



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA



USO DA DIVERSIDADE MOLECULAR PARA MANEJO E CONSERVAÇÃO DE AÇAIZEIRO

Carolinne Maia Melo

RIO BRANCO, AC
10/2021

Carolinne Maia Melo

**USO DA DIVERSIDADE MOLECULAR PARA MANEJO E
CONSERVAÇÃO DE AÇAIZEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica**.

Orientador: Dr^a. Tatiana de Campos

Coorientador: Dr^a Hellen Sandra Freires da Silva Azêvedo

RIO BRANCO, AC
10/2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

USO DA DIVERSIDADE MOLECULAR PARA MANEJO E
CONSERVAÇÃO DE AÇAIZEIRO

CAROLINNE MAIA MELO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: _____

NOME DO ORIENTADOR
INSTITUIÇÃO

NOME DO MEMBRO DA BANCA
INSTITUIÇÃO

NOME DO MEMBRO DA BANCA
INSTITUIÇÃO

A Deus que sempre esteve presente, Ao meu pai José Ronaldo Melo e minha mãe Christiane Maia Melo que sempre incentivaram meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus que sempre me guiou na minha trajetória.

À minha orientadora, Dra. Tatiana de Campos, pelos ensinamentos profissionais e pela paciente orientação e confiança. Obrigada por ter me motivado a conduzir esse trabalho e por me incentivar a conquistar novos objetivos

À minha coorientadora Dra. Hellen Sandra Freires da Silva Azêvedo, pela disponibilidade e paciência em todos os momentos necessários.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pelo aporte financeiro e pela disponibilização do laboratório de Biologia Molecular (LabMol). Esse apoio foi essencial para a realização desse trabalho.

À Universidade Federal do Acre - UFAC, por fornecer o Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia (CITA).

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Acre (Fapac), pela concessão de recurso para pesquisa.

Aos amigos do LabMol: Jônatas Oliveira, Luciélío Manoel, Lucas da Silva, Nathália, pelos bons momentos de convivência e trocas de experiências.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Inovação e Tecnologia para a Amazônia, pelas excelentes disciplinas ministradas.

Aos colegas Pós-Graduandos, pelas trocas de experiências e convivência nas disciplinas em especial as minhas colegas Romáina Araújo e Nataly Costa.

Aos meus pais Christiane Maia Melo e José Ronaldo Melo, por todo apoio, ao meu noivo Matheus Lima de Mesquita, por todo incentivo.

E a todos os demais que contribuíram direta ou indiretamente com essa conquista.

EPÍGRAFE

Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o senhor, o seu Deus. Estará com você por onde você andar.

RESUMO

O açazeiro (*Euterpe precatoria*) representa o produto florestal não madeireiro mais coletado no Brasil. Possui um grande potencial econômico e seus frutos são exportados para diversos países, por ser uma bebida energética, com propriedades antienvhecimento e compostos bioativos. O estado do Acre apresenta a quarta maior produção do Brasil, com destaque para o município de Feijó. A sua exploração é baseada no extrativismo, e o conhecimento da variabilidade genética pode ser uma ferramenta para a identificação de matrizes para conservação *in situ* e para a produção de mudas no manejo. O trabalho teve como objetivo aplicar informações de parâmetros genéticos de estruturação genética espacial para seleção de matrizes em uma população de açai solteiro (*E. precatoria*) com 72 indivíduos localizado no município de Feijó/AC, Brasil. Foram utilizados oito marcadores microssatélites. Um total de 29 alelos foram identificados. Foram observados valores reduzidos de heterozigosidade esperada ($H_e = 0,33$) e observada ($H_o = 0,29$). A baixa diversidade pode estar relacionada ao uso de locos heterólogos, ou devido à intensa exploração do local de coleta. Foi detectada endogamia ($F = 0,120$). A coleção nuclear foi composta por 13 plantas que representam 100% dos alelos da população. Esses indivíduos identificados servem como genótipos de referência para a região, e sugerem-se que seus frutos sejam parcialmente preservados a cada ciclo reprodutivo para favorecer a manutenção da variabilidade genética no local. Associando parâmetros de produtividade e diversidade genética é possível gerar subsídios para a orientação das matrizes em novos plantios e coleções com garantia da identidade genética. O monitoramento da diversidade genética é importante para orientar as melhores práticas de manejo da espécie. Conclui-se que a aplicação de parâmetros de estruturação genética espacial associada a análise de coleção nuclear foi eficiente para orientar a identificação de matrizes de diversidade na população avaliada.

Palavras-chave: Conservação, *Euterpe precatoria*, locos heterólogos, Marcador SSR, Polimorfismo.

ABSTRACT

The açai tree (*Euterpe precatoria*) represents the most collected non-timber forest product in Brazil. It has a great economic potential and its fruits are exported to several countries, as it is an energy drink, with anti-aging properties and bioactive compounds. The state of Acre has the fourth largest production in Brazil, with an emphasis on the municipality of Feijó. Its exploration is based on extractivism, and the knowledge of genetic variability can be a tool for the identification of matrices for in situ conservation and for the production of seedlings in management. The aim of this work was to apply information from genetic parameters of genetic spatial structuring for selection of matrices in a single açai population (*E. precatoria*) with 72 residents located in the municipality of Feijó / AC, Brazil. Eight microsatellite markers were used. A total of 29 alleles were identified. Reduced values of expected ($H_e = 0.33$) and observed ($H_o = 0.29$). The low diversity may be related to the use of heterologous loci, or due to the intense exploitation of local collection. Inbreeding was detected ($F = 0.120$). The nuclear collection consisted of 13 plants representing 100% of the population's alleles. These visitors seek to serve as reference genotypes for the region, and whether their fruits are partially preserved in each reproductive cycle to favor the maintenance of genetic variability in the area. By associating productivity parameters and genetic diversity, it is possible to generate subsidies for the orientation of the matrices in new plantations and collections with guaranteed genetic identity. Monitoring genetic diversity is important to guide the best management practices for the species. It is concluded that the application of genetic structuring parameters associated with nuclear collection analysis was efficient to guide the identification of diversity matrices in the evaluated population.

Keywords: Conservation, *Euterpe precatoria*, heterologous loci, SSR marker, Polymorphism.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Três espécies de palmeiras do gênero <i>Euterpe</i> , de valor econômico. A: <i>E. precatoria</i> . B: <i>E. edulis</i> . C: <i>E. oleracea</i>	16
Figura 2. Frutos de <i>E. precatoria</i> maduras	18
Figura 3. Palmeira <i>E. precatoria</i>	19
Figura 4. Localização geográfica da população de açazeiros do Seringal Benfica. Em vermelho é o local onde foram feitas as coletas.....	30
Figura 5. Localização das 72 palmeiras coletadas de <i>E. precatoria</i> na colônia Areal, Seringal Benfica, no Município de Feijó, Estado do Acre, Brasil. As palmeiras estão representadas no mapa por bolas brancas e as casas estão representadas por triângulos amarelos.....	31
Figura 6. Identificação dos açazeiros selecionados com base na distância de aproximadamente 50 m, com placas de alumínio numeradas de 1 a 72 e fita para facilitar a sua visualização.....	32
Figura 7. Eletroforese em gel de agarose do DNA de <i>E. precatoria</i> quantificado com o DNA fago λ como padrão. Coluna: 1-11: 2 μ L de DNA de indivíduos diferentes (53, 60, 61, 63, 66, 67, 68, 69, 70, 71 e 72 respectivamente); Coluna: 12-14: DNA fago λ padrão (100 ng, 200 ng, 300 ng, respectivamente)	36
Figura 8. Eletroforese em gel de agarose (3%) de perfil de quatro microssatélites (EE8; EE41; EE52 e EE59) amplificados em <i>E. precatoria</i> . Coluna M: marcador 1 Kb (Fermentas®); Colunas 1-10: indivíduos da população de Benfica Feijo-AC	37
Figura 9. Perfil do loco EE45 em gel de poli-acrilamida (5%). Coluna 1-18: Indivíduos da população de Benfica Feijó-Acre; Coluna M: marcador (50-pb “ladder” <i>Life Technologies</i>).	38
Figura 10. Diversidade conservada em relação a representatividade dos alelos de cada indivíduo incluídos na coleção nuclear.....	42
Figura 11. Localização dos 13 indivíduos que representam a coleção nuclear, distribuídos no Seringal Benfica, no município de Feijó/AC, Brasil., Os círculos amarelos representam as palmeiras com seus códigos de campos	43

- Figura 12. Árvore Neighbor-Joining representando a relação dos indivíduos de *E. precatória* no seringal Benfica, município de Feijó, Acre, Brasil..... 45
- Figura 13. Perfil dos oito locos em gel de poliacrilamida 5%. Indivíduos com os mesmos alelos em todos os oitos locos analisados na população de *E. precatória* em estudo. Locos: EE2, EE8, EE32, EE41, EE45, EE52, EE54 e EE59, indivíduos idênticos: 5 e 72, 50 e 67, 40 e 47, 17,64 e 69, 3 e 7..... 46

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Descrição dos nove microssatélites utilizados, com sua sequência <i>forward e reverser</i> e o tamanho dos fragmentos em pares de bases....	33
Tabela 2. Características dos oito microssatélites avaliados em uma população de <i>E. precatoria</i> localizados em floresta de baixio no ramal Benfica, município de Feijó, Acre, Brasil. Número total de alelos (<i>K</i>), heterozigosidade esperada (<i>HE</i>), heterozigosidade observada (<i>Ho</i>), índice de fixação (<i>F</i>), conteúdo informativo do polimorfismo (<i>PIC</i>) e poder discriminatório (<i>D</i>)	38

LISTA DE ABREVIATURAS

D: Poder Discriminatório

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HE: Heterozigosidade esperada

Ho: Heterozigosidade observada

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

NJ: *Neighbor Joining*

Pb: Pares de bases

PCR: Reação da Polimerase na Cadeia

PFNM: Produto florestal não madeireiro

PIC: Conteúdo de Informação Polimórfica

SSR: Sequências simples repetida

SGS: Estrutura genética espacial

PROAÇAÍ: Programa de Desenvolvimento da Cadeia Produtiva do Açaí

RCM: Reserva extrativista Chico Mendes

UV: Ultra Violeta

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O gênero <i>Euterpe</i>	16
2.2 Distribuição geográfica	17
2.3 Descrição botânica e Biologia reprodutiva	17
2.4 Importância econômica, produtiva e plantio de açazeiros	20
2.4.1 Economia do açaí	20
2.4.2 Sistemas de plantios de açazeiros	21
2.5 Marcadores moleculares microssatélites e estudos genéticos para manejo e conservação	23
2.5.1 Marcadores microssatélites	23
2.5.2 Variabilidade genética	24
2.5.3 Estrutura genética	25
2.5.4 Conservação <i>in situ</i> , <i>ex situ</i> e coleção nuclear	26
3. OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivo Específico.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Material vegetal, Área de estudo e amostragem	30
4.2 Extração do DNA	32
4.3 PCR e genotipagem	32
4.4 Análises de diversidade genética	34
4.5 Análises de estrutura genética	34
4.6 Critérios para seleção de matrizes	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 Extração do DNA	36
5.2 Diversidade genética	36
5.3 Coleção nuclear	41
5.4 Estrutura genética	44
6. CONCLUSÕES.....	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

O açaí solteiro (*Euterpe precatoria* Mart.) pertence à família Arecaceae e é uma das sete espécies do gênero *Euterpe* (HENDERSON, 2000). É considerado o produto florestal não madeireiro (PFNM) mais coletado do Brasil e altamente produtivo, quando comparado a outros PFNMs (IBGE, 2018). Esta espécie conta com um grande potencial agrônomo, tecnológico, econômico e nutricional, principalmente devido ao uso de seus frutos na preparação de bebidas de açaí que são exportadas para diversos países como uma bebida energética.

Além disso, possui diversas propriedades antienvhecimento e a presença de compostos bioativos (YAMAGUCHI et al., 2015; FERNANDES, 2016) e, ainda, considerado uma importante fonte de fibras, minerais, proteínas, vitaminas e ácidos graxos (BOREIRA et al., 2019; VASCONCELOS et al., 2019).

