem relacionamento genético entre eles.

Gazel Filho & Lima (2002) também obtiveram a formação de poucos grupos, quando utilizaram a análise de conglomerados, em 39 matrizes de açazeiro coletadas em vários locais dos estados do Amapá e Pará, com base em treze caracteres morfo-agronômicos.

Na avaliação da diversidade e na discriminação de raças de outras palmeiras por caracteres morfológicos, tem sido comum a formação de poucos grupos. No coqueiro, Vargas & Blanco (2000), caracterizando 21 acessos de quatro populações com base em 16 caracteres de frutos, constataram a formação de quatro grupos com alta homogeneidade. Na pupunheira, a aplicação de 15 descritores morfológicos em 83 acessos do banco de germoplasma, pertencentes a 16 populações, proporcionou a formação de três grupos (Martel et al., 2003).

Na Tabela 13, encontram-se os grupos formados com os 87 acessos pelo método de otimização de Tocher. Pode-se notar que os acessos foram separados em 24 grupos, a maioria contendo quatro acessos, quase sempre de localidades diferentes, sendo os dois últimos grupos os menores, constituídos por dois e um acessos. Assim como no dendrograma, não foi observada a organização dos acessos por local de coleta, indicando que a divergência fenotípica entre os acessos da mesma procedência seja grande.

TABELA 13 Grupos formados pelo método de otimização de Tocher, a partir das dissimilaridades expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas para os 22 caracteres selecionados e avaliados nos 87 acessos de açaizeiro.

Grupos	Acessos
1	26 (Chaves), 49 (Breves), 84 (Gurupá)
2	7 (Benevides), 33 (Muaná), 56 (Breves), 95 (Maracaçumé)
3	28 (Muaná), 51 (Breves), 89 (Breves), 2 (Benfica)
4	59 (Breves), 97 (Stª Luzia), 35 (Muaná), 9 (Stº Antº Tauá)
5	62 (Breves), 99 (Turiaçu), 36 (Muaná), 10 (Stº Antº Tauá)
6	4 (Benevides), 30 (Muaná), 53 (Breves), 91 (Santarém)
7	55 (Breves), 93 (Santarém), 32 (Muaná), 6 (Mosqueiro)
8	5 (Benevides), 31 (Muaná), 54 (Breves), 92 (Prainha)
9	16 (Chaves), 40 (Breves), 71 (Macapá), 105 (Guimarães)
10	41 (Breves), 76 (Oiapoque), 21 (Chaves), 110 (Cametá)
11	18 (Chaves), 41 (Breves), 72 (Oiapoque), 106 (Guimarães)
12	24 (Chaves), 47 (Breves), 82 (Oiapoque)
13	25 (Chaves), 48 (Breves), 83 (Gurupá)
14	42 (Breves), 73 (Oiapoque), 19 (Chaves), 107 (Alcântara)
15	50 (Breves), 86 (Gurupá), 27 (Chaves), 1 (Benfica)
16	12 (Stº Antº Tauá), 38 (Muaná), 101 (Stª Inêz), 67 (Breves)
17	29 (Muaná), 52 (Breves), 90 (Melgaço), 3 (Benevides)
18	13 (Chaves), 39 (Breves), 68 (Breves), 103 (Mirinzal)
19	20 (Chaves), 43 (Breves), 75 (Macapá), 108 (Alcântara)
20	23 (Chaves), 46 (Breves), 80 (Oiapoque)
21	34 (Muaná), 57 (Breves), 96 (Maracaçumé), 8 (Stº Antº Tauá)
22	37 (Muaná), 66 (Breves), 100 (Turiaçu), 11 (Stº Antº Tauá)
23	22 (Chaves), 45 (Breves)
24	78 (Oiapoque)

(): Procedência do acesso; maior distância entre os mínimos: 0,37.

Em capim-elefante, Shimoya et al. (2002) obtiveram a formação de 18 grupos pelo método de Tocher, quando estudaram a divergência entre 99 acessos, com base em 17 caracteres quantitativos.

Uma análise comparativa dos agrupamentos obtidos pelos dois métodos, permite constatar que, com exceção dos últimos grupos formados no método de Tocher, houve alguma semelhança nos demais. Mas, se o ponto de corte no

dendrograma fosse efetuado a uma distância de 1,00, a constituição desses agrupamentos seria basicamente a mesma, havendo apenas mudança na ordem seqüencial dos grupos.

Em outros trabalhos realizados com espécies arbóreas, também não foram encontrados os mesmos números de grupos por esses dois métodos, porém foi relatada a coincidência na formação de alguns agrupamentos (Alves, 2002; Nascimento Filho et al., 2001; Santos et al., 1994; Sousa, 2003).

Dias et al. (1997), apesar de terem mencionado que o método de Tocher não foi satisfatório em relacionar a variabilidade entre clones de cacaueteiro, observaram similaridade na formação dos grupos por este método com o do vizinho mais próximo. O mesmo resultado foi constatado por Carvalho et al. (2003) na avaliação da diversidade fenotípica entre acessos de algodão.

Analisando as dissimilaridades fenotípicas em relação às 21 procedências, verifica-se que as menores dissimilaridades ocorreram nas localidades de Mosqueiro,PA e Mirinzal,MA com distâncias de 1,12 (Tabela 14). No caso das maiores distâncias, essas foram registradas em Chaves,PA e Melgaço,PA. Ressalta-se ainda que mais da metade das procedências exibiu distâncias médias superiores à média geral. Esses resultados reforçam a observação feita na análise dos acessos, em que foi constatada a maior diversidade dentro de procedências, concordando também com os resultados moleculares.

O dendrograma formado com dados das procedências também formou vários grupos, apresentando valor cofenético significativo ($r=0,70$, $P \leq 0,0001$) e, com base no ponto de corte efetuado pela média geral, possibilitou a formação de quatro grupos (Figura 10). Neste dendrograma, observa-se que as procedências do Maranhão ficaram basicamente no mesmo grupo, ou seja, contidas no segundo grupo.

TABELA 14 Dissimilaridades fenotípicas médias, mínimas e máximas, expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas dos 22 descritores selecionados, com base nas 21 procedências de açazeiro.

Procedências	Média	Mínima	Máxima
Benfíca,PA	1,35	1,18	1,50
Benevides,PA	1,42	1,23	1,65
Mosqueiro,PA	1,36	1,12	1,61
Stº Antº do Tauá,PA	1,42	1,16	1,67
Chaves,PA	1,41	1,14	1,78
Muaná,PA	1,42	1,20	1,72
Breves,PA	1,42	1,16	1,68
Gurupá,PA	1,48	1,21	1,66
Melgaço,PA	1,58	1,33	1,78
Santarém,PA	1,37	1,16	1,56
Prainha,PA	1,42	1,16	1,63
Cametá,PA	1,34	1,16	1,53
Macapá,AP	1,47	1,19	1,68
Oiapoque,AP	1,49	1,24	1,67
Maracaçumé,MA	1,42	1,13	1,68
Stª Luzia,MA	1,41	1,18	1,67
Turiaçu,MA	1,33	1,14	1,61
Stª Inêz,MA	1,37	1,20	1,73
Mirinzal,MA	1,35	1,12	1,63
Guimarães,MA	1,35	1,17	1,54
Alcântara,MA	1,36	1,17	1,58
Geral	1,41	1,12	1,78

No caso do método de Tocher, houve a formação de sete grupos, com três deles guardando forte semelhança na constituição dos formados no dendrograma (Tabela 12, grupo b).

De modo geral, espera-se que os resultados obtidos possam ser úteis na identificação de populações divergentes para a obtenção de irmão-germanos, em programas de seleção recorrente recíproca, especialmente se forem intercruzados acessos classificados em grupos distintos e portadores de genótipos agronomicamente favoráveis para frutos.

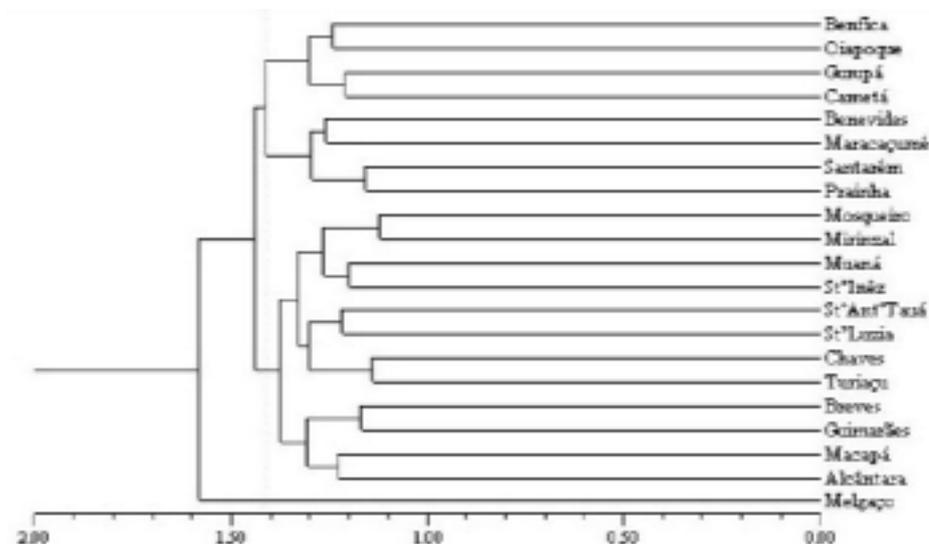


FIGURA 10 Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das dissimilaridades fenotípicas, expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas dos 22 descritores selecionados com base nas 21 procedências de açaizeiro. $dg_E=1,41$

Contudo, o potencial produtivo *per se* de cada acesso não deve ser ignorado, além de outras características desejáveis no melhoramento do açaizeiro visando à produção de frutos que não foram avaliadas neste trabalho, especialmente a cor dos frutos, precocidade de produção de frutos e de emissão de perfilhos.

Muito embora a caracterização morfo-agronômica seja vista como uma medida indireta da variabilidade total dos acessos aqui estudados, pois neste estudo permitiu analisar fenótipos, ela foi capaz de detectar acentuada diversidade em todos os caracteres (Tabela 10), como também a divergência entre acessos e procedências. Essas considerações servem para reforçar sua importância na avaliação de germoplasma do açaizeiro, visando subsidiar programas de melhoramento.

Os resultados obtidos com a caracterização da diversidade por meio de caracteres morfo-agronômicos complementada com a molecular, serviram para consolidar as informações sobre a ampla variabilidade dos acessos e definir com mais precisão a identidade dos mesmos. Neste trabalho, a caracterização molecular foi extremamente útil, pois permitiu a realização de inferências sobre os acessos que não participaram da caracterização morfo-agronômica. Esses estudos também devem servir para maximizar a eficiência na seleção de genótipos promissores em programas de melhoramento, seja por hibridação ou seleção, visando à produção de frutos.

