



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
CURSO DE DOUTORADO EM AGROECOLOGIA

LUIZ RENATO SANTOS RECH

**HIBRIDAÇÃO DE PALMEIRAS “BACABAS” (*Oenocarpus* spp.,
ARECACEAE) EM SISTEMAS AGROFLORESTAIS NA REGIÃO DO
PEDRAL DO LOURENÇO NO PARÁ**

São Luís – MA

2022

LUIZ RENATO SANTOS RECH

**HIBRIDAÇÃO DE PALMEIRAS “BACABAS” (*Oenocarpus* spp.,
ARECACEAE) EM SISTEMAS AGROFLORESTAIS NA REGIÃO DO
PEDRAL DO LOURENÇO NO PARÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para a obtenção do título de Doutor em Agroecologia.

Orientador (a): Prof. Dr. Guillaume Xavier Rousseau

São Luís – MA

2022

Rech, Luiz Renato Santos.

Hibridação de palmeiras “Bacabas” (*Oenocarpus* spp., Arecaceae) em sistemas agroflorestais na região do Pedral do Lourenço do Pará / Luiz Renato Santos Rech. – São Luís, 2022. 82f

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Guillaume Xavier Rousseau.

1.Híbrido. 2.Citogenética. 3.Morfologia. 4.Diversidade. 5.Fenofases.
I.Título.

CDU: 631.527.5(811.5)

Elaborado por Giselle Frazão Tavares - CRB 13/665

LUIZ RENATO SANTOS RECH

**HIBRIDAÇÃO DE PALMEIRAS “BACABAS” (*Oenocarpus* spp., ARECACEAE) EM
SISTEMAS AGROFLORESTAIS NA REGIÃO DO PEDRAL DO LOURENÇO NO
PARÁ**

Aprovada em: 27/09/2022

BANCA EXAMINADORA

NOME COMPLETO	FUNÇÃO	Assinatura
Prof. Dr. Guillaume Xavier Rousseau	Presidente	
Profa. Dra. Thais Roseli Corrêa	Membro	 DS
Profa. Dra. Letícia Moura Ramos	Membro	 LMR
Prof. Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Souza	Membro	
Prof. Dra. Andréa Hentz de Mello	Membro	 <small>ANDREA HENTZ DE MELLO:13186960894</small> <small>Assinado eletronicamente por ANDREA HENTZ DE MELLO em 27/09/2022 às 15:55:03</small>

São Luís – MA
2022

Dedico à Deus, aos meus pais e meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço as inúmeras pessoas que contribuíram na minha vida acadêmica, profissional e pessoal das quais destaco:

Primeiramente, agradeço a toda minha família em especial, minha esposa e minha filha, que se fizeram presente durante esta minha jornada. Agradeço também à minha mãe, meu irmão, meus tios, tias e primos por me darem força, amor e companheirismo.

Aos meus amigos de infância, pelas brincadeiras e alegrias com um agradecimento especial ao meu amigo de longa data Fabiano Gamis.

Aos meus companheiros da UFV pelo apoio diário e pelo incentivo, na qual se mostraram serem pessoas maravilhosas que acrescentaram muito em minha história.

Ao Prof. Marcus Gama que considero um bom amigo, por sempre me apoiar.

Ao Dr. Rodrigo Ribeiro uma pessoa amiga e que possui um grande coração.

À Yeniffer uma amiga e brilhante pesquisadora que acabou por se tornar fundamental para a minha tese.

Ao Prof. Luiz Gustavo em nome de todos do Laboratório de Evolução Vegetal da UFPE por todo apoio e aprendizado que recebi.

À Prof^a. Letícia que tive o prazer de tê-la como colega de Doutorado sempre me dando seu apoio nas horas mais precisas.

À Prof^a. Thaís que sempre confiou no meu trabalho e sempre me incentivou.

Por fim, ao meu orientador Prof. Guillaume por toda paciência e compreensão.

O meu muito obrigado a todos!

"Uma andorinha só não faz primavera"

Aristóteles, 384-322 a.C.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figura 1** – Palmeiras Bacabas..... 19
- Figura 2** – Barreiras reprodutivas. Formação de híbridos depende da falha sequencial de todas barreiras reprodutivas iniciais..... 24

CAPÍTULO II

- Figura 1** – Localização do sistema agroflorestral. A seta vermelha dentro do Retângulo vermelho na figura indica a localização do sistema Agroflorestral..... 43
- Figura 2** – Duas espécies e um híbrido com características intermediárias de palmeiras do gênero *Oenocarpus*. A- *Oenocarpus distichus* Mart; (progenitor masculino) B- *Oenocarpus x (híbrido interespecífico)* C- *Oenocarpus mapora* H.Karst; (progenitor feminino) 43
- Figura 3** – Localização dos acessos de Bacaba no SAF..... 44
- Figura 4** – Descritores morfológicos mensurados. A- Coleta Ráquila; B- Ráquila; C- Mensuração Ráquila 45
- Figura 5** – Descritores morfológicos. A- Altura primeiro cacho (m); B- número cachos planta/ano (n); C- circunferência do estipe ao nível solo (cm) 45
- Figura 6** – emissão de bráctea (BRA), inflorescência em floração (IF), cacho com frutos imaturos (CFI) e cacho seco (CS) 47
- Figura 7** – Acompanhamento fotográfico das fenofases da palmeira Bacaba *Oenocarpus x* em três ciclos produtivos..... 49
- Figura 8** – Frutos imaturos do híbrido *Oenocarpus x*. A- Formação de frutinhos; B- frutinhos abortados; C- frutinhos sem formação de embrião..... 50
- Figura 9** – Estatística descritiva para 16 descritores morfológicos avaliados em *Oenocarpus mapora*; *Oenocarpus distichus* e *Oenocarpus x*..... 51

CAPÍTULO III

- Fig. 1** – Mitotic chromosomes of *Oenocarpus mapora* 'white stern' (a), *O. mapora* 'purple stern' (b), *O. bacaba* (c), *O. distichus* (d), and *O. distichus x mapora* (e). In metaphase chromosomes, CMA bands (yellow) counterstain in blue with DAPI are observed. Scale bars = 10 μ m..... 68
- Fig. 2** – Mitotic chromosomes of *Oenocarpus mapora* 'white stern' (a), *O. mapora* 'purple stern' (b), *O. distichus* (c), and *O. bacaba* (d). In metaphase chromosomes, physical mapping of the number and distribution of 5S (red) and 35S (green) rDNA loci are observed. Arrowheads in

Figure (d) indicate the pair of chromosomes with the rDNA 35s, shown as inserts in the lower right part of the figure. Fluorescence with DAPI counterstain in blue. Scale bars = 10 μm . 69

Fig. 3 – Representative karyogram of *Oenocarpus* chromosomes arranged from largest to smallest (gray line indicates centromere position). Signals in yellow, red, green and blue represent CMA bands, 5S and 35 rDNA and telomeric sequences, respectively. Scale bars = 5 μm 69

Fig. 4 – Estimation of the absolute amount of nuclear DNA (genome size) in *Oenocarpus* species. The histogram of relative DNA content was obtained after flow cytometry analysis of propidium iodide-stained nuclei. *Solanum lycopersicum* (1C = 0.98 pg) and *Hordeum vulgare* (1C = 5.56 pg) served as internal reference standards. The cytometer gain was adjusted so that the G1 peak of the internal references was located in channel 200. The relative positions of the G1 peaks of the bacabas palms are in red and the internal standard in black 70

Fig. 5 – Ancestral chromosome number estimates of Arecaceae family. The model averaged MAP estimate of ancestral chromosome numbers is shown at each branch node. The size of each circle is proportional to the chromosome number and the color represents the posterior probability. The MAP root chromosome number is 17 with a posterior probability of 0.76. 72

Fig. 6 – Comparative idiograms of *Oenocarpus* species chromosomes arranged from largest to smallest. Signals in yellow, red, green and blue represent CMA bands, 5S and 35 rDNA and telomeric sequences, respectively. Ancestral chromosome number reconstruction with ChromEvol along the Arecaceae phylogeny. n=haploid chromosome number, 2n= diploid chromosome number, 1C=monoploid genome size 73

Fig. 7 – Comparative idiogram of the chromosomes of the two cultivars of *Oenocarpus mapora* arranged from largest to smallest. Yellow, red, green and blue signals represent bands of CMA, DNAr 5S and 35 and telomeric sequences, respectively 75

Fig. 8 – Ancestral chromosome number reconstruction with ChromEvol along the Arecaceae phylogeny 76

Fig. 9 – Ancestral chromosome number reconstruction with PastML along the Arecaceae phylogeny shown in the maximum likelihood JOINT+F81 prediction methods. Bottom graphs show the PastML compressed node's view for each ancestral character reconstruction. The size of the ball indicates the frequency of the chromosome number in the reconstruction. The red arrow indicates the phylogenetic position of the genus *Oenocarpus* 77

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Fenofases <i>Oenocarpus x</i> nos anos 2019, 2020 e 2021	48
Tabela 2 – Cronograma das fenofases	48
Tabela 3 – Matriz do quadrado distância Euclidiana Média	52
Tabela 4 – Resumo das estimativas das distâncias genéticas com base no quadrado distância euclidiana média padronizada entre 03 acessos de Bacaba para dezesseis caracteres morfológicos.....	52
Tabela 5 – Estimativas da contribuição relativa (S.j) e da porcentagem dos dezesseis caracteres morfológicos para a divergência fenotípica entre os 09 acessos	53

CAPÍTULO III

Table 1 – Chromosomal number ($2n$), number of rDNA sites, CMA/DAPI staining and mean genome size with standard deviation of palm trees of the genus <i>Oenocarpus</i> . P=proximal. T=terminal.....	67
---	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 As Palmeiras Bacabas.....	18
2.2 Agrobiodiversidade nos Sistemas Agroflorestais.....	21
2.3 Filogenética e Reprodução	23
2.4 Hibridação e Especiação.....	24
2.5 Citogenética	26
2.6 Tamanho Genoma.....	27
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO II	36
1 INTRODUÇÃO	40
2 MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1 Local de Pesquisa	42
2.2 Acessos de palmeiras Bacabas	43
2.3 Descritores Morfológicos	44
2.4 Análises Estatísticas	45
2.5 Acompanhamento da viabilidade reprodutiva <i>Oenocarpus x</i>	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
3.1 Avaliação da viabilidade reprodutiva do híbrido <i>Oenocarpus x</i>	47
3.2 Estatística descritiva para 16 descritores morfológicos.....	50
3.3 Matriz do quadrado distância Euclidiana Média	52
4 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO III	59
1 – Introduction	62
2 – Materials and methods	64
3 – Results	66
4 – Discussion	73
REFERENCES	78

RESUMO

O potencial econômico das palmeiras do gênero *Oenocarpus* e a busca pelo processo de domesticação das mesmas, justifica-se o interesse em compreender o fenômeno de hibridação por ser de grande interesse evolutivo, assim como definir a origem e a composição genética dos híbridos e sua viabilidade, além de verificar quais são as barreiras reprodutivas entre o híbrido e seus parentais. Esta tese tem como objetivo testar a hipótese de origem híbrida de *Oenocarpus* *x*, avaliando seu posicionamento filogenético, além de suas relações com as espécies consideradas putativos parentais (*Oenocarpus mapora* X *Oenocarpus distichus*). Ademais, investigar aspectos citogenéticos, tamanho genômico, comportamento reprodutivo e descritores morfológicos das espécies, confrontando com a hipótese de especiação. Foram selecionados para pesquisa 9 acessos do gênero *Oenocarpus*, ambos com 12 anos de idade e conduzidos em sistemas agroflorestais, sendo 04 pertencentes à espécie *Oenocarpus mapora*, 04 pertencentes à espécie *Oenocarpus distichus* e 01 híbrido interespecífico *Oenocarpus x*. Os 16 descritores morfológicos considerados na análise de diversidade fenotípica dos referidos acessos seguiram a metodologia usada na coleta de dados adaptada de Oliveira et al., (2007). Nas análises estatísticas, utilizou-se os recursos computacionais do Programa Excel, onde os dados foram tabulados, e do Programa Genes, onde os dados foram analisados. Para avaliar a viabilidade reprodutiva, é através do acompanhamento dos eventos fenológicos que é baseada na caracterização das fenofases e na intensidade das mesmas. As fenofases mais frequentes foram a emissão de brácteas, inflorescências em floração e cachos com frutos imaturos. O pico da floração ocorreu de maio a novembro coincidindo com o período de menor precipitação na região e o da frutificação aconteceu praticamente todos os meses do ano. Durante os 03 ciclos produtivos a palmeira híbrida não apresentou cachos com frutos maduros apenas formação de frutinhos que sofrem abortamento antes do estágio fenológico final. O híbrido interespecífico *Oenocarpus x* conseguiu superar a primeira e segunda barreira reprodutiva, respectivamente a de polinização e a pre-zigótica. Os descritores que apresentaram maior coeficiente de variação foi o número de folhas com 20,41% e o número de folíolos. A distância genética com base no quadrado distância Euclidiana Média dos caracteres avaliados das palmeiras Bacabas, variou de 24,92 a 42,81. Com relação às variâncias relativas e acumuladas dos caracteres pela análise de componentes principais, constatou-se que 97,8% da variação foi explicada pelos caracteres x15 (comprimentos da ráquila (cm)), com 36,38% da variação, seguido por x10 (comprimento de cinco internós (cm)), x11 (altura primeiro cacho), x13 (comprimento do raques do cacho

(cm)), x14 (número de ráquias por cacho (n)) com 17.8%, 15.40%, 14.10% e 14.20% respectivamente do percentual de divergência. Conclui-se que *Oenocarpus x* possui características morfológicas intermediárias entre as palmeiras da espécie *O. mapora* e *O. distichus*, o que reforça a ocorrência de hibridação interespecífica. Pode-se concluir também que, apesar da não maturação dos frutos de *Oenocarpus x*, a mesma mostra grande potencial produtivo, pois apresenta menor porte, característica desejada para colheita, maior comprimento de ráquila, que confere uma maior capacidade de produção de frutos e maior número de inflorescências por ano.

Palavras-chave: Híbrido; Citogenética; Morfologia; Diversidade; Fenofases.

ABSTRACT

The economic potential of palm trees of the genus *Oenocarpus* and the search for the process of domestication of the same, justifies the interest in understanding the hybridization phenomenon for being of great evolutionary interest, as well as defining the origin and genetic composition of the hybrids and their viability. , in addition to verifying the reproductive barriers between the hybrid and its parents. This thesis aims to test the hypothesis of a hybrid origin of *Oenocarpus x*, evaluating its phylogenetic position, in addition to its relationships with the species considered putative parental (*Oenocarpus mapora* X *Oenocarpus distichus*). Furthermore, to investigate cytogenetic aspects, genomic size, reproductive behavior and morphological descriptors of the species, confronting the speciation hypothesis. Nine accessions of the genus *Oenocarpus* were selected for research, both with 12 years of age and conducted in agroforestry systems, 04 belonging to the species *Oenocarpus mapora*, 04 belonging to the species *Oenocarpus distichus* and 01 interspecific hybrid *Oenocarpus x*. The 16 morphological descriptors considered in the analysis of phenotypic diversity of the aforementioned accessions followed the methodology used in data collection adapted from Oliveira et al., (2007). In the statistical analyses, the computational resources of the Excel Program were used, where the data were tabulated, and the Genes Program, where the data were analyzed. To assess reproductive viability, it is through the monitoring of phenological events that is based on the characterization of phenophases and their intensity. The most frequent phenophases were the emission of bracts, flowering inflorescences and bunches with immature fruits. The flowering peak occurred from May to November, coinciding with the period of lowest rainfall in the region, and fruiting occurred practically every month of the year. During the 03 production cycles, the hybrid palm did not present bunches with ripe fruits, only the formation of frutillos that undergo abortion before the final phenological stage. The interspecific hybrid *Oenocarpus x* managed to overcome the first and second reproductive barriers, pollination and pre-zygotic, respectively. The descriptors that presented the highest coefficient of variation were the number of leaves with 20.41% and the number of leaflets. The genetic distance based on the square Euclidean distance of the evaluated characters of Bacabas palms ranged from 24.92 to 42.81. Regarding the relative and accumulated variances of the characters by the analysis of principal components, it was found that 97.8% of the variation was explained by the characters x15 (length of the rachilla (cm)), with 36.38% of the variation, followed by x10 (length of five internodes (cm)), x11 (height of the first bunch), x13 (length of

the rachis of the bunch (cm)), x14 (number of rachillas per bunch (n)) with 17.8%, 15.40%, 14.10% and 14.20% respectively of the percentage of divergence. It is concluded that *Oenocarpus x* has morphological characteristics that are intermediate between the palms of the species *O. mapora* and *O. distichus*, which reinforces the occurrence of interspecific hybridization. It can also be concluded that, despite the non-maturation of the fruits of *Oenocarpus x*, it shows great productive potential, as it has a smaller size, a desired characteristic for harvesting, a greater length of the rachilla, which confers a greater capacity for fruit production and greater number of inflorescences per year.

Keywords: Hybrid; Cytogenetics; Morphology; Diversity; Phenophases.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL DA PESQUISA E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

A parcela da Amazônia oriental, localizado no Pará, protege grande parte da Floresta Amazônica hospedando diversas espécies da fauna e flora brasileira, dentre elas, as palmeiras pertencentes a família *Arecaceae*, que são de grande importância para a vida de moradores locais que se beneficiam das riquezas materiais que estas plantas podem oferecer, como os possíveis alimentos, medicações e matéria-prima oriundos delas, e é dentre estes vários produtos que alguns são produzidos com o mínimo de compostos processados pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas, substituindo alguns produtos tradicionais como por exemplo o óleo de soja. Ainda que a família *Arecaceae* possua diversas ramificações produtivas com uma significativa capacidade de rendimento para o setor econômico, apenas um pequeno número dessas espécies é desbravado (RODRIGUES; MACEDO; GOMES, 2021).

O gênero *Oenocarpus* é um exemplo de grupo de palmeiras com vários potenciais, composto por seis espécies diferentes nativas e não endêmicas do Brasil, conhecidas popularmente como palmeiras bacabas com grande relevância socioeconômica em algumas regiões do Estado do Pará, como por exemplo na Área de Proteção Ambiental (APA) no Lago de Tucuruí (OLIVEIRA; RIOS, 2014). Corroborando com um levantamento etnobotânico, Vasconcelos; Araújo; Lopes (2015) constataram que as palmeiras bacabas têm grande importância para as comunidades localizadas na APA, sendo catalogados 28 tipos de uso pelos caboclos e ribeirinhos indicando que essas plantas são um recurso essencial para subsistência das famílias que habitam essa região.

A APA Lago de Tucuruí se inicia na região conhecida como Pedral do Lourenço, que foi considerada como área inundável no projeto de construção da barragem da hidroelétrica de Tucuruí com perda de toda sua biodiversidade vegetal, todavia, um grande cânion submerso do Rio Tocantins naquela região evitou que o nível do lago formado inundasse toda a área, porém, a formação do lago a montante da região criou uma barreira geográfica e reduziu o fluxo gênico das espécies ali existentes (GONÇALVES; CRUZ; SERRA, 2019).

Nesta região as espécies de palmeiras mais comuns do gênero *Oenocarpus* são: *Oenocarpus distichus* Mart., *Oenocarpus mapora* H. Karst., *Oenocarpus bacaba* Mart. ambas consideradas como semi-domesticadas ou não domesticadas, com raros plantios comerciais conhecidos (OLIVEIRA et al., 2022). A domesticação das palmeiras consiste no processo de seleção de plantas com características desejadas superiores, por meio de cruzamentos de indivíduos, utilizando a variabilidade fenotípica para garantir a propagação de indivíduos com

maior divergência e a formação de novas populações, que sejam desejáveis ao seu cultivo (OLIVEIRA; FARIAS-NETO, 2004).

Conforme Silva (2009) relata, há poucas informações sobre os recursos genéticos das palmeiras do gênero *Oenocarpus* e suas aplicações agrônomicas em Sistemas Agroflorestais (SAFs), no entanto, Santos et al. (2012) descrevem uma experiência com conservação, cultivo e manejo das palmeiras bacabas na forma de SAFs sendo as espécies mais abundantes na Agrofloresta Cachoeiras do Pedral do Lourenço onde se encontram diversos subsistemas de enriquecimento de capoeira com espécies nativas e exóticas. É nesta Agrofloresta que aconteceu o fenômeno de hibridação das palmeiras bacabas onde foi encontrada uma palmeira do gênero *Oenocarpus* com morfologia intermediária em relação a duas espécies estabelecidas, o que levou à suspeita de especiação.

Apesar do processo de hibridação ocorrer em grande parte das especiações, o fenômeno ocorrido no SAF aconteceu em uma região onde predominam casos de especiação alopátrica, pois há uma barreira geográfica separando as espécies, contudo mesmo que a região do SAF encontra-se cercada pelo Lago de Tucuruí a montante, a literatura demonstra que cerca de 30 há 70% das plantas com flores experimentaram hibridação em algum momento de suas histórias evolutivas (ABBOTT et al., 2013; SOLTIS; SOLTIS, 2009).

