

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

Hibridação interespecífica e predição da distribuição natural em
Astrocaryum aculeatum Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart.



MANAUS - AM
2021

ADRIEL LIRA CORDEIRO

Hibridação interespecífica e predição da distribuição natural em
Astrocaryum aculeatum Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Agronomia Tropical da Universidade Federal
do Amazonas, como requisito parcial à obtenção
do título de Doutor em Agronomia Tropical.

Orientadora: Dra. Maria Teresa Gomes Lopes
Co-orientadores: Dr. Santiago Linorio Ferreyra
Ramos
Dr. Magno Sávio Ferreira
Valente

MANAUS - AM
2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Cordeiro, Adriel Lira
C794h Hibridação interespecífica e predição da distribuição natural em
Astrocaryum aculeatum Mart. e Astrocaryum acaule Mart. / Adriel
Lira Cordeiro . 2021
133 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Teresa Gomes Lopes
Coorientador: Santiago Linorio Ferreyra Ramos
Coorientador: Magno Sávio Ferreira Valente
Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal
do Amazonas.

1. Arecaceae. 2. Análises multielementares. 3. Marcadores
moleculares microssatélites. 4. Citometria de fluxo. 5. Modelagem
de nicho climático. I. Lopes, Maria Teresa Gomes. II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título

ADRIEL LIRA CORDEIRO

Hibridação interespecífica e predição da distribuição natural de *Astrocaryum aculeatum* Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart.


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisitos parciais para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 14 de dezembro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Dra. Maria Teresa Gomes Lopes, Presidente
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)



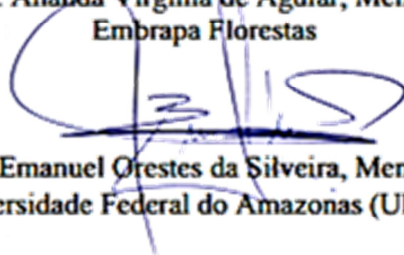
Dr. Gabriel Dequigiovanni, Membro
Univel Centro Universitário (UNIVEL)



Dr. Filipe Almendagna Rodrigues, Membro
Universidade Federal de Lavras (UFLA)



Dra. Ananda Virginia de Aguiar, Membro
Embrapa Florestas



Dr. Emanuel Orestes da Silveira, Membro
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

“... cada um colherá aquilo que tiver semeado.”
Gálatas 6, 7

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Vivo, Criador, fonte de inspiração, Sublime, Esplendoroso, Onipotente e Pai amoroso. Pelas graças alcançadas em Teu Nome.

Aos irmãos do plano Espiritual que nos mais profundos momentos de desânimo me intuíram a levantar e continuar rumo à lei do progresso.

À minha amada esposa Cintia da Silva que foi acima de tudo companheira, compreensiva e paciente. Agente ativo na elaboração desta tese, que compartilho com grande alegria. A todos os momentos juntos e ausentes, que sejam recompensados.

Aos meus pais Maria Rita e Washington Peixoto que sempre investiram nos filhos, acreditando que o estudo é a melhor forma de conquistar nosso espaço no mundo. Obrigado pelo amor intenso que me incentiva e melhorar.

À minha querida orientadora Maria Teresa Gomes Lopes que através do seu profissionalismo, fez tudo acontecer e fluir nestes momentos nebulosos de pandemia. Acima de tudo, agradeço pelo seu lado humano nas questões pessoais. Dívidas impagáveis que terei. Eterna gratidão e que Deus ilumine todos os seus dias!

Ao amigo de longa data e coorientador Santiago Linorio Ferreyra Ramos, pelos conselhos, amizade, correções, “puxões de orelha” e pela oportunidade de abrir portas pessoais e profissionais. Vida longa a você!

Ao meu segundo coorientador Magno Sávio Ferreira Valente, companheiro de bancada e boas coletas. Pela ajuda nas análises e perguntas fora de hora. Obrigado por tudo!

Aos amigos e colegas do Laboratório de Melhoramento Vegetal - MGv da UFAM, Jennifer Tomaz, Caroline Bezerra, Jhon Paul, Lucinete Gomes, Brisa Flor e Suelen Cristina. Muito obrigado pelos nossos momentos de alegria (muitos), frustrações, gargalhadas, bancada, limpeza (principalmente), e por me ensinar que “andorinha só, não faz verão!”.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical (PPG-ATR) e a Universidade Federal do Amazonas (UFAM) que é uma casa para todos nós alunos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa implementada e pelos prazos estendidos em período de pandemia.

Ao Laboratório de Biologia Molecular (LTBM) do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) pelas injeções de genotipagens.

A toda a minha família, que apoiou desde o início essa grande odisséia.

A todos que participaram diretamente ou indiretamente no término desta tese de doutorado.

Muito obrigado!

RESUMO

As palmeiras nativas da Amazônia encontram-se em grande parte na condição silvestre ou semi-silvestre (pré-domesticadas), a exemplo de *Astrocaryum acaule* Mart. (tucumã) e *Astrocaryum aculeatum* Mart. (tucumã-do-Amazonas). O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização de populações e de híbridos interespecíficos naturais, bem como estudar a predição da distribuição atual e em cenários futuros de *A. aculeatum* e *A. acaule* nos biomas brasileiros para uso e conservação. No capítulo I: “Hibridação interespecífica natural em populações das palmeiras *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum* no Tarumã-Açu, Amazonas, Brasil” foram realizadas análises genético-populacionais e fenotípicas multielementares nas espécies na zona de ocorrência comum no Tarumã-Açu, na propriedade Najatuba, Manaus, Amazonas, Brasil. Foram analisados 97 indivíduos do local, previamente identificados quanto a espécie e supostos híbridos naturais, a partir de nove marcadores microssatélites. Foi realizada citometria de fluxo em cinco indivíduos de cada espécie e em supostos híbridos interespecíficos naturais. Análises multielementares por fluorescência de raios-X de reflexão total (TXRF) foram realizadas em nove indivíduos de *A. aculeatum*, sete de *A. acaule* e um híbrido interespecífico confirmado pelas análises genéticas. Alto conteúdo de informação genética foi observado, um total de 215 alelos. Maior conteúdo de DNA ocorreu no “Híbrido 01” quando comparado com a *A. acaule*, *A. aculeatum* e “Híbrido 02”. Foi possível detectar 23 elementos químicos, sendo cinco macronutrientes, sete micronutrientes, quatro elementos essenciais e sete elementos traço, que permitiram diferenciar as espécies e as suas relações com os híbridos. Dessa forma, concluem-se que marcadores microssatélites, citometria de fluxo e análise multielementar são técnicas eficientes que podem ser utilizadas para discriminar *A. acaule*, *A. aculeatum* e auxiliar na confirmação da hibridação interespecífica natural em zonas de coincidência, de ocorrência das espécies. No capítulo II: “Predição da distribuição geográfica das palmeiras amazônicas *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum* (Arecaceae)” foi analisado o efeito das mudanças globais na distribuição geográfica das espécies em cenários climáticos futuros, utilizando a modelagem de nicho ecológico. A modelagem foi baseada em variáveis bioclimáticas, incluindo temperaturas mínimas e máximas e precipitação pluvial, obtidos no site do *Worldclim*. As projeções futuras foram avaliadas em dois cenários

diferentes, com tendências de concentração de GEEs (*Representative concentration pathways*) - RCP = 4,5, menos pessimista, e RCP = 8,5, pessimista, com dois períodos (2020-2050 e 2051-2070). O algoritmo *Environmental Distance* apresentou maior similaridade quanto à distribuição da espécie com a área sob a curva com o valor discriminatório máximo (1,00). Tanto *A. acaule* quanto *A. aculeatum* possuem ocorrência potencial nos cinco biomas Brasileiros (Amazônia, Pantanal, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica). Os padrões de dispersão foram muito similares entre as duas palmeiras, mas os resultados evidenciam que *A. aculeatum* é uma espécie menos resistente e sensível às variações climáticas. Sendo assim, conclui-se que *A. acaule* é mais resiliente às mudanças climáticas futuras, podendo recolonizar a porção sul da Amazônia no cenário RCP 8.5, em 2070, além das áreas comuns à *A. aculeatum*.

Palavras-chave: Arecaceae, Análises multielementares, Marcadores moleculares microssatélites, Citometria de fluxo, Modelagem de nicho climático.

ABSTRACT

Palm trees native to the Amazon are largely found in wild or semi-wild (pre-domesticated) condition, such as *Astrocaryum acaule* Mart. (tucumã) and *Astrocaryum aculeatum* Mart. (tucumã-do-Amazonas). This body of work aimed to characterize populations and natural interspecific hybrids as well as study the forecasting of current distribution and future scenarios of *A. aculeatum* and *A. acaule* in Brazilian biomes for use and conservation. In Chapter I: "Natural interspecific hybridization in populations of *Astrocaryum acaule* and *Astrocaryum aculeatum* palm trees in Tarumã-Açu, Amazonas, Brazil" multielement genetic-population and phenotypic analyses were performed on species in the common occurrence zone of Tarumã-Açu, on the Najatuba property, Manaus, Amazonas - Brazil. 97 individuals from the site previously identified species and supposed natural hybrids were analyzed using nine microsatellite markers. Flow cytometry was performed on five individuals from each species and on supposed natural interspecific hybrids. Multielementary analyses by total reflection X-ray fluorescence (TXRF) were performed on nine individuals of *A. aculeatum*, seven of *A. acaule* and one interspecific hybrid confirmed by genetic analysis. High genetic information content was observed in a total of 215 alleles. Higher DNA content occurred in "Híbrido 01" when compared to *A. acaule*, *A. aculeatum* and "Híbrido 02". It was possible to detect 23 chemical elements, five macronutrients, seven micronutrients, four essential elements and seven trace elements, which allowed us to differentiate the species and their relationships with the hybrids. Thus, it was concluded that microsatellite markers, flow cytometry and multielement analysis are efficient techniques that can be used to discriminate *A. acaule*, *A. aculeatum* and help to confirm the natural interspecific hybridization in coincidence zones of occurrence. In Chapter II: "Prediction of the geographic distribution of *Astrocaryum acaule* and *Astrocaryum aculeatum* (Arecaceae) Amazonian palms", the effect of global changes on the geographic distribution of species in future climate scenarios was analyzed utilizing ecological niche modeling. The modeling was based on bioclimatic variables, including minimum and maximum temperatures and rainfall, obtained from the Worldclim website. Future projections were evaluated using two different scenarios, with trends in the concentration of GHGs (Representative Concentration Pathways) - RCP = 4.5, less pessimistic, and RCP = 8.5, pessimistic, in two periods (2020-2050 and 2051- 2070).

The Environmental Distance algorithm showed greater similarity regarding the distribution of the species with the area under the curve with the maximum discriminatory value (1.00). Both *A. acaule* and *A. aculeatum* have potential occurrence in the five Brazilian biomes (Amazon, Pantanal, Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest). The dispersal patterns were very similar between the two palms. Moreover, the results showed that *A. aculeatum* is a less resistant species and is sensitive to climatic variations. Therefore, it is concluded that *A. acaule* is more resilient to future climate changes, being able to recolonize the southern portion of the Amazon in the RCP 8.5 scenario, in 2070, in addition to areas common to *A. aculeatum*.

Keywords: Arecaceae, multi-element analyses, microsatellite molecular markers, flow cytometry, climate niche modeling.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Populações naturais de tucumã-do-amazonas (*Astrocaryum aculeatum*). Fonte: http://www.pacsoa.org.au/w/images/9/92/astrocaryum_aculeatum02.jpg 29
- Figura 2.** Distribuição da riqueza de espécies da subfamília arecoideae segundo Eiserhardt et al.,(2011). 29
- Figura 3.** Frutos do *Astrocaryum aculeatum*. A- fruto comercializado *in natura*. B – constituintes internos do fruto. Fonte: Jeferson Luis Vasconcelos de Macêdo. 30
- Figura 4.** Tucumá (*Astrocaryum acaule*) com representação da esparta com frutos (esquerdo), estrutura da palmeira (central) e fruto (direito). 31
- Figura 5.** A) sementes *in natura* de tucuma-í (*Astrocaryum acaule*). B) cacho de sementes ainda presos na esparta..... 33
- Figura 6.** Classes de marcadores moleculares desenvolvidas durante a década de 1960 a 2003..... 37
- Figura 7.** Dois principais processos que explicam a diversidade em locos microssatélites. A) representação do escorregão da dna polimerase durante a replicação do dna. Quando o pareamento desigual ocorre na fita nascente (esquerda), um “loop” se forma e a unidade de repetição nessa estrutura é desconsiderada na correção, formando um alelo maior. Durante o processo inverso, o “loop” ocorre na fita molde, promovendo a formação de um alelo menor. B) *crossing over* desigual durante a meiose pode promover trocas de unidades de repetições, gerando alelos maiores e menores em cromossomos homólogos 39
- Figura 8.** Mapa de localização das plantas de *A. acaule* e *A. aculeatum* estudadas. 60
- Figura 9.** Dendrograma gerado pelo programa mega x, com base na distância genética obtida pelo programa genalex v.6.5 (peakall e smouse, 2012) e método de agrupamento “neighbor-joining” em genótipos de *Astrocaryum aculeatum* (círculo amarelo), *Astrocaryum acaule* (quadrado vermelho) e possíveis híbridos interespecíficos naturais (triângulo verde). Coeficiente de correlação cofenética: $r = 0,5417$ 76
- Figura 10.** Estrutura populacional de 92 genótipos do gênero *astrocaryum*. A) *A. aculeatum*, possíveis híbridos interespecíficos e *A. acaule* obtida a partir do programa structure, segundo $k=2$. B) número de agrupamentos $k = 2$ com base no Δk de evanno et al. (2005). C) *A. aculeatum*, possíveis híbridos interespecíficos e *A. acaule* obtida a partir do programa structure, segundo $k=3$. D) número de agrupamentos $k = 3$ com base no Δk de Evanno et al. (2005). E) análise de escalonamento multidimensional não-métrico das distâncias genéticas entre genótipos do gênero *Astrocaryum*..... 77
- Figura 11.** Conteúdo de DNA médio estimado por citometria de fluxo em *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais. Médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o critério de agrupamento de scott e knott, a 5% de probabilidade. 79
- Figura 12.** Histogramas obtidos para as quantidades de dna nuclear de germoplasmas de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e de possíveis híbridos interespecíficos naturais. Os conteúdos de DNA (mpb - megapares de base) são apresentados no eixo das abscissas e o número de núcleos lidos por fluorescência se encontram no eixo das ordenadas. 80

- Figura 13.** Características do híbrido interespecífico entre *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum*, confirmado por análises genéticas. A) aspecto do indivíduo “híbrido 01”. O exemplar encontra-se em área de sub-bosque pouco sombreada, rodeado de outros indivíduos de *A. aculeatum* (seta vermelha). B – c) frutos em fase de maturação e ráquias contendo frutos. D) comparação do tamanho dos frutos das três espécies. Nota-se o tamanho intermediário dos frutos do híbrido interespecífico, mesmo em estado final de maturação. E) “híbrido 01” antes da coleta do material foliar, servindo de substrato para a trepadeira tajá imbé (*Philodendron appendiculatum*) e ninho de cupim, subordem isoptera (seta vermelha). Esparta contendo poucos frutos em maturação (seta branca). 83
- Figura 14.** Características dos genótipos de tucumã amostrados na área do tarumã, em manaus – am. A) híbrido interespecífico identificado por marcadores moleculares e citometria de fluxo. B) genótipo de *Astrocaryum acaule*. C) genótipo de *Astrocaryum aculeatum*. 84
- Figura 15.** Períodos de florescimento e produção de frutos no período de 12 meses. A) *Astrocaryum acaule* (vermelho). B) *Astrocaryum aculeatum* (azul). Modificado Costa et al. (2005). 85
- Figura 16.** Boxplot da dispersão e médias entre os macronutrientes magnésio (mg), potássio (k), enxofre (s), fósforo (p) e cálcio (ca). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram outliers. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico mean-whitney. 87
- Figura 17.** Boxplot da dispersão e médias entre os micronutrientes cloros (cl), ferro (fe), manganês (mn), zinco (zn), cobre (cu), níquel (ni), cobalto (co). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram outliers. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico mean-whitney. 88
- Figura 18.** Boxplot da dispersão e médias entre os elementos benéficos silício (si), titânio (ti), selênio (se), ítrio (y). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram outliers. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico mean-whitney. 89
- Figura 19.** Boxplot da dispersão e médias entre os elementos traço gálio (ga), iodo (i), bromo (br), rubídio (rb), estrôncio (sr), cromo (cr), arsênio (as). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram outliers. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico mean-whitney. 91
- Figura 20.** Análise de agrupamento (upgma) a partir da distância euclidiana média entre sete genótipos de *A. acaule*, nove genótipos de *A. aculeatum* e um híbrido interespecífico, com base em análises de elementos químicos presentes no tecido foliar. Coeficiente de correlação cofenética: $r = 0,8879$. A linha horizontal tracejada representa o corte estimado pelo método de mojema (1977). Ai - *A. acaule*, ac - *A. aculeatum*, h - híbrido interespecífico. 92
- Figura 21.** Análise de escalonamento multidimensional não-métrico das distâncias genéticas entre sete genótipos de *A. acaule*, nove genótipos de *A. aculeatum* e um híbrido interespecífico, com base nas análises elementares de tecido foliar. 93
- Figura 22.** Análise de componentes principais (pca). As elipses indicadas no gráfico representam as regiões de confiança para caracterização dos grupos analisados. 93
- Figura 23.** Pontos De Ocorrência De *Astrocaryum acaule* (A) e *Astrocaryum aculeatum* (B) no Território Brasileiro. 112

Figura 24. Modelagem da distribuição de nichos de <i>Astrocaryum acaule</i> nos períodos 2020 (a), 2050 (b) e 2070 (c) segundo o cenário rcp 4.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi envelope score.	114
Figura 25. Modelagem da distribuição de nichos de <i>Astrocaryum acaule</i> nos períodos 2020 (a), 2050 (b) e 2070 (c) segundo o cenário rcp 8.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi envelope score.	115
Figura 26. Áreas (Km2) De distribuição em <i>Astrocaryum acaule</i> Segundo Cenário Rcp 4.5 Nos Cinco Biomas Analisados.	117
Figura 27. Áreas (Km2) De distribuição em <i>Astrocaryum acaule</i> Segundo Cenário Rcp 8.5 nos cinco biomas analisados.	117
Figura 28. Modelagem da distribuição de nichos de <i>Astrocayum aculeatum</i> nos períodos 2020 (a), 2050 (b) e 2070 (c), segundo o cenário rcp 4.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi envelope score.	120
Figura 29. Modelagem da distribuição de nichos de <i>Astrocayum aculeatum</i> nos períodos 2020 (a), 2050 (b) e 2070 (c) segundo o cenário rcp 8.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi envelope score.	121
Figura 30. Áreas (Km2) De Distribuição Em <i>Astrocaryum aculeatum</i> Segundo Cenário Rcp 4.5 Nos Cinco Biomas Analisados.	122
Figura 31. Áreas (km2) de distribuição em <i>Astrocaryum aculeatum</i> segundo cenário rcp 8.5 nos cinco biomas analisados.	123

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Locos microssatélites com amplificação positiva para *Astrocaryum aculeatum* e *Astrocaryum acaule*. As sequências iniciais do primer forward apresentam sequências comuns (m13) para uso de fluorescências, segundo método econômico de schuelke (2000). 63
- Tabela 2.** Comparação do número de alelos e tamanho do alelo por loco encontrado em espécies de *Astrocaryum* obtidos por ramos et al. (2012), oliveira et al. (2017) e no presente estudo..... 68
- Tabela 3.** Parâmetros de diversidade genética ao nível dos locos microssatélite obtidos para indivíduos de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e possíveis híbridos interespecíficos naturais..... 69
- Tabela 4.** Estimativas médias dos parâmetros de diversidade genética e índice de fixação (f) estimados a nível de espécies para indivíduos de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e possíveis híbridos interespecíficos naturais. 71
- Tabela 5.** Teste do qui-quadrado (χ^2) para equilíbrio de hardy weinberg (ehw) em genótipos amostrados de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais. 72
- Tabela 6.** Estimativas da estatística f de wright (1951) e partição da variação genética a partir de quatro locos microssatélites para *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais. 73
- Tabela 7.** Lista das principais espécies de palmeiras amazônicas de valor comercial, segundo diversidade genética baseada em locos microssatélites. 74
- Tabela 8.** Agrupamento dados genótipos de *Astrocaryum* pelo método de otimização de tocher..... 76
- Tabela 9.** Conteúdo 2c de dna estimado por citometria de fluxo com seus respectivos coeficientes de variação em genótipos de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais. 79
- Tabela 10.** Lista das principais espécies de palmeiras amazônicas de valor comercial, segundo tamanho dos genomas em gigabase (taxa de conversão 1 pg = 978 mb) e conteúdo 2c, obtidos por citometria de fluxo. 82
- Tabela 11.** Médias dos teores (mg.kg⁻¹) dos componentes inorgânicos em folhas de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e híbrido interespecífico. 86
- Tabela 12.** Variáveis bioclimáticas selecionadas para uso na modelagem da predição de ocorrência da espécie em estudo, com o código e sua correspondência, variável..... 111
- Tabela 13.** Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum acaule* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo rcp 4.5 em todos os períodos avaliados. 118
- Tabela 14.** Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum acaule* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo rcp 8.5 em todos os períodos avaliados. 118
- Tabela 15.** Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum aculeatum* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo rcp 4.5 em todos os períodos avaliados..... 123

Tabela 16. Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum aculeatum* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo rcp 8.5 em todos os períodos avaliados..... 124

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µl -	Microlitro	I -	Iodo
A -	Número de alelos	I -	Índice de diversidade de Shannon
AFLP -	Amplified Fragment Length Polymorphism	IPCC -	Intergovernmental Panel on Climate Change
Al -	Alumínio	K -	Potássio
AMOVA -	Analysis of Molecular Variance	keV -	Mil elétrons-volt
AR5 -	Assessment Report 5	Km² -	Quilômetro quadrado
		LGM -	Last Glacial Maximum
As -	Arsênio	M.A -	Milhões de anos
Au -	Ouro	MCMC -	Markov Chain Monte Carlo
AUC -	Area Under the Curve	Mg -	Magnésio
Ba -	Bário	mg -	Milígrama
Br -	Bromo	mL -	Mililitro
Ca -	Cálcio	mm -	Milímetro
CH4 -	Metano	Mn -	Manganês
CIA -	Chloroform with Isoamyl Alcohol	MPB -	Megapares de base
Cl -	Cloro	N -	Número de indivíduos analisados
Co -	Cobalto	N₂O -	Óxido Nitroso
CO2 -	Monóxido de Carbono	NA -	Número médio de alelos por loco
Cr -	Crômio	Nb -	Nióbio
CRIA -	Centro de Referência em Informação Ambiental	NE -	Número efetivo de alelos
CTAB -	Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide	ng -	Nanograma
Cu -	Cobre	Ni -	Níquel
CV -	Coefficientes de variação	NMDS -	Escalonamento Multidimensional não Métrico
DNA -	Ácido Desoxirribonucleico	P -	Fósforo
EDTA -	Ethylenediamine tetraacetic acid	Pb -	Chumbo
EHW -	Equilíbrio de Hardy-Weinberg	Pb -	Pares de base
ENM -	Ecological Niche Modelling	PCA -	Principal Component Analysis
F -	Índice de fixação	PCR -	Polimerase Chain Reaction
Fe -	Ferro	Pg -	Picograma
FIS -	Endogamia dentro da população	Rb -	Rubídio
FIT -	Endogamia total	Rb -	Rubídio,
Fr -	Frâncio	RCP -	Representative Concentration Pathways
FST -	Endogamia entre populações	S -	Enxofre
Ga -	Gálio	Sb -	Antimônio
GDA -	Genetic Data Analysis	Sc -	Escândio
Ge -	Germânio	Se -	Selênio
GEEs -	Gases do Efeito Estufa	SETEC -	Laboratório técnico científico de análise química
GL -	Grau de liberdade	Si -	Silício
H_E -	Heterozigosidade esperada	Sn -	Estanho
Hf -	Háfnio	Sr -	Estrôncio
Hg -	Mercúrio	SSR -	Simple Sequences Repeats
H_O -	Heterozigosidade observada		

Stress - Squares	Standard Residuals Sum of	UFLA - Lavras	Universidade Federal de
TBE -	Tris + Boric Acid + EDTA	UPGMA -	Unweighted Pair-Group
Te -	Telúrio	Method using Arithmetic Averages	
Ti -	Titânio	V -	Vanádio
Tl -	Tálio	V -	Volts
Tl -	Tálio,	W -	Tungstênio
Tris-HCl -	Tris hydrochloride	X2 -	Estimativa do qui-quadrado
TXRF -	Fluorescência de Raio-x por	Y -	Ítrio
Refração Total		Yb -	Itérbio
UFAM - Amazonas	Universidade Federal do	Zn -	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS.....	24
2.1. Objetivo geral.....	24
2.2. Objetivos específicos.....	24
3. REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1. Família arecaceae e potencial econômico das palmeiras	25
3.2. Gênero <i>Astrocaryum</i>	26
3.3. <i>Astrocaryum aculeatum</i>	27
3.3.1. Importância econômica	27
3.3.2. Aspectos ecológicos	27
3.3.3. Aspectos botânicos e taxonômicos	28
3.4. <i>Astrocaryum acaule</i>	30
3.4.1. Importância econômica	30
3.4.2. Aspectos ecológicos	31
3.4.3. Aspectos botânicos e taxonômicos	32
3.5. Estudos genéticos populacionais em <i>Astrocaryum</i>	33
3.6. Hibridação interespecífica em espécies vegetais.....	34
3.7. Marcadores moleculares utilizados em genética e melhoramento vegetal	36
3.7.1. Marcadores microssatélites.....	37
3.8. Citometria de fluxo e o estudo de genomas.....	39
3.9. As mudanças no clima e consequências na agricultura.	40

3.10. Os modelos de projeção climática.	41
3.11. Modelagem climática usando distribuição geográfica e nichos ecológicos.....	42
3.12. Modelagem climática usando palmeiras (Arecaceae).....	42
4. REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO I. Caracterização genética de populações das palmeiras <i>Astrocaryum acaule</i> e <i>Astrocaryum aculeatum</i> (Arecaceae) e híbrido interespecífico natural na Região Amazônica, Brasil.	54
RESUMO	54
ABSTRACT	56
INTRODUÇÃO.....	57
MATERIAL E MÉTODOS.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
CONCLUSÕES.....	95
REFERÊNCIAS	96
CAPÍTULO II. Predição da distribuição geográfica das palmeiras amazônicas <i>Astrocaryum acaule</i> e <i>Astrocaryum aculeatum</i> (Arecaceae).....	106
RESUMO	106
ABSTRACT	107
INTRODUÇÃO.....	108
MATERIAL E MÉTODOS.....	110
RESULTADOS.....	111
DISCUSSÃO.....	124
CONCLUSÕES.....	127
REFERÊNCIAS	128
CONSIDERAÇÕES FINAIS	133

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Astrocaryum* compõe cerca de 40 espécies de palmeiras que pertencem à família Arecaceae e distribuem-se ao longo de doze países latino-americanos, abrangendo parte da América do Sul e América Central (KAHN, 2008). As espécies deste gênero distribuem-se desde áreas de terra-firme, até as proximidades de áreas alagadiças. Esta característica estaria relacionada à sua notável adaptação em ambiente com muitas variações de clima e solo (SALM et al., 2015) e possivelmente influenciada pelo padrão de dispersão por ações antrópicas (exploração e domesticação) (IRIARTE et al., 2020), zoocóricas por roedores dispersores (JORGE e HOWE, 2009; PIRES e GALETTI, 2012; PALMER e KOPROSKI, 2014) e eventos biogeográficos (RONCAL et al., 2012; RONCAL et al., 2015).

Dentro do gênero *Astrocaryum*, *Astrocaryum aculeatum* Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart. são espécies distintas fenotipicamente em distribuição geográfica, ambiental e econômica. *A. aculeatum* Mart., conhecida como “tucumã-do-Amazonas”, é uma das espécies muito apreciada como frutífera na região norte do Brasil. O uso da polpa de seus frutos na alimentação tem despertado o interesse regional, no entanto é uma espécie considerada não domesticada e alvo do extrativismo. A espécie encontra-se distribuída no norte da Bolívia, parte da Amazônia Colombiana, Venezuela, Guiana, Suriname e norte do Brasil. *A. aculeatum* é muito comum em florestas secundárias e pouco encontradas em florestas primárias (KAHN e GRANVILLE, 1992).

Astrocaryum acaule Mart., conhecida como tucumã-í, possui frutos comestíveis, mas com tamanho reduzido comparado a *A. aculeatum*. A sua maior relevância é no uso da semente no desenvolvimento de biojóias e as folhas para extração de fibras para a produção de tecidos naturais (PACHECO et al., 2011). A espécie possui o caule subterrâneo, que facilita a coleta dos frutos e das folhas, uma vez que as folhas saem diretamente do solo e o pedúnculo da espádice com os frutos cresce entre as folhas (WALLACE, 2014). *A. acaule* encontra-se distribuída no norte do Brasil, Colômbia, Venezuela e Guiana (KAHN e GRANVILLE, 1992) e muita vez encontra-se associada ou próxima a populações de *A. aculeatum*.

O estudo de filogenia realizado na família Arecaceae mostra a evidência da proximidade filogenética entre as espécies *A. aculeatum* e *A. acaule*, as quais fazem parte de um mesmo grupo dentro do gênero *Astrocaryum* (RONCAL et al., 2012). Se

for considerado o processo de reprodução sexuada e fluxo gênico nestas espécies (RAMOS et al., 2016), juntamente com as informações de filogenia, seria possível ter uma disponibilidade de *pool* gênico primário e secundário (HARLAN e DE WET, 1971; HAMMER et al., 2003) das espécies *A. aculeatum* e *A. acaule*. O *pool* gênico secundário contribui para obtenção de híbridos interespecíficos entre estas duas espécies, visto que as áreas de hibridação natural ocorrem em regiões onde as duas espécies ocorrem em simpatria (TURCHETTO et al., 2015). Estes eventos de hibridação permitem oportunidades para a investigação do processo de especiação e compreensão das barreiras reprodutivas que estão atuando e mantendo o limite entre as espécies. O sucesso dessas hibridações pode ampliar a base genética das espécies e alterar o comportamento reprodutivo das populações (TURCHETTO et al., 2015).

A investigação da composição genética de tais populações permite formular hipóteses sobre os eventos e mecanismos que fazem com que o limite entre as espécies surja e seja mantido (MORAES et al., 2013). No entanto, se para algumas espécies a hibridação interespecífica tem se mostrado a limitação de barreiras, para palmeiras do mesmo gênero mostrou a possibilidade de ampliação de variabilidade genética. Fato que pode ser explorado no melhoramento genético (CUNHA et al., 2009) ou ainda uma fonte de introdução de genes que pode facilitar a perpetuação de espécies no processo evolutivo.

Os híbridos interespecíficos podem ser identificados utilizando marcadores moleculares ou pela técnica de citometria de fluxo. A informação filogenética reforça que pode existir *locos* microssatélites compartilhados entre *A. aculeatum* e *A. acaule*. Frequentemente, marcadores microssatélites possuem regiões periféricas aos *locos* altamente conservadas, permitindo que iniciadores sejam utilizados em outras espécies taxonomicamente próximas (LOPES et al., 2010). *Locos* microssatélites desenvolvidos para *A. aculeatum* e *Euterpe precatoria* (RAMOS et al., 2012; 2016b) foram utilizados para testes heterólogos em *A. acaule*. Assim, os marcadores moleculares permitiram confirmar descendências comuns entre as espécies em estudo e evidências de cruzamentos interespecíficos. A técnica de citometria de fluxo é uma ferramenta para o estudo de genomas vegetais e apresenta diversas aplicações, como em trabalhos de melhoramento vegetal e taxonomia (LOUREIRO e SANTOS, 2004; BRAGA et al., 2016). Nesta análise, o conteúdo em DNA nuclear de células em interfase é uma alternativa aos métodos clássicos de coloração e contagem de cromossomos ao

microscópio. Esta é uma metodologia que vem sendo utilizada em diferentes áreas, que vão desde a investigação da genética básica e do melhoramento de plantas (LOUREIRO, 2007). Em particular nesta pesquisa, a metodologia foi utilizada para auxiliar na identificação de híbridos interespecíficos e descendentes de cruzamentos *A. aculeatum* e *A. acaule*.

Apesar de relatos sobre o sucesso de hibridação interespecífica na ampliação da variabilidade genética em palmeiras de valor comercial, a exemplo de *Eales guineensis* e *Elaes oleifera* (CUNHA et al., 2009), as demais espécies de palmeiras alvo do extrativismo, também são afetadas por ações de desflorestamento na Amazônia e mudanças climáticas. A Modelagem de Nichos Ecológicos (ENM) é uma ferramenta preditiva dos nichos fundamentais de uma determinada espécie com base em variáveis climáticas. Sua utilização pode auxiliar no delineamento de planos de conservação, pois infere a distribuição potencial que uma espécie possa ter no espaço-tempo (PETERSON et al., 2012; MELO-MERINO et al., 2020). Em palmeiras Amazônicas, a ferramenta também foi utilizada para entender a paleodistribuição de populações de burití (*Mauritia flexuosa*) (LIMA et al., 2014) e no impacto das mudanças climáticas na produtividade do açazeiro (*Euterpe oleracea*) (VAZ e NABOUT, 2016). Para *A. acaule* e *A. aculeatum*, os cenários futuros mostram uma acentuada queda nas áreas potenciais de ocupação dessas palmeiras na Amazônia, reduzida a pequenos refúgios de florestas.

As reduções no tamanho das populações com o avanço dos desmatamentos podem provocar gargalos e perdas significativas da heterozigosidade genética de populações ou espécies (HARTL e CLARK, 2007). A perda de biodiversidade é a principal consequência do desflorestamento na Amazônia, sendo também, totalmente irreversível. Muitas espécies vegetais da Amazônia estão na lista de espécies oficiais brasileiras ameaçadas de extinção devido ao extrativismo ou devido ao desmatamento. A redução de populações naturais aumenta a taxa de endogamia e com o tempo pode levar a níveis mais baixos de adaptação, e consequente redução da resistência a patógenos e capacidade de responder às mudanças ambientais (AL-RABAB'AH e WILLIAMS, 2004).

Esta tese se divide em dois capítulos inter-relacionados: no capítulo I foi proposto o uso da Citometria de Fluxo e Marcadores Moleculares Microsatélites para confirmação de descendências de híbridos interespecíficos naturais entre *A. aculeatum* e *A. acaule*. De forma complementar, foi realizada a análise dos principais elementos

químicos por TXRF (Fluorescência de Raios-X por dispersão total), presentes nas folhas de ambas as espécies e híbridos com o intuito de realizar a caracterização fenotípica multielementar. No capítulo II foi feita a modelagem de cenários climáticos futuros, utilizando a Modelagem de Nicho Ecológico (ENM) para investigar o efeito das mudanças globais na distribuição geográfica de *A. acaule* e *A. aculeatum* nos principais biomas brasileiros. Com finalidade de se obter informações de como fatores climáticos, genéticos e biogeográficos podem influenciar a distribuição das populações de *A. acaule* e *A. aculeatum*, assim como ajudar na decisão de futuros planos de manejo e conservação dessas palmeiras.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- ✓ Realizar caracterização genética em populações de *Astrocaryum aculeatum* Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart. e identificar seus híbridos interespecíficos, bem como estimar a distribuição natural dessas espécies e prever cenários climáticos futuros por meio de Modelagem de Nichos Climáticos.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Otimizar a amplificação de microssatélites espécie-específicos e heterólogos a *A. aculeatum* e *A. Acaule* visando identificar locos específicos para a discriminação de polimorfismos nas populações e confirmação de hibridação interespecífica entre as espécies;
- ✓ Caracterizar a diversidade genética na população de *A. acaule* e *A. aculeatum* e identificar híbridos interespecíficos existentes na localidade do Tarumã (Manaus-AM) utilizando marcadores microssatélites;
- ✓ Caracterizar potenciais híbridos interespecíficos entre *A. acaule* e *A. aculeatum* utilizando citometria de fluxo;

- ✓ Caracterizar os teores dos componentes inorgânicos em folhas de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e híbrido interespecífico;
- ✓ Estimar a distribuição atual e predição em cenários climáticos futuros por meio de Modelagem de Nichos Climáticos, permitindo inferir a área de adaptação geográfica de *A. acaule* e *A. aculeatum* nos biomas Brasileiros.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Família Arecaceae e potencial econômico das palmeiras.

A família Arecaceae é grupo taxonômico que agrega todas as palmeiras, constituída por aproximadamente 1.500 espécies e 200 gêneros no mundo. Possui cerca de 80 M.A e são importantes para comunidades de animais dispersores e polinizadores. Para populações humanas, serve de alimento e fonte de matéria prima para materiais têxteis, alimento, óleos, medicina (EISENHARDT et al., 2011). No Brasil, ocorrem aproximadamente 39 gêneros e 264 espécies de palmeiras nativas (LEITMAN et al., 2013). Na Amazônia estima-se a ocorrência de 34 gêneros e 134 espécies, assim, o que caracteriza a Amazônia não é a riqueza de espécies de palmeiras, mas a abundância (HENDERSON, 1995).

As palmeiras são numerosas em espécies e em tipos biológicos, e são consideradas ótimos marcadores ecológicos, pois desempenham um papel de destaque no funcionamento dos ecossistemas florestais (KAHN e MOUSSA, 1997). Quanto ao clima, poucas espécies de palmeiras são encontradas em climas temperados. São abundantemente distribuídas em climas tropicais e subtropicais. Na Amazônia, são menos seletivas para a fertilidade do solo, possuindo grande riqueza de espécies. Áreas de terra firme possuem 3 vezes mais riqueza que áreas alagadiças, possivelmente em resposta a viabilidade e germinação das sementes (EISENHARDT et al., 2011).

