

# Universidade Federal do Amapá Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical Mestrado e Doutorado UNIFAP / EMBRAPA-AP / IEPA / CI-Brasil



#### **RAYANE DA MOTA RIOS**

# CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE AÇAÍ COLETADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA

#### **RAYANE DA MOTA RIOS**

# CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE AÇAÍ COLETADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBIO) da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Orientador: Dr. Lúcio André Viana Dias

Coorientador: Dr. Wardsson Lustrino

**Borges** 

Coorientador: Dr. Silas Mochiutti

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá Elaborada por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

Rios, Rayane da Mota.

Caracterização morfoagronômica e molecular de acessos de açaí coletados na Amazônia oriental brasileira /; Orientador, Lúcio André Viana Dias; Coorientador, Wardsson Lustrino Borges. – Macapá, 2020. 46 f.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical.

1. Açaí – Antocianinas. 2. Açaí – Amazônia. 3. *Euterpe oleracea*. I. Dias, Lúcio André Viana, orientador. II. Borges, Wardsson Lustrino, coorientador. III. Mochiutti, Silas, coorientador. IV. Fundação Universidade Federal do Amapá. V. Título.

615.4 R586c CDD. 22 ed.

#### **RAYANE DA MOTA RIOS**

# CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE AÇAÍ COLETADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA

Dr. Lucio André Viana Dias PPGBio-UNIFAP

Dr. Wardsson Lustrino Borges Embrapa Amapá

alardran L. Bargs

Dr. Marcelino Carneiro Guedes Embrapa Amapá

Mucob.

Dr. Gilberto Ken Iti Yokomizo Embrapa Amapá

À minha avó Teresa Rios (in memoriam) pela mulher incrível que era e ao meu orientador Dr. Silas Mochiutti (in memoriam) por ter me concedido o prazer de realizar esse trabalho e pela sua trajetória na pesquisa.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter me permitido chegar até esse momento.

Aos meus pais, Francisco e Rilza, que desde sempre me incentivaram em tudo na minha vida, independente do que fosse e que mesmo de longe durante esses últimos anos, sempre se orgulham de mim.

Aos meus irmãos, Rilda e Walter, que foram meu porto seguro durante esses anos e que sempre fizeram de tudo para que eu concluísse meu trabalho.

Ao meu namorado, João, que mesmo estando na mesma situação que a minha, me ajudou nas coletas de dados e em laboratório, além do apoio em todos os momentos.

Às minhas amigas, Larissa e Danielle, que sempre estiveram dispostas a me ajudar, tirando dúvidas ou mesmo me auxiliando em campo e laboratório, sei que esse trabalho tem um gosto diferente para elas também.

Aos meus amigos Adriano, Aynna, Michelle e Raquel, pela amizade de anos que construímos e por todo apoio e incentivo durante o curso.

Aos meus orientadores, Dr. Lúcio Viana que me deu a possibilidade continuar nesse trabalho e que sempre esteve disponível quando eu precisei; ao Dr. Wardsson Lustrino Borges que sem dúvida foi uma peça muito importante para que esse trabalho andasse e fosse finalizado, e que sempre com muita paciência e disponibilidade me tirou dúvidas e auxilio em laboratório para tudo fosse finalizado no prazo; e ao Dr. Silas Mochiutti (*in memória*) que me agraciou com esse projeto, e durante toda a caminhada se mostrou ser uma pessoa disponível, gentil e compreensiva quanto as dificuldades encontradas pelo caminho durante o tempo que convivemos, guardarei para sempre na memória os seus ensinamentos e exemplo, principalmente quanto ao seu trabalho, o qual desenvolvia com muita paixão.

A equipe de campo da Embrapa Amapá em Mazagão – Enoque, Barbosa, Jonas, Adjalma e Adinomar – que sempre me receberam bem, me auxiliando em todos as viagens e com os quais eu aprendi muito e tenho enorme admiração.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, pelo suporte dado a pesquisa não apenas durante o período do mestrado, mas também desde a graduação, assim como os demais funcionários que direta ou indiretamente me ajudaram.

Ao CNPq pela concessão de bolsa durante todo o período do programa. Obrigada!

"[...]
E tua fruta vai rolando
Para os nossos alguidares
Tu te entregas ao sacrifício
Fruta santa, fruta mártir
Tens o dom de seres muito
Onde muitos não têm nada
Uns te chamam açaizeiro
Outros te chamam juçara...
[...]"

(Sabor açaí – Nilson Chaves)

#### **RESUMO**

Rios, Rayane da Mota. Caracterização morfoagronômica e molecular de acessos de açaí coletados na Amazônia oriental brasileira. Macapá, 2020. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

O açaizeiro, Euterpe oleracea, é uma espécie tipicamente tropical, encontrada principalmente em áreas de várzea e terra firme. Vem ganhando destaque em âmbito nacional e internacional devido ao conhecimento de suas propriedades nutricionais. Em consequência as áreas plantadas e o extrativismo vegetal da espécie vem aumentando nos últimos anos, principalmente no estado do Pará, e a caracterização de acessos de açaiziero em bancos de germoplasma é importante para conservação e seleção de indivíduos com elevado potencial produtivo.. O objetivo desse trabalho foi caracterizar acessos de açaizeiro por meio de descritores fenológicos, morfológicos e agronômicos e marcadores moleculares tipo RAPD, para selecionar conjunto de acessos com maior potencial produtivo. Foram analisados 100 acessos através de 18 descritores morfoagronômicos e 13 iniciadores RAPD. Foi possível observar a sazonalidade entre as fases de emissão de espata e inflorescência em floração e frutificação. Os valores de coeficiente de variação e quadrado médio dos tratamentos (acessos) evidenciaram elevada variabilidade entre os descritores morfoagronômicos e os acessos foram distribuídos em sete grupos. Massa de fruto, massa de semente e massa de polpa foram descritores importantes para distinção dos grupos de acessos e identificação de acessos de maior potencial produtivo. Os acessos apresentaram similaridade superior a 85% e 85 acessos, distribuídos em nove sub-grupos, não foram diferenciados, por meio do RAPD. Não houve correlação entre os agrupamentos baseados em descritores morfoagronomicos e marcadores RAPD. Quinze acessos apresentam massa de cacho variando entre 3,9 e 9 kg e seis massa de polpa de 100 frutos variando entre 35-50 g, evidenciando que é possível selecionar acessos com elevado potencial produtivo.

Palavras-chave: Antocianina, marcador molecular, Euterpe oleracea.

#### **ABSTRACT**

Rios, Rayane da Mota. Morphoagronomic and molecular characterization of açaí accessions collected in the eastern Brazilian Amazon. Macapá, 2020. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

The açaí, Euterpe oleracea, is a typically tropical species, found mainly in lowland and upland areas. It has been gaining prominence in national and international scope due to the knowledge of its nutritional properties. As a result, planted areas and plant extraction of the species have been increasing in recente years, especially in the state of Pará, and the characterization of açaí accessions in germplasm banks is important for the conservation and selection of individuals with high productive potential. The objective of this work was to characterize açai accessions by means of phenological, morphological and agronomic descriptors and RAPD molecular markers, for joint selection of accessions with greater productive potential. All told, 100 accessions were analyzed through 18 morphoagronomic descriptors and 13 RAPD markers. It was possible to observe seasonality between the spathe and inflorescence emission phases in flowering and fruiting. The values of the coefficient of variation and mean squared error of the treatments (accessions) indicated high variability among the morphoagronomic descriptors, and the accessions were distributed in seven groups. Fruit weight, seed weight and pulp weight were important descriptors for distinction of accessions and identification of those with greater productive potential. The accessions presented similarity greater than 85%, and 85 accessions, distributed in nine subgroups, were not differentiated by RAPD markers. There was no correlation between grouping based on morphoagronomic descriptors and RAPD markers. Fifteen accessions presented panicle weight ranging from 3.9 to 9.0 kg and six had hundred-fruit pulp weight varying from 35 to 50 g, indicating it is possible to select accessions with high productive potential.