A Amazônia brasileira é atualmente o maior fornecedor de açaí no mercado nacional e internacional (RAMOS et al., 2018; 2021). Nos Estados do Amazonas, Acre e Rondônia, a produção é baseada no extrativismo, sendo a fonte de subsistência de várias famílias de seringueiros, extrativistas, ribeirinhos e indígenas (BOREIRA et al., 2019). O Estado do Acre ocupa o quarto lugar na produção de açaí do Brasil, com uma alta produção em toneladas, representando uma importante fonte de economia para o Brasil (IBGE, 2018), uma vez que a tonelada do açaí é comercializada no valor de mais de mil reais (SOUZA; SOUZA, 2018).

No Estado do Acre, o município de Feijó é referência pela alta produção do produto, além da qualidade da polpa extraída (MACIEL et al., 2014).

Estudos de diversidade genética em populações naturais de *E. precatoria* são essenciais para determinar as melhores estratégias de exploração extrativista, evitando a perda de diversidade e, conseqüentemente, a redução da produtividade nessas populações naturais (AZÊVEDO, 2019b). Além disso, o conhecimento sobre como os genes serão combinados na geração seguinte permitem estabelecer estratégias para a seleção de genótipos superiores e explorar a variabilidade genética para uso futuro (ALVEZ et al., 2003).

O melhoramento genético pode contribuir para o aumento da produtividade de frutos, resistência da planta a doenças e estresses ambientais, utilizando plantas matrizes selecionadas com base em caracteres agronômicos de interesse e na diversidade molecular (OLIVEIRA et al., 2006).

Uma forma de avaliar a diversidade é pela utilização de genotipagem molecular a partir do uso de marcadores. Dentre os marcadores moleculares disponíveis para estudos genéticos em plantas, os microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) são sequências curtas de DNA repetidas *in tandem*, apresentando-se como ideais para estudos da variabilidade em populações naturais por possuir elevado polimorfismo, natureza multialélica e codominante (KALIA et al., 2011; FORTES et al., 2016; HODEL et al., 2016).

No Estado do Acre, existem populações de referência do ponto de vista produtivo, da espécie *E. precatoria*, ainda pouco conhecidas pela genética molecular (AZÊVEDO, 2019b). Portanto, estudos que auxiliem estratégias de manejo e de conservação são extremamente úteis para a caracterização e o uso adequado do recurso genético.

Estudos sobre a estrutura genética em uma população, trazem informações sobre a distribuição da variabilidade genética, que é ocasionada por diversos fatores como variáveis ecológicas, reprodutivas, forças evolutivas e deriva genética (CORRÊA, 2014).

Há informações de parâmetros de estruturação genética espacial de estudos prévios, que norteiam a coleta de palmeiras com base no coeficiente de coancestria, que define uma distância mínima de coletas, aumentando a probabilidade de encontrar matrizes de referências em diversidade genética (AZÊVEDO, 2019b).

O presente trabalho teve como proposta associar ferramentas de diversidade molecular para auxiliar o manejo florestal sustentável, a partir da identificação de matrizes de referências de variabilidade. A quantificação da diversidade e da endogamia na população poderá ajudar a determinar as medidas necessárias para a conservação *in situ* e *ex situ*, definindo estratégias de coleta de frutos e sementes, com vista a manter a variabilidade genética e evitar a erosão genética na população.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O gênero *Euterpe*

A espécie *E. precatoria*, pertence à família Aracaceae (HENDERSO, 2000). O gênero *Euterpe* possui 28 espécies, destas, apenas três espécies têm interesse econômico: *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, sendo que *E. edulis* é usada para a comercialização do palmito e as demais para a venda de seus frutos (KANG et al., 2012; YAMAGUCHIA et al., 2015).

A principal diferença entre *E. precatoria* e *E. oleracea* é que a primeira possui haste única, enquanto *E. oleracea* possui haste múltipla (RAMOS et al., 2019), como se verifica na **Figura 1**.

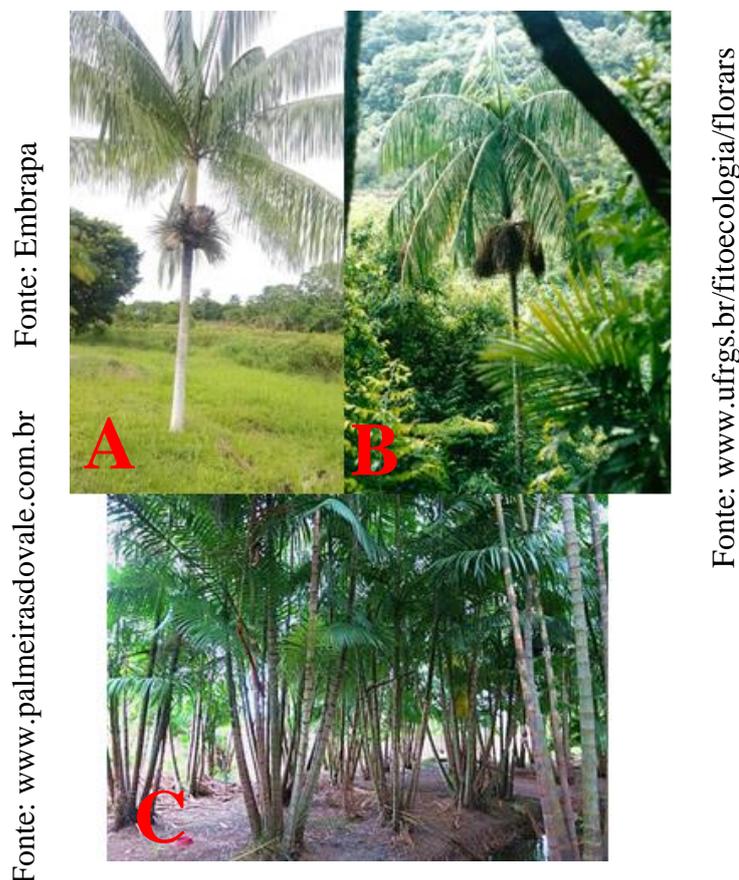


Figura 1. Três espécies de palmeiras do gênero *Euterpe*, de valor econômico. A: *E. precatoria*. B: *E. edulis*. C: *E. oleracea*.

No Brasil a espécie *E. precatoria* é conhecida popularmente como açáí-solteiro (YUYAMA et al., 2011). A espécie *E. oleracea* é conhecida popularmente como açáí ou

açazeiro, e a grande produção de frutos dessa palmeira está relacionada ao seu perfilhamento (COELHO, 2010).

2.2 Distribuição geográfica

As espécies são amplamente distribuídas pela América.

A espécie *E. precatoria* é distribuída na América Central e na América do Sul e é encontrada principalmente na Amazônia ocidental, já a espécie *E. oleracea* é encontrada na região leste da Amazônia (KANG et al., 2012; YAMAGUCHIA et al., 2015; ALMEIDA et al., 2018; LOPES et al., 2018), enquanto a *E. edulis* é nativa da Mata Atlântica (MARTINOT et al., 2017). *E. precatoria* é encontrada na Colômbia, na Bolívia e no Brasil, sendo que no Brasil sua distribuição se dá nos estados do Acre, Amazonas, Rondônia, Mato Grosso, Pará e Maranhão (COCHEV et al., 2019). Portanto, é uma palmeira nativa da floresta amazônica (MARANGONI-JÚNIOR et al., 2020; ISAZA et al., 2017).

E. precatoria é encontrada tanto em florestas de terra firme quanto em áreas de baixio (YAWANAWÁ et al., 2019; AZÊVEDO, 2019b), sua distribuição geográfica depende de variações sazonais dos níveis da água ao longo do ano (RAMOS et al., 2018), crescendo em pomares de grandes densidades próximos a rios ou de áreas inundadas, preferencialmente em florestas ripárias (LOPES et al., 2018; ALMEIDA et al., 2018; ISAZA et al., 2017).

Essa palmeira tem preferência por regiões onde as chuvas variam de 2000 a 2700 mm por ano e com temperaturas de aproximadamente 28° C (LOPES et al., 2018).

2.3 Descrição botânica e Biologia reprodutiva

E. precatoria é uma espécie unicaule (YUYAMA et al., 2011; KANG et al., 2012; ALMEIDA et al., 2018; ISAZA et al., 2017; RAMOS et al., 2019). Desenvolve troncos subterrâneos, quando jovem (HEDERSON 2002), e sua altura média é de 20 metros, com um caule ereto (HENDERSON, 1995).

As palmeiras têm seu crescimento lento, exigindo uma alta umidade. Na fase de mudas necessitam de pouca quantidade de luz, adaptando-se melhor em locais sombreados (RAMOS et al., 2018). A germinação das sementes tem as melhores taxas em temperaturas entre 20° C a 25° C e com umidade relativa do ar entre 69% a 95% (COSTA et al., 2018).

A taxa de sobrevivência de mudas é de aproximadamente 20%, devido ao fato de permanecerem um período longo sem haste (ISAZA et al., 2017).

A espécie possui seus frutos globosos medindo 0,9 a 1,3 centímetros de diâmetro como mostra a **Figura 2**. Têm o mesocarpo suculento com uma semente por fruto e endosperma sólido e homogêneo (HENDERSON 1995). Seus frutos têm cor verde que evolui à cor preta quando estão maduros, pesando cerca de um grama (SCHULZ et al., 2016). A coloração de seus frutos maduros se deve a um pigmento conhecido como antocianina (YAMAGUCHIA et al., 2015).

Fonte: Carolinne Maia Melo



Figura 2. Frutos de *E. precatória* maduros.

Seus cachos se encontram na altura de aproximadamente 15 metros do solo até a palmeira (MARTINOT et al., 2017), a **Figura 3** mostra os cachos em relação às folhas da palmeira. A coleta de seus frutos pode ser feita pela escalada na palmeira, o que requer equipamentos e treinamento por parte dos produtores, ou pela derrubada da palmeira, o que não é recomendável uma vez que, após a sua derrubada, não ocorre a regeneração, reduzindo a quantidade de indivíduos adultos e causando impactos ecológicos (ISAZA et al., 2017).

Fonte: Carolinne Maia Melo



Figura 3. Palmeira *E. precatória*.

Suas folhas são pinadas, planas, estreitas e pêndulas e a bainha foliar proeminente (HENDERSON, 1995).

É uma espécie protândrica, ou seja, as flores masculinas fornecem o pólen antes que as flores femininas sejam receptivas. As flores masculinas florescem por um tempo de 17 dias; logo após, a palmeira fica um tempo de 6 dias sem nenhuma flor masculina aberta, em seguida as flores femininas se abrem com duração de florescimento por 3 dias (RAMOS et al., 2018).

Por isso a forma de reprodução da espécie é cruzada, sendo uma espécie alógama; porém alguns estudos indicam que a espécie é auto compatível, podendo até mesmo se autofecundar (LIMA, 2014; RAMOS et al., 2019).

As flores masculinas são maiores do que as femininas, medindo 4,5 x 2,7 mm e 3,2 x 2,6 mm, respectivamente. Os indivíduos adultos produzem de 1 a 4 inflorescências com os dois sexos por floração, sendo uma espécie monóica, ou seja, cada indivíduo apresenta órgão sexual dos dois sexos, diferente de espécies dióicas que possuem os sexos separados em diferentes indivíduos (YAMAGUCHIA et al., 2015).

Suas sementes dependem de mecanismos de dispersão, como a água e animais, para uma maior distribuição geográfica. Roedores realizam dispersão em distâncias curtas

e aves, a exemplo tucanos, jacus, arapongas e sabiás, fazem uma dispersão mais longa (RAMOS et al., 2018).

2.4 Importância econômica, produtiva e plantio de açazeiros

2.4.1 Economia do açaí

O açaí é exportado para diversos países, dentre eles se destacam os Estados Unidos que importam cerca de 66%, seguidos da Austrália, Japão e países da União Europeia (CONAB, 2020). É conhecido como uma bebida energética com diversos benefícios à saúde, sendo utilizado tanto na indústria alimentícia como na indústria de cosméticos e em farmacêuticos (YAMAGUCHIA et al., 2015).

Tornou-se o PFNMs mais coletado de forma extrativista no Brasil e, no ano de 2013, a produção do açaí ultrapassou a produção da borracha (LOPES et al., 2018). Entre os anos de 2010 a 2019, houve um aumento da exportação do açaí, devido ao aumento do consumo, pelo fato de a fruta ser conhecida em outros países como uma bebida energética, saltando de 314 toneladas para 3.500 toneladas. O valor anual de exportação aumentou cerca de R\$ 4.819.097,00 para cerca de R\$ 49.308.221,00 (CONAB, 2020).