Em virtude do grande potencial econômico das palmeiras do gênero *Oenocarpus* e a busca pelo processo de domesticação das mesmas, justifica-se o interesse em compreender o fenômeno ocorrido por ser de um grande interesse evolutivo definir a origem e composição genética dos híbridos e sua viabilidade, além de verificar quais são as barreiras reprodutivas entre o híbrido e seus parentais.

Diante do exposto, esta tese tem como objetivo geral testar a hipótese de origem híbrida de *Oenocarpus x*, avaliando seu posicionamento filogenético, além de suas relações com as espécies consideradas putativos parentais (*Oenocarpus mapora* X *Oenocarpus distichus*). Além disso, investigar aspectos citogenéticos, tamanho genômico, comportamento reprodutivo e descritores morfológicos das espécies, confrontando com a hipótese de especiação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 As Palmeiras Bacabas

Segundo dados de Lorenzi; Souza (2012), em todo mundo são conhecidas cerca de 2,4 mil espécies e 205 gêneros de palmeiras, e no território brasileiro são 250 espécies distribuídas em 40 gêneros sendo que destes, 34 gêneros com aproximadamente 150 espécies ocorrem na Amazônia brasileira. De acordo com Oliveira; Oliveira (2015), os táxons *Euterpe*, *Bactris*, *Astrocaryum* e *Oenocarpus* possuem 20 espécies com potencial econômico e necessitam de pesquisa para sua exploração.

Oenocarpus apresenta dez espécies e uma variedade: *Oenocarpus bacaba* Mart., *Oenocarpus balickii* F. Kahn, *Oenocarpus bataua* Mart., *Oenocarpus bataua* Mart. var. *bataua*, *Oenocarpus distichus* Mart., *Oenocarpus mapora* H. Karst., *Oenocarpus minor* Mart., *Oenocarpus simplex* R. Bernal et al., *Oenocarpus altissima* Klotzsch, *Oenocarpus circuntextus* Mart. e *Oenocarpus makeru* R. Bernal et al. As seis primeiras são nativas do Brasil, mas não endêmicas. *Oenocarpus* é o segundo gênero mais diversificado, em número de espécies, dentro da tribo Euterpeae (RODRIGUES; MACEDO; GOMES, 2021, p. 7).

As palmeiras do gênero *Oenocarpus* são arbóreas, perenes, monoicas (plantas com flores masculinas e femininas) e alógamas (reprodução cruzada), e apresentam características morfológicas marcantes como o porte alto (variando de 6 m a 20 m), o estipe reto e alongado e as folhas compostas do tipo pinada, que se encontram distribuídas paralelamente no ápice do estipe. A inflorescência é interfoliar do tipo cacho e protegida por duas brácteas decíduas de tamanho e formato distintos. As flores são unissexuais dispostas em tríades, flores femininas ladeadas por flores masculinas (BALICK, 1986; VILLACHICA et al., 1996). A floração dessas plantas tem como características marcantes a termogênese com abertura floral nas horas de menor temperatura do dia e protandria com amadurecimento primeiro das flores masculinas (KÜCHMEISTER et al., 1998).

Figura 1 – Palmeiras Bacabas.



Fonte: Arquivo pessoal.

A maturação da inflorescência se divide em três fases, sendo a primeira o amadurecimento das flores masculinas durando em torno de duas semanas, a segunda fase onde há um repouso sem flores masculinas e nem femininas ativas durando em torno de sete dias, e a terceira fase onde há o amadurecimento das flores femininas com duração de sete dias (KALUME, 2000).

As palmeiras bacabas são anemófilas e entomófilas possuindo afinidade com insetos da ordem dos coleópteros, hemípteros e dípteros, os insetos são atraídos pelo odor das flores, que se intensifica com a termogênese, e nas quais encontram alimento e abrigo (OLIVEIRA, 2012).

As palmeiras do gênero *Oenocarpus* possui frutos com características semelhantes com formatos variando do oblongo ao elipsóide, com variação para tamanho, peso, cor e composição centesimal conforme as características ecológicas do local (ALCÂNTARA, 2014). Segundo Barros et al. (2021), não há legislação que estabeleça os parâmetros analíticos de identidade e qualidade para polpa de frutos de qualquer espécie do gênero *Oenocarpus*, e também há um diminuto número de artigos disponíveis na literatura, referentes à composição físico-química dos frutos e da polpa de espécies de bacaba.

Segundo Lorenzi et al. (1996), os testes de germinação das sementes das palmeiras bacabas apresentaram resultados desuniformes e com baixa longevidade no armazenamento. Na natureza a dispersão das sementes dessas plantas é realizada preferencialmente por animais que se alimentam de seus frutos, principalmente pássaros frugívoros, mamíferos e roedores (CYMERYS et al., 2005).

O início do período reprodutivo das palmeiras bacabas varia conforme a espécie, sendo as espécies cespitosas mais precoces e as monocaules mais tardias, essas características reprodutivas podem ser aproveitadas pelos melhoristas para obter plantas mais precoces e produtivas (OLIVEIRA, 2012).

O potencial econômico das palmeiras bacabas está nos frutos que além das qualidades nutricionais destacadas, possui em sua polpa extraída do endocarpo dos frutos uma grande quantidade de óleo comestível com características físico-químicas e propriedades sensoriais semelhantes às do azeite de oliva (GUIMARÃES, 2013). Os frutos destas plantas também possuem uma capacidade antioxidante (presença de fenóis, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, xantonas, leucoantocianidinas, saponinas e triterpenos pentacíclicos) e alto conteúdo de bioativos funcionais, que atuam na prevenção de doenças cardiovasculares, aliado com elevada estabilidade térmica e oxidativa, com potencial de aplicação em diversos segmentos da indústria alimentar e farmacêutica (FILHO; FILHO, 2020;

SANTOS et al., 2021). Há relatos ainda de que seus frutos sejam potencialmente quimiopreventivos, por exercerem inibição da proliferação celular por meio da indução do apoptose e até classificados como superalimento, por ser fonte promissora de antioxidantes naturais com relevância biológica na adipogênese (COSTA et al., 2017; FINCO et al., 2016; LAUVAI et al., 2017).

Mesmo com esses grandes benefícios, a produção de frutos de bacaba ainda é local, sendo abastecida exclusivamente pelo extrativismo. O estado do Pará é o maior produtor e consumidor da polpa de bacaba e de seus derivados. Segundo a última estimativa publicada pelo IBGE em 2017 a produção nacional de frutos de bacaba alcançou 3.729 toneladas, sendo o Pará responsável por 1.469 toneladas, o que representa 39,4% da produção, com valores crescentes ano após ano. Dados recentes dão conta de que na safra, a lata com 14 kg de frutos foi comercializada por até R\$30,00 reais e o litro da polpa processada por R\$15,00, gerando renda para economia local, que pode ser expandida pela agregação de valor aos subprodutos da polpa (GUIMARÃES et al., 2020; HOMMA, 2014).

Estudos genéticos e agronômicos que possam auxiliar na domesticação da espécie para viabilizar o plantio comercial são escassos. A quantificação da variabilidade cromossômica através da citogenética molecular, divergência fenotípica por meio de caracteres morfológicos e quantificação do tamanho genômico são informações úteis para conservação e manejo, bem como devem subsidiar o processo de seleção das palmeiras (GOMES JR. et al., 2014). Tais estudos têm sido realizados em diversas palmeiras que apresentam interesse comercial, a exemplo do buriti (BISPO; DARDENGO; ROSSI, 2020), da macaúba (REIS et al., 2017), do babaçu (SANTOS et al., 2011) e do açazeiro (OLIVEIRA; FERREIRA; SANTOS, 2007). Porém, são escassos os trabalhos para as palmeiras bacabas (IVANI, 2010).

2.2 Agrobiodiversidade nos Sistemas Agroflorestais

A modernização da agricultura, levou a uma dependência de insumos externos e utilização de variedades comerciais de plantas, resultando, em muitas regiões do Brasil, no abandono de variedades regionais, locais ou nativas. Contudo, estas variedades são de grande importância para os agroecossistemas locais onde estão presentes, tanto pela sua elevada adaptabilidade como pelo valor cultural intrínseco entre as comunidades tradicionais que as cultivam (ANDRADE; COMIN; MILLER, 2007).

Os sistemas agroflorestais (SAFs) incluem uma série de opções de cultivo simultâneo ou sequencial de culturas agrícolas, espécies florestais e criação animal como alternativa de uso

da terra, principalmente em regiões tropicais, por apresentarem capacidade de aumentar o nível de sustentabilidade do agroecossistema, quanto aos aspectos agronômicos, sociais, econômicos e ecológicos. São uma das alternativas para conservação de recursos genéticos de espécies vegetais contribuindo com a agrobiodiversidade (MARIANTE; SAMPAIO; INGLIS, 2009).

A agrobiodiversidade é a parcela da biodiversidade constituída por um conjunto de organismos e ecossistemas que apresentam fortes relações com os seres humanos, podendo ser domesticados, semi-domesticados, cultivados ou manejados pelo homem. Segundo a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) a agrobiodiversidade representa uma gama praticamente inesgotável de combinações entre seus quatro níveis de complexidade: diversidade dentro de espécies, diversidade entre espécies, diversidade entre ecossistemas e diversidade etnocultural (KAGEYAMA et al., 2006).

A redução da diversidade genética provocada pela simplificação dos agroecossistemas e a consequente redução da capacidade de resposta aos efeitos adversos do ambiente é contraposta pela conservação *ex situ*, em bancos de germoplasma, e principalmente pelo uso sustentável e pela conservação *in situ* ou *on farm*, realizada principalmente pela agricultura familiar (HOLUBEK; VYMYSLICKÝ; PAPERSTEIN, 2010).

Essas variedades conservadas localmente são consideradas reservatórios naturais de genes com potencial de uso para o melhoramento genético. Sua caracterização para os principais caracteres de importância agronômica é de suma importância para subsidiar a tomada de decisão, auxiliando na definição de combinações entre indivíduos geneticamente distintos e fenotipicamente superiores, aumentando assim as chances de se obter híbridos superiores nas progênes-alvo de seleção (VALE et al., 2014).

Segundo Cleveland; Soleri (2002) a produção de híbridos interespecíficos a partir das próprias espécies nativas também se constitui em uma forma de Melhoramento. Os agricultores vêm ao longo do tempo melhorando suas plantas de forma empírica e usando técnicas de seleção massal. A produção de híbridos é uma técnica de melhoramento que permite a manutenção da variabilidade genética das espécies, aliada ao efeito da heterose que, de acordo com Borem; Miranda (2013) se define como o incremento de vigor de uma planta oriunda de um cruzamento, de tal modo que se diferencie da média dos pais. Pode ser observada em vários caracteres como altura da planta, produtividade, até outras menos evidentes, como tamanho de células, vigor, competitividade.

Como as plantas nativas apresentam alta diversidade genética, do cruzamento entre duas espécies distintas, resulta um híbrido interespecífico que apresentam heterose ou vigor híbrido, o que possibilita um maior rendimento, comparativamente aos progenitores envolvidos nos cruzamentos (LECLERC; D'EECKENBRUGGE, 2012). O efeito contrário a heterose seria a endogamia que é definida por Araújo; Paterniani (1999) como todo sistema de acasalamento que promove o aumento de homozigose nas descendências, como por exemplo, o cruzamento entre parentes.

2.3 Filogenética e Reprodução

Filogenia é a história evolutiva de uma espécie ou de um grupo de espécies. Essa história é inferida por meio da análise de características citogenéticas, moleculares e morfológicas e nos permite compreender de maneira mais clara as relações evolutivas estabelecidas entre diferentes espécies (AMORIN, 2002).

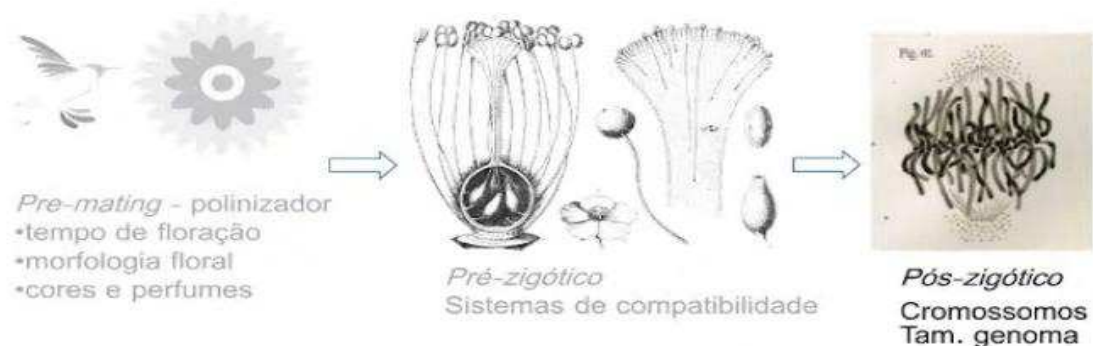
Ao identificar indivíduos com morfologia intermediária em relação a espécies estabelecidas, leva-se a suspeita de processo de hibridação interespecífica, porém a confirmação do processo de hibridação, não pode ser fundamentado apenas em caracterização morfológica devido a ampla plasticidade fenotípica relacionada a fatores ambientais (HARDING; MILLAM, 2000). Complementarmente a caracterização morfológica temos as análises moleculares que demonstram maior confiança na identificação da origem híbrida da espécie (FOGELQVIST et al., 2015). Determinadas técnicas moleculares permitem avaliar os progenitores dos indivíduos híbridos (DEACON et al., 2017).

Segundo Hersch-Green; Allan; Whitham (2014), a maneira como a herança do DNA é transmitida para progênie híbrida pode ser utilizada para reconstruir filogenias. O DNA advindo do núcleo celular possui herança do progenitor masculino e feminino e o DNA advindo dos plastos como por exemplo os cloroplastos responsáveis pela fotossíntese, têm herança apenas do progenitor masculino ou feminino. De acordo com Amorim; Martins; Caldeira (2021), o genoma do cloroplasto é mais conservado que o genoma nuclear, e as mudanças de estrutura, ordem ou conteúdo de sequências do DNA cloroplasmático (cpDNA) são frequentemente usadas para mensurar a diversidade genética vegetal.

Tendo em vista que plantas alógamas vão sempre depender da hibridação específica para reprodução, o fenômeno da hibridação interespecífica necessita investigar quais são as espécies parentais envolvidas na hibridação, estes elementos são importantes para se definir a direção da evolução da espécie (CAMPBELL et al., 1997). A hibridação interespecífica em

plantas vai depender da troca de gametas de espécies diferentes e do rompimento das barreiras reprodutivas, estando a primeira relacionada com a polinização e o agente que a pratica podendo ser específico ou generalista, e a segunda barreira conhecida como pré zigótica estando relacionada com a germinação do tubo polínico, já a terceira barreira conhecida como pós zigótica estando relacionada com a compatibilidade dos cromossomos e do genoma das espécies de plantas envolvidas (WESSELINGH; ARNOLD, 2000).

Figura 2 – Barreiras reprodutivas. Formação de híbridos depende da falha sequencial de todas barreiras reprodutivas iniciais.



Fonte: Moraes (2021).

Pode-se afirmar que populações de plantas que ocorrem na mesma área geográfica e são filogeneticamente próximas que, sua reprodução pode favorecer a hibridação interespecífica principalmente quando suas características morfológicas reprodutivas são semelhantes inclusive coincidindo o período de floração e o agente polinizador (AGUILAR-RODRÍGUEZ et al., 2019).

Muito se tem discutido recentemente acerca de que muitas características associadas à fertilidade da planta são fundamentais para determinar a viabilidade das populações, dentre estas características destacam-se o tamanho das plantas/inflorescência, produção de flores, produção de frutos e sementes, padrões de produção de frutos e viabilidade das sementes (SAMPAIO et al., 2012).

2.4 Hibridação e Especiação

Hibridação é a fusão de gametas geneticamente diferentes, que resulta em indivíduos híbridos heterozigóticos para um ou mais locos (MALLET, 2005). Esse processo deve ocorrer

em grande parte das especiações, com exceção de casos onde ocorre especiação alopátrica onde há uma barreira geográfica separando as espécies (ABBOTT et al., 2013).

A hibridação no reino vegetal é uma força evolutiva, capaz de gerar novos indivíduos pela recombinação de dois genomas distintos. A hibridação permite o aparecimento de novas combinações genéticas oriundas do cruzamento de dois parentais geneticamente divergentes ou dessemelhantes. Esses parentais podem ser progênies, populações, clones, espécies, etc.. Quando o principal fator no surgimento da nova linhagem é o cruzamento de espécies diferentes, temos então, um caso de especiação híbrida (MALLET, 2007).

Alguns indivíduos híbridos promovem o processo de introgressão, também conhecida como "hibridação introgressiva", em genética, é o movimento de um gene de uma espécie para o acervo genético de uma outra através de repetidos retrocruzamentos entre um híbrido e sua original geração progenitora, e embora não resulte em uma nova linhagem permanente, permite a transferência de material genético de uma espécie para a outra (FOLK et al., 2018). Esses eventos evolutivos de diferentes níveis de complexidade são responsáveis por gerar variação, transferir adaptações, eliminar ou mesmo reforçar as barreiras reprodutivas entre espécies relacionadas, podendo ou não levar ao surgimento de uma nova espécie (SLOTTE et al., 2008).

A hibridação acontece de duas formas distintas: homoplóide ou alopoliplóide. A hibridação homoplóide ocorre quando as espécies parentais têm o mesmo número de cromossomos e a prole híbrida mantém o mesmo nível de ploidia. Os híbridos homoplóides, muitas vezes possuem problemas de fertilidade devido à formação de gametas desbalanceados, havendo a manutenção dos indivíduos por propagação clonal (SOLTIS; SOLTIS, 2000).

Segundo Schumer; Rosenthal; Andolfatto (2014) a hibridação homoplóide é considerada rara, havendo em torno de 30 casos confirmados, uma espécie híbrida putativa deve satisfazer três critérios para consideração confiante como tal. Esses critérios são: (1) um forte mecanismo de barreira reprodutiva entre as possíveis espécies parentais e híbridas; (2) evidência genética de hibridização; e (3) isolar mecanismos derivados da própria hibridização.

Os híbridos alopoliplóides são resultados do cruzamento de duas espécies distintas, onde posteriormente o número de cromossomos é duplicado. É o mais comum na natureza devido a sua alta fertilidade, por não apresentarem na maioria das vezes problemas meióticos. As espécies parentais podem ter o mesmo número cromossômico ou números cromossômicos diferentes, porém, neste caso o híbrido gerado passará por um evento de duplicação de seu genoma, geralmente devido à formação de gametas não reduzidos na meiose. Com isso, o

híbrido aloploiploide poderá produzir gametas balanceados e viáveis (LEITCH; BENNETT, 1997).

A poliploidia é o fenômeno mais importante na evolução e na especiação dos vegetais. Acredita-se que pelo menos 75% das espécies já estudadas e descritas citogeneticamente tenham sofrido pelo menos uma vez na sua história evolutiva, um evento de duplicação de todos os cromossomos. O fenômeno da poliploidia isola o híbrido dos parentais de imediato, criando barreiras reprodutivas, possibilitando o estabelecimento da nova linhagem. Esse isolamento imediato não ocorre na hibridação homoplóide e a nova linhagem depende de outros tipos de isolamento para evitar a homogeneização, se tornando com o tempo indistinguível genética e fenotipicamente dos parentais (ABBOTT et al., 2010).

Em muitas publicações científicas a hibridação é estudada a fim de se compreender o isolamento reprodutivo das espécies, entretanto existe um número crescente de estudos discutindo o papel da hibridação na diversificação de espécies ou populações (HERSCHGREEN; ROY, 2007). Como hibridação é um processo relativamente comum em plantas, é importante diferenciar entre taxa reprodutivamente isolados que foram originados por hibridação (espécies híbridas) e híbridos que surgem continuamente (plantas alógamas) (HEGARTY; HISCOCK, 2004). Embora não haja dúvidas de que existam espécies híbridas, é importante avaliar diversos caracteres (morfológicos, citogenéticos e moleculares) dos híbridos, a fim de estabelecer uma delimitação taxonômica clara para a sua descrição como uma nova espécie (MARCZEWSKI et al., 2016).

2.5 Citogenética

De acordo com Guerra; Souza (2002), uma caracterização clara e precisa do cariótipo de uma espécie é de fundamental importância quando se quer comparar citogeneticamente espécies diferentes, ou examinar a variação entre indivíduos da mesma espécie. A citogenética tem sido utilizada na identificação de alterações cromossômicas numéricas e estruturais, descrição cariotípica de variedades ou cultivares para a inclusão em esquema de cruzamentos, controle na obtenção de híbridos homoplóides ou poliploides e no mapeamento físico cromossômico (PEREIRA, 2010).

No que tange a investigação das questões evolutivas dos vegetais, as ferramentas de análises dos cromossomos são fundamentais (GITAÍ et al., 2014). Os métodos de comparação citogenéticos entre diferentes espécies filogeneticamente próximas possibilitam a descoberta

de seu número cromossômico ancestral e a construção da sua árvore filogenética com sua história evolutiva (SYBENGA, 1992).