Key-words: Anthocyanin; molecular marker; Euterpe oleracea.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	10
-	1.1 ORIGEM E PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE	10
-	1.2 PRINCIPAIS USOS E IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE	12
-	1.3 DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS	14
-	1.4 MARCADORES MOLECULARES	16
2.	HIPÓTESE	20
3.	OBJETIVOS	21
3	3.1 GERAL	21
3	3.2 ESPECÍFICOS	21
4.	ARTIGO CIENTÍFICO	27
5.	CONCLUSÕES FINAIS	46

### 1. INTRODUÇÃO GERAL

#### 1.1 ORIGEM E PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE

O centro de origem e diversidade do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é o estuário amazônico (Ducke 1946, Cavalcante 1974, Oliveira et al. 2007b), devido nessa região ocorrerem diversas e numerosas populações de açaizeiro. Variações bem acentuadas entre e dentro das populações, no que tange às características morfológicas, fenológicas e fisiológicas das plantas são observadas (Oliveira et al. 2000).

A espécie é uma palmeira tipicamente tropical, e está presente nos países como: Panamá, Equador, Trinidad, Venezuela, Colômbia, Suriname, Guiana, Guiana Francesa e Brasil (Henderson and Galeano 1996). No Brasil é naturalmente encontrada nos estados do Maranhão, Mato Grosso, Tocantins, Pará e Amapá (Calzavara 1972).

Encontra-se classificada botanicamente na divisão Magnoliophyta (=Angiospermae), classe Liliopsida (=Monocotyledoneae), subclasse Arecidae (=Espadiciflorae), super-ordem Arecanae, ordem Arecales (=Principes), família Arecaceae (=Palmae), subfamília Arecoideae e gênero *Euterpe* (Henderson and Galeano 1996). No Brasil a família Arecaceae compreende 38 gêneros (Leitman et al. 2015), dentre esses destaca-se o *Euterpe* com cinco espécies: *E. oleracea, E. precatoria, E. edulis, E. catinga* e *E. longibracteata* (Oliveira et al. 2000). Dentre essas o *E. oleracea* é considerado atualmente a espécie de maior importância, em função da sua utilidade e distribuição.

O açaizeiro pode ser encontrado em áreas de várzea, igapó e em matas de terra firme, principalmente quando estas estão localizadas próximas a áreas úmidas (Cavalcante 1974). É uma palmeira cespitosa que lança até 25 estipes por touceira, chamados de perfilhos, sendo esta a principal característica da espécie, que a difere das demais do mesmo gênero (Ducke 1946, Cavalcante 1974). Os estipes cilíndricos, anelados e eretos podem alcançar até 20 m de altura e 18 cm de diâmetro, e em toda extensão dos estipes da planta visualiza-se cicatrizes, decorrentes da queda da folhas, distanciadas entre si, em cerca de 11 cm, denominados de entrenós (Cavalcante 1974, Oliveira et al. 2000). O sistema radicular é do tipo fasciculado, relativamente denso, com raízes emergindo do estipe da planta adulta em altura de 30 cm a 40 cm acima da superfície do solo e, de coloração avermelhada (Henderson and Galeano 1996).

Em decorrência do padrão de florescimento do açaizeiro, que apresenta dicogamia do tipo protandria, cujas inflorescências masculinas e femininas se abrem em períodos diferentes, lhe é assegurada assim a alogamia, dessa forma sendo esta espécie de polinização cruzada. A polinização é realizada principalmente por insetos como abelhas, moscas, besouros e vespas e

a dispersão por aves de médio a grande porte, por alguns mamíferos e roedores, pela água e peixes e até mesmo por humanos (Shanley and Medina 2005, Campbell et al. 2018).

Os eventos de floração e frutificação podem ocorrer durante o ano todo (Cavalcante 1974), porém dependendo da região e dos fatores climáticos, apresentam picos em períodos diferentes do ano. No estado do Amapá o período de frutificação mais intenso ocorre no primeiro semestre do ano, que é o período mais chuvoso; já no estado do Pará a produção de frutos ocorre no principalmente no segundo semestre (CONAB 2019).

O número de cachos por estipe pode chegar a oito, porém sendo mais comum de três a quatro (Cavalcante 1974). O fruto é uma drupa globosa ou levemente depressa, com diâmetro variando entre 1 cm e 2 cm e pesando, em média, 1,5 g (Paula 1975), com coloração do epicarpo de verde claro, passando a roxo quando maduro, no caso do açaí roxo, e verde escuro para o açaí branco (Calzavara 1972).

A reprodução pode ocorrer de duas formas, sexuada através de sementes e, assexuada por meio da retirada de perfilhos emitidos na base da planta (Oliveira et al. 2000). O açaizeiro é uma espécie diploide que possui 36 de cromossomos (2n=36), apresentando diferenças quanto a morfologia (Oliveira 2011).

E. oleracea não apresenta variedades botânicas ou sub-espécies, porém características morfologicamente diferentes entre plantas de açaizeiro são frequentemente reportadas, são variações como coloração do epicarpo, tamanho do fruto, formato do cacho, entre outras. O termo etnovariedade, que se refere às plantas que apresentam alguma característica que as diferenciam identificadas e definidas por povos tradicionais, indígenas e/ou pequenos agricultores é frequentemente utilizado para o açaizeiro (Soleri and Cleveland 1993). Para o açaizeiro são reportadas algumas etnovariedades: açaí branco, açaí tinga, açaí espada, açaí açu, açaí malhado, açaí chumbinho (Pimentel and Jardim 2009, Jardim and Oliveira 2014).

O *E. oleracea* possui atualmente duas cultivares lançadas, BRS-Pará e BRS-Pai d'égua, desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa por meio da seleção massal com base em descritores morfológicos e produtivas, e apresentam elevada produtividade, principalmente no período de entressafra (Oliveira and Farias Neto 2004, Farias Neto 2019). A etnovariedade denominada de açaí branco se diferencia da etnovariedade preta pela ausência ou menor teor de antocianina no epicarpo dos frutos quando maduros (Mattietto et al. 2016) (Figura 1). É muito apreciada pelas populações tradicionais, porém os determinantes que envolvem a coloração de seus frutos ainda não estão totalmente esclarecidos.



Figura 1. Cacho de açaí branco. Fonte: Rayane Rios

#### 1.2 PRINCIPAIS USOS E IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE

Do seu fruto se produz o suco ou vinho, proveniente da polpa; das suas inflorescências secas, pode-se fabricar vassouras; das raízes, pode-se produzir vermífugo e antidiarreico; do seu caule, pode-se extrair palmito e celulose, construir casas e utilizar como lenha e como isolamento elétrico e térmico; das suas folhas se obtém celulose e também se utiliza na cobertura de casas; e as sementes são utilizadas para artesanato (Calzavara 1972).

Além dos usos tradicionais, estudos voltados à espécie demonstram outras importantes possibilidades. O suco do açaí branco liofilizado apresenta potencial para prevenir câncer oriundo do consumo de carne vermelha (Silveira et al. 2017), as suas sementes podem ser utilizadas para produção de etanol de segunda geração (Cordeiro et al. 2019) e o resíduo do açaí (caroço e fibra) apresenta potencial para produção de materiais compósitos com uso na construção civil (Barbosa et al. 2019).

O açaizeiro faz parte do hábito alimentar das populações da região Norte, sendo consumido, em geral, duas vezes ao dia (Silva Junior et al. 2019), ou seja, nas principais refeições. É a base do sustento de muitas famílias ribeirinhas, principalmente com a extração dos frutos e palmito, gerando direta e indiretamente muitos empregos nas chamadas "ilhas do Pará".

A renda líquida da extração vegetal do açaí por ha é de aproximadamente R\$ 2.938 no período de safra e na entressafra é de R\$ 313,00 (Tagore et al. 2020). Com a introdução das práticas de manejo a produtividade pode subir de 20 a 30 sacas para até 100 sacas por ha, aumentando também o tempo de colheita para até sete meses (Queiroz and Mochiutti 2012).

O fruto do açaizeiro vem ganhando destaque em âmbito nacional e internacional nos últimos anos pois apresenta diversos benefícios à saúde humana, sendo considerado um alimento altamente funcional (Rocha 2015), tendo grande destaque pelo alto teor de antocianina presente na polpa, por seu conteúdo calórico e nutritivo, sendo fonte de lipídeos, carboidratos, proteínas, fibras e rico em minerais (Oliveira and Santos 2011, Cedrim et al. 2018).