4.4 Comparação entre diversidades genética e fenotípica

O relacionamento de qualquer conjunto de dados obtidos em diferentes hierarquias pode ser analisado pela dissimilaridade, com o emprego do teste Z de Mantel. Neste trabalho, compararam-se as dissimilaridades genéticas, obtidas por meio de marcadores RAPD e SSR, com as fenotípicas, obtidas para os 28 caracteres e os 22 selecionados, utilizando as matrizes geradas com os 87 acessos e as 21 procedências de açaizeiro comuns nas respectivas abordagens. O resumo dessas comparações consta na Tabela 15.

TABELA 15 Comparação entre dissimilaridades genéticas e fenotípica obtidas para acessos e procedências de açaizeiro pelo teste z de Mantel.

Dissimilaridades	Teste Z de Mantel (r)	
	Acessos	Procedências
RAPD (d_D) com SSR (d_{SM})	0,32	0,50
RAPD (d_D) com Morfo-agronômica (d_E)	-0,05 (-0,03)	-0,01 (0,05)
SSR (d_{SM}) com Morfo-agronômica (d_E)	-0,01 (0,03)	0,14 (0,29)

(): levando em consideração os 28 caracteres.

Para acessos, quando compararam-se as dissimilaridades genéticas obtidas por meio dos dois marcadores moleculares, verificou-se que o teste revelou associação altamente significativa, mas de baixa magnitude ($r=0,32$, $P \leq 0,0001$), sugerindo que os conjuntos de dados obtidos com RAPD e SSR apresentam alguma afinidade.

Este resultado é condizente com os de vários autores, que também obtiveram coincidências na caracterização da diversidade genética de germoplasma de palmeiras por diferentes marcadores (N'Goran et al., 1994; Sawazaki et al., 1998). Por outro lado, associação de maior magnitude entre os mesmos marcadores, foi verificada por Faleiro et al. (2001). Para estes autores, o número e a reprodutividade das marcas são os principais fatores que afetam a associação entre marcadores, mas, quando ela ocorre, pode-se esperar que ambos devam ser eficientes na classificação dos acessos (N'Goran et al., 1994). Essas considerações justificam a baixa concordância, uma vez que a comparação foi efetuada com os conjuntos de dados gerados por 42 e 263 bandas polimórficas de SSR e RAPD, respectivamente. Pode-se então supor que esses marcadores sejam complementares, uma vez que o RAPD, um marcador dominante, conseguiu realizar uma amostragem representativa da diversidade interlocos com um número de bandas acima do ideal, enquanto o SSR, codominante, realizou amostragem eficiente da diversidade intralocos com um número bem inferior de locos, nos quais a detecção de polimorfismo foi efetuada em gel de agarose, que dificulta a discriminação de fragmentos muito pequenos.

No caso da comparação dos agrupamentos gerados com as dissimilaridades genéticas e as fenotípicas para acessos, não foi observada nenhuma concordância, tanto pelos marcadores RAPD quanto pelos SSR, independente de se utilizar todos os descritores morfo-agronômicos (RAPD com $r=-0,03$ e SSR com $r=0,03$) ou apenas os selecionados (RAPD com $r=-0,05$ e SSR com $r=-0,01$). Tais resultados permitem sugerir que a diversidade genética

obtida por esses marcadores não explique a fenotípica. Koehler-Santos et al. (2003) também não encontraram concordâncias no padrão de variação em germoplasma de *citrus*, quando compararam as matrizes geradas com dados morfológicos e marcadores SSR.

Como o teste Z de Mantel demonstrou que o conjunto de informações obtidas entre os marcadores moleculares, seja RAPD ou SSR, e os descritores morfo-agronômicos foram plenamente discordantes, não oferecendo suporte para extrapolar os resultados de um conjunto de dados para outro. Tais resultados estão dentro do esperado, pois os caracteres avaliados são quantitativos e devem envolver vários genes de efeitos menores.

Resultado divergente foi encontrado por Alves (2002), quando avaliou, pelo mesmo teste, a associação entre 21 locos microssatélites e 19 descritores botânico-agronômicos em 31 acessos de cupuaçuzeiro. Ele obteve $r=0,72$ e sugeriu a possibilidade de identificar bandas associadas às características quantitativas de interesse (QTLs) para o melhoramento dessa fruteira perene.

Sousa (2003) também mencionou alta associação entre marcadores RAPD e dados fenotípicos, ao avaliar acessos pertencentes ao programa de melhoramento de guaraná, pela correlação de Pearson.

Quando as comparações foram feitas levando em consideração as procedências, verificou-se que a associação entre os marcadores, além de ser significativa, apresentou quase o dobro da magnitude anterior ($r=0,50$, $P \leq 0,0001$). Para Tatineni et al. (1996), valores de r acima de 0,50 devem ser considerados relevantes se o número de unidades observadas for superior a 15. Estes resultados reforçam estas medidas como complementares, pois a quantificação da diversidade amostrada foi similar pelos dois marcadores e, portanto permitem inferir uma tendência de que, com o aumento da diversidade genética interlocos detectada por marcadores RAPD, ocorra também aumento na diversidade genética intralocos via marcadores SSR.

No que tange ao estudo comparativo entre as dissimilaridades genéticas e as fenotípicas, observa-se que o teste aplicado revelou pequenas alterações em relação às obtidas para acessos, mas que não chegam a mudar os resultados.

Ao se comparar às dissimilaridades com base no marcador RAPD para procedências, os valores assumidos pelo teste de Mantel apresentaram magnitudes similares, seja com o emprego de todos os caracteres ($r=0,05$) ou dos 22 selecionados ($r=-0,01$), sendo quase nulas nos dois conjuntos de dados. Esses resultados confirmam a não concordância desse marcador em explicar a diversidade fenotípica e vice-versa. Moura (2003) também não obteve associação entre as distâncias euclidianas e as similaridades genéticas para áreas de coleta de jaborandi, com o emprego desse mesmo marcador, pela correlação de Pearson.

No caso da comparação das procedências com o marcador SSR, foi evidenciada baixa concordância entre as dissimilaridades genéticas e fenotípicas obtidas pelos 28 caracteres ($r=0,29$, $P \leq 0,0033$) e a não concordância com os descritores selecionados ($r=0,14$, $P \leq 0,0726$). Apesar da pequena diferença entre as magnitudes nesses dois conjuntos de dados, ambas foram consideravelmente baixas, podendo-se inferir que eles não se expliquem.

Para McKay & Latta (2002), marcadores moleculares e caracteres fenotípicos apresentam comportamentos distintos no estudo da divergência, não possibilitando extrapolar uma variação para outra, especialmente, se os caracteres forem quantitativos, como constatado neste estudo.

Vale ressaltar que marcadores moleculares baseiam-se em fragmentos aleatórios do DNA genômico. Logo, a possibilidade dos fragmentos analisados estarem associados aos caracteres morfo-agronômicos estudados é mínima, pois esses caracteres são quantitativos e devem envolver vários genes. Com base neste argumento, pode-se pressupor que a diversidade genética avaliada pelos marcadores moleculares seja mais fácil de ser detectada do que aquela medida

por esses caracteres, que neste estudo é representada pelo fenótipo, ou seja, sofre a influência do ambiente e do genótipo, daí a ausência de correlação entre essas dissimilaridades.

Levando em consideração que este teste apresenta resultados consistentes a partir de valores cofenéticos acima de 0,7 (Rohlf, 2000), deduz-se que não houve adequação entre os conjuntos de dados aqui relatados para a espécie em foco, seja na comparação por acessos ou por procedências. Por conseguinte, as dissimilaridades genéticas obtidas por marcadores RAPD e SSR não podem ser explicadas pelas fenotípicas, sendo a recíproca também verdadeira. Isso implica que ambas são importantes para a organização da diversidade do germoplasma de açaizeiro.

4.5 Correlações entre diversidades e distâncias geográficas

Os coeficientes de correlação de Spearman obtidos entre as dissimilaridades genéticas por meio de marcadores RAPD e as distâncias geográficas foram significativamente diferentes de zero e de baixas magnitudes (Tabela 16), tanto na análise das 26 procedências (N=325, $r=0,17^*$) quanto em relação às 21 localidades comuns no estudo das dissimilaridades genética e fenotípicas (N=210, $r=0,25^{**}$).

A análise das 21 procedências foi efetuada com o intuito de padronizar as informações das dissimilaridades com as distâncias geográficas e de corrigir possíveis alterações nos resultados das 26 procedências. Especialmente, em função dos acessos mais distantes geograficamente (Linhares,ES) dos demais serem híbridos interespecíficos entre *E. oleracea*, natural da região Norte, e *E. spiritossantensis*, nativo do Espírito Santo, sendo, detentores de fortes similaridades genéticas.

TABELA 16 Correlações de Sperman e comparações pelo teste Z de Mantel entre dissimilaridades e distâncias geográficas no germoplasma de açaizeiro estudado.

Dissimilaridades	Distâncias geográficas	
	Sperman (r)	Z Mantel (r)
RAPD (d_D)	0,25 ^{**} (0,17 [*])	0,23 (0,06)
SSR (d_{SM})	0,25 ^{**} (0,33 ^{**})	0,29 (0,30)
Morfo-agronômica (d_E)	0,02 ^{ns} (0,31 ^{**})	0,004 (0,28)

(): levando em consideração as 26 procedências e os 28 caracteres.

Mesmo assim, percebe-se que, apesar do nível de significância ter sido maior, assim como a magnitude, esta associação ainda continuou fraca, não permitindo afirmar que a diversidade genética detectada pelo marcador RAPD possa ser explicada totalmente pelas distâncias geográficas.

Contudo, supõe-se que as distâncias geográficas estejam, de alguma forma, associadas à divergência genética e que as baixas magnitudes possam ser explicadas por algum detalhe na realização das coletas dos acessos de açaizeiro nas referidas procedências, como também pela distribuição das matrizes nos locais, pelo fluxo gênico etc.

Sawazaki et al. (1998), caracterizando diferentes ecotipos de *Euterpe*, levantaram a possibilidade da existência de correlação entre a dissimilaridade obtida por este marcador e a distância geográfica. A mesma suposição foi feita por Costa et al. (2001) na avaliação da variabilidade genética de dez genótipos de açaizeiro da coleção aqui estudada, por RAPD. Entretanto, nos dois estudos, os autores não realizaram nenhum teste que pudesse confirmar esta associação.

Em outras palmeiras, foram relatadas associações negativas e de baixas magnitudes em estudo de diversidade genética com o emprego de marcadores dominantes. Por exemplo, no dendê, Moretzsohn et al. (2002), avaliando 175

acessos de quinze localidades por meio RAPD, obtiveram correlação negativa e de baixa magnitude ($r=-0,19$).