O extrativismo representa cerca de 80% da produção de açaí na Amazônia. Seu consumo não é feito de forma natural, sendo que a fruta precisa passar por um processo de extração e um processo de conservação imediata, para que não perca suas propriedades medicinais e nutritivas (BOREIRA et al., 2019). Diversos são os produtos que podem ser utilizados da planta, como produtos vermífugos, corantes naturais, artesanatos, na construção de casas, ração animal, polpa de frutos e o palmito (ALMEIDA et al., 2018).

A tonelada do açaí é comercializada no valor acima de mil reais. Porém, com mais estudos e investimentos, o Estado do Acre poderia ter uma maior produção anual. No ano de 2012 houve um aumento na produção de açaí, o que gerou uma maior renda para o Estado. O município de Feijó é o maior produtor de açaí do Estado do Acre, e o município de Plácido de Castro fica em segundo lugar na produção (SOUZA; SOUZA, 2018).

Foi criado no ano de 2014 pelo governo acreano o programa PROAÇAÍ, com a intenção de incentivar produtores na produção de açaí, por meio de colheitas em matas nativas, domesticação e plantações. Os locais, escolhidos como prioridade para o

programa, foram os municípios de Feijó, Tarauacá e a Reserva extrativista Chico Mendes (RCM) (LOPES et al., 2018). O açaí do município de Feijó destaca-se devido a sua alta qualidade, sendo um produto de sabor diferenciado, além da sua importância socioeconômica e ecológica, uma vez que é fonte de renda para diversas famílias, por conta de sua produção em sistemas ecológicos sustentáveis (MACIEL et al., 2014).

No interior do Acre, em alguns municípios como Feijó, os produtores comercializam “o balde” de açaí, contendo 14 kg dos frutos *in natura*, com valor que gira em torno de R\$ 19,96 a R\$ 32,41. Fora do período de colheita esse valor aumenta, então, o “balde” custa entre US\$ 31,35 a R\$ 41,25, e varia muito dependendo do ano e da temporada (LOPES et al., 2018). Tanto a espécie *E. precatoria* como *E. oleracea* contribuem para que a Amazônia Brasileira seja atualmente o maior fornecedor de açaí no mercado nacional e internacional (RAMOS et al., 2018).

Algumas comunidades indígenas, como os Yawanawá, utilizam essa espécie tanto na sua alimentação como na confecção de artesanatos a partir das sementes, produzem utensílios como cestos e abanos de palhas, na cobertura de suas casas e fabricação de vestimentas (YAWANAWÁ et al., 2019).

O açaí tem cor púrpura intensa, assim tem sido muito utilizado na fabricação de corantes naturais, que se constitui uma boa opção para substituir os corantes artificiais (MARANGONI-JÚNIOR et al., 2020). Além da exploração dos seus frutos, essa espécie também é empregada para a exploração do palmito (COSTA et al., 2018).

2.4.2 Sistemas de plantios de açazeiros

Devido ao aumento do consumo do açaí, tanto no Brasil quanto em diversos países, o produto parou de ser obtido somente de forma extrativista e passou a ser obtido também pelo plantio, em monocultivos ou em sistemas agroflorestais, sendo realizado o plantio principalmente no estado do Pará (FURLATO et al., 2020), com área plantada de 188 mil hectares (LSPA, 2019).

Sistemas de plantios também estão sendo realizados no Estado do Acre (ALMEIDA et al., 2018). Estima-se que a densidade de palmeiras em plantios possa ser seis a sete vezes maior do que na floresta. As palmeiras de plantio têm tamanho menor,

facilitando a coleta dos agricultores, uma vez que palmeiras de açaí na mata atingem mais de 20 metros de comprimento (MARTINOT et al., 2017).

A espécie é altamente promissora para a implantação de plantios comerciais (RAMOS et al., 2018). A sua domesticação começa com a exploração de palmeiras, prossegue com o cultivo de plantas selecionadas na natureza e termina com a fixação de características morfológicas e genéticas realizadas por seleção humana (PICKERSGILL, 2007).

A produtividade do plantio de açaí em área de terra firme com adubação e irrigação pode ser maior em relação ao açaí de baixio, pois o espaço que é utilizado para o plantio é otimizado, aumentando a produção. A ocupação do açaí em terra firme foi possível devido a programas de melhoramento. Alguns programas de melhoramento do açaí apresentam a primeira frutificação três anos após o plantio (FURLATO et al., 2020). No entanto, é necessário também investimento em outras operações envolvidas na produção de açaí, como implantação, tratos culturais e manutenção, colheita e transporte, administração, produtividade e vida útil da cultura que é de 20 anos (NOGUEIRA et al., 2013).

A densidade de indivíduos adultos em florestas do Alto Acre é entre 57 a 60 (áreas de baixio) e 28 a 39 (áreas de terra firme), por hectare. Essa densidade de indivíduos poderia se tornar mais elevada em programas de plantios (ROCHA, 2002).

No Acre, há um interesse por parte do governo em expandir a produção do açaí por meio de sistemas de plantios comerciais, a partir de investimentos, com fornecimento de mudas, buscando atingir mais de 5 mil hectares de áreas plantadas. Contudo, são necessários mais estudos sobre produção e qualidade de mudas de *E. precatória* produzidas em viveiro (BUTZKE, 2019).

A palmeira pode também ser cultivada em consórcio com outras espécies, como a bananeira, que fornece sombra às palmeiras, auxiliando o seu crescimento no primeiro ano de cultivo (ALMEIDA et al., 2018). A adubação com nitrogênio e potássio também é uma alternativa que auxilia no crescimento de açaizeiros (BUTZKE, 2019).

2.5 Marcadores moleculares microssatélites, estudos genéticos para manejo, conservação *in situ* e *ex situ* e coleção nuclear

2.5.1 Marcadores Microssatélites

A espécie *E. precatória* é diploide e tem 36 cromossomos, assim como as duas outras espécies de valor econômico *E. edulis* e *E. oleracea*. *E. precatória*, tem o tamanho de seus cromossomos maior em relação às outras duas espécies, e os cromossomos também diferem em sua morfologia nessas três espécies (OLIVEIRA et al., 2016).

Existem várias classes de marcadores moleculares que podem ser usados em estudos de diversidade genética de plantas. Dentre eles, destacam-se os marcadores microssatélites, também conhecidos como sequências simples repetidas (*Simple Sequence Repeats – SSRs*). São regiões de DNA que consistem em repetições em *tandem* com unidade que variam de 1 a 10 nucleotídeos, sendo encontrados em regiões codificantes e não codificantes, distribuídos por todo o genoma nuclear (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Estes marcadores são ideais para estudos de variabilidade em populações naturais (FORTES et al., 2016; AZÊVEDO, 2019b), pois têm facilidades na sua utilização, são polimórficos e proporcionam potencialidade de pesquisas após a sua obtenção, sendo facilmente detectados pela reação em cadeia de polimerase (PCR) (KALIA et al., 2011).

Os SSRs são os marcadores mais utilizados para a genotipagem de plantas nos últimos 20 anos, sendo mais informativo do que outras classes de marcadores moleculares (VIEIRA et al., 2016). Dentre algumas características, destaca-se o fato de serem multialélicos, contarem com expressão codominante e exibir padrão de herança mendeliana (FERREIRA; GRATTAPAGLIA 1998; LIMA 2014; VIEIRA et al., 2016). Estes marcadores também podem ser encontrados no DNA do cloroplasto e mitocôndria (KALIA et al., 2011). Outra característica desses marcadores é que têm alto nível de conservação das sequências dos iniciadores entre espécies do mesmo gênero (LIMA, 2014; AZÊVEDO, 2019b), permitindo a transferibilidade para espécies que ainda não possuem marcadores SSRs desenvolvidos. É uma importante possibilidade, uma vez que o desenvolvimento de novos *primers* requer tempo e um altos investimentos.

A espécie *E. edulis* tem 18 marcadores microssatélites que foram desenvolvidos por Gaiotto et al. (2001). Esses 18 marcadores foram transferidos com sucesso para *E. oleracea* e *E. precatória*, e aplicados em estudos genéticos (AZÊVEDO et al., 2017).

2.5.2 Variabilidade genética

O manejo florestal refere-se ao desenvolvimento e à aplicação de técnicas de análises quantitativas nas decisões acerca da localização, da estrutura e da composição de um recurso florestal, possibilitando a produção de produtos, serviços e benefícios, podendo ser realizado com base na composição genética de populações (VINSON, 2004). O uso de marcadores em populações naturais de açazeiros poderá auxiliar estratégias de manejo, visando preservar e manter a variabilidade genética de populações intensamente exploradas, auxiliando o manejo com a conservação da espécie. A adoção do manejo de açazeiros, baseada em estudos genéticos, possibilita a manutenção da estrutura e da composição de populações, enquanto gera benefícios socioeconômicos (SILVA, 2001).

As populações de *E. precatória* possuem uma alta densidade e isso contribui para que se tenha diversidade genética, aumenta a probabilidade de ocorrência de mutações e a incorporação de novos alelos na população, aumentando, conseqüentemente, a probabilidade de novas recombinações e múltiplas paternidades das progênies (LIMA, 2014). Estudos sobre os níveis de variabilidade genética e sua distribuição dentro de populações naturais e seu fluxo gênico são essenciais para estabelecer estratégias em programas de conservação genética (SILVA et al., 2011). Populações sob intenso processo extrativista precisam de monitoramento e estratégias de uso consciente de recurso genético. A partir de dados moleculares é possível identificar matrizes em uma população natural e identificar a distância mínima entre elas para a coleta (AZÊVEDO, 2019b).

Para a espécie *E. edulis* existem diversos trabalhos relatando uma alta variabilidade genética em populações naturais em diferentes regiões do Brasil (COELHO, 2010; OLIVEIRA; 2010; PEREIRA et al., 2018; FERNANDA et al., 2020; MORAIS et al., 2020). Na Mata Atlântica, foi encontrada uma média de 10,6 alelos por loco (GAIOTTO, 2001).

Estudos realizados com locos transferidos de *E. edulis* para *E. precatória* encontraram valores inferiores de variabilidade genética (RAMOS et al., 2021; AZÊVEDO, 2019b). Locos transferidos para outras espécies acessam com menor efetividade a variabilidade genética em relação aos locos desenvolvidos para a espécie, a transferência é parcial, apesar da conservação das sequências (LIMA, 2014), quanto maior o grau de parentesco entre espécies mais eficiente serão as taxas de transferências.

A variabilidade genética pode ser influenciada por diversos fatores, tais como nível de preservação do ambiente; a fragmentação florestal; dispersão e polinização; o tamanho amostral; o número de marcadores utilizados; a utilização de locos desenvolvidos para a espécie ou locos heterólogos, entre outros (LIMA, 2014; AZÊVEDO, 2019b).

A diversidade genética de palmeiras, em áreas de fragmentação florestal, influencia na diminuição da variabilidade genética interpopulacional, uma vez que estas áreas possuem menos circulação de dispersores e polinizadores; portanto, a maior diversidade genética atribui-se à diversidade intrapopulacional (GAIOTTO et al., 2001).

2.5.3 Estrutura genética

Análises genéticas em populações com indivíduos adultos permitem ter conhecimentos sobre o fluxo gênico dessa espécie; por meio de análises sobre o modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg, pode-se ter conhecimento sobre excesso ou deficiência de heterozigotos, indicando assim se está ocorrendo endogamia (SEOANE et al., 2005).

A estrutura genética corresponde à distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações, sendo ocasionada por variáveis ecológicas, reprodutivas, forças evolutivas e deriva genética, a fragmentação florestal, a distância da viabilidade do pólen pode influenciar na estrutura genética (CORRÊA, 2014).

Populações naturais que não sofrem fragmentação tendem a manter o equilíbrio, pois todas as forças evolutivas estão atuando mutuamente sobre a diversidade genética (FUTUYMA, 2002). Esta estrutura genética pode inclusive ser observada dentro das populações, no nível de indivíduos, sendo conhecida como estrutura genética espacial (SGS) (RAMOS, 2013).

As palmeiras dependem de diversos mecanismos para a sua polinização e dispersão, indivíduos situados geograficamente próximos tendem a possuir menor diversidade genética. A conservação da floresta também contribui para que essa estruturação seja baixa. Florestas com bastante fragmentação prejudicam a dispersão e a polinização.

Açaizeiros espacialmente próximos em geral tendem a ter maior grau de parentesco, já que sua dispersão é muito influenciada por roedores, por sementes que caem e germinam próximas à sua matriz e pela água. Porém, podem ocorrer indivíduos aparentados até longas distâncias, devido à eficiência da dispersão do pólen (LIMA, 2014).