Nas florestas úmidas, elas estão entre os principais componentes do dossel e são elementos muito vistos no sub-bosque (HENDERSON et al., 2000). São recursos disponíveis o ano todo e têm conteúdo nutritivo, caracterizando-se como fundamentais para as comunidades de animais frugívoros e polinizadores, principalmente nos períodos de escassez de alimentos (ZONA e HENDERSON, 1989).

Para o uso humano, são utilizadas na alimentação, em construção e fabricação de utensílios domésticos e ornamentos (BALICK, 1984; SULLIVAN et al., 1995). A grande variedade de produtos feitos a partir de palmeiras e o uso destes recursos caracterizam esta família botânica como uma das mais importantes fontes de produtos florestais não madeireiros. Nos trópicos, as comunidades locais dependem muito de produtos das palmeiras para geração de renda, sendo inúmera a diversidade de aproveitamento de produtos derivados dessas plantas (LOPES et al., 2015; MACÍÁ et al., 2011). Além do potencial alimentar, as palmeiras podem fornecer gorduras, óleos, essências, resinas, fibras, madeira e possuem também um grande potencial paisagístico (MIRANDA e RABELO, 2006).

No caso das palmeiras nativas da Amazônia, embora com grande potencial para o desenvolvimento agrícola, encontram-se em condição silvestre ou semi-silvestre e não existe sistemas de produção recomendados para o plantio. Apesar do uso intenso e diversificado, apenas alguns frutos de determinadas espécies possuem destaque econômico, tais como; a pupunha (*Bactris gasipaes*), buriti (*Mauritia flexuosa*), tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), côco (*Cocos nucifera*), açai (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*), assim como frutos ainda pouco manejados, como urucuri (*Attalea* spp.), inajá (*Maximiliana maripa*), jauari (*Astrocaryum jauari*) e o tucumã (*Astrocaryum acaule* Mart.) (LOPES et al., 2015).

3.2. Gênero *Astrocaryum*

O gênero *Astrocaryum* é composto por cerca de 40 espécies, sendo 36 nativas do Brasil. É o terceiro gênero mais diversificado depois de *Geonoma* e *Bactris*. Ocorre em habitats diversos com espécies acaules, de caule fino, grosso, alto, baixo, solitário ou cespitoso com muitos espinhos (KAHN e MILLÁN, 1992). Quanto a sua distribuição, ocorrem em doze países da América latina, abrangendo parte da América do Sul e América Central. Fora da Amazônia, encontram-se apenas em savanas e na floresta Atlântica (*Astrocaryum aculeatissimum*) (KAHN, 2008; DONATII et al., 2009). Devido sua notável aclimação em ambiente com muitas variações de clima e solo, e por possuírem pouca exigência nutricional do solo (SALM et al., 2015), ocorrem desde áreas de terra-firme, até as proximidades de áreas alagadiças. Sua dispersão foi influenciada por ações antrópicas (exploração e domesticação) (IRIARTE et al., 2020),

roedores dispersores (JORGE e HOWE, 2009; PIRES e GALETTI, 2012; PALMER e KOPROSKI, 2014) e eventos biogeográficos (RONCAL et al., 2012; RONCAL et al., 2015).

3.3. *Astrocaryum aculeatum*

3.3.1. Importância econômica

Existe uma demanda crescente de consumo do fruto do tucumã-do-amazonas. Seu comércio é intensificado na região da Amazônia Central, nas proximidades de Manaus, Amazonas (SCHROTH et al., 2004). Os resíduos subaproveitados, compostos pelo epicarpo (casca), endocarpo (caroço) e sementes (amêndoa), são fontes de alimentação de animais domésticos, artesanato e cosméticos (KAHN e MOUSSA, 1997).

O tucumã-do-amazonas começa a produzir tardiamente, quando atinge de 6 a 9 m de altura e com 7 anos após o plantio. Segundo COSTA et al. (2005), o tucumã-do-amazonas produz em média de 3 a 4 cachos por ano, com média de 240 frutos por cacho e a produtividade podendo alcançar 12 kg por ano. Exemplares excêntricos podem produzir até 50 kg por ano. Devido a essas características, o comércio deste fruto é realizado no regime extrativista, de populações espontâneas.

A polpa dos frutos representa 22% do seu peso, rica em vitamina A e auxiliando na manutenção da visão e desenvolvimento ósseo. Comumente é consumido na forma de sanduíche misto na cidade de Manaus e compõe parte da dieta matinal do amazonense (KAHN e MOUSSA, 1997). Em contrapartida, cerca de 55% da composição química do endocarpo da semente são óleos vegetais (FAO, 1987), que são descartados por não possuírem aproveitamento econômico. Barbosa et al. (2009) ressalta a importância do uso de plantas oleaginosas para produção do biodiesel e descreve uma metodologia para extração deste óleo a partir das amêndoas do tucumã-do-amazonas. Em um levantamento do valor comercial do *A. aculeatum*, entre os anos de 1995 e 2012 no município de Manaus, Didonet e Ferraz (2014) relataram aumento de 316% no valor real da dúzia do fruto de tucumã *in natura*, 253% da polpa e 230% da saca.

3.3.2. Aspectos ecológicos

O tucumã-do-amazonas ocorre em florestas de terra firme, proximidades de áreas alagadiças, áreas de capoeira, pastagens, roçados e possui elevada tolerância a solos degradados (FAO, 1987). Poucos indivíduos são encontrados em matas secundárias, ocorrendo cerca de duas vezes a mais em regiões de capoeira. Essas características fazem desta palmeira uma espécie foco na recuperação de áreas degradadas. Comumente são observados até 10 indivíduos por hectare e sua dispersão de pólen chega a 50 m. Tolera bem ao sombreamento em estágios iniciais de desenvolvimento (COSTA et al., 2005).

Esta palmeira não possui protocolo de propagação vegetativa, e sem a quebra de dormência de semente, a germinação pode demorar dois anos. Provavelmente, esse é o principal fator que limita seu cultivo. A dormência é explicada pela espessura do endocarpo pétreo que, impede a impregnação de água, dificulta a difusão do oxigênio e cria uma resistência física imposta pela própria estrutura. A remoção do endocarpo e embebição correta em água, evita o apodrecimento da semente e pode melhorar a germinação em até 58% (FERREIRA e GENTIL, 2006).

3.3.3. Aspectos botânicos e taxonômicos

A classificação taxonômica do *Astrocaryum aculearum* (Figura 1) é feita com base nas características de fruto, flores e partes vegetativas (KHAN, 2008), estando contida dentro da família Arecaceae, subfamília Arecoideae (Figura 2), tribo Bactridinae, gênero *Astrocaryum* (DRANSFIELD et al., 2005), subgênero *Astrocaryum*, seção *Astrocaryum* e subseção *Astrocaryum*. Suas sinonímias são: a) *A. tucuma* Mart.; b) *A. aureum* Griseb. e H. Wendl.; c) *A. caudenscens* Barb. Rodr.; d) *A. princeps* Barb. Rodr.; e) *A. jucuma* Linden; f) *A. manaoense* Barb. Rodr. e f) *A. macrocarpum* Huber. (KAHN e MILLÁN, 1992; HENDERSON e SCARIOT, 1993).

Esta palmeira apresenta caule em estipe solitário, ereto, atingindo até 30 m de altura. O tronco apresenta entrenós com presença e ausência de espinhos escuros, finos, longos e pungentes. Esta característica do estipe está relacionada com o crescimento da planta, o que indica que no anel que não apresenta espinhos, esteve presente a base de uma folha. O número de folhas em plantas adultas pode variar de 8 e 24, ou entre 11 e 16 folhas em exemplares que se encontra em fase produtiva (KAHN e MILLÁN, 1992; HENDERSON e SCARIOT, 1993).



Figura 1. Populações naturais de Tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*). Fonte: http://www.pacsoa.org.au/w/images/9/92/Astrocaryum_aculeatum02.jpg

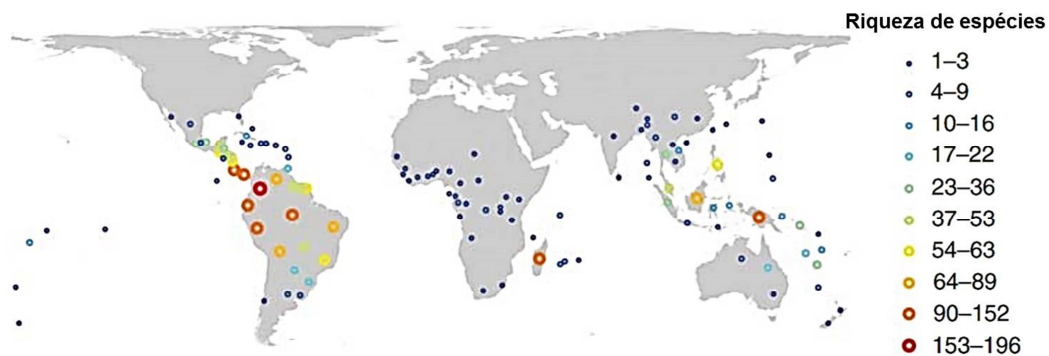


Figura 2. Distribuição da riqueza de espécies da subfamília Arecoideae segundo Eiserhardt *et al.*, (2011).

A inflorescência é envolta por uma espata que se torna intumescida ao se desenvolver. A espata possui cor preta, devido à concentração de espinhos. A cor das inflorescências varia desde creme esverdeado a cinza. A inflorescência é pedunculada, interfoliolar e apresenta tamanho médio entre 1,4 e 1,8 m de comprimento. Cada inflorescência apresenta em média 432 ráquias com flores unissexuais (BACELAR-LIMA *et al.*, 2006)

Os frutos do tucumã (Figura 3) são drupas subglobosas a elipsóides, medindo de 3,0 a 8,0 cm de comprimento e 2,5 a 5,6 cm de largura, com peso variando de 30 a 150 g. O epicarpo pode ser liso ou quebradiço, possuindo colorações que variam do verde a amarelado. O mesocarpo mede entre 1,5 e 10,0 mm de espessura, é compacto, firme, fibroso, oleaginoso e com colorações amareladas, alaranjadas ou avermelhadas. O endocarpo, de coloração negra, é consistente, lenhoso, variando de 3,0 a 5,5 cm de

comprimento. O tegumento da semente mede de 1,7 a 5,0 mm de espessura e apresentam três poros, sendo um deles fértil. O endosperma na parte externa apresenta forma sólida, homogênea, consistente e branca e na parte interna um líquido incolor (FAO, 1987; KHAN; MILLÁN, 1992; CAVALCANTE, 1996; MIRANDA et al., 2001).



Figura 3. Frutos do *Astrocaryum aculeatum*. A- Fruto comercializado *in natura*. B – Constituintes internos do fruto. Fonte: Jeferson Luis Vasconcelos de Macêdo.

3.4. *Astrocaryum acaule*

3.4.1. Importância econômica

Outra palmeira do gênero *Astrocaryum* de valor comercial para a região Amazônica é o *Astrocaryum acaule*. No Brasil, seu nome popular é tucumãí ou tucumãí mirím, além de mumu nas tribos Wayana, na Colômbia possui nomes como cocorito, espina, tucum, mataukuri para os povos Piapoco e na Venezuela é conhecido como corozo (SMITH, 2015). As fibras das folhas de *A. acaule* são utilizadas na confecção de produtos artesanais como bolsas, calçados, esteiras, tapetes, redes, colares, pulseiras, chapéus, entre outros (SOUZA et al., 2004). A espécie possui folhas grandes de coloração em tom verde escuro (Figura 4). Sua potencialidade econômica está centrada em suas folhas, com a extração de fibras de alta resistência (MIRANDA et al., 2001). É cultivada por comunidades indígenas e caboclas na região do Alto Rio Negro, sendo estas consideradas como as maiores conhecedoras e consumidoras dessa matéria prima (MACIEL, 2008).

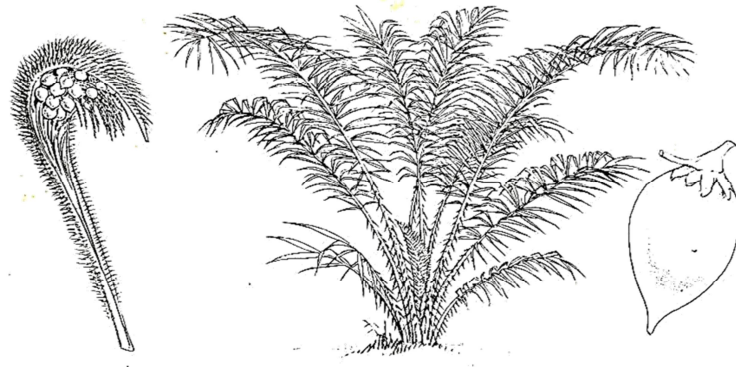


Figura 4. Tucumá (*Astrocaryum acaule*) com representação da esparta com frutos (esquerdo), estrutura da palmeira (central) e fruto (direito).

Fonte: <http://vintageprintable.swivelchairmedia.com/botanical/botanical-trees-leaves/botanical-trees/botanical-engraving-trees-amazon-palm-trees-40-2/>

3.4.2. Aspectos ecológicos

A. acaule está majoritariamente distribuída pela parte central do Norte da bacia Amazônica (KAHN e MILLÁN, 1992), mas também se distribui ao longo da Amazônia colombiana, Venezuela, Guiana e Brasil (Estados do Amazonas, Pará e Rondônia) (HENDERSON et al., 1995). Uma maior porção de exemplares é descrito na área pertencente ao Alto Rio Negro, no Estado do Amazonas, em baixios de floresta tropical úmida, bancos de areia, ilhas fluviais, floresta marginal de savana, afloramentos rochosos, margens de estradas ou outras áreas perturbadas, principalmente em solos arenosos (LORENZI et al., 2004; MACIEL, 2008). Em florestas estabelecidas nesses solos argilosos alagados, pode ocorrer em alta densidade (KAHN e MILLÁN, 1992). Em condições favoráveis, a espécie se espalha abundantemente, mas é incomum em florestas primárias onde não ocorreu nenhum tipo de perturbação (HENDERSON et al., 1995).

Sua ocorrência também foi registrada em áreas abertas ou perturbadas sobre solo seco e areno-argiloso, além de margens de riachos sobre solo úmido e arenoso (KUCHMEISTER et al., 1998). De modo geral, a espécie está presente em matas alagáveis beiras de rios e igarapés especialmente em terrenos arenosos, em áreas com alguma interferência antrópica, não sendo encontrada no interior da floresta densa. *A. acaule* habita florestas ao longo dos cursos de água preta, como o Rio Negro e muitos

de seus afluentes, assim como o Rio Urubu que desemboca no Médio Rio Amazonas. Mas, também, ocorre ao longo das costas arenosas de rios de águas claras, como o Rio Tapajós (SMITH, 2015).

3.4.3. Aspectos botânicos e taxonômicos

A espécie *A. acaule* apresenta a classificação taxonômica: reino Plantae (Vegetal), divisão Magnoliophyta (Angiospermae), subdivisão Liliopsida, classe Monocotyledoneae, família Arecaceae, subfamília Arecoideae, tribo Cocoeae, subgênero Bactridinae e gênero *Astrocaryum* (KANH, 2008). *A. acaule* é uma palmeira solitária com tronco subterrâneo (Figura 4).

Possui de cinco a seis folhas grandes, em coroa, e arranjo espiral e ereto. O pecíolo da folha possui 30 cm de comprimento. A bainha da folha é fibrosa, adaxial e abaxialmente arredondada. A raque da folha possui de 140 a 193 cm de comprimento, de 49 a 52 pares de pinas, que são distribuídos em grupos de um a três ao longo da raque, em vários planos. Possui até três flores pistiladas na parte basal e flores estaminadas na porção distal. As flores pistiladas são trímeras, gamossépalas, gamopétalas, com cálice e corola cupular, corola apresentando um anel estaminodial conato na base, ovário tricarpelar, trilocular, uniovulado (BARBOSA et al., 2005).

A inflorescência possui estames e pistilos, apresenta tamanho de aproximadamente 50 cm de comprimento e o pedúnculo apresenta comprimento de 13 cm. A bráctea peduncular inclui um bico de 3 cm e a parte expandida mede aproximadamente 36 centímetros de comprimento por 4,5 cm de largura, perímetro de 7,5 cm e espessura de 2 mm. Os frutos apresentam coloração verde-amarelado, com 3,5 cm de comprimento e 3,8 cm de diâmetro (BARBOSA et al., 2005).

A flor de *A. acaule* emite odor intensificado pela termogênese e atrai insetos visitantes. As inflorescências são bissexuais ou monóicas, e esta espécie apresenta protoginia. A emissão de odor é acompanhada de aumento da temperatura das inflorescências. Os insetos visitam as flores com a abertura da espata. Dentre os insetos observados visitando *A. acaule*, destacam-se os besouros (Coleóptera), abelhas (Hymenoptera) e moscas (Diptera). Os principais polinizadores são abelhas e besouros. As abelhas coletaram o pólen principalmente no final da tarde, e os escarabeídeos iniciam as visitas ao anoitecer, e conforme a temperatura das flores se eleva, as visitas dos coleópteros se intensificam, durante o dia, esses insetos ficam escondidos na

inflorescência e ao anoitecer eles começam a andar sobre as flores novamente (KUCHMEISTER et al., 1998).

Os insetos participam da biologia reprodutiva da planta, buscando pólen, proteção e abrigo para a reprodução (KUCHMEISTER et al., 1998; ARAÚJO e STORTI, 2008). Segundo Lorenzi et al. (2004), os frutos são muito apreciados pela fauna, especialmente pequenos roedores. O fruto amarelo (Figura 5), medindo quatro centímetros de comprimento por três centímetros de largura, contém uma camada rica em vitamina A. A semente é usada para esculpir anéis e outros ornamentos para o comércio de artesanato, sendo mais viáveis de sementes de *A. aculeatum* (SMITH, 2015).

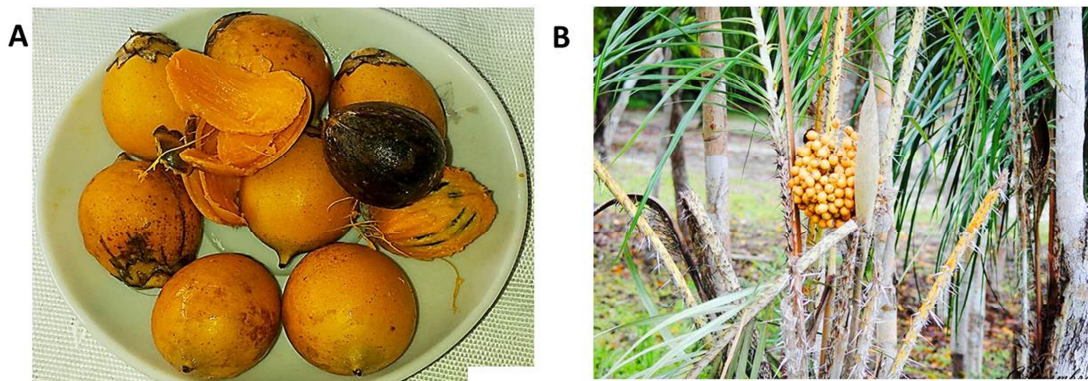


Figura 5. A) Sementes *in natura* de Tucuma-í (*Astrocaryum acaule*). B) Cacho de sementes ainda presos na esparta. **Fonte:** <http://www.florestaaguadonorte.com.br/palmeiras-da-amazonia/tucum%C3%A3-mirim/>

3.5. Estudos genéticos populacionais em *Astrocaryum*

Devido a importância comercial em todas as localidades onde são encontradas, as palmeiras do gênero *Astrocaryum* foram estudadas sobre diversas perspectivas, visando aumentar sua produtividade e avaliar os níveis de diversidade encontrados em populações naturais, *in situ*, *ex situ* e *on farm*. Ramos et al. (2011; 2012) desenvolveram e utilizaram marcadores moleculares SSR em 270 exemplares de *Astrocaryum aculeatum*, estimaram parâmetros do sistema reprodutivo do tucumã, e identificaram que a espécie é alogama. Em outro trabalho recente, Ramos et al. (2016) quantificaram e inferiram a dispersão de pólen de *A. aculeatum* em populações naturais do estado do Amazonas. Obtendo assim, uma distância média de 50 m de espaçamento entre

genitores cultivados para evitar a coleta de sementes fecundadas por palmeiras próximas geneticamente.

Usando nove locos SSR heterólogos de *A. aculeatum*, Oliveira et al. (2014) não observaram estrutura genética em *A. jauari* proveniente de três localidades do estado do Amazonas. Similarmente, Oliveira et al. (2017) inferiram a variabilidade genética de três espécies de *Astrocaryum* (*A. aculeatum*, *A. murumuru*, *A. paramaca*) por meio de oito locos SSR heterólogos em sete municípios do Estado do Pará. Foram observadas quebras populacionais para *Astrocaryum acaule* provenientes da localidade de Manaus, estruturando-se em dois *clusters* de intensa ação antrópica (UFAM/Tupé) e áreas mais isoladas (Tarumã-Açu). Para esse estudo foram utilizados marcadores moleculares AFLP (LIMA et al., 2020)

A última revisão filogenética do gênero *Astrocaryum* foi feita por Roncal et al. (2012) utilizando-se de quatro locos de DNA nuclear. Analisando os agrupamentos através de datação molecular suportada em dados de fósseis foi proposto um modelo de dispersão para espécies de *Astrocaryum* na Amazônia Ocidental. Em estudo posterior de filogeografia de palmeiras do gênero *Astrocaryum*, Roncal et al. (2015) não suportaram a hipótese dos arcos estruturais como fator principal responsável pela descontinuidade entre espécies provenientes do Oeste e Amazônia Central. Segundo os autores, os padrões de dispersão e dados temporais evidenciaram que a parte oeste da Amazônia produziu populações isoladas que foram se dispersando através dos sistemas hídricos, indicados pelo clado predominante de *Astrocaryum murumuru*.

3.6. Hibridação interespecífica em espécies vegetais

Estudos multidisciplinares devem ser realizados em áreas que ocorrem vários híbridos naturais para entender o comportamento das espécies, uma vez que altos níveis de misturas genéticas comprovam a existências de híbridos, mas não indicam que as barreiras reprodutivas são inexistentes (WIDMER et al., 2009) para especiação que é um processo complexo. Diversos subprocessos são envolvidos após a hibridação interespecífica na separação e manutenção dos genomas de híbridos interespecíficos que venham em longo prazo constituírem novas espécies. As barreiras reprodutivas que se instalam nem sempre são completas, especialmente em certos gêneros de plantas e, portanto a partir de híbridos interespecíficos podem surgir novas espécies. No entanto, plantas em estágio de especiação ou que tenham passado por uma divergência via

hibridação interespecífica recente, devem apresentar entre si algum grau de isolamento reprodutivo, assim como algum grau de fluxo gênico interespecífico (WIDMER et al., 2009; XU et al., 2011).

Os principais mecanismos aceitos de isolamento reprodutivo pós-zigótico consistem na inviabilidade ou no baixo sucesso reprodutivo dos híbridos formados. Existem várias hipóteses para explicar esta inviabilidade dos híbridos, como por exemplo, a incompatibilidade citonuclear, o modelo de Bateson-Dobzhanski-Muller, conflitos genômicos, falhas no emparelhamento de cromossomos na meiose, formação de pólen e óvulos inviáveis (JOHNSON, 2010). O sucesso reprodutivo dos híbridos pode ser avaliado objetivamente por meio do vingamento dos frutos formados após a polinização e do número de sementes germinadas.

A ocorrência de híbridos interespecíficos em palmeiras não é nova. A existência de plantas híbridas nas espécies de palmeiras *Syagrus romanzoffiana* e *Syagrus capitata* foi relatada a mais de um século por Barbosa Rodrigues em 1903. Após a descoberta de híbridos naturais, a hibridação interespecífica passou a ser utilizada pelos melhoristas quando característica de interesse não é encontrada na espécie cultivada e está presente em espécies silvestres afins.

Em dendezeiro, os programas de melhoramento genético têm explorado a hibridação interespecífica com o caiaué com o objetivo de obter híbridos interespecíficos tão produtivos quanto ao dendezeiro, resistente as pragas e doenças, em especial ao amarelecimento-fatal (AF), melhor qualidade de óleo, redução da taxa de crescimento vertical do estipe, características apresentadas pelo caiaué (CUNHA et al., 2005). O caiaué tem sido explorado nos principais programas de melhoramento de dendezeiro no mundo, no Brasil este trabalho é desenvolvido principalmente pela Embrapa Amazônia Ocidental. Os estudos realizados têm compreendido ações em várias áreas, como avaliações em populações naturais *in situ*, análises de diversidade genética com base em caracteres morfoagronômicos e moleculares, testes de progênes e hibridações interespecíficas (CUNHA et al., 2009).

A hibridação interespecífica no melhoramento é utilizada na exploração da variabilidade genética das espécies do mesmo gênero e requer conhecimentos básicos sobre o sistema reprodutivo para que seja aplicada tanto no cruzamento entre diferentes plantas, como nas autofecundações, é necessário controle do procedimento para evitar contaminações e garantir a identidade dos genitores. Os procedimentos de polinização

controlada variam de acordo com a espécie, para evitar a autofecundação na produção de híbridos. Pode-se, por exemplo, realizar emasculação manual ou eliminar os estames das flores da planta feminina ou utilizar linhagens com macho-esterilidade.

3.7. Marcadores moleculares utilizados em genética e melhoramento vegetal

Marcadores moleculares são definidos como possuintes de caracteres hereditários com múltiplos estados, detectáveis através das técnicas de biologia molecular (SUNNUCKS, 2000). A popularização desses marcadores iniciou-se em meados dos anos 80, com o aperfeiçoamento da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), descrita originalmente por Kary Mullis (MULLIS, 1990; SCHLOTTERER, 2004). As maiores premissas dos marcadores moleculares estão no fato de serem observados invariavelmente em qualquer fase de desenvolvimento do organismo e não sofrerem influência ambiental. Em programas de melhoramento vegetal, os marcadores podem ser utilizados de forma assistida, na seleção de alelos ligados para culturas de valor comercial ou na estimativa da variabilidade em cultivares (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; TOPPA e JADOSKI, 2013).

Os marcadores moleculares baseados no polimorfismo do DNA destacam-se entre marcadores isoenzimáticos, por promoverem o acesso às diversas mutações contidas em diferentes regiões analisadas do genoma (Figura 6). Para aplicações conservacionistas, a resolução obtida através de várias gerações de marcadores moleculares auxilia tanto para a elucidação de questões evolutivas, quanto na identificação de populações próximas geograficamente, relações filogenéticas, especiação, incertezas taxonômicas, detecção de hibridização e identificação de unidades de conservação (MARQUES, 2002; LIU e CORDES, 2004). Entre os marcadores mais utilizados em estudos para conhecimento da estrutura de populações, taxonomia e filogeográficos, citam-se os marcadores microsatélites e cloroplastidiais.

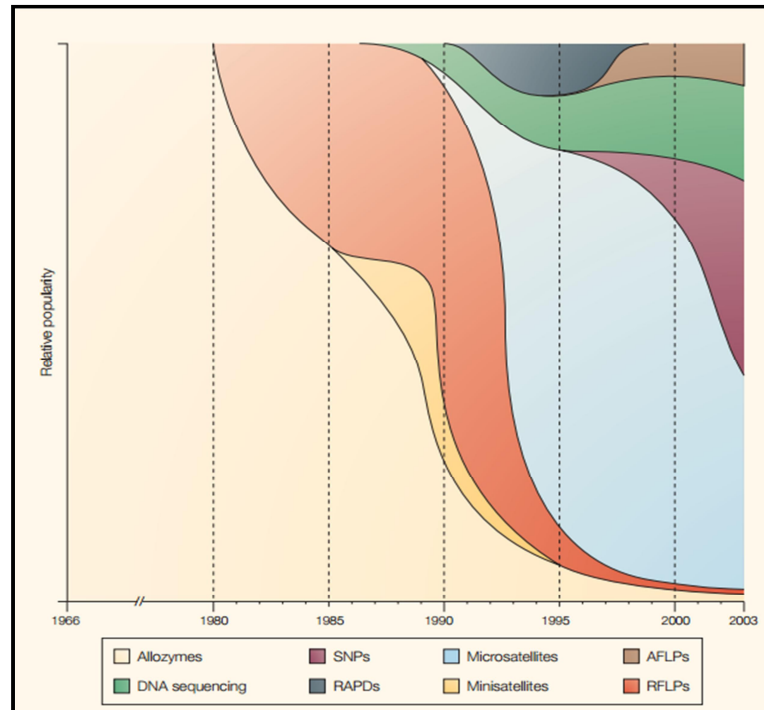


Figura 6. Classes de marcadores moleculares desenvolvidas durante a década de 1960 a 2003. Fonte: Schlotterer, 2004.

3.7.1. Marcadores microsatélites

Dentre as diversas classes de marcadores moleculares, destacam-se os microsatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) (TAUTZ (1989), LITT e LUTY (1989) e WEBER e MAY (1989)). Essas regiões são pequenas unidades de nucleotídeos, repetidas em tandem, que estão largamente presente no genoma nucleolar e organelar (cpSSR e rSSR) de eucariotos, assim como no genoma de procariotos (KATTI et al., 2001). Seu potencial informativo se deve ao elevado polimorfismo de suas unidades de repetição, sua natureza codominante e sua fácil manipulação por técnicas de biologia molecular (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Atualmente, esta classe de marcador molecular é a mais utilizada em estudos populacionais (PUTMAN e CARBONE, 2014) e no acompanhamento programas de melhoramento genético (MIAH et al., 2014; SHERIFF e ALEMAYEU, 2018).

As regiões com microsatélites podem ser caracterizadas por seus motivos de repetições (Mono, Di, Tetra, Penta ou Hexanucleotídico) e pela composição nucleotídica (Perfeito, Imperfeito, Composto e Interrompido) (MIAH et al., 2013). Foi inicialmente proposto que os microsatélites são seletivamente neutros por ocorrerem,

majoritariamente em regiões que não sofrem pressões seletivas. Contudo, diversos trabalhos relatam a presença de microssatélites trinucleotídicos e hexanucleotídicos em regiões gênicas (VIEIRA et al., 2016).

A formação de novos alelos microssatélites, frequentemente associada ao escorregão da DNA polimerase (*Polymerase Slippage*), onde novos motivos de repetição são inseridos ou deletados, pelo pareamento desigual durante a replicação (SCHLOTTERER e TAUTZ, 1992; JEFREYS et al., 1994; ZHU et al., 2000). O tamanho do alelo depende se o erro foi decorrente do mau pareamento na fita molde ou na fita nascente (Figura 7 A). Essas taxas mutacionais ocorrem na ordem de 10^{-2} e 10^{-6} (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; BRODANI et al., 2007, SELKOE e TOONEN, 2006). Outro fenômeno que pode explicar a diversidade existente nos alelos microssatélites é o crossing over desigual durante a meiose (Figura 8 B) (OLIVEIRA et al., 2006).

Um fator limitante no estudo com marcadores microssatélites é decorrente de não haver disponibilidade de iniciadores (*primers*) descritos na literatura. Frequentemente, novos marcadores devem ser desenvolvidos espécie-específicos, tornando o custo relativamente elevado (VIEIRA et al., 2016). Outras estratégias são o uso de marcadores desenvolvidos para espécies correlatas (amplificação heteróloga) ou a triagem de sequências públicas feitas previamente por *Next Generation Sequencing*, que disponibilizam uma enorme quantidade de dados (MASON, 2015). Na literatura é aconselhado o mínimo de oito locos microssatélites para manter a resolução da estrutura populacional (ARTHOFER et al., 2017).

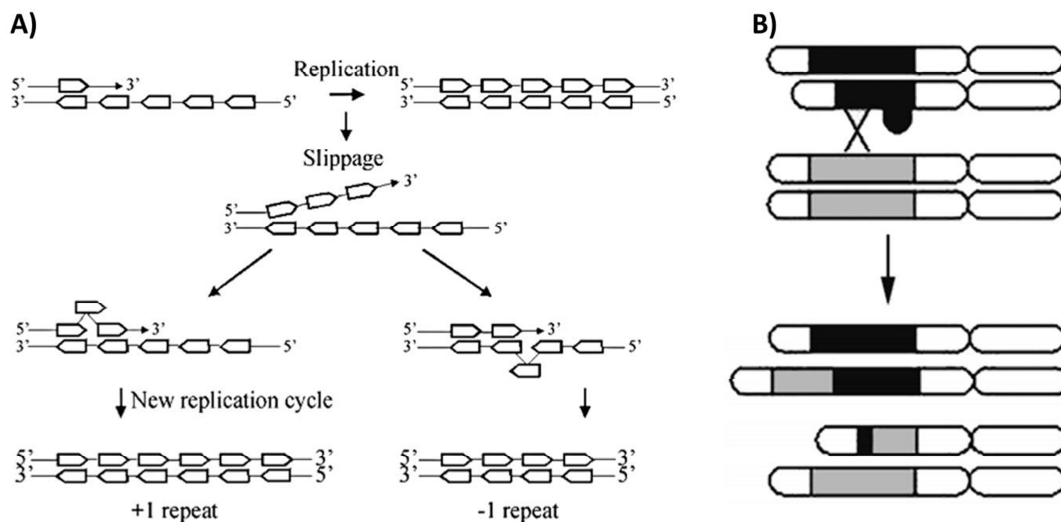


Figura 7. Dois principais processos que explicam a diversidade em locos microssatélites. **A)** Representação do escorregão da DNA polimerase durante a replicação do DNA. Quando o pareamento desigual ocorre na fita nascente (esquerda), um “loop” se forma e a unidade de repetição nessa estrutura é desconsiderada na correção, formando um alelo maior. Durante o processo inverso, o “loop” ocorre na fita molde, promovendo a formação de um alelo menor. **B)** *Crossing Over* desigual durante a meiose pode promover trocas de unidades de repetições, gerando alelos maiores e menores em cromossomos homólogos (Adaptado de Oliveira et al. (2006)).

3.8. Citometria de fluxo e o estudo de genomas

A citometria de fluxo é uma antiga técnica oriunda da imunologia celular que sofreu grandes mudanças após meados dos anos 50. Com sua popularização nos anos 80, outras abordagens e aplicações foram desenvolvidas, tornando-a uma ferramenta útil aos programas de melhoramento genético e biologia vegetal. Quanto as principais aplicações destacam-se; análise de ploidias, detecção de linhagens haploides, detecção de aneuploidias, auxílio na taxonomia vegetal, estudo do ciclo celular, estimativa do tamanho dos genomas e detecção de híbridos interespecíficos (LOUREIRO e SANTOS, 2004; LOUREIRO, 2007).

Baseia-se na análise das propriedades óticas (dispersão da luz e fluorescência) de partículas (células, núcleos, cromossomos, organelas) suspensas em solução tampão (DOLEZEL, 1997), princípio fundamental para medir a quantidade de DNA de uma célula vegetal (DOLEZEL e BARTOS, 2005). Pode assim ser obtidos milhões de núcleos em suspensão a partir de poucas gramas de tecido foliar vegetal em simples

procedimento que envolve a maceração desse tecido em solução tampão, que mantém a integridade nuclear (GALBRAITH et al., 1983). A coloração da amostra é feita com corantes específicos para o DNA (DAPI, iodeto de propídeo, brometo de etídeo) e permite ao aparelho estimar a quantidade de DNA (DOLEZEL e BARTOS, 2005). Assim, a análise por citometria de fluxo do conteúdo DNA nuclear em células em interfase é uma excelente alternativa aos antigos métodos de coloração e contagem de cromossomos via microscópio.

Em espécies de palmeiras, Röser et al. (1997) estimaram a quantidade de DNA em 83 espécies, abrangendo as seis subfamílias que constituem a família Arecaceae. No entanto, estes autores utilizaram outra metodologia para obtenção da estimativa, a microdensitometria de núcleos utilizando o corante Feulgen. E assim, foi possível observar ampla variação para o valor 4C de DNA dentre as espécies diploides, de 3,89 a 55,62 pg. Os poucos poliploides reconhecidos para esta família demonstraram valores acima de 156,4 pg. Dentre os trabalhos envolvendo citometria com palmeiras amazônicas, destaca-se Oliveira (2011, 2012), que confirmaram os grupos obtidos para três espécies do gênero *Euterpe* utilizando medidas citogenéticas com os grupos formados por meio das estimativas de tamanho do genoma. Além disso, também identificaram diferença significativa na quantidade de DNA nuclear em espécies no gênero *Oenocarpus*.

3.9. As mudanças no clima e consequências na agricultura

O efeito estufa é um fenômeno natural decorrentes de gases atmosféricos que absorvem comprimentos de onda longos da radiação solar, mantendo assim a temperatura amena na superfície do nosso planeta. Contudo, a alteração do clima é uma realidade concreta e reflete como a sociedade humana contemporânea delinea seu estilo de vida. Os principais gases responsáveis a potencializar o efeito estufa (GEEs) são o CO₂ (monóxido de carbono), N₂O (óxido nitroso) e CH₄ (metano), emitidos diariamente em decorrência de ações antrópicas desenfreadas, em proporções ainda não presenciadas na história da Terra (KHANDEKAR et al., 2005). Essas grandes concentrações de carbono na atmosfera impedem que a radiação solar retorne para o espaço, tornando o clima mais quente.

As alterações climáticas poderão ocasionar em retração das coberturas florestais no futuro, além de fragmentação populacional, expansão das áreas de vegetação aberta,

redução dos principais Biomas, processos de extinção, escassez de recursos agronômicos, derretimento das calotas polares, elevação do nível dos oceanos, etc. Quanto às culturas agronômicas, o milho e a soja são as principais culturas que sentiram os impactos da mudança do clima, podendo ter sua produção reduzida em 90% e 80%, respectivamente (MCTI, 2016).