Na pupunheira, Adin et al. (2004), sugeriram não haver associação entre a diferenciação genética e a localização geográfica, quando avaliaram 20 populações da Amazônia Peruana com marcadores AFLP e consideraram tal fato como sendo consequência da dispersão de sementes à curta (pássaros e roedores) e à longa (homem) distâncias.

Zucchi (2002), analisando as matrizes de distâncias geográficas e genéticas entre dez populações de cagaiteira com o emprego de marcadores RAPD, pelo teste de Mantel, encontrou alto valor de correlação ($r=0,77$) e sugeriu a existência de um padrão espacial da variabilidade genética entre as populações. Contudo, quando se analisou as procedências por este mesmo teste, elas também apresentaram baixos valores de associação ($r=0,23$ para as 21 procedências e $r=0,06$ para as 26 procedências).

As correlações de Spermán realizadas entre as distâncias geográficas e as dissimilaridades genéticas por meio de marcadores SSR também apresentaram baixas magnitudes. Para as 26 procedências, apesar da associação ter sido altamente significativa, ocorreu baixa magnitude ($r=0,33^{**}$). Menor valor, porém, com o mesmo nível de significância foi registrado para as 21 localidades ($r=0,25^{**}$). Muito embora essas associações tenham apresentado alta significância, suas magnitudes foram baixas, não permitindo fazer inferências seguras de que as distâncias geográficas dessas procedências expliquem a diversidade genética por esse marcador. Possivelmente, deve existir alguma relação entre a distribuição geográfica ocorrida no passado, porém a forma como o germoplasma de açaizeiro foi coletado nessas procedências deve ter influenciado nos resultados.

Estes resultados estão em concordância com a estruturação genética observada para procedências, em que grande parte da variação total ficou retida dentro de procedências (Tabelas 5 e 8).

Alves (2002) encontrou correlação baixa e não significativa ($r=-0,13$), pelo teste de Mantel, quando associou as matrizes de distâncias genéticas geradas com dados de SSR e as geográficas, em populações de cupuaçuzeiro de diferentes locais e sugeriu que as distâncias genéticas não podem ser explicadas pelas geográficas. Este autor mencionou como possível causa da não associação o uso de um pequeno número de populações.

Por outro lado, Zucchi (2002) obteve correlação elevada e positiva ($r=0,87$) quando comparou a matriz de distância genética (obtida por meio de marcadores SSR com o agrupamento gerado por frequências alélicas) com a de distância geográfica entre dez populações de cagaiteira pelo teste de Mantel e considerou as populações estruturadas no espaço, em consequência da deriva genética e do fluxo gênico à curta distância.

Comparando as procedências de açazeiro com base nas matrizes de distâncias geográficas e dissimilaridade genética, obtida por meio do marcador SSR pelo teste de Mantel, verifica-se que os resultados foram semelhantes com $r=0,29$ para as 21 procedências e $r=0,30$ para as 26 procedências, estando em concordância com os valores obtidos pelas correlações de Sperman. Como relatado por Tatineni et al. (1996), valores de r abaixo de 0,50 não devem ser considerados relevantes, podendo-se pressupor que as distâncias geográficas entre as procedências também não expliquem as distâncias genéticas obtidas por este marcador. Apesar de tudo, deve ocorrer alguma relação entre a distribuição geográfica dessas procedências com as dissimilaridades genéticas obtidas por este marcador.

Zehdi et al. (2004b), avaliando a diversidade em 49 acessos de tâmara de quatro diferentes locais por meio de 100 alelos obtidos de 16 *primers* SSR,

observaram que acessos similares agruparam-se independentemente de sua origem geográfica.

Fontaine et al. (2004), estudando a diversidade genética em 179 indivíduos de *Vitellaria paradoxa* de treze localidades da África por meio de RAPD e microssatélites, observaram, pelo teste de Mantel, que as distâncias geográficas foram altamente correlacionadas as genéticas com o emprego de RAPD, mas não foram associadas ao marcador microssatélites.

Outros trabalhos abordando a diversidade genética em plantas arbóreas tropicais, inclusive palmeiras, mencionam associações entre dissimilaridades genéticas e distâncias geográficas, independente do tipo de marcador (Cardoso et al., 2000; Collevatti et al., 2001; Hayati et al., 2004; Perera et al., 2001; Telles et al., 2001).

Apesar das associações obtidas terem sido significativas, elas apresentaram baixas magnitudes. Em consequência disso, pode-se sugerir que no germoplasma de açaizeiro estudado, as distâncias geográficas não conseguiram explicar totalmente as dissimilaridades genéticas obtidas pelos marcadores RAPD e SSR. Todavia, deve possuir alguma congruência entre as distâncias genéticas obtidas por esses marcadores e as distâncias geográficas.

No caso das correlações entre as distâncias geográficas e as dissimilaridades fenotípicas, essas foram analisadas sob dois aspectos. O primeiro levou em consideração as 28 características, encontrando-se uma correlação significativa e de baixa magnitude, bem próxima da detectada para o marcador codominante ($r=0,31^{**}$). No segundo, a análise foi realizada com base nos 22 descritores selecionados, em que a associação passou a ser não significativa ($r=0,02^{ns}$). Ressalta-se que, mesmo apresentando diferenças no nível de significância e na magnitude das correlações, a primeira associação mostrou fraca magnitude não oferecendo condições para sugerir que as

distâncias geográficas tenham exercido alguma influência sobre a diversidade fenotípica.

Comparando as procedências pelas matrizes de distâncias geográficas com as fenotípicas pelo teste de Mantel, observa-se que os resultados apresentaram semelhanças aos obtidos com a correlação de Spermán, com $r=0,004$ para os 22 descritores selecionados e $r=0,28$ para os 28 caracteres. Na tentativa de verificar se os seis caracteres descartados ocasionaram alguma influência nos resultados, foi aplicado este mesmo teste entre as matrizes de distâncias geográficas e as distâncias fenotípicas obtidas com esses caracteres, porém a correlação foi baixa e não significativa ($r=0,14$).

Moura (2003) obteve correlação de magnitude semelhante à detectada para todos os caracteres, quando avaliou a associação das distâncias geográficas e as euclidianas em diferentes áreas de coletas de jaborandi, uma planta medicinal, tendo relacionado a baixa correlação com a pressão de seleção sobre determinados caracteres. Esta mesma inferência pode ser extrapolada para os dados aqui obtidos, uma vez que o germoplasma de açaizeiro estudado foi oriundo de coletas direcionadas em matrizes desejáveis para alguns caracteres de produção de frutos. Outros resultados obtidos com plantas perenes tropicais também demonstram a não associação entre distâncias fenotípicas e as geográficas (Dias et al., 1997; Nascimento Filho et al., 2001).

De modo geral, há uma tendência do padrão de diversidade genética e fenotípica do germoplasma de açaizeiro estudado ser independente da distância geográfica, com outros fatores exercendo maior influência para o aumento da diversidade, como a oscilação genética, a seleção em diferentes ambientes e a intervenção do homem na busca de ideótipos, do que o isolamento geográfico (Barros, 1991).

Esses resultados fornecem subsídios para propor que a principal causa para as distâncias geográficas não estarem associadas às dissimilaridades, seja o

padrão de disseminação do açazeiro, influenciado pelo homem, desde a época pré-colombiana, pelos índios que costumavam levar as sementes de suas roças em suas migrações ou trocar com outras tribos e também pelos rios.

5 CONCLUSÕES

O germoplasma de açazeiro existente na coleção da Embrapa Amazônia Oriental apresenta ampla diversidade.

Os marcadores RAPD são eficientes na caracterização da diversidade genética interlocos e permitem agrupá-la com adequação pelo método UPGMA, tanto acessos quanto procedências.

Em estudo de diversidade genética dessa palmeira, por meio de marcador RAPD, é necessário avaliar 180 bandas polimórficas, consideradas como número ideal.

Os marcadores SSR também são eficazes na quantificação da diversidade genética intralocos, agrupando-a com eficiência pelo mesmo método aplicado aos marcadores RAPD acessos e procedências. Apesar do pequeno número de *primers* e do sistema de resolução do polimorfismo aplicado, esses marcadores detectaram elevado número de alelos por loco e alto conteúdo de informação de polimorfismo.

As 26 procedências possuem diferentes níveis de polimorfismo identificados pelos marcadores SSR, com poucas estando bem representadas nesta coleção. Para melhoria na conservação da variabilidade genética do germoplasma de açazeiro, sugere-se a implementação de novas coletas em procedências do Maranhão com amostras de, no mínimo, nove acessos por procedência.

Os marcadores RAPD e SSR são concordantes quanto à distribuição da variação genética entre e dentro de procedências pelo procedimento da AMOVA, detectando diferenciação entre procedências e com considerável variação dentro delas. Esta informação é importante no estabelecimento de novas estratégias de coleta desta palmeira.

A variabilidade fenotípica detectada para a maioria dos caracteres morfo-agronômicos avaliados pela análise univariada fornece subsídios para sugerir que os acessos constituintes desta coleção apresentam elevada variação.

O descarte de 21,43% dos caracteres utilizados não ocasiona perda significativa de informação. Este procedimento deve dinamizar a atividade de avaliação em coleções de germoplasma desta espécie para a produção de frutos.

Os descritores selecionados são capazes de quantificar a diversidade fenotípica do germoplasma desta coleção, pelo emprego da distância euclidiana média padronizada, agrupando-a com consistência, pelos métodos UPGMA e Tocher.

Os marcadores RAPD e SSR são complementares na explicação da diversidade genética, mas, ambos são discordantes em relação à diversidade fenotípica.

As correlações entre as dissimilaridades genéticas e fenotípica com as distâncias geográficas não fornecem subsídios para garantir que as distâncias geográficas expliquem as diversidades no germoplasma estudado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIN, A.; WEBER, J.C.; SOTELO MONTES, C.; VIDAURRE, H.; VOSMAN, B.; SMULDERS, M.J.M. Genetic differentiation and trade among populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in the Peruvian Amazon – implications for genetic resource management. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, v.108, n. 8, p. 1564-1573, May 2004.

ALVES, R. M. **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Will ex Spreng) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. 2002. 146 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

AMORIM, E. P. **Produtividade de híbridos de milho, derivados de populações S₀, e associação com distância genética baseada em microssatélites**. 2005. 97 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ARAUJO, T.C.C. **Estrutura da variabilidade genética e estrutura populacional de *Caryocar brasiliense* Camb. No Estado de Goiás utilizando marcadores RAPD**. Goiânia, 2001. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO.

ARAUJO, D.G. de; CARVALHO, S. P.; ALVES, R. M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p. 13-21, jan./mar. 2002.

BALAKRISHNAN, P.C.; NAMBOODIRI, K.M.N. Genetic divergence in coconut. **Indian Coconut Journal**, Ernakulam, v. 18, n. 3, p. 13-19, 1987.