A meiose é um processo observado na formação dos gametas, verificando-se o surgimento de células com metade do número de cromossomos. Essa redução no número de cromossomos é fundamental para a manutenção do número de cromossomos de uma espécie, pois os gametas, ao se fundirem na fecundação, unem seu material genético (FACHINETTO; TEDESCO, 2009). Erros meióticos podem ocorrer por mutações em genes que controlam a gametogênese ou como resultado de efeitos ambientais (BELO et al., 2018). A análise do comportamento meiótico em indivíduos híbridos é especialmente importante, tendo em vista a presença do genoma de duas espécies distintas. Uma baixa homologia entre os genomas das duas espécies pode resultar em problemas no pareamento cromossômico e na segregação. Portanto, a fertilidade do híbrido pode ser avaliada com base na regularidade do processo meiótico (GRANATO, 2010).

2.6 Tamanho Genoma

Segundo Matielo et al. (2020) o genoma é um código genético, que possui toda a informação hereditária de um ser e é codificada no DNA. É o conjunto de todos os diferentes genes que se encontram em cada núcleo de uma determinada espécie. Na dotação cromossômica haploide, um núcleo possui só um genoma.

A citometria de fluxo é uma metodologia que vem sendo largamente empregada para estimar o tamanho do genoma (conteúdo de DNA) e avaliar o nível de ploidia, uma vez que gera informações de forma rápida e precisa, na qual este método tem sido empregado com sucesso em trabalhos de melhoramento genético de várias espécies vegetais (DOLEŽEL; GREILHUBER; SUDA, 2007). A combinação de dados de número cromossômico e de tamanho do genoma pode trazer informações valiosas para um melhor entendimento da evolução dos genomas (SILVA et al., 2016).

A estimativa do conteúdo de DNA tem sido utilizada como uma ferramenta importante em estudos de biosistemática que é a área da biologia dedicada a inventariar e descrever a biodiversidade e compreender as relações filogenéticas entre os organismos. Inclui a taxonomia e também a filogenia, provando ser útil na delimitação e/ou diferenciação de espécies (TACUATIÁ et al., 2012).

REFERÊNCIAS

ABBOTT, R. J.; ALBACH, D.; ANSELL, S.; ARNTZEN, J. W.; BAIRD, S. J. E.; BIERNE, N. et al. Hybridization and speciation. **Journal of Evolutionary Biology**, 26: 229-246, 2013.

ABBOTT, R. J.; HEGARTY, M. J.; HISCOCK, S. J.; BRENNAN, A. C. Homoploid hybrid speciation in action. **Taxon**, 59:1375–1386. 2010.

AGUILAR-RODRÍGUEZ, P. A.; KRÖMER, T.; TSCHAPKA, M.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; ESCOBEDO-SARTI, J.; MACSWINEY, C. M. G. Bat pollination in Bromeliaceae, **Plant Ecology & Diversity**. 12 (1):1-19. 2019.

ALCÂNTARA, E. M. **Caracterização e agregação de valor à bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart Arecaceae)**. 90f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

AMORIM, D. S. **Fundamentos de Sistemática Filogenética**. Holos: 156p. 2002.

AMORIM, M. R. C.; MARTINS, L. O.; CALDEIRA, A. J. R. Origem e Importância Filogenética do CPDNA. **Revista Multidisciplinar Em Saúde**, 2 (3), 06, 2021.

ANDRADE, A. P. C.; COMIN, J. J.; MILLER, P. R. M. A dinâmica da conservação de variedades locais entre agricultores familiares. **Rev. Bras. Agroecologia**, v. 2, n. 1, 2007.

ARAÚJO, P. M.; PATERNIANI, E. **Melhoramento de plantas alógamas**. In: DESTRO, D.; MONTALVÁN, R. (Ed.) Melhoramento genético de plantas. Editora UEL, Londrina, p. 299-341, 1999.

BALICK, M. J. Systematics and economic botany of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex. New York: New York Botanical Garden, **Advances in Economic Botany**, 3, p. 1-40, 1986.

BARROS, S. K. A.; SOUZA, A. R. M.; DAMIANI, C.; PEREIRA, A. S.; ALVES, D. G.; CLEMENTE, R. C.; COSTA, D. M. Obtenção e caracterização de farinhas de caroço de açaí (*Euterper Oleracea*) e de casca de bacaba (*Oenocarpus Bacaba*). **Research, Society and Development**, 10 (4), 1-10, 2021.

BELO, G. O.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; LAVINSCKY, M. P. Hybrids of *Passiflora*: *P. gardneri* versus *P. gibertii*, confirmation of paternity, morphological and cytogenetic characterization. **Euphytica**, 214:2, 2018.

BISPO, R. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; ROSSI, A. A. B. Divergência genética entre genótipos de *Mauritia flexuosa* L. f. por meio de morfometria de frutos e sementes. **Nativa**, 8 (4), 585-590, 2020.

BOREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Editora UFV, Viçosa, 6. ed., cap. 12-24, 2013.

CAMPBELL, C. S.; WOJCIECHOWSKI, M. F.; BALDWIN, B. G.; ALICE, L. A.; DONOGHUE, M. J. Persistent nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism in the *Amelanchier* agamic complex (Rosaceae). **Molecular Biology and Evolution**. 14:81-90, 1997.

CLEVELAND, D.; SOLERI, D. Farmers' Genetic Perceptions Regarding Their Crop Populations: An Example with Maize in the Central Valleys of Oaxaca, Mexico. **Economic Botany**. 55. 106-128. 2002.

COSTA, W. A.; OLIVEIRA, M. S. de; SILVA, M. P. da; CUNHA, V. M. B.; PINTO, R. H. H.; BEZERRA, F. W. F.; CARVALHO JUNIOR, R. N. de. Açaí (*Euterpe oleracea*) and Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) as functional food. Superfood and functional food-an overview of their processing and utilization. **Intech Open**, 155-172, 2017.

CYMERYS, M.; WADT, L.; KAINER, K.; ARGOLO, V. **Castanheira: *Bertholletia excelsa* H&B**. In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica. Belém: CIFOR; Imazon, 2005.

DEACON, N. J.; GROSSMAN, J. J.; SCHWEIGER, A. K.; ARMOUR, I.; CAVENDER-BARES, J. Genetic, morphological, and spectral characterization of relictual Niobrara River hybrid aspens (*Populus ×smithii*). **American Journal of Botany**. 104 (12):1-13. 2017.

DOLEŽEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, vol. 2, p. 2233–2244, 2007.

FACHINETTO, J. M.; TEDESCO, S. B. Número cromossômico, análise meiótica e estimativa da viabilidade polínica em populações de *Hyptis mutabilis* (Rich.) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11 (1):110-116, 2009.

FILHO, F.C.V.S.; FILHO, A.S.S. derrocamento do Pedral do Lourenção: a mercantilização da notícia e a instrumentalização do rio tocantins. **Revista Humanidades e Inovação**, v. 6, n. 14 – 2020.

FINCO, F. D. B. A.; KLOSS, L.; GRAEVE, L. Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) Phenolic Extract Induces Apoptosis In The MCF-7 Breast Cancer Cell Line Via The Mitochondria-Dependent Pathway. **Nfs Jornal**, 5-15, 2016.

FOGELQVIST, J.; VERKHOZINA, A. V.; KATYSHEV, A. I.; PUCHOLT, P.; DIXELIUS, C.; CHRISTIN, A.; RÖNNBERG-WÄSTLJUNG; LASCOUX, M.; BERLIN, S. Genetic and morphological evidence for introgression between three species of willows. **BMC Evolutionary Biology**. 15:193. 2015.

FOLK, R. A.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E.; GURALNICK, R. New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. **American Journal of Botany**. 105:364–375, 2018.

GITAÍ, J.; PAULE, J.; ZIZKA, G.; SCHULTE, K.; BENKO-ISEPPON, A. M. Chromosome numbers and DNA content in Bromeliaceae: additional data and critical review. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 176:349–368, 2014.

GOMES JR., R. A.; LIMA GURGEL, F. de; AZEVEDO PEIXOTO, L. de; BHERING, L. L.; CUNHA, R. N. V. da; LOPES, R.; VEIGA, A. S. Evaluation Of Interspecific Hybrids Of Palm Oil Reveals Great Genetic Variability And Potential Selection Gain. **Industrial Crops And Products**, 52, 512-518, 2014.

GONÇALVES, A. L.; CRUZ, V. M. S. da; SERRA, A. B. Fragmentação florestal na Região de Integração do Lago de Tucuruí, Pará, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 62, 2019.

GRANATO, L. M. **Comportamento meiótico em híbridos de café arabusta (*C. arabica* cv *Bourbon Vermelho* X *C. canephora* cv *Robusta*)**. Dissertation, Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, São Paulo, 2010.

GUERRA, M. dos S.; SOUZA, M. J. Como Observar os Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. In: GUERRA, M.; SOUZA, M. J. (eds.). **Como analisar os cromossomos mitóticos**. FUNPEC, São Paulo, p. 23-38. 2002.

GUIMARÃES, A. C. G. **Potencial funcional e nutricional de farinhas de jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 114, 2013.

GUIMARÃES, J.; AMARAL, P.; PINTO, A.; GOMES, I. **Preços de Produtos da Floresta: uma década de pesquisa e divulgação**. Belém: Imazon, p. 52, 2020.

HARDING, K.; MILLAM, S. Analysis of chromatin, nuclear DNA and organelle composition in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum sanctae-rosae*. **Theory Applications Genetics**. 101:939–947. 2000.

HEGARTY, M. J.; HISCOCK, S. J. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. **New Phytologist**, 165:411–423, 2004.

HERSCH-GREEN, E. I.; ALLAN, G. J.; WHITHAM, T. G. Genetic analysis of admixture and patterns of introgression in foundation cottonwood trees (Salicaceae) in southwestern Colorado, USA. **Tree Genetics & Genomes**. 10:527-539, 2014.

HERSCH-GREEN, E. I.; ROY, B. A. Context-dependent pollinator behavior: an explanation for patterns of hybridization among three species of indian paintbrush. **Evolution**. 61:111–124, 2007.

HOLUBEK, V.; VYMYSLICKÝ, T.; PAPRSTEIN, F. Possibilities and reality of on-farm conservation. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 46, n. Special, p. S60-S64, 2010.

HOMMA, A. K. O. **Extrativismo Vegetal na Amazônia: História, Ecologia, Economia e Domesticação**. Embrapa Amazônia Oriental-Livro Científico (Alice). 2014.

IVANI, S. D. A. **Caracteres Quantitativos de Interesse para a Determinação da Variação Genética em Populações de *Oenocarpus bacaba* Mart, (Arecaceae) no Amapá**. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010.

KAGEYAMA, H.; NISHIWAKI, T.; NAKAJIMA, M.; IWASAKI, H.; OYAMA, T.; KONDO, T. Cyanobacterial circadian pacemaker: Kai protein complex dynamics in the KaiC phosphorylation cycle *in vitro*. **Mol Cell**, 23, 2006.

KALUME, M. A. de A. **Avaliação do comportamento reprodutivo em acessos de bacabizeiro *Oenocarpus mapora* Karsten (Arecaceae)**. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2000.

KÜCHMEISTER, H. et al. A polinização e sua relação com a termogênese em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 28, n. 3, p. 217-245, 1998.

LAUVAI, J.; SCHUMACHER, M.; FINCO, F. D. B. A.; GRAEVE, L. Bacaba Phenolic Extract Attenuates Adipogenesis By Down-Regulating Pparg And C/ebp α In 3t3-L1 Cells. **Nfs Journal**, 9, 8-14, 2017.

LECLERC, C.; D'EECKENBRUGGE, G. C. Social organization of crop genetic diversity. The $G \times E \times S$ interaction model. **Diversity**, v. 4, p. 1-32, 2012.

LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Polyploidy in angiosperms. **Trends Plant Science**. 12:470–476, 1997.

LORENZI, H.; SOUZA, V. C. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. Nova Odessa: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2012.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. de; CERQUEIRA, L. S. C. de; COSTA, J. T. de M.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 416, 1996.

MALLET, J. Hybridization as an invasion of the genome. **Trends in Ecology and Evolution**. 20:229–237, 2005.

MALLET, J. Hybrid speciation. **Nature**, vol. 446, p. 279–283, 2007.

MARCZEWSKI, T.; MA, Y. P.; ZHANG, X. M.; SUN, W. B.; MARCZEWSKI, A. J. Why is population information crucial for taxonomy? A case study involving a hybrid swarm and related varieties. **AoB Plants**, 8: 2016.

MARIANTE, A. da S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. (Ed.). The state of Brazil's plant genetic resources: second national report: conservation and sustainable utilization for food and agriculture. Brasília, DF: Embrapa Technological Information: **Embrapa Genetic Resources and Biotechnology**, 236 p. 2009.

MATIELO, C.; BEISE, D. C.; LEMOS, R. P. M.; SCHRODER S. D.; MACHADO, L. de O.; CAMARGO, F. A. de O.; STEFENON, V. M. A Genômica Plastidial como ferramenta para caracterização forense e estudos evolutivos em *Cannabis sp*. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 11, n. 2, 2020.

OLIVEIRA, M. do S. P. *Oenocarpus distichus* Martius. In: CORADIN, L. (Ed.). Plantas para o futuro: região Norte. Brasília: **Ministério do Meio Ambiente**, 2012.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; CARVALHO, A. V.; DOMINGUES, A. F. N.; OLIVEIRA, N. P. de; CUNHA, E. F. M. *Oenocarpus spp. Bacaba*, p. 394-412, 2022. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. (ed.). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte. Brasília, DF: MMA, 2022.

OLIVEIRA, M. S. P.; FARIAS NETO, J. T. Cultivar BRS-Pará: Açaizeiro para produção de frutos em terra firma. **Belém: Embrapa Amazônia Oriental**, 3p. Comunicado Técnico 114, 2004.

OLIVEIRA, M. D. S. P. D.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. D. Divergência genética entre acessos de açaizeiro fundamentada em descritores morfoagronômicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42, 501-506, 2007.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; OLIVEIRA, N. P. de. Bacaba. In: LOPES, R.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; CAVALLARI, M. M.; BARBIERI, R. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. da (ed.). **Palmeiras nativas do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, cap. 4, p. 115-154, 2015.

OLIVEIRA, M. S. P.; RIOS, S. A. Potencial econômico de algumas palmeiras nativas da Amazônia. In: Encontro amazônico de agrárias, 6, 2014, Belém, PA. Atuação das ciências agrárias nos sistemas de produção e alterações ambientais: **Anais...** Belém, PA: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2014.

PEREIRA, T. N. S. **Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas**. 1ª edição. Viçosa, MG: editora Arca, 250p. 2010.

REIS, E. F. D.; PINTO, J. F. N.; ASSUNÇÃO, H. F. D.; SILVA, D. F. P. D. Genetic Diversity of Macaúba Fruits From 35 Municipalities of The State of Goiás, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 52, 277-282, 2017.

RODRIGUES, S. T.; MACEDO, E. G.; GOMES, J. I. Características Morfométricas de *Oenocarpus* Mart., do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2021.

SAMPAIO, J. A. T.; PAGGI, G. M.; ZANELLA, C. M.; BRUXEL, M.; PALMA-SILVA, C.; GOETZE, M.; BÜTTOW, M. V.; BERED, F. Inbreeding depression in *Vriesea gigantea*, a

perennial bromeliad from Southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 169:312-319, 2012.

SANTOS, L. R. T.; ASSIS, W. S.; MICHELLOTTI, F.; OLIVEIRA, M. **Agricultura Familiar e Empreendedorismo Agroecológico na Região de Carajás PA: o caso da Família do Sr. Codir**. Monografia (Aperfeiçoamento/Especialização em Especialização em Agroecologia e DRS) - Universidade Federal do Pará, 2012.

SANTOS, M. F.; SOUSA, C. C. de; CARVALHAES, M.; SILVA, K.; LIMA, P. D. C. Variação Genética em Populações Naturais de Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Por Marcadores Morfológicos. In Embrapa Meio-Norte-Artigo em Anais de Congresso (Alice). In: Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2, 2012, Belém, Pa. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos. 2011.

SANTOS, O. V.; VIANA, A. A.; SOARES, S. D.; VIEIRA, E. L. S.; MARTINS, M. G.; NASCIMENTO, F. C. A.; TEIXEIRA-COSTA, B. E. Industrial potential of Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) in powder: antioxidant activity, spectroscopic and morphological behavior. **Food Science and Technology**, 2021.

SCHUMER, M.; ROSENTHAL, G.; ANDOLFATTO, P. How common is homoploid hybrid speciation? **Evolution – International Journal of Organic Evolution**, vol. 68, Issue 6, 2014.

SILVA, A. B. da. **Avaliação de progênies de bacabi (*Oenocarpus mapora* Karsten) em sistema agroflorestal, no município de Santo Antônio do Tauá, PA**. 2009. 91 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

SILVA, H. M. L.; VASCONCELOS, E. V.; BENKO-ISEPPON, A. M.; WAGNER, N.; WEISING, K.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. Chromosomal features of *Fosterella* species (Bromeliaceae, Pitcairnioideae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, 181 (3):532–541, 2016.

SLOTTE, T.; HUANG, H.; LASCOUX, M.; CEPLITIS, A. Polyploid Speciation Did Not Confer Instant Reproductive Isolation in *Capsella* (Brassicaceae). **Molecular Biology and Evolution**. 25 (7):1472–1481, 2008.

SOLTIS, S. P.; SOLTIS, E. D. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. **PNAS**. 97(13):7051-7057, 2000.

SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. The role of hybridization in plant speciation. **Annual Review of Plant Biology**, 60: 561– 588, 2009.

SYBENGA J. **Cytogenetics in plant breeding**. Springer Verlag, Berlin, 1992.

TACUATIÁ, L. O.; EGGERS, L.; KALTCHUK-SANTOS, E.; SOUZA-CHIES, T. T. Population genetic structure of *Sisyrinchium micranthum* Cav. (Iridaceae) in Itapuã State Park, Southern Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, 35 (1):99-105, 2012.

VALE, E. H.; HAWERROTH, M. C.; CAVALCANTI, J. J. V.; VIDAL NETO, F. C.; MELO, D. S. Desempenho de híbridos de cajueiro-anão-precoce no litoral do Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 940-949, 2014.

VASCONCELOS, W. F.; ARAÚJO, F. R.; LOPES, M. A. Conhecimento e diversidade do uso da bacaba (*Oenocarpus bacaba*) no mosaico de unidades de conservação lago de Tucuruí – Amazônia oriental. **Cadernos de Agroecologia** – ISSN 2236-7934 – vol. 10, nº 3, 2015.

VILLACHICA, H. et al. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonía.
In: _____. **Tratado de cooperación Amazonica**. Lima: FAO, p. 264-267, 1996.

WESSELINGH, R. A.; ARNOLD, M. L. Pollinator behaviour and the evolution of Louiai N iris hybrid zones. **Journal of Evolutionary Biology**. 13 (2):171-180, 2000.

CAPÍTULO II

DIVERGÊNCIA FENOTÍPICA ENTRE ACESSOS DO GÊNERO *Oenocarpus* A PARTIR DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS ADAPTADOS E VIABILIDADE REPRODUTIVA DE UM HÍBRIDO INTERESPECÍFICO

DIVERGÊNCIA FENOTÍPICA ENTRE ACESSOS DO GÊNERO *Oenocarpus* A PARTIR DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS ADAPTADOS E VIABILIDADE REPRODUTIVA DE UM HÍBRIDO INTERESPECÍFICO

Luiz Renato Santos Rech¹, Yennifer Mata-Sucre², Gustavo Souza²

Thais Roseli Corrêa¹, Guillaume Rousseau¹

1 Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, São Luís Maranhão, Brasil.

2 Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Rua Nelson Chaves S/N, Cidade Universitária, Recife, PE 50670-420, Brazil.

RESUMO

As bacabeiras (*Oenocarpus sp.*) são palmeiras que ofertam para a sociedade inúmeros benefícios quanto a extração dos seus produtos, entre eles, o uso de óleos essenciais, polpa de fruta e cosméticos. No entanto, uma descrição morfológica dessas plantas nunca foi realizada, mas é de grande importância para sua preservação e uso futuro no melhoramento. Com isso, estudamos a diversidade fenotípica de 8 plantas das espécies de *Oenocarpus mapora* e *O. distichus*, com foco em um putativo híbrido (*Oenocarpusx*), utilizando 16 descritores morfológicos. Além disso, analisamos a diversidade genética entre estas espécies. A pesquisa foi realizada na APA Lago de Tucuruí, no estado do Pará durante os anos 2019, 2020 e 2021. Os estados de caráter mais variáveis foram (1) o comprimento da raquila, (2) o comprimento de cinco internós e (3) altura do primeiro cacho, explicando cerca de 54.18% da divergência entre as espécies. Ao longo dos 03 ciclos produtivos que as palmeiras Bacaba e o híbrido *Oenocarpusx* foram acompanhadas, não se apresentou maturação dos seus frutos, apenas formação de frutinhos que sofrem abortamento antes do estágio fenológico final. Abortamento de frutos é geralmente esperado em indivíduos híbridos. As informações aqui obtidas sobre características fenotípicas de espécies silvestres e híbridos interespecíficos são de interesse para o cultivo das espécies de bacabas, no entanto o emprego de outras análises genéticas, populacionais e moleculares podem contribuir para mais novas explicações e o avanço da ciência nas espécies de *Oenocarpus*.

Palavras-chave: Palmeiras Bacabas; Divergência genética; Práticas Sustentáveis; Amazônia.