Em vista do aumento do seu consumo em função dos benefícios a saúde, houve um crescimento no extrativismo da espécie e também na área plantada. A produção nacional de açaí no ano de 2018 alcançou 1.510,022 t de frutos, em uma área de 198,497 mil ha, um aumento de mais de 170 mil t em relação ao ano de 2017, sendo que o estado do Pará corresponde 99% desse total (IBGE 2018). A produção de frutos oriundos da extração vegetal no ano de 2018 foi de 221,646 t de frutos, com um valor de produção de R\$ 592,0 milhões (IBGE 2017).

O estado do Pará é atualmente o maior produtor de frutos e exportador de produtos oriundos do fruto do açaí, como a polpa congelada, e cerca de 90% da exportação é feita para os mercados norte-americano e japonês (MAPA 2016). Esse mercado está em franca ascensão, visto que os produtos gerados a partir da matéria prima, estão cada vez mais diversificados, principalmente por serem voltados a alimentação saudável. Independente do mercado em outros estados e países, o açaí já possui mercado consolidado e de uso tradicional na região Norte, sendo considerado um produto essencial.

O açaizeiro faz parte do patrimônio tangível e intangível das populações tradicionais da região Norte. A coleta de fruto é uma atividade tradicional que passa entre gerações (Chaves et al. 2015), assim como o sistema de troca de sementes de açaí branco que ocorre entre famílias (DuVal 2010). O açaí é um símbolo da cultura nortista, sendo comum encontrar em feiras populares e até mesmo em aeroportos diversos produtos, como pinturas, camisas e chaveiros utilizando da espécie como tema para serem vendidas para turistas, ou até mesmo canções (Chaves et al. 2015).

A espécie também apresenta elevada importância ecológica e ambiental; além de compor floristicamente as áreas de várzea, que são áreas características pela presença de numerosas populações de palmeiras (Batista et al. 2011), também é importante para a manutenção da fauna, com seus frutos servindo de alimento para muitos animais, principalmente pássaros, que por consequência são importantes dispersores de sementes. O açaizeiro também oferece proteção para as áreas de várzea, diminuindo assim os processos erosivos, que são comuns nesse tipo de ambiente, além de poder ser utilizado para recomposição de áreas degradadas (Guimarães et al. 2011).

#### 1.3 DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS

A conservação de indivíduos de interesse, como o açaizeiro, pode ser feita em banco de germoplasma (BAG), que faz referência ao patrimônio genético de uma determinada espécie (Oliveira 2005) sendo portadores da variabilidade total que pode ser transmitida de uma geração para outra (Costa and Spehar 2012). Os indivíduos que compõem um BAG são denominados de acessos, esse termo faz referência a toda amostra do banco que pode representar a variação genética de uma população ou indivíduo (Carvalho and Vidal 2003).

O uso de BAG tem como principais objetivos diminuir a erosão genética quando a pressão por uma determinada espécie está alta, conservar genes que possam ser de interesse futuro e possibilitar a utilização dos indivíduos ali depositados em programas de melhoramento. As atividades realizadas em BAG são em geral coleta, caracterização, avaliação, documentação e conservação.

A caracterização é uma etapa importante em coleções de germoplasma, pois viabiliza seu uso e justifica a conservação da espécie, possibilitando avanços em estudos de variabilidade genética, assim como facilita a identificação de indivíduos superiores em relação a alguma característica especifica, além de descrever semelhanças e diferenças entre acessos (Mata 2010). Espécies que pertencem ao gênero *Euterpe* apresentam sementes recalcitrantes e por este motivo só permitem a conservação em BAGs mantidos em campo (Oliveira 2005).

Para realizar a caracterização podem ser utilizados descritores morfológicos e agronômicos, os quais podem ser obtidos por mensuração (quantitativos) ou por observação (qualitativos) (Oliveira 2005). A caracterização morfológica é a primeira a ser realizada após a incorporação do acesso ao banco e deve fornecer a discriminação de maneira fácil entre fenótipos e dar as primeiras estimativas de variabilidade, já a agronômica está diretamente relacionada com a potencialidade dos acessos, ou seja, são caracteres produtivos, e as coletas

só são realizadas quando os indivíduos começam a produzir, e no caso do *E. oleracea*, só a partir do terceiro ano (Oliveira 1998).

Na caracterização de acessos em bancos de germoplasma a observação e avaliação de um grande número de características em um mesmo individuo é muito comum, principalmente quando a quantidade de individuos é grande, e devido a isso lança-se mão de técnicas multivariadas para análise dessas características. As técnicas multivariadas são métodos que avaliam simultaneamente as múltiplas características de cada indivíduo, e as classificam de forma que a interpretação seja mais rápida. Dentre estas estão à análise de agrupamento, análise de componentes principais, variáveis canônicas, análise fatorial, análise discriminante e análise de correspondência (Mingoti 2005).

O uso de descritores morfoagronômicos é a base do melhoramento convencional, onde o mesmo se faz por meio da seleção de características desejáveis. No açaizeiro a seleção de descritores iniciou-se na década de 90, com a utilização de descritores já utilizados em outras palmeiras (Oliveira 1998). Dentre esses descritores, altura, circunferência, comprimento de entrenó, peso do cacho, peso de frutos, peso da polpa, perfilhamento, entre outros, já foram utilizados para lançamento de duas cultivares, BRS-Pará e BRS-Pai d'égua (Oliveira and Farias Neto 2004, Farias Neto 2019), altamente produtivas.

Ao estimar a divergência genética entre 87 acessos de açaizeiro por meio de 22 descritores morfoagronômicos, através de analises uni e multivariada foram observadas diferenças significativas para quase todos os caracteres, demonstrando assim elevada variabilidade entre os acessos e por meio das técnicas de agrupamento, UPGMA e Tocher, foram formados cinco e 24 grupos, respectivamente, facilitando assim a observação dos indivíduos mais divergentes que podem ser utilizados em cruzamentos (Oliveira et al. 2007c).

Ao desdobrar as correlações genéticas de caracteres relativos ao cacho e à produção de frutos em 25 progênies de meios-irmãos de açaizeiro em efeitos diretos e indiretos sobre a produção total de frutos, a fim de verificar a melhor estratégia de seleção para obtenção de progênies mais produtivas foi observardo que a produção de frutos apresentou correlação com número de meses em produção, número total de cacho, peso de frutos por cacho e número de ráquilas por cacho, porém pela análise de trilha, apenas o peso de frutos por cacho, o número de cachos e o número de ráquilas por cacho mostram-se como os principais determinantes na variação da produção de frutos de açaizeiro. Dentre esses caracteres, o número de ráquilas por cacho é que apresenta maior herdabilidadade (Teixeira et al. 2012).

Avaliando 26 acessos de açaí branco coletados nas localidades de Breves, Muaná, Ponta de Pedras, Limoeiro do Ajurú, Curralinho e São Sebastião da Boa Vista pertencentes ao estado

do Pará, por meio de 13 descritores morfoagronômicos foi bservad variabilidade em oito dos descritores, exceto para o número de cachos por planta, comprimento de entrenó e número total de cachos. Por meio das análises multivariadas foi observada a formação de dois grupos pelo método UPGMA e quatro pelo de Tocher. Também foi observado que o peso de cem frutos foi o que mais contribuiu para a divergência dos acessos (Sousa et al. 2017).

Ao avaliarem a dissimilaridade morfológica de progênies de açaizeiro oriundas do município de Anajás no estado do Pará nos anos de 2010 a 2012, Yokomizo et al. (2018) utilizando os descritores peso médio do cacho (PMC), peso total de frutos (PTF), peso médio do cacho vazio (PMCV), tamanho médio da ráquis/cacho (TMR), peso médio de 100 frutos (PCF), número total de cachos (NTC) e; peso total do cacho (PTC), observaram variabilidade para os descritores TMR e NTC. Além desse resultado, os autores também observaram que as observações fenotípicas foram bastante influenciadas pelos anos de avaliação; no agrupamento UPGMA baseado na distância de Mahalanobis foi observada a formação de quatro grupos sem apresentar um padrão na ordenação dos acessos de forma sequencial.

#### 1.4 MARCADORES MOLECULARES

Segundo Ferreira and Grattapaglia (1998) um marcador molecular é definido como todo e qualquer fenótipo molecular com origem através da expressão de um gene ou de um segmento específico de DNA. Os marcadores moleculares podem ser aplicados em estudos filogenéticos, construção de mapas de ligação, diversidade e variabilidade genética, fingerprinting, entre outros. Apresentam vantagens quanto às técnicas tradicionais, pois podem ser detectáveis em todos os tecidos, além de poderem ser utilizados em qualquer estágio de crescimento da planta sem sofrerem influência ambiental.