BALLVÉ, R.M.L. **Isoenzimas como marcadores genéticos em palmitero (*Euterpe spp*)**. 1988. 95 p. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade de Campinas, Campinas..

BARBOSA, A.M.M. **Análise da variabilidade genética em progênies de pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) por caracteres agronômicos e RAPD**. 1997. 110 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) –

Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, Jaboticabal, SP.

BARCELOS, E.; AMLARD, P.; BERTHAUD, J.; SEGUIN, M. Genetic diversity and relations in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.8, p.1105-1114, ago. 2002.

BARROS, L. de M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), tipos comum e anão precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BAWA, K.S. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest trees. **Biotropica**, St^o. Louis, v. 24, n. 2b, p.250-255, 1992.

BEKELE, F.L.; KENNEDY, A. J.; McDAVID, C.; LAUCKNER, F.B.; BEKELE, I. Numerical taxonomic studies on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. **Euphytica**, Dordrecht, v.75, n. 3, p.231-240, 1994.

BILLOTTE, N.; COUVREUR, T.; MARSEILLAC, N.; BROTTIER, P.; PERTHUIS, B.; VALLEJO, M.; NOYER, J.L.; JACQUEMOUD-COLLET, J.P.; RISTERUCCI, M.; PINTAUD, J.C. A new set of microsatellite markers for the peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth), characterization and across-taxa utility within the tribe Cocoeae. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.4, p. 256-258, 2004.

BROWN, A.H.D. Human impact on plant gene pools and sampling for their conservation. **Oikos**, Copenhagen, v. 63, n. 1, p. 109-118, Feb. 1992.

BUSO, G.S.; RANGEL, P.H.; FERREIRA, M.E. Analysis of genetic variability of South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, p. 107-117, 1998.

CALZAVARA, B.B.G. **As possibilidades do açaizeiro no estuário amazônico**. Belém: FCAP. 103 p. 1972. (Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 5).

CARDOSO, M.A.; PROVAN, J.; POWELL, W.; FERREIRA, P.C.G.; OLIVEIRA, D.E. de. High genetic differentiation among remnant populations

of the endangered *Caesalpinia eckivete* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, n. 5, p. 601-608, May 1998.

CARDOSO, S.R.S.; ELOY, N.B.; PROVAN, J.; CARDOSO, M.A.; FERREIRA, P.C.G. Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. Populations estimated by AFLP analysis. **Molecular Ecology**, Oxford, v.9, n. 11, p. 1753-1760, Nov. 2000.

CARVALHO, L.P. de.; LANZA, M.A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J.W. dos. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.10, p. 1149-1155, out. 2003.

CAVALCANTE, P. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: CEJUP, 1991. 271 p.

CHARCOSSET, A.; MOREAU, L. Use of molecular markers for the development of new cultivars and the evaluation of genetic diversity. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 81-94, Sept. 2004.

CIAMPI, A.Y.; GRATTAPAGLIA, D. **Variabilidade genética em populações de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. – Caesalpiniaceae) estimada com polimorfismos de AFLP, microssatélites e seqüenciamento de cpDNA**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 33 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 12).

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J.D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliensis*, based on variability at microsatellite loci. **Molecular Ecology**, Oxford, v.10, n. 2, p. 349-356, Feb. 2001.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germplasm based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p. 189-199, 2000.

CONDIT, R.; HUBBELL, S.P. Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. **Genome**, Ottawa, v.34, n. 1, p. 66-71, Feb. 1991.

CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e**

microssatélites. 2004. 124 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CONTE, R.; NODARI, R.O.; VENCOVSKY, R.; REIS, M.S. dos. Genetic diversity and recruitment of the tropical palm, *Euterpe edulis* Mart., in a natural population from the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, London, v.91, n. 4, p. 401-406, Oct. 2003.

CORNIQUEL, B.; MERCIER, L. Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar identification by RFLP and RAPD. **Plant Science**, Clare, v. 101, n. 2, p. 163-172, 1994.

COSTA, M.R.; OLIVEIRA, M. do S.P.; MOURA, E.F. Variabilidade genética em açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.21, p. 46-50, jul./ago. 2001.

CRUZ, C.D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. 1990. 188 p. Tese (Doutorado em genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético** Viçosa: UFV, 2003. v. 2, Cap. 6, p. 338-434.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética. In: CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. v. 1, Cap. 8, p. 377-413.

CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL – Aplicativo computacional para análise de dados moleculares e de suas associações com caracteres quantitativos**. Versão 2004. 2.1. Viçosa, MG: UFV, 2004.

CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de São Paulo**. 1993. 103 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

DAHER, R. F. **Diversidade morfológica e isoenzimática em capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.)**. 1993. 110 p. Dissertação (Mestrado em

Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

DIAS, L. A. dos S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa, MG: UFV, 1998. p.405-473.

DIAS, L. A. dos S. **Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 1994. 94 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

DIAS, L. A. dos S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotrópica**, Bahia, v. 9, n. 1, p. 29-40, 1997.

DUCKE, A. **Plantas de cultura precolombiana na Amazônia Brasileira**: notas sobre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. Belém: IAN, 1946. 24 p. (Boletim Técnico, 8).

DULEY, Y. W. Comparison of genetic distance estimators using molecular marker data. In: _____. **Analysis of molecular marker data**. Corvallis: Oregon, 1994. p. 3-7.

EGUIARTE, L.E.; PEREZ-NASSER, N.; PINERO, D. Genetic structure outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. **Heredity**, London, v. 69, n. 3, p. 217-228, Sept. 1992.

EXCOFFIER, L.; SMOUES, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, Austin, v.131, p. 479-491, 1992.

FALEIRO, F.G.; LOPES, U.V.; YAMADA, M.M.; PIRES, J.L.; BAHIA, R.C.S.; SANTOS, R.C.; GOMES, L.M.C.; ARAÚJO, I.S.; FALEIRO, A.S.G.; GRAMACHO, K.P.; MELO, G.R.P.; MONTEIRO, W.R.; VALE, R.R. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L com base em marcadores RAPD, AFLP e microssatélites. **Agrotrópica**, Bahia, v.13, n.2, p. 79-86, 2001.

FERREIRA, D.F. **Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos**. 1993. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220 p.

FONTAINE, C.; LOVETT, P.N.; SANOU, H.; MALEY, J. BOUVET, J.M. Genetic diversity of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. **Heredity**, London, v.93, n. 6, p. 639-647, Dec. 2004.

GAIOTTO, F. A.; BRONDANI, R. P. V.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite markers for heart of palm – *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Pamae). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.1, n.1/2, p. 86-88, Mar./June 2001.

GAIOTTO, F. A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOVKS, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). **Journal of Heredity**, Carey, v.94, n.5, p. 399-406, Sept. 2003.

GANGA, R.M.D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E.G.de M.; GRILI, G.V.G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E.A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p. 494-498, dez.2004.

GAZEL FILHO, A.B.; LIMA, J.A de S. Diversidade genética de matrizes de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém, PA. **Anais...** Belém: SBF, 2002. 1CD-ROM.

GILLIES, A. C. M.; CORNELIUS, J. P.; NEWTON, A. C. Genetic variation in Costa Rica populations of the tropical timber species *Cedrela odorata* L. assessed using RAPDs. **Molecular Ecology**, Oxford, v.6, n. 12, p. 1133-1145, Dec. 1997.

HAMRICK, J.L. Plant population genetics and evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693, 1982.

HAYATI, A.; WICKNESWARI, R.; MAIZURA, I.; RAJANAIDU, N. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germoplasm collections from

Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, v.108, n.7, p. 1274-1284, May 2004.

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

HUFF, D.R.; PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchoe dactyloides* (Nutt.) Elgen). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 86, p. 927-934, 1993.

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES.
Consultative Group on International Agricultural Research. **Report of the third external review of the International Board for Plant Genetic Resources**. Rome, 1991. 85 p.

JARDIM, M.A.G. **Aspectos da biologia reprodutiva de uma população natural de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico**. 1991. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

JARDIM, M. A. G. **Cartilha informativa sobre a palmeira açai (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1995. 11 p.

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. I: artificial data. **Journal of the Royal Statistical Society Series C - Applied Statistics**, London, v. 21, n. 2, p. 160-173, 1972.

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. II: real data. **Journal of the Royal Statistical Society Series C - Applied Statistics**, London, v. 22, n. 1, p. 21-31, 1973.

KOEHLER-SANTOS, P.; DORNELLES, A.L.C.; FREITAS, L.B. de. Characterization of mandarin *citrus* germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p. 747-806, jul. 2003.

KRAIC, J.; GREGOVÁ, E.; JOMOVÁ, K.; IIUDCOVICOVÁ, M. Microsatellite markers discriminating accessions within collections of plant genetic resources. **Cellular & Molecular Biology Letters**, Wroclaw, v.7, n. 2B, p.745-751, 2002.

KRUSKAL, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a no metric hypothesis. **Psychometrika**, Williamsburg, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.

LANDERGOTT, U.; HOLDEREGGER, R.; KOZLOWSKI, I.; SCHNELLER, J.J. Historical bottlenecks decrease genetic diversity in natural populations of *Dryopteris cristata*. **Heredity**, Oxford, v.87, n. 3, p. 344-355, Sept, 2001.

LANAUD, C.; RISTERUCCI, A. M.; PIERETTI, I.; FALQUE, M.; BOUET, A.; LAGODA, P.J.L Isolation and characterization of microsattelites in *Theobroma cacao* L. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, n. 12, p. 2141-2143, Dec. 1999.

LEBRUN, P.; N'CHO, Y.P.; SEGUIN, M.; GRIVET, L.; BAUDOUIN, L. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. **Euphytica**, Wageningen, v.101, n. 1, p. 103-108, 1998.

LÊDO, A. da S.; LAMEIRA, O.A.; BENBADIS, A.K.; MENEZES, I.C. de; LEDO, C.A. da S.; OLIVEIRA, M. do S.P. de. Cultura *in vitro* de embriões zigóticos de açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p. 468-472, dez. 2001.

LIMA, R. R.; COSTA, J. P. C da. **Coleta de plantas de cultura pré-colombiana na Amazônia Brasileira: I. Metodologia e expedições realizadas para a coleta de germoplasma**. Belém: EMBRAPA, CPATU, 1997. 148 p. (Documentos, 99).

LIMA, R. R.; COSTA, J. P. C da. **Registro de introduções de plantas de cultura pré-colombiana coletadas na Amazônia Brasileira**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1991. 191 p. (Documentos, 58).

LITT, M.; LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal Human Genetic**, Chicago, v.44, n. 3, p. 397-401, Mar. 1989.

LLERAS, E.; GIACOMETTI, D.C.; CORADIN, L. Áreas críticas de distribución de palmas de las Americas para coleta, evaluación y conservación. In: INFORME DE LA REUNION DE CONSULTA SOBRE PALMERAS POCO UTILIZADAS DE AMERICA TROPICAL. San Jose: CATIE/FAO, 1983. p. 67-81.