As consequências trazidas pelas mudanças de temperatura globais podem levar a enormes perdas econômicas devido à vulnerabilidade das plantações. Na agricultura, os principais fatores que devem influenciar a produtividade das colheitas são: aumento da temperatura local, frequência das precipitações e elevação dos níveis de CO₂ para fotossíntese. Para as florestas tropicais, podem afetar também distribuição, ciclo de vida, interações biológicas, assim como as práticas extrativistas. (NASTIS et al., 2012; DE SALVO et al., 2013; PRAVEEN e SHARMA, 2019). Em relação a agricultura tropical, outro fator agravante é o fato das culturas dessas regiões já serem plantadas em temperaturas próximas ao seu limite de tolerância. Assim como a mudança nos regimes de precipitação, que eventualmente causarão maior erosão dos solos (CERRI et al., 2007). Como alternativa, Assad et al. (2016) sugerem investimento em pesquisa de cultivares tolerantes a altas temperaturas e déficit hídrico, como substitutos às cultivares mais sensíveis as mudanças de temperatura.

3.10. Os modelos de projeção climática.

Os modelos climáticos preditivos auxiliam na simulação de cenários futuros e preveem o impacto das alterações do clima. Por mais que determinadas vertentes científicas possuam alguma incredulidade quanto à qualidade desses modelos (KHANDEKAR et al., 2005), sua robustez foi acertada com o incentivo a uma variedade de linhas de pesquisas que se utilizam desses modelos para compreender suas questões à luz do aquecimento global (MOSS, et al., 2010). O conjunto de cenários RCP (*Representative Concentration Pathways*) é amplamente utilizado nos modelos climáticos atuais por se basear em variáveis antrópicas, adotando projeções otimistas (controle das emissões de gases de efeito estufa) e negativistas (nenhuma medida de controle de emissões) até o final do século XXI (CHOU et al., 2016). Essa iniciativa se iniciou dentro do painel de mudanças climáticas IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*), sendo o principal evento sobre impactos ambientais e socioeconômicos no mundo. O relatório mais completo a cerca do tema foi gerado pelo

IPCC com o codinome AR5 e baseia-se nos cenários RCP (IPCC, 2000; NAZARENKO et al., 2015; SOUSA et al., 2019).

3.11. Modelagem climática usando distribuição geográfica e nichos ecológicos.

Define-se como nicho fundamental o conjunto de condições dentro das quais uma espécie pode viver na ausência de concorrentes, e nicho realizado sendo a redução hipotética do nicho ocupado por relações de competição (HUTCHINSON, 1957; SOBERÓN e ARROYO-PEÑA, 2017). As modelagens de nichos permitem discriminar o nicho fundamental, tornando a análise mais requintada a cada conjunto de variáveis adicionadas, tais como; solo, dados de distribuição, variação climática, competição e demais relações ecológicas (PETERSON et al., 2012). Recentemente, as modelagens vêm ganhando destaque por predizer a distribuição de culturas de interesse agrônomico (BECK, 2012). Muitos algoritmos utilizam dos mesmos conceitos de nichos ecológicos, fazendo ser necessária a estatística de validação do modelo que melhor representa o conjunto de dados, denominado validação da curva de AUC (*Area Under the Curve*) (WIENS et al., (2009); MUÑOZ et al., 2009).

3.12. Modelagem climática usando palmeiras (Arecaceae)

Vaz e Nabout (2016) indicam não haver redução da área de distribuição do açazeiro (*Euterpe oleraceae*) até 2080, oriundo de populações naturais e cultivadas da Amazônia Brasileira. Assim como cerca de 60% dos municípios que cultivam essa palmeira, possuirão condições climáticas futuras para mantê-la. Jimenez-Vasquez et al. (2017) avaliaram a filogenia molecular e modelagem de nichos ecológicos para o gênero *Astrocaryum*, seção Huicungo. As variáveis ecológicas como: elevação, clima e tipo de solos indicam a presença de dois gradientes geográficos de distribuição dessas espécies, situados ao norte e ao sul da porção andina da Amazônia. Corroborando a filogenia molecular por genes plastidiais.

Segundo Walther et al., (2007), as palmeiras podem ser usadas como bioindicadores das mudanças climáticas, indicando relação entre aquecimento e expansão populacional. As modelagens em palmeiras também foram utilizadas para investigar fenômenos do passado geológico da Amazônia, como no caso da paleodistribuição do buriti (*Mauritia flexuosa*). Já Lima et al. (2014) apontam que o Último Máximo Glacial (LGM) pode ter levado populações ancestrais de *M. flexuosa* a

um gargalo genético, mantendo essas populações em múltiplos refúgios por centenas de anos, até ao ponto da diferenciação genética observada atualmente.

4. REFERÊNCIAS

- AL-RABAB'AH, M.A.; WILLIAMS, C.G. Population dynamics of *Pinus taeda* L. based on nuclear microsatellites. **Forest Ecology and Management**, v. 163, p. 263-271, 2002.
- ARAÚJO, M.G.P.; STORTI, E. F. Interações ecológicas de *Astrocaryum acaule* Mart. (Arecaceae) no período reprodutivo. In: 59º Congresso Nacional de Botânica. Natal. **Anais Congresso Nacional de Botânica**, 2008.
- ARTHOFER, W.; HEUSSLER, C.; KRAPF, P.; SCHLICK-STEINER, B.C.; STEINER, F.M. Identifying the minimum number of microsatellite loci needed to assess population genetic structure: A case study in fly culturing. **FLY**. v. 12, n. 1, p. 13–22, 2017.
- ASSAD, E. D; OLIVEIRA, A. F; NAKAI, A. M; PAVÃO, E; PELLEGRINO, G; MONTEIRO, J. E. Impactos e vulnerabilidades da agricultura brasileira às mudanças climáticas. In: MCTI. Modelagem Climática e Vulnerabilidades Setoriais à Mudança do Clima no Brasil. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**. Brasília. Brasil. 2016.
- BACELAR-LIMA, C.G.; MENDONÇA, M. S.; BARBOSA, T.C.T.S. Morfologia floral de uma população de tucumã *Astrocaryum aculeatum* G. Mey (Arecaceae) na Amazônia central. **Acta Amazônica**. Manaus. v. 36, p. 407-412, 2006.
- BALICK, M. J. Ethnobotany of palms in the Neotropics. **Advances in Economic Botany**, v. 1, p. 9-23, 1984.
- BARBOSA, B. S.; KOOLEN, H,H,F.; BARRETO, A,C.; SILVA, J.D.; FIGLIUOLO, R.; NUNOMURA, S.M. Aproveitamento do Óleo das Amêndoas de Tucumã do Amazonas na Produção de Biodiesel. **Acta Amaz.**, Manaus , v. 39, n. 2, p. 371-376, 2009.
- BARBOSA, T. C. T. S.; BARROZO, G. C. S.; QUEIROZ, M.S M. Morfologia floral de *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum gynacanthum* (Arecaceae, Arecoideae). In: 56º Congresso Nacional de Botânica. Curitiba. **Anais**, 2005.

- BECK, J. Predicting climate change effects on agriculture from ecological niche modeling: Who profits, who loses?. **Climatic Change**. 2012. DOI: 116.10.1007/s10584-012-0481-x.
- BRAGA, K. M; PIMENTA, V; RODRIGUES, F; SANTOS, T; ARAÚJO, E. Citometria de Fluxo: histórico, princípios básicos e aplicações em pesquisa. **Enciclopédia Biosfera**. Vol 13. N 23. 2016.
- BRODANI, R.P.V; BRODANI, C; GRATTAPLAGIA. D. Manual prático para o desenvolvimento de marcadores microssatélites em plantas. **Embrapa**. Brasília, DF. p. 9-12, 2007.
- CAVALCANTE, P.B. Frutas comestíveis da Amazônia. 6.ed. Belém, PA: **CNPq/Museu Paraense Emilio Goeldi**. 279p. 1996.
- CERRI, C. E. P; SPAROVEK, G; BERNOUX, M; EASTERLING, W. E; MELILLO, J. M; CERRI, C. C. Tropical Agriculture and Global Warming: Impacts and Mitigation Options. **Sci. Agric**. Piracicaba. Brasil. Vol 64. n 1. 83-99 pp. 2007.
- CHOU, S. C; et al. Simulações em alta resolução das mudanças climáticas sobre a América do Sul. 2016. In: MCTI. Modelagem Climática e Vulnerabilidades Setoriais à Mudança do Clima no Brasil. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**. Brasília. Brasil. 2016.
- COSTA, J. R; LEEUWEN, J; COSTA, J. A. Tucumã-do-Amazonas. In: SHANLEY, P; MEDINA, B. 2005. Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. **CIFOR, Imazon**. Belém. p. 304 ,2005.
- CUNHA, R. D.; LOPES, R.; ROCHA, R. N. C.; LIMA, W. A.A.; TEIXEIRA, P. C.; BARCELOS, E.; RODRIGUES, M. R. L. Domesticação e melhoramento de caiaué. In: BORÉM, A.; LOPES, M.T.G.; CLEMENT, C.R.; NODA, H. (Eds). Domesticação e Melhoramento: Espécies Amazônicas. Viçosa. **Universidade Federal de Viçosa**, cap. 14, p. 275-296, 2009.
- CUNHA, R. N. V., LOPES, R., BARCELOS, E., RODRIGUES, M., TEIXEIRA, P. C., ROCHA, R. N. C. Produção de híbridos interespecíficos entre o caiaué (*Elaeis oleifera* Kunt, Cortez) e o dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). In: 2º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, Varginha. **Anais. Embrapa Amazônia Ocidental**, 2005.

- DE SALVO, M; BEGALLI, D; SIGNORELLO, G. Measuring the effect of climate change on agriculture: A literature review of analytical models. **Journal of Development and Agricultural Economics**. Vol 5. N 12. 2013
- DIDONET, A. A.; FERRAZ, I. D. K. O comércio de frutos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey - Arecaceae) nas feiras de Manaus (Amazonas, Brasil). **Rev. Bras. Frutic.** [online], v. 36, n. 2, p. 353-362, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-108/13>.
- DOLEZEL, J. Applications of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 38, n. 3, p. 285-302. 1997.
- DOLEZEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, v. 95, p. 99-110. 2005.
- DONATII, C. I; GUIMARÃES-JR, P. R; GALETTI, M. Seed dispersal and predation in the endemic Atlantic rainforest palm *Astrocaryum aculeatissimum* across a gradiente of seed disperser abundance. **Ecol Res**. Vol 24. 1187–1195. 2009.
- DRANSFIELD, J; UHL, N. W; ASMUSSEN, C. B; BAKER, W. J; HARLEY, M. M; LEWIS, C. E. A new phylogenetic classification of the palm family, Arecaceae. **KEW BULLETIN**. Vol 60. 559–569 pp. 2005.
- EISERHARDT, W. L.; SVENNING, J. C.; KISSLING, W. D.; BALSEV. H. 2011. Geographical ecology of the palms (Arecaceae): determinants of diversity and distributions across spatial scales. **Annals of Botany**. v. 108, p. 1391–1416, 2011.
- FAO. Especies Forestales Productoras de Frutas y Otros Alimentos: ejemplos de América Latina. **Roma**, p. 241, 1987.
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de Marcadores Moleculares em análises genéticas. **EMBRAPA-CERNAGEN**, Brasília, p. 220, 1998.
- FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F.O. Extração, embebição e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). **Acta Amaz.**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 141-145. 2006.
- GALBRAITH, D. W.; HARKINS, K. R.; MADDON, J. M.; AYRES, N. M.; SHARMA, D. P.; FIROOZABADY, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell-cycle in intact plant-tissues. **Science**, v. 220, p. 1049-105, 1983.

- HAMMER, K.; ARROWSMITH, N.; GLADIS, T. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources. **Naturwissenschaften**, v.90, p. 241–250, 2003. <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0433-4>
- HARLAN, J. R.; DE WET, J. M. J. Toward a Rational Classification of Cultivated Plants. **Taxon**, v.20, n.4, p. 509, 1971. doi:10.2307/1218252
- HARTL, D.; CLARK, A.G. Principles of population genetics. Ed (4). Sunderland, Massachusetts: **Sinauer Associates, Inc.** 2007.
- HENDERSON, A.; FISCHER, B.; SCARIOT, A.; PACHECO, M. A. W.; PARDINI, R. Flowering phenology of a palm community in a central Amazon Forest. **Brittonia**, v. 52, n. 2, p. 149-159, 2000.
- HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. Field guide to the palms of the Americas. **Princeton: Princeton University Press.** 352 p. 1995.
- HENDERSON, A.; SCARIOT, A.A. Flora da Reserva Ducke, 1: Palmae (Arecaceae). **Acta Amazonica**. Manaus. v. 23, p. 349-369, 1993.
- HUTCHINSON G. E. Concluding remarks. **Cold Spring Harbor Symp Quant Biol.** Vol 22. 415–427 pp. 1957.
- IPCC. **Intergovernmental Panel on Change Climate.** Summary for Policymakers, Special Reports on Emission Scenarios – SRES: A Special Report of Working Group III. New York. Cambridge Univ. Press. 2000.
- IRIARTE, J; ELLIOTT, S; MAEZUMI, S. Y; ALVES, D; GONDA, R; ROBINSON, M; SOUZA, J. G; WATLING, J; HANDLEY, J. The origins of Amazonian landscapes: Plant cultivation, domestication and the spread of food production in tropical South America. **Quaternary Science Reviews.** Vol 248. 2020.
- JEFREYS, A.J; TAMAKI, K.; MACLEOD, A.; MONCKTON, D.G.; NEIL, D.L.; ARMOUR, J.A. Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites. **Nature Genetics.** v. 6, p.136-145, 1994.
- JIMENEZ-VASQUEZ, V; MILLÁN, B; MACHAHUA, M; KAHN, F; RAMIREZ, R; PINTAUD, J. C; RONCAL, R. Dry season characteristics in western Amazonia underlie the divergence of *Astrocaryum* section *Huicungo* (Arecaceae) and evaluation of potential anatomical adaptations. **Botanical Journal of the Linnean Society.** Vol 185, 291–306 pp. 2017.
- JOHNSON, N.A. Hybrid incompatibility genes: remnants of a genomic battlefield?. **Trends in Genetics**, v. 26, p. 317-325, 2010.

- JORGE M. L. S. P; HOWE, H. F. Can forest fragmentation disrupt a conditional mutualism? A case from central Amazon. **Oecologia**. Vol 161. 709-718 pp. 2009.
- KAHN, F. Las palmeras en América del Sur. The Genus *Astrocaryum* (Arecaceae). **Revista Peruana de Biología**, Lima, v. 15, p. 31-48. 2008.
- KAHN, F.; GRANVILLE, J.J. Palms and Forest Management in Amazonia. In: Palms in Forest Ecosystems of Amazonia. **Berlin: Springer Berlin Heidelberg/Ecologica Studies** v. 95, Chap 7, p 155-167. 1992.
- KAHN, F.; MILLÁN, F. *Astrocaryum* (Palmae) in Amazonian a preliminary treatment. **Bulletin de l'Institut Français d'Etudes Andines**. Lima, v. 21, p. 459-531. 1992.
- KAHN, F; MOUSSA, F. El papel de los grupos humanos em la distribución geográfica de algunas palmas em la Amazonía Y su periferia. In: RIOS, M. PEDERSON, H. B. Uso y manejo de recursos vegetales. **Quito: Ediciones Abya-Yala**. p. 83-99, 1997.
- KATTI, M. V.; RANJEKAR, P.K.; GUPTA, V.S. Differential Distribution of Simple Sequence Repeats in Eukaryotic Genome Sequences. **Mol. Biol. Evol.** v. 18, n. 7, p. 1161-1167, 2001.
- KHANDEKAR, M. L; MURTY, T. S; CHITTIBABU, P. The Global Warming Debate: A Review of the State of Science. **Pure and Applied Geophysics**. 2005. DOI 10.1007/s00024-005-2683-x.
- KUCHMEISTER, H.; WEBBER, A.C.; SILBERBÄUERGOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G.A. Polinização e sua relação com a termogênese em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 28, n. 3, p. 217-245. 1998.
- LEITMAN, P. et al. Arecaceae. In: Lista de espécies da flora do Brasil. **Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2013.
- LIMA, A. A. P; LOPES, M. T. G; VALENTE, M, S, F; RAMOS, S. L. F. Genetic Diversity Between and Within *Astrocaryum* acaule Mart. (Arecaceae) Populations. **Floresta e Ambiente**. Vol 2. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.005618>
- LIMA, N. E; LIMA-RIBEIRO, M. S; TINOCO, C. F; TERRIBILE, L. C; COLLEVATTI, R. G. Phylogeography and ecological niche modelling, coupled

- with the fossil pollen record, unravel the demographic history of a Neotropical swamp palm through the Quaternary. **Journal of Biogeography**. Vol 41. 673–686 pp. 2014.
- LITT, M ; LUTTY, J.A. A. Hypervariability microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **Chicago**, p. 397-401, 1989.
- LIU, Z. J; CORDES, J. F. DNA markers technology and their applications in aquaculture genetics. **Aquaculture**. v. 238, p. 1-37, 2004.
- LOPES, A; PIEDEDE, M. T. F. et al. Conhecendo as áreas úmidas amazônicas: uma viagem pelas várzeas e igapós. Manaus. **Editora INPA**. 164 p. 2015.
- LOPES, D. M; CAMPOS, L. A. O; SALOMÃO, T. M. F; TAVARES, M G. Comparative study on the use of specific and heterologous microsatellite primers in the stingless bees *Melipona rufiventris* and *M. mondury* (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Biology**. v. 33, n. 2, p. 390-393, 2010.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; COSTA, J. D. M.; CERQUEIRA, L. D.; FERREIRA, E. Palmeiras brasileiras exóticas e cultivadas. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**. 2004.
- LOUREIRO, J.C.M. Flow cytometric approaches to study plant genomes. p.122. **Tese (Doutorado em Genética) – Universidade de Aveiros, Aveiros**. 2007.
- LOUREIRO, J; SANTOS, C. Aplicação da citometria de fluxo ao estudo do genoma vegetal. **Boletim de Biotecnologia**, São Paulo, Vol 77. 18-29 pp. 2004.
- MACÍA, M. J.; ARMESILLA, P. J.; CÁMARA-LERET, R.; PANIAGUA-ZAMBRANA, N.; VILLALBA, S.; BALSLEV, H.; PARDO-DE-SANTAYANA, M. Palm Uses in North-western South America: a Quantitative Review. **The Botanical Review**, v. 77, n. 4, p. 462-570, 2011.
- MACIEL, K.M.F.; NASCIMENTO, C.C.; PACHECO, A.D.S. Estudo da viabilidade técnica da fibra do tucumã-i (*Astrocaryum acaule*) para Produção têxtil. In: XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção. **Rio de Janeiro. Anais**. 2008.
- MARQUES. D.K.S. Aplicação da biologia molecular em programas de conservação de recursos pesqueira. **Embrapa Pantanal**. Corumbá. Mato Grosso do Sul. Brasil. p. 22. 2002.

- MASON, A. S. SSR Genotyping. **Methods in Molecular Biology**, v. 1245, p.77-89, 2015.
- MCTI. Modelagem Climática e Vulnerabilidades Setoriais à Mudança do Clima no Brasil. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**. Brasília. Brasil. 2016.
- MELO-MERINO, S. M; REYES-BONILLA, H; LIRA-NORIEGA, A. Ecological niche models and species distribution models in marine environments: A literature review and spatial analysis of evidence. **Ecological Modelling**. Vol 415. 2020.
- MIAH, G.; RAFII, M.Y.; ISMAIL, M.R.; PUTEH, A.B.; RAHIM, H.A.; ISLAM, K.; LATIF, M.A. A Review of Microsatellite Markers and Their Applications in Rice Breeding Programs to Improve Blast Disease Resistance. **Int. J. Mol. Sci**, v. 14, p. 22499-22528, 2013.
- MIRANDA, I. P. A.; RABELO, A. Guia de identificação das palmeiras de um fragmento florestal. **Manaus: EDUA**. 228 p. 2006.
- MIRANDA, I.P.A.; RABELO, A.; BUENO, C.R.; BARBOSA, E.M.; RIBEIRO, M.N.S. Frutos de palmeiras da Amazônia. **Manaus: Creative**, p.120, 2001.
- MORAES, A.P.; CHINAGLIA, M.; PALMA-SILVA, C.; PINHEIRO, F. Interploidy hybridization in sympatric zones: the information of *Epidendrum fulgens* x *E. puniceoluteum* hybrids (Epidendroideae, Orchidaceae). **Ecology and Evolution**, v. 3, n. 11, p. 3824-3837, 2013.
- MOSS; R. H. et al. The next generation of scenarios for climate change research and assessment. **Nature**. Vol 463. 747-756 pp. 2010. DOI:10.1038/nature08823
- MULLIS, K. B. The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. **SCIENTIFIC AMERICA**. 1990.
- MUÑOZ, M. E. S.; GIOVANNI, R. S. et al. OpenModeller: a generic approach to species' potential distribution modelling. **GeoInformatica**, Vol 15. N 1. 111 - 135 pp. 2009.
- NASTIS, S. A; MICHAELIDIS, A; CHATZITHEODORIDIS, F. Climate change and agricultural productivity. **African Journal of Agricultural Research**. Vol. 7. N 35. 4885-4893 pp. 2012.
- NAZARENKO, L. et al; Future climate change under RCP emission scenarios with GISS ModelE2. **Journal of Advances in Modeling Earth Systems**. Vol 7, 244–267 pp. 2015. DOI :10.1002/2014MS000403

- OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I; VENCovsky, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **GMR**, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.
- OLIVEIRA, L.C. Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe*. p. 92. Dissertação em Genética e Melhoramento de Plantas. **Universidade Federal de Lavras**, Lavras. 2011.
- OLIVEIRA, L.D.S.; RAMOS, S.L.F.; LOPES, M.T.G.; DEQUIGIOVANNI, G.; VEASEY, E.A.; MACÊDO, J.L.V.; BATISTA, J.S.; FORMIGA, K. M.; LOPES, R. Genetic diversity and structure of *Astrocaryum jauari* (Mart.) palm in two Amazon river basins. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Vol 14. pp 166-173. 2014.
- OLIVEIRA, N. P. Estudos polínicos, citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Lavras**. Minas Gerais. Brasil. 2012.
- OLIVEIRA, N. P.; OLIVEIRA, M.S.P.; DAVIDE, L.C.; KALISZ, S. Population genetic structure of three species in the genus *Astrocaryum* G. Mey. (Arecaceae). **Genetics and Molecular Research**. Vol 16. N 3. 2017.
- PACHECO, K. M. M. P.; ORTUÑO, B.H.; MIRANDA, I.P.A.; NASCIMENTO, C.C.; PACHECO, A.S. Oportunidades e limitações do uso da fibra natural de tucumã-i (*Astrocaryum acaule*) para a gestão e desenvolvimento de produtos semi-industriais. In: **8º Congresso Brasileiro de Gestão de Desenvolvimento de Produto**. Porto Alegre: 2011.
- PALMER, R. R.; KOPROWSKI, J. Feeding behavior and activity patterns of Amazon red squirrels. **Mammalia**. v.78, n. 3, p. 303–313, 2014.
- PETERSON, A. T; SOBERÓN, J; PEARSON, R. G; ANDERSON, R. P; MARTÍNEZ-MEYER, E; NAKAMURA, M; ARAÚJO, M. B. **Ecological Niches and Geographic Distributions**. Princeton University Press. 314 pp. 2012.
- PIRES, A.; GALETTI, M. The agouti *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae) as seed disperser of the palm *Astrocaryum aculeatissimum*. **Mastozoología Neotropical**. v. 19, n. 1, p. 147-153, 2012.
- PRAVEEN, B; SHARMA, P. A review of literature on climate change and its impacts on agriculture productivity. **Journal of Public Affairs**. Vol 19, N 4. 2019.

- PUTMAN, A. I; CARBONE, I. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. **Ecology and Evolution**. v. 4, n. 22, p. 4399–4428, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1305>.
- RAMOS, S. L. F.; DEQUIGIOVANNI, G.; SEBBENN, A.M.; LOPES, M.T.G.; KAGEYAMA, P.Y.; MACÊDO, J.L.V.; KIRST, M.; VEASEY, E.A. Spatial genetic structure, genetic diversity and pollen dispersal in a harvested population of *Astrocaryum aculeatum* in the Brazilian Amazon. **BMC Genetics**, Ed. 17, v.63, 2016.
- RAMOS, S. L. F.; LOPES, M.T.G.; LOPES, R.; CUNHA, R.N.V.; MACÊDO, J.L.V.; CONTIM, L.A.S.; CLEMENT, C.R.; RODRIGUES, D.P.; BERNARDES, L.G. Determination of the mating system of Tucumã palm using microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11. p. 181-185, 2011.
- RAMOS, S. L. F.; MACÊDO, J.L.; LOPES, M.T.; BATISTA, J.S.; FORMIGA, K.M.; SILVA, P.P.; SAULO-MACHADO, A.C.; VEASEY, E.A. Microsatellite loci for tucumã of Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) and amplification in other *Arecaceae*. **Am J Bot**, v. 99, n. 12, 2012.
- RONCAL, J.; COUDERC, M.; BABY, P.; KAHN, F.; MILLÁN, B.; MEEROW, A.W.; PINTAUD, J. Palm diversification in two geologically contrasting regions of western Amazonia. **Journal of Biogeography**. v. 42, n.8, p.1503-1513, 2015.
- RONCAL, J.; KHAN, F.; MILLIAN, B.; COUVREUR, T,L,P. Cenozoic colonization and diversification patterns of tropical American palms: evidence from *Astrocaryum* (*Arecaceae*). **Bot J Linn Soc**. v. 171, n. 1, p. 120–139, 2012.
- RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA amounts in palms (*Arecaceae*). **Botanica Acta**, v. 110, n. 1, p. 79-89. 1997.
- SALM, R.; PRATES, A; SIMOES, N.R.; FEDER, L. Palm community transitions along a topographic gradient from floodplain to terra firme in the eastern Amazon. **Acta Amazonica**. v. 45. p. 65-74, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201401533>.
- SCHLOTTERER, C. The evolution of molecular markers: just a matter of fashion? **Nature Reviews Genetics**. v.5. p. 63-69. 2004.
- SCHLOTTERER, C.; TAUTZ, D. Slippage synthesis of simple sequence DNA. **Nucleic Acids Research**. v. 20, n. 2, p. 211-215, 1992.

- SCHROTH, G.; DA MOTA, M. S. S.; LOPES, R.; DE FREITAS, A. F. Extractive use, management and in situ domestication of a weedy palm, *Astrocaryum aculeatum*, in the central Amazon. **For. Ecol. Manage**, v. 202, p.161 –179, 2004.
- SELKOE, K. A.; TOONEN, R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letters**, v. 9, p. 615-629, 2006.
- SHERIFF, O.; ALEMAYEHU, K. Genetic diversity studies using microsatellite markers and their contribution in supporting sustainable sheep breeding programs: A review. **Cogent Food & Agriculture**. v. 4, n 1, 2018.
- SMITH, N. *Astrocaryum acaule*. In: Palms and People in the Amazon. **Springer International Publishing**, p. 29-32, 2015.
- SOBERÓN, J; ARROYO-PENÑA, B. Are fundamental niches larger than the realized? Testing a 50-year-old prediction by Hutchinson. **Plos One**. Vol 12. N 4. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175138>
- SOUSA, R. M; VIOLA, M. R; CHOU, S. C; ALVES, M. V. G; AVANZI , J. C. Projeções climáticas regionalizadas para o estado do Tocantins. Brasil, nos cenários RCP 4.5 e RCP 8.5. **Revista Brasileira de Climatologia**. 2019.
- SOUZA, H. M.; LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; COSTA, J. D. M.; CERQUEIRA, L. D.; FERREIRA, E. *Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas*. São Paulo: **Instituto Platarum**, 2004.
- SULLIVAN, S.; KONSTANT, T. L.; CUNNINGHAM, A. B. The impact utilization of palm pon the population structure of the vegetable Ivory Palm (*Hyphaene petersiana*, Arecaceae) in North-Central Namibia. **Economic Botany**, v. 49, p. 357-370, 1995.
- SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Tree**, v. 15, n. 5, p. 199-2003. 2000.
- TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences of general source for polymorphic DNA markers. **Oxford**, p. 6463-6471, 1989.
- TOPPA, E.V.B.; JADOSKI, C.J.; O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**. v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.
- TURCHETTO, C; SEGATTO, A. L. A; BEDUSCHI, J; BONATTO, S. L; FREITAS, L. B. Genetic differentiation and hybrid identification using microsatellite

- markers in closely related wild species. **AoB PLANTS**. Vol 7. 2015. DOI:10.1093/aobpla/plv084.
- VAZ, U. L.; NABOUT, J. C. Using ecological niche models to predict the impact of global climate change on the geographical distribution and productivity of *Euterpe oleracea* Mart. (Arecaceae) in the Amazon. **Acta Botanica Brasilica**. Vol 30. N 2. 290-295 pp. 2016.
- VIEIRA, M. L. C.; SANTINI, L.; DINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**. v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.
- WALLACE, A. R. Palmeiras da Amazônia e seus usos. Manaus: **Edua**, p. 168, 2014.
- WALTHER, G.; GRITTI, E. S.; BERGER, S.; HICKLER, T.; TANG, Z.; SYKES, M. Palms tracking climate change. **Global Ecol. Biogeogr.** Vol 16. 801–809 pp. 2007.
- WEBER, J.L. ; MAY, P.E. Abundant class for human DNA polymorphisms which can be typed using the Polymerase Chain Reaction. **Chicago**, p. 388-396, 1989.
- WIDMER, A.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. Evolution of reproductive isolation in plants. **Heredity**, v. 102, p. 31-38, 2009.
- WIENS, J. A. Niches, models, and climate change: Assessing the assumptions and uncertainties. **PNAS**. Vol 106. 19729–19736 pp. 2009.
- XU, S.; SCHLATER, P.M.; SCOPECE, G.; BREITKOPF, H.; GROSS, K.; COZZOLINO, S.; SCHIESTL, F.P. Floral isolation is the main reproductive barrier among closely related sexually deceptive orchids. **Evolution**, v. 65, n. 9. 2606-2020 pp, 2011.
- ZHU, Y.; STRASSMANN, J. E.; QUELLER D. C. 2000. Insertions, substitutions, and the origin of microsatellites. **Genet. Res**, v.76, p. 22, 2000.
- ZONA, A.; HENDERSON, A. A review of animal-mediated seed dispersal of palms. **Selbyana**, v. 11, p. 6-21, 1989.

CAPÍTULO I. Caracterização genética de populações das palmeiras *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum* (Arecaceae) e híbrido interespecífico natural na Região Amazônica, Brasil.

RESUMO

Em zonas de ocorrência comum de espécies relacionadas podem ser identificados híbridos interespecíficos naturais e, dessa forma, ampliar a variabilidade genética de espécies vegetais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização genética e fenotípica multielementar em *Astrocaryum aculeatum* Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart. no Tarumã-Açu, Amazonas, Brasil e identificar seus híbridos interespecíficos naturais. Análises de marcadores moleculares em tecido foliar de 92 indivíduos, sendo 46 de *A. aculeatum*, 44 de *A. acaule* e dois supostos híbridos interespecíficos naturais, foram realizadas. Cinco indivíduos de cada espécie e os possíveis híbridos interespecíficos naturais foram analisados por citometria de fluxo. Análises multielementares pelo Método analítico de fluorescência de raios-X de reflexão total (TXRF) foram realizadas para nove indivíduos de *A. aculeatum*, sete de *A. acaule* e um híbrido interespecífico. Nove marcadores microssatélites polimórficos confirmaram o alto conteúdo de informação genética no total de 215 alelos. Os resultados indicam maior diversidade genética em *A. aculeatum* que em *A. acaule*. A análise bayesiana possibilitou a separação dos genótipos em dois grupos ($\Delta K = 2$ e $\Delta K = 3$), discriminando pelo menos um híbrido interespecífico. Maior conteúdo de DNA ocorreu no “Híbrido 01” quando comparado com *A. acaule*, *A. aculeatum* e o “Híbrido 02”. O “Híbrido 01” foi confirmado como sendo um híbrido interespecífico e o “Híbrido 02” como um indivíduo de *A. aculeatum*. Foram detectados 23 elementos químicos, sendo cinco macronutrientes, sete micronutrientes, quatro elementos essenciais e sete elementos traço. Diferença significativa entre *A. acaule* e *A. aculeatum* foi observada quanto aos teores médios dos elementos químicos. Além disso, não houve diferença significativa do híbrido interespecífico quando comparado às duas espécies. Na análise de agrupamento, análise de escalonamento multidimensional não-métrico e análise de componentes principais, o posicionamento intermediário do híbrido indica sua similaridade em teores de elementos químicos comparado as duas espécies. Os marcadores microssatélites foram suficientes na discriminação de *A. acaule*, *A. aculeatum* e híbrido interespecífico. O indivíduo “Híbrido 01” é um híbrido

interespecífico e o indivíduo chamado anteriormente de “Híbrido 02” pertence à espécie *A. aculeatum*.

Palavras-chave: Arecaceae, marcadores moleculares microssatélites, análises multielementares, citometria de fluxo.

ABSTRACT

In areas of common occurrence of related species, natural interspecific hybrids can be identified. Accordingly, they can show increases in genetic variability of plant species. Therefore, the objective of this work was to carry out the multielementary genetic and phenotypic characterizations of *Astrocaryum aculeatum* Mart. and *Astrocaryum acaule* Mart. in Tarumã-Açu, Amazonas, Brazil and to identify their natural interspecific hybrids. Analyses of molecular markers in leaf tissue of 92 individuals, 46 of *A. aculeatum*, 44 of *A. acaule* and two supposed natural interspecific hybrids, were conducted. Five individuals of each species and possible natural interspecific hybrids were analyzed by flow cytometry. Multielementary analyses utilizing the method of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) were performed for nine individuals of *A. aculeatum*, seven of *A. acaule* and one interspecific hybrid. Nine polymorphic microsatellite markers confirmed high genetic information content in a total of 215 alleles. The results indicate greater genetic diversity in *A. aculeatum* than in *A. acaule*. Bayesian analysis allowed for the separation of genotypes into two groups ($\Delta K = 2$ and $\Delta K = 3$), discriminating at least one interspecific hybrid. Higher DNA content occurred in the “Hybrid 01” when compared to *A. acaule*, *A. aculeatum* and the “Hybrid 02”. “Hybrid 01” was confirmed as an interspecific hybrid and “Hybrid 02” as an individual of *A. aculeatum*. Twenty-three chemical elements were detected, being five macronutrients, seven micronutrients, four essential elements and seven trace elements. Distinctions between *A. acaule* and *A. aculeatum* were observed regarding the average contents of chemical elements. Furthermore, there was no significant difference in the interspecific hybrid when compared to the two species. In cluster analysis, non-metric multidimensional scaling analysis and principal component analysis, the intermediate placement of the hybrid indicates its similarity in chemical element contents when comparing the two species. Microsatellite markers were sufficient to discriminate *A. acaule*, *A. aculeatum* and interspecific hybrid. The individual “Hybrid 01” is an interspecific hybrid and the individual previously called “Hybrid 02” belongs to the species *A. aculeatum*.

Keywords: Arecaceae, microsatellite molecular markers, multielementary analyses, flow cytometry.

INTRODUÇÃO

A ocorrência da hibridação interespecífica é um processo biológico que ocorre pelo fluxo de genes entre populações de espécies simpátricas (TEIXEIRA et al., 2016), com proximidade taxonômica, com similaridade e compatibilidade entre estruturas reprodutivas, sistema reprodutivo e consonância entre os períodos de floração (NERI et al., 2017).

Nas plantas, este fenômeno espontâneo pode ocorrer também em cultivares domesticadas, em decorrência da influência antropogênica e da proximidade espacial em que essas espécies se encontram. Assim, na natureza, esses híbridos auxiliam a regeneração de populações/plantações com depressão por endogamia e queda de diversidade genética, gerando diferentes genótipos de resistência à pressão ambiental (STRAW, 1955; MILNE et al., 1999; NERI et al., 2017; GOULET et al., 2017; TURCHETTO et al., 2019; MITCHELL et al., 2019).

Os cruzamentos entre diferentes espécies de plantas, geralmente, são incompatíveis devido a barreiras pré e pós-zigóticas, e quando ocorre a hibridação interespecífica, as progênies F1 apresentam baixa fertilidade ou baixa viabilidade (WIDMER et al., 2009; JOHNSON, 2010; XU et al., 2011; VALLEJO-MARÍN e HISCOCK, 2016).

Contudo, a hibridação interespecífica ocasionalmente pode apresentar descendência fértil, com características agronômicas realçadas provenientes de vantagens heterozigóticas (ROSAS et al., 2010). Além disso, outros fatores importantes para ocorrência da hibridação interespecífica são: a proximidade taxonômica entre os exemplares, similaridade e compatibilidade entre estruturas reprodutivas, sistema reprodutivo e consonância entre os períodos de floração (NERI et al., 2017).

Após a identificação e desenvolvimento de metodologia para realizar o processo de formação de híbridos interespecíficos, é possível a implementação de programas de melhoramento visando a polinização de espécies com caracteres excêntricos. No entanto, a técnica de hibridação interespecífica já foi aprimorada pelos melhoristas, através da polinização controlada em cruzamentos interespecíficos, recíprocos e sucessivos retrocruzamentos, tendo os cuidados necessários para evitar a contaminações por autofecundações (SANTOS et al., 2020).