Há atualmente muitos marcadores moleculares, os quais podem ser classificados de diferentes formas, uma delas é relacionada à sua técnica, podendo ser dividida em técnicas não baseadas em PCR (Polymerase Chain Reaction), como no caso do RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorphism); e técnicas baseadas em PCR, como RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), AFLP (Amplified Fragment Lenght Polymorphism), Microssátelite-SSR (Simple Sequence Repeat) e SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions).

O marcador RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorphism) revela o polimorfismo existente através da clivagem do DNA por enzimas de restrição, que irão cortar o DNA gerando um grande número de fragmentos, que serão separados por eletroforese em gel, transferidos para uma membrana de nitrocelulose e detectados através da hibridação de pequenos

fragmentos de DNA, denominados "sondas", previamente clonadas (Ferreira and Grattapaglia 1998). Os marcadores RFLP são codominantes, altamente polimórficos e reprodutíveis, porém a técnica é trabalhosa e requer muitas etapas e recursos laboratoriais, além de grande quantidade de DNA (Agarwal et al. 2008).

Os marcadores baseados em PCR se baseiam na amplificação exponencial do DNA em três etapas: desnaturação, anelamento e extensão das fitas duplas de DNA; demandam conhecimento prévio da sequência de nucleotídeos alvo que se deseja amplificar para que sejam desenhados os primers que serão utilizados (Mullis and Faloona 1987). Apesar do grande avanço que a técnica de PCR proporcionou, era justamente a necessidade de conhecimento prévio da sequência alvo que a tornava limitada quanto a seu uso em indivíduos com o genoma ainda desconhecido.

O marcador RAPD revela o polimorfismo presente através de "primers" ou "iniciadores" curtos, de 9 a 10 bases e com alto conteúdo de guanina e citosina e de sequência arbitrária (Williams et al. 1990), isso facilita o uso de marcadores em espécies que não tenham seu genoma ainda conhecido. A técnica é uma variação da PCR, onde é realizada à amplificação do DNA em um termociclador, os fragmentos de DNA são separados por eletroforese em gel e visualizados através da luz UV. É um marcador dominante e apresenta grande facilidade na sua aplicação, além de apresentar um custo relativamente baixo em relação aos demais marcadores.

Vos et al. (1995) desenvolveram a técnica denominada de AFLP (Amplified Fragment Lenght Polymorphism), que pode ser considerada uma mistura do RFLP e RAPD. A AFLP realiza a digestão do DNA com duas enzimas de restrição que clivam em sítios específicos, e a amplificação do DNA é feita adicionando "adaptadores" e primers complementares aos adaptadores, e por fim é feita a eletroforese para visualização dos fragmentos. Assim como os marcadores RAPD, o AFLP é considerado dominante, porém, nessa técnica é gerado um número grande de fragmentos em um único gel, sendo essa considerada uma técnica rápida, simples e sensível (Ferreira and Grattapaglia 1998).

Os marcadores denominados de SSR (Simple Sequence Repeat) ou microsatélites são baseados em sequências curtas, de 1 a 6 pares de bases, repetidas no genoma em tandem (Litt and Luty 1989). Os marcadores SSR constituem um dos grupos de marcadores mais promissores, pois apresentam diversas vantagens como serem codominantes, altamente polimórficos, permitem a cobertura completa do genoma de quaisquer organismos, necessitam de pouco DNA para as análises e seus primers podem ser transferíveis entre espécies do mesmo gênero, porém o principal entrave quanto a sua utilização é o custo elevado para obtenção dos primers (Ferreira and Grattapaglia 1998).

Marcadores SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) são amplificados com primers específicos, mais longos, a partir de sequências dos fragmentos do RAPD e podem ser de natureza codominante (Hernández et al. 1999). Os marcadores SCAR são derivados dos marcadores RAPD, onde após selecionados os fragmentos de RAPD, eles são clonados e sequenciados, e por fim sintetizados em um par de oligonucleotídeos de mais ou menos 24 bases, e seu produto pode ser visualizado em eletroforese em gel, o marcador SCAR é utilizado para amplificar regiões especificas do genoma (Paran and Michelmore 1993).

Na década de 90 foi realizado o primeiro estudo com marcadores moleculares em *E. oleracea*. Utilizando marcadores isoenzimáticos e RAPD foi feita a caracterização genética entre diferentes espécies da família Arecaceae, dentre elas o açaizeiro, além de híbridos (*E. oleracea* x *E. edulis*) com potencial para produção de palmito e foi possível fazer a diferenciação das espécies por ambas as técnicas, além de que os híbridos entre *E. oleracea* e *E. edulis* puderam ser diferenciados e apresentando maior proximidade genética com os ecótipos de *E. oleracea*, espécie utilizada como progenitor feminino (Sawazaki et al. 1998).

Os demais trabalhos focados na espécie foram realizados entre os anos de 2001 a 2010. Em 2001 utilizou-se pela primeira vez o marcador RAPD onde foi avaliada a variabilidade de dez acessos de açaizeiro de diferentes procedências do estado do Pará (Breves, Benfica, Mosqueiro, Muaná e São João do Araguaia), Amapá (Oiapoque) e Maranhão (Guimarães) sendo possível observar que o acesso de Maranhão apresentou maior distanciamento genético em relação aos demais acessos, e a maior similaridade ocorreu entre acessos provenientes de municípios próximos, apresentando uma correlação entre distâncias geográficas e distância genética (Costa et al. 2001).

Em 2001 já havendo locus do marcador microssatélite para a espécie *E. edulis* foi avaliada a transferabilidade dos locus para *E. oleracea*, obtendo sucesso com sete dos 18 transferíveis para o açaizeiro (Gaiotto et al. 2001). A partir daí foram realizados alguns trabalhos com o marcador microssatélite além do marcador RAPD.

A divergência genética entre acessos de açaizeiros de coloração violácea e verde oriundos dos municípios de Breves e Cametá no estado do Pará foi avaliada com base no marcador RAPD, havendo divergência entre acessos, porém não sendo possível a discriminação entre os mesmos com base na coloração dos frutos (Costa et al. 2004). Avaliando 116 acessos de açaizeiro provenientes de diferentes localidades do estado do Amapá, Pará e Maranhão o marcador RAPD apresentou elevado polimorfismo, esse estudo reforça que o centro de diversidade está localizado no estuário amazônico, em razão da alta diversidade genética encontrada (Oliveira et al. 2007a).

Ao estudar a diferenciação genética de 107 acessos de *E. oleracea* oriundos dos estados do Amapá, Pará, Maranhão e Espirito Santo por marcadores RAPD E SSR, foi observada alta variabilidade entre procedências e principalmente dentro das procedências, para ambos os marcadores. Os resultados mostraram que os acessos utilizados, constituídos de populações naturais e pomares e propriedades rurais, principalmente quando se tratando de populações naturais, apresentaram considerável diferenciação genética (Oliveira and Silva 2008). Utilizando sete marcadores microssatélites (SSR) foi observado polimorfismo em todos os marcadores utilizados, inferindo-se que os marcadores apresentaram um bom poder discriminatório entre os acessos. Os autores sugerem assim, que pelo menos nove acessos podem ser indicados para programas de melhoramento (Oliveira et al. 2010).

Nota-se que poucos são os trabalhos envolvendo marcadores moleculares para a espécie *E. oleracea*, até então apenas os marcadores baseados em DNA, RAPD e SSR, foram utilizados. O açaizeiro vem sendo muito apreciado em âmbito nacional e mundial e por isso tem se tornado uma importante fonte de renda, principalmente para as populações da região norte. Nas últimas décadas foram lançados esforços para tornar conhecidas as características dessa espécie e dessa forma gerar tecnologias visando o máximo aproveitamento da mesma. Observa-se que os esforços até hoje empregados estão voltados, principalmente, ao açaí do preto, ocasionando assim certa carência de conhecimento em relação a etnovariedade branca.

## 2. HIPÓTESE

Os acessos de açaí que compõem o banco de germoplasma da Embrapa Amapá apresentam elevada variabilidade genética e fenotípica por serem oriundos do centro de origem e diversidade da espécie podendo ser utilizados para seleção de indivíduos com potencial para incremento na produtividade de frutos.