LOPEZ, C.R.; DOSRACISS, S.F.; FERREIRA, M.A.; MORETZSOHN, M.C. Genetics of the genus *Acrocomia* (Palmae). III. Microgeographical genetic variability in isozyme frequencies. **Journal of Genetic Breeding**, Rome, v. 46, p. 9-13, 1992.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology**. London: Chapman & Hall, 1997.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, Birmingham, v. 27, n.2, p. 209-220, 1967.

MARDIA, K.L.; KENT, J.T.; BIBBY, J.M. **Multivariate analysis**. London: Academic Press, 1979. 521 p.

MARQUES, J.R.B.; FALEIRO, F.G.; ARAÚJO, I.S.; ANHERT, D. Diversidade genética entre clones de seringueira das séries SIAL e Fx com base em marcadores RAPD. **Agrotropica**, Bahia, v.14, n. 3, p. 159-164, 2002.

MARTEL, J.H.I.; FERRAUDO, A.S.; MÔRO, J.R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth.) em Manaus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.1-9, abr. 2003.

McKAY, J. K.; LATTA, R. G. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 17, n. 6, p. 285-291, June 2002.

MEEROW, A.W.; WISSER, R.J.; BROWN, J.S.; KUHN, D.N.; SCHNELL, R.J.; BROCHAT, T.K. Analysis of genetic diversity and population structure within Florida coconut (*cocos nucifera* L.) germoplasm using microsatellite DNA, with special emphasis on the Fiji Dwarf cultivar. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.106, n. 4, p. 715-726, Feb. 2003.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MILLER, M. **TFPGA – Toll for population genetic analysis**, version 1.3. Northern Arizona University, 1997.

MIRANDA, G.V.; COIMBRA, R.R.; GODOY, C.L.; SOUZA, L.V.; GUIMARÃES, L.J.M.; MELO, A.V. de. Potencial de melhoramento e

divergência genética de cultivares de milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.58, n.6, p. 681-688, jul. 2003.

MOHAMMADI, S.A.; PRASANNA, B.M. Analysis of genetic diversity in crop plant – Salient statistical tools and considerations. **Crop Science**, Madison, v.43, n. 4, p. 1235-1248, July/Aug. 2003.

MORETZSOHN, M.C.; FERREIRA, M.A.; AMARAL, Z.P.S.; COELHO, P.J.A.; GRATTAPAGLIA, D.; FERREIRA, M.E. Genetic diversity of Brazilian oil palm (*Elaeis oleifera* H.B.K.) germplasm collected in the Amazon Forest. **Euphytica**, Wageningen, v.124, n. 1, p. 35-45, 2002.

MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. New York, McGraw-Hill, 1976. 415 p.

MOTAMAYOR, J. C.; RISTERUCCI, A. M.; LOPEZ, A. P.; LANAUD, C. Domestication du cacaoyer cultivés par les Mayas. I. Preuve d'une origine sud américaine des cacayers cultivés par les Mayas. In: THEORETICAL AND APPLIED GENETICS RESEARCH CONFERENCE, 13., 2001, Lagos. **Proceedings...** Lagos: Cocoa Producers' Alliance, 2001. p. 54-68.

MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MOURÃO, L. Do açaí ao palmito: usos de produtos e subprodutos do açaizeiro no estuário amazônico. In: SEMINÁRIO AÇAÍ (*Euterpe oleracea*), 1996, Belém. **Resumos...** Belém: NAEA/MPEG/Embrapa/SECTAM, 1996. p.33-34.

MUANÁ-AÇAÍ. Disponível em: <http://www.muana-açai.com.br>> Acesso em: 03.05.2005.

MÜHLEN, G.S. **Avaliação da diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com marcadores de DNA: RAPD, AFLP e microssatélites**. 1999. 176 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; ATROCH, A.L.; SOUSA, N.R de.; GARCIA, T.B.; CRAVO, M. da S.; COUTINHO, E.F. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p. 501-506, mar. 2001.

NEGRÃO, M.O. **Estrutura genética de populações naturais de *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) do continente (Serra do Mar, SP) e da Ilha dos Alcatrazes.** 1999. 78 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J. B dos. Genetic relations among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD marker. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, Mar. 1995.

N'GORAN, J.A.K.; LAURENT, V.; RISTERUCCI, A.M.; LANAUD, C. Comparative genetic diversity studies of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. **Heredity**, Oxford, v.73, n. 6, p. 589-597, Dec. 1994.

OHASHI, S.T. **Varição genética em populações de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) do Estuário Amazônico.** Piracicaba, 1990. 119 p. Dissertação (Mestrado em genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Aspectos da biologia floral do açaizeiro nas condições de Belém, PA.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2002. 19 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa, 8).

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Avaliação do modo de reprodução e de caracteres quantitativos em 20 acessos de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart. – Arecaceae) em Belém-PA.** 1995. 145 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Descritores mínimos para o açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.).** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1998. 3 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Pesquisa em Andamento, 205).

OLIVEIRA, M do S. P. de. Estimativas de repetibilidade para caracteres de produção de frutos de açaizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramados, RS. **Anais...** Gramados, RS: SBMP, 2005a. 1CD-ROM.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. Repetibilidade para caracteres de frutos de açaizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramados, RS. **Anais...** Gramados, RS: SBMP, 2005b. 1CD-ROM.

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

OLIVEIRA, M. do S. P. de.; LEMOS, M.A.; SANTOS, E.O. dos; SANTOS, V.F. dos. **Varição fenotípica em acessos de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) para caracteres relacionados à produção de frutos**. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 23 p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 209).

OLIVEIRA, M. do S. P. de.; LEMOS, M.A.; SANTOS, V.F. dos; SANTOS, E.O. dos. Coeficiente de caminhamento entre caracteres agronômicos e a produção de frutos em açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.22, n.1, p.06-10, abr. 2000b.

OLIVEIRA, M. do S. P. de.; LEMOS, M.A.; SANTOS, V.F. dos; SANTOS, E.O. dos. Correlações fenotípicas entre caracteres vegetativos e de produção de frutos em açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.22, n.1, p.01-05, abr. 2000c.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; SOUZA, B. O.; TEODORO, B. O.; ASSIS, J.C.; DAVIDE, L.C. Citogenética em acessos de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50., 2004, Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis: SBG, 2004. p.1244. 1CD-ROM.

OLIVEIRA, R.P. de; CRISTOFANI, M.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; MACHADO, M.A. Diversidade genética entre híbridos de tangerina 'Cravo' e laranja 'Pêra'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 479-484, abr. 2002.

PERERA, L.; RUSSELL, J.R.; PROVAN, J.; McNICOL, J.W.; POWELL, W. Evaluation genetic relationships between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions from Sri Lanka by means of AFLP profiling. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 3/4, p.545-550, Mar. 1998.

PERERA, L.; RUSSELL, J.R.; PROVAN, J.; POWELL, W. Levels and distribution of genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L., var. *Typica* form *typica*) from Sri Lanka assessed by microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, n. 2, p. 381-389, 2001.

PERERA, L.; RUSSELL, J.R.; PROVAN, J.; POWELL, W. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and

population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). **Genome**, Ontario, v. 43, n. 1, p. 15-21, Feb. 2000.

PEREIRA, V. A. **Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.)**. 1989. 180 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PETERS, J. P.; WILKS, H. G.; SALWEY, N. W. The use of ecogeographical data in the exploitation of variation from gene banks. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.80, n.1, p. 110-112, 1990.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; DOYLE, J.J.; McNICOL TINGEL, S.V.; RAFALSKI, A.J. Genepool variation in genus *Glycine* subgenus soja revealed by polymorphic nuclear and chloroplast microsatellites. **Genetics**, Baltimore, v.144, n. 2, p. 793-803, Oct. 1996.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado: aproximación técnica y socioeconómica**. Lima, Perú, 1988. 218 p.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: Wiley, 1952. 390 p.

REIF, J. C.; MELCHONGER, A. E.; FRISCH, M. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. **Crop Science**, Madison, v.45, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2005.

REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* Martius)**. 1996. 210 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

RIBEIRO, F. E.; SOARES, A. R.; RAMALHO, M. A. P. Divergência genética entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1615-1622, set. 1999.

RICCI, J. P. Les pinotières. **Bois et Forêts des Tropiques**, France, v. 220, p. 55-63, 1989.

RIVERA, R.; EDWARDS, K.J.; BARKER, J.H.A.; ARNOLD, G.M.; AYAD, G.; HODGKIN, T.; KARP, A. Isolation and characterization of polymorphic

microsatellites in *Cocos nucifera* L. **Genome**, Ontario, v.42, n. 4, p. 668-675, Aug. 1999.

RODRIGUES, D.; ASTOLFI FILHO, S.; CLEMENT, C.R. Molecular marker-mediated validation of morphologically defined landraces of peijibaye (*Bactris gasipaes*) and their phylogenetic relationships. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.51, p. 871-882, 2004.

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

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Software, 2000. 38 p. (Version 2.1).

ROTMAM, W.; BOYLE, T.J. Effects of logging and others forms of harvesting in humid tropical forest. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics, principles and practice**. Australia: CSIRO, 2000. p. 115-122.

SALLA, M. F. S.; RUAS, C de F.; RUAS, P. M.; CAPPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n. 1, p. 15-22, abr. 2002.

SANTOS, C.A.F.; MENESES, E.A; ARAÚJO, F.P de. Divergência genética em acessos de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n.11, p.1723-1729, nov. 1994.

SAS Institute. **SAS languagen and procedures: usage**. Version 8.1. Cary NC, 2000. CD-ROM.

SAWAZAKI, H.E.; BOVI, M.L.A; SODEK, L; COLOMBO, C.A. Diversidade genética em palmeiras através de isoenzimas e RAPD. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.58, n.4, p. 681-691, 1998.

SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin**: a software for population genetics data analysis, version 2.000. Switzerland: University of Geneva. Genetics and Biometry Laboratory, 2000.

SEDRA, M. H.; LASHERMES, P.; TROUSLOT, P.; COMBES, M. C.; HAMON, S. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix*

dactylifera L.) varieties from Morocco using RAPD markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 103, n. 1, p. 75-82, 1998.

SHAH, F.H.; RASHID, O.; SIMONS, A.J.; DUNSDON, A. The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, p.713-718, 1994.

SHIMOYA, A.; CRUZ, C.D.; FERREIRA, R.de P.; PEREIRA, A.V.; CARNEIRO, P.C.S. Divergência genética entre acessos de um banco de germoplasma de capim-elefante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n. 7, p. 971-980, jul. 2002.