O resultado da hibridização interespecífica pode originar diferentes fenótipos de interesse. Porém, a hibridação interespecífica pode afetar a pureza genética das

populações locais, possivelmente ameaçadas pela introgressão de novos genes, causando a depressão por exogamia (perda de adaptação ou assimilação genética). Assim, na natureza, o fluxo gênico espontâneo introduzidas pode ameaçar espécies endêmicas e ter implicações de conservação (VILÀ et al., 2000).

No processo de identificação das hibridações interespecíficas existem várias abordagens para a detecção de híbridos interespecíficos, como as análises morfológica, genética populacional, citogenética, tamanho do genoma e experimentos reprodutivos manuais (LÓPEZ-CAAMAL e TOVAR-SÁNCHEZ, 2014; NERI et al., 2017). Em alguns casos, as zonas de hibridação podem conter diversos tipos de híbridos crípticos, tornando a identificação morfológica ainda mais difícil (MITCHELL e HOLSINGER, 2018).

Ferramentas complementares à morfometria tradicional para a detecção de híbridos interespecíficos são os marcadores moleculares, que podem ser usados para detectar hibridação introgressiva, discriminado haplótipos ou a redução de alelos exclusivos, e que caracteriza o fluxo gênico entre as populações de espécies distintas (TURCHETTO et al., 2015; NING et al., 2017). O uso de marcadores baseados em regiões nucleares e cloroplastidiais aumenta a cobertura do genoma, uma vez que regiões nucleares podem evidenciar os híbridos e ambas as espécies que deram origem ao processo de introgressão, e nos marcadores cloroplastidiais podem ajudar caracterizar as espécies-mãe (BASSIL et al., 2013; YANG et al., 2017).

Pesquisas com marcadores moleculares microssatélites apropriados também são úteis para desenvolver mapas genéticos, com o objetivo de acompanhar e minimizar o número de ciclos de hibridização (ZULKIFLI et al., 2014). Estes marcadores são ferramentas muito úteis na avaliação genética de espécies vegetais, demonstrando que locos SSRs (*Simple Sequence Repeats*) são altamente multialélicos e informativos para estudo de estrutura genética de populações, permitindo estimar com precisão a heterozigosidade, distância genética, relações de parentesco e fluxo gênico (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Em palmeiras (Arecaceae), a hibridação interespecífica bem-sucedida ocorre entre o caiaué (*Elaeis oleifera*) e o dendezeiro (*Elaeis guineenses*), que originalmente não são espécies simpátricas (HARDON, 1969). Assim, os programas de melhoramento genético em dendezeiro têm explorado a hibridação interespecífica com o caiaué com o objetivo de obter híbridos interespecíficos mais produtivos, resistentes à pragas e

doenças, com melhor qualidade de óleo, redução da taxa de crescimento vertical do estipe, resistência ao déficit hídrico (BOARI, 2008; MÉNDEZ et al., 2012; HORMAZA et al., 2012; RIOS et al., 2012).

Já a citometria de fluxo é uma ferramenta utilizada para o estudo de genomas vegetais com diversas aplicações, como estimativa do conteúdo de DNA de hibridações interespecíficas, análise de ploidia, detecção de alterações numéricas e a estimativa do tamanho do genoma (LOUREIRO, 2007). Apesar de poucos trabalhos de citometria de fluxo na família *Arecaceae*, pesquisas no gênero *Euterpe* e *Oenocarpus* obtiveram medidas citogenéticas de tamanho do genoma (OLIVEIRA, 2012, 2016).

A espécie *Astrocaryum aculeatum* é uma palmeira endêmica da região Amazônica com relevante importância econômica, sobretudo no norte do Brasil (KAHN e MOUSSA, 1997; SCHROTH et al., 2004). No entanto, devido a planta atingir aproximadamente 30 m de altura e possuir tronco coberto de espinhos, tais fatores dificultam a colheita dos frutos. Em contraste, a espécie *A. acaule* possui caule subterrâneo, com porte muito baixo, o que facilita a coleta dos frutos e das folhas (SMITH, 2015).

Neste sentido, é de interesse a obtenção de híbridos do cruzamento entre estas espécies visando, principalmente, à redução de porte de *A. aculeatum*, o que proporcionará uma alternativa promissora para os sistemas de produção desta importante palmeira amazônica. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização genética e fenotípica multielementar em *Astrocaryum aculeatum* Mart. e *Astrocaryum acaule* Mart. no Tarumã-Açu, Amazonas, Brasil e identificar seus híbridos interespecíficos naturais.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado em populações de *A. acaule* e *A. aculeatum* e híbridos interespecíficos naturais presentes na propriedade Najatuba (Tarumã-Açu), localizada no lado esquerdo do Igarapé Tarumã-Açu, lote 12, do Projeto Fundiário Manaus-AM (lat $-02^{\circ}53'24.20''$, long $-60^{\circ}05'53.40''$) (Figura 8). A propriedade possui atualmente 230 plantas de *A. acaule* e 255 plantas de *A. aculeatum* e 2 indivíduos aparentemente classificados como híbridos interespecíficos naturais. O local de estudo possui solo arenoso, alagável, próximo a curso d'água. O estudo foi constituído por 93 plantas,

distribuído entre as espécies *A. aculeatum* (identificadas como genótipos 1 a 46) e *A. acaule* (genótipos 49 – 93) amostrados aleatoriamente dentro da área de estudo, e dois híbridos interespecíficos naturais (genótipos 47 e 48). As coletas foram realizadas no período de junho de 2019. De cada planta foi coletado um folíolo jovem e sadio. Logo após, foram colocados em sacos plásticos, previamente identificados e contendo sílica gel. Em seguida, foram transportados e armazenados à -20 °C para posterior extração do DNA e análise com marcadores microssatélites no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LAB-MGV) da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM. O projeto da tese foi registrado no SISGEN sob o número AF66A1A.



Figura 8. Mapa de localização das plantas de *A. acaule* e *A. aculeatum* estudadas.

Marcadores moleculares microssatélites (SSR)

Extração e quantificação de DNA

O DNA genômico total foi extraído de acordo com o protocolo do detergente catiônico CTAB 2X (*Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*) descrito por Doyle e Doyle (1990). De cada uma das amostras de *A. aculeatum*, *A. acaule* e híbridos

foi retirado 100 mg de tecido foliar para maceração em gral de porcelana, para ser digerido com 800 µL de detergente de extração CTAB 2X. O produto resultante foi depositado em tubo Eppendorf de 1,5 mL. Em seguida, foi acrescentado 2 µL de 2-β-mercaptoetanol 1%, seguido de banho-maria à 60 °C durante 30 min, homogeneizado a cada 10 min. Em seguida, foram adicionados 600 µL de clorofórmio com álcool isoamílico, na proporção 24:1 (CIA).

Para separação da fase aquosa, os tubos foram centrifugados à 14.000 rpm por 10 min e transferido o sobrenadante para novos microtubos de 1,5 mL. Foi adicionado 400 µL de isopropanol gelado (-20 °C) para permitir a precipitação do DNA. O material foi incubado por 12 h (*overnight*) a -20 °C. Posteriormente, os tubos foram centrifugados à 14.000 rpm por 10 min, permitindo formação de pellet no fundo do tubo. Depois de eliminado o isopropanol, foi acrescentado por duas vezes 1000 µL de etanol absoluto a 70% no pellet de cada amostra por 10 min, para lavagem. Após secagem do álcool em bancada a temperatura ambiente por 30 min foi adicionado 75 µL de solução tampão TE (Tris-HCl e EDTA) com RNase (10 µg/mL). O material final foi armazenado à -20 °C.

A quantificação do DNA genômico foi realizada em gel de agarose 0,8% em tampão TBE 1X, a partir de comparações visuais com padrões de massa molecular de 50, 100 e 200 ng/µL de DNA do fago lambda. Os géis foram corados com o corante GelRed (1mg/mL) para a visualização das bandas de DNA. A corrida de eletroforese foi realizada a uma voltagem de 110 V durante o período de 60 min. E o gel foi fotografado e avaliado com auxílio de fotodocumentador. O DNA extraído também foi quantificado em Nanodrop 2000C. Após a quantificação do DNA concentrado, foi necessário diluir o DNA a concentração de 5 ng/µL com água ultrapura. O material final foi armazenado à -20 °C.

Amplificação com marcadores SSR via PCR

Foram selecionados nove locos SSR previamente desenvolvidos e seguido protocolo de amplificação via PCR descrito por Ramos et al. (2012; 2016b) (Tabela 1). Os produtos da PCR de boa qualidade foram marcados com fluorescências (SCHUELKE, 2000) e submetidos à eletroforese capilar no analisador automático de DNA ABI 3130XL *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). O GeneScan™ -500 ROX *standard size* (Life Technologies do Brasil Ltda.) foi

usado para determinar o tamanho dos alelos. As genotipagens foram observadas e analisadas com o auxílio do programa GENEMAPPER v4.0 (*Applied Biosystems*, Foster City, California, USA).

Tabela 1. Locos microssatélites com amplificação positiva para *Astrocaryum aculeatum* e *Astrocaryum acaule*. As sequências iniciais do *primer forward* apresentam sequências comuns (M13) para uso de fluorescências, segundo método econômico de SCHUELKE (2000).

Loco	Sequência do Primer	Número de acesso	Temperatura de anelamento	Motivo de repetição	Artigo
Aac01	Pf - tgtaaacgacggccagtCACATGGTTCCTCCTCGTTC Pr - GCGAAAGGGTATAGTCAGCG	GF111927	60 °C	(ATCACT)2	
Aac02	Pf - tgtaaacgacggccagtCGATTTGAGTCCGATGTG Pr -GCAGTTGTGTGTCTGGTTCT	GF111928	60 °C	(GCCATG)2	
Aac03	Pf - tgtaaacgacggccagtGCCTCCTTTAGTTCCTGCAC Pr -AGCATCGGACTTTCCAGGT	GF111929	60 °C	(TCCTAC)2	
Aac04	Pf - tgtaaacgacggccagtGCATTGTCATCTGCAACCAC Pr -GCAGGGGCCATAAGTCATAA	GF111930	60 °C	(GT)7(GA)16	Ramos et al., 2012
Aac06	Pf - tgtaaacgacggccagtTCTGATCCATCTGGTTGTCTAA Pr -TGCATGGTGCTAGAGTAATCC	GF111932	64 °C	(TC)19(AC)8	
Aac10	Pf - tgtaaacgacggccagtAGCCGTGAGTGAAGTGGCTTT Pr -AAGCCCAAACCTTCTCCTCG	GF111936	60 °C	(CT)7	
TUC 02	Pf - tgtaaacgacggccagtTGGGGCTTGACCCTATTGTA Pr -CTTCGAGTAACACCTCTCCACC	Unpublished	60 °C	(TG)6	
Epr08	Pf - tgtaaacgacggccagtGCCAGCAATACCAGGAGGTTA Pr -GTGGGTGTGACTTTGTCTGTG	KT198668	60 °C	(TC)15	
Epr13	Pf - tgtaaacgacggccagtATGGAAGTGGATCTGGCAAC Pr -GTCAAGTAGGGAGTCCAGCAA	KT198669	60 °C	(AC)21	Ramos et al., 2016b

Legenda: Pf - *Primer forward*; Pr – *Primer reverse*

Análise estatística dos dados de marcadores SSR

Para cada par de iniciadores de microssatélite foi verificada a presença de alelos nulos utilizando o programa MICROCHECKER (OOSTERHOUT et al., 2004) a partir de um intervalo de confiança de 95 % e 10.000 interações. Esta análise permite identificar os erros de genotipagem, ou seja, verifica a presença de alelos que não são amplificadas mesmo estes existindo (alelos nulos). O programa estima os alelos nulos em cada loco, baseado nos níveis de endogamia e no efeito Wahlund (redução da heterozigosidade em uma população causada pela subestruturação desta), bem como nos desvios ao determinar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), o que indica que este é estimado pela frequência dos alelos.

Os parâmetros de diversidade genética, número médio de alelos por loco (NA), número efetivo de alelos (NE), índice de diversidade de Shannon (I), heterozigosidade esperada (HE), heterozigosidade observada (HO), índice de fixação (F) calculado como $F = (HE - HO)/HE$, representando a endogamia dentro da população e equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram estimados para cada loco e em cada espécie individualmente com o programa Genetic Data Analysis - GDA (LEWIS e ZAYKIN, 2001) e GenAlEx v.6.5 (PEAKALL e SMOUSE, 2012).

O desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi avaliado em cada loco e espécie usando o teste de qui-quadrado. A análise de variância molecular (AMOVA) entre os genótipos avaliados foi realizada com dois níveis hierárquicos (entre e dentro das espécies).

Procurando verificar a existência de diferenciação ou estruturação genética entre os indivíduos das espécies amostradas, foi calculada a estatística F de Wright (1951) através dos algoritmos de Cockerham (1969) e Weir e Cockerham (1984), que apresentam parâmetros que são conceitualmente equivalentes ou correspondentes às estatísticas F de Wright (1951), FIT, FIS e FST. Neste caso, estas análises foram realizadas em cada população amostrada das espécies.

Foi calculado para todos os possíveis pares de genótipos as distâncias genéticas pelo programa GenAlEx v.6.5 (PEAKALL e SMOUSE, 2012). O agrupamento foi realizado pelo método “Neighbor-Joining” com o programa MEGA7. Em adicional análise, a partir do programa estatístico R (R Development Core Team, 2018), os genótipos também foram agrupados segundo método de otimização de Tocher.

Posteriormente, foi aplicada a análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS), em que a maior dispersão das unidades foi identificada como havendo maior dissimilaridade genética. Para a obtenção das análises foi utilizado o pacote Vegan do programa R. O procedimento partiu da organização inicial que, interativamente, reorganizou os indivíduos de maneira a diminuir o stress (*Standard Residuals Sum of Squares*). O stress (S) é uma função que informa a magnitude da perda de informação na matriz de dissimilaridade com a utilização do procedimento, sendo a medida do quanto a posição dos indivíduos em uma configuração n-dimensional desviam-se das reais distâncias (dissimilaridades) após o escalonamento. O stress foi interpretado pelo valor de $R^2 = 1 - S^2$ (OKSANEN et al., 2013).

Análise de estrutura populacional a partir da abordagem Bayesiana de agrupamento foi realizada pelo programa Structure (PRITCHARD et al., 2000), utilizando o modelo *Admixture*, que é normalmente aplicado em populações reais ou naturais. O número de clusters (K) testados foi de 1 a 6, com 10 repetições para cada valor de K, com um *Burn-in* de 100.000 seguido por 200.000 iterações Markov Chain Monte Carlo (MCMC). Para determinar o número de clusters dentro do conjunto de submostras avaliadas foi utilizado o critério ΔK descrito por Evanno et al (2005).

Citometria de fluxo

A análise de citometria de fluxo foi realizada em cinco amostras de cada espécie e dos possíveis híbridos interespecíficos naturais, com a finalidade de se obter o conteúdo de DNA destes materiais. As análises foram conduzidas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

Para a determinação do conteúdo de DNA, aproximadamente 50 mg de folha de cada planta, juntamente com a mesma quantidade de folha de *Vicia faba* (padrão de referência interno com 26,90 pg de DNA) foram triturados em placa de Petri contendo 1 mL de tampão para extração de núcleos Galbraith (GALBRAITH et al., 1983). A suspensão de núcleos foi aspirada com auxílio de pipeta plástica e, posteriormente, filtrada através de malha de 50 μm . Os núcleos foram corados pela adição de 25 μL de solução de iodeto de propídeo em cada amostra. As amostras foram analisadas imediatamente após o preparo. Para cada amostra, 10 mil núcleos foram observados

quanto à emissão de fluorescência para quantificação de DNA utilizando-se escala logarítmica.

A análise foi realizada em Citômetro de Fluxo Facscalibur 4 cores da *Becton Dickinson*. Os histogramas foram obtidos e analisados com o software CellQuest. Os dados referentes ao conteúdo de DNA foram submetidos ao programa Genes (CRUZ, 2013) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott à de 5% de probabilidade.

Fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF)

Preparo do material vegetal para leitura

O preparo das amostras de folhas e análise em TXRF foi realizado no laboratório técnico científico de análise química (SETEC) da Superintendência Regional da Polícia Federal do Amazonas. As amostras de folhas secas foram trituradas manualmente e colocadas em microtubos de 1,5 mL identificados, totalizando 17 amostras. Foram acrescentadas duas esferas magnéticas para a britagem das amostras que foram homogeneizadas em moedor vibratório modelo MM400/Ratsch durante 40 min. Após a pulverização das amostras, foram retiradas as esferas e pesados cerca de 30 mg do material das folhas, raízes e solocorrespondente à área específica e foram transferidos para novos Eppendorfs de 1,5 mL.

Suspensão das amostras

Após a pesagem das amostras de solo e tecidos vegetais, foram adicionados 1,5 mL da solução (e.g. 1% aqueous Triton x100) em cada eppendorf para a suspensão das amostras e foram agitadas em vórtex para a homogeneização. Foi adicionado 10 µL de um padrão interno de Gálio nas amostras. Foi utilizado um carreador de quartzo não siliconado e seco, onde foram pipetados ao centro dos discos 10 µL do PVC, a fim de permitir que uma película fosse gerada e as amostras fossem distribuídas, uniformemente, nos discos. Os discos foram colocados para secar em chapa de aquecimento a uma temperatura aproximada de 100 °C. Após a secagem do PVC, foram pipetados 10 µL da suspensão das amostras e novamente colocadas para secar. Posteriormente, os discos foram colocados nas colunas de mercúrio, tálio, enxofre, rubídio, ouro e frâncio correspondendo ao mapa de análise injetado no TXRF.

Método analítico de fluorescência de raios-X de reflexão total (TXRF)

Para a leitura das amostras foi utilizado um espectrômetro de bancada modelo S4 T-STAR/Bruker, (Bruker, Alemanha). O espectrômetro é equipado com dois tubos de raios-X: um tubo de raios-X de ânodo Molibdênio Mo a 17,5 keV, que consiste em um metal, podendo ser Rh, Mo ou Cr, e um cátodo que consiste em um filamento de tungstênio. Foram realizadas amostras de branco e duplicatas das amostras de tecido vegetal.

Foi determinado o tempo de medição das amostras em torno de 600s, a fim de gerar qualidade no espectro. Os portadores de quartzo foram aplicados como porta amostras e refletores. Para a determinação das sensibilidades relativas dos elementos, foi utilizado o gálio como elemento de referência por apresentar concentrações conhecidas, seguido por um cálculo de sensibilidade que é baseado na área do pico de cada elemento.

Análise estatística

Os genótipos foram agrupados pelo método hierárquico das médias das distâncias (UPGMA) com uso da matriz de distâncias euclidiana média e a dispersão gráfica de similaridade entre eles realizada pelo Método de Componentes Principais, a partir do programa R (R Development Core Team, 2021) e da sua interface RStudio Team (2020), respectivamente.

Posteriormente, foi aplicada a análise de escalonamento multidimensional não métrico, em que a maior dispersão das unidades foi identificada como havendo maior dissimilaridade genética. O procedimento partiu da organização inicial que, interativamente, reorganizou os indivíduos de maneira a diminuir o stress (STandard RESiduals Sum of Squares) (OKSANEN et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversidade Genética de *Astrocaryum aculeatum* e *Astrocaryum acaule*

Nove locos foram otimizados e utilizados no presente trabalho. A presença de alelos nulos nem desequilíbrio gênico não foram observados. Apenas os iniciadores Tuc02 e Epr13 apresentaram monomorfismo ao se analisar os genótipos dos supostos híbridos interespecíficos (Tabela 2). O número de alelos por loco encontrado para as populações de *A. aculeatum* e *A. acaule* foi superior ao observado por Ramos et al. (2012) e Oliveira et al. (2017) para os locos considerados (Tabela 2). Esta diferença

observada pode estar relacionada ao maior número de amostras utilizadas em relação ao trabalho de Ramos et al. (2012). Na pesquisa de Oliveira et al. (2017), os autores observaram menor número alelos por loco, que, possivelmente possa estar relacionada à população com menor variabilidade genética do que a considerada no presente trabalho.

Tabela 2. Comparação do número de alelos e tamanho do alelo por loco encontrado em espécies de *Astrocaryum* obtidos por Ramos et al. (2012), Oliveira et al. (2017) e no presente estudo.

Locos	Ramos et al. (2012)		Oliveira et al. (2017)		Presente estudo	
	<i>A. aculeatum</i>	<i>A. acaule</i>	<i>A. aculeatum</i>	<i>A. aculeatum</i>	Híbridos	<i>A. acaule</i>
Aac01	2 (332–362)	1 (338)	1 (354)	21 (284-414)	2 (358-360)	20 (328-470)
Aac02	2 (282-342)	1 (291)	1 (306)	9 (308-332)	3 (118-312)	11 (140-332)
Aac03	3 (137-167)	1 (145)	3 (157-181)	25 (123-193)	3 (147-167)	20 (123-193)
Aac04	6 (212–242)	1 (223)	7 (207-274)	17 (308-348)	4 (316-330)	13 (304-328)
Aac06	5 (132–192)	1 (154)	6 (141-196)	7 (156-180)	3 (170-220)	15 (142-230)
Aac10	2 (112–128)	2 (112–128)	-	15 (91-161)	3 (99-125)	16 (97-159)
Tuc02	-	-	-	17 (96-190)	1 (104)	21 (100-186)
Epr08	-	-	-	17 (71-121)	4 (91-119)	20 (71-135)
Epr13	-	-	-	10 (135-281)	1 (223)	15 (133-259)
N _{ind}	20	4	80	46	2	44

N_{ind} é o total de indivíduos amostrados. Os dados sobre os intervalos de alelos (pb) estão entre parênteses.

Os nove locos polimórficos amplificados mostraram alto conteúdo de informação genética (total de 215 alelos), variando de 16 a 34 alelos por loco, com média de 23,88 alelos por loco (Tabela 3). Esses valores foram superiores aos observados por Ramos et al. (2016a) e Ramos (2014), em avaliações com marcadores microssatélites de populações naturais de *A. aculeatum* (81 e 101 alelos, respectivamente). Essa quantidade de alelos também foi superior aos observados em acessos de *Euterpe precatória* analisada com 12 iniciadores de microssatélites (17,6 alelos por loco) (RAMOS et al., 2021), e de bancos de germoplasma de *Cocos nucifera* (média de 6,57 alelos por loco) analisada com 25 iniciadores de microssatélites (LOIOLA et al., 2016). Esta expressiva variabilidade genética observada em um pequeno número de indivíduos reforça a importância da conservação genética das populações naturais de *A. aculeatum* e *A. acaule* nas proximidades da cidade de Manaus.

Tabela 3. Parâmetros de diversidade genética ao nível dos locos microssatélite obtidos para indivíduos de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e possíveis híbridos interespecíficos naturais.

Locos	Estatística				
	N	A	H _E	H _O	F
Aac01	70	34	0,761	0,225	0,748
Aac02	50	16	0,726	0,606	0,169
Aac03	77	32	0,784	0,462	0,393
Aac04	71	19	0,823	0,805	0,009
Aac06	80	17	0,677	0,420	0,377
Aac10	84	24	0,667	0,232	0,639
Tuc02	82	28	0,563	0,161	0,711
Epr08	84	25	0,814	0,797	0,007
Epr13	80	20	0,508	0,000	1,000
Média Geral	75,333	23,889	0,703	0,412	0,418

N é o número de indivíduos analisados por loco; A - o número de alelos identificados; H_E - heterozigosidade esperada; H_O - a heterozigosidade observada; e F - o índice de fixação (coeficiente de endogamia).

Todos os locos apresentaram 100% de polimorfismo. A heterozigosidade esperada (H_E) variou entre 0,508 a 0,823 para os locos Epr13 e Aac04, respectivamente, com uma média total dos locos de 0,703. Nos trabalhos em palmeiras também observaram médias de H_E maiores que 0,5 (OLIVEIRA et al., 2010; OTTEWELL et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014; LOIOLA et al., 2016; RAMOS et al., 2016a). As heterozigosidades observadas (H_O) não apresentaram valores superiores às H_E em nenhum dos locos estudados. As H_O variaram entre 0,000 à 0,805 para os locos Epr13 e Aac04, respectivamente. A média de todos os locos para H_O foi de 0,412, indicando ser inferior à média de H_E.

O coeficiente de endogamia ou índice de fixação (F) nos locos não apresentou valores inferiores à zero, o que indicaria um excesso de homozigotos. Esses valores foram observados para metade dos locos analisados. Portanto, a média do coeficiente de endogamia foi de 0,418, sugerindo uma tendência para o excesso de homozigotos em relação ao esperado no EHW (Tabela 3).

Os nove locos em cada população apresentaram um número médio de alelos (NA) que variou entre 2,667 à 16,778 para os híbridos e *A. acaule*, respectivamente (Tabela 4). O número médio de alelos efetivos (NE) variou de 2,519 à 7,176 e o número de alelos privados (NP) variou de 0,444 a 7,889. A identificação de alelos privados é

útil para definir as estratégias de amostragens para conservação genética *ex situ* e as populações que deverão ser priorizadas na conservação *in situ*, bem como para identificar as populações que deverão ser manejadas para evitar perdas dos alelos raros (KALINOWSKI, 2004). Para ter melhor inferência com relação aos alelos privados nas espécies e híbridos considerados, é necessário realizar uma amostragem com maior número de indivíduos por população para observar se existe variação na frequência destes alelos (RAMOS, 2014).

A porcentagem de locos polimorfismos foi de 100% para as espécies *A. aculeatum* e *A. acaule* e de 77,78% para os híbridos. A HE nas espécies variou de 0,500 à 0,813 nos possíveis híbridos interespecíficos e *A. aculeatum*, respectivamente. Valores moderados foram observados para as heterozigosidades observada (HO) e esperada (HE) para duas as espécies, com HO sempre apresentando valores inferiores às HE. Deste modo, o coeficiente de endogamia ou índice de fixação (F) nos locos apresentou valores positivos, o que mostra um excesso de homozigotos nas populações amostradas (Tabela 4). Em geral, estudos em populações de *Astrocaryum* têm apresentado valores de coeficiente de endogamia próximos ou inferiores a zero, conforme apontam Ramos (2014) e Oliveira et al. (2017). A presença de maior endogamia nas populações deste estudo pode estar relacionada a uma menor área de amostragem dos indivíduos, e portanto, maior chance dos indivíduos amostrados apresentarem maior grau de parentesco entre si.

Tabela 4. Estimativas médias dos parâmetros de diversidade genética e índice de fixação (F) estimados a nível de espécies para indivíduos de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e possíveis híbridos interespecíficos naturais.

Estatística	Espécies		
	<i>A. aculeatum</i>	Híbridos	<i>A. acaule</i>
N	39,778	2,000	37,556
N _A	15,333	2,667	16,778
N _E	7,176	2,519	5,227
N _P	6,222	0,444	7,889
I	2,152	0,847	2,138
P (%)	100,00	77,78	100,00
H _E	0,813	0,500	0,795
H _O	0,428	0,444	0,363
F	0,485	0,162	0,550

N é o número de indivíduos adultos utilizados para os parâmetros estimados; N_A é o número médio de alelos por loco; N_E é o número médio de alelos efetivos; N_P é o número de alelos privados; I é o índice de diversidade de Shannon; P é a percentagem de locos polimórficos; H_E é a heterozigosidade esperada; H_O é a heterozigosidade observada; e F é o índice de fixação e calculado como $F = (H_E - H_O) / H_E$, representando a endogamia dentro da população.

O teste do qui-quadrado para o Equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW) rejeitou a hipótese de existência de panmixia nas populações das duas espécies, indicando a ocorrência de cruzamentos seletivos nas populações amostradas. Neste caso, a falta de aderência do EHW detectada por todos os locos também pode indicar falta de aleatoriedade nesses cruzamentos, pela dispersão geográfica irregular. Entretanto para os híbridos, não houve desvios significativos de EHW para os nove locos, sendo dois locos monomórficos (Tabela 5).

Tabela 5. Teste do qui-quadrado (X^2) para Equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW) em genótipos amostrados de *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais.

Locos	<i>A. aculeatum</i>		Híbridos		<i>A. acaule</i>	
	GL	X^2	GL	X^2	GL	X^2
Aac01	210	449,711**	1	2,000 ^{ns}	190	497,975**
Aac02	36	54,975*	3	4,000 ^{ns}	55	206,822**
Aac03	300	475,444**	3	4,000 ^{ns}	190	434,327**
Aac04	136	162,237 ^{ns}	6	6,000 ^{ns}	78	109,652*
Aac06	21	70,122**	3	4,000 ^{ns}	105	321,222**
Aac10	105	460,476**	3	4,000 ^{ns}	120	575,640**
Tuc02	136	534,652**	Monomórfico		210	573,964**
Epr08	136	209,079**	6	6,000 ^{ns}	190	525,227**
Epr13	45	369,000**	Monomórfico		105	518,000**

GL é o grau de liberdade; X^2 é a estimativa do qui-quadrado; ^{ns} - não significativo * - significativamente diferente do HWE em $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$, respectivamente.

Os resultados das estatísticas F de Wright (1951) para os novos locos e espécies consideradas, mostraram que a endogamia total (F_{IT}) foi de 0,607, a estimativa da endogamia devido ao sistema reprodutivo (F_{IS}) foi de 0,594, valor bem maior que a endogamia devida à subdivisão (F_{ST} - 0,030) (Tabela 6). A baixa estimativa de F_{ST} indica que não existe divergência genética significativa entre as populações dessas espécies. Fato também observado na AMOVA, que apresentou diferenciação genética entre espécies de apenas 4%. Entretanto, nossa amostragem é apenas uma parcela da distribuição real de *A. acaule* e *A. aculeatum*, que provavelmente, passam por uma descontinuidade biogeográfica, devido a efeitos de vicariância. Ramos (2014) e Lima et al. (2020) observaram uma moderada estrutura populacional para *A. aculeatum* nos municípios próximos a cidade de Manaus (Presidente Figueiredo e Rumo Certo) e nas populações de *A. acaule*, com base em marcadores moleculares SSR e AFLP, respectivamente.

Tabela 6. Estimativas da estatística F de Wright (1951) e partição da variação genética a partir de quatro locos microssatélites para *Astrocaryum aculeatum*, *Astrocaryum acaule* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais.

	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
Sob todos os locos	0,594	0,607	0,030
Probabilidade (P)	0,001	0,001	0,001
AMOVA			
Var. entre espécies		4%	
Var. dentro da espécie		96%	

Em geral os baixos níveis de diversidade genética exibidos nas espécies estudadas podem ser resultado de eventos estocásticos, vicariância, deriva genética, gargalos da população ou a própria endogamia, o que segundo Namoff et al. (2011) é esperado em casos de populações com maior número de homozigotos aliado a valores positivos para o F_{IS}.

Nossos resultados indicam maior diversidade genética em *A. aculeatum* que em *A. acaule*. Quando comparados as principais palmeiras tropicais de importância comercial, *A. acaule* apresentou baixos valores de diversidade (H_O), juntamente com *Mauritia flexuosa*, *Acrocomia aculeata*, *A. murumuru*, *Elaeis oleífera* e *Astrocaryum paramaca* (CASTRO et al., 2020; MENGISTU et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; CAMACHO-VILLALOBOS et al., 2021). Em contrapartida, *A. aculeatum* apresentou níveis moderados de heterozigidade (H_O) quando contraposto a outros trabalhos com amostragem mais abrangente e de espécies com altos índices de diversidade genética, tais como; *Oenocarpus mapora*, *Cocos nucifera*, *Euterpe edulis*, *Euterpe oleraceae*, *Oenocarpus bataua*, *Bactris gasipaes*, *Euterpe precatória* e *Astrocaryum jauari* (MOURA et al., 2015; LOIOLA et al., 2016; MORAES et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2010; OTTEWELL et al., 2012; ALVES-PEREIRA et al., 2012; RAMOS et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2014) (Tabela 7).

Tabela 7. Lista das principais espécies de palmeiras amazônicas de valor comercial, segundo diversidade genética baseada em locos microsatélites.

Significância da espécie	Organismo	Nome popular	N	Locos	A	Na	HO	HE	Autor
Banco de Germoplasma	<i>Elaeis oleifera</i>	Caiaué	72	12	143	11,92	0,37	0,69	Camacho-Villalobos et al. (2021)
	<i>Cocos nucifera</i>	Coqueiro	90	25	125	6,57	0,40	0,53	Loiola et al. (2016)
	<i>Oenocarpus mapora</i>	Bacabaí	88	5	85	17	0,40	0,48	Moura et al. (2015)
Importância Econômica	<i>Oenocarpus bataua</i>	Patauí	502	12	-	13,1	0,67	0,66	Ottewell et al. (2012)
	<i>Acrocomia aculeata</i>	Macaúba	192	18	38	5,4	0,20	0,39	Mengistu et al. (2015)
	<i>Euterpe edulis</i>	Palmitreiro	208	8	-	2,38	0,48	0,48	Moraes et al. (2020)
	<i>Euterpe precatória</i>	Açaí-do-Pará	377	12	211	17,6	0,72	0,66	Ramos et al. (2021)
	<i>Euterpe oleraceae</i>	Açaizeiro	116	7	42	6,0	0,54	0,75	Oliveira et al. (2010)
	<i>Bactris gasipaes</i>	Pupunha	96	11	144	13,09	0,67	0,82	Alves-Pereira et al. (2012)
	<i>Mauritia flexuosa</i>	Buriti	100	13	220	9,5	0,15	0,65	Castro et al. (2020)
Importância Econômica no gênero <i>Astrocaryum</i>	<i>Astrocaryum jauari</i>	Jauari	90	12	46	4,22	0,74	0,59	Oliveira et al. (2014)
	<i>Astrocaryum acaule</i>	Tucumáí	44	9	215	16,77	0,36	0,79	Presente estudo
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	46	9					
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	244	12	81	7,05	0,58	0,55	Ramos et al. (2016a)
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	218	12	101	10,10	0,63	0,55	Ramos. (2014)
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	40	14	-	3,55	0,52	0,49	Ramos et al. (2012)
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	76	8	-	3,13	0,34	0,35	
	<i>Astrocaryum murumuru</i>	Murumuru	57	8	-	2,83	0,30	0,33	Oliveira et al. (2017)
<i>Astrocaryum paramaca</i>	-	58	8	-	2,41	0,38	0,30		

Estrutura genética e discriminação de híbridos interespecíficos

Pelo dendrograma (Figura 9) e agrupamento de Tocher (Tabela 8) não houve uma clara separação dos indivíduos de acordo com a espécie da qual pertencem. A inclusão de um maior número de locos nas análises pode auxiliar na detecção de maior estruturação nas populações. Os possíveis híbridos interespecíficos naturais também não se agruparam de forma isolada em relação aos demais indivíduos analisados. No método de otimização de Tocher observou-se a formação de 11 grupos, sendo um deles composto apenas por um único genótipo (grupo 11), e os demais grupos composto entre 2 a 28 genótipos, totalizando assim 92 genótipos entre *A. acaule*, *A. aculeatum* e os supostos híbridos.

Para determinar os padrões genéticos de diferenciação e subestruturação populacional, foi realizada a análise bayesiana pelo programa Structure (ver 2.3.4) e, de acordo com o método ΔK descrito por Evanno et al. (2005), os genótipos de *A. aculeatum*, *A. acaule* e os dois híbridos foram atribuídos a dois grupos ($K = 2$ e $K = 3$) (Figura 10 B e D). A visualização gráfica da estrutura populacional pelo pela análise de escalonamento multidimensional não-métrico (Figura 10 E), não permitiu agrupar eficientemente os indivíduos de mesma espécie.

Contudo, analisando o *barplot* com $K=2$ (Figura 10 A), é possível observar, claramente, que o indivíduo “híbrido 01”, confirmado previamente por registro fotográfico, apresenta similaridade genética com as duas espécies de *Astrocaryum*. Neste *barplot* existem também outros indivíduos com mesmo perfil genético, contudo todos foram confirmados em suas respectivas espécies em campo, por chave de identificação botânica (KHAN, 2008). No *barplot* $K=3$ (Figura 10 C), ainda existe uma grande similaridade entre as espécies, mas o indivíduo “híbrido 01” continua a apresentar uma pequena parcela da carga genética de ambas. Deste modo, os resultados sugerem que os locos microssatélites utilizados, indicam grande similaridade gênica entre *A. aculeatum* e *A. acaule* e que estas populações amostradas podem refletir uma linhagem evolutiva comum.

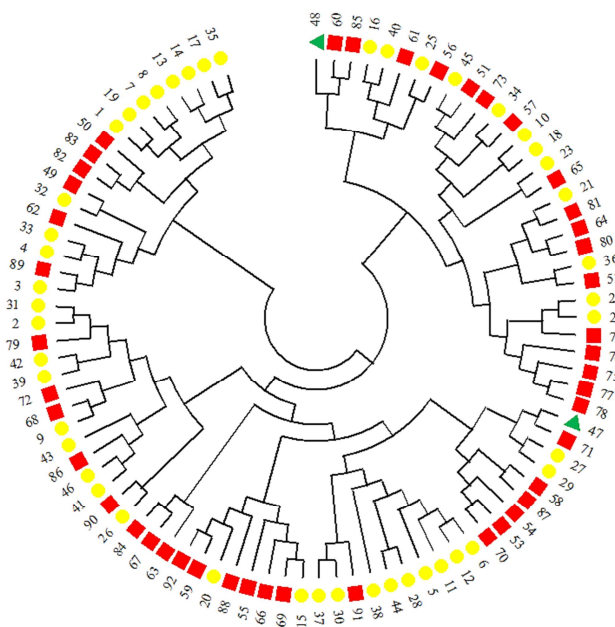


Figura 9. Dendrograma gerado pelo programa MEGA X, com base na distância genética obtida pelo programa GenAlEx v.6.5 (Peakall e Smouse, 2012) e método de agrupamento “Neighbor-Joining” em genótipos de *Astrocaryum aculeatum* (círculo amarelo), *Astrocaryum acaule* (quadrado vermelho) e possíveis híbridos interespecíficos naturais (triângulo verde). Coeficiente de correlação cofenética: $r = 0,5417$.