ABSTRACT

Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) is a palm tree that offers society numerous benefits in terms of the extraction of its product, including the use of essential oils, fruit pulp and cosmetics. However, a morphological description of these plants has never been carried out, but it is of great importance for their preservation and future use in breeding. Thus, we studied the phenotypic diversity of 8 plants of the species of *Oenocarpus mapora* and *O. distichus*, focusing on a putative hybrid (*Oenocarpusx*), using 16 morphological descriptors. In addition, we analyzed the genetic diversity among these species. The research was carried out at APA Lago de Tucuruí, in the state of Pará during the years 2019, 2020 and 2021. The most variable character states were (1) the length of the raquila, (2) the length of five internodes and (3) height of the first bunch, explaining about 54.18% of the divergence between the species. During the 03 production cycles that Bacaba palms and the hybrid *Oenocarpusx* were followed, there was no maturation of their fruits, only the formation of frutillos that undergo abortion before the final phenological stage. Fruit abortion is generally expected in hybrid individuals. The information obtained here on phenotypic characteristics of wild species and interspecific hybrids is of interest for the cultivation of Bacaba species, however the use of other genetic, population and molecular analyzes can contribute to new explanations and the advancement of science in the species of *Oenocarpus*.

Keywords: Bacaba palms; Genetic divergence; Sustainable Practices; Amazon.

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia brasileira é uma região tropical com grande diversidade de palmeiras da família *Arecaceae*, estas plantas são de grande utilidade à população local, seja como alimento, na produção de artesanatos, como matéria prima na construção de casas, como cosméticos, remédios, utensílio doméstico, dentre outras. Muitas dessas espécies se destacam no mercado local, nacional e internacional, seja na produção de polpa, de palmito, de fibras e de óleo. Apesar do uso e do potencial econômico, a maioria das espécies ainda é pouco conhecida quanto ao seu potencial de exploração econômica e sua contribuição às populações locais e para a sociedade de um modo geral (OLIVEIRA; RIOS, 2014).

O gênero *Oenocarpus* pertencente à família *Arecaceae* é composto por cerca de 10 espécies diferentes, conhecidas popularmente como palmeiras Bacabas, algumas espécies destas palmeiras podem ser exploradas em diversos segmentos, como na indústria de alimentos, de fármacos e de cosméticos. As palmeiras desse gênero possuem um grande destaque na paisagem devido a sua beleza e potencial paisagístico (OLIVEIRA; RIOS, 2014; PESCE, 2009).

O potencial econômico das palmeiras Bacabas está nos frutos que além das qualidades nutricionais destacadas, possui em sua polpa extraída do endocarpo dos frutos uma grande quantidade de óleo comestível com características físico-químicas e propriedades sensoriais semelhantes às do azeite de oliva (GUIMARÃES, 2013). Os frutos destas plantas também possuem uma capacidade antioxidante (presença de fenóis, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, xantonas, leucoantocianidinas, saponinas e triterpenos pentacíclicos) e alto conteúdo de bioativos funcionais, que atuam na prevenção de doenças cardiovasculares, aliado com elevada estabilidade térmica e oxidativa, tem potencial de aplicação em diversos segmentos da indústria alimentar e farmacêutica (FILHO; FILHO, 2020; SANTOS et al., 2021). Há relatos também de que seus frutos sejam potencialmente quimiopreventivos, por exercerem inibição da proliferação celular por meio da indução do apoptose (FINCO et al., 2016) e até classificados como superalimento (COSTA et al., 2017), por ser fonte promissora de antioxidantes naturais com relevância biológica na adipogênese (LAUVAI et al., 2017).

Conforme Silva (2009) há poucas informações do gênero *Oenocarpus* sobre seus recursos genéticos disponíveis, suas variabilidades e suas aplicações agrônômicas, principalmente em sistemas agroflorestais (SAFs), no entanto Santos et al. (2012) relata uma

experiência com conservação, cultivo e manejo das palmeiras Bacabas na forma de SAFs. O agroecossistema de 200 hectares é conhecido como Agrofloresta Cachoeiras do Pedral do Lourenço onde as palmeiras bacabas são as espécies mais abundantes presentes.

Nesta Agrofloresta foi encontrada uma palmeira Bacaba com seu fenótipo apresentando características morfológicas intermediária em relação as espécies *Oenocarpus distichus* Mart e *Oenocarpus mapora* H. Karst. A observação de morfologia intermediária de certos indivíduos em relação a duas espécies estabelecidas, muitas vezes leva à suspeita de hibridação (HARDING; MILLAM, 2000).

O processo evolutivo da hibridação, onde a combinação de genótipos de duas espécies distintas possibilita ao híbrido ocupar nichos diferentes em relação a seus parentais pode ocasionar o fenômeno de especiação quando se estabelece barreiras reprodutivas do híbrido com os parentais e fertilidade (ARNOLD, 2006).

O surgimento de barreiras de isolamento reprodutivo entre as espécies é fundamental para especiação, as barreiras são classificadas em pré zigóticas e pós zigóticas. As pré zigóticas estão relacionadas a fatores ecológicos que atuam antes da junção dos gametas, tais como: diferença de época de floração, incompatibilidade gamética e modificação da morfologia floral. As pós zigóticas ocorrem após a formação do zigoto e incluem a inviabilidade e a esterilidade e ou a redução da performance reprodutiva dos híbridos (JUDD et al., 2009; SOBEL; DUTTA; ROY, 2010). A confirmação de status híbrido, passa primeiramente pela avaliação dos caracteres morfológicos que permitem a análise de similaridade e ou diversidade entre os indivíduos (FERREIRA; GRATAPLAGIA, 1998).

Descritores são considerados caracteres morfológicos de alta herdabilidade, ou seja, não apresentam alterações quando aplicados em ambientes distintos, assim permitem diferenciar uma variedade de outra. Os descritores morfológicos são importantes para a caracterização de espécies, além de serem requisitos básicos para o registro e proteção de cultivares no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e no Bioversity International (banco de dados de descritores internacional). No caso das Palmeiras Bacabas, estas não possuem descritores mínimos definidos, neste caso é recomendável a utilização dos descritores adaptados de espécies semelhantes em termos morfológicos (OLIVEIRA, 1998).

A análise da divergência fenotípica por meio dos descritores morfológicos associado as técnicas de estatística multivariada é uma opção para a avaliação de dados de campo, que considera, simultaneamente, variáveis fenotípicas, como, por exemplo, a distância euclidiana, medida de dissimilaridade que não exige dados em delineamento experimental, calculada com

base na padronização de cada caráter, fornecendo informações úteis na caracterização, conservação e utilização dos recursos genéticos disponíveis (CRUZ; REGAZZI, 2001).

As análises multivariadas têm sido aplicadas para estimar a variabilidade genética em várias espécies de palmeiras baseadas em caracteres fenotípicos morfológicos, tais como: Macaúba (*Acrocomia aculeata*), Butiá; Licuri (*Syagrus coronata*) e de Inajazeiro (*Maximiana maripa*). Todavia há poucos relatos para as palmeiras bacabas (*Oenocarpus sp.*) o que impede o processo de domesticação e melhoramento destas potenciais palmeiras (MACIEL et al., 2022).

O presente estudo teve por objetivos avaliar a divergência fenotípica baseada em 16 caracteres morfológicos adaptados de 09 acessos do gênero *Oenocarpus* e avaliar a viabilidade reprodutiva do híbrido interespecífico *Oenocarpus x*, ambos pertencentes a um sistema agroflorestal localizado na Região do Pedral do Lourenço Estado do Pará na Amazonia oriental.

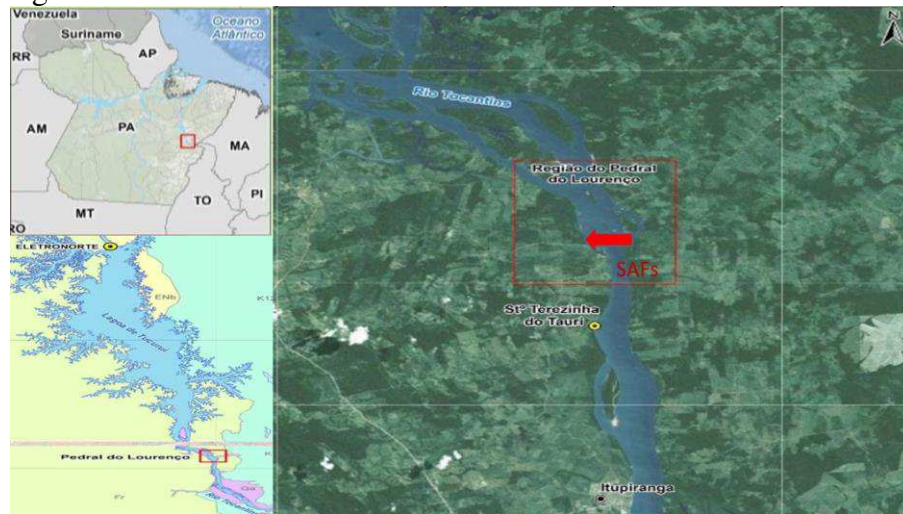
2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de Pesquisa

A pesquisa de campo foi realizada em um agroecossistema de conservação e cultivo de palmeiras Bacabas conhecida como sistema agroflorestal Cachoeiras do Pedral do Lourenço no estado do Pará Amazônia Oriental, localizado na Vila Santa Terezinha do Tauri, uma comunidade de ribeirinhos pescadores e agricultores, situada no município de Itupiranga em uma região conhecida como Pedral Do Lourenço que consiste em um afloramento de rochas vulcânicas no leito do Rio Tocantins (PACHECO, 2018). A região localiza-se na área de proteção ambiental (APA) Lago de Tucuruí (Fig. 1) a montante do lago da hidrelétrica de Tucuruí.

A região apresenta vegetação de Floresta amazônica e segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo Am Clima tropical úmido ou subúmido. É uma transição entre o tipo climático Af e Aw. Caracteriza-se por apresentar temperatura média do mês mais frio sempre superior a 18 °C apresentando uma estação seca de pequena duração que é compensada pelos totais elevados de precipitação entre 1.795 mm a 2.385 mm, com período mais chuvoso concentrado nos meses de dezembro a abril. O relevo da região é ondulado, com predominância de solos do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo e alguns solos com influências das rochas máficas presentes na região.

Figura 1 – Localização do sistema agroflorestal. A seta vermelha dentro do Retângulo vermelho na figura indica a localização do sistema Agroflorestal.



Fonte: Adaptado DNIT (2015).

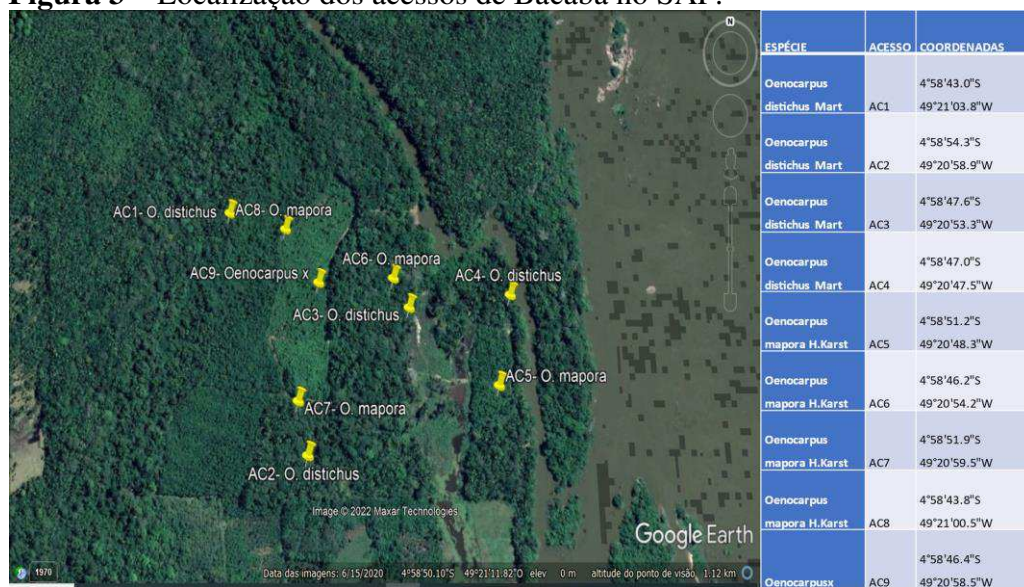
2.2 Acessos de palmeiras Bacabas

Foram selecionados para pesquisa 9 acessos do gênero *Oenocarpus*, ambos com 12 anos de idade e conduzidos em sistemas agroflorestais, sendo 04 pertencentes à espécie *Oenocarpus mapora*, 04 pertencentes à espécie *Oenocarpus distichus* e 01 híbrido interespecífico *Oenocarpus x* (Fig. 2). Atualmente, os acessos estão sendo mantidos em produção no sistema agroflorestal Cachoeiras do Pedral do Lourenço.



Figura 2 – Duas espécies e um híbrido com características intermediárias de palmeiras do gênero *Oenocarpus*. A- *Oenocarpus distichus* Mart; (progenitor masculino) B- *Oenocarpus x* (híbrido interespecífico) C- *Oenocarpus mapora* H.Karst; (progenitor feminino).

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 3 – Localização dos acessos de Bacaba no SAF.

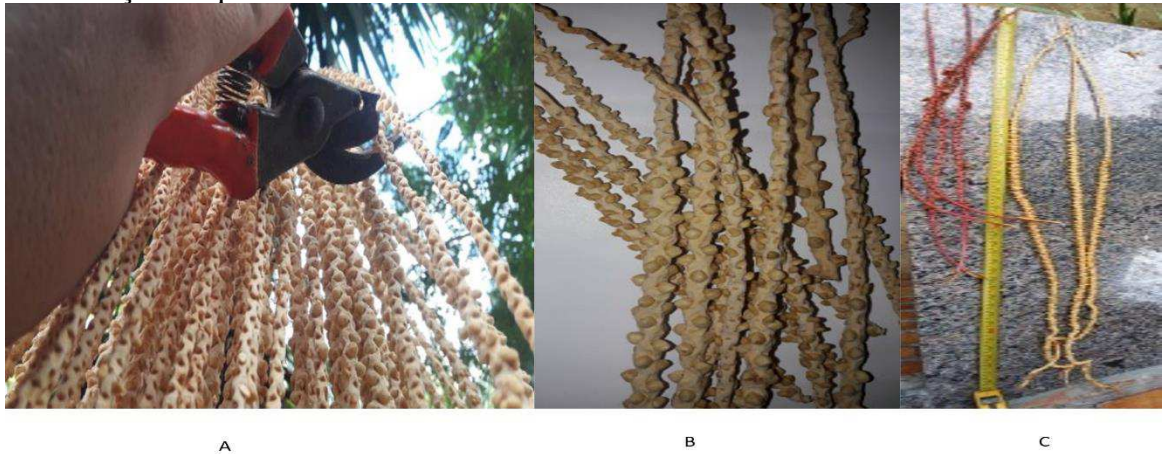
Fonte: Autor.

O Mapa acima (Fig. 3) apresenta as coordenadas geográficas dentro do Agroecossistema estudado, onde localizam-se os nove acessos descritos na pesquisa.

2.3 Descritores Morfológicos

Os 16 descritores morfológicos considerados na análise de diversidade fenotípica dos referidos acessos (figura 3) seguiram a metodologia usada na coleta de dados adaptada de Oliveira et al., (2007) que utiliza caracteres morfológicos e agrônômicos da planta. Na caracterização das palmeiras Bacabas utilizou-se os seguintes descritores morfológicos quantitativos: x1-altura da planta (m); x2-altura do estipe (m); x3-número de estipes (n); x4-número folhas (n); x-5número folíolos/ folha (n); x6-comprimento do pecíolo (m); x7-comprimento do folíolo mediano (m); x8-circunferencia do estipe ao nível solo (cm); x9-circunferencia do estipe ao nível peito (cm); x10-comprimento de cinco internós (cm); x11-altura primeiro cacho (m); x12-número cachos planta/ano (n); x13-comprimento do raques do cacho (cm); x14-número de ráquias por cacho (n); x15-comprimentos da ráquila (cm), x16-Idade entrada fase reprodutiva (anos) (Fig. 4-5). As medidas dos descritores foram realizadas durante o período de 2019, 2020 e 2021.

Figura 4 – Descritores morfológicos mensurados. A- Coleta Ráquila; B- Ráquila; C- Mensuração Ráquila.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 5 – Descritores morfológicos. A- Altura primeiro cacho (m); B- número cachos planta/ano (n); C- circunferência do estipe ao nível solo (cm).



Fonte: Arquivo pessoal.

2.4 Análises Estatísticas

Inicialmente, os dados foram submetidos à análise estatística descritiva dos descritores morfológicos e as médias fenotípicas padronizadas dos caracteres avaliados foram utilizadas para estimar as dissimilaridades entre os acessos, por meio da distância Euclidiana média utilizando-se os recursos computacionais do Programa Excel, onde os dados foram tabulados, e do Programa Genes, onde os dados foram analisados.

A dissimilaridade entre os acessos foi calculada através da equação do quadrado da distância euclidiana média resolvida no programa Genes, utilizando o algoritmo:

$$d_{ii'}^2 = \frac{1}{v} \sum_j (Y_{ij} - Y_{i'j})^2$$

Esta medida é algumas vezes preferida, por manter relação com a soma de quadrados de desvio, ou seja:

$$SQD_{ii'} = \frac{v}{2} d_{ii'}^2$$

em que:

$$SQD_{ii'} = \sum_{j=1}^v SQD_{j(ii')}$$

Sendo a soma de quadrados dos desvios, para a j-ésima variável, considerando os acessos i e i'.

Os dados foram padronizados pois em todas as distâncias até então citadas, a escala afeta o valor obtido. Adicionalmente, elas são quantificadas em diferentes medidas (peso, comprimento, porcentagens etc.), sendo, nesses casos, recomendável o cálculo das distâncias utilizando-se os valores padronizados, feito por meio de:

$$y_j = \frac{Y_j}{\hat{\sigma}_j}$$

Em que é o desvio-padrão associado à j-ésima característica.

Em virtude das diferentes escalas de mensuração dos dados originais, esses foram padronizados e em seguida, foram realizadas análises multivariadas para a obtenção das estimativas de divergência fenotípica por meio do método do quadrado da distância Euclidiana Média Padronizada. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2006).

2.5 Acompanhamento da viabilidade reprodutiva *Oenocarpus x*

A metodologia para avaliar a viabilidade reprodutiva, é através do acompanhamento dos eventos fenológicos que é baseada na caracterização das fenofases (floração, floração em botão, frutos, frutos verdes e frutos maduros) e na intensidade das mesmas (Fournier, 1974). Para observar esses eventos fenológicos o indivíduo *Oenocarpus x* passou por um acompanhamento fotográfico mensal durante os anos de 2019, 2020 e 2021, para verificar se durante os 03 ciclos produtivos a palmeira apresenta frutos maduros e viáveis no cacho seguindo a metodologia adaptada de Fournier; Charpantier (1975) e a metodologia de d'Eça-Neves; Morellato (2004) para caracterização fenológica de espécies florestais.

Foram acompanhados os seguintes eventos fenológicos: emissão de bráctea (BRA), inflorescência em floração (IF), cacho com frutos imaturos (CFI), cacho com frutos maduros (CFM) e cacho seco (CS). Os dados obtidos foram organizados e digitados em planilha do Excel.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Avaliação da viabilidade reprodutiva do híbrido *Oenocarpus x*

O acompanhamento dos eventos fenológicos da palmeira híbrida *Oenocarpus x* ao longo de 03 ciclos produtivos gerou as imagens e os dados apresentados a seguir.

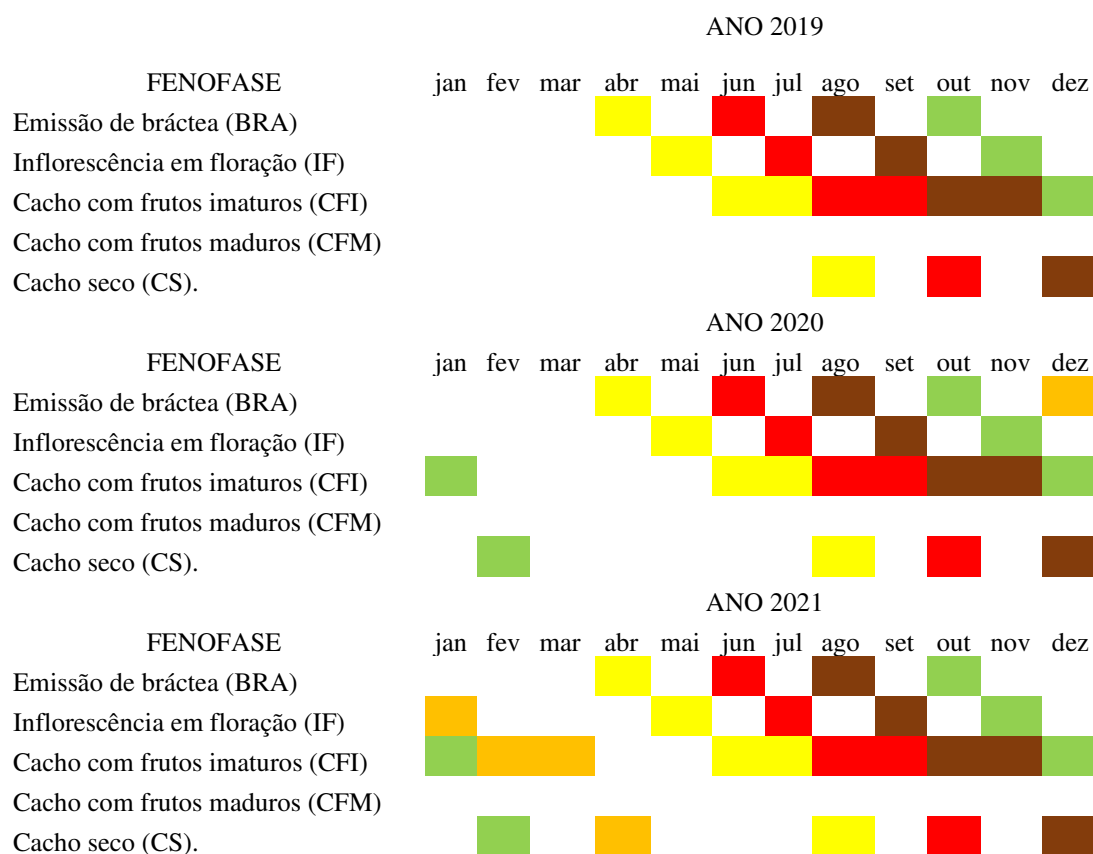
Figura 6 – emissão de bráctea (BRA), inflorescência em floração (IF), cacho com frutos imaturos (CFI) e cacho seco (CS).