SIQUEIRA, G.C.L.; MENEZES, M.; SIQUEIRA, S.L.; SILVA, G.S da; ALVAREZ RIVERA, C.R.; VICENTE, C.A.R.; NIETO, M.D. **Açaí: produtos potenciais da Amazônia**. Brasília: MMA/SCA/GTA/Suframa/Sebrae, 1998.50p.

SOLIMAN, S. S.; ALI, B.A.; MOHAMED MORSY, M.A. Genetic comparasons of Egyptian date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) by RAPD-PCR. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.2, n.4, p. 86-87, Apr. 2003.

SOUSA, N. R. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro**. 2003. 99 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOUSA, N. R.; RODRIGUES, D.P.; CLEMENT, C.R.; NAGAO, E.O.; ASTOLFI-FILHO, S. Discriminação de raças primitivas de pupunha (*Bactris gasipaes*) na Amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPDS). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 31, n. 4, p. 539-545, 2001.

SOUZA, P.C.A de. **Aspectos ecológicos e genéticos de uma população natural de *Euterpe oleracea* Mart. no estuário amazônico**. 2002. 60 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

STATON, M.A.; STERWART, M.A.; PERCIVAL, A.E.; WENDEL, J.F. Morfological diversity and relationships in the A-genome cottons, *Gossypium arboreum* and *Gossypium gossypium*. **Crop Science**, Madison, v.34, n.2, p. 519-527, 1994.

STRAPASSON, E. **Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de *Paspalum* através de componentes principais**. 1997. 95 p.

(Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

SUGIMURA, Y.; ITANO, M.; SALUD, C.D.; OTSUJI, K.; YAMAGUCHI, H. Biometric analysis on diversity of coconut palm: cultivar classification by botanical and agronomical traits. **Euphytica**, Wageningen, v.98, n. 1/2, p. 29-35, 1997.

TATINENI, V.; CANTRELL, R. G.; DAVIS, D. D. Genetic diversity in elite cotton germoplasm determined by morfological and RAPDs. **Crop Science**, Madison, v.36, n.2, p. 186-192, Jan./Feb. 1996.

TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; DINIZ FILHO, J. A. F. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1387-1394, 2001.

TEULAT, B.; ALDAM, C.; TREHIN, R.; LEBRUN, P.; BARKER, J.H.A.; ARNOLD, G.M.; KARP, A.; BAUDOIN, L.; ROGNON, F. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) population from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p.764-771, Mar. 2000.

UPADHYAY, M.K.; MURTY, B.R. Genetic divergence in relation to geographical distribution in pearl millet. **Indian Journal Genetics & plant Breeding**, New Delhi, v.30, n. 3, p. 704-715, 1970.

VARGAS, A.; BLANCO, F.A. Fruit characterization of *Cocos nucifera* L. (ARECACEAE) cultivars from the Pacific coast of Costa Rica and the Philippines. **Genetic Resouces and Crop Evolution**, Dordrecht, v.47, n. 5, p.483-487, Oct. 2000.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity pf Portuguese maize germoplasma using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 63-72, Sept. 2004.

VEASEY, E.A. **Variabilidade genética em acessos de espécies de *Sesbania Scop. (Leguminosae): caracterização morfológica, agronômica e isoenzimática***. 1998. 142 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

VEIGA, R.F de A.; QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; VALLS, J.F.M.; FÁVERO, A.P.; BARBOSA, W. Caracterização morfológica de acessos de germoplasma de quatro espécies brasileiras de amendoim-silvestre. **Bragantia**, Campinas, v.60, n.3, p. 167-176, 2001.

VENTURIERI, A. **Distâncias geográficas** [mensagem pessoal]. Mensagem enviada por adriano@cpatu.embrapa.br e recebida por spadilha@cpatu.embrapa.br em 07.mar.2005.

VICENTE, M.C. de; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin. **Proceedings...** Turin, 2005. p.121-128.

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A. C. C.; NASS, L.L. **Recursos genéticos vegetales**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, 1997. 78 p.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis: methods for discretetion genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 377 p.

WILCHES, M. O. Evaluación de treinta y cuatro variedades de mani mediante tecnicas multivariadas. **Revista ICA**, v. 18, n.1, p. 67-76, 1983.

YAMADA, M.M.; FALEIRO, F.G.; LOPES, U.V.; DANTAS NETO, A.; PIRES, J.L.; FLORES, A.B.; FALEIRO, A.S.G.; BAHIA, R.C.S. Diversidade genética de acessos de cacaueteiro da série CEPEC por meio de marcadores RAPD. **Agrotropica**, Bahia, v.14, n.3, p. 137-140, 2002.

ZEHDI, S.; SAKKA, H.; RHOUMA, A.; OULD MOHAMED SALEM, A.; MARRAKCHI, M.; TRIFI, M. Analysis of Tunisian date palm germplasm using simple sequence repeat primers. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.3, n.4, p. 215-219, Apr. 2004a.

ZEHDI, S.; TRIFI, M.; BILLOTTE, N.; MARRAKCHI, M.; PINTAUD, J.C. Genetic diversity of Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism. **Hereditas**, Copenhagen, v.141, n. 3, p. 278-287, 2004b.

ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 134 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

ANEXOS

ANEXO A

	Página
TABELA 1A Identificação dos acessos de açazeiro utilizados neste estudo.....	158
TABELA 2A Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice, com base nas 263 bandas polimórficas de RAPD obtidas nos 116 acessos de açazeiro.....	162
TABELA 3A Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, com base em 263 bandas polimórficas de SSR obtidas nos 116 acessos de açazeiro.....	164
TABELA 4A Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos últimos componentes principais, referentes aos 28 descritores morfo-agronômicos avaliados em 87 acessos de açazeiro.....	166
TABELA 5A Dissimilaridades fenotípicas médias, mínimas e máximas, expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas dos 22 descritores selecionados em 87 acessos de açazeiro.....	169

ANEXO B

	Página
FIGURA 1B Gel de agarose contendo exemplo de polimorfismo detectado pelo <i>primer</i> RAPD OPBA-04 nos acessos de 1 a 20 de açazeiro.....	171
FIGURA 2B Gel de agarose contendo exemplo de polimorfismo detectado pelo <i>primer</i> EE54 nos acessos de 1 a 20 de açazeiro.....	171

TABELA 1A Identificação dos acessos de açazeiro utilizados neste estudo.

Nº do acesso	Nº do acesso na coleção	Procedência	Local¹
1	001	Benfica,PA	Pomar caseiro
2	002	Benfica,PA	Pomar caseiro
3	003	Benevides,PA	Pomar caseiro
4	004	Benevides,PA	Pomar caseiro
5	006	Benevides,PA	Propriedade rural
6	007	Mosqueiro,PA	Pomar caseiro
7	008	Benevides,PA	Propriedade rural
8	009	Stº Antº do Tauá,PA	Propriedade rural
9	011	Stº Antº do Tauá,PA	Propriedade rural
10	012	Stº Antº do Tauá,PA	Propriedade rural
11	016	Stº Antº do Tauá,PA	Propriedade rural
12	018	Stº Antº do Tauá,PA	Propriedade rural
13	020	Chaves,PA	População natural
14*	021	Chaves,PA	População natural
15*	022	Chaves,PA	População natural
16	023	Chaves,PA	População natural
17*	024	Chaves,PA	População natural
18	025	Chaves,PA	População natural
19	026	Chaves,PA	População natural
20	027	Chaves,PA	População natural
21	028	Chaves,PA	População natural
22	029	Chaves,PA	População natural
23	031	Chaves,PA	População natural
24	032	Chaves,PA	População natural
25	033	Chaves,PA	População natural
26	034	Chaves,PA	População natural
27	035	Chaves,PA	População natural
28	036	Muaná,PA	Propriedade rural
29	037	Muaná,PA	Propriedade rural
30	038	Muaná,PA	Propriedade rural
31	039	Muaná,PA	Propriedade rural
32	040	Muaná,PA	Propriedade rural
33	043	Muaná,PA	Propriedade rural
34	044	Muaná,PA	Propriedade rural
35	045	Muaná,PA	Propriedade rural

*: Não utilizado na caracterização morfo-agronômica.

¹: Fonte (Lima & Costa, 1991)

“...Continua...”

“TABELA 1A, Cont.”

Nº do Acesso	Nº do acesso na coleção	Procedência	Local¹
36	046	Muaná,PA	Propriedade rural
37	047	Muaná,PA	Propriedade rural
38	048	Muaná,PA	Propriedade rural
39	049	Breves,PA	População natural
40	050	Breves,PA	População natural
41	052	Breves,PA	População natural
42	053	Breves,PA	População natural
43	054	Breves,PA	População natural
44	055	Breves,PA	População natural
45	056	Breves,PA	População natural
46	057	Breves,PA	População natural
47	059	Breves,PA	População natural
48	060	Breves,PA	População natural
49	061	Breves,PA	População natural
50	063	Breves,PA	População natural
51	064	Breves,PA	População natural
52	065	Breves,PA	População natural
53	067	Breves,PA	População natural
54	068	Breves,PA	População natural
55	070	Breves,PA	População natural
56	071	Breves,PA	População natural
57	072	Breves,PA	População natural
58*	073	Breves,PA	População natural
59	075	Breves,PA	População natural
60*	076	Breves,PA	População natural
61*	077	Breves,PA	População natural
62	079	Breves,PA	População natural
63*	080	Breves,PA	População natural
64*	081	Breves,PA	População natural
65*	082	Breves,PA	População natural
66	083	Breves,PA	População natural
67	084	Breves,PA	População natural
68	085	Breves,PA	População natural
69*	087	Oiapoque,AP	População natural
70*	088	Oiapoque,AP	População natural

*: Não utilizado na caracterização morfo-agronômica.

¹: Fonte (Lima & Costa, 1991).

“...Continua...”

“TABELA 1A, Cont.”

Nº do acesso	Nº do acesso na Coleção	Procedência	Local¹
71	089	Macapá,AP	Pomar caseiro
72	090	Oiapoque,AP	População natural
73	091	Oiapoque,AP	População natural
74*	092	Macapá,AP	Pomar caseiro
75	094	Macapá,AP	Pomar caseiro
76	095	Oiapoque,AP	Pomar caseiro
77*	096	Macapá,AP	Pomar caseiro
78	097	Oiapoque,AP	Pomar caseiro
79*	098	Oiapoque,AP	Pomar caseiro
80	099	Oiapoque,AP	Pomar caseiro
81*	100	Macapá,AP	Pomar caseiro
82	101	Oiapoque,AP	Pomar caseiro
83	102	Gurupá,PA	Pomar caseiro
84	103	Gurupá,PA	Pomar caseiro
85*	104	Gurupá,PA	Pomar caseiro
86	105	Gurupá,PA	Pomar caseiro
87*	107	Gurupá,PA	Pomar caseiro
88*	108	Breves,PA	Propriedade rural
89	110	Breves,PA	Propriedade rural
90	111	Melgaço,PA	Propriedade rural
91	112	Santarém,PA	Propriedade rural
92	113	Prainha,PA	Pomar caseiro
93	114	Santarém,PA	Pomar caseiro
94*	115	Carutapera,MA	Propriedade rural
95	116	Maracaçumé,MA	Propriedade rural
96	117	Maracaçumé,MA	Propriedade rural
97	118	Stª Luzia,MA	Propriedade rural
98*	119	Zé Doca,MA	Propriedade rural
99	120	Turiação,MA	População natural
100	121	Turiação,MA	População natural
101	122	Stª Inéz,MA	População natural
102*	123	Cururupu,MA	Pomar caseiro
103	124	Mirinzal,MA	População natural
104*	125	Mirinzal,MA	População natural
105	126	Guimarães,MA	População natural

*: Não utilizado na caracterização morfo-agronômica.