Tabela 8. Agrupamento dados genótipos de *Astrocaryum* pelo método de otimização de Tocher.

Grupos	Genótipos	Total
1	6, 23, 4, 22, 16, 38, 91, 37, 41, 53, 70, 48, 61, 5, 20, 27, 47, 43, 39, 88, 67, 54, 92, 55, 60, 30, 44, 28	28
2	10, 18, 13, 2, 72, 9, 1, 40, 56, 68, 57	11
3	21, 77, 59, 75, 52, 36, 65, 80, 64, 3, 89, 17, 35, 14, 24, 33, 62	17
4	45, 73, 51, 25, 34, 63, 42, 90	8
5	15, 69, 66, 29, 71, 83	6
6	58, 87, 7, 8, 76, 84, 12, 11	8
7	32, 49	2
8	46, 86, 79, 31, 19, 50	6
9	74, 78, 81	3
10	82, 85	2
11	26	1

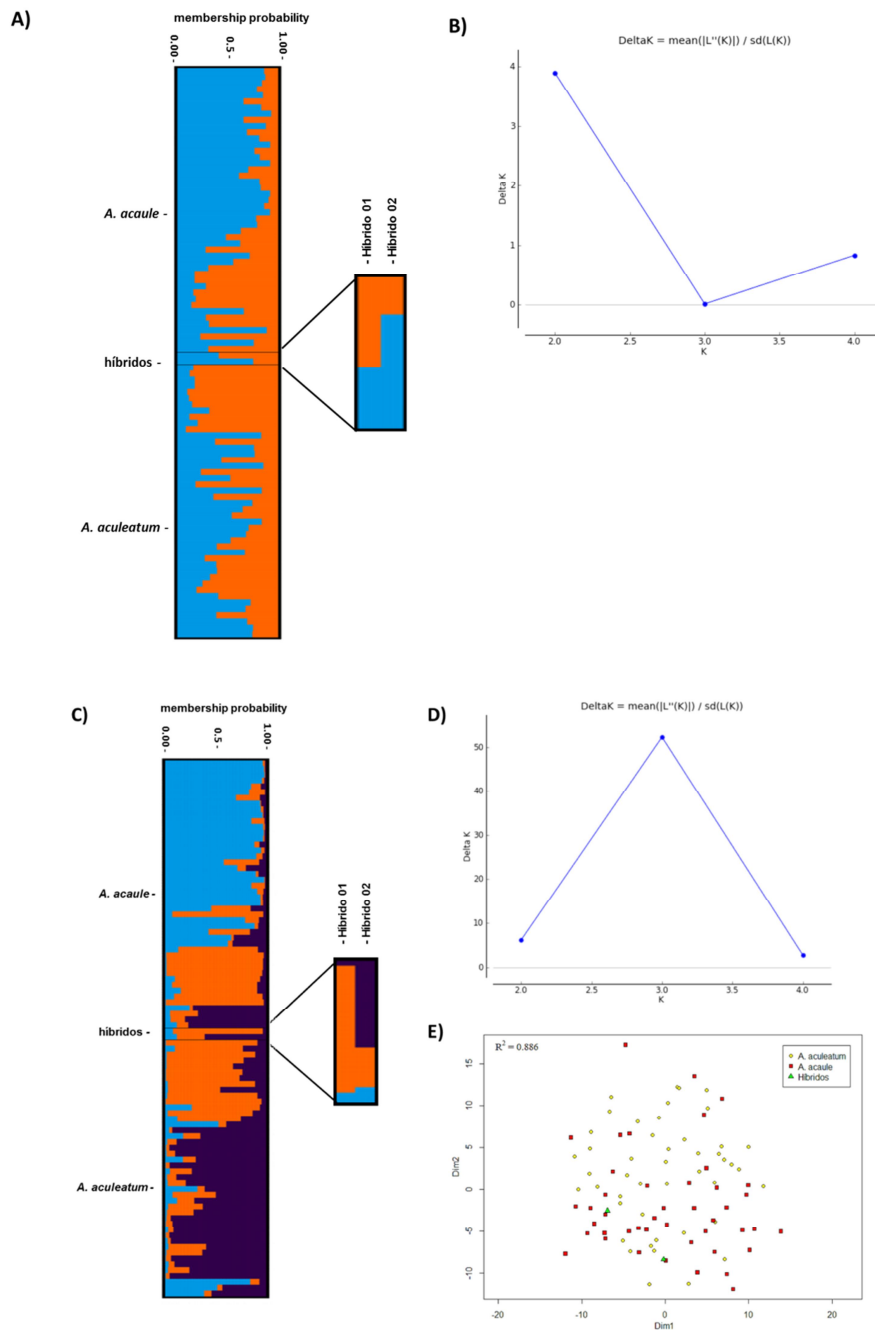


Figura 10. Estrutura populacional de 92 genótipos do gênero *Astrocaryum*. A) *A. aculeatum*, possíveis híbridos interespecíficos e *A. acaule* obtida a partir do programa Structure, segundo $K=2$. B) Número de agrupamentos $K = 2$ com base no ΔK de Evanno et al. (2005). C) *A. aculeatum*, possíveis híbridos interespecíficos e *A. acaule* obtida a partir do programa Structure, segundo $K=3$. D) Número de agrupamentos $K = 3$ com base no ΔK de Evanno et al. (2005). E) Análise de escalonamento multidimensional não-métrica das distâncias genéticas entre genótipos do gênero *Astrocaryum*.

Apesar dos locos utilizados neste trabalho foram desenvolvidos especificamente para *A. aculeatum* (RAMOS et al., 2012), e testados para *A. acaule* a partir de testes de ampliações heterólogas (cruzadas). Alguns autores apontam que com o aumento da distância filogenética, pode haver diminuição da eficiência das ampliações cruzadas, assim como um aumento de aparecimento de alelos nulos, homoplasias, incongruências taxonômicas e queda da diversidade genética entre os locos (YUE et al., 2010; MORAES et al., 2012; YUN et al., 2021).

No presente estudo, foram utilizados também locos espécie-específicos para *Euterpe precatoria* (RAMOS et al., 2016b) que obtiveram ampliações positivas para ambas as espécies de *Astrocaryum*. Yun et al. (2021) utilizando marcadores SSR para discriminar um complexo de espécies híbridas, observou uma grande quantidade de locos monomórficos e compartilhamento dos mesmos alelos entre as espécies-alvo e os híbridos, tornando limitado o uso de alguns locos para o diagnóstico. O mesmo fenômeno pode ter ocorrido para os locos utilizados nesse estudo, evidenciado pela grande similaridade entre os agrupamentos (*barplots*) do programa Structure. Também, o baixo número de ampliações satisfatórias durante as fases preliminares de bancada, dificultou a seleção de locos microssatélites diagnósticos viáveis.

Citometria de Fluxo

O conteúdo de DNA nuclear dos genótipos de *A. aculeatum* variou de 3,6725 a 4,2400 pg, e 3,8000 à 4,1900 pg em *A. acaule* (Tabela 9 e Figura 11). Todas as amostras apresentaram coeficientes de variação (CV) adequados, variando de 1,88 a 4,09%. Segundo Galbraith et al. (2002), os coeficientes de variação até 5% podem ser tomados como aceitáveis devido ao alto grau de resolução da citometria de fluxo. Todavia, é possível observar que os híbridos apresentaram maiores CVs do que aqueles obtidos em *A. acaule* e *A. aculeatum*, sendo que, quanto menor o CV menor é a largura do pico (Figura 12) e maior é a precisão dos resultados da citometria de fluxo.

Em relação aos valores médios observados dentro das espécies e híbridos, a análise de comparação múltipla identificou que o híbrido 1 (genótipo 47) apresenta, estatisticamente, o maior conteúdo de DNA (4,15 pg), seguido de *A. acaule* (4,03 pg) e *A. aculeatum* e o híbrido 2 (genótipo 48) (3,90 pg). Se for analisado exclusivamente e somente o conteúdo de DNA (Figura 11 e 12) pode-se concluir de que o híbrido 2 trata-

se de um genótipo de *A. aculeatum*, enquanto o híbrido 1, que apresenta conteúdo de DNA, significativamente superior as demais espécies, possui maior probabilidade de se constituir como um híbrido interespecífico.

Tabela 9. Conteúdo 2C de DNA estimado por citometria de fluxo com seus respectivos coeficientes de variação em genótipos de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais.

Espécie	Genótipo	Conteúdo de DNA (pg)	CV (%)
<i>A. acaule</i>	1	3,8000 b *	2,03 a
	2	3,8625 b	2,55 a
	3	4,1425 d	2,18 a
	4	4,1900 d	1,99 a
	5	4,1775 d	2,28 a
<i>A. aculeatum</i>	1	3,6725 a	2,34 a
	2	3,7400 a	2,86 b
	3	3,8200 b	2,20 a
	4	4,0700 c	2,17 a
	5	4,2400 d	1,88 a
Híbrido 1	1	4,1575 d	3,14 b
Híbrido 2	1	3,9050 b	4,09 c

*Letras iguais indicam grupos formados pelo teste de Scott-Knott à 5 % de probabilidade.

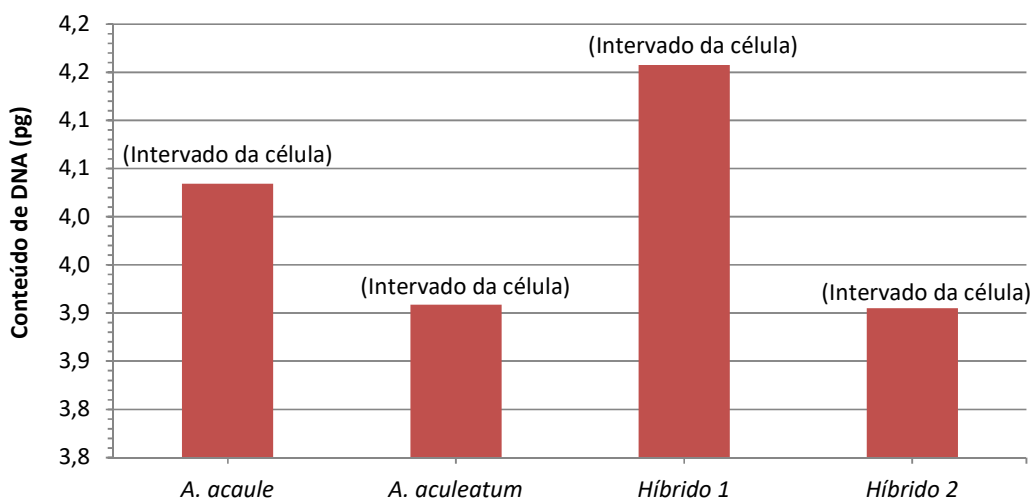


Figura 11. Conteúdo de DNA médio estimado por citometria de fluxo em *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e em possíveis híbridos interespecíficos naturais. Médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o critério de agrupamento de Scott e Knott à 5% de probabilidade.

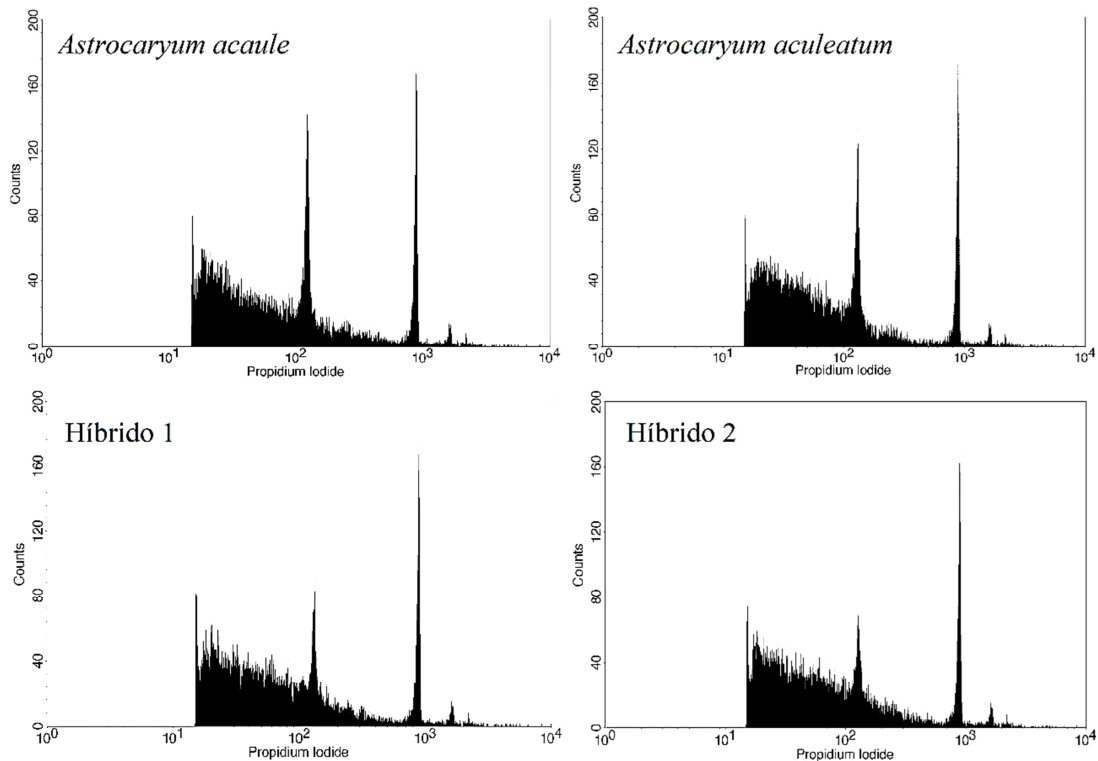


Figura 12. Histogramas obtidos para as quantidades de DNA nuclear de germoplasmas de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e de possíveis híbridos interespecíficos naturais. Os conteúdos de DNA (Mpb - Megapares de base) são apresentados no eixo das abscissas e o número de núcleos lidos por fluorescência se encontram no eixo das ordenadas.

A maior parte da informação disponível na literatura, acerca da quantidade de DNA nuclear em palmeiras, foi obtida por meio de microdensitometria por coloração com Feulgen (RÖSER et al., 1997). Os autores observaram ampla variação na quantidade de DNA dentre as espécies diploides, de 3,89 a 55,62 pg. Os poliploides indicados para esta família demonstraram valores acima de 156,4 pg. Assim, os valores de DNA estimados no presente trabalho, estão mais próximos dos observados para os genomas das espécies diploides.

Ainda são poucos os trabalhos de citometria de fluxo na família Arecaceae. Dentre estes, são citados o de Oliveira (2016) que confirmou estimativas diferentes de tamanho do genoma para três espécies do gênero *Euterpe* a partir das medidas citogenéticas. Oliveira et al. (2012) também identificaram diferença significativa na quantidade de DNA nuclear em espécies no gênero *Oenocarpus*. Para a palmeira *Elaeis guineenses*, Srisawat et al. (2005) encontraram valores em cultivares que variavam $2C =$

3,24 a 3,76. Abreu et al. (2011) e Freitas Neto et al. (2016) descreveram para *Acrocomia aculeata*, um genoma de tamanho $2C = 5,81$ pgm, de células em G1, e de $2C = 5,75$ pg para acessos de *Cocos nucifera*, respectivamente.

Em relação ao gênero *Astrocaryum*, Oliveira et al. (2013) quantificaram por citometria de fluxo a quantidade $2C$ de DNA nuclear em genótipos de *A. vulgare*, *A. mururmuru* e *A. aculeatum*, obtendo valores variando de 4,58 pg a 4,71 pg entre as espécies. Neste caso, os autores relataram a presença de 20% a mais de DNA nuclear em *A. aculeatum* (4,71 pg) se comparado aos resultados do presente trabalho na mesma espécie (3,90 pg) (Tabela 10). Os resultados são inéditos para *A. acaule* e possível híbrido interespecífico entre *A. acaule* e *A. aculeatum*, podendo ser utilizados como ferramenta auxiliar na taxonomia deste grupo e na caracterização de acessos em bancos ativos de germoplasma.

Tabela 10. Lista das principais espécies de palmeiras amazônicas de valor comercial, segundo tamanho dos genomas em Gigabase (taxa de conversão 1 pg = 978 Mb) e conteúdo 2C, obtidos por citometria de fluxo.

Organismo	Nome popular	Conteúdo (Gigabase)	Conteúdo 2C	CV (%)	Autor
<i>Euterpe edulis</i>	Palmito	4 GB	4,08 pg		
<i>Euterpe oleraceae</i>	Açaí-do-Pará	4,13 GB	4,22 pg	0,52	Oliveira et al. (2016)
<i>Euterpe precatoria</i>	Açaí-do-Amazonas	4,61 GB	4,71 pg		
<i>Oenocarpus bataua</i>	Patauá	6,31 GB	6,46 pg	0,71	
<i>Oenocarpus mapora</i>	Bacabi	6,33 GB	6,48 pg	0,7	
<i>Oenocarpus minor</i>	Bacabinha	6,80 GB	6,96 pg	0,49	Oliveira, (2012)
<i>Oenocarpus distichus</i>	Bacaba de leque	6,40 GB	6,55 pg	0,71	
<i>Oenocarpus bacaba</i>	Bacabão	6,64 GB	6,79 pg	0,81	
<i>Elaeis guineensis</i>	Dendezeiro	4,61 GB	4,72 pg	-	Srisawat et al., (2005)
<i>Acrocomia aculeata</i>	Coco-de-espinho	5,68 GB	5,81 pg	3,18	Abreu et al., (2011)
<i>Cocos nucifera</i>	Coqueiro	2,72 GB	5,57 pg	3,2	Freitas-Neto et al., (2016)
<i>Astrocaryum murumuru</i>	Murumuru	4,50 GB	4,61 pg		
<i>Astrocaryum vulgare</i>	Tucumã-do-Pará	4,47 GB	4,58 pg	-	Oliveira et al., (2013)
<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	4,60 GB	4,71 pg		
<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã-do-Amazonas	3,81 GB	3,90 pg	2,86	
<i>Astrocaryum acaule</i>	Tucumái	3,94 GB	4,03 pg	2,55	Presente estudo

Principais características morfológicas do híbrido interespecífico

Corroborando a identificação molecular dos marcadores microssatélites e a citometria de fluxo, os registros fotográficos evidenciam a natureza híbrida do exemplar “híbrido 01” (Figura 13). Na área do Tarumã-Açu, em Manaus, AM, onde todos os genótipos deste estudo foram amostrados, o indivíduo estava presente em uma área de sub-bosque, parcialmente sombreada. A maior parte da sua estirpe apresentava poucos espinhos, quando comparados aos nós e entrenós de um *A. aculeatum*. Ninhos de inseto (Isoptera) e trepadeiras (*Philodendron appendiculatum*) foram observadas ao longo da estirpe (Figura 13 A e E). A maior parte das suas espartas já estavam apodrecidas e apenas poucos frutos em processo de maturação estavam presentes (Figura 13 B e C). Os frutos maduros tinham cerca de 63 mm de comprimento, com forma muito similar aos frutos de *A. acaule*, mas com dobro de tamanho (35 mm) e chegando próximo aos 65 mm de um fruto maduro de *A. aculeatum* (Figura 13 D). Quanto a altura, o híbrido apresenta cerca de 3,4 metros, genótipos de *A. acaule* em torno de 1 metro e genótipos de *A. aculeatum* chegando aos 8,5 metros (Figura 14).

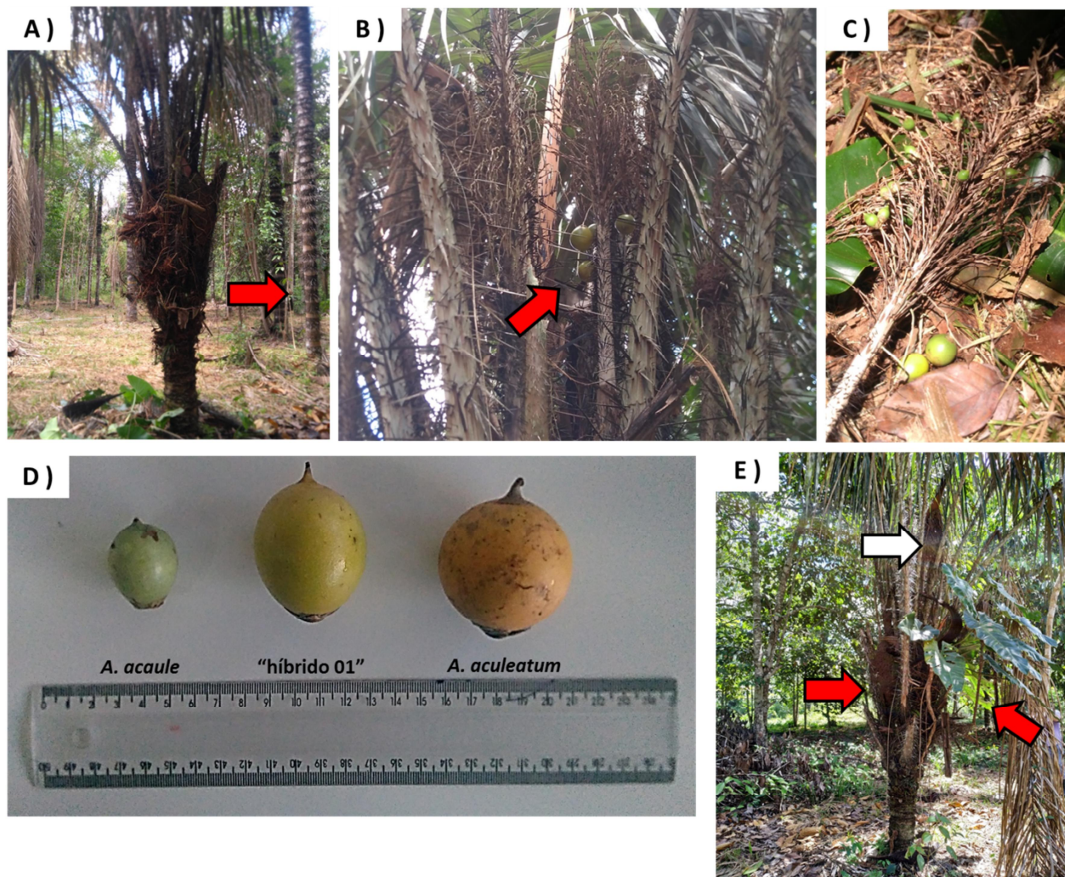


Figura 13. Características do híbrido interespecífico entre *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum*, confirmado por análises genéticas. A) Aspecto do indivíduo “híbrido 01”. O exemplar encontra-se em área de sub-bosque pouco sombreada, rodeado de outros indivíduos de *A. aculeatum* (seta vermelha). B – C) Frutos em fase de maturação e ráquias contendo frutos. D) Comparação do tamanho dos frutos das três espécies. Nota-se o tamanho intermediário dos frutos do híbrido interespecífico, mesmo em estado final de maturação. E) “Híbrido 01” antes da coleta do material foliar, servindo de substrato para a trepadeira Tajá Imbé (*Philodendron appendiculatum*) e ninho de cupim, subordem Isoptera (seta vermelha). Esparta contendo poucos frutos em maturação (seta branca).

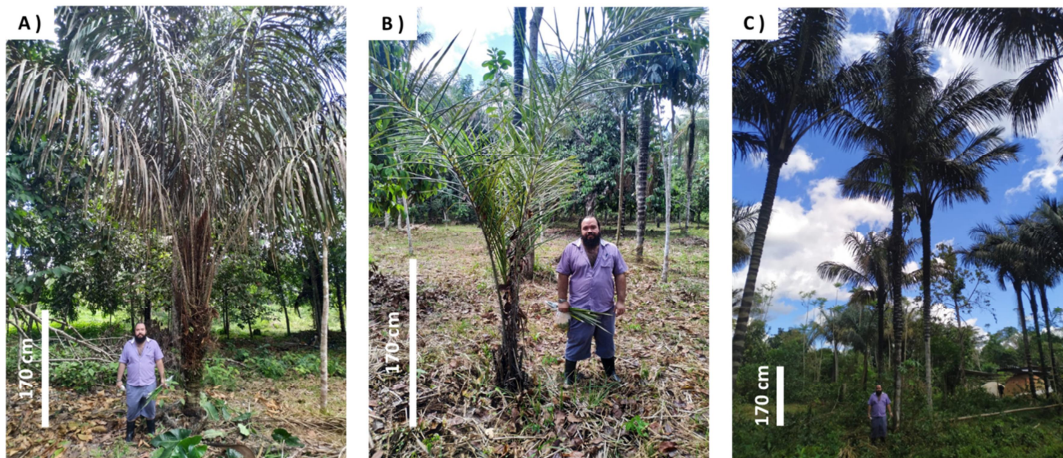


Figura 14. Características dos genótipos de tucumã amostrados na área do Tarumã, em Manaus – AM. A) Híbrido interespecífico identificado por marcadores moleculares e citometria de fluxo. B) Genótipo de *Astrocaryum acaule*. C) Genótipo de *Astrocaryum aculeatum*.

Sincronização do período de florescimento

Para a formação dos híbridos interespecíficos é necessário um período de sobreposição nos tempos de floração entre as espécies, assim como compatibilidade das estruturas florais. As plantas de *A. acaule* florescem e frutificam durante quase todo o ano (ANDRADE et al., 2020). Entretanto, na região de Manaus, o florescimento ocorreu em dois períodos, sendo o primeiro com início em junho até meados de agosto e o segundo entre meados de novembro a janeiro. Todavia, a formação de frutos maduros ocorreu entre os meses de setembro a junho (Figura 15 A). Costa et al. (2005) apontam que em plantas de *A. aculeatum* o período de floração observado foi de julho a janeiro e o de frutificação de fevereiro a agosto, com pico em abril (época de safra). Também ocorreu considerável frutificação entre outubro e meados de novembro (entressafra), sendo comum encontrar plantas produzindo frutos fora destes períodos (Figura 15 B).

No decorrer deste estudo, foi possível realizar o registro fotográfico de apenas um indivíduo, o híbrido interespecífico (híbrido 01). Esse registro realizado ao final de junho de 2019, constatou também plantas que apresentavam espatas com frutos, o que viabilizou a comparação visual dessas plantas com as de *A. aculeatum* e *A. acaule* (Figura 13). Nesse cenário, acreditamos a distribuição dessas duas espécies simpátricas,

aliado a sincronização do período de floração, fornece condições muito favoráveis para a hibridação interespecíficas entre as mesmas (Figura 15). Contudo, a observação de baixa frequência de híbridos nas populações amostradas pode estar associada a dificuldade de discriminá-los de outros indivíduos juvenis de *A. aculeatum*. Neste aspecto, ressalta-se que a produção de frutos de *A. aculeatum* inicia após 5 à 7 anos do fim da germinação das sementes e poucos juvenis apresentaram cachos com frutos, ajudando nessa diferenciação (COSTA et al., 2005).

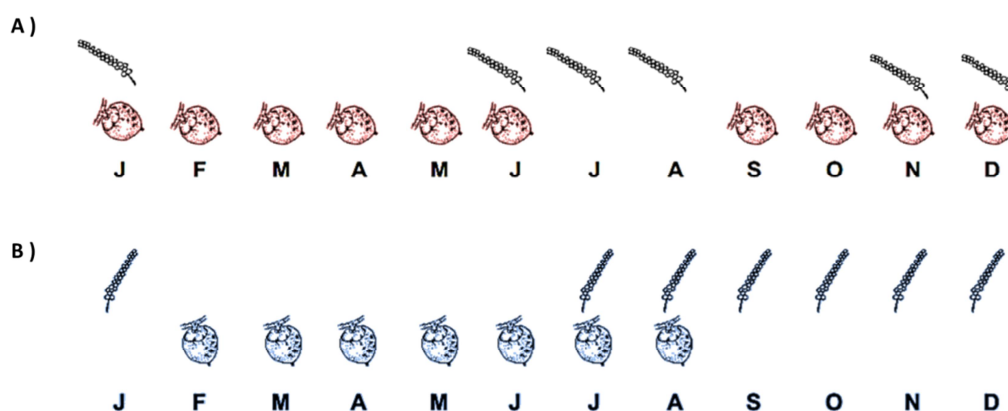


Figura 15. Períodos de florescimento e produção de frutos no período de 12 meses. A) *Astrocaryum acaule* (vermelho). B) *Astrocaryum aculeatum* (azul). Modificado por Costa et al. (2005).

Análise de elementos químicos por TXRF

A partir das análises do tecido foliar das plantas de *A. aculeatum* (n = 9), *A. acaule* (n = 7) e seu híbrido interespecífico, foi possível detectar 23 elementos químicos: Magnésio (Mg), Potássio (K), Enxofre (S), Fósforo (P), Cálcio (Ca), Cloro (Cl), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Cobalto (Co), Silício (Si), Titânio (Ti), Selênio (Se), Ítrio (Y), Gálio (Ga), Iodo (I), Bromo (Br), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Cromo (Cr), Arsênio (As) (Tabela 11). Os elementos foram divididos em grupos segundo sua exigência no metabolismo vegetal tais como; macronutrientes, micronutrientes, elementos benéficos e elementos traço.

Tabela 11. Médias dos teores (mg.kg⁻¹) dos componentes inorgânicos em folhas de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e híbrido interespecífico.

Componente Inorgânico	Natureza do elemento	<i>A. acaule</i>	<i>A. aculeatum</i>	Híbrido 01
		Teor de tecido foliar (mg kg ⁻¹)		
Magnésio (Mg)	Macronutriente	2616,83 a	3408,29 b	2450,00 ab
Potássio (K)		8360,50 a	5136,20 b	6884,00 ab
Enxofre (S)		2908,40 a	2743,60 a	4848,00 a
Fósforo (P)		1451,00 a	1134,67 b	2149,00 ab
Cálcio (Ca)		681,70 a	1311,53 b	1083,00 ab
Cloro (Cl)	Micronutriente	3183,80 a	1926,73 b	952,90 ab
Ferro (Fe)		38,41 a	33,87 b	29,02 ab
Manganês (Mn)		27,91 a	39,06 b	26,78 ab
Zinco (Zn)		30,79 a	30,85 b	28,41 ab
Cobre (Cu)		5,42 a	4,10 b	7,34 ab
Níquel (Ni)		0,96 a	1,21 b	0,92 ab
Cobalto (Co)		0,40 a	0,16 b	0,40 ab
Silício (Si)		Elementos benéficos	30336000,00 a	29801111,00 b
Titânio (Ti)	3,30 a		4,02 b	3,25 ab
Selênio (Se)	1,07 a		6,10 a	0,50 a
Ítrio (Y)	1,47 a		0,27 b	0,00 c
Gálio (Ga)	Elemento traço	204,73 a	212,02 b	212,50 ab
Iodo (I)		138,41 a	137,54 b	126,10 ab
Bromo (Br)		28,99 a	26,79 b	16,30 ab
Rubídio (Rb)		31,66 a	18,33 b	12,15 ab
Estrôncio (Sr)		4,07 a	7,61 b	10,56 ab
Cromo (Cr)		0,49 a	1,40 a	0,41 a
Arsênio (As)		0,00 a	0,66 b	0,00 a

Significativo a 5% por teste T de homogeneidade não paramétrico.

Os valores médio dos elementos inorgânicos foram estatisticamente diferentes entre *A. acaule* e *A. aculeatum* (Tabela 11). Contudo, apenas o híbrido interespecífico não apresentou diferenças significativas quando comparados as duas espécies. Esse mesmo padrão foi apresentado a maior parte dos elementos, com exceção do Enxofre (S), Selênio (Se) e Cromo (Cr). O Silício (Si), Potássio (K) e o Enxofre (S) foram os elementos mais abundantes no tecido foliar. As espécies do gênero *Astrocaryum* são notadamente conhecidas por serem poucos exigentes por solos muito férteis, com alta concentração de nutrientes, e portanto, possui elevada tolerância a solos degradados, ocupa ambientes de capoeira e floresta secundária (FAO, 1987). Quanto a importância desses macronutrientes nas principais culturas amazônicas, é bem estabelecido que o

fósforo (P), as bases trocáveis (Ca, Mg e K) e poucos micronutrientes (B) são os principais elementos limitantes no crescimento vegetal (SILVA et al., 2006; CÁMARA-LERET et al., 2017). O híbrido adsorveu uma maior quantidade de fósforo que as outras duas espécies.

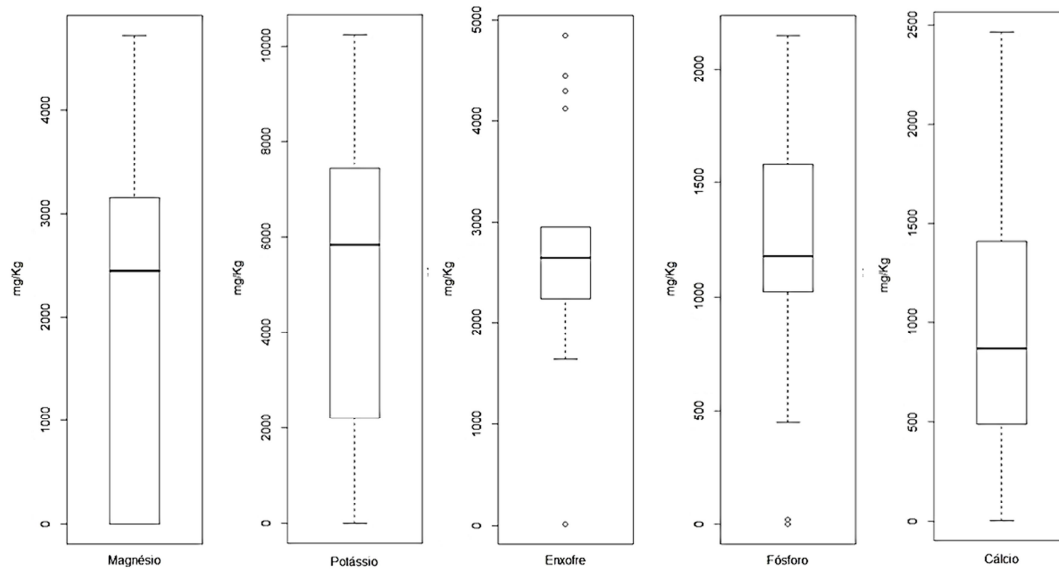


Figura 16. *Boxplot* da dispersão e médias entre os macronutrientes magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S), fósforo (P) e cálcio (Ca). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram *outliers*. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico Mean-Whitney.

Quanto aos micronutrientes, os elementos encontrados em maiores e menores concentrações nos tecidos foliares foram o Cloro (Cl) e o Cobalto (Co), respectivamente (Tabela 11 e Figura 17). Normalmente, as cultivares apresentam baixa deficiência de Cloro devido à sua abundância no solo e no ar, contudo o excesso comumente desencadeia processos de estresse hídrico (CRUZ et al., 2006).

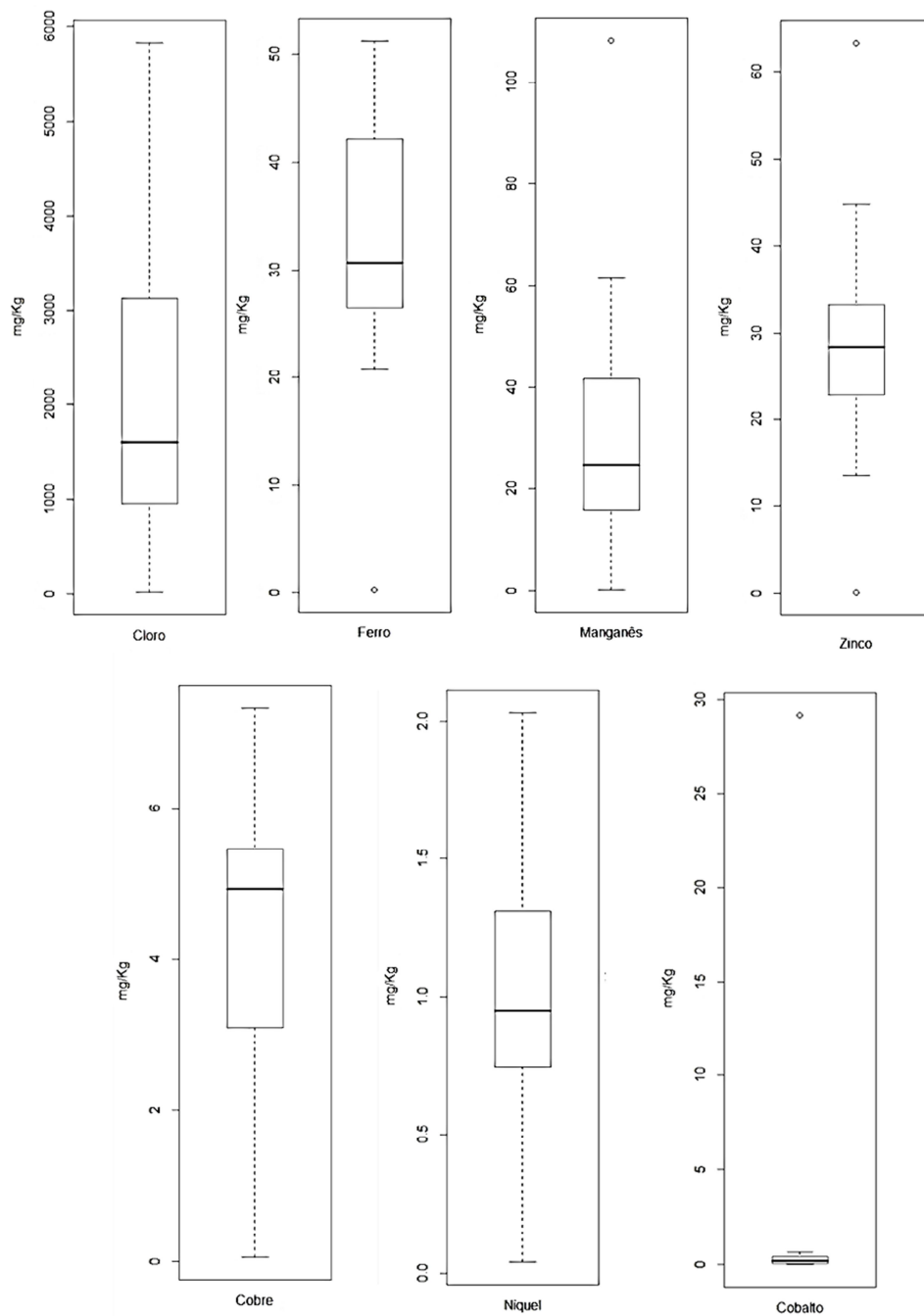


Figura 17. *Boxplot* da dispersão e médias entre os micronutrientes Cloros (Cl), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Cobalto (Co). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram *outliers*. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico Mean-Whitney.