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Caracterizar acessos de açaí por meio de descritores fenológicos, morfológicos e agronômicos e marcadores moleculares tipo RAPD, visando conservação e seleção de material genético para incremento da produtividade de frutos.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a variabilidade fenotípica dos acessos do BAG por meio de descritores fenológicos, morfológicos e agronômicos;
- Detectar o polimorfismo presente nos acessos do BAG por meio do marcador molecular RAPD;
- Estabelecer grupos com os indivíduos mais semelhantes, assim como os mais divergentes por meio das duas técnicas;
- Verificar a existência de correlação entre a variabilidade fenotípica e genética dos acessos oriundos da caracterização morfoagronômica e molecular; e
- Selecionar grupos de indivíduos com características desejáveis voltadas a produtividade de frutos.

#### REFERÊNCIAS

- Agarwal, M., N. Shrivastava, and H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant Cell Reports 27:617–631.
- Barbosa, A. D. M., V. S. M. Rebelo, L. G. Martorano, and V. M. Giacon. 2019. Characterization of acai waste particles for civil construction use. Revista Matéria 24.
- Batista, F. de J., M. A. G. Jardim, T. D. S. Medeiros, and I. L. M. Lopes. 2011. Comparação florística e estrutural de duas florestas de várzea no estuário Amazônico, Pará, Brasil. Revista Arvore 35:289–298.
- Borges, W. L., G. R. Xavier, and N. G. Rumjanek. 2007. Variabilidade genética entre acessos de amendoin. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42:1151–1157.
- Bovi, M. L. A., G. Godoy Júnior, and L. A. Sáes. 1987. Hibridos interespecíficos de palmiteiro (*Euterpe oleraceae* x *Euterpe edulis*). Bragantia 46:343–363.
- BRASIL. 2015. Lei Nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.
- Calzavara, B. B. G. 1972. As possibilidades do açaizeiro no estuário amazônico. FCAP, Belém.
- Campbell, A. J., L. G. Carvalheiro, M. M. Maués, R. Jaffé, T. C. Giannini, M. A. B. Freitas, B. W. T. Coelho, and C. Menezes. 2018. Anthropogenic disturbance of tropical forests threatens pollination services to açaí palm in the Amazon river delta. Journal of Applied Ecology 55:1725–1736.
- Carvalho, J. M. F. C., and M. S. Vidal. 2003. Crioconservação no Melhoramento Vegetal. Documentos/Embrapa Algodão, 115:22.
- Cavalcante, P. B. 1974. Frutas comestíveis da Amazônia. Museu Paraense Emíilio Goeldi, Belém, Pará, Brasil.
- Cedrim, P. C. A. S., E. M. A. Barros, and T. G. Nascimento. 2018. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. Brazilian Journal of Food Technology 21:1–8.
- Chaves, G. P., L. G. Furtado, D. M. Cardoso, and F. F. de Sousa. 2015. A importância sociocultural do açai (Euterpe oleracea Mart.) na Amazônia Brasileira. Constribuciones a las ciencias sociales:1–11.
- CONAB. 2019. Boletim da Sociobiodiversidade. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília.
- Cordeiro, M. A., O. Almeida, E. M. S. Rodrigues, A. M. J. Chaves Neto, and N. T. Machado. 2019. Produção de etanol através da hidrólise enzimática do caroço de açai (*Euterpe oleracea* Mart). Revista Brasileira de Energias Renováveis 8:122–152.
- Costa, A. M., and C. R. Spehar. 2012. Recursos Genéticos. Pages 28–61 *in* M. . Costa, A, C. R. . Spehar, and J. R. B. . Sereno, editors. Conservação de recursos genéticos no Brasil. Embrapa, Distrito Federal.

- Costa, M. R., M. S. P. Oliveira, and E. F. Moura. 2001. Variabilidade genética em açaizeiro (<i>Euterpe oleraceae</i> Mart.). Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento 21.
- Costa, M. R., M. S. P. Oliveira, and M. M. M. Ohaze. 2004. Divergência genética no açaizeiro com base em marcadores RAPD. Revista de Ciências Agrárias 41:89–95.
- Cruz, C. D., J. A. Regazzi, and P. C. S. Carneiro. 2012. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Fourth edition. UFV, Viçosa.
- Ducke, A. 1946. Plantas de cultura precolombiana na Amazônia brasileira. Notas sôbre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. Boletim Técnico do Instituto Agronômico do Norte 8:1–25.
- DuVal, A. 2010. Açaí Branco: maintaining agrobiodiversity through a local seed system in the Amazon estuary. The bulletin of the Yale Tropical Resources Institute 29.
- Fajardo, C. G., R. A. R. Silva, K. P. T. Chagas, and F. A. Vieira. 2018. Genetic and phenotypic association of the carnauba palm tree evaluated by inter-simple sequence repeat and biometric traits. Genetics and Molecular Research 17:1–9.
- Farias Neto, J. T. 2019. BRS Pai d'égua : cultivar de açaí para terra firme com suplementação hídrica. Embrapa (Comunicado Técnico 317), Belém.
- Ferreira, E. M., and D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. CENARGEN/EMBRAPA, Brasília.
- Gaiotto, F. a, R. P. V Brondani, and D. Grattapaglia. 2001. Microsatellite markers for heart of palm *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Arecaceae). Molecular Ecology Notes 1:86–88.
- Galate, R. S., M. G. C. Mota, J. M. D. Gaia, and M. S. S. Costa. 2014. Distância fenotípica entre matrizes de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) procedentes do nordeste do Pará. Semina: Ciencias Agrarias 35:1667–1681.
- Guimarães, T. P., R. Q. Maneschy, A. H. de Mello, A. A. De Castro, I. K. de S. Oliveira, and K. C. G. Costa. 2011. Crescimento inicial de açaízeiro em sistema agroflorestal no P. a. Belo Horizonte I, São Domingos do Araguaia, Pará. Agroecossistemas 3:30–35.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper, and P. D. Ryan. 2001. PAST: Pacote de Software de Estatísticas Paleontológicas para Educação e Análise de Dados. Palaeontological Association 4:1–9.
- Henderson, A., and G. Galeano. 1996. Euterpe, Prestoea, and Neonicholsonia (Palmae). New York: New York Botanical Garden 72:1–89.
- Hernández, P., A. Martín, and G. Dorado. 1999. Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: A practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. Molecular Breeding 5:245–253.
- IBGE. 2017. Pesquisa da Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura 2017.
- IBGE. 2018. Produção Agricola Municipal. https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457.
- Jardim, M. A. G., and F. G. Oliveira. 2014. Morfologia Floral de Duas Etnovariedades de Euterpe oleracea Mart. do Estado do Pará. Biota Amazônia 4:6–9.

- Leitman, P., K. Soares, A. Henderson, L. Noblick, and R. C. Martins. 2015. Arecaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB53.
- Litt, M., and J. A. Luty. 1989. A Hypervariable Microsatellite Revealed by In Vitro Amplification of a Dinucleotide Repeat within the Cardiac Muscle Actin Gene. American journal of human genetics 44:397–401.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27:209–220.
- MAPA. 2016. Açaí, o sabor da Amazônia que se espalha pelo mundo. http://www.agricultura.gov.br/noticias/acai-o-sabor-da-amazonia-que-se-espalha-pelo-mundo.
- Mata, T. L. da. 2010. Diversidade genética em germoplasma de arroz filipino identificada por marcadores moleculares e caracteres agromorfologicos.
- Mattietto, R. A., A. V Carvalho, J. J. S. N. Lanes, P. Oliveira, and V. N. M. Rosário. 2016. Composição química e nutricional da polpa de açaí: Comparação entre variedades roxa e branca. Congresso Brasileiro de Ciência e tecnologia de alimentos:6.
- Mingoti, S. A. 2005. Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada. UFMG.
- Mullis, K., and F. Faloona. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. Methods in Enzymology 55:355–350.
- Oliveira, E. N. A. de, and D. da C. Santos. 2011. Processamento e avaliação da qualidade de licor de açaí (Euterpe oleracea Mart.). Revista do Instituto Adolfo Lutz 70:534–541.
- Oliveira, L. C. 2011. Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe*.
- Oliveira, M. D. S. P. de, E. P. Amorim, J. B. Dos Santos, and D. F. Ferreira. 2007a. Diversida genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. Ciência agrotecnica 31:1645–1653.
- Oliveira, M. D. S. P. De, J. E. U. de Carvalho, and W. M. O. do Nascimento. 2000. Açai (Euterpe oleracea Mart.). First edition. FUNEP, Jaboticabal.
- Oliveira, M. D. S. P. De, and K. J. D. e Silva. 2008. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores RAPD e SSR. Revista Brasileira de Fruticultura 30:438–443.
- Oliveira, M. do S. P. 1998. Descritores minimos para o açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). CPATU. Embrapa.
- Oliveira, M. do S. P. 2005. Caracterização Molecular e Morfo-agronômica de germoplasma de açaizeiro. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Oliveira, M. S. P., E. P. Amorim, J. B. Santos, and D. F. Ferreira. 2007b. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseado em marcadores RAPD. Ciência agrotecnica 31:1645–1653.