¹: Fonte (Lima & Costa, 1991).

“...Continua...”

“TABELA 1A, Cont.”

Nº do acesso	Nº do acesso na Coleção	Procedência	Local¹
106	127	Guimarães,MA	População natural
107	128	Alcântara,MA	População natural
108	129	Alcântara,MA	Pomar caseiro
109*	130	Stª Mª do Pará,PA	População natural
110	131	Cametá,PA	População natural
111*	132	Cametá,PA	População natural
112*	133	Cametá,PA	População natural
113*	134	Cametá,PA	População natural
114*	135	Cametá,PA	População natural
115*	136	Linhares,ES	Empresa de Pesquisa
116*	137	Linhares,ES	Empresa de Pesquisa

*: Não utilizado na caracterização morfo-agronômica.

¹: Fonte (Lima & Costa, 1991).

TABELA 2A Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice obtido, com base em 263 bandas polimórficas de RAPD obtidas nos 116 acessos de açaizeiro.

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
1	0,44	0,10	0,66	35	0,39	0,18	0,59
2	0,42	0,10	0,62	36	0,38	0,13	0,63
3	0,47	0,21	0,59	37	0,38	0,13	0,59
4	0,38	0,13	0,62	38	0,38	0,13	0,57
5	0,39	0,16	0,54	39	0,46	0,22	0,59
6	0,38	0,13	0,58	40	0,44	0,22	0,58
7	0,41	0,15	0,61	41	0,37	0,08	0,61
8	0,38	0,15	0,58	42	0,36	0,08	0,60
9	0,41	0,17	0,60	43	0,40	0,17	0,62
10	0,44	0,15	0,66	44	0,39	0,16	0,65
11	0,39	0,15	0,57	45	0,41	0,19	0,65
12	0,38	0,16	0,60	46	0,40	0,15	0,60
13	0,38	0,16	0,59	47	0,38	0,17	0,59
14	0,55	0,37	0,67	48	0,39	0,13	0,60
15	0,39	0,13	0,61	49	0,39	0,13	0,64
16	0,42	0,13	0,57	50	0,37	0,14	0,62
17	0,41	0,15	0,60	51	0,37	0,10	0,63
18	0,42	0,15	0,62	52	0,37	0,10	0,64
19	0,46	0,18	0,64	53	0,43	0,15	0,63
20	0,46	0,18	0,60	54	0,43	0,15	0,60
21	0,38	0,18	0,59	55	0,38	0,17	0,64
22	0,39	0,16	0,67	56	0,47	0,16	0,62
23	0,43	0,20	0,65	57	0,46	0,24	0,60
24	0,36	0,16	0,61	58	0,41	0,20	0,66
25	0,40	0,16	0,59	59	0,37	0,20	0,60
26	0,36	0,18	0,58	60	0,41	0,20	0,54
27	0,42	0,22	0,58	61	0,39	0,15	0,59
28	0,41	0,22	0,56	62	0,38	0,13	0,57
29	0,38	0,13	0,60	63	0,38	0,12	0,57
30	0,37	0,13	0,59	64	0,38	0,09	0,59
31	0,38	0,15	0,62	65	0,37	0,10	0,59
32	0,37	0,11	0,61	66	0,37	0,09	0,55
33	0,37	0,11	0,62	67	0,39	0,19	0,60
34	0,51	0,32	0,64	68	0,37	0,12	0,55

“...Continua...”

“TABELA 2A, Cont.”

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
69	0,40	0,16	0,59	94	0,37	0,14	0,56
70	0,36	0,13	0,57	95	0,38	0,14	0,58
71	0,41	0,20	0,59	96	0,39	0,14	0,56
72	0,45	0,24	0,60	97	0,37	0,14	0,53
73	0,36	0,12	0,60	98	0,40	0,15	0,60
74	0,44	0,20	0,63	99	0,54	0,15	0,66
75	0,37	0,10	0,58	100	0,48	0,15	0,59
76	0,38	0,12	0,61	101	0,43	0,17	0,59
77	0,37	0,10	0,60	102	0,38	0,06	0,59
78	0,40	0,14	0,62	103	0,38	0,06	0,60
79	0,45	0,20	0,58	104	0,39	0,08	0,62
80	0,42	0,20	0,57	105	0,37	0,08	0,57
81	0,49	0,24	0,63	106	0,36	0,11	0,61
82	0,47	0,24	0,60	107	0,45	0,20	0,59
83	0,39	0,13	0,55	108	0,39	0,16	0,60
84	0,41	0,14	0,58	109	0,40	0,14	0,59
85	0,39	0,12	0,60	110	0,38	0,17	0,63
86	0,40	0,11	0,62	111	0,37	0,12	0,59
87	0,39	0,11	0,62	112	0,37	0,12	0,61
88	0,41	0,12	0,60	113	0,47	0,21	0,64
89	0,43	0,20	0,53	114	0,38	0,12	0,63
90	0,37	0,15	0,53	115	0,40	0,15	0,60
91	0,42	0,20	0,54	116	0,38	0,12	0,61
92	0,40	0,14	0,55				
93	0,38	0,14	0,57	Geral	0,40	0,06	0,67

TABELA 3A Dissimilaridades genéticas médias, mínimas e máximas, expressas pelo complemento aritmético do coeficiente de coincidência simples, com base em 42 bandas polimórficas de SSR obtidas nos 116 acessos de açazeiro.

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
1	0,32	0,10	0,52	35	0,35	0,12	0,55
2	0,32	0,10	0,55	36	0,36	0,12	0,52
3	0,32	0,07	0,48	37	0,34	0,12	0,50
4	0,31	0,07	0,50	38	0,32	0,14	0,50
5	0,32	0,02	0,52	39	0,36	0,19	0,45
6	0,31	0,02	0,52	40	0,40	0,17	0,52
7	0,32	0,07	0,50	41	0,36	0,10	0,52
8	0,31	0,07	0,48	42	0,35	0,10	0,50
9	0,32	0,07	0,50	43	0,34	0,12	0,48
10	0,31	0,10	0,50	44	0,31	0,07	0,50
11	0,32	0,02	0,52	45	0,29	0,02	0,45
12	0,32	0,02	0,55	46	0,30	0,10	0,48
13	0,31	0,10	0,45	47	0,31	0,10	0,48
14	0,32	0,12	0,48	48	0,30	0,02	0,48
15	0,34	0,10	0,52	49	0,33	0,10	0,52
16	0,35	0,10	0,52	50	0,34	0,07	0,50
17	0,37	0,10	0,52	51	0,31	0,07	0,48
18	0,37	0,12	0,52	52	0,33	0,10	0,52
19	0,34	0,12	0,52	53	0,31	0,14	0,45
20	0,41	0,17	0,55	54	0,31	0,10	0,50
21	0,34	0,05	0,50	55	0,33	0,17	0,50
22	0,34	0,05	0,50	56	0,32	0,12	0,45
23	0,32	0,12	0,50	57	0,31	0,10	0,50
24	0,34	0,05	0,52	58	0,33	0,12	0,50
25	0,33	0,05	0,52	59	0,36	0,12	0,50
26	0,32	0,07	0,45	60	0,35	0,17	0,50
27	0,33	0,07	0,48	61	0,38	0,10	0,48
28	0,32	0,05	0,52	62	0,34	0,07	0,48
29	0,32	0,05	0,50	63	0,36	0,10	0,52
30	0,29	0,10	0,50	64	0,36	0,07	0,50
31	0,32	0,10	0,48	65	0,33	0,10	0,52
32	0,33	0,10	0,52	66	0,34	0,10	0,52
33	0,36	0,02	0,50	67	0,31	0,14	0,50
34	0,35	0,02	0,50	68	0,33	0,10	0,50

“...Continua...”

“TABELA 3A, Cont.”

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
69	0,32	0,17	0,50	94	0,30	0,10	0,50
70	0,32	0,12	0,50	95	0,31	0,10	0,48
71	0,34	0,12	0,52	96	0,33	0,14	0,52
72	0,34	0,17	0,50	97	0,35	0,19	0,50
73	0,35	0,17	0,52	98	0,34	0,19	0,48
74	0,36	0,17	0,52	99	0,40	0,02	0,50
75	0,32	0,17	0,48	100	0,42	0,02	0,52
76	0,35	0,19	0,52	101	0,34	0,07	0,50
77	0,34	0,17	0,48	102	0,34	0,07	0,48
78	0,35	0,17	0,50	103	0,34	0,05	0,50
79	0,35	0,02	0,48	104	0,33	0,07	0,48
80	0,36	0,02	0,50	105	0,33	0,00	0,50
81	0,33	0,17	0,48	106	0,33	0,00	0,50
82	0,35	0,17	0,48	107	0,31	0,10	0,45
83	0,39	0,17	0,52	108	0,30	0,10	0,48
84	0,40	0,12	0,57	109	0,30	0,10	0,50
85	0,37	0,05	0,55	110	0,30	0,12	0,50
86	0,34	0,10	0,50	111	0,31	0,07	0,50
87	0,40	0,07	0,52	112	0,32	0,07	0,57
88	0,34	0,02	0,50	113	0,35	0,17	0,48
89	0,32	0,02	0,48	114	0,35	0,21	0,52
90	0,37	0,05	0,55	115	0,37	0,17	0,50
91	0,37	0,05	0,55	116	0,38	0,19	0,50
92	0,36	0,10	0,52				
93	0,34	0,12	0,52	Geral	0,34	0,00	0,57

TABELA 4A Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos últimos componentes principais, referentes aos 28 descritores morfo-agronômicos avaliados em 87 acessos de açaizeiro.