Fonte: Autor.

Tabela 1 – Fenofases *Oenocarpus x* nos anos 2019, 2020 e 2021.

Eventos Fenológicos					
	2019	2020	2021	Media	DPAD
Emissão de bráctea (BRA)	4	5	4	4.33	0.58
Inflorescência em floração (IF)	4	4	5	4.33	0.58
Cacho com frutos imaturos (CFI)	4	5	6	5.00	1
Cacho com frutos maduros (CFM)	0	0	0	0.00	0
Cacho seco (CS).	3	4	5	4.00	1

Tabela 2 – Cronograma das fenofases.

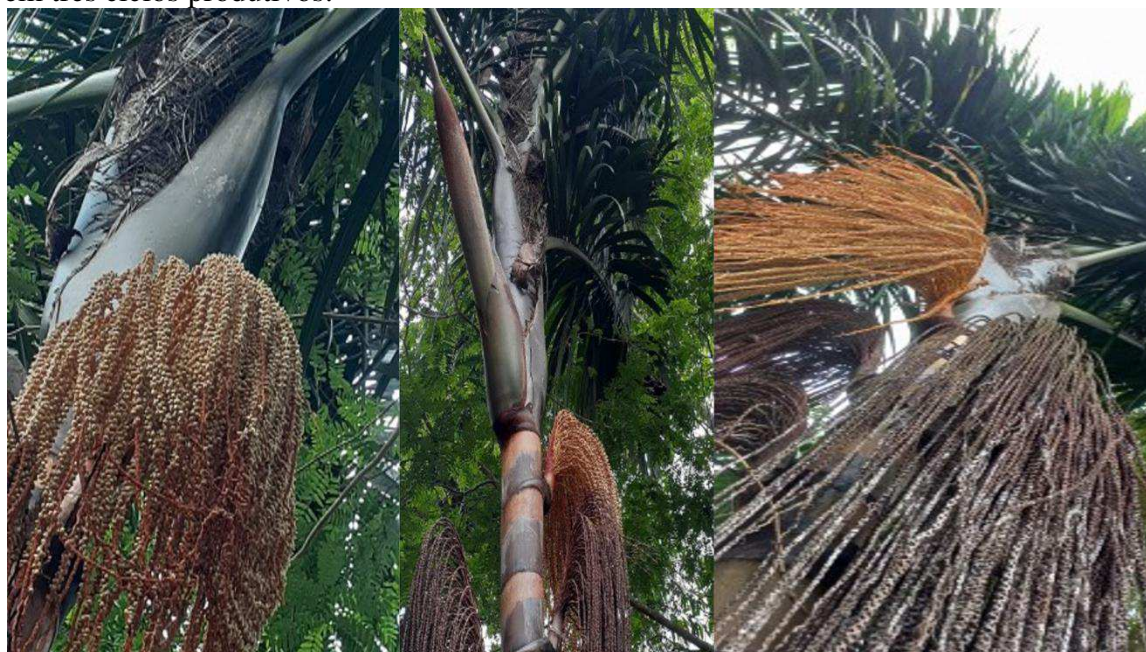
As fenofases mais frequentes foram a emissão de brácteas, inflorescências em floração e cachos com frutos imaturos. O pico da floração ocorreu de maio a novembro coincidindo com o período de menor precipitação na região e o da frutificação aconteceu praticamente todos os meses do ano exceto nos meses de abril e maio que coincide com o final da estação chuvosa na região. Estes resultados encontrados divergiram dos resultados de Nascimento; Maciel; Oliveira

(2018) para espécie *Oenocarpus mapora* que constatou que a palmeira floresce e frutifica o ano todo, com picos de floração de janeiro a abril e de frutificação de junho a setembro.

A palmeira *Oenocarpus x* apresentou uma média 4,5 brácteas emitidas por ano esse resultado foi semelhante ao encontrado por Fisch; Nogueira Junior; Mantovani (2000), em trabalho com a palmeira *E. edulis* relatando que enquanto as infrutescências estão se desenvolvendo, novas inflorescências vão sendo emitidas sequencialmente, chegando à emissão de cinco brácteas por indivíduo.

A ocorrência de 4 cachos secos em média durante o ciclo anual produtivo está diretamente relacionada há não formação de cachos com frutos maduros diferindo dos resultados de Gomes-Silva; Wadt; Ehringhaus (2004) que constatou a presença de cachos secos na palmeira *Oenocarpus bataua* somente no mês de novembro. As Figuras 7 e 8 apresentadas evidenciam os eventos fenológicos ao longo dos 03 ciclos produtivos.

Figura 7 – Acompanhamento fotográfico das fenofases da palmeira Bacaba *Oenocarpus x* em três ciclos produtivos.



2019

2020

2021

Fonte: Arquivo pessoal.

O resultado demonstra que durante os 03 ciclos produtivos a palmeira híbrida não apresentou cachos com frutos maduros apenas formação de frutinhos que sofrem abortamento antes do estágio fenológico final (Fig. 8) o que reforça a hipótese do isolamento reprodutivo uma vez que sua floração possui sincronia com as demais espécies do gênero.

Figura 8 – Frutos imaturos do híbrido *Oenocarpus x*. A- Formação de frutinhos; B- frutinhos abortados; C- frutinhos sem formação de embrião.



A

B

C

Fonte: Arquivo pessoal.

O híbrido interespecífico *Oenocarpus x* conseguiu superar a primeira e segunda barreira reprodutiva, respectivamente a de polinização e a pre-zigótica porém não conseguiu ainda superar a terceira barreira reprodutiva a pós-zigótica que está relacionada a compatibilidade dos cromossomos e ao tamanho genômico.

Barreiras pós-zigóticas incluem inviabilidade e a esterilidade e/ou a redução do desempenho reprodutivo dos híbridos (GREINER et al., 2011), ou até mesmo serem seletivas através de barreiras pós zigóticas que selecionam a progênie, os quais envolvem o aborto frutos e a alocação diferencial de recursos, reforçando o entendimento de Pereira et al. (2005) de que a não superação da barreira pós-zigótica, causa a esterilidade total ou parcial das plantas híbridas.

3.2 Estatística descritiva para 16 descritores morfológicos

Figura 9 – Estatística descritiva para 16 descritores morfológicos avaliados em *Oenocarpus mapora*; *Oenocarpus distichus* e *Oenocarpus x*.

VARIÁVEIS ANALISADAS	TRATAMENTOS										
	Oenocarpus mapora					Oenocarpus distichus					Oenocarpus X.
	V. MÍN	V. MÁX	MÉDIA	DVP	CV (%)	V. MÍN	V. MÁX	MÉDIA	DVP	CV (%)	MÉDIA*
altura da planta (m)	7,70	9,30	8,38	0,70	8,35%	5,00	7,00	6,08	0,83	13,67%	8,70
altura do estipe (m)	5,60	7,20	6,55	0,72	10,97%	3,10	4,90	4,13	0,78	18,82%	5,70
numero de estipes (n)	2,00	4,00	3,00	0,82	27,22%	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00%	1,00
numero folhas (n)	6,00	12,00	9,25	2,50	27,03%	9,00	15,00	12,00	2,45	20,41%	14,00
numero folíolos/ folha (n)	117,00	147,00	130,25	12,74	9,78%	100,00	180,00	142,50	33,04	23,19%	210,00
comprimento do peciolo (m)	2,80	3,60	3,15	0,34	10,84%	4,50	5,50	5,00	0,41	8,16%	4,50
comprimento do folíolo mediano (m)	0,80	0,70	0,83	0,10	11,61%	0,90	1,30	1,11	0,17	14,85%	1,30
circunferencia do estipe ao nível solo (cm)	18,00	22,00	20,00	1,63	8,16%	96,00	104,00	100,25	3,30	3,30%	100,00
circunferencia do estipe ao nível peito (cm)	20,00	24,00	22,00	1,63	7,42%	67,00	73,00	70,00	2,45	3,50%	58,00
comprimento de cinco internós (cm)	76,00	84,00	80,50	3,42	4,24%	120,00	140,00	128,75	8,54	6,63%	80,00
altura primeiro cacho (m)	1,53	1,57	1,55	0,02	1,05%	3,20	3,80	3,50	0,24	7,00%	2,78
numero cachos planta/ano (n)	6,00	10,00	8,25	1,71	20,70%	3,00	3,00	3,00	0,00	0,00%	5,00
comprimento do raques do cacho (cm)	27,00	33,00	30,25	2,50	8,26%	41,00	49,00	45,00	3,27	7,26%	40,00
numero de raquias por cacho (n)	42,00	52,00	46,50	4,20	9,04%	135,00	165,00	150,00	12,25	8,16%	141,00
comprimentos da raquila (cm)	0,72	0,75	0,74	0,01	1,76%	90,00	110,00	100,00	8,16	8,16%	1,10
idade entrada na fase reprodutiva (anos)	3,00	5,00	4,00	0,82	20,41%	9,00	11,00	10,00	0,82	8,16%	8,00
* existe uma única planta											

Fonte: Autor.

As espécies de bacaba apresentaram indivíduos com altura da planta variando de 5 metros a 9,3 metros, o que reforça o porte arbóreo dessa espécie. Somente a espécie *O. mapora* é cespitosa, possuindo mais de 1 caule. Quanto ao número de folhas, as espécies analisadas apresentaram resultados variando de 6 a 15 folhas por planta observada. Enquanto a circunferência do estipe ao nível peito exibiu variação de 20 cm a 73 cm, demonstrando que os indivíduos monocaules possuem estipes grossos e os indivíduos cespitosos possuem estipes mais finos. Os indivíduos exibiram estipes cujos comprimentos dos cinco internós variaram de 76 cm a 140 cm (Tabela 2), sendo que *O. mapora* e *Oenocarpus x* apresentaram pouca variação e *O. distichus* apresentou o maior valor aferido dentro das análises, fato esse que sugere a característica de um porte menor para as espécies *O. mapora* e *Oenocarpus x*, característica essa vantajosa produtivamente pois segundo Oliveira; Sousa; Brandão (2019), o mercado de frutos de bacaba segue com as mesmas preferências do mercado de açaí, que dá prioridade a plantas de entrenós curtos.

Em resumo os descritores que apresentaram maior coeficiente de variação foi o número de folhas com 20,41% e o número de folíolos com 23,19%. Há possibilidades destes caracteres exercerem forte influência sobre o número de cachos existente na planta, uma vez que na fase reprodutiva é esperado que a cada queda de folhas ocorra uma inflorescência.

Os resultados encontrados nesse trabalho foram semelhantes aos obtidos por Oliveira; Neto (2012) quando avaliou os mesmos caracteres em açazeiro do tipo branco. Por outro lado, Flores et al. (2012) constataram que o comprimento de cinco internós foi o que possuiu o maior coeficiente de variação para tucumanzeiro.

3.3 Matriz do quadrado distância Euclidiana Média

Tabela 3 - Matriz do quadrado distância Euclidiana Média.

	<i>Oenocarpus mapora</i>	<i>Oenocarpus distichus</i>	<i>Oenocarpus x</i>
1- <i>Oenocarpus mapora</i>	0	28.28	42.81
2- <i>Oenocarpus distichus</i>	28.28	0	24.92
3- <i>Oenocarpusx</i>	42.81	24.92	0

Dissimilaridade: quanto maior o valor observado menos parecidos (mais dissimilares) serão os acessos.

Tabela 4 – Resumo das estimativas das distâncias genéticas com base no quadrado distância euclidiana média padronizada entre 03 acessos de Bacaba para dezesseis caracteres morfológicos.

ESTIMATIVAS DAS DISTÂNCIAS QUADRADO DA DISTÂNCIA EUCLIDIANA			
ACESSOS E DISTÂNCIAS			
MÁXIMO	:	42.81	ACESSOS: 1 e 3
MÍNIMO	:	24.92	ACESSOS: 2 e 3
SOMA	DAS	DISTÂNCIAS	96.00
SOMA	DE	QUADRADOS	3252.77
MÉDIA	DAS	DISTÂNCIAS	32.00

A distância genética com base no quadrado distância Euclidiana Média dos caracteres avaliados das palmeiras Bacabas, variou de 24,92 a 42,81. Observou-se que os acessos mais divergentes geneticamente foram *Oenocarpus mapora* e *Oenocarpusx* e os mais relacionados *Oenocarpus distichus* e *Oenocarpusx*.

O resultado da média das distancias encontradas no valor de 30,02 divergem das distâncias euclidiana médias encontradas por Santos et al. (2011) e Oliveira; Sousa; Brandão (2019) que encontraram 11,5 e 6 respectivamente.

3.4 Contribuição Relativa dos Caracteres para Divergência

Tabela 5 – Estimativas da contribuição relativa (S.j) e da porcentagem dos dezesseis caracteres morfológicos para a divergência fenotípica entre os 09 acessos.

CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DOS CARACTERES PARA DIVERGÊNCIA SINGH (1981)

VARIÁVEL	S.j(1)	VALOR (%)	S.j(2)	VALOR (%)
x1	37.4888	0.0158	37.4888	0.0158
x2	16.3448	0.0069	16.3448	0.0069
x3	117.1958	0.0495	117.1958	0.0495
x4	45.7682	0.0193	45.7682	0.0193
x5	22.4558	0.0095	22.4558	0.0095
x6	59.42	0.0251	59.42	0.0251
x7	10.205	0.0043	10.205	0.0043
x8	0.72	0.0003	0.72	0.0003
x9	4212.6968	1.778	4212.697	1.778
x10	42174.155	17.8	42174.16	17.8
x11	36489.193	15.4006	36489.19	15.4006
x12	350.0712	0.1478	350.0712	0.1478
x13	33411.125	14.1015	33411.13	14.1015
x14	33654.62	14.2043	33654.62	14.2043
x15	86210.88	36.3862	86210.88	36.3862
x16	120.885	0.051	120.885	0.051
Total	236933.22	236933.22	236933.22	236933.22

Com relação às variâncias relativas e acumuladas dos caracteres pela análise de componentes principais, constatou-se que 97,8% da variação foi explicada pelos caracteres x15 (comprimentos da ráquila (cm)), com 36.38% da variação, seguido por x10 (comprimento de cinco internós (cm)), x11 (altura primeiro cacho), x13 (comprimento do raques do cacho (cm)), x14 (número de ráquulas por cacho (n)) com 17.8%, 15.40%, 14.10% e 14.20% respectivamente do percentual de divergência. Por outro lado, o caráter x8 (circunferência do estipe ao nível solo (cm)) contribuiu com apenas 0.003% da variação total disponível e pode ser descartado como descritor morfológico.

O resultado divergiu de Oliveira; Ferreira; Santos (2006) que encontraram valores menores para a caracterização de germoplasma de açazeiro, onde apenas 35% da variação total ficou retida nos cinco caracteres x15, x10, x11, x13 e x14.

O carácter número de ráquilas por cacho contribuiu com 14,20% da divergência, percentual este muito próximo do encontrado por Maciel et. al. (2022) onde o número de ráquilas por cacho, contribuiu com 11,77% da divergência, demonstrando que esses resultados sugerem que essas variáveis são eficientes em explicar a diversidade fenotípica, entretanto, esperar-se que, quanto mais ráquilas o cacho tiver, maior será a quantidade de frutos no cacho.

4 CONCLUSÕES

A caracterização com descritores morfológicos permitiu uma descrição detalhada das espécies de bacabas, o comprimento da ráquila, o comprimento de cinco internós e a altura do primeiro cacho, onde, explicam cerca de 54.18% da divergência entre as espécies e podem ser adotados como descritores principais.

Pode-se concluir que *Oenocarpus x* possui características morfológicas intermediárias entre as palmeiras da espécie *O. mapora* e as palmeiras da espécie *O. distichus* o que reforça a ocorrência de hibridação interespecífica, porém, a não constatação de cachos com frutos maduros demonstra seu isolamento reprodutivo restringindo o fluxo gênico e a geração de descendentes, o que impede a confirmação da hipótese do processo de especiação.

Conclui-se também, que apesar da não maturação dos frutos de *Oenocarpus x*, a mesma com grande potencial produtivo, apresenta menor porte que é uma característica desejada para colheita, maior comprimento de ráquila que confere uma maior capacidade de produção de frutos e maior número de inflorescências por ano. Estas características podem ser transmitidas em programas de melhoramento.

Contudo, há necessidade de continuar as investigações através do uso de técnicas de citogenética molecular e citometria de fluxo. Após a busca desses dados, os possíveis resultados encontrados serão mais explicativos acerca do processo de hibridização e o possível fenômeno de especiação ocorrido no SAF.

REFERÊNCIAS

ARNOLD, M. L. **Evolution Through Genetic Exchange**. Oxford, Oxford University Press, 272. 2006.

COSTA, W. A.; OLIVEIRA, M. S. de; SILVA, M. P. da; CUNHA, V. M. B.; PINTO, R. H. H.; BEZERRA, F. W. F.; CARVALHO JUNIOR, R. N. de. Açai (*Euterpe oleracea*) and Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) as functional food. Superfood and functional food-an overview of their processing and utilization. **Intech Open**, 155-172, 2017.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. UFV, p. 390, 2001.

D'EÇA-NEVES, F. F.; MORELLATO, L. P. C. Métodos de amostragem e avaliação utilizados em estudos fenológicos de florestas tropicais. **Acta bot. bras.** 18 (1): 99-108. 2004.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 1998.

FILHO, F.C.V.S.; FILHO, A.S.S. derrocamento do Pedral do Lourenção: a mercantilização da notícia e a instrumentalização do rio tocantins. **Revista Humanidades e Inovação**, v. 6, n. 14 – 2020.

FINCO, F. D. B. A.; KLOSS, L.; GRAEVE, L. Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) Phenolic Extract Induces Apoptosis In The MCF-7 Breast Cancer Cell Line Via The Mitochondria-Dependent Pathway. **Nfs Jornal**, 5-15, 2016.

FISCH, S. T. V.; NOGUEIRA JUNIOR, L. R.; MANTOVANI, W. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. Na mata atlântica (reserva ecológica do Trabiju, Pindamonhangaba – SP). **Revista Biociências**, v. 6, n. 2, p. 31-37, jul./dez. 2000.

FLORES, B. C.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; ABREU, L. F. OLIVEIRA, N. P. de. Divergência genética entre acessos de tucumazeiro selecionados para teor de óleo na polpa por caracteres morfo-agronômicos. In: Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2, 2012, Belém, PA. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012.

FOURNIER, L. A.; CHARPENTIER, C. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. **Turrialba**, v. 25, n. 1, p. 45-48, 1975.

GOMES-SILVA, D. A. P.; WADT, L. H. de O.; EHRINGHAUS, C. Ecologia e manejo de patauí (*Oenocarpus bataua* Mart.) para produção de frutos e óleo. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, **Documentos (INFOTECA-E)**, 37 p. 2004.

GREINER, S.; RAUWOLF, U.; MEURER, J.; HERRMANN, R. G. The role of plastids in plant speciation. **Molecular Ecology**, v. 20 n. 4, p. 671–691, 2011.

GUIMARÃES, A. C. G. **Potencial funcional e nutricional de farinhas de jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 114, 2013.

HARDING, K.; MILLAM, S. Analysis of chromatin, nuclear DNA and organelle composition in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum sanctae-rosae*. **Theory Applications Genetics**. 101:939–947. 2000.

JUDD, W.; CAMPBELL, C.; KELLOGG, E.; STEVENS, P.; DONOGHUE, M. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**, 2015.

LAUVAI, J.; SCHUMACHER, M.; FINCO, F. D. B. A.; GRAEVE, L. Bacaba Phenolic Extract Attenuates Adipogenesis By Down-Regulating Pparg And C/EBP α In 3t3-L1 Cells. **Nfs Journal**, 9, 8-14, 2017.

MACIEL, A. R. N.A.; OLIVEIRA, M. do S. P.; MARTORANO, L. G.; NUNES, J. A. R. N.; SOUSA, T. S. Divergência Genética em *Oenocarpus distichus* Mart. de Diferentes Procedências do Estado do Pará por Caracteres Morfoagronômicos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, 2022.