Entre os elementos benéficos, o Silício (Si) foi encontrado em maiores concentrações nos genótipos analisados e o Íttri (I) não foi detectado no híbrido interespecífico (Tabela 11 e Figura 18). Esses elementos não são listados nos critérios de essencialidade nutricional de plantas, sendo alguns de baixa mobilidade no solo, mas possuem efeitos benéficos no desenvolvimento do vegetal, ganho de produtividade, reforço no combate ao estresse oxidativo por radicais livres (MARTINEZ et al., 2009; MENEGALE et al., 2015; BACILIERI, 2015; VILELA, 2015).

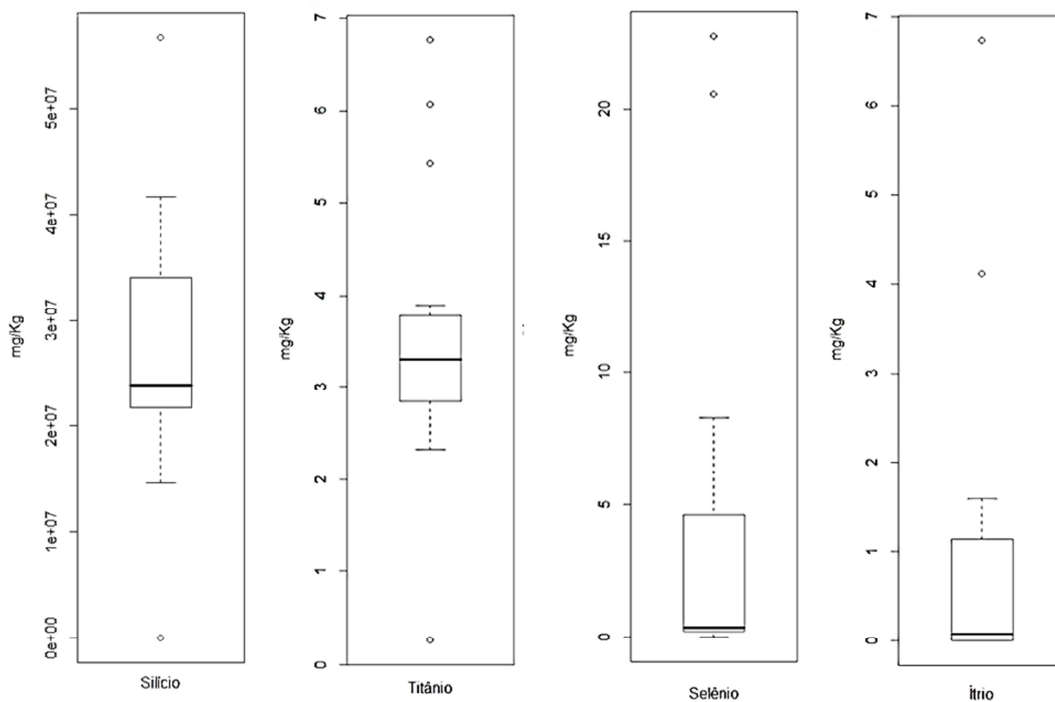


Figura 18. *Boxplot* da dispersão e médias entre os elementos benéficos Silício (Si), Titânio (Ti), Selênio (Se), Íttri (Y). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram *outliers*. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico Mean-Whitney.

Os elementos traço Gálio (Ga) e Iodo (I) apresentaram as maiores concentrações médias e o Arsênico (As) não foi detectado em *A. acaule* e no híbrido (Tabela 11 e Figura 19). Os elementos traço também são nomeados como micro-contaminantes ou não essenciais, por serem, potencialmente tóxicos e não serem necessários no metabolismo biológico. Diferente dos elementos Cromo (Cr), Zinco (Zn), Cobalto (Co),

Manganês (Mn) e Ferro (Fe) que são necessários em porções de microgramas ou nanogramas. O Mercúrio (Hg), Chumbo (Pb), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Titânio (Ti), Estanho (Sn) e Tungstênio (W) são classificados como tóxicos (REBÊLO et al., 2020).

Na análise de agrupamento (UPGMA) (Figura 20), nenhuma formação de grupos definidos para ambas as espécies foi observado. Não foram observadas também diferenças significativas entre as médias dos tratamentos pelo teste T não paramétrico. Nas análises de escalonamento multidimensional não-métrico e de componentes principais (PCA) (Figuras 21 e 22), o posicionamento do híbrido centralizado próximo aos quadrantes e dentro das elipses pode indicar sua similaridade com as duas espécies, com relação a sua composição química do tecido foliar.

Acredita-se que o híbrido interespecífico apresenta necessidades nutricionais muito similares as das duas outras espécies de *Astrocaryum*, aumentando ainda mais a pressão seletiva contra sua viabilidade na natureza. Espécies simpátricas podem formar híbridos, mas a presença de uma zona híbrida pode ser de difícil identificação ou inexistente. Apesar do baixo número amostral usado no TXRF, determinou-se valores médios de exigência nutricional do híbrido interespecífico *A. aculeatum* x *A. acaule*, que servirão de comparação para outros eventuais exemplares. Para posteriores planos de manejo visando o uso comercial desse híbrido, sugerem-se mais análises envolvendo a mobilidade e concentração dos elementos químicos no sistema solo-raiz-folhas durante diferentes épocas do ano.

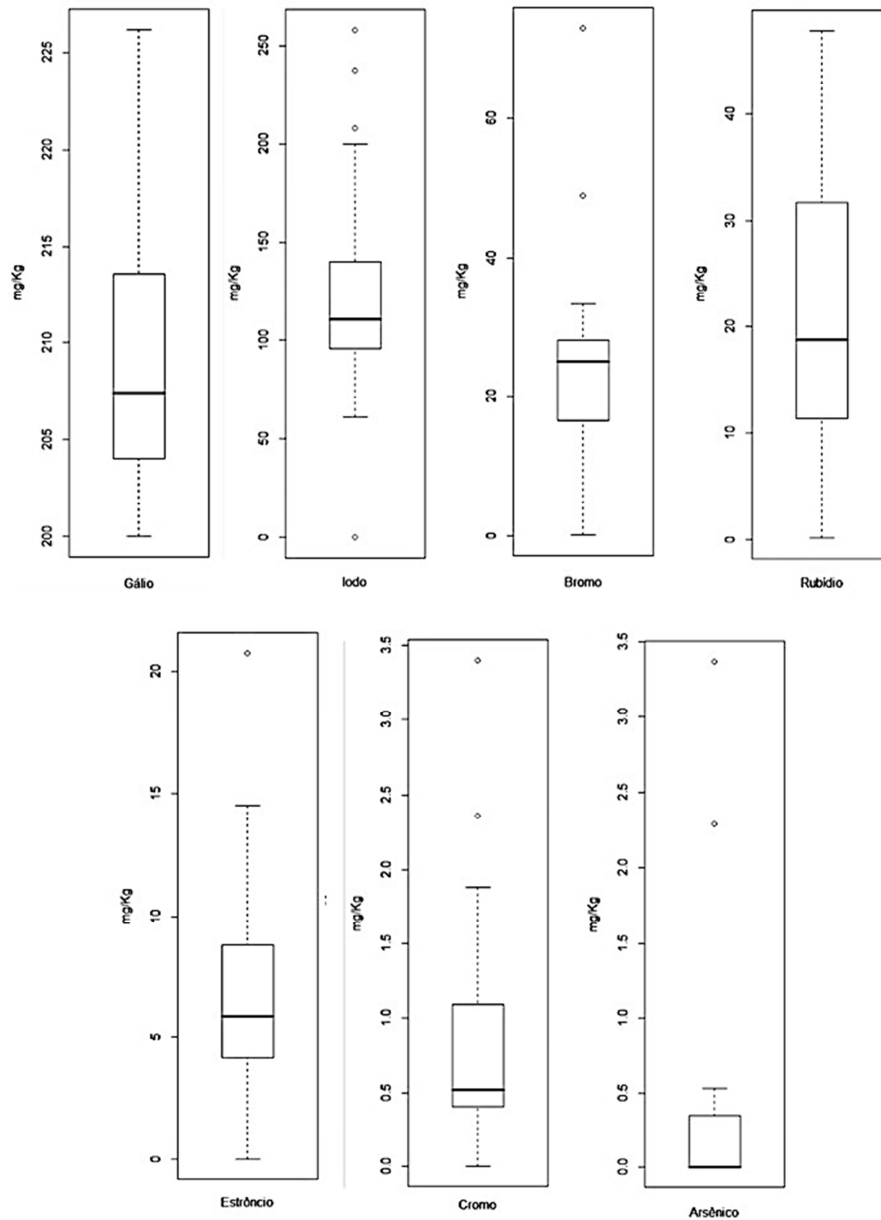


Figura 19. *Boxplot* da dispersão e médias entre os elementos traço Gálio (Ga), Iodo (I), Bromo (Br), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Cromo (Cr), Arsênico (As). Caixas mostram os quartis de 25 e 75%, barras mostram os quartis de 10 e 90%, quadrados cheios mostram a mediana, círculos vazios mostram *outliers*. Significativo a 5% pelo teste não paramétrico Mean-Whitney.

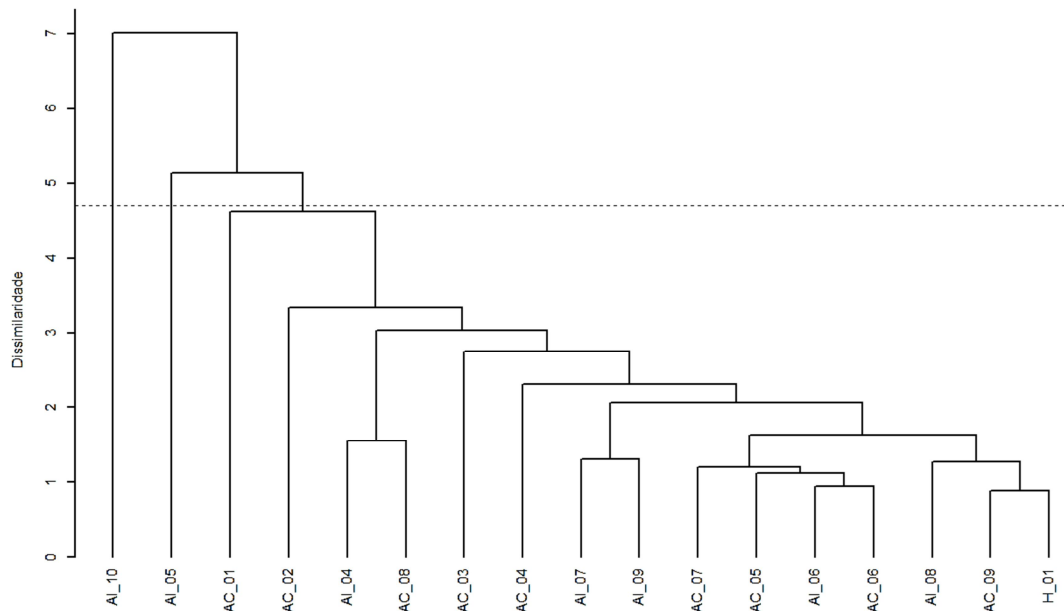


Figura 20. Análise de agrupamento (UPGMA) a partir da distância euclidiana média entre sete genótipos de *A. acaule*, nove genótipos de *A. aculeatum* e um híbrido interespecífico, com base em análises de elementos químicos presentes no tecido foliar. Coeficiente de correlação cofenética: $r = 0,8879$. A linha horizontal tracejada representa o corte estimado pelo método de Mojema (1977). AI - *A. acaule*, AC - *A. aculeatum*, H - híbrido interespecífico.

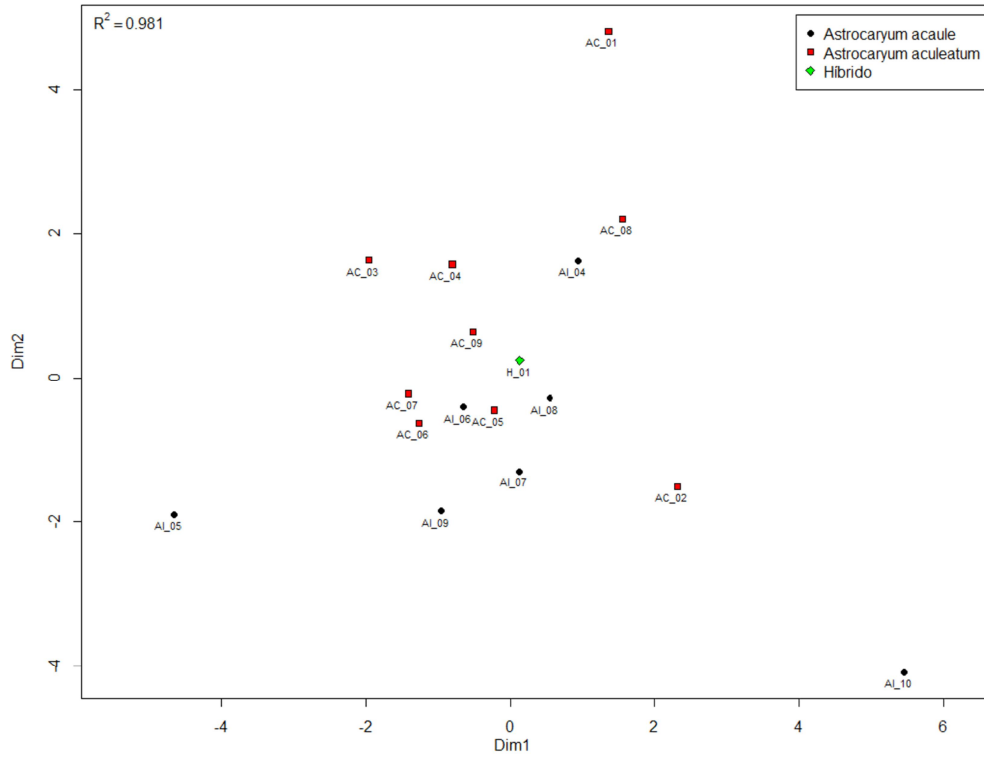


Figura 21. Análise de escalonamento multidimensional não-métrica das distâncias genéticas entre sete genótipos de *A. acaule*, nove genótipos de *A. aculeatum* e um híbrido interespecífico, com base nas análises elementares de tecido foliar.

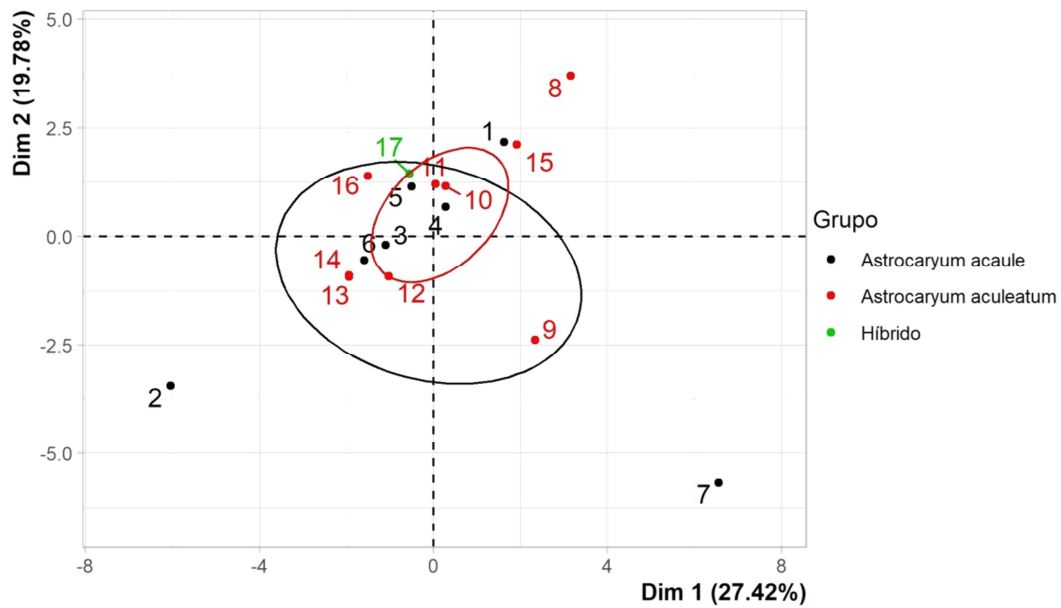


Figura 22. Análise de Componentes Principais (PCA). As elipses indicadas no gráfico representam as regiões de confiança para caracterização dos grupos analisados.

Viabilidade dos híbridos e aspectos ecológicos

Um dos principais fatores limitantes na viabilidade de híbridos naturais é a competição pelos mesmos nichos dos seus genitores e das demais espécies estabelecidas, limitando seu número na natureza (*fitness*) (GRAMLICH e HÖRANDL, 2016; DAGILIS et al., 2019). Muitas espécies vegetais podem apresentar barreiras reprodutivas pré-cruzamento (não formação do fruto) e pós-cruzamento (inviabilidade de sementes), o que aparentemente não é regra para *A. aculeatum* e *A. acaule*. Outro facilitador é que grande parcela das espécies de *Astrocaryum* distribuem-se em simpatria, ocupando uma distribuição geográfica sobreposta, com indivíduos suficientemente próximos (ARNOLD et al., 2012).

Híbridos naturais com o mesmo número de ploidia dos parentais são raros e tendem a ser inviáveis devido a incompatibilidades cromossômicas na geração F1. Mecanismos aloploidoides decorrentes de hibridação interespecífica são os mais comuns, e após duplicação do genoma vegetal, pode tornar o híbrido fértil com gametas viáveis (HEGARTY e HISCOCK, 2005). Para *A. aculeatum* e *A. acaule*, são incipientes os estudos citogenéticos que fornecem evidências mais precisas e que auxiliarão na comparação ao nível de ploidia do genoma híbrido. O indivíduo “híbrido 01”, aparentemente, apresenta grande compatibilidade genômica com as espécies genitoras, uma vez que foi observado frutos em estado de maturação ainda em campo (Figura 13 A, B, C). Posteriormente, será necessário determinar os diferentes graus de fertilidade que esses indivíduos híbridos terão.

Quanto as relações ecológicas, espécies de palmeiras dependem de dispersores naturais para auxiliar o fluxo gênico entre suas populações. Os coleópteros e as abelhas representam os principais polinizadores das espécies de *Astrocaryum* (OLIVEIRA et al., 2003; BACELAR-LIMA, 2004). A baixa especificidade do polinizador pode estar permitindo a transferência de pólen entre estas espécies, auxiliando a formação de híbridos. Assim como os roedores da espécie *Dasyprocta aguti*, que são os principais dispersores dos seus frutos (PIRES e GALETTI, 2012), poderão auxiliar na disseminação dessas novas linhagens.

Este trabalho pioneiro forneceu a primeira evidência científica da formação de híbridos entre as espécies de palmeira *A. acaule* e *A. aculeatum*. As características excêntricas do híbrido 01 podem ser úteis no desenvolvimento de futuros planos de manejo dessas espécies, uma vez que sua produção comercial atende ainda a um regime

extrativista, e não há a sistematização do plantio de tucumã para atender a demanda de mercado. Mesmo com a escassez de informações sobre a viabilidade desses híbridos, tanto na natureza (valor adaptativo) quanto por manipulação fenológica, sua característica híbrida pode abrir a possibilidade do desenvolvimento de indivíduos de menor porte que produzem frutos tão saborosos quanto os de *A. aculeatum*. Nesse sentido, ressaltamos a importância de outros estudos ecológicos, fenológicos, genético-populacionais, genômicos, nutricionais e do melhoramento genético para essas espécies, de imenso valor comercial e com grande potencial mercadológico para a região Amazônica.

CONCLUSÕES

Os marcadores microssatélites são suficientes para discriminar as espécies de *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e do seu híbrido interespecífico, mesmo com grande similaridade genética entre os loci gênicos. O indivíduo “Híbrido 01” é um híbrido interespecífico e o indivíduo “Híbrido 02” pertencente à espécie *Astrocaryum aculeatum*. A análise citometria de fluxo também demonstra diferenças significativas no conteúdo de DNA (2C) do “Híbrido 01” e “Híbrido 02”.

As populações estudadas apresentam alta variabilidade genética, altos números de alelos por loco, mas alta taxa de endogamia na maioria dos locos estudados e diversidade entre as populações das espécies é baixa. Existe maior diversidade genética dentro das populações de *A. aculeatum* que em *A. acaule*.

As características morfológicas de fruto, diferença na altura das plantas, a análise multielementar e a análise de conteúdo de DNA fortalecem a ideia da existência de pelo menos um híbrido interespecífico natural entre *A. aculeatum* e *A. acaule*.

REFERÊNCIAS

- ABREU, I. S; CARVALHO, C. R; CARVALHO, G. M. A; MOTOIKE, S. Y. First karyotype, DNA C-value and AT/GC base composition of macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae) – a promising plant for biodiesel production. **Australian Journal of Botany**. Vol 59. N. 2. 149-155 pp. 2011.
- ALVES-PEREIRA, A; CLEMENT, C. R; PICANÇO-RODRIGUES, D. Genetic divergence among populations and accessions of the spineless peach palm from Pampa Hermosa landrace used in the heart-of-palm agribusiness in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**. Vol 35. N 2. 474-479 pp. 2012.
- ANDRADE, J. S. S. Florescimento e viabilidade do pólen de *Astrocaryum acaule* Mart. na Amazônia Ocidental. Dissertação de Mestrado. **UFAM (Universidade Federal do Amazonas)**. Manaus. Amazonas. 67 p. 2020.
- ARNOLD, M. L; BALLERINI, E. S; BROTHERS, A. N. Hybrid fitness, adaptation and evolutionary diversification: lessons learned from Louisiana Irises. **Heredity**. Vol 108, 159–166 pp. 2012.
- BACELAR-LIMA, C. G. Polinização e sistema reprodutivo da palmeira *Astrocaryum aculeatum* Meyer na região de Manaus-AM. Dissertação de Mestrado. **INPA/UFAM**. Manaus. Amazonas. 70p. 2004.
- BACILIERI, F. S. Titânio via foliar no metabolismo, absorção de nutrientes e produtividade de batata. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Uberlândia**. Uberlândia. Minas Gerais. 61 p. 2015.
- BASSIL, N; BOCCACCI, P; BOTTA, R; POSTMAN, J; MEHLENBACHER, S. Nuclear and chloroplast microsatellite markers to assess genetic diversity and evolution in hazelnut species, hybrids and cultivars. **Genet Resour Crop Evol**. Vol 60. 543–568 pp. 2013.
- BOARI, A. J. Estudos realizados sobre o Amarelecimento Fatal do Dendê (*Elaeis guineensis* Jack) no Brasil. Belém. Embrapa Amazônia Oriental. **Documento 348**. 62 p. 2008. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/410160/estudos-realizados-sobre-o-amarelecimento-fatal-do-dendezeiro-elaeis-guineensis-jacq-no-brasil>
- CAMACHO-VILLALOBOS, A; SERNA, F; FLORES, J; FLORES, H; MANRIQUE, P; BENDEZU, J. Morphological and molecular characterization of na *Elaeis*

- oleifera (H.B.K) Cortes germplasm collection located in Ucayali, Peru. **PLoS ONE**. Vol 16. N 5. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal>.
- CÁMARA-LERET, R; TUOMISTO, H; RUOKOLAINEN, K; BALSLEV, H; KRISTIANSEN, S. M. Modelling responses of western Amazonian palms to soil nutrients. **J Ecol**. Vol 105. 367-381 pp. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12708>
- CASTRO, D. A. M; COSTA, T. S; CARDOSO, A. S; RAMOS, H. C. C; LÓPEZ, J. A. DINIZ, L. E. C. Genetic structure analysis of *Mauritia flxiosa* natural population from the Lençóis Maranhenses region using microsatellite markers. **Sci. Agric**. Vol 79. N 1. 2020. <http://doi.org/10.1590/1678-992X-2020-0112>.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequency. **Evolution**, v. 23, p. 72-84, 1969.
- COSTA, J. R; LEEUWEN, J; COSTA, J. A. Tucumã-do-Amazonas. In: SHANLEY, P; MEDINA, B. Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. **CIFOR, Imazon**. Belém. p. 304. 2005.
- CRUZ, C. D. Genes - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276. 2013.
- CRUZ, J. L; PELACANI, C. R; COELHO, E. F; CALDAS, R. C; ALMEIDA, A. Q; QUEIROZ, J. R. Influência da salinidade sobre o crescimento, absorção e distribuição de sódio, cloro e macronutrientes em plântulas de maracujazeiro-amarelo. **Bragantia**. Campinas. São Paulo. Vol 65. N 2. 275-284 pp. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052006000200009>.
- DAGILIS, A. J; KIRKPATRICK, M; BOLNICK, D. I. The evolution of hybrid fitness during speciation. **PLoS Genet**. Vol 15. N 5. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008125>
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v. 12, p. 13–15, 1990.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, n. 8, p. 2611-2620. 2005.
- FAO. Especies Forestales Productoras de Frutas y Otros Alimentos: ejemplos de América Latina. **Roma**, p. 241, 1987.
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de Marcadores Moleculares em análises genéticas. **EMBRAPA-CERNAGEN**, Brasília, p. 220, 1998.

- FREITAS NETO, M; PEREIRA, T. N. S; GERONIMO, I. G. C; AZEVEDO, A. O. N; RAMOS, S. R. R; PEREIRA, M. G. Coconut genome size determined by flow cytometry: tall versus dwarf types. **Genet. Mol. Res.** Vol 15. N 1. 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15017470>
- GALBRAITH, D. W.; HARKINS, K. R.; MADDON, J. M.; AYRES, N. M.; SHARMA, D. P.; FIROOZABADY, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell-cycle in intact plant-tissues. **Science**, v. 220, p. 1049-105, 1983.
- GALBRAITH, D; LAMBERT, G; MACAS, J; DOLEŽEL, J. Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. **Current Protocols in cytometry**. New York. 2002.
- GOULET, B. E; RODA, F; HOPKINS, R. Hybridization in Plants: Old Ideas, New Techniques. **Plant Physiology**. Vol. 173. 65–78 pp. 2017.
- GRAMLICH, S; HÖRANDL, E. Fitness of natural willow hybrids in a pioneer mosaic hybrid zone. **Ecol Evol**. Vol 6. N 21. 7645-7655 pp. 2016. DOI: [10.1002/ece3.2470](https://doi.org/10.1002/ece3.2470).
- HARDON, J. J. Interspecific hybrids in the genus *Elaeis* II. vegetative growth and yield of F1 hybrids *E. guineensis* x *E. oleifera*. **Euphytica**. Vol 18. 380–388 pp. 1969. <https://doi.org/10.1007/BF00397785>
- HARTL, D.L.; CLARK, A.G. Princípios de genética de populações. 4.ed. Porto Alegre: **Artmed**. 660 p. 2010.
- HEGARTY, M. J; HISCOCK, S. J. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. 2005. **New Phytologist**. Vol 165. 411-423 pp. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01253.x>
- HORMAZA, P; FUQUEN, E. M; ROMERO, H. M. Phenology of the oil palm interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*. **Sci. Agric**. Vol 69. N 4. 275-280 pp. 2012.
- JOHNSON, N.A. Hybrid incompatibility genes: remnants of a genomic battlefield?. **Trends in Genetics**, v. 26, p. 317-325, 2010.
- KAHN, F. Las palmeras en América del Sur. The Genus *Astrocaryum* (Arecaceae). **Revista Peruana de Biología**, Lima, v. 15, p. 31-48. 2008.
- KAHN, F; MOUSSA, F. El papel de los grupos humanos em la distribución geográfica de algunas palmas em la Amazonía Y su periferia. In: RIOS, M. PEDERSON,

- H. B. Uso y manejo de recursos vegetales. Quito: **Ediciones Abya-Yala**. p. 83-99, 1997.
- KALINOWSKI, S.T. Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. **Conservation Genetics**, v. 5, p. 539–543, 2004.
- LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. Genetic data analysis: computer programme for the analyse of allelic data. **Version 1.0**. 2001.
- LIMA, A. A. P; LOPES, M. T. G; VALENTE, M, S, F; RAMOS, S. L. F. Genetic Diversity Between and Within *Astrocaryum acaule* Mart. (Areaceae) Populations. **Floresta e Ambiente**. Vol 2. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.005618>
- LOIOLA, CM; AZEVEDO, A. O. N; DINIZ, L. E. C; ARAGÃO, W. M; AZEVEDO, C. D. O; SANTOS, P. H. A. D, et al. Genetic Relationships among Tall Coconut Palm (*Cocos nucifera* L.) Accessions of the International Coconut Genebank for Latin America and the Caribbean (ICG-LAC), Evaluated Using Microsatellite Markers (SSRs). **PLoS ONE**. Vol 11. N 3. 2016. doi:10.1371/journal.pone.0151309
- LÓPEZ-CAAMAL, A; TOVAR-SÁNCHEZ, E. Genetic, morphological, and chemical patterns of plant hybridization. **Rev. Chil. de Hist. Nat.** Vol 87. N 16. 2014. <https://doi.org/10.1186/s40693-014-0016-0>
- LOUREIRO, J.C.M. Flow cytometric approaches to study plant genomes. p.122. Tese (Doutorado em Genética) – **Universidade de Aveiros**, Aveiros. 2007.
- MARTINEZ, R. A. S; REZENDE, P. M; ALVARENGA, A. A; ANDRADE, M. J. B; PASSOS, A. M. A. Doses e formas de aplicação de selênio na cultura da soja. **Ciênc. agrotec.** Lavras. Minas Gerais. Vol 33. N 3. 698-704 pp. 2009.
- MÉNDEZ; Y. D. R; CHACÓN, L. M; BAYONA, C. J; ROMERO, H. M. Physiological response of oil palm interspecific hybrids (*Elaeis oleifera* H.B.K. Cortes versus *Elaeis guineensis* Jacq.) to water deficit. **Braz. J. Plant Physiol.** Vol 24. N 4. 273-280 pp. 2012.
- MENEGALE, M. L. C; CASTRO, G, S. A; MANCUSO, M. A. C. Silício: interação com o sistema solo-planta. **Journal of Agronomic Sciences**. Umuarama. Vol 4. N especial. 435-454 pp. 2015.

- MENGISTU, F. G; MOTOIKE, S. Y; CAIXETA, E. T; CRUZ, C. D; KUKI, K. N. Cross-species amplification and characterization of new microsatellite markers for the macaw palm, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**. 1–10 pp. 2015. doi:10.1017/S1479262115000179.
- MILNE; R. I; ABBOTT, R. J; WOLFF, K; CHAMBERLAIN, D. F. Hybridization among sympatric species of rhododendron (ericaceae) in turkey: morphological and molecular evidence. **American Journal of Botany**. Vol 86. N 12. 1776–1785 pp. 1999.
- MITCHELL, N; CAMPBELL, L. G; AHERN, J. R; PAINE, K. C; GIROLDO, A. B; WHITNEY, K. D. Correlates of hybridization in plants. **Evolution Letters**. Vol 3. N 6. 570–585 pp. 2019.
- MITCHELL, N; HOLSINGER, K. E. Cryptic natural hybridization between two species of *Protea*. **South African Journal of Botany**. Vol 118. 306–314 pp. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.12.002>.
- MORAES, E. M; PEREZ, M. F; TÊO, M. F. et al. Cross-species amplification of microsatellites reveals incongruence in the molecular variation and taxonomic limits of the *Pilosocereus aurisetus* group (Cactaceae). **Genetica**. Vol 140. 277–285 pp. 2012. <https://doi.org/10.1007/s10709-012-9678-1>
- MORAES, M. C; MENGARDA, L. H. G; CANAL, G. B; PEREIRA, P. M; FERREIRA, A; FERREIRA, M. F. S. Diversidade genética de matrizes e progênies de *Euterpe edulis* Mart. Em área manejada e em populações naturais por marcadores microsatélites. **Ci. Fl. Santa Maria**. Vol 30. N 2. 583-594 pp. 2020. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509837647>.
- MOURA; E. F; OLIVEIRA, M. S. P; SILVA, D. T; PONTES, L. C. G. Genetic diversity and structure of *Oenocarpus mapora* germplasm conserved at eastern amazon. **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal. São Paulo. Vol 37. N 4. 984-992 pp. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-208/14>.
- NAMOFF, S.; VELOZ, A.; JIMÉNEZ, F.; RODRÍGUEZ-PEÑA, R. A.; PEGUERO, B.; LEWIS, C.; MOYNIHAN, J.; ABDO, M.; MAUNDER, M.; WETTBERG, E. V.; MEEROW, A. W.; GRIFFITH, M. P.; FRANCISCOORTEGA, J. Sweet drinks are made of this: Conservation genetics of an endemic palm species from the Dominican Republic. **Journal of Heredity**, v. 102, n. 1, p. 1-10, 2011.

- NERI, J; WENDT, T; PALMA-SILVA, C. Natural hybridization and genetic and morphological variation between two epiphytic bromeliads. **AoB PLANTS**. Vol 10. 2017.
- NING, H; YU, J; GONG, X. Bidirectional natural hybridization between sympatric *Ligularia vellerea* and *L. subspicata*. **Plant Diversity**. Vol 39. 214-220 pp. 2017.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINDT, R.; OKSANEN, M. J.; SUGGESTS, M. Vegan: Community Ecology Package: **R package** 2.0-10. 2013.
- OLIVEIRA, N. P; OLIVEIRA, M. S. P; DAVIDE, L. C; KALISZ, S. Population genetic structure of three species in the genus *Astrocaryum* G. Mey. (Arecaceae). **Genetics and Molecular Research**. Vol 16. N 3. 2017.
- OLIVEIRA, L. C; OLIVEIRA, M. S. P; DAVIDE, L. C; TORRES, G. A. Karyotype and genome size in *Euterpe* Mart. (Arecaceae) species. **CompCytogen**. Vol 10. N 1. 17–25 pp. 2016.
- OLIVEIRA, L. D. S; RAMOS, S. L. F; LOPES, M. T. G; DEQUIGIOVANNI, G; VEASEY, E. A; MACÊDO, J. L. V; BATISTA, J. S; FORMIGA, K, M; LOPES, R. Genetic diversity and structure of *Astrocaryum jauari* (Mart.) palm in two Amazon river basins. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Vol 14. 166-173 pp. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332014 v14n3a25>.
- OLIVEIRA, N. P.; GESTEIRA, G. S.; OLIVEIRA, M. S. P.; DAVIDE, L. C. Número Cromossômico e Quantidade de DNA nuclear de Espécies do Gênero *Astrocaryum*. In: **7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Urbelândia, Anais, 2013.
- OLIVEIRA, N. P. Estudos polínicos, citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Lavras**. Minas Gerais. Brasil. 2012.
- OLIVEIRA, M. S. P.; SANTOS, J. B. D.; AMORIM, E. P.; FERREIRA, D. F. Variabilidade genética entre acessos de açazeiro utilizando marcadores microssatélites. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1253-1260, 2010.
- OLIVEIRA, M. S. P; COUTURIER, G; BESERRA; P. Biologia da polinização da palmeira tucumã (*Astrocaryum vulgare* mart.) em Belém, Pará, Brasil. **Acta bot. bras**. Vol 17. N 3. 343-353 pp. 2003.

- OOSTERHOUT, C. V.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P. M.; SHIPLEY, P. MicroChecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v.4, p. 535–538, 2004.
- OTTEWELL, K.; GREY, E.; CASTILLO, F.; KARUBIAN, J. The pollen dispersal kernel and mating system of an insect-pollinated tropical palm, *Oenocarpus bataua*. **Heredity**, v. 109, n. 6, p. 332-339, 2012.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.
- PIRES, A; GALETTI, M. The agouti *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae) as seed disperser of the palm *Astrocaryum aculeatissimum*. **Mastozoología Neotropical**. Vol 19. N 1. 147-153 pp. 2012.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**, 2018. Disponível em <http://www.r-project.org>. Acesso em: 10 dez. 2018.
- RAMOS S. L. F; DEQUIGIOVANNI, G; LOPES, M. T. G; VEASEY, E. A. MACÊDO, J. L. V. D; BATISTA, J. S; FORMIGA, K. M; KAGEYAMA, P. Y. Microsatellite records for volume 8. issue 1: Microsatellite markers for *Euterpe precatoria* Mart. (Arecaceae) a palm species used by extractive traditional farmers of Amazon. **Conservation Genetics Resources** Vol 8. N 1. p 43-81. 2016b.
- RAMOS, S. L. F. Estrutura genética e fluxo gênico em populações naturais de tucumã do Amazonas por meio de microssatélites, visando o manejo e conservação da espécie. Tese de Doutorado. **USP/ESALQ**. Piracicaba. São Paulo. 2014.
- RAMOS, S. L. F.; DEQUIGIOVANNI, G.; SEBBENN, A. M.; LOPES, M. T. G.; KAGEYAMA, P. Y.; MACÊDO, J. L. V.; KIRST, M.; VEASEY, E. A. Spatial genetic structure, genetic diversity and pollen dispersal in a harvested population of *Astrocaryum aculeatum* in the Brazilian Amazon. **BMC Genetics**, Ed. 17, v.63, 2016a.