Foi detectado um pequeno número de doadores de pólen em populações de *E. precatória* com mais de 50 indivíduos estudados (média de 2,6 doadores de pólen), este número é influenciado pelo período em que as sementes são coletadas, podendo ter um resultado diferente, caso seja realizado em diferentes períodos (LIMA, 2014).

E. precatória apresenta diferente composição genética no baixio e terra firme. Há maior diversidade em palmeiras situadas a partir de 50 metros de distância em região de baixio e 78 metros de distância em região de terra firme, e apresentam distintos *pools* gênicos na composição genética em cada região (AZÊVEDO, 2019b). *E. edulis* possui elevado fluxo gênico (via pólen ou semente) de até 22 km de distância (GAIOTTO, 2001).

2.5.4 Conservação *in situ*, *ex situ* e coleção nuclear

A conservação *in situ* consiste em preservar espécies na natureza, em seu *habitat natural*, já a conservação *ex situ* consiste em conservar fora de seu local de origem. Selecionando matrizes de interesse, a conservação de bancos de germoplasma ativo e de programas de melhoramento genético é recomendada para garantir o uso a longo prazo da espécie e para o aumento da produtividade dos frutos (RAMOS et al., 2021).

A conservação *in situ* geralmente tem sido realizada com base em dados pouco específicos, como características fenotípicas. Essa conservação *in situ* deve ser desenvolvida com base no conhecimento de padrões de dispersão de pólen e sementes e da capacidade de regeneração de determinadas espécies, relacionando esses padrões com informações genéticas da população e com conhecimentos de grau de parentesco para

identificar quais indivíduos trocam genes com maior intensidade, estabelecendo maneiras mais precisas de conservação (GAIOTTO, 2001).

Coleções nucleares são de grande importância, pois refletem a diversidade genética de toda uma coleção principal, sendo utilizadas para conservar e avaliar recursos genéticos com mais eficiência (DÍEZ et al., 2012). Estudos sobre coleção nuclear indicam matrizes para cruzamento com possibilidade de gerar descendentes com maior desempenho morfológico para frutos e alta diversidade genética para programas de melhoramento genético (MORAES et al., 2020).

Para a formação de um banco de germoplasma, é importante ter conhecimento sobre a diversidade genética da espécie, entre e dentro populações e como é transmitido o germoplasma ao longo das gerações. Com isso, é possível estabelecer estratégias de coleta, conservação e manejo de germoplasmas mais eficientes (LIMA, 2014). O conhecimento do parentesco entre plantas de populações naturais tem grande importância para a coleta de material a ser conservado *ex situ*; com esse conhecimento, podem ser coletados indivíduos com menor grau de parentesco, aumentando a variabilidade genética do material armazenado em bancos de germoplasma (GAIOTTO, 2001).

Esses bancos são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial para uso futuro, sua criação tem por finalidade manejar a variabilidade genética, para utilização em pesquisas, por exemplo, o melhoramento genético (VEIGA, 2008).

Para a espécie *E. precatória*, existem estudos sobre estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* no Estado do Amazonas (LIMA, 2014; RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2019; RAMOS et al., 2021) e no Estado do Acre (AZÊVEDO, 2019). Já para as espécies *E. edulis* e *E. oleracea*, existem muitos estudos definindo estratégias de conservação, bem como coleção nuclear (GAIOTTO, 2001; OLIVEIRA et al., 2017; MORAES et al., 2020; SANTOS, et al., 2020).

Como a semente do açaí é recalcitrante, a conservação *ex situ* tem sido feita em coleções vivas no campo, por diversas instituições de pesquisa, com base em suas características morfoagronômicas, vários descritores são importantes para a produção de frutos de açaí. O Estado do Pará tem um banco de germoplasma da espécie *E. oleracea*. Este banco possui plantas oriundas do Estado do Pará, Amapá e Maranhão, e a maioria

delas já está na fase reprodutiva (OLIVEIRA et al., 2006). Estudos sobre manuseio em banco de germoplasma para a espécie são feitos com base em suas características fenotípicas (GALATE, et al., 2012), sendo poucos estudos com a utilização de marcadores moleculares para banco de germoplasma neste gênero (RAMOS et al., 2019; SANTOS et al., 2020).

Estudos para estabelecer estratégias de domesticação, conservação e gestão de suas populações naturais com o apoio da comunidade ribeirinha e produtores rurais contribuiriam para estimular a implantação de áreas de monocultura para a espécie com grande qualidade genética, por meio de pesquisas nas áreas de gestão e conservação *in situ* e *ex situ* (RAMOS et al., 2021).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Aplicar informações de parâmetros genéticos de estruturação genética espacial para a conservação e o manejo em uma população nativa de açaí solteiro (*E. precatoria*), situada em uma região de baixio, localizada no município de Feijó, Estado do Acre, Brasil, visando à seleção de matrizes.

3.2 Específicos

- ✓ Aplicar parâmetros de estruturação genética espacial em uma população para verificar os níveis de diversidade genética;
- ✓ Selecionar indivíduos a partir de parâmetros de genética molecular para indicação de matrizes de diversidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal, Área de estudo e amostragem

Foram analisadas 72 palmeiras adultas de *E. precatoria* localizadas na colônia Areal, ramal Maravilha, km 06 – Seringal Benfica, Projeto de assentamento Benfica, no município de Feijó, Estado do Acre, Brasil, conforme as **Figuras 4 e 5**. De acordo com produtores locais, as plantas têm alta produtividade de frutos e podem ser escaladas para coleta. Essas informações foram consideradas, pois se trata de um critério importante para a produção de matrizes (MORAES et al., 2020).

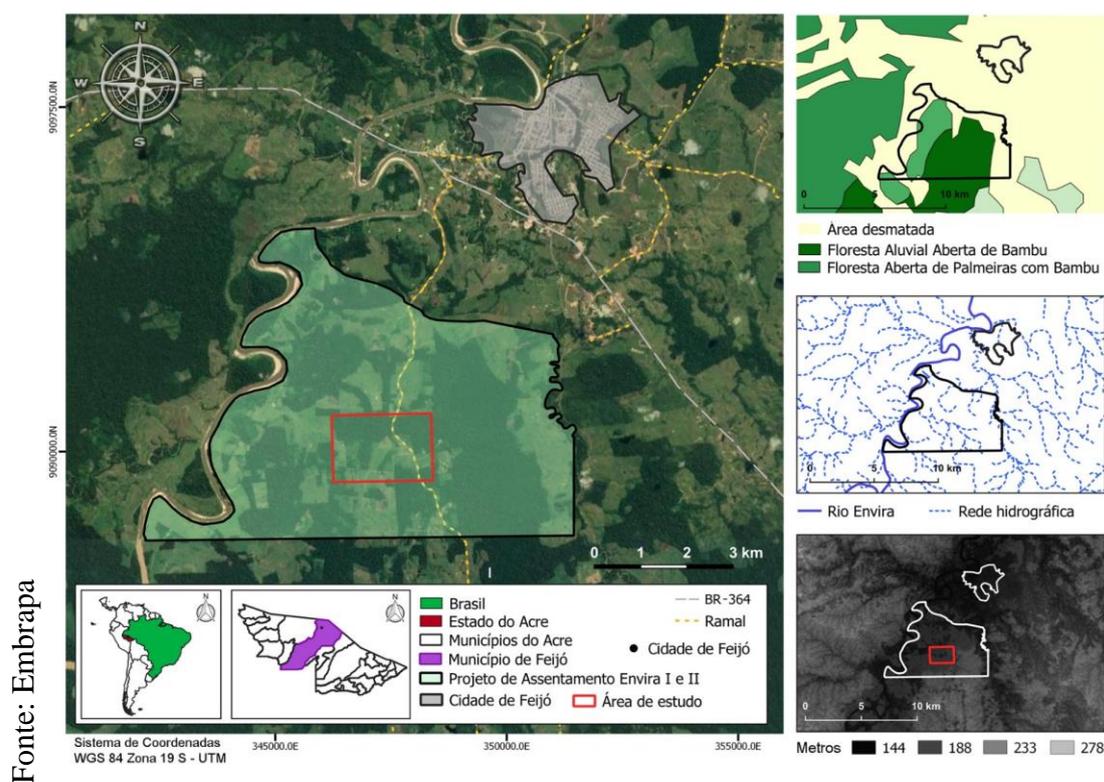


Figura 4. Localização geográfica da população de açaizeiros do Seringal Benfica. Em vermelho é o local onde foram feitas as coletas.

As palmeiras se encontram em uma região de baixio e, assim, entre os meses de outubro a março algumas palmeiras ficam parcialmente inundadas.

Fonte: Embrapa

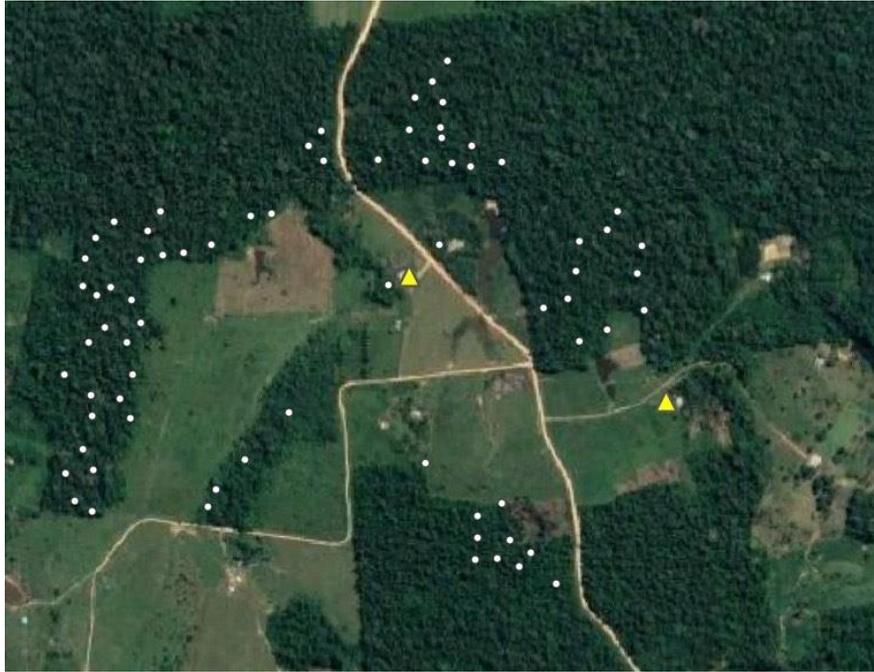


Figura 5. Localização das 72 palmeiras coletadas de *E. precatoria* na colônia Areal, Seringal Benfica, no Município de Feijó, Estado do Acre, Brasil. As palmeiras estão representadas no mapa por bolas brancas e as casas estão representadas por triângulos amarelos.

As palmeiras foram amostradas, georreferenciadas (GPS 76CXS, Garmin) e identificadas com plaquetas e fita de isolamento (**Figura 6**). As coletas foram realizadas no mês de outubro e no mês de dezembro de 2019. A seleção dos indivíduos foi feita com base na distância mínima a partir de 50 metros para reduzir a probabilidade de parentesco entre as palmeiras (AZÊVEDO, 2019b).

Fonte: Carolinne Maia Melo



Figura 6. Identificação dos açaizeiros selecionados com base na distância de aproximadamente 50 m, com placas de alumínio numeradas de 1 a 72 e fita para facilitar a sua visualização.

As amostras de tecido foliar foram coletadas por meio de escalada da palmeira. Folhas mais jovens foram utilizadas, pois o DNA extraído apresenta maior pureza e menor concentração de compostos fenólicos (MITTON et al., 1979; AZÊVEDO et al., 2019). Posteriormente, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel contendo sílica em gel e transportado para o Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular, localizado na Embrapa Acre, Rio Branco, Acre. O material foi acondicionado em sílica até o momento da extração de DNA.

4.2 Extração do DNA

O DNA genômico total foi extraído de acordo com AZÊVEDO et al. (2019), utilizando 60 mg de tecido foliar por amostra. Foi utilizada a metodologia de armazenamento em sílica gel com maceração em TissueLyser®. O DNA foi quantificado em gel de agarose (1%), utilizando o DNA fago λ como padrão e o gel *red* (Fermentas®) como intercalante do DNA para a visualização em foto documentador por luz UV.