Caráter	Componentes principais					
	28	27	26	25	24	23
NEP	0,001	-0,007	0,002	0,079	-0,043	0,109
NEFP	0,011	0,012	0,035	-0,059	0,076	-0,072
AP	0,013	-0,004	-0,007	-0,024	0,024	-0,005
NF	0,005	-0,018	0,010	-0,014	-0,001	0,105
CBF	0,013	0,018	-0,052	0,012	0,024	-0,043
CAP	0,002	0,001	0,060	0,028	0,026	-0,098
CEN	-0,012	0,026	0,001	0,035	0,009	-0,026
DFM	0,500	0,154	0,035	0,009	-0,049	0,024
IEF	0,488	0,154	0,065	-0,016	-0,009	-0,025
DFE	0,196	0,056	0,010	0,027	-0,006	0,054
DFT	-0,611	-	-	-	-	-
DAP	-0,002	0,008	0,048	0,038	-0,057	-0,012
DLF	0,025	0,022	0,011	-0,245	0,602	0,025
DTF	-0,058	-0,073	0,420	0,148	-0,626	-
PF	0,040	0,119	-0,816	-	-	-
PP	-0,018	-0,031	0,234	0,098	0,050	-0,619
PS	-0,002	-0,070	0,193	0,004	0,265	0,499
RPF	-0,001	0,006	-0,055	-0,093	0,004	0,459
NAP	0,002	-0,001	-0,052	0,031	-0,061	0,025
NMP	0,007	-0,004	0,097	-0,050	0,056	-0,018
NTC	-0,026	0,081	-0,069	0,590	0,166	0,010
PTF	0,022	-0,088	0,026	-0,666	-	-
PTC	0,189	-0,618	-0,089	0,246	0,059	0,100
PFC	-0,232	0,694	-	-	-	-
RFC	0,057	-0,089	-0,063	0,080	0,003	-0,143
NRC	0,003	-0,005	0,031	-0,037	0,023	-0,121
CRC	0,001	0,014	-0,043	0,001	0,000	0,093
PCF	0,005	0,017	0,010	-0,030	0,018	-0,099

-: representa caráter descartado.

“...Continua...”

“TABELA 4A, Cont.”

Caráter	Componentes principais					
	22	21	20	19	18	17
NEP	0,248	-0,060	0,371	0,431	-0,054	-0,006
NEFP	-0,297	0,037	-0,524	-	-	-
AP	0,063	-0,163	0,018	0,493	-	-
NF	-0,081	0,029	0,149	-0,129	0,179	-0,321
CBF	-0,105	0,043	-0,125	-0,080	-0,182	-0,008
CAP	0,100	-0,015	0,100	-0,032	0,233	-0,117
CEN	0,002	0,180	0,054	-0,325	-0,129	0,608
DFM	0,069	-0,124	0,097	-0,120	-0,213	-0,192
IEF	-0,077	0,039	-0,057	0,004	0,135	0,128
DFE	-0,049	-0,050	-0,057	0,251	0,092	0,082
DFT	-	-	-	-	-	-
DAP	0,146	0,009	0,071	0,045	-0,148	-0,154
DLF	0,557	-	-	-	-	-
DTF	-	-	-	-	-	-
PF	-	-	-	-	-	-
PP	-	-	-	-	-	-
PS	-0,481	-0,294	0,190	-0,087	-0,007	0,132
RPF	0,010	0,096	0,005	-0,015	0,005	0,073
NAP	0,070	-0,098	0,109	-0,102	-0,111	0,081
NMP	-0,065	0,260	-0,173	0,304	0,269	0,358
NTC	0,095	0,008	0,102	-0,155	-0,167	-0,156
PTF	-	-	-	-	-	-
PTC	0,025	-0,104	-0,143	0,125	0,019	-0,066
PFC	-	-	-	-	-	-
RFC	0,061	0,239	0,054	-0,258	0,087	0,162
NRC	-0,222	0,187	-0,123	0,241	-0,501	0,011
CRC	0,188	-0,049	0,198	-0,194	0,517	-
PCF	-0,213	0,638	-	-	-	-

-: representa caráter descartado.

“...Continua...”

“TABELA 4A, Cont.”

Caráter	Componentes principais					
	16	15	14	13	12	11
NEP	-0,004	0,173	0,171	0,291	0,146	0,059
NEFP	-	-	-	-	-	-
AP	-	-	-	-	-	-
NF	-0,204	0,029	0,641	-	-	-
CBF	0,191	-0,048	-0,318	0,591	-	-
CAP	0,295	0,504	-	-	-	-
CEN	-	-	-	-	-	-
DFM	-0,154	0,151	-0,170	0,112	0,366	0,050
IEF	0,056	-0,229	0,083	-0,300	0,006	0,011
DFE	0,218	-0,132	0,069	-0,166	-0,477	0,119
DFT	-	-	-	-	-	-
DAP	0,081	0,475	0,006	0,044	-0,484	-
DLF	-	-	-	-	-	-
DTF	-	-	-	-	-	-
PF	-	-	-	-	-	-
PP	-	-	-	-	-	-
PS	0,166	0,146	-0,021	0,001	0,062	0,049
RPF	0,051	-0,037	-0,061	-0,096	-0,062	0,012
NAP	0,031	-0,136	0,130	0,099	-0,281	-0,458
NMP	-0,180	0,306	0,002	0,039	-0,089	0,318
NTC	0,187	-0,188	-0,104	-0,236	-0,076	0,253
PTF	-	-	-	-	-	-
PTC	-0,375	-0,052	-0,067	0,038	-0,082	-0,167
PFC	-	-	-	-	-	-
RFC	0,479	-	-	-	-	-
NRC	0,151	-0,077	0,413	-0,106	0,172	0,191
CRC	-	-	-	-	-	-
PCF	-	-	-	-	-	-

-: representa caráter descartado.

TABELA 5A Dissimilaridades fenotípicas médias, mínimas e máximas, expressas pela distância euclidiana média padronizada, obtidas dos 22 descritores selecionados em 87 acessos de açaizeiro.

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
1	1,31	0,17	1,58	39	1,32	0,19	1,69
2	1,40	0,21	1,79	40	1,32	0,14	1,65
3	1,40	0,17	1,70	41	1,33	0,15	1,64
4	1,35	0,13	1,63	42	1,43	0,15	1,75
5	1,36	0,14	1,70	43	1,36	0,19	1,71
6	1,32	0,15	1,67	44	1,38	0,14	1,70
7	1,40	0,12	1,74	45	1,43	0,23	1,78
8	1,47	0,29	1,80	46	1,45	0,20	1,79
9	1,48	0,29	1,75	47	1,46	0,15	1,76
10	1,46	0,25	1,78	48	1,43	0,15	1,76
11	1,46	0,27	1,80	49	1,41	0,09	1,75
12	1,23	0,16	1,58	50	1,29	0,15	1,59
13	1,41	0,19	1,77	51	1,36	0,12	1,73
16	1,38	0,14	1,70	52	1,33	0,16	1,66
18	1,40	0,15	1,71	53	1,39	0,14	1,70
19	1,42	0,18	1,74	54	1,39	0,20	1,74
20	1,39	0,19	1,74	55	1,44	0,13	1,78
21	1,37	0,18	1,66	56	1,38	0,19	1,76
22	1,35	0,23	1,71	57	1,44	0,21	1,79
23	1,43	0,20	1,78	59	1,43	0,12	1,73
24	1,45	0,15	1,74	62	1,40	0,12	1,72
25	1,43	0,15	1,76	66	1,46	0,22	1,82
26	1,38	0,09	1,73	67	1,34	0,28	1,70
27	1,31	0,16	1,61	68	1,49	0,32	1,87
28	1,37	0,12	1,76	71	1,48	0,26	1,80
29	1,37	0,16	1,68	72	1,40	0,16	1,73
30	1,35	0,13	1,64	73	1,45	0,15	1,78
31	1,34	0,14	1,68	75	1,41	0,21	1,79
32	1,34	0,15	1,69	76	1,37	0,14	1,68
33	1,37	0,12	1,72	78	1,52	0,37	1,87
34	1,34	0,21	1,68	80	1,42	0,24	1,76
35	1,35	0,18	1,65	82	1,35	0,24	1,64
36	1,33	0,21	1,64	83	1,48	0,17	1,82
37	1,40	0,22	1,74	84	1,51	0,23	1,85
38	1,21	0,16	1,55	86	1,34	0,15	1,65

“...Continua ...”

“TABELA 5A, Cont.”

Acessos	Média	Mínimo	Máximo	Acessos	Média	Mínimo	Máximo
89	1,45	0,18	1,82	100	1,39	0,26	1,75
90	1,41	0,19	1,75	101	1,22	0,19	1,56
91	1,46	0,14	1,78	103	1,31	0,24	1,69
92	1,47	0,20	1,82	105	1,32	0,21	1,66
93	1,50	0,13	1,85	106	1,36	0,16	1,68
95	1,47	0,19	1,85	107	1,31	0,28	1,64
96	1,37	0,25	1,73	108	1,34	0,24	1,70
97	1,42	0,12	1,74	110	1,32	0,19	1,64
99	1,42	0,12	1,74	Geral	1,39	0,09	1,87

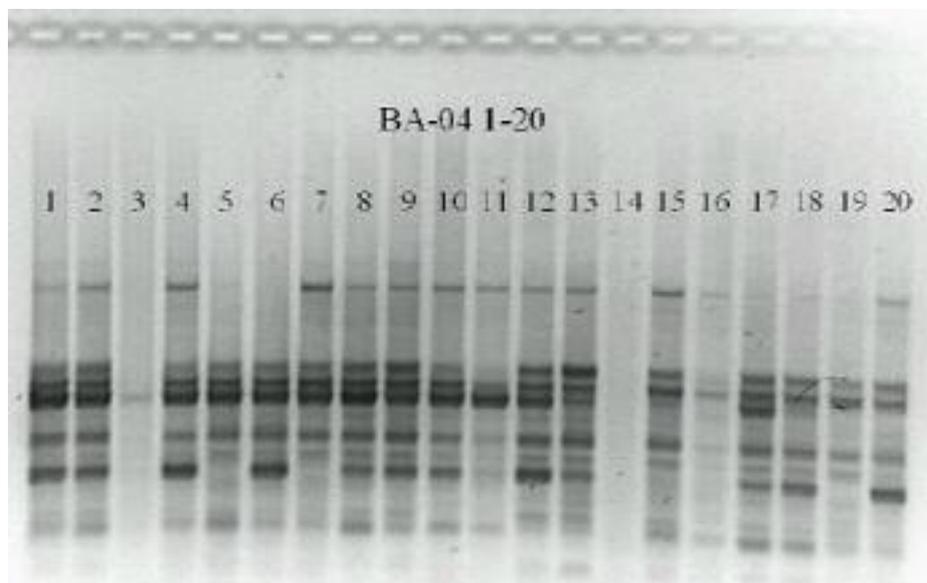


FIGURA 1B Gel de agarose contendo exemplo de polimorfismo detectado pelo *primer* RAPD OPBA-04 nos acessos de 1 a 20 de açazeiro.



FIGURA 2B Gel de agarose contendo exemplo de polimorfismo detectado pelo *primer* EE54 nos acessos de 1 a 20 de açazeiro.