- RAMOS, S. L. F.; MACÊDO, J. L.; LOPES, M. T. G.; BATISTA, J. S.; FORMIGA, K. M.; SILVA, P. P.; SAULO-MACHADO, A. C.; VEASEY, E. A. Microsatellite loci for tucumã of Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) and amplification in other Arecaceae. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 12, 2012.
- RAMOS, S. L. F.; DEQUIGIOVANNI, G.; LOPES, M. T. G.; AGUIAR, A. V.; LOPES, R.; VEASEY, E. A.; MACÊDO, J. L.V; ALVES-PEREIRA, A; FRAXE, T. J. P; WREGGE, M. S; GARCIA, J. N. Genetic Structure in Populations of *Euterpe precatoria* Mart. in the Brazilian Amazon. *Front. Ecol. Evol.* Vol 8. 2021. doi: 10.3389/fevo.2020.603448.
- REBÊLO, A. G. M; MONTEIRO, M. T. F; FERREIRA, S. J. F; RÍOS-VILLAMIZAR, E. A; QUESADA, C. A. N; JUNIOR, S. D. Valores De Referência Da Concentração De Metais Pesados Em Solos Na Amazônia Central. **Química Nova**. Vol 43. N 5. 534-539 pp. 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170516>.
- RIOS, S. D. A; CUNHA, R. N. V; LOPES, R; SILVA, E. B. Recursos genéticos de palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) e *Elaeis oleífera* (*Elaeis oleifera* (hbk) Cortés). Manaus. **Embrapa Amazônia Ocidental**. Documento 96. 39 p. 2012. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/949588/recursos-geneticos-de-palma-de-oleo-elaeis-guineensis-jacq-e-caiuae-elaeis-oleifera-h-b-k-cortes>
- ROSAS, U; BARTON, N. H; COPSEY, L; REUILLE; P. B; COEN, E. Cryptic Variation between Species and the Basis of Hybrid Performance. **PLoS Biol.** Vol 8. N 7. 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000429>
- RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA amounts in palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, v. 110, n. 1, p. 79-89. 1997.
- SANTOS, J. F; MARIGUELE, H; PEREIRA, A; ZAMBONIM, F. M; VENTURIERI, G. A. Variabilidade genética entre e dentro de grupos de *Euterpe* spp. com base em microssatélites. *Revista de la Facultad de Agronomía. La Plata*. Vol 119. 1-7 pp. 2020.
- SCHROTH, G.; DA MOTA, M. S. S.; LOPES, R.; DE FREITAS, A. F. Extractive use, management and in situ domestication of a weedy palm, *Astrocaryum aculeatum*, in the central Amazon. **For. Ecol. Manage**, v. 202, p.161 –179, 2004.

- SCHUELKE M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. **Nat Biotechnol.** v. 18. p. 233–234. 2000.
- SILVA, G. R; SILVA, M. L ; MELO, V. S. Efeitos de diferentes usos da terra sobre as características químicas de um latossolo amarelo do estado do Pará. **Acta Amazonica.** Vol 36, N 2. 151-157 pp. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672006000200004>
- SMITH, N. *Astrocaryum acaule*. In: *Palms and People in the Amazon*. **Springer International Publishing**, p. 29-32, 2015.
- SRISAWAT, T; KANCHANAPOOM, K; PATTANAPANYASAT, K; SRIKUL, S; CHUTHAMMATHAT, W. Flow cytometric analysis of oil palm: a preliminary analysis for cultivars and genomic DNA alteration. **Songklanakarinn J. Sci. Technol.** Vol 27. N 3. 2005.
- STRAW, R. M. Hybridization, Homogamy, and Sympatric Speciation. **Evolution.** Vol. 9. N 4. 441–444 pp. 1955.
- TEIXEIRA, T. P; COSTA, C; MAPELI, A. M. Sistema reprodutivo e potencial de hibridação entre espécies simpátricas de senna (fabaceae) em ambiente de cerrado. **Enciclopédia Biosfera.** Vol 13. N. 24. 2016.
- TURCHETTO, C; SCHNITZLER, C. K; FREITAS, L. B. Species boundary and extensive hybridization and introgression in *Petunia*. **Acta Botanica Brasilica.** Vol 33. N 4. 724-733 pp. 2019. doi: 10.1590/0102-33062019abb0124.
- TURCHETTO, C; SEGATTO, A. L. A; BEDUSCHI, J; BONATTO, S. L; FREITAS, L. B. Genetic differentiation and hybrid identification using microsatellite markers in closely related wild species. **AoB PLANTS.** Vol 7. 2015. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv084>.
- VALLEJO-MARÍN, M; HISCOCK, S. J; Hybridization and hybrid speciation under global change. **New Phytologist.** Vol 211. 1170–1187 pp. 2016.
- VILÀ, M; WEBER, E; ANTONIO, C. M. D. Conservation implications of invasion by plant hybridization. **Biological Invasions.** Vol 2. 207–217 pp. 2000.
- VILELA, L. A. F. Cério, lantânio, neodímio e ítrio no crescimento de milho na presença e ausência de micorriza em casa de vegetação e da aplicação de mix desses elementos na produção de grãos em campo. Tese de Doutorado. **Universidade Federal de Lavras.** Lavras. Minas Gerais. 134 p. 2015.

- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, p. 1358-1370. 1984.
- WIDMER, A.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. Evolution of reproductive isolation in plants. **Heredity**, v. 102, p. 31-38, 2009.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, v. 15, p. 323-354, 1951.
- XU, S.; SCHL. TER, P.M.; SCOPECE, G.; BREITKOPF, H.; GROSS, K.; COZZOLINO, S.; SCHIESTL, F.P. Floral isolation is the main reproductive barrier among closely related sexually deceptive orchids. **Evolution**, v. 65, n. 9. 2606-2020 pp, 2011.
- YANG, J; VÁZQUEZ, L; CHEN, X; LI, H; ZHANG, H; LIU, Z; ZHAO, G. (2017) Development of Chloroplast and Nuclear DNA Markers for Chinese Oaks (Quercus Subgenus Quercus) and Assessment of Their Utility as DNA Barcodes. **Front. Plant Sci.** Vol 8. N 816. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00816>.
- YUE, G; KOVACS, B; ORBAN, L. A New Problem with Cross-Species Amplification of Microsatellites: Generation of Non-Homologous Products. **Zoological Research**. Vol 31. N 2. 131-140 pp. 2010. doi: 10.3724/SP.J.1141.2010.02131
- YUN, S; PARK, J; JANKO, K. Cross-species amplification of microsatellites and identification of polyploid hybrids by allele dosage effects in *Cobitis hankugensis* × *Iksookimia longicorpa* hybrid complex (Actinopterygii: Cypriniformes: Cobitidae). **Acta Ichthyologica et Piscatoria**. Vol 51. N 2. 167–174 pp. 2021.
- ZULKIFLI. Y; RAJINDER. S; MOHD DIN. A; TING. N C; RAJANAIDU. N; KUSHAIRI. A; MUSA. B; MOHAMAD. O; ISMANIZAN, I. Inheritance of ssr and snp loci in an oil palm interspecific hybrid backcross (bc2) population. **Journal of Oil Palm Research**. Vol 26. N 3. 203-213 pp. 2014.

CAPÍTULO II. Predição da distribuição geográfica das palmeiras amazônicas *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum* (Arecaceae)

RESUMO

Astrocaryum aculeatum (tucumã-do-Amazonas) e *Astrocaryum acaule* (tucuma-i) são palmeiras não domesticadas de importância ecológica e para o estrativismo na região norte do Brasil e que apresentam peculiaridades, como ampla distribuição na Amazônia, rusticidade e perenidade. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito das mudanças globais na distribuição geográfica de *A. acaule* e *A. aculeatum* em cenários climáticos futuros utilizando a modelagem de nicho ecológico nos biomas brasileiros. As modelagens foram baseadas em 19 variáveis bioclimáticas, incluindo temperaturas mínimas e máximas e precipitação pluvial, obtidos no site do *Worldclim*. A predição de distribuição geográfica foi testada para quatro algoritmos: Climate space model, Envelope Score, Niche Mosaic e Environmental Distance. As projeções futuras foram avaliadas em dois cenários diferentes, com tendências de concentração de GEEs (*Representative concentration pathways*) - RCP = 4,5, menos pessimista, e RCP = 8,5, pessimista, com dois intervalos de tempo (2020-2050 e 2051 -2070). O algoritmo *Environmental Distance*, apresentou maior similaridade quanto à distribuição da espécie com a área sob a curva com o valor discriminatório máximo (1,00). Tanto *A. acaule* quanto *A. aculeatum* possuem ocorrência potencial nos cinco biomas Brasileiros (Amazônia, Pantanal, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica). Os padrões de dispersão foram muito similares entre as duas palmeiras de *Astrocaryum*, porém *A. aculeatum* é menos resistente e sensível às variações climáticas. Ao ponto que *A. acaule* pode ser mais resiliente a essas mudanças, podendo recolonizar a porção sul da Amazônia em cenários futuros (2070; RCP 8.5). A modelagem de nicho ecológico auxiliou a delimitar as áreas potenciais de *A. aculeatum* e *A. acaule*, com base em variáveis ambientais, climáticas e dados de ocorrência.

Palavras-chave: Arecaceae, modelagem de nicho climático, mudanças climáticas.

ABSTRACT

Astrocaryum aculeatum (Tucumã-do-Amazonas) and *Astrocaryum acaule* (Tucuma-í) are non-domesticated palm trees of ecological importance. Furthermore, they are essential for the practice of sustainable strativism in the northern regions of Brazil which present peculiarities such as wide distribution in the Amazon, rusticity and perenniality. The objective of this work was to verify the effect of global changes on the geographic distribution of *A. acaule* and *A. aculeatum* in future climate scenarios employing ecological niche modeling in Brazilian biomes. The modeling /simulations were based on 19 bioclimatic variables, including minimum and maximum temperatures and rainfall, obtained from the Worldclim website. The prediction of geographic distribution was tested for four algorithms: Climate space model, Envelope Score, Niche Mosaic and Environmental Distance. Future projections were evaluated in two different scenarios with trends in the concentration of GHGs (Representative Concentration Pathways) - RCP = 4.5, less pessimistic, and RCP = 8.5, pessimistic, using two times intervals (2020-2050 and 2051-2070). The Environmental Distance algorithm showed greater similarity regarding the distribution of the species with the area under the curve having the maximum discriminatory value (1.00). Both *A. acaule* and *A. aculeatum* have potential for occurrence in the five Brazilian biomes (Amazon, Pantanal, Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest). The dispersal patterns were very similar between the two *Astrocaryum* palms. However, *A. aculeatum* is less resistant and sensitive to climatic variations. More specifically, *A. acaule* may be more resilient to these changes, being able to recolonize the southern portion of the Amazon in future scenarios (2070; RCP 8.5). Ecological niche modeling helped to define the potential areas of *A. aculeatum* and *A. acaule*, based on environmental and climatic variables and occurrence data.

Keywords: Areaceae, climate niche modeling, climate change.

INTRODUÇÃO

O aquecimento global é constantemente debatido na academia científica e na grande mídia, refletindo a preocupação coletiva do impacto das mudanças climáticas na economia e no atual estilo de vida humano. A necessidade de entender o fenômeno, inicialmente negligenciado gerou vários relatórios com base científica, confeccionados pelo IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*), fundamentados na queima de combustíveis fósseis e emissões de CO₂ (KHANDEKAR et al., 2005; MOSS et al., 2010; NAZARENKO et al., 2015).

As consequências trazidas pelas mudanças de temperatura globais podem levar a enormes perdas econômicas devido à vulnerabilidade das plantações. Na agricultura, os principais fatores que podem influenciar a produtividade das colheitas são: aumento da temperatura local, frequência das precipitações e elevação dos níveis de CO₂ para fotossíntese. Nas florestas tropicais, pode afetar também a distribuição das espécies, ciclo de vida, interações biológicas, assim como as práticas extrativistas (NASTIS et al., 2012; DE SALVO et al., 2013; PRAVEEN e SHARMA, 2019).

Quanto ao impacto econômico, o aquecimento global afeta diretamente a produtividade de palmeiras produtoras de óleos essenciais, pois é uma *commodity* que possibilita o faturamento de cerca de \$50 bilhões/ano. As indústrias produtoras de óleos também contribuem na emissão de gases do efeito estufa durante preparo dessas terras para cultivo, a exemplo em países asiáticos (PATTERSON e LIMA, 2018).

A modelagem de nicho ecológico (ENM) auxilia a delimitar a área potencial de uma dada espécie com base em variáveis ambientais, climáticas e dados de ocorrência. Suas principais aplicações dentro da ecologia e biogeografia são: predição dos impactos do aquecimento global, inferência das áreas de distribuição de espécies alvo e auxílio em planos de conservação (PETERSON et al., 2012; MELO-MERINO et al., 2020). BECK (2013) propõe o uso da ENM na predição de mapas para distribuição geográfica de espécies com aptidão agrícola usando o clima e o solo como variáveis preditoras. ZUQUIM et al. (2020) também ressaltam essa necessidade para as espécies amazônicas.

Grande parte dos artigos publicados com esse tema utilizam os dados bioclimáticos da plataforma WorldClim, ferramenta gerada a partir de um sistema integrado do programa pioneiro de modelagem, BioClim (OLIVEIRA et al., 2019; BOOTH., 2018). Apesar das incertezas nas projeções geradas entre modelos, maior

fidelidade pode ser obtida através de uma validação estatística através da curva de AUC (*Area Under the Curve*) (WIENS et al., 2009).

As palmeiras são conhecidas por sua distribuição na faixa tropical, obedecendo ao gradiente latitudinal de diversidade, com pouca tolerância a baixas temperaturas. Contudo, podem ser cultivadas fora de sua área natural em climas mais temperados (REICHGELT et al., 2018). Segundo Walther et al. (2007), as palmeiras podem ser usadas como bioindicadores das mudanças climáticas devido à sua expansão populacional ter relação significativa com o aquecimento (temperatura) das regiões onde ocorrem naturalmente.

Dentre as palmeiras de valor comercial, destacam-se as do gênero *Astrocaryum*, que compõe cerca de 40 espécies de palmeiras. Estas palmeiras pertencem à família Arecaceae e distribuem-se ao longo de doze países latino-americanos, abrangendo parte da América do Sul e América Central (KAHN, 2008). Ocorrem desde áreas de terra-firme, até as proximidades de áreas alagadiças. Esta característica é decorrente de sua notável aclimação em ambiente com variações de clima e solo (SALM et al., 2015). O padrão de dispersão pode ter sido influenciado por ações antrópicas (exploração e domesticação), roedores dispersores (JORGE e HENRY, 2009; PIRES e GALETTI, 2012; PALMER e KOPROSKI, 2014) e eventos biogeográficos (RONCAL et al., 2013; RONCAL et al., 2015).

O *Astrocaryum aculeatum* Mart., conhecida por “tucumã-do-Amazonas”, é uma das espécies de palmeira apreciada como frutífera na região norte do Brasil. O uso da polpa de seus frutos na alimentação despertou o interesse regional, no entanto, é uma espécie considerada não domesticada e alvo do extrativismo. *A. aculeatum* é muito comum em florestas secundárias e pouco encontradas em florestas primárias (KAHN e GRANVILLE, 1992). Cerca de 55% da composição química do endocarpo da semente são de óleos vegetais (FAO, 1987).

Em contrapartida, *Astrocaryum acaule* Mart., conhecida como “tucumã-i”, possui frutos de tamanho reduzido quando comparados à *A. aculeatum*. Apesar dos frutos serem comestíveis, a semente possui maior relevância no desenvolvimento de biojóias, como na fabricação de anéis, e suas folhas também usadas para extração de fibras para a produção de tecidos naturais na região Amazônica (KAHN e GRANVILLE, 1992).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito das mudanças globais na distribuição geográfica de *A. acaule* e *A. aculeatum* em cenários climáticos futuros utilizando a modelagem de nicho ecológico (ENM) nos principais biomas brasileiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Os pontos de ocorrência de *A. acaule* e *A. aculeatum* foram extraídos das publicações disponíveis no Centro de Referência em Informação Ambiental - CRIA (CRIA, 1999) no site (<http://sblink.cria.org.br>). Essa matriz foi gerada para todo território brasileiro, eliminando-se coordenadas com registro de presença em outros países, pontos discrepantes (*outliers*), coordenadas invertidas, e que não corroboravam com as informações de distribuição natural das espécies.

O total de 19 variáveis bioclimáticas (Tabela 12) foram usadas para estimar as ocorrências na modelagem de nichos, incluindo temperaturas mínimas e máximas e precipitação pluvial. Os dados do período base ("dias presente") foram os registrados entre 2009 e 2019 e cenários futuros foram projetados para 2050 e 2070, todos obtidos no site do *Worldclim* (www.worldclim.org) (HIJMANS et al., 2005; KUMAR e STOHLGREN, 2009). Sobre essa base, foram seguidas as tendências do quarto relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (AR4/IPCC) (IPCC, 2007), sendo um cenário mais pessimista, com nenhuma manutenção e controle das emissões de gases do efeito estufa (GEE) (RCP 8.5), e outro cenário de menores emissões, ou menos pessimista (RCP 4.5) (NAKICENOVIC et al., 2000). Além disso, foi aplicado o teste de *Jackknifing* para diagnosticar a contribuição relativa de cada variável bioclimática.

Tabela 12. Variáveis bioclimáticas selecionadas para uso na modelagem da predição de ocorrência da espécie em estudo, com o código e sua correspondência, variável.

Código	Variável
B 1	Temperatura média anual (°C)
B 2	Média mensal da variação diária da temperatura (temp. máxima - temp. mínima) (°C)
B 3	Isotermalidade (B 2 / B 7) (* 100)
B 4	Sazonalidade da temperatura (desvio padrão *100)
B 5	Temperatura máxima (°C) no mês mais quente
B 6	Temperatura mínima (°C) no mês mais frio
B 7	Variação anual da temperatura (°C) (B 5 - B 6)
B 8	Temperatura média (°C) no trimestre mais úmido
B 9	Temperatura média (°C) no trimestre mais seco
B 10	Temperatura média (°C) no trimestre mais quente
B 11	Temperatura média (°C) no trimestre mais frio
B 12	Precipitação pluvial (mm) acumulada no ano
B 13	Precipitação pluvial (mm) acumulada no mês mais úmido
B 14	Precipitação pluvial (mm) acumulada no mês mais seco
B 15	Sazonalidade da precipitação pluvial (coeficiente de variação)
B 16	Precipitação pluvial (mm) acumulada no trimestre mais úmido
B 17	Precipitação pluvial (mm) acumulada no trimestre mais seco
B 18	Precipitação pluvial (mm) acumulada no trimestre mais quente
B 19	Precipitação pluvial (mm) acumulada no trimestre mais frio

A modelagem da predição futura de ocorrência das espécies foi feita com o uso do software *Open Modeller* (<http://openmodeller.cria.org.br/>) e testado a predição de distribuição geográfica para quatro algoritmos: *Climate space model*, *Envelope Score*, *Niche Mosaic* e *Environmental Distance*. A qualidade dos modelos ajustados foi testada a partir de cálculo da área sob a curva (*Area Under the Curve - AUC*) e todos os mapas foram gerados no programa ArcGIS, com resolução espacial aproximada de 1 km², correspondente a 30" na linha do equador.

RESULTADOS

A partir dos bancos de dados de coleções biológicas do CRIA, foi gerada uma matriz contendo 35 pontos de ocorrência para *A. acaule* e 73 pontos para *A. aculeatum*, considerando todo o território brasileiro e sem erros de localização (Figura 23). Todos os modelos utilizados para distribuição apresentaram efeitos significativos ($p < 0,001$). O modelo *Envelope Score* foi selecionado com AUC de 1,00. Em ambas as espécies, foram indicadas a presença de áreas de potencial para além de seus biomas e ambientes endêmicos. No período 2020, a área de ocorrência entre todos os biomas foi de 4.071.013 km² para *A. acaule* e 5.176.512 km² para *A. aculeatum*.

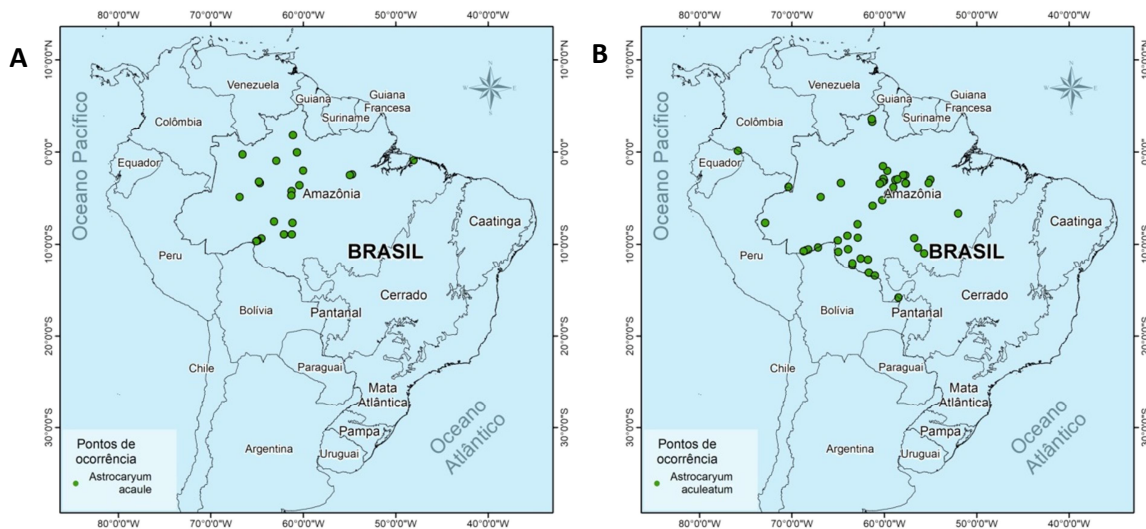


Figura 23. Pontos de ocorrência de *Astrocarylum acaule* (A) e *Astrocarylum aculeatum* (B) no território brasileiro.

***A. acaule* e potencial de dispersão no período presente**

A partir da modelagem de nichos com base em variáveis climatológicas, foi evidenciada a presença de áreas de potencial para expansão de *A. acaule* em cinco grandes biomas brasileiros (Figura 24). Com a maior parcela de área, o bioma Amazônico teve cerca de 3.516.371 km² de ocupação. No bioma Cerrado, destacou-se uma área de 404.592 km² que abrange desde a densa floresta Amazônica, áreas de ecótono e savanas (MARQUES et al., 2019). No Bioma Caatinga, foi observado 127.791 km² de área que abrange o ecótono Amazônia-Cerrado-Caatinga (Mata dos Cocais), os mangues litorâneos e a própria Caatinga. Quanto a Mata Atlântica, uma estreita faixa com 22.213 km² de área no litoral nordestino de floresta Ombrófila foi evidenciada. O Pantanal Brasileiro foi o bioma com menor faixa de área, com cerca de 40 km² (Tabela 13, Tabela 14 e Figura 26).

Bioma amazônico

As projeções utilizadas para cenários climáticos futuros apontam redução nas áreas aptas nos dois períodos avaliados (2050-2070). No cenário otimista (RCP 4.5), houve redução de área potencial de 37,16% (2.209.717 km²) no tempo 2050, seguida de decréscimo maior de 50,41% (1.743.714 km²) em 2070 (Tabela 13). Na Figura 24 B e C

estão apresentadas a perda de área potencial mais acentuada na porção leste da Amazônia, nas proximidades da cidade de Manaus no estado do Amazonas, estado de Rondônia e ao sul do estado do Pará. Pequenos refúgios de floresta na região da bacia do Rio Xingú no ano 2050 e redução considerável no ano 2070 foram evidenciados. No cenário pessimista (RCP 8.5) houve redução de 51,89% (1.691.782) em 2050 e de 32,33% (2.379.608) em 2070, quando comparados ao tempo presente. Essa recuperação de área em 2070 pode ser explicada por um possível processo de recolonização na parte sul da Amazônia, mais precisamente no estado de Rondônia (Figura 25 B e C).

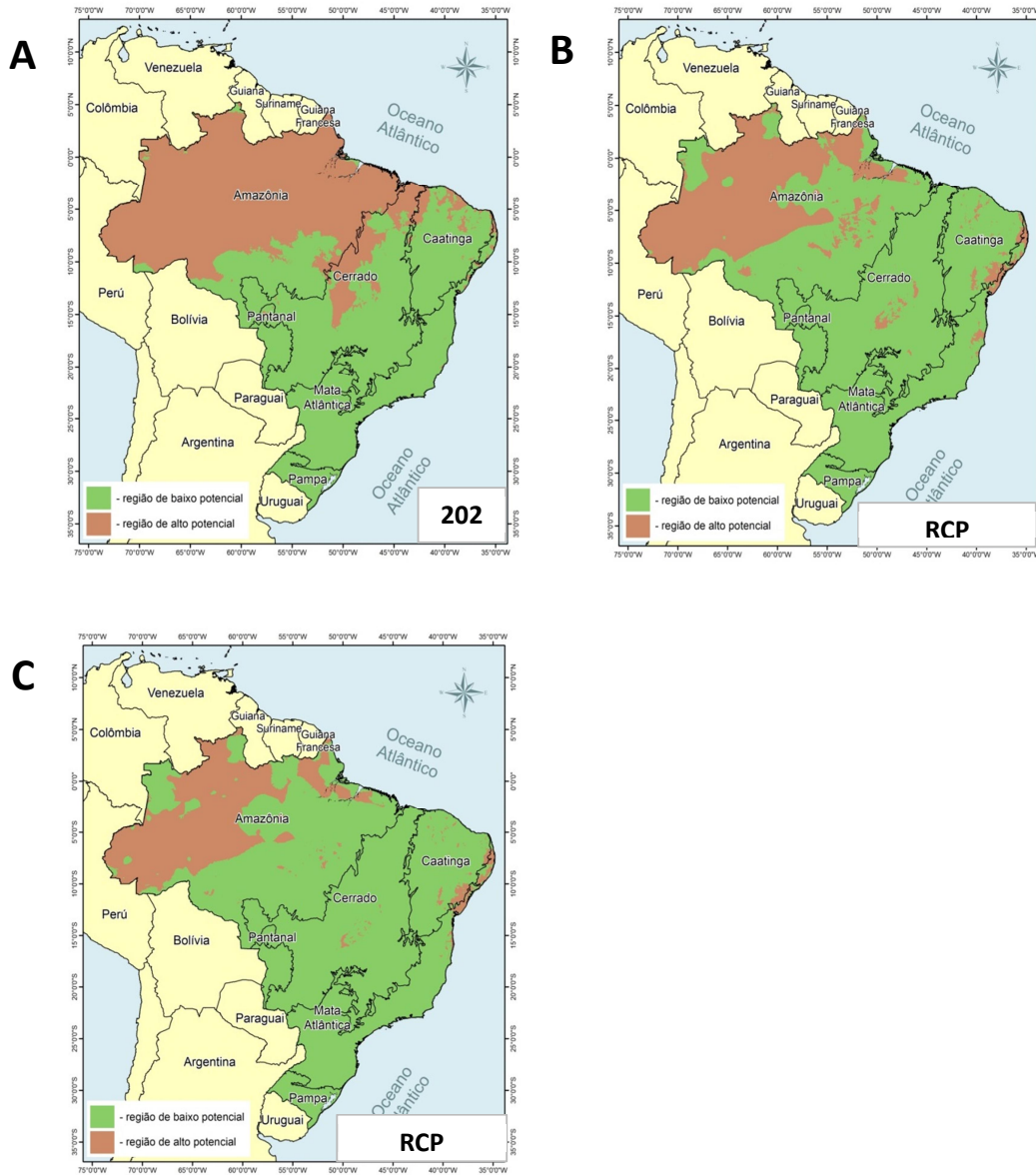
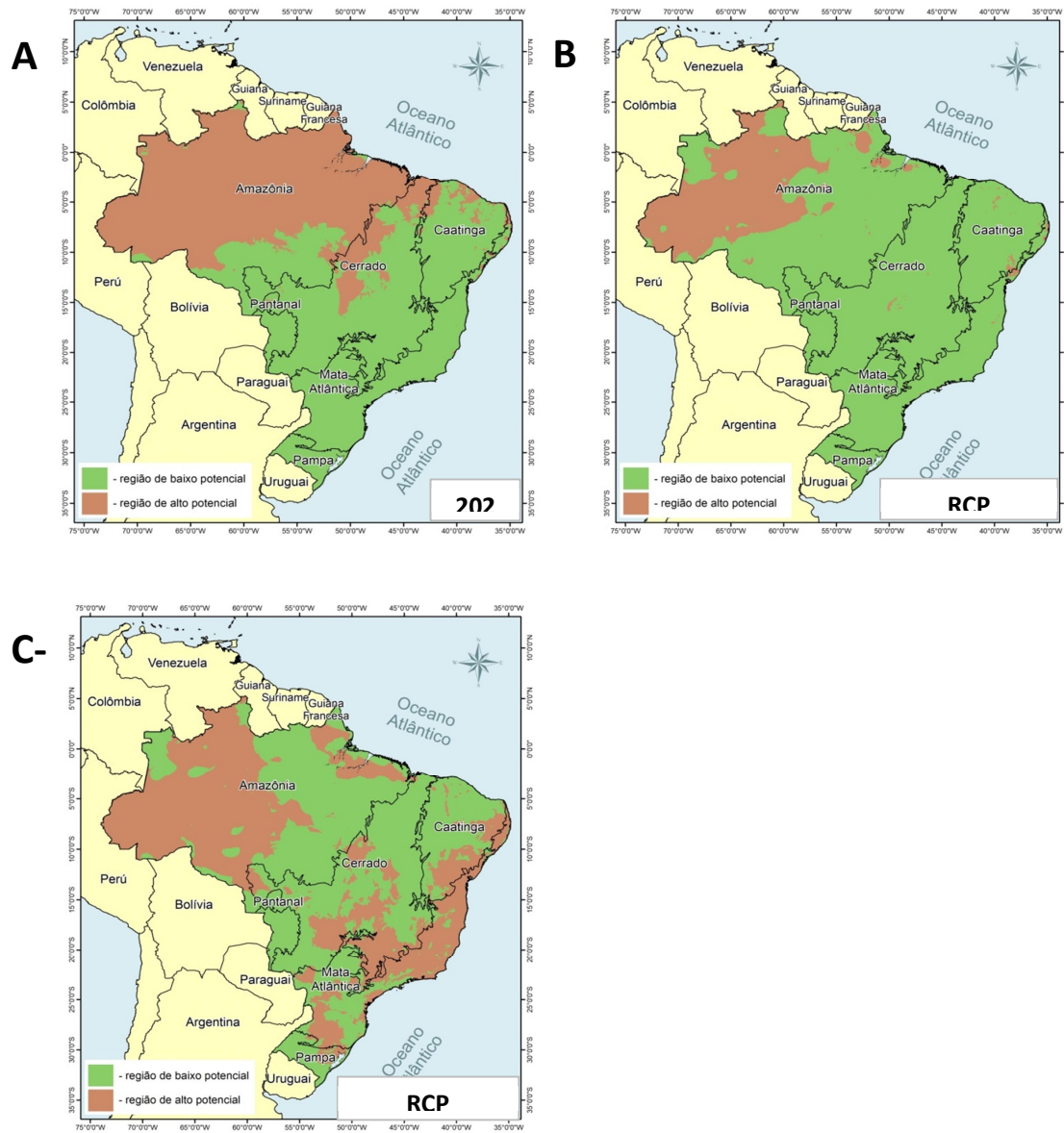


Figura 24. Modelagem da distribuição de nichos de *Astrocaryum acaule* nos períodos 2020 (A), 2050 (B) e 2070 (C) segundo o cenário RCP 4.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi *Envelope Score*.



25. Modelagem da distribuição de nichos de *Astrocaryum acaule* nos períodos 2020 (A), 2050 (B) e 2070 (C) segundo o cenário RCP 8.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi *Envelope Score*.

Demais biomas brasileiros

Em *A. acaule*, foi observado decréscimo de área potencial em todos os biomas durante os anos 2050 e 2070 no modelo RCP 4.5 (Figura 26). O Pantanal é o único ambiente que não apresentará condições mais favoráveis para a existência de *A. acaule*. A Caatinga experimentou reduções de 87,81% e 95,08% em 2050 e 2070, respectivamente. As áreas de savanas dentro do bioma Cerrado são as únicas unidades que continuam suportando a presença de *A. acaule*, com redução de 87,81% e 95,08% no ano 2050 e 2070, respectivamente. A mata Atlântica apesar de apresentar pouca área para ocupação na porção costeira (22.213 km²), evidenciou aumento significativo de 211,97% (69.300 km²) em 2050 e 167,48% (59.416 km²) em 2070 na região de floresta ombrófila (Tabela 13).

No cenário RCP 8.5, há drástica redução da cobertura potencial em todos os biomas, seguida de uma intensa colonização de grande parte costeira da Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado (Figura 25 B e C e a Figura 27). Para o ano de 2070, a mata Atlântica apresentou os maiores ganhos de área 3074,80% (705.233 km²), seguida da Caatinga com 120,79% (282.154 km²) e finalizando no Cerrado com 59,04% (643.452 km²) (Tabela 14).

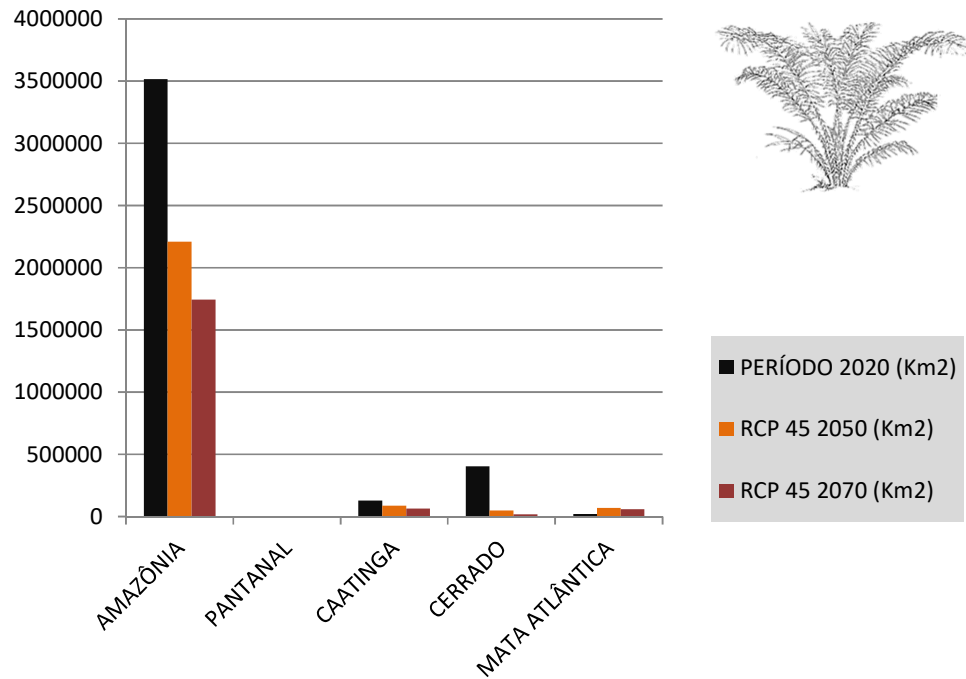


Figura 26. Áreas (km²) de distribuição em *Astrocaryum acaule* segundo cenário RCP 4.5 nos cinco biomas analisados.

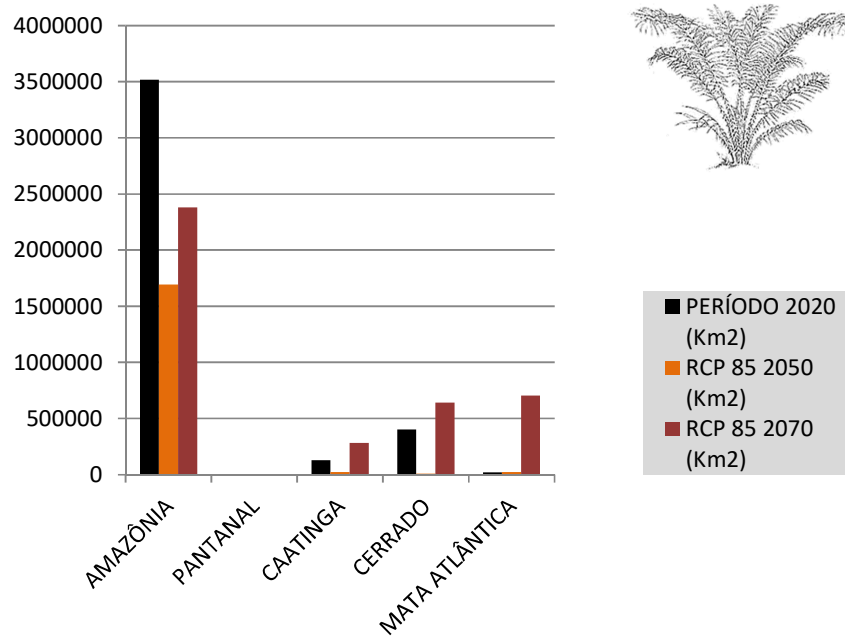


Figura 27. Áreas (km²) de distribuição em *Astrocaryum acaule* segundo cenário RCP 8.5 nos cinco biomas analisados.

Tabela 13. Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum acaule* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo RCP 4.5 em todos os períodos avaliados.