4.3 PCR e genotipagem

As reações foram preparadas com 20 ng de DNA genômico, 1X de tampão (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl), 0,25 mM de cada dNTP, 0,25 mg/mL de BSA (Albumina Sérica Bovina), 2,0 mM de $MgCl_2$, 0,2 μM de cada iniciador, 1,5 U de Taq DNA

polimerase e água ultrapura estéril, com volume final de 13 μ L. Foram utilizados nove locos SSRs (EE02, EE08, EE32, EE41, EE45, EE47, EE52, EE54 e EE59) como mostra a **Tabela 1**, que foram transferidos de *E. edulis* para *E. precatória* (AZÊVEDO et al., 2017).

Tabela 1. Descrição dos nove microssatélites utilizados, com sua sequência *forward e reverser* e o tamanho dos fragmentos em pares de bases.

Loco	Sequência de primer	Tamanho dos fragmentos (pb) (GAIOTTO et al., 2001)
EE2	F: CCAAggACgCAATCTCAA R: AgCgAggCgAACACgTA	82-110
EE8	F: gTATTCCAATgTgCTCACAg R: gTgCAgTAggCTTCTAgTACC	110-132
EE32	F: CCgCCTggTgAgCCTCT R: CAgTgCACCAAggAACTCCAT	204-234
EE41	F: CCTTgCAgTTTATggCTACg R: CCATTgAgAgggAATgAggT	170-190
EE45	F: AAAgAAATTggCgTgACATC R: AACCAgTCTTCTCCCTCTCg	70-154
EE47	F: CgAAATCAATggTTTCAgTg R: AATTATTgTTgTgggCgC	214-246
EE52	F: TTCTgTggAgAgTCAATCATC R: AATCTgACAAggCCTCAAC	230-260
EE54	F: CATgTATCTAAggAACAAgg R: CTgTgCTCTCTCATTCTCA	140-160
EE59	F: AACCTCTCTTTggCCTA R: CTTggCATACTggAACC	84-128

*pb: pares de base.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Analytik Jena), de acordo com às seguintes etapas de amplificação: 94 °C por 1 minuto, seguido de 30 ciclos de 94 °C por 1 minuto, temperatura de anelamento definida para cada iniciador por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, seguida de uma fase final de extensão a 72°C por 5 minutos. A temperatura de anelamento para cada iniciador foi definida, com um teste realizado previamente em um gradiente de temperatura, utilizando o mesmo protocolo com uma

modificação na temperatura de anelamento, 12 temperaturas de anelamento distintas foram testadas, essas temperaturas variaram de 45°C a 60 °C.

Para a avaliação do produto da PCR, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (3%), corado com gel *red* (Fermentas®). A genotipagem foi feita com nove locos SSRs (EE02, EE08, EE32, EE41, EE45, EE47, EE52, EE54 e EE59), que foram transferidos de *E. edulis* para *E. precatória* (AZÊVEDO et al., 2017). Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel desnaturante de poli(acrilamida) (5%), corado com nitrato prata (CRESTE et al., 2001). A interpretação dos fragmentos amplificados foi realizada por meio de comparação com marcador de peso molecular padrão (10pb e 50 pb ladder – *Life Technologies*).

4.4 Análises de diversidade genética

A diversidade genética foi estimada para cada loco e na população. Os seguintes parâmetros foram analisados: número total de alelos (K), número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade esperada (H_E) e heterozigosidade observada (H_o) usando o *software* GDA1.1 (*Genetic Data Analysis*) (LEWIS; ZAYKIN, 2001) e com o auxílio do *software* TFPGA versão 1.3 (MILLER, 1997), para verificar o conteúdo de polimorfismo (PIC) para cada loco e a média de todos os locos.

A significância estatística dos valores foi avaliada por 10.000 reamostragens. Para determinar a coleção nuclear, foi utilizado o *software* CoreFinder 1.0 com o número 99 de interações (POLICRITI; SGARRO, 2011).

4.5 Análises de estrutura genética

A distribuição da variabilidade genética dentro da população foi caracterizada pelas estatísticas F de Wright, segundo a metodologia de Weir e Cockerham (1984), utilizando o *software* GDA. A significância estatística para essas estimativas foi obtida pelo intervalo de confiança a 99% de probabilidade calculada por meio de 10.000 reamostragens.

A matriz de distância genética Rogers (1972) modificada, foi obtida pelo programa TFPGA, foi utilizada para verificar a relação entre os acessos por meio de análises de Coordenadas Principais (PCoA), no *software* Darwin versão 5.0.158

(PERRIER; JACQUEMOUND-COLLET, 2006). Nesse mesmo *software*, foi realizada a análise de cluster, valendo-se do método de *Neighbor-Joining* (NJ).

A relação entre os indivíduos foi verificada pela análise de agrupamento, empregando o método *Neighbor-Joining* (NJ) no *software* MEGAX (KUMAR et al., 2018) e usando a matriz da distância modificada de Roger que foi obtida do *software* TFPGA (MILLER, 1997).

4.6 Critérios para seleção de matrizes.

A escolha das palmeiras foi feita com base na alta produtividade de frutos de cada indivíduo, informada por moradores locais e considerada em campo. Outro critério acatado foi o formato do estipe seguro para a escalada. Nem todas as palmeiras têm o estipe reto, que seria a forma segura para a coleta das folhas (LOPES et al., 2018). As folhas mais jovens e mais conservadas, na maioria das vezes, eram escolhidas para o estudo, pois o DNA extraído tem maior pureza (MITTON et al., 1979; AZÊVEDO et al., 2019), algumas folhas mais envelhecidas foram selecionadas, pois em algumas palmeiras não era possível alcançar as mais jovens.

Os parâmetros genéticos de estruturação genética espacial foram considerados de acordo com Azêvedo (2019). O autor analisou uma região de baixio também localizada no município de Feijó, e o coeficiente de coancestria estimado indicou 50 metros de distância para a coleta. Com essa distância mínima, diminuem-se chances de coleta de indivíduos aparentados, o que aumenta a probabilidade de encontrar matrizes de referência em diversidade genética.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração do DNA

O DNA extraído apresentou oxidação em algumas amostras; porém não interferiu no processo de amplificação. A coloração escura está relacionada à ligação covalente de polifenóis oxidados ao DNA (AZÊVEDO et al., 2019; PETERSON et al., 1997), decorrente do armazenamento em sílica gel. Além disso, algumas folhas maduras foram utilizadas, pois os indivíduos têm uma grande altura e nem sempre foi possível obter folhas jovens, já que estas folhas ficam no ápice da palmeira.

Foram observadas concentrações entre 200 ng/μL a 500 ng/μL de DNA (**Figura 7**). Em alguns indivíduos foram estimadas concentrações superiores a 500 ng/μL.

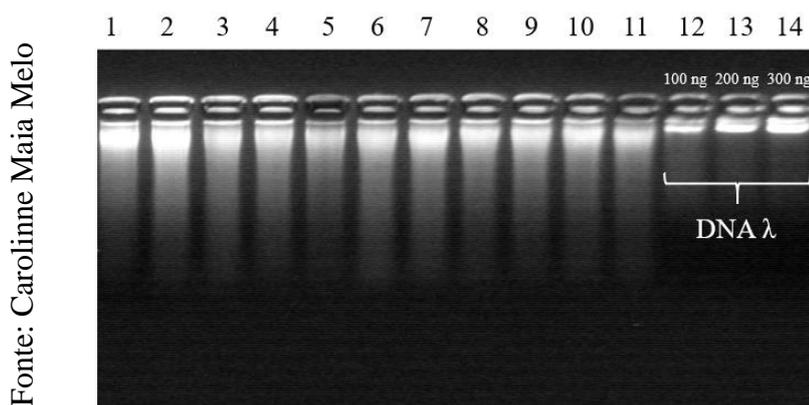


Figura 7. Eletroforese em gel de agarose do DNA de *E. precatoria* quantificado com o DNA fago λ como padrão. Coluna: 1-11: 2 μ L de DNA de indivíduos diferentes (53, 60, 61, 63, 66, 67, 68, 69, 70, 71 e 72 respectivamente); Coluna: 12-14: DNA fago λ padrão (100 ng, 200 ng, 300 ng, respectivamente).

5.2 Diversidade genética

Dos nove locos microssatélites utilizados, oito amplificaram na temperatura de anelamento específica de 58,5 °C, e um loco EE47 amplificou na temperatura de 52°C. a **Figura 8** mostra a amplificação de quatro locos microssatélites diferentes utilizados no estudo.

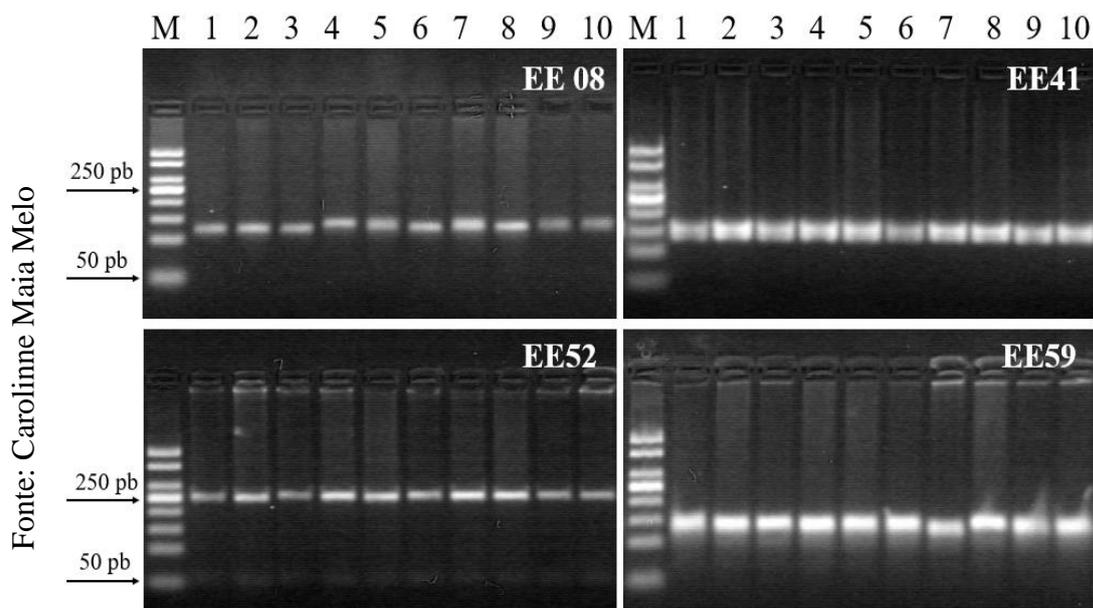


Figura 8. Eletroforese em gel de agarose (3%) de perfil de quatro microsatélites (EE8; EE41; EE52 e EE59) amplificados em *E. precatória*. Coluna M: marcador 1 Kb (Fermentas®); Colunas 1-10: indivíduos da população de Benfica Feijo-AC.

Oito locos foram polimórficos e apenas um loco foi monomórfico (EE47). O tamanho dos locos microsatélites variaram de 87 a 215 pares de base (pb), sendo que o loco EE2 foi o menor com 87 a 92 pb e o loco EE32 foi o maior com 195 a 215 pb.

Vale ressaltar que alguns alelos encontrados diferem do tamanho daqueles encontrados por Azêvedo et al. (2017) e por Gaiotto (2001). Estes resultados podem estar relacionados também à quantidade de alelos por loco que foi diferente e por serem populações situadas em regiões diferentes, sendo alelos privados para esta população. A **Figura 9** mostra o perfil do loco 45 em gel desnaturante de poliacrilamida (5%).

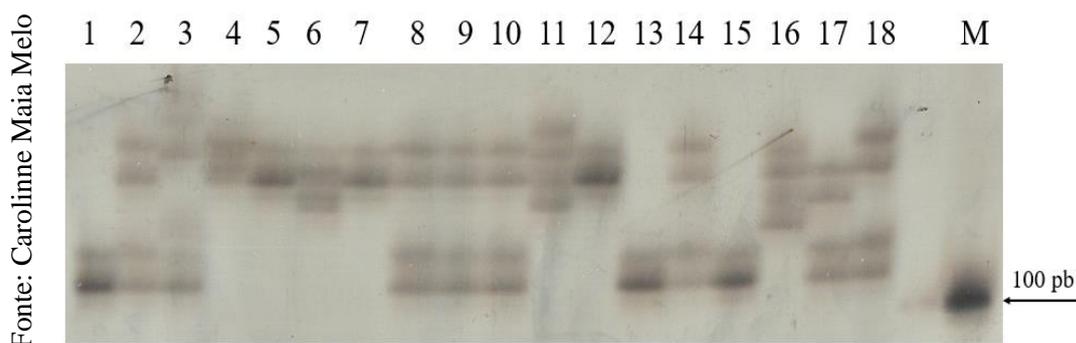


Figura 9. Perfil do loco EE45 em gel de poliacrilamida (5%). Coluna 1-18: Indivíduos da população de Benfica Feijó-Acre; Coluna M: marcador (50-pb “ladder” *Life Technologies*).