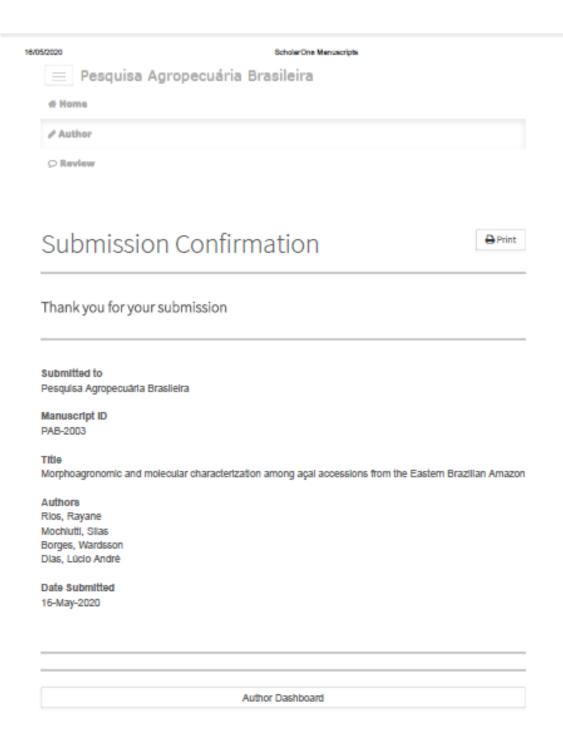
- Oliveira, M. S. P., and J. T. Farias Neto. 2004. Cultivar BRS-Pará: Açaizeiro para Produção de Frutos em Terra Firme. Embrapa (Comunicado Técnico 114), Belém.
- Oliveira, M. S. P., D. F. Ferreira, and J. B. Santos. 2007c. Divergência genética entre acessos de açaizeiro fundamentada em descritores morfoagronômicos. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42:501–506.
- Oliveira, M. S. P., J. B. Santos, E. P. Amorim, and D. F. Ferreira. 2010. Variabilidade genética entre acessos de açaizeiro utilizando marcadores microssatélites. Ciência e Agrotecnologia 34:1253–1260.
- Pandey, P., W. A. Ansari, S. P. Kashyap, D. R. Bhardwaj, S. K. Tiwari, and B. Singh. 2019. Genetic diversity of Indian bitter gourd (*Momordica charantia*) by ISSR and morphological markers. Indian Journal of Agricultural Sciences 89:2037–2042.
- Paran, I., and R. Michelmore. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik 85:985–993.
- Paula, J. E. de. 1975. Anatomia de Euterpe oleracea Mart. (Palmae da Amazônia). Acta Amazonica 5:265–278.
- Pimentel, M. S., and M. A. G. Jardim. 2009. Morfologia das infrutescências e inflorescências do açaí-preto (*Euterpe oleracea* Mart.) e das etnovariedades branco, espada e tinga (*Euterpe* spp.). Pages 79–87 Diversidade biológica das áreas de proteção ambiental, Ilhas do Combu e Algodoal-Maiandeua. Museu Paraense Emilio Goeldi: Coleção Adolpho Ducke, Belém.
- Portela, R. C. Q., A. S. Pires, and F. A. M. Santos. 2009. Unusual branching in the palm *Euterpe edulis* Mart. Hoehnea 36:501–506.
- Queiroz, J. A. L., and S. Mochiutti. 2012. Guia prático de manejo de açaizais para produção de frutos. Second edition. Embrapa Amapá, Macapá.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rocha, S. M. B. de M. 2015. Benefícios Funcionais do Açaí na Prevenção de Doenças Cardiovasculares. Journal of Amazon Health Science 1:1–10.
- Rohini, M. R., M. Sankaran, S. Rajkumar, K. Prakash, A. Gaikwad, R. Chaudhury, and S. K. Malik. 2020. Morphological characterization and analysis of genetic diversity and population structure in *Citrus* × *jambhiri* Lush. using SSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 4.
- Santos, E. C. P. 2017. Sequenciamento e análie de novo do transcriptoma de frutos preto e branco de *Euterpe oleracea* (Açaí) durante a maturação. Universidade Federal do Pará.
- Sawazaki, H. E., M. L. A. Bovi, L. Sodek, and C. A. Colombo. 1998. Diversidade genética em palmeiras através de isoenzimas e RAPD. Revista Brasileira de Biologia 58:681–691.
- Shanley, P., and G. Medina. 2005. Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. CIFOR e Imazon, Belém.

- Silva Junior, J. I. de S. e, F. K. Rebello, H. V. de Lima, M. A. S. dos Santos, P. C. dos Santos, and M. L. B. Lopes. 2019. Socio-economics of Acai Production in Rural Communities in the Brazilian Amazon: A Case Study in the Municipality of Igarapé-Miri, State of Pará. Journal of Agricultural Science 11:215–224.
- Silveira, T. F. F., T. C. L. Souza, A. V. Carvalho, A. B. Ribeiro, G. G. C. Kuhnle, and H. T. Godoy. 2017. White açaí juice (*Euterpe oleracea*): Phenolic composition by LC-ESI-MS/MS, antioxidant capacity and inhibition effect on the formation of colorectal cancer related compounds. Journal of Functional Foods 36:215–223.
- Soleri, D., and D. A. Cleveland. 1993. Hopi Crop Diversity and Change. Journal of Ethnobiology 13:203–231.
- Sousa, A. M., M. S. P. Oliveira, and J. T. Farias Neto. 2017. Genetic divergence among white-type acai palm accessions based on morpho-agronomic characters. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 52:751–760.
- Tagore, M. de P. B., M. D. A. Monteiro, and O. Do Canto. 2020. A cadeia produtiva do açaí: estudo de caso sobre tipos de manejo e custos de produção em projetos de assentamentos agroextrativistas em Abaetetuba, Pará. Amazônia, Organizações e Sustentabilidade 8:99.
- Tagore, M. P. B., O. Canto, and M. V. Sobrinho. 2018. Políticas públicas e riscos ambientais em áreas de várzea na Amazônia: o caso do PRONAF para produção do açai. Desenvolvimento e Meio Ambiente 45:194–214.
- Teixeira, D. H. L., M. S. P. de Oliveira, F. M. A. Gonçalves, and J. A. R. Nunes. 2012. Correlações genéticas e análise de trilha para componentes da produção de frutos de açaizeiro. Revista Brasileira de Fruticultura 34:1135–1142.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Lee, M. Hornes, A. Friters, J. Pot, J. Paleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLPs a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23:4407–4414.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are usuful as genetic markers. Nucleic Acids Res 18:6531–6535.
- Yokomizo, G. K.-I., M. D. S. P. De Oliveira, and J. T. de Farias-Neto. 2018. Dissimilaridade morfológica entre progênies de açaizeiro provenientes de Anajás - PA. Revista de ciências agrárias 60:343–349.
- Yokomizo, G. K. I., J. T. Farias Neto, and M. S. P. Oliveira. 2016. Ganho esperado na seleção de progênies de polinização aberta de *Euterpe oleracea* para produção de frutos. Scientia Forestalis 44:241–248.