NASCIMENTO, H. F. S. B. do; MACIEL, A. R. N. A.; OLIVEIRA, M. do S. P. Avaliação das Fenofases de Floração e Frutificação de Bacabi (*Oenocarpus Mapora*) nas Condições de Belém – PA. 22º Seminário, **PIBIC 2018** – Embrapa Amazônia Oriental, 2018.

OLIVEIRA, M. S. P. **Descritores mínimos para o açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Belém: Embrapa-CPATU, 3p. (Embrapa-CPATU). 1998.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. dos. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açazeiro para produção de frutos. **Genética – Pesq. agropec. bras.** 41 (7), 2006.

OLIVEIRA, M. S. P. NETO, J. T. F. Avaliação de Caracteres de Frutificação em Progenies de Polinização Livre de Açaizeiro tipo Branco, **XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Bento Gonçalves – RS, 2012.

OLIVEIRA, M. D. S. P. D.; SOUSA, T. S.; BRANDÃO, C. P. Divergência entre indivíduos de *Oenocarpus distichus* Mart. (bacaba-de-leque) numa população de Belém, PA, por meio de caracteres morfoagronômicos. **Embrapa Amazônia Oriental – Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2019.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; RIOS, S. de A. Potencial econômico de algumas palmeiras nativas da Amazônia. In: ENCONTRO AMAZÔNICO DE AGRÁRIAS, 6, 2014, Belém, PA. Atuação das ciências agrárias nos sistemas de produção e alterações ambientais: **Anais...** Belém, PA: UFRA, 2014.

PACHECO, T. G. **Mapeamento 3D da variação da viscosidade turbulenta em cânions submersos e sua aplicação na modelagem numérica** / Curitiba, 2018. 122 f. Tese – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, 2018.

PEREIRA, T. N. S.; NICOLI, R. G.; MADUREIRA, H. C.; JUNIOR, P. C. D.; GABURRO, N. O. P.; COUTINHO, K. **Caracterização morfológica e reprodutiva de espécies silvestres do gênero Passiflora**. In: IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro. Embrapa Cerrado, Brasília – DF, p. 29-34, 2005.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2 ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 334 p. 2009.

SANTOS, L. R. T.; ASSIS, W. S.; MICHELLOTTI, F.; OLIVEIRA, M. **Agricultura Familiar e Empreendedorismo Agroecológico na Região de Carajás PA: o caso da Família do Sr. Codir**. Monografia (Aperfeiçoamento/Especialização em Especialização em Agroecologia e DRS) - Universidade Federal do Pará, 2012.

SANTOS, M. F.; SOUSA, C. C.; CARVALHAES, M.; SILVA, K.; LIMA, P. D. C. Variação Genética em Populações Naturais de Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Por Marcadores Morfológicos. In Embrapa Meio-Norte-Artigo em Anais de Congresso (Alice). In: Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2, 2012, Belém, Pa. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2011.

SANTOS, O. V.; VIANA, A. A.; SOARES, S. D.; VIEIRA, E. L. S.; MARTINS, M. G.; NASCIMENTO, F. C. A.; TEIXEIRA-COSTA, B. E. Industrial potential of Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) in powder: antioxidant activity, spectroscopic and morphological behavior. **Food Science and Technology**, 2021.

SILVA, A. B. da. **Avaliação de progênies de bacabi (*Oenocarpus mapora* Karsten) em sistema agroflorestal, no município de Santo Antônio do Tauá, PA.** 2009. 91 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

SOBEL, R.; DUTTA, N.; ROY, S. Does cultural diversity increase the rate of entrepreneurship? **The Review of Austrian Economics**, 23. 269-286, 2010.

CAPÍTULO III

CYTOMOLECULAR STABILITY IN “BACABA PALMS” (*Oenocarpus* Mart. spp., ARECACEAE) IN AMAZON AGROFORESTRY SYSTEMS

**CYTOMOLECULAR STABILITY IN “BACABA PALMS” (*Oenocarpus* Mart. spp.,
ARECACEAE) IN AMAZON AGROFORESTRY SYSTEMS**

Luiz Renato Santos Rech¹, Yennifer Mata-Sucre², Gustavo Souza²
Thais Roseli Corrêa¹, Guillaume Rousseau¹

1 Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão –
UEMA, São Luís Maranhão, Brasil

2 Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Department of Botany, Federal University
of Pernambuco, Rua Nelson Chaves S/N, Cidade Universitaria, Recife, PE 50670-420, Brazil

Abstract

Tropical palm trees have great socioeconomic relevance, with a series of uses in traditional forest communities. A group of Amazonian palms known as “bacabas” (*Oenocarpus* spp.) are widely cultivated in agroforestry systems. Among its nine species, *O. mapora* stand out in the *on-farm* cultivation, which presents early growth and caespitous habitat, while *O. distichus* presents late growth and solitary growth habit. Recently, the identification of morphologically intermediate individuals suggested the existence of natural hybrids. The present work sought to perform a comparative cytomolecular analysis of representatives of the genus *Oenocarpus*. We analyzed *O. bacaba* Mart., *O. distichus* Mart., *O. mapora* H. Karst. and one *O. distichus* x *mapora* hybrid using double staining with the fluorochromes CMA and DAPI, fluorescent *in situ* hybridization (FISH) to detect rDNA sites, as well as flow cytometry to determine their DNA contents. A stable karyotype $2n = 36$ (28 M/SM + 8A) was observed here, with chromosomes measuring 0.55-4 μm , in all *Oenocarpus* samples. The ancestral chromosome numbers reconstruction for Arecaceae revealed that the $2n = 36$ karyotype is symplesiomorphic and the most frequent number in the tribe family. Fluorochrome staining revealed a terminal positive CMA⁺/DAPI⁺ bands in the short arms of one acrocentric pair and neutral CMA⁰/DAPI⁻ bands in the proximal region of all chromosomes. *In situ* hybridization, performed in *O. bacaba*, *O. mapora* and *O. distichus*, revealed stable one pair of 5S and one pair of 35S rDNA sites. The genome size was between $1C = 3.52$ pg and $1C = 3.70$ pg for *O. mapora*, *O. distichus* and their putative hybrids, while *O. bacaba* had a larger genome of $1C = 4.38$ pg. We did not find polymorphic cytogenetic markers to clarify the origin of the hybrids. The cytomolecular stability reported here may be related to its recent origin (~7 Mya) and facilitate homoploid hybridization events in the genus *Oenocarpus*. We present here a first cytomolecular characterization of *Oenocarpus* species, which could contribute in future breeding programs.

Keywords: CMA/DAPI banding - FISH - Genome size - Heterochromatin – rDNA

1 – Introduction

The Amazon is one of the most important centers of biodiversity of the world, it has several plant species with great ecological and economic potential. Among them, palm trees (Arecaceae) stand out, which are distributed along its entire length, showing greater abundance in the equatorial region (EISERHRARDT et al., 2011; TER STEEGE et al., 2013; MOSCOSO et al., 2013; LEITMAN et al., 2015; PICHARDO-MARCANO et al., 2019).

However, numerous species of Amazon palm trees are underexploited, with promising economic value, they still remain little known and neglected by science. Tropical palm trees have great socioeconomic relevance, their products are valuable to traditional communities in the forest, providing food, utensils, tools, construction material, and other things (JACKSON et al., 2019; MONTÚFAR et al., 2019).

A group of palm trees of important importance in the Amazon, are the popularly known as “bacaba palms” (*Oenocarpus* Mart.), which includes nine Neotropical species (BALICK, 1986; LEITMAN et al., 2015). Six of its species are native and not endemic to the Brazilian Amazon, where they are found in other environments and used in agroforestry systems (CAVALCANTE, 1991). The bacaba fruits are consumed in a similar way to those of the açai palm (*Euterpe oleraceae* Engel), being a source of food, oils and pharmaceutical industry (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2015; GUIMARÃES, 2013; FILHO et al., 2020; SANTOS et al., 2021).

The analysis of bacaba species used in Amazon agroforestry systems in Pará State (Brazil) detected morphological intermediate individuals suggesting the existence of natural hybrids (SANTOS et al., in prep.). Among the nine *Oenocarpus* species, *O. mapora* H. Karst stand out in the *on-farm* cultivation, which presents early production (5 years), spiral phyllotaxy and caespitous habitat, while *O. distichus* Mart presents late production (10 years), distichous phyllotaxy and solitary growth habit. Morphologically intermediate individuals between these species were detected, with monostem grow, spiral phyllotaxis, reproductive phase at 08 years old and high productivity (05 bunches/year) (SANTOS et al., in prep.). However, these individuals present an abortion of all fruits before their complete development (SANTOS et al., in prep.). Knowing the importance of hybridization events in the domestication and cultivation of plants (MARTIN et al., 2019; FLOWERS et al., 2019) it is important that these natural hybrids are better studied, especially from a genetic point of view.

Despite the relevant ethnobotanical importance, *Oenocarpus* species are still low economic exploitation, linked to few agronomic and genetic/genomic characterizations (SCARIOT, 2015; SOUZA, 2018). Progress in the domestication and genetic improvement of bacaba species depends on the existence of a better understanding of the species, based on morphology, chromosome numbers, DNA content, etc. (HAMMER; JORDAN, 2009). For instance, the genetic diversity of the *Oenocarpus distichus* in natural populations of Belém – PA, Brazil was evaluated (MENDES et al., 2019). This same specie was also investigated in terms of pollination and mating system (OTTEWELL et al., 2012).

A genome-size macroevolutionary analysis for the whole Arecaceae family revealed correlation between DNA content/repeats constitution and ecological variables (SCHLEY et al., 2021). However, the genus *Oenocarpus* has been poorly studied karyotypically, with an only study limited to chromosome counts and genome size characterization of *O. bataua* (RÖSER et al., 1997). This species showed $2n = 36$ chromosomes and a genome size of $1C = 3.95$ pg, characteristics very similar to that described for the phylogenetically close related genus *Euterpe* in the subfamily Arecoideae (RÖSER, 1994).

Given the variability of chromosome numbers, DNA contents and distribution of heterochromatic bands and rDNA sites in Arecaceae family (RÖSER, 1994; HANSON et al., 1997; ZAKI et al., 2021; GAIERO et al., 2012; PEREIRA et al., 2017; CASTILHO et al., 2000), we believe that these cytogenetic markers can be useful both to characterize the karyotypes of bacaba palms used in Amazon agroforestry systems and to understand patterns of diversification of these plants compared to other Arecaceae.

Most species within the Arecaceae that have been the focus of genomic analyses are concentrated in cultivated species, and those investigations have included whole genome sequencing of the most economically important specie *Cocos nucifera* L. (XIAO et al., 2017).

Little is known, however, about the basic organization of the chromatin or rDNA sites in representatives of native genus, such as the genus *Oenocarpus* (GAETA et al., 2010). We therefore characterized the numbers, morphologies, and chromosome sizes of three species (and an *O. distichus* x *mapora* hybrid) of the genus *Oenocarpus* using chromosome banding with chromomycin A3 (CMA) and 4'-6-diamidine-2-phenylindole (DAPI), as well as fluorescent in situ hybridization (FISH) to identify 5S and 35S rDNA sites. Our study determined distributions of heterochromatin and rDNA sites for the first time for this genus.

2 – Materials and methods

Plant material – The researched Agroecosystem that supplied the biological material necessary for cytomolecular analysis was Sistemas Agroflorestais Cachoeiras do Pedral Do Lourenço (@agroflorestacachoeiralourencao) is a rural enterprise of private initiative founded in 2005 involving 04 families of farmers who implemented Agroforestry System (AS) on their rural properties (COSTA ; PAULETO, 2021).

The native species were propagated by seeds obtained from empirically directed collections of parent plants spontaneously present in the AS, as is the case of the most abundant species, the palm trees of the genus *Oenocarpus*. Plants of *Oenocarpus distichus*, *O. mapora* ‘white stern’ and ‘purple stern’, *O. bacaba* and one *O. distichus* x *mapora* hybrid were sent for cultivation from the AS Cachoeiras do Pedral Do Lourenco to the experimental garden of the Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Recife, Pernambuco, Brazil.

Cytogenetic Analyses - Root tips obtained from cultivated plants and germinated seeds were pre-treated with 0.002 M 8-hydroxyquinoline for 24 h at 10 °C, fixed and stored in ethanol: acetic acid (3:1, v/v) for 2–24 h at room temperature, and stored at - 20 °C. For preparation of slides, fixed root tips were washed in distilled water and digested in a 2% (w/v) cellulase (Onozuka)/20% (v/v) pectinase (Sigma) solution, at 37 °C, for 90 min. Meristem was macerated in a drop of 45% acetic acid, and the coverslip was later removed in liquid nitrogen.

CMA/DAPI staining – The CMA/DAPI double-staining technique was used for fluorochrome banding following Souza et al. (2015). Slides were aged for 3 days, stained with CMA (0.1 mg mL) for 60 min, mounted in glycerol: McIlvaine buffer pH 7.0 (1:1) with DAPI (1 lg mL) and aged for 3 days before analysis in an epifluorescence Leica DMLB microscope. Images were captured with a Cohu CCD video camera using the Leica QFISH software and later edited in Adobe Photoshop CS3 version 10.0.

In situ hybridization – To localize the rDNA sites, 5S rDNA (D2) from *Lotus japonicus* (Regel) K. Larsen labeled with Cy3-dUTP (Amersham) and 35S rDNA from *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. labeled with digoxigenin- 11-dUTP were used as probes (SOUZA et al., 2015). Both labeling were done by nick translation. The 35S rDNA probe was detected with sheep anti-digoxigenin FITC conjugate (Roche) and amplified with rabbit anti-rabbit FITC conjugate (Sigma). The hybridization mixture contained formamide 50% (v/v), dextran sulfate 10% (v/v), 2 x SSC, and 50 ng/μL of each probe. The slides were denaturated at 75 °C for 5 min. Stringent washes were performed, reaching a final stringency of approx. 76%. Images of the best cells were captured as noted above.

Chromosomal measurements – For each species, five metaphases of each species showing clear chromosomal morphology were measured using Drawid v0.26. The proportion of chromosome arms (AR = long arm length / short arm length) was used to classify chromosomes as metacentric (AR = 1-1.49), submetacentric (AR = 1.50-2.99) or acrocentric (AR>3.00), following Guerra (1986). Average lengths of the entire chromosomal complement, pairs of chromosomes carrying CMA bands, and rDNA sites were measured and compared for construction of idiograms using Drawid v0.26 program (KIROV et al., 2017).

Flow cytometry – The absolute nuclear DNA contents of the three species were determined by flow cytometry. The nuclear suspensions were prepared using a protocol adapted from Dolezel et al. (2007). Approximately 25–50 mg of leaf tissue was chopped with a razor blade in a Petri dish (kept on ice) containing 1 mL of isolation buffer WPB (LOUREIRO et al., 2007) or buffer Marie (Marie; Brown, 1993). The solution was filtered through a 30-mm mesh disposable filter and mixed with 20 µL of propidium iodide (1 mg/mL). Flow cytometry measurements were taken using a PARTEC Cyflow Space (Muster, Germany) equipped with a 488-nm laser canon. *Solanum lycopersicum* (1C = 0.98 pg) and *Hordeum vulgare* (1C = 5.56 pg) were used as internal standard (DOLEZEL et al., 1998).

The histograms of relative fluorescence were analyzed using FloMax 2.3 software, and peaks with a coefficient of variation (C.V.) higher than 5% were discarded. The DNA content (pg) of the samples was calculated using the equation:

$$\text{Sample 2C DNA content} = [(\text{sample G1 peak mean}) / (\text{standard G1 peak mean})] \times \text{standard 2C DNA content (pg DNA)}$$

where G1 sample was the position of the G1 peak of the sample; G1 standard was the position of the G1 peak of the standard; and DNA standard was the amount of nuclear DNA (pg) of the standards used in each measurement.

Molecular phylogenetic analyses- We use GenBank available 22 loci for Arecaceae species (Supplementary Table 1). Multiple sequence alignments were obtained using MUSCLE through a plugin implemented in Geneious v.7.1.9 (KEARSE et al., 2012). The phylogenetic relationships were established by Bayesian Inference (BI) implemented in BEAST v1.10.4. (SUCHARD et al., 2018), using GTR model. Four independent runs with four Markov Chain Monte Carlo (MCMC) were conducted, sampling every 1,000 generations for 100,000,000 generations. We used Tracer v1.6.0 (RAMBAUT et al., 2018) to identify a plateau of

probability scores and later estimates of the model parameters, evaluating the Effective Sample Sizes (ESS) for each important parameter greater than 200 and a burn-in 25%. TreeAnnotator v1.8.2 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2015). Was used to discard 90% of the saved trees and annotate the rest of them that had higher probability values. The consensus tree and posterior probability (PP) were visualized and edited in FigTree v.1.4.2 (RAMBAUT, 2014).

Chromosome Number Survey - The compilation of chromosome numbers was collected from the Chromosome Counts Database (CCDB) database (RICE et al., 2015; <http://ccdb.tau.ac.il/>). Published articles not shown in the database were added to the survey. Data with doubtful chromosome number and/or without photographic records were excluded from the analysis. It was possible to retrieve the haploid numbers for 187 taxa belonging in 59 genera out of the 134 sampled in the phylogeny, representing the main clades of Areaceae.

Ancestral Chromosome Number Reconstruction - To interpretate the chromosome evolution in Areaceae family we estimate the ancestral states of chromosome number along the branches of the phylogenetic tree of this family using both RevBayes (HÖHNA et al., 2014), ChromEvol (GLICK; MAYROSE, 2014) and PastML (ISHIKAWA et al., 2019). We applying the Maximum Likelihood (JOINT+F81) method for chromosome number reconstruction and run the model adequacy test for the likelihood models of chromosome-number evolution (RICE; MAYROSE, 2021). Since these analyses can take only one state per sample, only the lowest chromosome number for each species was used in the case of samples with more than one cytotype, with different chromosome numbers and ploidy levels.

3 – Results

Metaphasic cells of *Oenocarpus* showed a diploid chromosomal complement $2n = 36$ conserved for all the analyzed species, with chromosome size varying from 0.55 to 4 μm (Fig. 1). The karyotypic formula for the analyzed species was 2 chromosomes classified as metacentric, 26 submetacentric and 8 acrocentric (2M+26SM+8AC) (Table 1).

Heterochromatic banding with CMA/DAPI double staining revealed a pattern of CMA⁰/DAPI proximal bands in all chromosomes and a terminal CMA⁺/DAPI bands in an acrocentric chromosome pair of all the analyzed species (Fig. 1, Table 1). Metaphase cells analyzed from *O. distichus* x *mapora* individuals showed a pattern of CMA bands similar to those observed in other species of the genus (Fig. 1e).

The analysis of the two *O. mapora* cultivars showed a similar karyotype with small variations between the length of the chromosomal arms (Fig. S1), which could be due to different condensation states of the chromosomes. However, future genome size measurements could reveal better insights about this variation.

Table 1. Chromosomal number ($2n$), number of rDNA sites, CMA/DAPI staining and mean genome size with standard deviation of palm trees of the genus *Oenocarpus*. P=proximal. T= terminal.

<i>Specie</i>	$2n$	5S	35S	CMA/DAPI	1C (pg)
<i>O. bacaba</i>	36	2 BC	2T	CMA0/DAPI-p CMA+/DAPI-t	4.38±0.1
<i>O. distichus</i>	36	2 BC	2T	CMA0/DAPI-p CMA+/DAPI-t	3.71±0.01
<i>O. mapora</i> 'papa branca'	36	2 BC	2T	CMA0/DAPI-p CMA+/DAPI-t	3.52±0.01
<i>O. mapora</i> 'papa roxa'	36	2 BC	2T	CMA0/DAPI-p CMA+/DAPI-t	-
<i>O. distichus x mapora</i>	-	-	-	CMA0/DAPI-p CMA+/DAPI-t	3.51±0.16

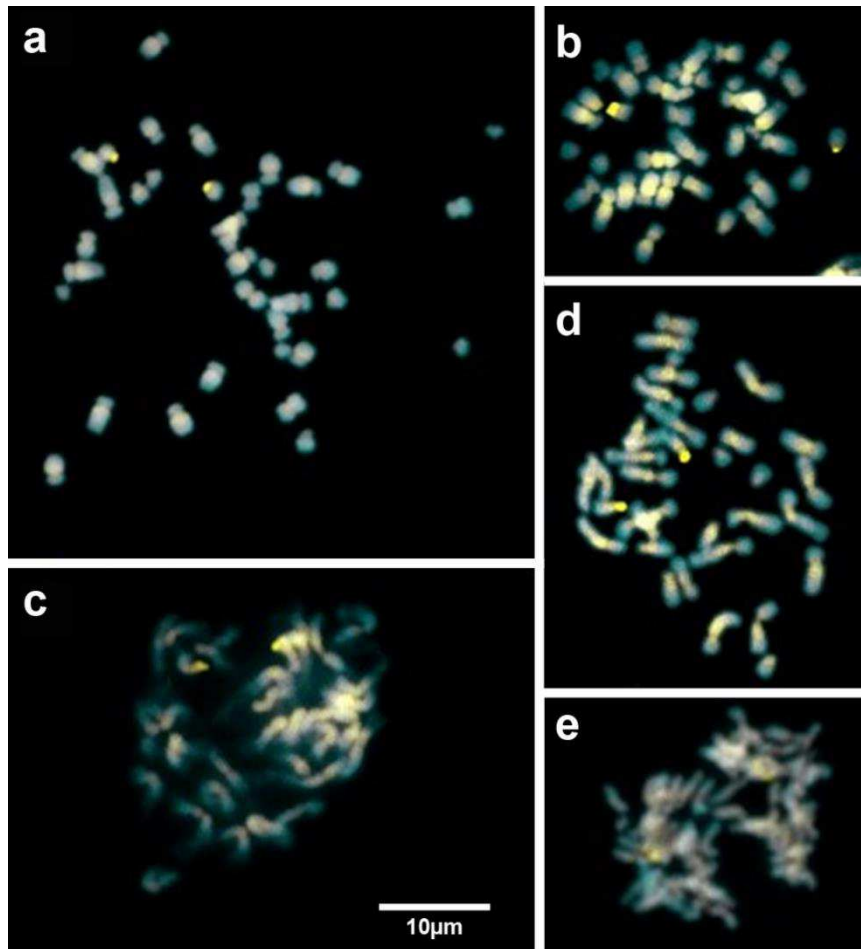


Fig 1. Mitotic chromosomes of *Oenocarpus mapora* 'white stern' (a), *O. mapora* 'purple stern' (b), *O. bacaba* (c), *O. distichus* (d), and *O. distichus* x *mapora* (e). In metaphase chromosomes, CMA bands (yellow) counterstain in blue with DAPI are observed. Scale bars = 10 μ m.