Ao todo foram observados 29 alelos, com dois a cinco alelos por loco (**Tabela 2**), com média de 3,6 alelos por loco. Resultado semelhante de 4,3 alelos por loco foi encontrado por Azêvedo (2019) em uma região de baixio, no município de Feijó (Acre, Brasil), onde o extrativismo não é intensamente explorado. A presente população estudada tem uma alta exploração, pois os moradores utilizam os frutos como fonte de renda todos os anos e para consumo próprio. Assim, a diversidade alélica, aparentemente, apresenta-se conservada mesmo com a ação extrativista.

Tabela 2. Características dos oito microssatélites avaliados em uma população de *E. precatoria* localizados em floresta de baixio no ramal Benfica, município de Feijó, Acre, Brasil. Número total de alelos (K), heterozigosidade esperada (HE), heterozigosidade observada (Ho), índice de fixação (F), conteúdo informativo do polimorfismo (PIC) e poder discriminatório (D).

Locos	K	HE	Ho	F	PIC	D
EE02	3	0,04	0,01	0,665	0,04	0,04
EE08	4	0,48	0,52	-0,032	0,48	0,63
EE32	2	0,02	0,02	-0,007	0,02	0,04
EE41	5	0,58	0,19	0,671	0,58	0,70
EE45	5	0,70	0,77	-0,111	0,69	0,55
EE52	3	0,06	0,06	-0,023	0,06	0,12
EE54	5	0,28	0,29	-0,013	0,28	0,47
EE59	2	0,50	0,50	-0,003	0,49	0,62
Média	3,6	0,33	0,29	0,120	0,33	0,40
Total	29					

As informações prévias de estruturação genética espacial, que guiaram a coleta e o distanciamento dos indivíduos, foi adequada para manter os níveis de diversidade genética Azêvedo (2019).

A heterozigosidade esperada (H_E) variou de 0,02 a 0,70 com uma média de 0,33. A heterozigosidade observada (H_O) variou de 0,01 a 0,77 com uma média de 0,29. Os valores de H_O foram menores que H_E nos locos EE2 e EE41, indicando excesso de homozigotos para estes locos, as baixas estimativas de H_E e H_O estão relacionadas ao baixo polimorfismo de locos heterólogos, o excesso de indivíduos homozigotos em uma população também poderia contribuir para o cruzamento de indivíduos aparentados, aumentando os níveis de endogamia na população. Os locos EE08, EE45 e EE59 tiveram valores médios de H_O acima ou igual a 0,50 indicando maior diversidade genética.

Os locos utilizados são heterólogos, ou seja, são locos desenvolvidos para uma espécie e foram transferidos para outra. Eles têm alto nível de conservação das sequências dos iniciadores entre espécies do mesmo gênero (KALIA et al., 2011). No gênero *Euterpe*, locos de *E. edulis*, já haviam sido transferidos com sucesso para *E. precatória* (AZÊVEDO et al., 2017). Devido à origem do marcador, a diversidade genética da população pode ter sido subestimada, refletindo nos valores de média de alelos e heterozigosidades. Locos transferidos para outras espécies acessam com menor efetividade a variabilidade genética em relação aos locos desenvolvidos para a espécie, a transferência é parcial, apesar da conservação das sequências (LIMA, 2014).

Pinheiro et al. (2017) ao estudar uma população de carnaúbas (*Copernicia prunifera*) em três diferentes estágios de desenvolvimento, encontrou uma média de H_e maior em palmeiras no estágio juvenil. A média de H_e para indivíduos em estágio reprodutivo foi semelhante ao presente estudo. Todas as palmeiras utilizadas no presente estudo se encontravam no estágio de desenvolvimento reprodutivo. Ao longo do desenvolvimento de açazeiros algumas espécies não alcançam o estágio reprodutivo, devido a diversos fatores relacionados à seleção natural. Isso sugere que a diversidade poderia ser maior com a utilização de amostras de *E. precatória* em estágio de desenvolvimento juvenil.

A perda de heterozigotos em uma população acelera a homozigosidade, fazendo que ocorra uma diferença na conectividade da estrutura genética entre as partes da população (COELHO, 2010). As matrizes de diversidade genética identificadas devem ter seus frutos preservados, a fim de que não ocorra este processo de homozigosidade da

presente população estudada. O fluxo gênico mantém os níveis de diversidade genética. A diversidade alélica em uma população pode manter ao longo dos anos, pela polinização, uma maior quantidade de indivíduos heterozigotos, evitando a endogamia, que poderia levar à erosão genética.

O valor médio do índice de fixação (F) foi positivo (0,120) como mostra a **Tabela 2**, o que indica presença de endogamia. Apesar da espécie contar com um sistema de reprodução cruzada, alguns estudos relatam que a espécie é autocompatível e tem cruzamento entre parentes em algumas populações (RAMOS et al., 2019). Outros estudos também encontraram valor de F positivo em *E. precatoria* (LIMA, 2014) e *E. edulis* (COELHO, 2010; RAMOS, 2013; MORAES et al., 2020).

A endogamia também pode ser decorrente da fragmentação florestal, visto que, ao redor do local de coleta, existe abertura para pasto, o que diminui o fluxo gênico e, por conseguinte, aumenta o cruzamento entre indivíduos geograficamente próximos e aparentados (CARVALHO, 2015). Outro fator que mantém a diversidade genética são os polinizadores da espécie. A fragmentação florestal pode causar dificuldade no tráfego desses polinizadores e dispersores.

No presente estudo, foram utilizadas somente palmeiras adultas em estágio reprodutivo. A endogamia detectada reflete eventos reprodutivos dos últimos anos, responsáveis pela formação da composição genética atual.

O PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica) variou entre 0,02 (EE32) a 0,69 (EE45) e média de 0,33 segundo a **Tabela 2**. Marcadores com valores de PIC superiores à 0,5 são considerados altamente informativos, valores entre 0,25 são razoavelmente informativos e valores abaixo de 0,25 são levemente informativos (BOTSTEIN et al., 1980). O valor médio de PIC para todos os locos (0,33) ficou razoavelmente informativa. De acordo com Weir, (1996) espera-se que o valor de PIC seja similar ao da estimativa da heterozigosidade esperada (H_E), fato verificado neste estudo, ambos são sinônimos de diversidade genética.

Média semelhante ($PIC = 0,39$) foi encontrada por Azêvedo et al. (2017) em uma população de baixio conservada e sem atividade extrativista, enquanto os açazeiros deste estudo estão situados em uma região de intensa exploração.

Estudos genéticos utilizando o PIC podem determinar a probabilidade de um dado genótipo de uma progênie, deduzir o genótipo parental para o marcador avaliado

(BOTSTEIN et al., 1980), podendo determinar a probabilidade de um pai ser heterozigoto, assim como a probabilidade que seus filhos sejam informativos, sendo uma ferramenta importante para a diversidade genética e paternidade (SOUZA, 2018).

Os resultados desse parâmetro indicam que a variabilidade genética foi acessada com marcadores informativos, apesar do menor polimorfismo devido à transferabilidade entre espécies.

O poder discriminatório variou de 0,04 a 0,70, com média de 0,40 como informado na **Tabela 2**. Os locos EE2 e EE32 apresentaram valores baixos (0,04 ambos), sendo os locos menos informativos. O resultado do poder discriminatório nos oito locos foi similar ao *PIC*.

5.3 Coleção nuclear

A coleção nuclear foi representada por 13 indivíduos (**Figura 10**). Os indivíduos selecionados (13 palmeiras) representam 100% dos alelos da população, e 18% do total (72 palmeiras) de indivíduos avaliados. Para conservar 80% da diversidade genética total, seriam necessários apenas 5 indivíduos, que representam 6,9% da amostragem. A coleção nuclear pode apresentar proporções variando de 5% a 20% das sub-amostras e 70% a 90% da diversidade (ARAÚJO et al., 2008).

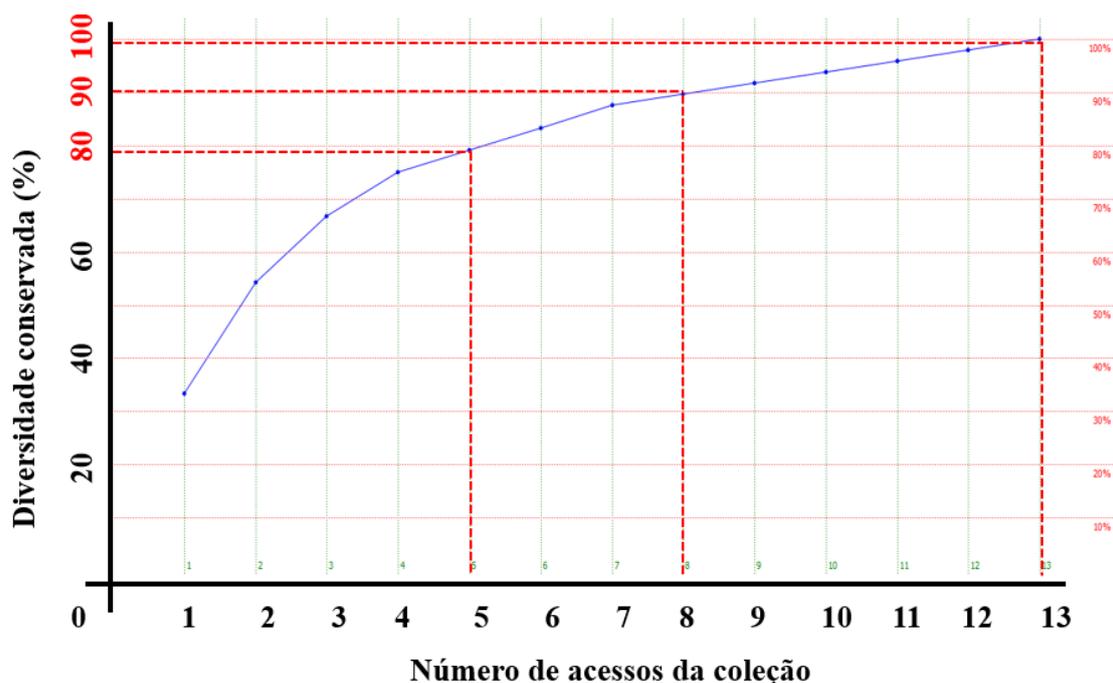


Figura 10. Diversidade conservada em relação a representatividade dos alelos de cada indivíduo incluídos na coleção nuclear.

A coleção nuclear poderá auxiliar os programas de melhoramento genético na escolha de materiais para conservação, uma vez que estes indivíduos têm a representação de todos os alelos da população Benfica/AC. A combinação entre o melhoramento genético e a conservação *in situ* é uma forma de conservar populações naturais de espécies vegetais muito exploradas, sendo realizada pela manutenção das populações na forma como se encontram na floresta, para depois iniciar um programa de plantio comercial articulado com um programa de melhoramento genético (GAIOTTO, 2001).

Os 13 indivíduos representantes da coleção nuclear apresentam-se distribuídos de maneira aleatória na floresta (**Figura 11**).



Figura 11. Localização dos 13 indivíduos que representam a coleção nuclear, distribuídos no Seringal Benfica, no município de Feijó/AC, Brasil. Os círculos amarelos representam as palmeiras com seus códigos de campos.

Os 13 indivíduos representantes de todos os alelos desta população devem ter seus frutos parcialmente coletados, ficando alguns frutos na palmeira para que ocorra dispersão no local, ou até mesmo totalmente preservados, pois esses indivíduos são matrizes de diversidade e referência como doadores de pólen para a manutenção da variabilidade. A perda desses alelos pode diminuir a variabilidade genética e, consequentemente, ocasionar uma erosão genética ao longo dos anos. Por conseguinte, poderia aumentar a quantidade de indivíduos homozigotos e a endogamia nesta população.