## 4. ARTIGO CIENTÍFICO

Morphoagronomic and molecular characterization among açai accessions from Brazilian eastern Amazon

Artigo submetido ao periódico "Pesquisa Agropecuária Brasileira"



Morphoagronomic and molecular characterization among açai accessions from the

Eastern Brazilian Amazon

Rayane da Mota Rios<sup>(1,2)</sup>, Silas Mochiutti<sup>(2)</sup>, Wardsson Lustrino Borges<sup>(2\*)</sup> and Lúcio André

Viana Dias<sup>(1)</sup>

(1) Universidade Federal do Amapá, Programa de pós-graduação em Biodiversidade Tropical,

Rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, Jardim Marco Zero, CEP: 68903-419, Macapá, AP. E-

mail: rayanerios7@gmail.com, lucviana74@gmail.com

(2) Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitscheck, km 5, Universidade, CEP: 68903-419,

Macapá, AP. E-mail: wardsson.borges@embrapa.br

\* Corresponding author - https://orcid.org/0000-0002-2960-0638

Morphoagronomic and molecular characterization among açai accessions from the

**Eastern Brazilian Amazon** 

Abstract - The objective of this work was to characterize açai accessions by means of

phenological, morphological and agronomic descriptors and RAPD molecular markers, for

joint selection of accessions with greater productive potential. All told, 100 accessions were

analyzed through 18 morphoagronomic descriptors and 13 RAPD markers. It was possible to

observe seasonality between the spathe and inflorescence emission phases in flowering and

fruiting. The values of the coefficient of variation and mean squared error of the treatments

(accessions) indicated high variability among the morphoagronomic descriptors, and the

accessions were distributed in seven groups. Fruit weight, seed weight and pulp weight were

important descriptors for distinction of accessions and identification of those with greater

productive potential. The accessions presented similarity greater than 85%, and 85 accessions,

distributed in nine subgroups, were not differentiated by RAPD markers. There was no

correlation between grouping based on morphoagronomic descriptors and RAPD markers.

Fifteen accessions presented panicle weight ranging from 3.9 to 9.0 kg and six had hundred-

fruit pulp weight varying from 35 to 50 g, indicating it is possible to select accessions with high

productive potential.

**Index terms**: Anthocyanin; molecular marker; *Euterpe oleracea*.

Caracterização morfoagronômica e molecular de acessos de açaizeiro da Amazônia

Oriental brasileira

Resumo – O objetivo desse trabalho foi caracterizar acessos de açaizeiro por meio de descritores fenológicos, morfológicos e agronômicos e marcadores moleculares tipo RAPD, para selecionar conjunto de acessos com maior potencial produtivo. Foram analisados 100 acessos através de 18 descritores morfoagronômicos e 13 iniciadores RAPD. Foi possível observar a sazonalidade entre as fases de emissão de espata e inflorescência em floração e frutificação. Os valores de coeficiente de variação e quadrado médio dos tratamentos (acessos) evidenciaram elevada variabilidade entre os descritores morfoagronômicos e os acessos foram distribuídos em sete grupos. Massa de fruto, massa de semente e massa de polpa foram descritores importantes para distinção dos grupos de acessos e identificação de acessos de maior potencial produtivo. Os acessos apresentaram similaridade superior a 85% e 85 acessos, distribuídos em nove sub-grupos, não foram diferenciados, por meio do RAPD. Não houve correlação entre os agrupamentos baseados em descritores morfoagronomicos e marcadores RAPD. Quinze acessos apresentam massa de cacho variando entre 3,9 e 9 kg e seis massa de polpa de 100 frutos variando entre 35-50 g, evidenciando que é possível selecionar acessos com elevado potencial produtivo.

Termos para indexação: Antocianina; marcador molecular; Euterpe oleracea.

#### Introdução

As espécies pertencentes ao gênero *Euterpe*, família Arecaceae, são de elevada relevância econômica, social e ambiental para a região Amazônica (Heijink et al., 2020). *Euterpe oleracea* Mart. conhecida popularmente como açaizeiro, de ocorrência natural no estuário do rio Amazonas tem sido utilizada para produção de polpa, palmito, celulose, lenha, artesanato, vassoura, vermífugo, antidiarreico, etanol e biocompósitos com aplicação na construção civil (Barbosa et al. 2019, Cordeiro et al. 2019).

Com relação à coloração do fruto, três tipos de açaí são reportados. Açaí violáceo (imaturo e maduro) para a espécie tipo (açaí preto) e para a etnovariedade espada; açaí verde (imaturo e maduro) para a etnovariedade branco, e açaí verde quando imaturo e violáceo quando maduro para a etnovariedade tinga (Pimentel and Jardim 2009). Maior teor de óleo e menores teores de antocianina e de ferro conferem sabor de abacate com leite e menor capacidade de causar indigestão a polpa do açaí branco (DuVal, 2010). Além disso, a polpa de açaí branco avaliada em sistema gástrico *in vitro* exibiu capacidade de reduzir a formação de compostos nitrogenados, apresentando, potencial para combater a formação de câncer derivado da ingestão de carne vermelha (Silveira et al. 2017).

Nos últimos anos tem sido observado aumento significativo no consumo e na produção do açaizeiro. Este aumento se deve principalmente pela inserção da polpa do açaí preto no mercado nacional e internacional ocasionada pela sua identificação como alimento funcional, rico em antocianina, calórico, fonte de lipídeos, carboidratos, proteínas, fibras e minerais (Cedrim et al. 2018). O aumento de produção tem sido alcançado por movimentos simultâneos de expansão do manejo das populações nativas e da expansão da área plantada (Lindolfo et al., 2020).

O manejo das populações nativas é realizado através da alteração no número e na distribuição espacial de espécimes de açaizeiro, de outras espécies de palmeiras e de espécies arbóreas florestais de outras famílias botânicas. Este balanço otimiza o uso dos recursos, nutrientes, espaço físico, energia solar e água na área e incrementa a produtividade de frutos (Queiroz and Mochiutti 2012). Manejo excessivo, favorecendo o açaizeiro em detrimento das demais espécies florestais tem ocasionado redução de diversidade nas áreas de ocorrência natural, e prevalência do tipo preto em detrimento do tipo branco (Tagore et al. 2018). O estabelecimento de áreas de cultivo com poucos materiais genéticos e a intensificação do manejo das populações nativas pode ocasionar erosão genética.

Neste contexto, reveste-se de grande importância a conservação e a ampliação do conhecimento sobre a diversidade da espécie visando melhor aproveitamento desta variabilidade e seu uso sustentável. A implantação e a caracterização de acessos em bancos de germoplasma (BAG) é uma das alternativas para evitar perda de recursos genéticos. Descritores morfoagronômicos como perfilhamento e produção de frutos, bem como marcadores moleculares baseados em DNA para a detecção de polimorfismo vêm sendo utilizados para caracterizar acessos depositados em bancos de germoplasma e subsidiar programas de melhoramento para incremento na produtividade de frutos (Galate et al., 2014; Yokomizo et al., 2016; Farias Neto, 2019). O objetivo desse trabalho foi caracterizar acessos de açaizeiro por meio de descritores fenológicos, morfológicos e agronômicos e marcadores moleculares tipo RAPD, para selecionar conjunto de acessos com maior potencial produtivo.

#### Material e Métodos

Frutos de açaí tipo branco foram coletados, em outubro de 2001, em diversos pontos nas comunidades de Curralinho (01°48'49"S e 49°47'43"O), Breves (01°40'56"S e 50°28'49"O), São Sebastião da Boa Vista (01°43'03"S e 49°32'27"O), Muaná (1°53'51"S e 49°23'71"O), Limoeiro do Ajurú (01°53'42"S e 49°22'51"O) e Ponta de Pedras (1°39'28"S e 48°87'05"O), localizadas no arquipélago do Marajó (Pará, Brasil). As sementes foram utilizadas para preparo de mudas no campo experimental da Fazendinha da Embrapa Amapá (Macapá, AP). O plantio das mudas foi realizado no campo experimental da Embrapa Amapá do Mazagão (00°02'33"S e 51°15'24"O, Mazagão, AP), em junho de 2002, em ambiente de floresta de várzea. Adotouse o espaçamento de 5 x 5 m, com 25 plantas por linha. Segundo a classificação de Koopen o clima de Mazagão é do tipo Am, com temperatura média anual de 27,3°C e precipitação média anual de 2,410 mm.