Fluorescent in situ hybridizations of ribosomal DNA revealed only one pair of submetacentric chromosomes with 5S rDNA sites, located in interstitial regions of the short arm, and a pair of terminal 35S rDNA sites co-located with the CMA+ bands for *O. distichus*, *O. bacaba* and *O. mapora* 'white stern' and 'purple stern', (Fig. 2). The metaphase of *O. mapora* 'purple stern' in Figure 2b was used to construct a general karyogram with 18 pairs of chromosomes arranged from largest to smallest pair showing the relative position of the CMA bands, the 5s and 35s rDNA sites, as well as regions with telomeric sequences on the chromosomes (Fig. 3).

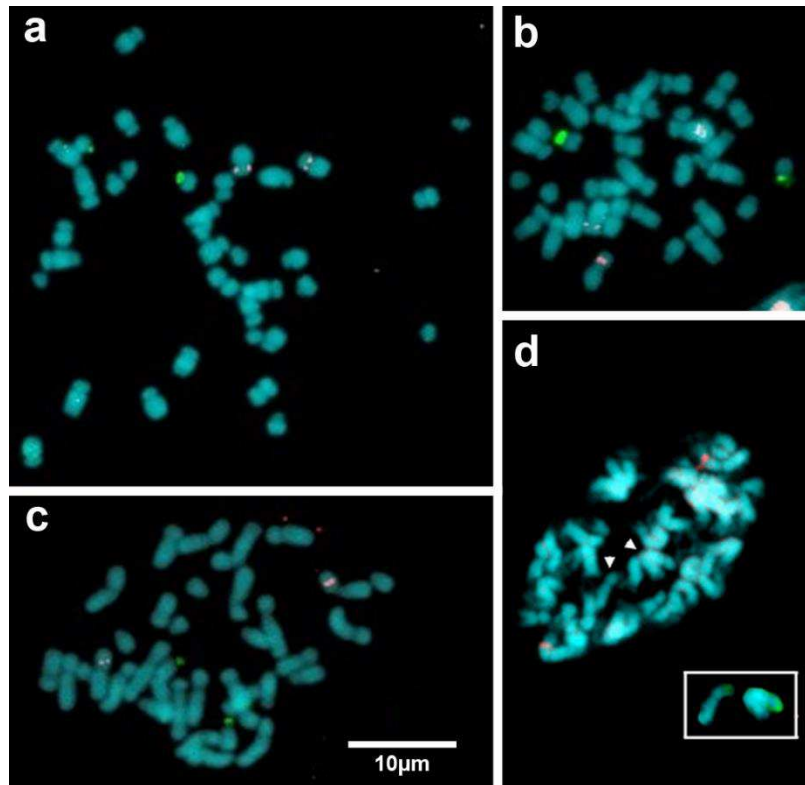


Fig 2. Mitotic chromosomes of *Oenocarpus mapora* 'white stern' (a), *O. mapora* 'purple stern' (b), *O. distichus* (c), and *O. bacaba* (d). In metaphase chromosomes, physical mapping of the number and distribution of 5S (red) and 35S (green) rDNA loci are observed. Arrowheads in Figure (d) indicate the pair of chromosomes with the rDNA 35s, shown as inserts in the lower right part of the figure. Fluorescence with DAPI counterstain in blue. Scale bars = 10 μ m.

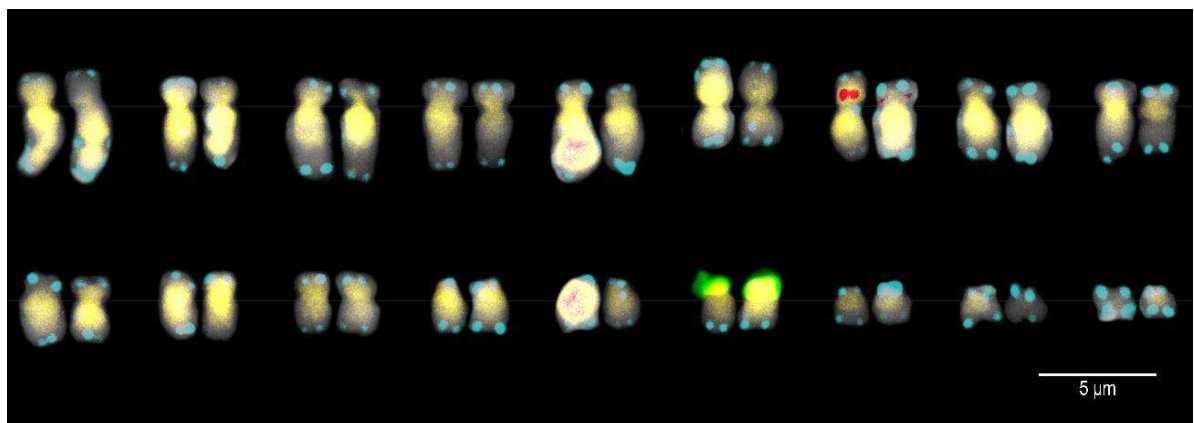


Fig 3. Representative karyogram of *Oenocarpus* chromosomes arranged from largest to smallest (gray line indicates centromere position). Signals in yellow, red, green and blue represent CMA bands, 5S and 35 rDNA and telomeric sequences, respectively. Scale bars = 5 μ m.

Genome size - Genome size analysis of the *Oenocarpus* species using flow cytometry resulted in good quality G1 peaks, with CV values below 5, indicating good sensitivity in the

measurements (Fig. 4, Table 1). The mean genomic size of the species ranged from $1C=3.52\pm 0.01$ pg in *O. mapora* to $1C=4.38\pm 0.01$ pg in *O. bacaba*, while the mean for the species was calculated as $1C=3.78$ pg (Table 1).

In the case of the *O. distichus* x *mapora* hybrid, a genomic size of $1C=3.51\pm 0.16$ was observed, which is within the mean for the genus. The replicate measurements of the same plant and populations facilitate the detection of variation in the procedure and estimation of variation between plants. These values are consistent with the reported genome size for *O. bataua* $1C=3.90$ pg (RÖSER et al., 1997).

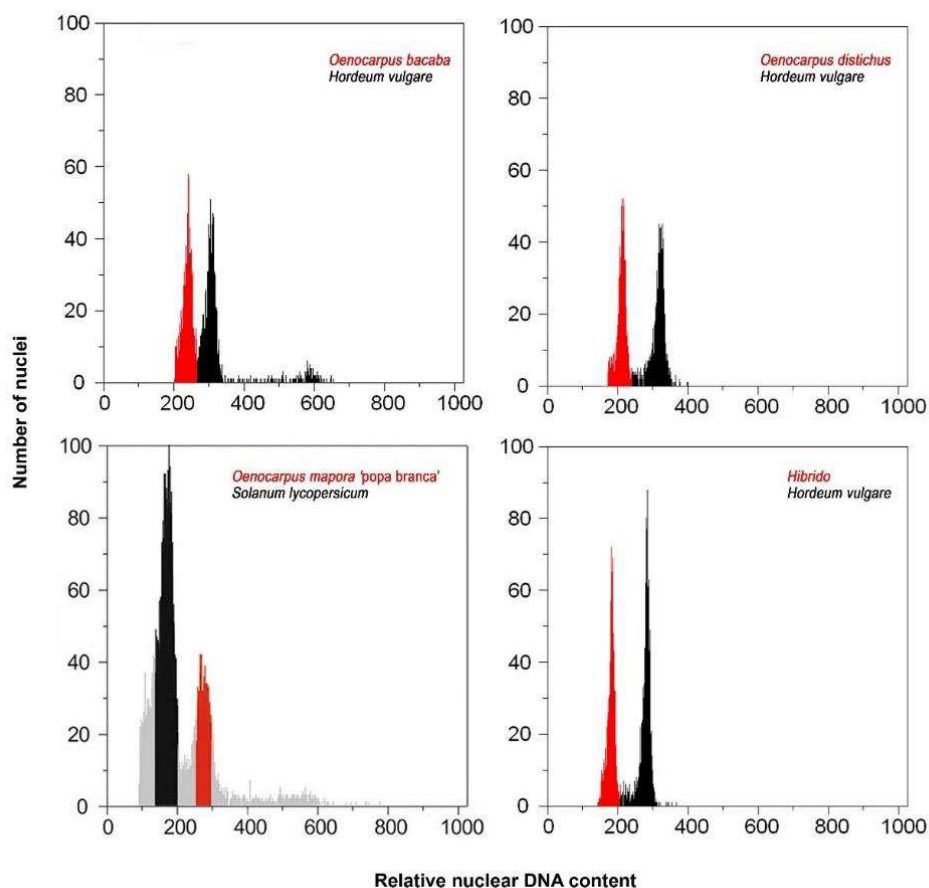


Fig 4. Estimation of the absolute amount of nuclear DNA (genome size) in *Oenocarpus* species. The histogram of relative DNA content was obtained after flow cytometry analysis of propidium iodide-stained nuclei. *Solanum lycopersicum* ($1C = 0.98$ pg) and *Hordeum vulgare* ($1C = 5.56$ pg) served as internal reference standards. The cytometer gain was adjusted so that the G1 peak of the internal references was located in channel 200. The relative positions of the G1 peaks of the bacabas palms are in red and the internal standard in black.

Ancestral chromosome reconstruction - To gain insights into major drivers of chromosome evolution in *Oenocarpus* and Arecaceae family we analyzed the frequency of chromosome number change events and performed an ancestral chromosome number reconstruction based on the phylogenetic tree with both RevBayes, ChromEvol and PastML programs (Figure 5-6, Fig. S2-S3). An ancestral chromosome state of $n = 17$ (pp = 0.75, Fig. 5) is hypothesized for the Arecaceae family using RevBayes and ChromEvol approaches (Fig. 5, Fig S2). Disploidy events occur within lineages, as such as Calamoideae and Arecoideae clade, instead, polyploidy is weir in the family being found until now in *Voanioala gerardii* J. Dransf. specie (Fig. S2, Suppl. T1).

For *Oenocarpus* genus, the ancestral chromosome number hypothesized is $n = 18$, like all the species of the Coryphoideae and Roystoneae clade (Fig. 6, Fig. S2-S3). Besides, based on the ancestral character reconstruction with PastML (Ishikawa et al., 2019) karyotypes with $n = 18$ were the most likely ancestral chromosome number, based on maximum likelihood reconstruction (Fig. S3, Suppl. T1).

A Basic ChromEvol Analysis

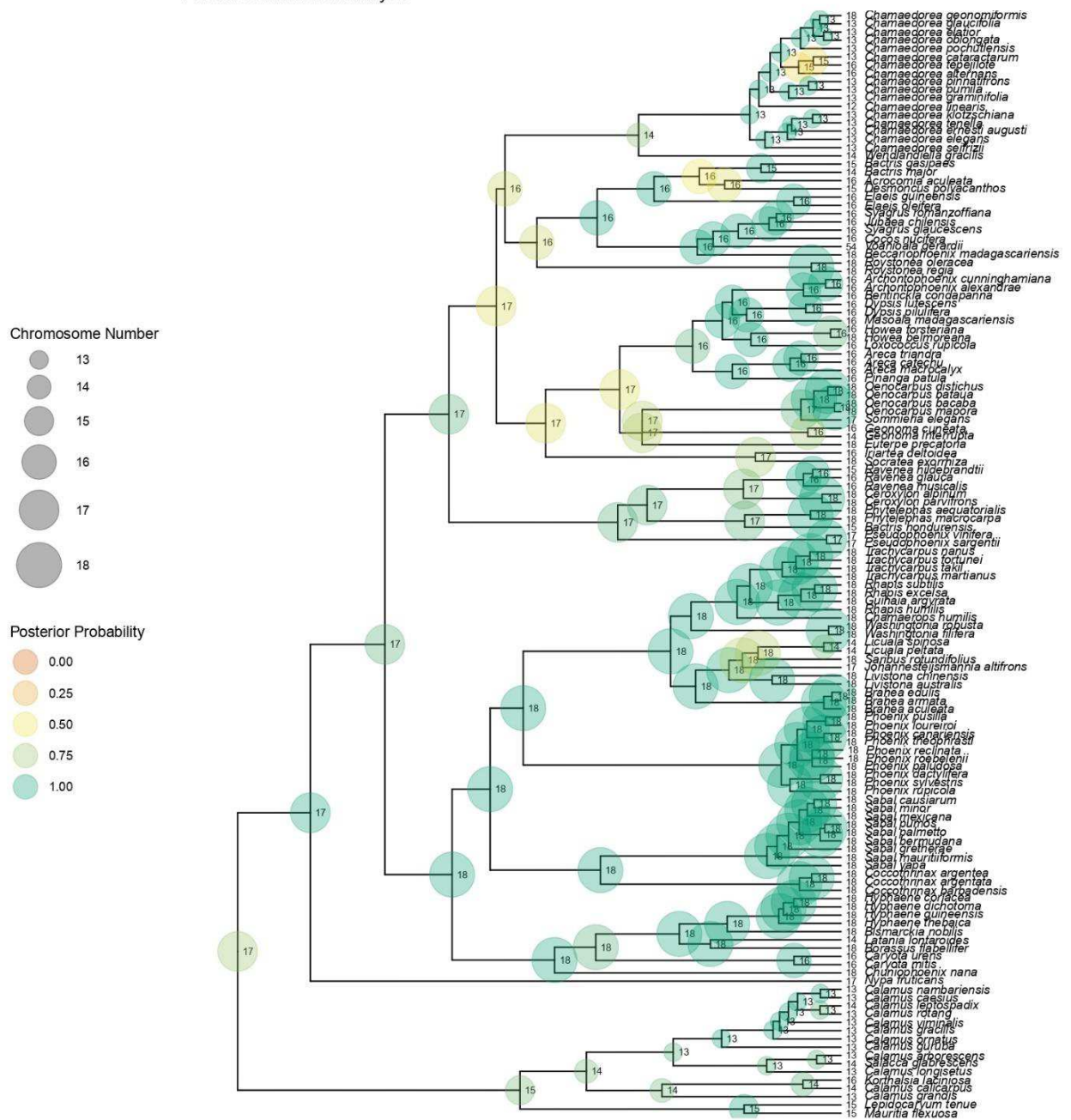


Fig 5. Ancestral chromosome number estimates of Areaceae family. The model averaged MAP estimate of ancestral chromosome numbers is shown at each branch node. The size of each circle is proportional to the chromosome number and the color represents the posterior probability. The MAP root chromosome number is 17 with a posterior probability of 0.76.

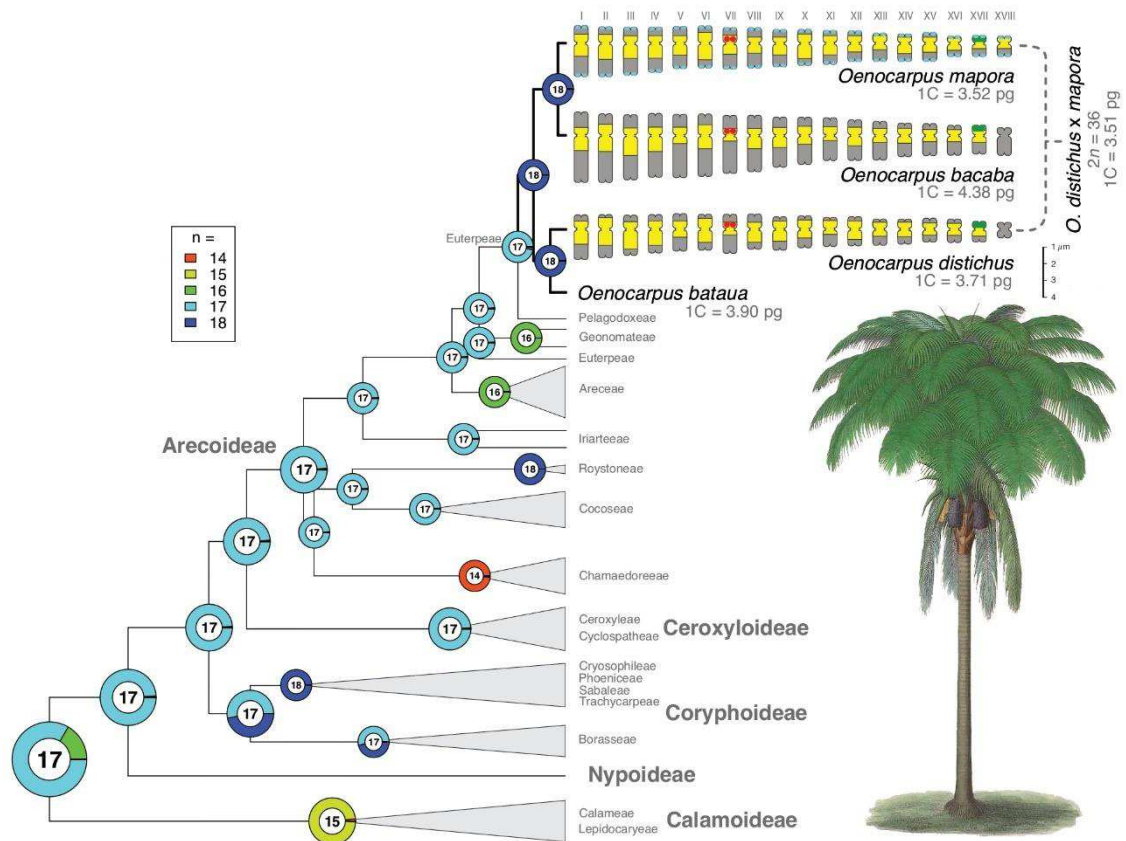


Fig 6. Comparative idiograms of *Oenocarpus* species chromosomes arranged from largest to smallest. Signals in yellow, red, green and blue represent CMA bands, 5S and 35 rDNA and telomeric sequences, respectively. Ancestral chromosome number reconstruction with ChromEvol along the Arecaceae phylogeny. n =haploid chromosome number, $2n$ = diploid chromosome number, $1C$ =monoploid genome size.

4 – Discussion

The use of cytomolecular techniques in cultivated species has provided important information for genetic improvement in several groups of plants by allowing the physical location of specific cytogenetic markers. As an important genetic resource for palm trees of the genus *Oenocarpus*, in the present study, we present, for the first time, the analysis of the karyotype by the cytomolecular point of view. Chromosome number stability in *Oenocarpus* is further supported by both heterochromatin banding and rDNA site distribution data. Despite the high cytomolecular variability among Arecaceae species (RÖSER, 1994; HANSON et al., 1997; ZAKI et al., 2021; GAIERO et al., 2012; PEREIRA et al., 2017; CASTILHO et al., 2000), the recent origin of *Oenocarpus* 7 million years ago (PICHARDO-MARCANO et al., 2019) can explain the absence of variations in the number and/or distribution of heterochromatin

blocks and rDNA sites. This information provides a base characterization for the future development of strategies to improve the germplasm of wild species.

The ancestral chromosome numbers reconstruction for Arecaceae revealed that the $n = 18$ karyotype is symplesiomorphic and highly homoplastic. Thus, the $2n = 36$ karyotype reported here for *Oenocarpus* (Arecoideae) is not homologous to the $2n = 36$ karyotype observed in Coryphoideae (Fig. 6). A numerical stability in chromosome number ($2n = 36$) have been observe here in *Oenocarpus* and in other species of the family, especially in the tribe Euterpeae (OLIVEIRA et al., 2016).