Esses mesmos indivíduos podem ser utilizados em programas de melhoramento genético, sendo direcionados para bancos de germoplasmas, uma vez que representam referências de diversidade. Com base em suas características agrônômicas, podem ser feitos cruzamentos, a fim de avaliar quais são os melhores genitores.

Para uma estratégia de manejo eficaz, são necessários estudos genéticos que quantifiquem a diversidade, estrutura genética espacial e endogamia nas populações. Com isto, é possível determinar as medidas necessárias para a conservação genética, informando formas de elevar ao máximo a diversidade genética nas estratégias de coleta

dos frutos e sementes para conservação e programas de melhoramento (LIMA, 2014; AZÊVEDO, 2019). A importância da conservação genética nos planos de manejo deve-se ao fato de que a capacidade adaptativa das espécies está relacionada à variação genética e à manutenção dos processos genéticos, que, uma vez respeitados, possam garantir a sustentabilidade no uso dos recursos florestais (VINSO, 2004).

O manejo florestal deve ser realizado sob uma perspectiva conservacionista, em que a dinâmica populacional, a estrutura genética das populações, bem como suas interações com as outras espécies do ambiente sejam preservadas (VINSO, 2004).

5.4 Estrutura genética

A partir da análise de *Neighbor-Joining*, verificou-se a formação de grupos (**Figura 12**). A maior distância (0,66) foi observada entre os grupos formados pelos indivíduos 6 e 33, 6 e 31 e 33 e 55. O indivíduo 6 se destacou como grupo externo, sendo um genótipo bastante divergente.

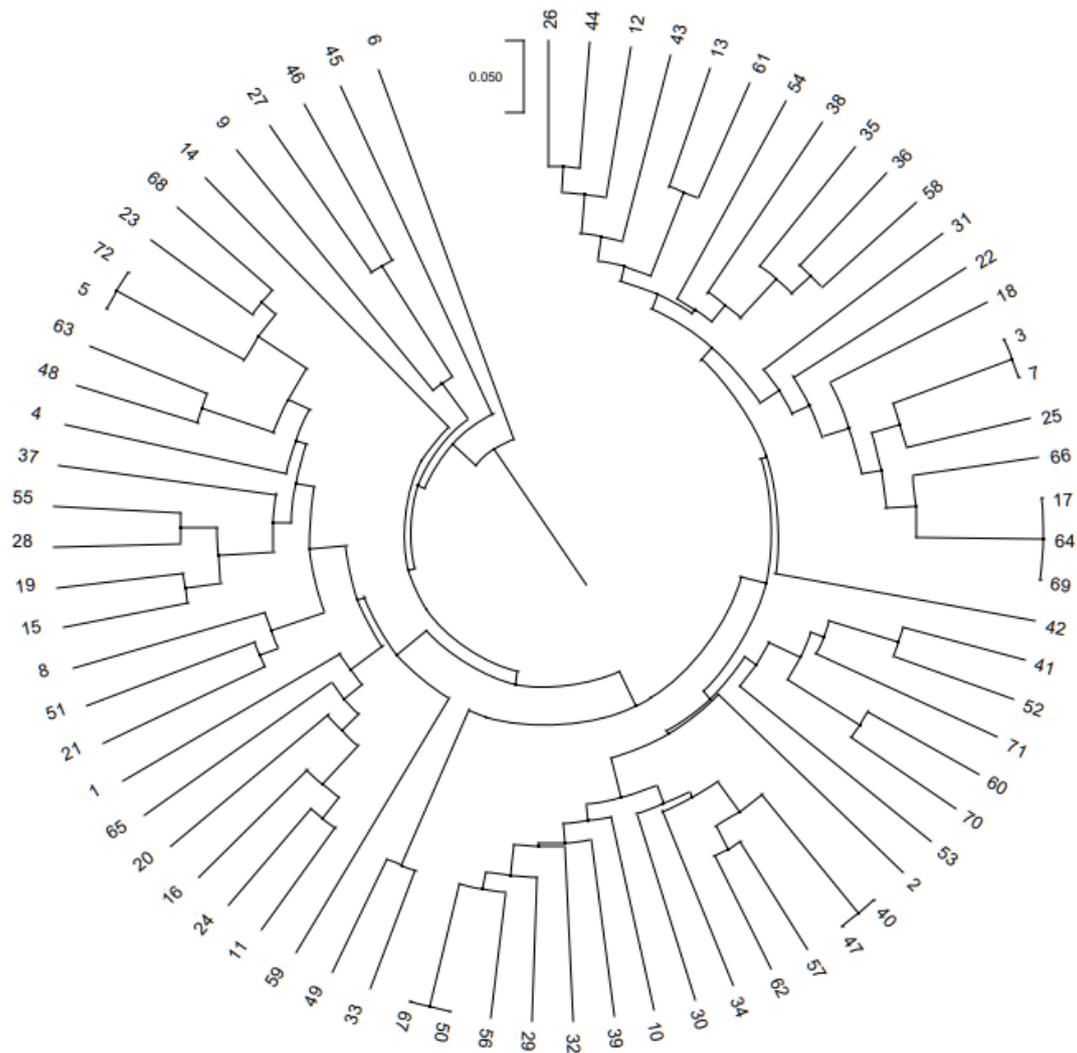


Figura 12. Árvore *Neighbor-Joining* representando a relação dos indivíduos de *E. precatoria* no seringal Benfica, município de Feijó, Acre, Brasil.

Indivíduos redundantes (5 e 72, 50 e 67, 40 e 47, 17, 64 e 69, 3 e 7) foram detectados como mostra a **Figura 13**.

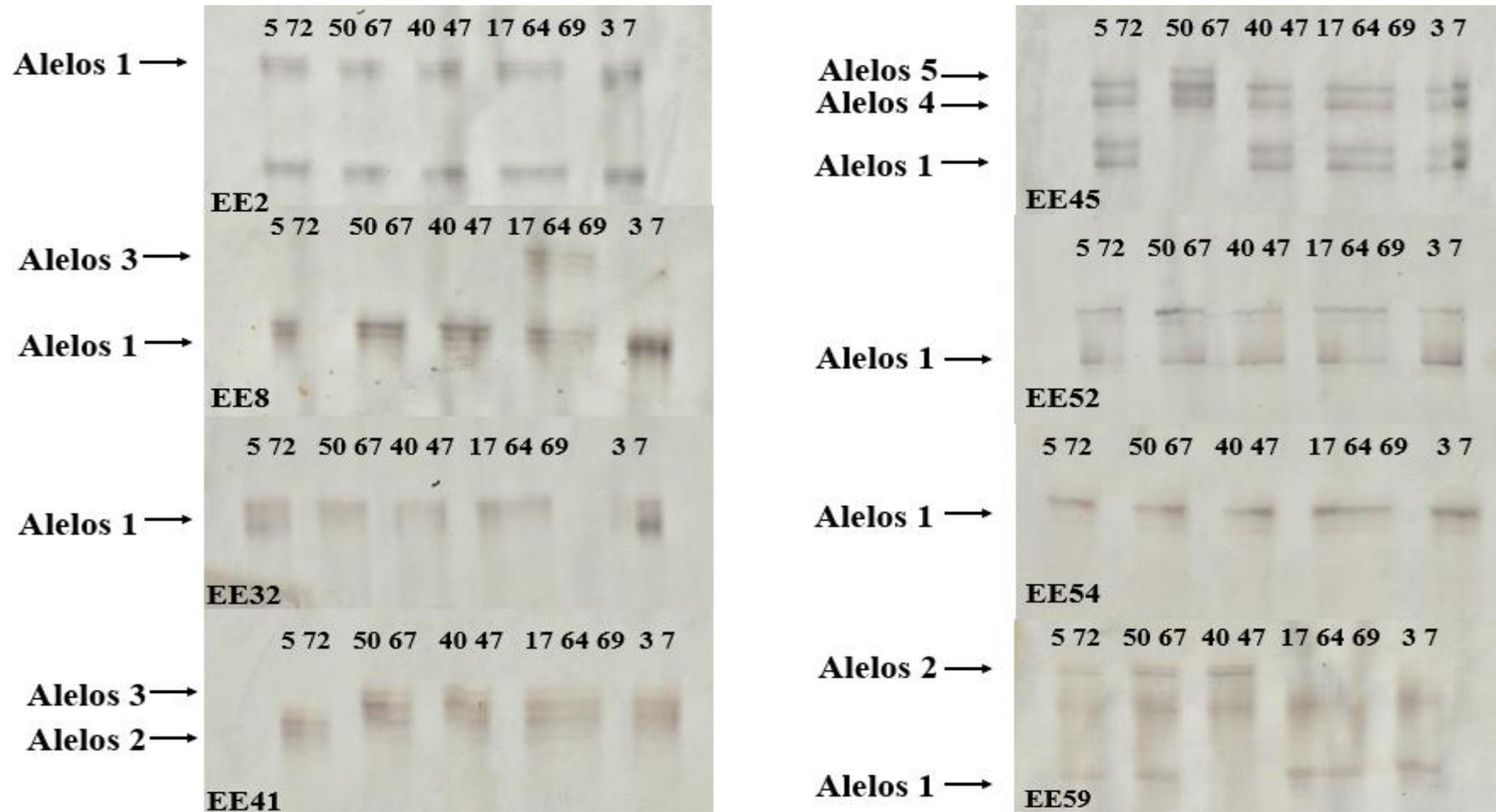


Figura 13. Perfil dos oito locos em gel de poliacrilamida 5%. Indivíduos com os mesmos alelos em todos os oito locos analisados na população de *E. precatória* em estudo. Locos: EE2, EE8, EE32, EE41, EE45, EE52, EE54 e EE59, indivíduos idênticos: 5 e 72, 50 e 67, 40 e 47, 17, 64 e 69, 3 e 7.

Não se espera a detecção de indivíduos clonais em uma população natural de espécie alogama por dispersão via sementes; entretanto alguns estudos indicam que a espécie pode ser autocompatível (LIMA, 2014; RAMOS et al., 2019), o que poderia ter refletido em indivíduos redundantes. Um outro fator que pode ter contribuído é o cruzamento de indivíduos aparentados ao longo dos anos, isto é causado devido ao baixo fluxo gênico em florestas fragmentadas, podendo ocasionar o processo de homozigose na população, diminuindo a variabilidade genética (COELHO, 2010).

Para efeito de confirmação do resultado, uma nova eletroforese foi realizada (**Figura 13**) e confirmou a primeira leitura. O uso de locos transferidos limitou o acesso à divergência genética entre indivíduos próximos. Uma maior quantidade de alelos distribuídos pelos 72 indivíduos diminuiria as chances de encontrar indivíduos redundantes. O uso de locos heterólogos pode ter influenciado esse dado, assim, por artifício dos marcadores, a diversidade molecular pode não ter sido acessada eficientemente devido a conservação dos locos baseados em transferibilidade. Outro motivo poderia ser o número de locos microssatélites utilizados. O uso de locos adicionais para esta população poderia refletir uma maior variabilidade genética para estes indivíduos que foram redundantes.

A variabilidade genética tem um importante papel para a evolução da espécie, uma vez que a seleção natural é realizada com base nas diferenças entre indivíduos de uma população, permitindo, assim, o sucesso reprodutivo dos mais adaptados ao meio ambiente. Quanto maior a variabilidade existente na população maiores são as chances de perpetuação (GAIOTTO, 2001). A reprodução entre indivíduos de baixa variabilidade genética pode acarretar depressão por endogamia, sendo essencial a implementação de estratégias de conservação *in situ*.

6. CONCLUSÕES

Face ao estudo realizado, conclui-se que oito marcadores foram polimórficos e a diversidade genética ficou reduzida devido ao uso de locos heterólogos.

Foi verificado endogamia na população, que pode ser explicada pela fragmentação florestal. 13 indivíduos representam a coleção nuclear na população de 72 indivíduos. A coleção detectada pode ser utilizada na elaboração de estratégias de manejo e conservação de *E. precatória*.

A identificação das matrizes de referência de diversidade, associada a parâmetros genéticos de estruturação genética espacial, mostrou-se promissora para orientar o manejo da espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, U. O. et al. Crescimento de açaizeiro (*Euterpe precatoria* Mart.) consorciado com bananeira. **South American**, v.5 n.3 p. 154-166, 2018.

ALVEZ, R. M. et al. Mating system in a natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum., by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 3, p. 373-279, 2003.

ARAÚJO, Michelly de Cristo. **Uma coleção nuclear de pupunha na Amazônia**. 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2008.