BIOMAS	2020	2050	2070
AMAZÔNIA	3.516.371	2.209.717	1.743.714
PANTANAL	44.313	0	0
CAATINGA	127.791	86.117	65.559
CERRADO	404.592	49.334	19.912
MATA ATLÂNTICA	22.213	69.300	59.416

Tabela 14. Áreas (em km²) da distribuição de *Astrocaryum acaule* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo RCP 8.5 em todos os períodos avaliados.

BIOMAS	2020	2050	2070
AMAZÔNIA	3.516.371	1.691.782	2.379.608
PANTANAL	44.313	0	0
CAATINGA	127.791	24.505	282.154
CERRADO	404.592	9.136	643.452
MATA ATLÂNTICA	22.213	23.053	705.233

***A. aculeatum* e potencial de dispersão no período presente.**

Assim como *A. acaule*, as áreas de distribuição de *A. aculeatum* abrangem cinco grandes biomas brasileiros e são dispostas de forma muito similar (Figura 28). No bioma Amazônico há larga distribuição, ocupando cerca de 4.029.337 km². No Cerrado, abrange maior parcela dos estados do Mato Grosso, Goiás e Tocantins, com 978.225 km². Na Caatinga e Mata Atlântica apresentou 111.226 km² e 45.683 km², respectivamente. Já o Pantanal obteve menor área de distribuição, com 12.041 km² (Tabela 15, Tabela 16 e Figura 28).

Bioma amazônico

Em ambos os cenários propostos e nos dois períodos 2050-2070, *A. aculeatum* passará por uma drástica redução do potencial de distribuição na Amazônia. Durante o cenário otimista RCP 4.5, em ambos os anos analisados serão formados pequenos

fragmentos de floresta (refúgios) que se concentram ao oeste da Amazônia (Acre), ao sul da Amazônia (Rondônia) e nas proximidades da bacia do Rio Xingú (Pará). Haverá redução de área de 79,25% (836.045 km²) em 2050, e de 93,56% (259.418 km²) no período 2070 (Tabela 15). No cenário pessimista RCP 8.5, a redução foi drástica tanto em 2050, de 92,74% (292.346 km²), quanto em 2070, 99,50% (20.271 km²) (Figura 29 B e C).

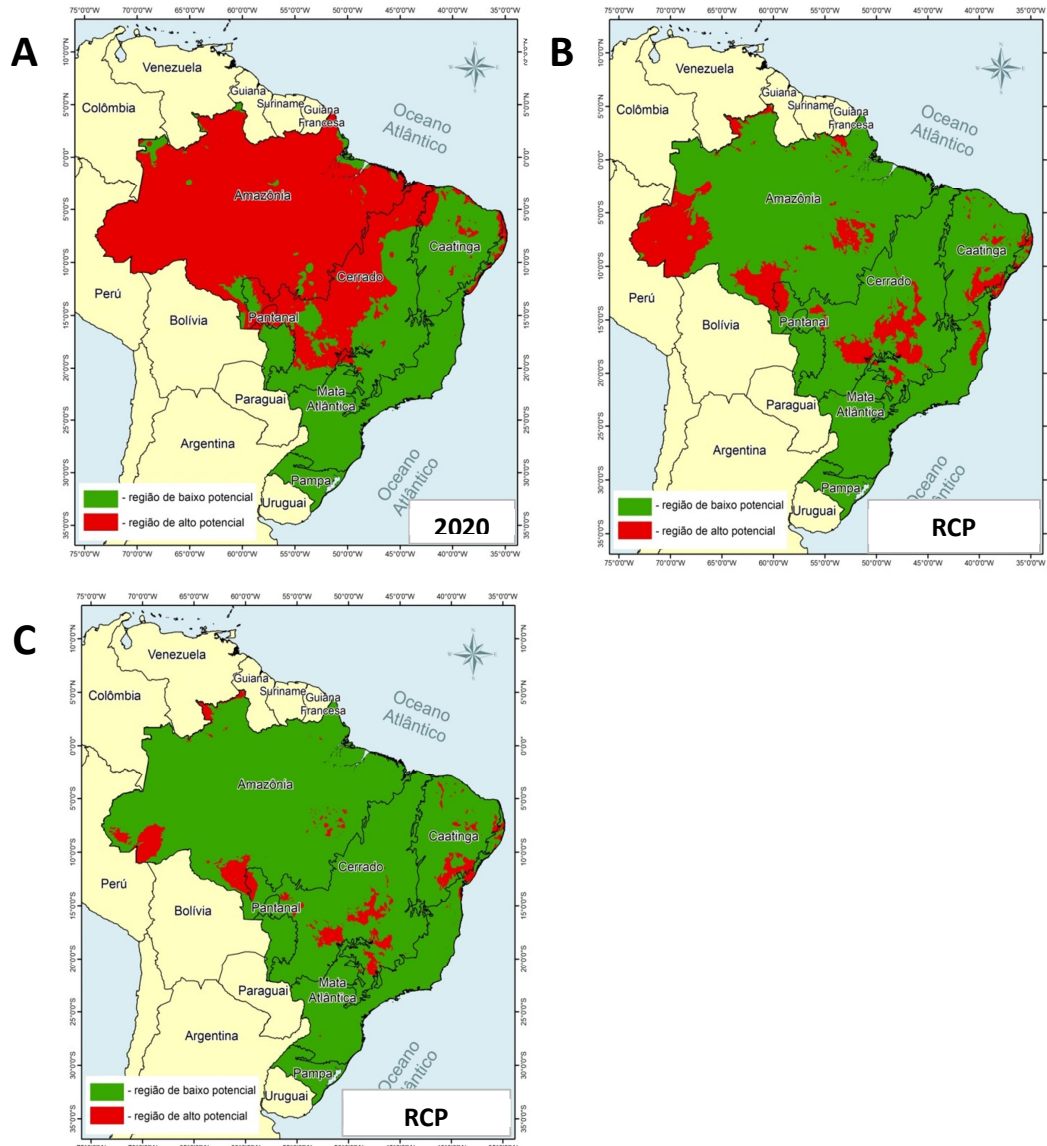


Figura 28. Modelagem da distribuição de nichos de *Astrocyatum aculeatum* nos períodos 2020 (A), 2050 (B) e 2070 (C), segundo o cenário RCP 4.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi *Envelope Score*.

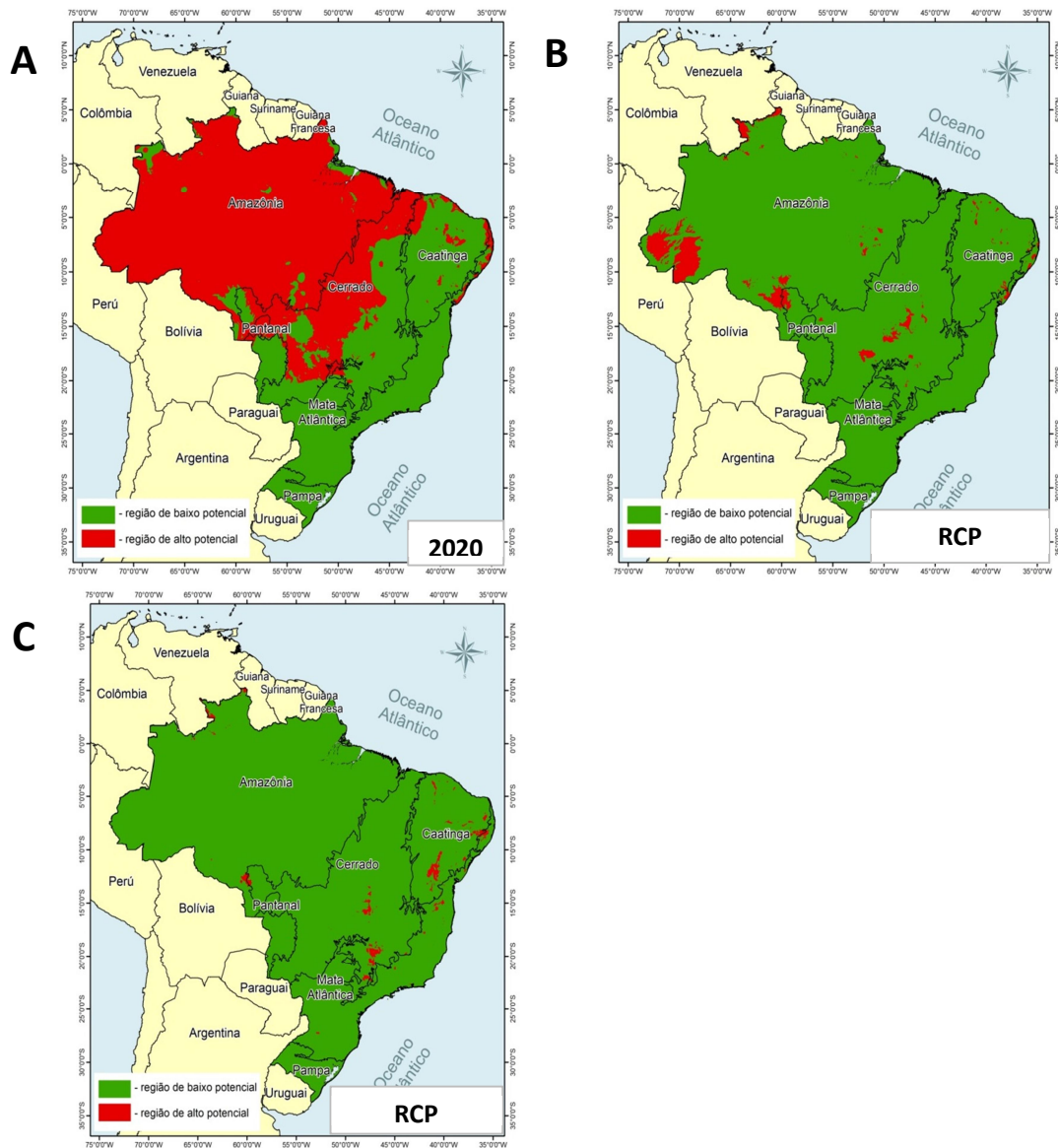


Figura 29. Modelagem da distribuição de nichos de *Astrocyum aculeatum* nos períodos 2020 (A), 2050 (B) e 2070 (C) segundo o cenário RCP 8.5. O modelo do algoritmo selecionado para confecção dos mapas foi *Envelope Score*.

Demais biomas brasileiros

Todos os biomas, com exceção da Mata Atlântica, passaram pelo processo de perda de área potencial nos períodos 2050-2070 (Figura 30). No cenário otimista RCP 4.5, nenhuma área será viável climaticamente para ocupação de *A. aculeatum* no bioma Pantanal, de forma muito similar a *A. acaule*. A área de ocorrência na porção interna do Cerrado coincidiu com o arco do desflorestamento, provavelmente, devido aos aspectos ecológicos de *A. aculeatum* em solos degradados e regiões de mata secundária. Sua redução foi de 63,55% (356.546 km²) em 2050 e 78,03% (214.879 km²) em 2070, quando comparadas ao tempo atual. A Caatinga evidenciou baixas reduções entre os anos 2050 e 2070, com 7,01% (103.431 km²) e 12,53% (97.292 km²), respectivamente. Em contrapartida, a Mata Atlântica iniciou com acréscimo de área de 80,53% (82.472 km²), seguido de redução de 24,96% (34.279 km²), também nos respectivos períodos (Tabela 15).

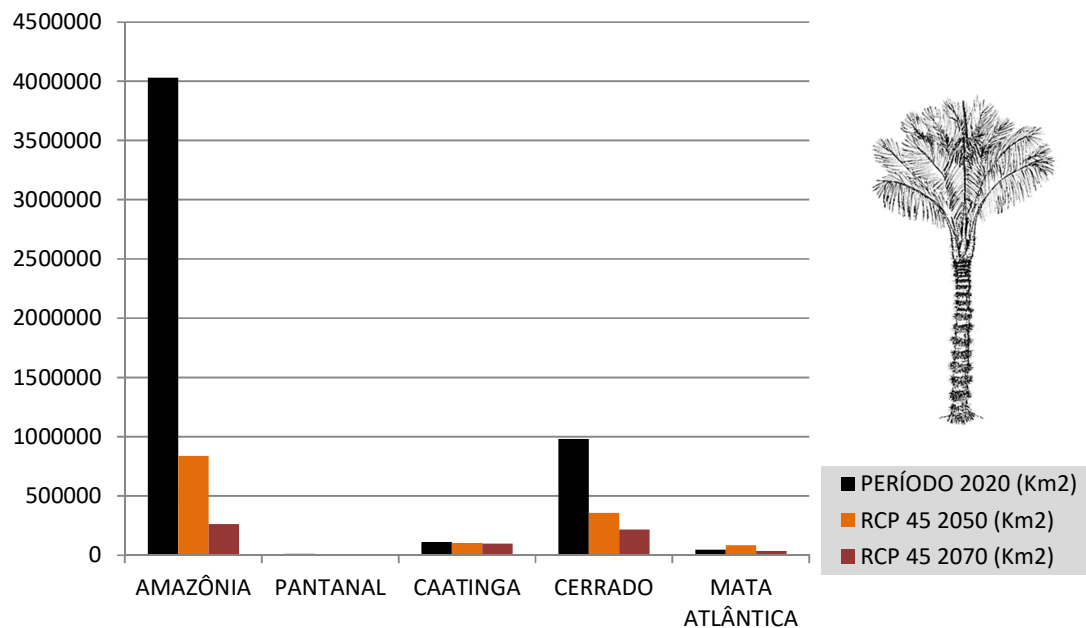


Figura 30. Áreas (km²) de distribuição em *Astrocaryum aculeatum* segundo cenário RCP 4.5 nos cinco biomas analisados.

Tabela 15. Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum aculeatum* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo RCP 4.5 em todos os períodos avaliados.

BIOMAS	2020	2050	2070
AMAZÔNIA	4.029.337	836.045	259.418
PANTANAL	12.041	0	0
CAATINGA	111.226	103.431	97.292
CERRADO	978.225	356.546	214.879
MATA ATLÂNTICA	45.683	82.472	34.279

Assim como para a Amazônia, as mudanças climáticas no cenário RCP 8.5 para viabilidade de *A. aculeatum* nos demais biomas foram acentuadas (Figura 29 B, C e Figura 31). As reduções mais significativas ocorrerão no Cerrado com 92,77% (2050) e 95,90% (2070), seguido da Caatinga com 83,24% (2050) e 55,82% (2070) e da Mata Atlântica com 66,12% (2050) e 59,80% (2070) (Tabela 16).

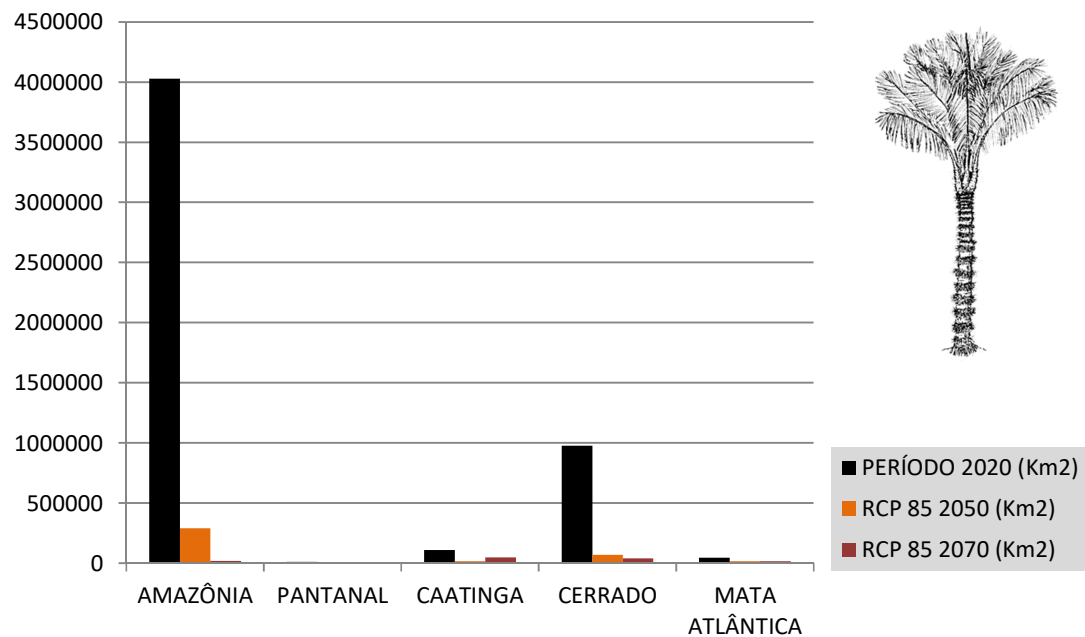


Figura 31. Áreas (km²) de distribuição em *Astrocaryum aculeatum* segundo cenário RCP 8.5 nos cinco biomas analisados.

Tabela 16. Área (em km²) da distribuição de *Astrocaryum aculeatum* em cinco grandes biomas brasileiros segundo modelo RCP 8.5 em todos os períodos avaliados.

BIOMAS	2020	2050	2070
AMAZÔNIA	4.029.337	292.346	20.271
PANTANAL	12.041	0	0
CAATINGA	111.226	18.638	49.135
CERRADO	978.225	70.689	40.153
MATA ATLÂNTICA	45.683	15.475	18.366

DISCUSSÃO

Influência da temperatura nos diversos nichos

O aumento da temperatura global pode afetar diretamente a distribuição da fauna, flora mundial, os ciclos de pluviosidade, nível de erosão dos solos e intensificar a desertificação. As mudanças climáticas futuras podem levar a retração dos nichos das formações florestais, atingindo de forma diferente os biomas brasileiros. A Amazônia pode sofrer acentuada retração na sua porção oriental, ao ponto que outros biomas como a Caatinga e o Cerrado podem manter a estabilidade e preservar a cobertura nativa do solo (ZANIN et al., 2017). Esse cenário condiz com os dados observados no presente trabalho. Os resultados obtidos sugerem a redução da área potencial para *A. acaule* e *A. aculeatum* no tempo futuro. Em todos os cenários nos dois anos avaliados houve quedas acentuadas nas áreas de distribuição das duas espécies, com exceção do cenário RCP 8.5 para *A. acaule* em 2070.

Amazônia

Na Amazônia, a área potencial ficará restrita a porção oeste do estado do Amazonas, restringindo *A. aculeatum* em fragmentos (refúgios) de floresta. Esse perfil de redução pode indicar que *A. aculeatum* é uma palmeira mais sensível às alterações climáticas que *A. acaule* no território Amazônico. Por outro lado, *A. acaule* pode ser mais resiliente a essas mudanças, podendo recolonizar a porção sul da Amazônia (2070 no cenário RCP 8.5). Esse fenômeno de retração de grandes florestas já ocorreu no passado e foi descrito por Haffer (1969) como a Teoria dos Refúgios. De forma diferente das projeções climáticas futuras, no Último Máximo Glacia (LGM) durante o Pleistoceno, a redução da temperatura global ocasionou retração dos mares e diminuição

da umidade nas florestas, fazendo com que essas se concentrassem em fragmentos (refúgios) e limitando o fluxo gênico a essas áreas (SOBRAL-SOUZA et al., 2018).

O aquecimento global pode influenciar no ciclo hídrico e reduzir a umidade das florestas, modificando o microclima necessário para manter significativa parcela da biodiversidade. Assim inicia uma intensa fragmentação de porções florestais rodeados por grandes áreas de vegetação esparsas, como as savanas (ZEMP et al., 2016; LYRA et al., 2016). NAZARENKO et al. (2015) estimaram a elevação da temperatura global de 1.9 °C e 3.5 °C, respectivamente, nos modelos de simulação climática RCP 4.5 e RCP 8.5 até o ano de 2100. Contudo, as condições climáticas em 2070 já poderão ser suficientemente desastrosas para *A. aculeatum*, que poderá ter sua redução à beira da extinção na porção Amazônica.

Arco do desmatamento

Outro fator agravante são as fortes queimadas que atingem as bordas da Amazônia nas porções sul e sudeste. Essa região possui intensa influência de vegetação de Savana, que sofre grande estresse hídrico e passa por prolongados períodos de seca sazonal. Essa faixa de terra é conhecida como “Arco do Desmatamento” e possui grande intervenção de ação antropológica, em decorrência da expansão das áreas agrícolas em direção à Amazônia (LUI e MOLINA, 2009). As presentes modelagens apontam para quase a ausência total de área potencial para *A. acaule* e *A. aculeatum*, em porções que abrangem o arco, que atualmente se estende nos estados do Pará, Tocantins, Mato Grosso e Rondônia. Como apontado por Nobre et al. (2016), o desmatamento em larga escala pode atuar na redução da taxa de precipitação local e sua principal causa está associada ao aumento das áreas de pastagem para agropecuária.

Cerrado

Segundo Khan et al. (2008), as palmeiras do gênero *Astrocaryum* encontram-se predominantemente no bioma Amazônico. Contudo, algumas espécies podem se adequar bem fora dele, estendendo-se a porções de áreas mais abertas e clima mais seco, como nas vegetações do semi-árido do cerrado. Os padrões de dispersão de *A. acaule* e *A. aculeatum* foram muito similares fora da Amazônia. Contudo, *A. aculeatum* parece ter maior penetração no bioma Cerrado, ao ponto que *A. acaule* pode se restringir as regiões limítrofes de ecótonos. Nascimento et al. (2009), em trabalho de levantamento

de inventário florestal, indicam a presença de pelo menos outras três espécies de palmeiras do gênero (*A. campestre*, *A. vulgare* e *A. jauari*) na região de cerrado do estado do Tocantins, Brasil.

Mata atlântica

Apesar das grandes mudanças de altitude na costa brasileira, as áreas de aptidão climática para o crescimento de *A. acaule* em 2070 foram expandidas no cenário RCP 8.5, distribuindo-se entre o litoral do Nordeste e Sudeste brasileiro. O único representante do gênero nesse bioma é a brajaúva (*Astrocaryum aculeatissimum*), que possui ecologia muito similar, ocorrendo do estado da Bahia à Santa Catarina, nas florestas de baixa altitude, com solos não inundáveis, capoeiras e pastagens (ELIAS et al., 2018). Ainda que *A. acaule* apresente potencial para recuperação de áreas desflorestadas, como resistência à solos degradados e baixa exigência nutricional (SALOMÃO et al., 2007), sua ocupação no litoral brasileiro parece ser improvável.

Colombo e Joly (2010) apontam o movimento de dispersão de certas espécies na mata Atlântica, em direção de áreas de ambientes mais amenos, durante o aumento de temperatura, como foi o caso para *Euterpe edulis* (Arecaceae). Contudo, acreditam que a velocidade em que ocorrerá o aquecimento global e a alta taxa de fragmentação da Mata Atlântica inviabilizará o processo de expansão. Essa expansão da área costeira em região de mata Atlântica também foi observada por Zanin et al. (2017), ressaltando que fragmentação da paisagem e as barreiras naturais limitará a real expansão das populações.

Delimitação de áreas de conservação e futuros estudos

Com base nos dados apresentados, pode-se sugerir que a porção oeste da Amazônia Brasileira deve ser incorporada no plano de manejo sustentável para *A. acaule*, sendo futuros estudos de genética populacional importante ferramenta para auxiliar a caracterização e delimitação de uma unidade de conservação para a espécie. Alvez-Valles et al. (2018) apontam a importância da porção oeste da floresta Amazônica, por possuir a maior diversidade e riqueza de palmeiras da região Neotropical. Quanto *A. aculeatum* na Amazônia, três unidades podem ser consideradas em planos de manejo. A primeira unidade identificada no presente trabalho se estende em toda a porção do estado do Acre até o limite da cidade de Tabatinga, no estado do

Amazonas. A segunda inclui o estado do Rondônia em sua totalidade. Já a terceira apresenta parte da bacia do Rio Xingú, ao sul do estado do Pará.

Dessa forma, ressalta-se a necessidade de análises futuras que considerem as características do solo, mesmo que as espécies de *Astrocaryum* possuam baixa exigência nutricional. Como aponta Zuquim et al. (2020), além das condições climáticas, os solos devem oferecer condições adequadas para as espécies, principalmente quando a distribuição extrapola limites com baixa probabilidade de sua ocorrência e áreas de nicho fora de tolerância. Também podem ser destacadas a importância de estratégias de manejo para garantir um “*pool*” gênico e manutenção das populações nativas, podendo ser usados como comparativo em trabalhos futuros do impacto do aquecimento global.

CONCLUSÕES

Os padrões de dispersão de *Astrocaryum acaule* e *Astrocaryum aculeatum* são similares, mas *A. aculeatum* é mais sensível às variações climáticas que *A. acaule* dentro do bioma Amazônico.

A. aculeatum é mais resiliente em áreas de intenso desflorestamento, como no Cerrado, permitindo assim colonização de regiões para dentro desde bioma nos períodos 2050-2070. *A. acaule* tende a reduzir muito sua área potencial no Cerrado, e perpetua sua condição dentro da Amazônia. Sendo assim, poderá haver, primeiramente, a estabilização de um “mega refúgio” no período 2050, seguido de recolonização de áreas ao sul da Amazônia em 2070 (RCP 8.5).

REFERÊNCIAS

- ALVEZ-VALLES, C. M; BALSLEV, H; GARCIA-VILLACORTA, R; CARVALHO, F, A; MENINI, N, L. 2018. Palm species richness, latitudinal gradients, sampling effort, and deforestation in the Amazon region. **Acta Botanica Brasilica**. Vol 32. N 4. 527-539 pp.
- BECK, J. 2013. Predicting climate change effects on agriculture from ecological niche modeling: who profits, who loses? **Climatic Change**. Vol 116. 177–189 pp.
- BOOTH, T. H. 2018. Why understanding the pioneering and continuing contributions of BIOCLIM to species distribution modelling is importante. **Austral Ecology**. Vol 43. 852–860 pp.
- COLOMBO, A. F; JOLY, C. A. 2010. Brazilian Atlantic Forest lato sensu: the most ancient Brazilian forest, and a biodiversity hotspot, is highly threatened by climate change. **Braz. J. Biol.** Vol. 70. N. 3. 697-708 pp.
- CRIA-BDT, IC/Unicamp, 1999. SinBiota: Sistema de Informação Ambiental do Programa Biota/FAPESP. **Centro de Referência em Informação Ambiental - BDT e Instituto de Computação - Unicamp**.
- DE SALVO, M; BEGALLI, D; SIGNORELLO, G. 2013. Measuring the effect of climate change on agriculture: A literature review of analytical models. **Journal of Development and Agricultural Economics**. Vol 5. N 12.
- ELIAS, G. A; SOARES, K. P; BORTOLUZZI, R. S. C; SANTOS, R. 2018. Palmeiras (Arecaceae) em Santa Catarina, sul do Brasil. Iheringia, **Série Botânica**, Porto Alegre. Vol 73. N 2. 1-107, 88-107 pp.
- FAO. 1987. Especies Forestales Productoras de Frutas y Otros Alimentos: ejemplos de América Latina. **Roma**. 241 pp.
- HAFFER, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**. Vol 165. 131–137 pp.

- HIJMANS R. J, CAMERON S. E, PARRA J. L, JONES P. G, JARVIS A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**. Vol 25: 1965-1978.
- IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Climate change 2007: the physical science basis, summary for policy makers. IPCC: **Geneva**. 18 pp.
- JORGE, M. L. S. P; HENRY, F. H. 2009. Can forest fragmentation disrupt a conditional mutualism? A case from central Amazon. **Oecologia**. Vol 161. 709-718 pp.
- KAHN, F. 2008. Las palmeras en América del Sur. The Genus *Astrocaryum* (Arecaceae). **Revista Peruana de Biología**, Lima. Vol 15. 31-48 pp.
- KAHN, F; GRANVILLE, J. J. 1992. Palms and Forest Management in Amazonia. In: Palms in Forest Ecosystems of Amazonia. Berlin: **Springer Berlin Heidelberg/Ecologica Studies**. Vol 95. N 7.155-167 pp.
- KHANDEKAR, M. L; MURTY, T. S; CHITTIBABU, P. 2005. The Global Warming Debate: A Review of the State of Science. **Pure appl. geophys**. Vol 162. 1557–1586 pp.
- KUMAR, S; STOHLGREN, T. J. 2009. Maxent modeling for predicting suitable habitat for threatened and endangered tree *Canacomyrica monticula* in New Caledonia. **Journal of Ecology and Natural Environment**, Victoria Island, Vol 1. N 4. 94-98 pp.
- LUI, G. H; MOLINA, S. M. G. 2009. Ocupação humana e transformação das paisagens na Amazônia brasileira. **Amazônica**. Vol. 1. N. 1. 200-228 pp.
- LYRA, A. A; CHOU, S. C; SAMPAIO, G. O. 2016. Sensitivity of the Amazon biome to high resolution climate change projections. **Acta Amazonica**. Vol 46. N 2. 175 – 188 pp.
- MARQUES, E. Q; MARIMON-JUNIOR, B. H; MARIMON, B. S. et al. 2019. Redefining the Cerrado–Amazonia transition: implications for conservation. **Biodiversity and Conservation**. Vol 29. 1501–1517 pp.
- MELO-MERINO, S. M; REYES-BONILLA, H; LIRA-NORIEGA, A. 2020. Ecological niche models and species distribution models in marine environments: A literature review and spatial analysis of evidence. **Ecological Modelling**. V 415.

- MOSS, R. H; EDMONDS, J. A; HIBBARD, K. A; MANNING, M. R; ROSE, S. K; VAN VUUREN, D. P; CARTER, T. R; EMORI, S; KAINUMA, M; KRAM, T; MEEHL, G. A; MITCHELL, J. F; NAKICENOVIC, N; RIAHI, K; SMITH, S. J; STOUFFER, R. J; THOMSON, A, M; WEYANT, J. P; WILBANKS, T. J. 2010. The next generation of scenarios for climate change research and assessment. **Nature**. Vol 463. 747-756 pp.
- NAKICENOVIC, N; ALCAMO, J; GRUBLER, A; RIAHI, K; ROEHL, R. A; ROGNER, H. H; VICTOR, N. 2000. Special report on emissions scenarios (SRES), a special report of Working Group III of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: **Cambridge University Press**.
- NASCIMENTO, A. R. T. 2009. Riqueza e etnobotânica de palmeiras no território indígena kraho, Tocantins, Brasil. **FLORESTA**. Curitiba, PR, Vol. 40. N 1. 209-220 pp.
- NASTIS, S. A; MICHAELIDIS, A; CHATZITHEODORIDIS, F. 2012. Climate change and agricultural productivity. **African Journal of Agricultural Research** Vol. 7. N 35. 4885-4893 pp.
- NAZARENKO, L; SCHMIDT, G. A; MILLER, R. L; TAUSNEV, N; KELLEY, M; RUEDY, R; RUSSELL, G. L; ALEINOV, I; BAUER, M; BAUER, S; BLECK, R; CANUTO, V; CHENG, Y; CLUNE, T. L; DEL GENIO, A. D; FALUVEGI, G; HANSEN, J. E; HEALY, R. J; KIANG, N. Y; KOCH, D; LACIS, A. A; LEGRANDE, A. N; LERNER, J; LO, K. K; MENON, S; OINAS, V; PERLWITZ, J; PUMA, M. J; RIND, D; ROMANOU, A.; SATO, M; SHINDELL, D. T; SUN, S; TSIGARIDIS, K; UNGER, N; VOULGARAKIS, A; YAO, M. S; ZHANG, J. 2015. Future climate change under RCP emission scenarios with GISS ModelE2. **J. Adv. Model. Earth Syst.** Vol 7. 244–267 pp.
- NOBRE C. A; SAMPAIO, G; BORMA, L. S; CASTILLA-RUBIO, J. C; SILVA, J. S; CARDOSO, M. 2016. Land-use and climate change risks in the Amazon and the need of a novel sustainable development paradigm. **PNAS**. Vol 113. N 39. 10759–10768 pp.
- OLIVEIRA, U. D. R; GOMES, P. B; SILVA-CORDEIRO, R. T; DE LIMA, G. V; PÉREZ, C. D. 2019. Modeling impacts of climate change on the potential

- habitat of an endangered Brazilian endemic coral: Discussion about deep sea refugia. **PLoS ONE**. Vol 14. N 5.
- PALMER, R. R.; KOPROWSKI, J. 2014. Feeding behavior and activity patterns of Amazon red squirrels. **Mammalia**. Vol 78. N 3. 303–313 pp.
- PATTERSON, R. R. M; LIMA, N. 2018. Climate change affecting oil palm agronomy, and oil palm cultivation increasing climate change, require amelioration. **Ecology and Evolution**. Vol 8. 452–461 pp.
- PETERSON, T; SOBERÓN, J; PEARSON, R. G; ANDERSON, R. P; MARTÍNEZ-MEYER, E; NAKAMURA, M; ARAÚJO, M. B. 2012. Ecological Niches and Geographic Distributions. **Princeton University Press**. 314 p.
- PIRES, A; GALETTI, M. 2012. The agouti *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae) as seed disperser of the palm *Astrocaryum aculeatissimum*. **Mastozoología Neotropical**. Vol 19. N 1. 147-153 pp.
- PRAVEEN, B; SHARMA, P. 2019. A review of literature on climate change and its impacts on agriculture productivity. **Journal of Public Affairs**. Vol 19, N 4.
- REICHGELT, T; WEST, C. K; GREENWOOD, D. R. 2018. The relation between global palm distribution and climate. **Nature**. Vol 8. N 4721.
- RONCAL, J.; COUDERC, M.; BABY, P.; KAHN, F.; MILLÁN, B.; MEEROW, A.W.; PINTAUD, J. 2015. Palm diversification in two geologically contrasting regions of western Amazonia. **Journal of Biogeography**. Vol 42. N 8. 1503-1513 pp.
- RONCAL, J.; KHAN, F.; MILLIAN, B.; COUVREUR, T,L,P. 2013. Cenozoic colonization and diversification patterns of tropical American palms: evidence from *Astrocaryum* (Arecaceae). **Bot J Linn Soc**. Vol 171. N 1.120–139 pp.
- SALM, R.; PRATES, A; SIMOES, N.R.; FEDER, L. Palm community transitions along a topographic gradient from floodplain to terra firme in the eastern Amazon. **Acta Amazonica**. v. 45. p. 65-74, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201401533>.
- SALOMÃO, R. P; ROSA, N. A; MORAIS, K. A. C. 2007. Dynamics of natural tree regeneration after strip-mining in the Amazon. **Bol. Mus. Pará**. Emílio Goeldi. Ciências Naturais, Belém. Vol 2. N 2. 85-139 pp.

- SOBRAL-SOUZA, T; VANCINE, M. H; RIBEIRO, M. C; LIMA-RIBEIRO, M. S.
2018. Efficiency of protected areas in Amazon and Atlantic Forest conservation:
A spatio-temporal view. **Acta Oecologica**. Vol. 87. 1–7 pp.
- WALTHER, G; GRITTI, E. S; BERGER, S; HICKLER, T; TANG, Z; SYKES, M. T.
2007. Palms tracking climate change. **Global Ecol. Biogeogr.** Vol 16. 801–809
pp.
- WIENS, J. A; STRALBERG, D; JONGSOMJIT, D; HOWELL, C. A; SNYDER, M. A
2009. Niches, models, and climate change: Assessing the assumptions and
uncertainties. **PNAS**. Vol 106. 19729 –19736 pp.
- ZANIN, M; TESSAROLO, G; MACHADO, N; ALBERNAZ, A. 2017. Climatically-
mediated landcover change: impacts on Brazilian territory. *Annals of the
Brazilian Academy of Sciences*. Vol. 89. N. 2. 939-952 pp.
- ZEMP, D. C; SCHLEUSSNER, C; BARBOSA, H. M. J; HIROTA, M; MONTADE, V;
SAMPAIO, G; STAAL, A; WANG-ERLANDSSON, L; RAMMIG, A. 2016.
Self-amplified Amazon forest loss due to vegetation-atmosphere feedbacks.
Nature Commun Vol 8. N 14681.
- ZUQUIM, G; COSTA, F. R. C; TUOMISTO, H; MOULATLET, G. M;
FIGUEIREDO, F. O. G. 2020. The importance of soils in predicting the future
of plant habitat suitability in a tropical forest. **Plant Soil**. Vol 450. 151–170 pp.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os marcadores microssatélites utilizados neste trabalho foram suficientes para discriminar *Astrocaryum acaule*, *Astrocaryum aculeatum* e seu híbrido interespecífico, mesmo com grande similaridade genética entre os loci gênicos. O indivíduo “Híbrido 01” foi confirmado como sendo híbrido interespecífico, e o indivíduo “Híbrido 02” pertencente à espécie *Astrocaryum aculeatum*. Esses resultados foram corroborados pela citometria de fluxo que evidenciou diferenças significativas no conteúdo de DNA (2C) do “Híbrido 01” e “Híbrido 02”. As características morfológicas de fruto, diferença na altura das plantas e a análise de conteúdo de DNA fortalecem a ideia da existência de pelo menos um híbrido interespecífico natural entre *A. aculeatum* e *A. acaule*. Através da análise química dos elementos das folhas, foi observada a necessidade nutricional muito similar entre o híbrido interespecífico e as linhagens genitoras.

Foi identificada por meio da modelagem de nichos climáticos, a expansão das áreas potenciais para *A. acaule* e *A. aculeatum* da atual distribuição conhecida na literatura científica. Os padrões de dispersão foram muito similares entre as duas palmeiras de *Astrocaryum*, mas foi observado que *A. aculeatum* é mais sensível às variações climáticas que *A. acaule* dentro do bioma Amazônico. *A. aculeatum* se mostrou mais resiliente em áreas de intenso desflorestamento, como no Cerrado, permitindo assim a colonização de regiões para dentro desde bioma nos períodos 2050-2070. *A. acaule* tende a reduzir muito sua área potencial no Cerrado, e perpetua sua condição dentro da Amazônia. Sendo assim, poderá haver, primeiramente, a estabilização de um “mega refúgio” no período 2050, seguido da recolonização de áreas ao sul da Amazônia em 2070 (RCP 8.5).