Regarding karyotype organization, an ancestral chromosome state of $n = 17$ or $n = 18$ is hypothesized for Arecaceae although we acknowledge that this may have arisen through dysploidy reduction. In Arecaceae, $2n = 36$ have been the rarest chromosome number, being characteristic of new world species. It's considered a plesiomorphic karyological feature, since the modern species, considering floral morphology, have the lowest chromosome number ($2n = 30$ and $2n = 28$) (OLIVEIRA et al., 2016). However, here we show that $2n = 36$ is the most frequency number in the family and it's the most likely ancestral chromosome number, which starting from $2n = 36$ (basic number $x = 18$) and different and independent reduced dysploidy series diverged not only in Arecoide ($2n = 28$ to $2n = 36$), but also in Coryphoideae ($2n = 28$ to $2n = 36$) and Calamoideae ($2n = 26$ to $2n = 36$) (RÖSER, 1994). Due to this frequency dysploidy events (gain and loss of chromosomes) in the family, small chromosome rearrangements cannot be ruled out in the karyotypic evolution of the genus *Oenocarpus*.

One potential constraint on hybridization and how it resolves is the difference in karyotypic characteristic and/or genome size between parental taxa. In plants, hybridization is often associated with genome size variation, either due to genome duplication (polyploidy) or smaller-scale gains and losses of chromosomes (aneuploidy) or of chromosomal segments during homoploid hybridization (DE SOUZA ALMEIDA et al., 2017; AGUDO et al., 2019; GUERRA et al., 2020). Notably, polyploidy is an extremely rare phenomenon in Arecaceae, which suggests that hybridizations in the family are preferentially homoploid, corroborating the results observed here for *Oenocarpus*. Here we performed a cytological analysis of *Oenocarpus* hybrids, characterized based on plant morphology (SANTOS. in prep.) and we did not find polymorphic cytogenetic markers to clarify the origin of the hybrids (Fig. 6).

In palm trees, the genome size presents a 58-fold range of variation across the family, being the upper limit of genome size found in the monotypic Madagascan endemic *Voanioala gerardii* (Plant DNA C-values database, PELLICER; LEITCH 2020; SCHLEY et al., 2021).

This variation seems to be associated to ecological traits, specially by the aridity preferences of palm species, where species from wet environments presented large and small genomes (SCHLEY et al., 2021). These results indicate that there is non-random evolution of genome size across the palms, and that yearly extremes of aridity may exert selective pressures on the genome size.

Plant breeding studies have focused on genomics and interspecific hybridization that may offer the possibility of transferring important traits from wild or cultivated species (MWANGANGI et al., 2019; MADON et al., 2020). Though, due to the stability and recent origin of the *Oenocarpus* genus, genomic differentiation of this homoploid hybrid is difficult.

Homoploid hybrid species are generally originated from parental sympatric region, as such observed in the Amazon agrosystem on-farm (DE SOUZA ALMEIDA et al., 2017; NIETO et al., 2017; MADON et al., 2018; CHAVES et al., 2021). Hybridization between *Oenocarpus* genus has been documented to occur spontaneously in nature but never was artificially performed for breeding purposes. Therefore, future efforts for on-farm palm improvement should focus on understanding the genetic and evolutionary processes during homoploid hybrid formation.

Once hybridization is purposely employed to take advantage of transient hybrid vigor, move desirable variation between lineages, and generate novel phenotypes, where the genus *Oenocarpus* represents an important economic group of interest. The genomic stability reported here suggests that artificial crosses are highly viable in the genus, which may be an important strategy in the development of agronomically advantageous varieties.

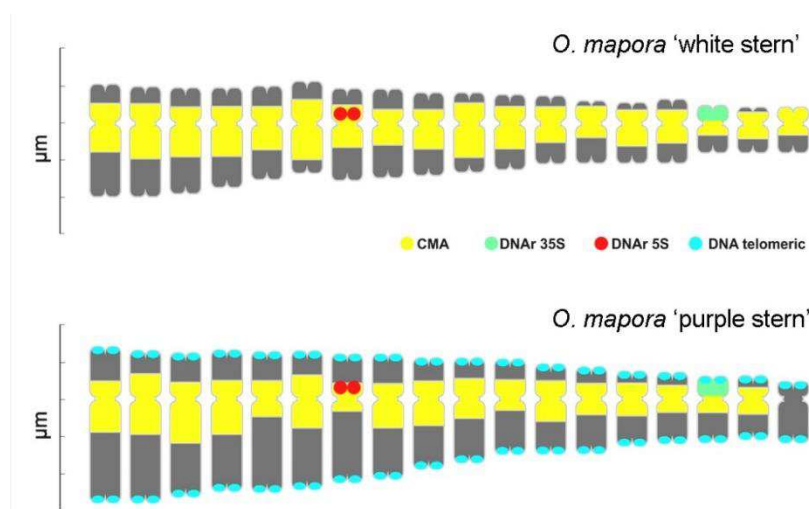


Fig 7. Comparative idiogram of the chromosomes of the two cultivars of *Oenocarpus mapora* arranged from largest to smallest. Yellow, red, green and blue signals represent bands of CMA, DNAr 5S and 35S and telomeric sequences, respectively.

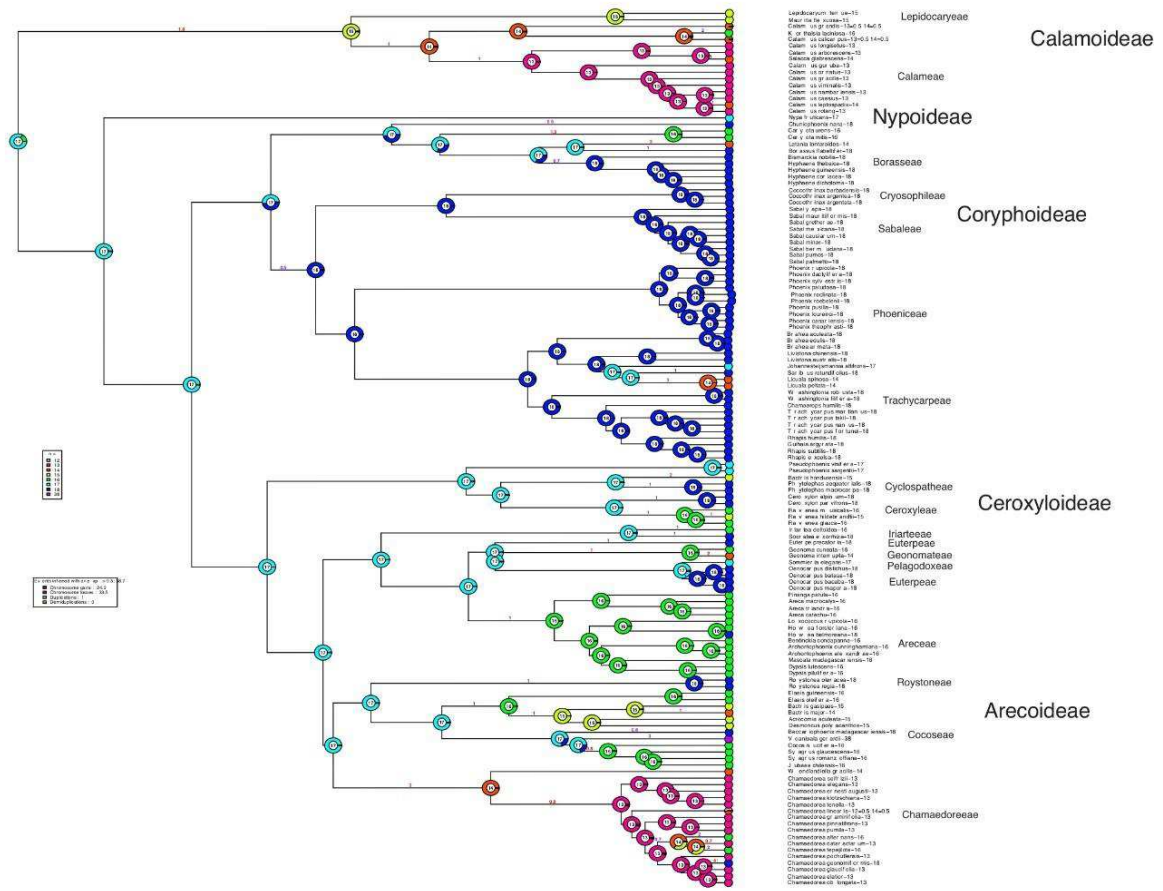


Fig 8. Ancestral chromosome number reconstruction with ChromEvol along the Arecoideae phylogeny.

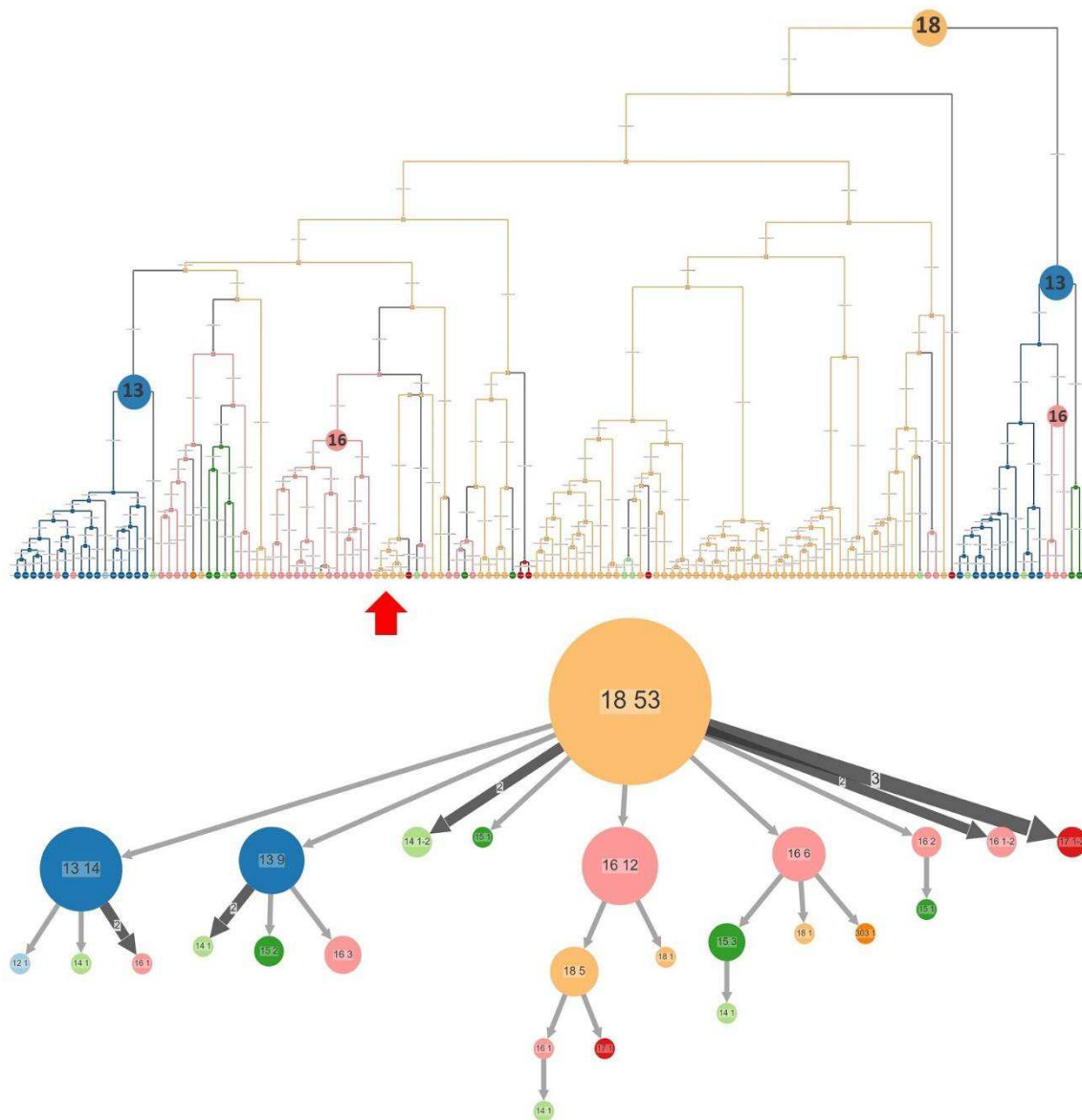


Fig 9. Ancestral chromosome number reconstruction with PastML along the Areaceae phylogeny shown in the maximum likelihood JOINT+F81 prediction methods. Bottom graphs show the PastML compressed node's view for each ancestral character reconstruction. The size of the ball indicates the frequency of the chromosome number in the reconstruction. The red arrow indicates the phylogenetic position of the genus *Oenocarpus*.

REFERENCES

- Agudo, A. B., Torices, R., Loureiro, J., Castro, S., Castro, M., & Álvarez, I. (2019). Genome size variation in a hybridizing diploid species complex in *Anacyclus* (Asteraceae: Anthemideae). *International Journal of Plant Sciences*, 180 (5), 374-385.
- Balick, M. J. (1986). Systematics and Economic Botany of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex. *Advances in Economic Botany* 3: 1-140.
- Castilho, A., Vershinin, A., & Heslop-Harrison, J. S. (2000). Repetitive DNA and the chromosomes in the genome of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Annals of Botany*, 85 (6), 837-844.
- Chaves, S. F. D. S., Alves, R. M., & Dias, L. A. D. S. (2021). Contribution of breeding to agriculture in the Brazilian Amazon. I. Açaí palm and oil palm. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 21.
- Cavalcante, P. B. (1991). *Frutas comestíveis da Amazônia*. 5 ed. Belém: Edições CEJUP: CNPq: Museu Paraense Emílio Goeldi, 279 p.
- De Souza Almeida, C. C., De Lemos Carvalho, P. C., & Guerra, M. (2007). Karyotype differentiation among *Spondias* species and the putative hybrid Umbu-cajá (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155 (4), 541-547.
- Flowers, J. M., Hazzouri, K. M., Gros-Balthazard, M., Mo, Z., Koutroumpa, K., Perrakis, A., & Purugganan, M. D. (2019). Cross-species hybridization and the origin of North African date palms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116 (5), 1651-1658.
- Gaiero, P., Mazzella, C., Vaio, M., e Silva, A. B., Santiñaque, F. F., López-Carro, B., & Guerra, M. (2012). An unusually high heterochromatin content and large genome size in the palm tree *Trithrinax campestris* (Arecaceae). *Australian Journal of Botany*, 60 (4), 378-382.
- Glick, L., & Mayrose, I. (2014). ChromEvol: assessing the pattern of chromosome number evolution and the inference of polyploidy along a phylogeny. *Molecular biology and evolution*, 31 (7), 1914-1922.
- Guerra, S., Guerra, M., Mendes, S., dos Santos Soares Filho, W., & Pedrosa-Harand, A. (2020). Karyotype variability of sour orange (*Citrus aurantium* L.) and the origin of its heteromorphic karyotypes. *Tree Genetics & Genomes*, 16 (6), 1-10.
- Höhna, Heath, Boussau, Landis, Ronquist, Huelsenbeck. (2014). Probabilistic graphical model representation in phylogenetics. *Systematic Biology* 63:753–771.
- Jackson, T. A., Crawford, J. W., Traeholt, C., & Sanders, T. A. B. (2019). Learning to love the world's most hated crop. *Journal of Oil Palm Research*, 31(September), 331-347.

- Kahn, F. (1997). The palms of Eldorado. Orstom Editions, Editions Champflour, *The International Palm Society*, 252 p.
- K.-B. Lim, J. Wennekes, J. H. de Jong, E. Jacobsen, J. M. van Tuyl (2001). Karyotype analysis of *Lilium longiflorum* and *Lilium rubellum* by chromosome banding and fluorescence in situ hybridization, *Genome*, 44, pp. 911-918.
- Leitman, P., Henderson, A., Noblick, L., Martins, R. C., & Soares, K. (2015). *Arecaceae in Lista de espécies da flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Sadder, M.T., Weber, G. (2001). Karyotype of maize (*Zea mays* L.) mitotic metaphase chromosomes as revealed by fluorescence in situ hybridization (FISH) with cytogenetic DNA markers *Plant Mol Biol Rep*, 19, pp. 117-123.
- Madon, M., Nordiana, H. M. N., Azwan, Z. M., & Zaki, N. M. (2020). Breeding and Improvement of the Oil Palm Interspecific Hybrids via Molecular Cytogenetics. In *The Oil Palm Genome* (pp. 25-33). Springer, Cham.
- Martin, S. L., Lujan-Toro, B. E., Sauder, C. A., James, T., Ohadi, S., & Hall, L. M. (2019). Hybridization rate and hybrid fitness for *Camelina microcarpa* Andr. ex DC (♀) and *Camelina sativa* (L.) Crantz (*Brassicaceae*)(♂). *Evolutionary applications*, 12 (3), 443-455.
- Maurício Antônio Lopes et. al. (2011) Pré-melhoramento de plantas; Editora: Embrapa.
- Mendes, G. G. C., de Gusmão, M. T. A., Martins, T. G. V., Rosado, R. D. S., Sobrinho, R. S. A., Nunes, A. C. P., ... & Zanuncio, J. C. (2019). Genetic divergence of native palms of *Oenocarpus distichus* considering biometric fruit variables. *Scientific reports*, 9 (1), 1-9.
- Miranda, I. P. de A. et al. (2001). *Frutos de palmeiras da Amazônia*. Manaus: INPA. 118 p.
- Montúfar, R., Laffargue, A., Pintaud, J. C., Hamon, S., Avallone, S., & Dussert, S. (2010). *Oenocarpus bataua* Mart. (Arecaceae): Rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87 (2), 167-172.
- Moscoso, V., Albernaz, A. L., & de Paiva Salomão, R. (2013). Niche modelling for twelve plant species (six timber species and six palm trees) in the Amazon region, using collection and field survey data. *Forest ecology and management*, 310, 652-662.
- Oliveira, L. C., de Oliveira, M., Davide, L. C., & Torres, G. A. (2016). Karyotype and genome size in *Euterpe* Mart. (Arecaceae) species. *Comparative cytogenetics*, 10 (1), 17-25.
- Oliveira Junior, R. G. de; Almeida, J. R. G. da S. (2012). Prospecção tecnológica de *Ananas comosus* (BROMELIACEAE). *Revista Geintec*, v. 2, n. 5, p.515-523.
- Ottewell, K., Grey, E., Castillo, F., & Karubian, J. (2012). The pollen dispersal kernel and mating system of an insect-pollinated tropical palm, *Oenocarpus bataua*. *Heredity*, 109 (6), 332-339.

- Pereira, T. N. S., Neto, M. F., de Souza, M. M., da Costa Geronimo, I. G., de Melo, C. A. F., & Pereira, M. G. (2017). Cytological characterization of Brazilian green dwarf coconut (*Cocos nucifera* L.) via meiosis and conventional and differential karyotyping. *Cytologia*, 82 (2), 167-174.
- Pichardo-Marcano, F. J., Nieto-Blázquez, M. E., MacDonald, A. N., Galeano, G., & Roncal, J. (2019). Phylogeny, historical biogeography and diversification rates in an economically important group of Neotropical palms: Tribe Euterpeae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 133, 67-81.
- Rambaut, A., & Drummond, A. J. (2015). *Tree Annotator*, v1. 8.2. MCMC Output analysis.
- Rambaut, A. (2014). *Fig Tree*, v1. 4.2, a graphical viewer of phylogenetic trees.
- Rice, A., & Mayrose, I. (2021). Model adequacy tests for probabilistic models of chromosome-number evolution. *New Phytologist*, 229 (6), 3602-3613.
- Röser, M. (1994). Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 189 (1), 83-122.
- Röser, M., Johnson, M. A. T., & Hanson, L. (1997). Nuclear DNA amounts in palms (Arecaceae). *Botanica Acta*, 110 (1), 79-89.
- Shanley, P., Serra M., Medina, G. (Ed.) (2010). Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Belém, PA: CIFOR: Embrapa Amazônia Oriental: *IMAZON*, 304 p.
- Santos Filho, A. F., Toro, M. U., & Ferreira, I. C. (2020). Estudo Fitoquímico, Enzimático e Capacidade Antioxidante da Polpa de Bacaba (*Oenocarpus Bacaba* Mart) Paraense. *Cientific@-Multidisciplinary Journal*, 7 (2), 1-17.
- Santos, Viana, Soares, Vieira, Martins, Nascimento, Teixeira-Costa. (2021). Industrial potential of Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) in powder: antioxidant activity, spectroscopic and morphological behavior. *Food Science and Technology*.
- Schley, R. J., Pellicer, J., Ge, X. J., Barrett, C., Bellot, S., Guignard, M. S., & Leitch, I. J. (2021). The Ecology of Palm Genomes: Repeat-associated genome size expansion is constrained by aridity. *bioRxiv*.
- Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus evolution*, 4 (1), vey016.
- Ter Steege, H., Pitman, N. C., Sabatier, D., Baraloto, C., Salomão, R. P., Guevara, J. E., ... & Silman, M. R. (2013). Hyperdominance in the Amazonian tree flora. *Science*, 342(6156).
- Xiao, Y., Xu, P., Fan, H., Baudouin, L., Xia, W., Bocs, S., ... & Yang, Y. (2017). The genome draft of coconut (*Cocos nucifera*). *Gigascience*, 6 (11), gix095.

Zaki, N. M., Schwarzacher, T., Singh, R., Madon, M., Wischmeyer, C., Hanim Mohd Nor, N., & Heslop-Harrison, J. S. (2021). Chromosome identification in oil palm (*Elaeis guineensis*) using in situ hybridization with massive pools of single copy oligonucleotides and transferability across Arecaceae species. *Chromosome Research*, 1-18.