AZÊVEDO, H. S. F. S. et al. transferability of heterologous microsatellite loci between species of *Euterpe* genus. **Genetics and molecular research**, v. 16, n. 4, p. 17, 2017.

AZÊVEDO, H. S. F. S. et al. Uso da biologia molecular para estudos genéticos em açaizeiros na Amazônia Brasileira. In: MENEGUETTI, D. U. de O. et al. **Guia prático: Ciência, inovação e tecnologia na Amazônia**. Rio Branco, AC: Stricto Sensu, 2019a.

AZÊVEDO, Hellen Sandra Freires da Silva. **Estudo da Diversidade genética de populações naturais de açaizeiro (*Euterpe precatoria* Mart.)**. 2019. 80 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco. 2019b.

AZÊVEDO, H. S. F. S. et al. Preservation and maceration of amazon açai leaflet tissue to obtain genomic DNA. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 4, p. 1188-1197. 2019.

BOREIRA, L. S. et al. Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native açai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. **LWT- Food Science na Technology**, v. 117, 2019.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.

BUTZKE, Angelita Gude. **Produção de mudas de açaizeiro solteiro (*Euterpe precatoria* Mart.) sob diferentes doses de nitrogênio e potássio**. 2019. 79 f. Dissertação

(Programa de Pós-graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Acre. Rio Branco. 2019.

CARVALHO, Marina do Santos. **Diversidade e estrutura genética de *Euterpe edulis* Mart.** 2015. 58 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre. 2015.

COCHEV, J. S. et al. Dinâmica espaço-temporal da paisagem e estrutura populacional de *Euterpe precatoria* Mart. em fragmento florestal no município mato-grossense de Alta Floresta, Brasil. **Ciência Florestal**, v.29, n.3 p. 1398-1414, 2019.

COELHO, Gislaine Mendes. **Estrutura genética populacional em morfotipos e *Euterpe edulis*.** 2010. 65 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal de Santa Cruz. Ilhéus. 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). 2020 Açai-Análise Mensal- Agosto 2020. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>> acesso em 02 janeiro 2020.

CORREIA, Kássia Marques. **Variabilidade genética de subpopulações de *Mauritia flexuosa* L.f (Arecaceae) em veredas do Estado de Goiás.** 2014. 49 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 2014.

COSTA, C. R. X. et al. Effects of Temperature, Light and Seed Moisture Content on Germination of *Euterpe precatoria* Palm. **American Journal of Plant Sciences**, v.9, n.1, p. 98-106, 2018.

CRESTE, S. et al. Detection of Single Sequence Repeat Polymorphisms in Denaturing Polyacrylamide Sequencing Gels by Silver Staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 299-306, 2001.

DÍEZ, C. M. et al. Worldwide Core collection of Olive cultivars based on simple sequence repeat and Morphological Markers. **Crop Science**, v. 52, p. 211-221, 2012.

FERNANDES, Eneide Taumaturgo Macambira Braga. **Caracterização de polpas de açai do acre e processamento de néctar misto parcialmente desengordurado.** 2016. 88 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2016.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa Cenargen, 1998.

FORTES, A. C. R. et al. Transferibilidade de locos microssatélites desenvolvidos em outras espécies de palmeiras para *Astrocaryum vulgare* Mart. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 59, n. 1, p. 80-86, 2016.

FURLATO, F. P. B.; SOARES, A. A. V. L.; FURLATO, L. B. Parâmetros Tecnológicos, Comerciais e Nutracêuticos do Açaí (*Euterpe oleracea*). **Revista Internacional de Ciências**, v. 10, n. 01, p. 91-107, 2020.

FUTUYMA, D.J. **Biologia evolutiva**. FUNPEC-RP, 2º edição Ribeirão Preto, 630p, 2002.

GAIOTTO, Fernanda Amato. **Inferências sobre herança quantitativa e estrutura genética em populações naturais de *Euterpe edulis* Mart. Utilizando marcadores microssatélites**. 2001. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de São Paulo, Piracicaba, 2001.

GAIOTTO, F. A. et al. Microsatellite markers for heart of palm *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Palmae). **Molecular Ecology Resources**, v. 1, p. 86-88, 2001.

GALATE, R. S. et al. Caracterização morfoagronômica de germoplasma de açaizeiro no nordeste paraense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 540-550, 2012

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

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

HODEL, R. G. J. et al. The report of my death was an exaggeration: A review for researchers using microsatellites in the 21st century. **Applications in Plant Sciences**, v. 4, n. 6, 2016.

INSTITUO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2018 Maranhão ocupa terceiro lugar no ranking nacional de produção de açaí. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> acesso em: 02 janeiro 2021.

ISAZA, C. et al. Demography of *Euterpe precatoria* and *Mauritia flexuosa* in the Amazon: application of integral projection models for their harvest. **Biotropica**, v. 49, n. 5, p. 653-664, 2017.

KALIA, R. K. et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 309-334, 2011.

KANG, J. et al. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 671-677, 2012.

KUMAR, S. et al., MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d15). Programa distribuído gratuitamente pelos autores. Disponível em: [www.http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/](http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/), 2000.

LIMA, Poliana Perutti. **Caracterização da variabilidade genética, sistema de cruzamento e parâmetros de germinação e emergência de *Euterpe precatoria* Martius em populações do baixo rio Solimões**. 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2014.

LOPES, E. et al. Mapping the socio-ecology of Non Timber Forest Products (NTFP) extraction in the Brazilian Amazon: The case of açai (*Euterpe precatoria* Mart) in Acre. **Landscape and Urban Planning**, v. 188, p. 110-117, 2018.

LSPA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Açai: área plantada, área colhida, quantidade produzida e rendimento médio de produtos. Rio de Janeiro: IBGE, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/levantamento-sistematico-da-producao-agricola>> Acesso em 18 de Julho de 2021.

MACIEL, R. C. G. et al. DESENVOLVIMENTO RURAL, AGRICULTURA FAMILIAR E OS PRODUTOS FLORESTAIS NÃO MADEIREIROS: o caso do açai na região de Feijó, Estado do Acre. **Ecologia Agrícola**, v. 61, n. 1, p.5-21, 2014.

MARANGONI-JÚNIOR, L. et al. Thermal degradation kinetics of total anthocyanins in açai pulp and transient processing simulations. **Springer Nature**, v. 2, n. 523, 2020.

MARTINOT, J. F. et al. Coletar ou Cultivar: as escolhas dos produtores de açaí-da-mata (*Euterpe precatoria*) do Amazonas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55, n. 4, p. 751-766, 2017.

MILLER, M. P. Tools for population genetic analyses (TFPGA): A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Version 1.3. Northern Arizona University, 1997.

MITTON, J. B. et al. Allozyme polymorphism detected in mature needle tissue of ponderosa pine. **Journal of Heredity**, v. 70, p. 86-89, 1979.

MORAES, M. C. Diversidade genética de matrizes e progênies de *Euterpe edulis* Mart. em área manejada e em populações naturais por marcadores microssatélites. **Ciência Florestal**, v. 30, n.2, p. 583-594, 2020.

NOGUEIRA, A. K. M., SANTANA, A. C. e GARCIA, W. S. The dynamics of açaí market in Pará State from 1994 to 2009. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 324-331, 2013.

OLIVEIRA, L. C. et al. Karyotype and genome size in *Euterpe* Mart. (Arecaceae) species. **Comparative Cytogenetics**, v. 10, n.1, p. 17-25, 2016.

OLIVEIRA, M. do S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. dos. Divergência genética entre acessos de açaizeiro fundamentada em descritores morfoagronômicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 501-506, 2017.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERREIRA, A. F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasil**, v. 41, n. 7, p. 1133-1140, 2006.

OLIVEIRA, M. S. P. et al. VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE AÇAIZEIRO UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n.5, p-1253-1260, 2010.

PERRIER, X.; JACQUEMOUND-COLLET, J. P. 2006. DARwin software. Disponível em: <http://www.darwin.cirad.fr/darwin>. Acesso em: 18 de dezembro, 2020.

PETERSON, D. G.; BOEHM, K. S.; STACK S. M. Isolation of milligram quantities of nuclear DNA from tomato (*Lycopersicon esculentum*), a plant containing high levels of polyphenolic compounds. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 15, n. 2, p. 148-153, 1997.

PICKERSGILL, B. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. **Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 925-940, 2007.

PINHEIRO, L. G. et al., Anthropization as a determinant factor in the genetic structure of *Copernicia prunifera* (Arecaceae). **Genetics and Molecular Research**, v.16, n. 3, 2017.

POLICRITI, A.; SGARRO, A. CoreFinder v.1.0. 2011. Disponível em: <<http://www.Appliedgenomics.org/services/software>>. Acesso em: 14 dezembro. 2020.

RAMOS, S. L. F.; MACÊDO, J. L. V.; LOPES, M. T. G.; BATISTA, J. S.; FORMIGA, K. M.; SILVA, P. P.; SAULO-MACHADO, A. C.; VEASEY, E. A. Microsatellite loci for tucumã of amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) and amplification in other Arecaceae. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 2, p. 508-510, 2012.

RAMOS, Santiago Linorio Ferreyra. **Estrutura genética e fluxo gênico em populações naturais de tucumã-do-Amazonas por meio de microssatélites, visando manejo e conservação da espécie**. 2014. 121 f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo Escola Superior Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP, 2014.

RAMOS, S. L. F. et al. Paternity analysis, pollen flow, and spatial genetic structure of a natural population of *Euterpe precatoria* in the Brazilian Amazon. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 22, p. 11143–11157, 2018.

RAMOS, S. L. F. et al. Mating system analysis of Açai-do-Amazonas (*Euterpe precatoria* Mart.) using molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 126-130, 2019.

RAMOS, S. L. F. et al. Genetic Structure in Populations of *Euterpe precatoria* Mart. In the Brazilian Amazon. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, article 603448, 2021.

ROCHA, Elektra. **Aspectos ecológicos e sócio-econômicos do manejo de *Euterpe precatoria* Mart. (Açaí) em áreas extrativistas no Acre, Brasil**. 2002. 143f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2002.

SANTOS, J. F. et al. Variabilidade genética entre e dentro de grupos de *Euterpe spp.* com base em microssatélites. **Revista de La Facultad de Agronomía**, v. 119, n. 1, p. 1-7, 2020.

SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, n. 89, p. 14-26, 2016.

SEOANE, C. E. S. et al. EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL SOBRE A IMIGRAÇÃO DE SEMENTES E A ESTRUTURA GENÉTICA TEMPORAL DE POPULAÇÕES DE *Euterpe edulis* Mart. **Revista do Instituto Florestal**, v. 17, n.1, p.25-43, 2005.

SILVA, M. S. et al. DIVERSITY AND STRUCTURE IN NATURAL POPULATIONS OF *Genoma schottiana* Mart (ARACACEAE): IMPLICATIONS FOR CONSERVATION. **Cerne**, v. 17, n. 2, p. 195-201, 2011.

SOUZA, Clemeson Silva. **Caracterização da diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de seringueira**. 2018. 65f. Dissertação (Ciência Inovação e Tecnologia para a Amazônia) – Universidade Federal do Acre, Acre, 2018.

SOUZA, L. G. S.; SOUZA, M. R. S. Crescimento da produção de açaí e castanha-do-brasil no acre. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, v. 10, n. 3, p. 157-171, 2018.

SILVA, J. N. M. 2001. **Manejo Florestal**. Embrapa Amazônia Ocidental. 3 ed, 49p. Belém, PA.

VASCONCELOS, M. S. et al. Açaí or Brazilian Berry (*Euterpe oleracea*). **Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements**, p.131-133, 2019.

VEIGA, R. F. de A. Bancos de germoplasma. 2008. Disponível em: <<http://www.biota.org.br/pdf/v72cap04.pdf>>. Acesso em: 18 de set. 2020.

VIEIRA, M. L. C. et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

VINSON, Christina Cleo. **Isolamento de Microssatélites de Espécies Madeireiras no Contexto da Sustentabilidade Genética no Manejo Florestal**. 2004. 74f. Dissertação (Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Pará, Pará, 2004.

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

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358-1370, 1984.

YAMAGUCHI, K. K. L. et al. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Scientia Forestalis**, v. 179, p. 137-151, 2015.

YAWANAWÁ, E. L. A. et al. Ocorrência de três espécies de palmeiras oleíferas na Terra Indígena Yawanawá, Acre, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 9, n.1, p. 22-25, 2019.

YUYAMA, L. K. O. et al. Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 4, p. 545-552, 2011.