Para caracterização morfoagronômica dos acessos, realizada entre janeiro e dezembro de 2019, foram considerados 18 descritores. Determinou-se o tipo de perfilhamento de estipes (TE) e cor do fruto produzido (CF). O número de espata emitidas (EE) e inflorescência em floração (IF) foram analisados quanto à sazonalidade. Altura (AE), circunferência (CAP) e comprimento de cinco entrenós, da altura do peito para baixo (CEN) do estipe principal de cada touceira foram analisados quanto à dispersão. Diâmetro longitudinal (DLF, média 50 frutos), diâmetro transversal (DTF, média 50 frutos), massa de 100 frutos (PF), massa de 100 sementes (PS), massa de polpa de 100 frutos (PP), rendimento de polpa (RP), massa total do cacho (PTC), massa de frutos por cacho (PFC), número de ráquilas por cacho (NRC), comprimento da ráquis

do cacho (CRC) e rendimento de frutos por cacho (RFC) foram submetidos à análise de variância utilizando o modelo linear generalizado (GLM) em decorrência do número diferente de repetições. Adotou-se os acessos como tratamentos, o número de cachos como repetições e delineamento inteiramente casualizado. Os dados de rendimento de polpa (RP) e de frutos por cacho (RFC), e de número de ráquilas por cacho (NRC) foram transformados em arco-seno da raiz(x) e raiz(x) respectivamente.

Os dados foram padronizados (normalizados) segundo (Cruz et al. 2012) e submetidos a análise de componentes principais (PCA). Com base na análise de componentes principais oito variáveis, responsáveis por 86% da variância total, foram selecionadas para análise de agrupamento. O agrupamento foi realizado utilizando a distância euclidiana e o método de agrupamento UPGMA.

Para caracterização molecular, realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Amapá, foram coletadas folhas jovens em dezembro de 2018. A extração do DNA total a partir dos folíolos, macerados em nitrogênio líquido, foi realizada utilizando o kit comercial Plant/Fungi DNA Isolation Kit (Norgen Biotek Corp). O produto obtido foi diluído em água na proporção de 1:20 para aplicação na reação de PCR. A reação de PCR foi realizada utilizando tampão 1X (200 mM Tris-HCl pH 8,0, 500 mM de KCl), 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 μM de cada dNTP, 0,3 μM de primer, 1 μL de Tween 20 (2%), 1 U de *Taq* polimerase e 2 μL da diluição do DNA como molde, em um volume final de 25 μl.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Amplitherm, modelo TX96+G), adotando 94° C por 1 min para desnaturação inicial, 35 ciclos de desnaturação a 92° C por 1 min, anelamento a 35° C por 1 min e alongamento a 72° C por 2 mim e, extensão final a 72° C por 5 min. Os produtos amplificados foram separados eletroforeticamente em gel de agarose (1,5% p/v), 120 V durante 120 mim. Os géis foram corados com brometo de etídio, visualizados e fotografados sob luz UV. Os perfis de bandas visualizados nos géis de RAPD foram convertidos em uma matriz binária de presença (1) e ausência (0). A partir desta matriz foi calculada a similaridade utilizando o coeficiente Jaccard e o agrupamento foi realizado pelo método UPGMA. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi calculado conforme descrito em Oliveira et al. (2010).

Calculou-se a correlação de Mantel entre os dados morfoagronômicos e moleculares (Mantel 1967). As análises foram realizadas utilizando os programas Past (Hammer et al. 2001) e Rstudio (R Core Team 2015).

O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado, do Ministério do Meio Ambiente

(SISGEN, MMA Brasil) sob o número AB88CF5 de acordo com a Lei 13.123/2015 (BRASIL 2015) e seus regulamentos.

#### Resultados e Discussão

Um total de 100 acessos, 50 pares de meios-irmãos, foram caracterizados no presente estudo. Para os acessos IB336 e IIB01 não foi possível obter dados relativos aos cachos e frutos em função de aborto prematuro dos frutos. Com relação ao tipo de perfilhamento observou-se que 11 acessos não apresentaram perfilhamento, sendo, plantas de estipe solteiro. Caule cespitoso é uma característica particular da espécie em relação às demais do gênero *Euterpe*. No entanto, indivíduos pertencentes a *E. edulis* com perfilhamento já foram observados (Silva et al., 2014). A porcentagem de híbridos interespecíficos entre *E. edulis* x *E. oleracea* com perfilhamento foi mais elevada quando *E. oleracea* foi o progenitor feminino, indicando que esta característica possivelmente tem origem materna (Bovi et al., 1987). Caule cespitoso permite a seleção de material genético para exploração contínua da planta, por meio de colheita de frutos e de palmito quando se elimina os estipes mais velhos. Por outro lado, o tipo solteiro pode permitir um número maior de combinações em termos de espaçamento e idade das plantas para renovação dos plantios.

Embora todas as plantas tenham sido originadas de sementes de fruto branco, 46 acessos produziram frutos de coloração verde (tipo branco), 46 produziram frutos de coloração violácea (tipo preto), e um produziu fruto de coloração verde amarronzado. Para cinco acessos, observou-se, em estipes diferentes da mesma planta, cachos com frutos de coloração verde e cachos com frutos de coloração violácea. Este é o primeiro relato deste tipo de variação de cor de fruto em uma mesma planta. A compreensão dos determinantes genéticos da cor de fruto do açaizeiro ainda é limitada (DuVal, 2010). Cento e dezoito genes diferencialmente expressos foram observados entre açaí branco e preto durante a maturação, e aqueles relacionados à via de síntese das antocianinas foram hipoexpressos nos frutos brancos (Santos 2017).

A emissão de espata e a presença de inflorescência em floração foi mais intensa no primeiro semestre, coincidindo com o período de maior intensidade de chuvas (Figura 1) e a frutificação (safra) ocorreu no segundo semestre, corroborando a observação de Lindolfo et al. (2020). Vale ressaltar que o acesso IIB02 apresentou inflorescências em floração durante todo o ano e o acesso IB37 emitiu espatas durante todo o ano, exceto para o mês de outubro. Observou-se elevada variabilidade entre os acessos para altura (AE), circunferência (CAP) e comprimento de entrenós (CEN) do estipe principal e diferença estatística significativa entre os

acessos para todos os descritores analisados, exceto para RFC (Tabela 1). Para 50% das variáveis com diferença estatística significativa foi observada uma relação entre QM<sub>Acessos</sub> e QM<sub>erros</sub> superior a 5. Os maiores valores de coeficiente de variação foram encontrados para massa de frutos por cacho (PFC) e massa total do cacho (PTC). Diferenças estatísticas significativas entre 129 matrizes de açaizeiro foram observadas para 17 descritores morfoagronômicos (Galate et al., 2014).

Foi possível observar a formação de sete grupos distintos no dendrograma gerado com os descritores morfoagronômicos (Figura 2A). Três grupos foram formados por acesso único, e nos demais o número de acessos variou entre 7 e 41 (Figura 3). Os grupos 6, 7, 3 e 5 foram formados por acessos que apresentaram massa de 100 frutos (PF), massa de 100 sementes (PS) e massa de polpa de 100 frutos (PP) variando entre 142-178 g, 118-156 g e 21-43 g; 153-194 g, 131-167 g e 28-37 g; 180-223 g, 147-192 g e 24-49 g e 204-247 g, 176-218 g e 35-56 g, respectivamente. O diâmetro do fruto está relacionado com o rendimento de polpa e peso total do cacho, número de ráquilas por cacho, distância entre entrenós, perfilhamento e peso de frutos por cacho foram utilizados com sucesso em processo de seleção massal visando produtividade de frutos no estado do Pará (Teixeira et al. 2012, Yokomizo et al. 2016, Farias Neto 2019). O descritor massa de 100 frutos (PF) é uma característica importante para seleção de acessos para compor programas de melhoramento dado que apresenta elevada herdabilidade (Teixeira et al. 2012). Os acessos pertencentes ao grupo 5 apresentam massa de polpa de 100 frutos (PP) variando entre 35-56 g e os acessos pertencentes ao grupo 7 apresentam massa total do cacho (PTC) variando entre 3,9 e 9 kg, se destacando dos demais.

Um total de 50 fragmentos foram amplificados no ensaio RAPD, e 76% destes foram polimórficos (Tabela 2). Marcadores RAPD têm evidenciado polimorfismo para o açaizeiro entre 43% (Costa et al., 2001) e 100% (Oliveira et al., 2007). Apesar do elevado percentual de fragmentos polimórficos observado, o conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi baixo, variando entre 0 e 0,23 por iniciador. Os acessos foram distribuídos em seis grupos, com similaridade de 87%, com base no ensaio RAPD (Figura 2B). O número de acessos por grupo foi de 1, para os grupos 2 e 6; 3 para o grupo 5; 9 para os grupos 1 e 4 e 79 para o grupo 3. Oitenta e cinco acessos, distribuídos em nove sub-grupos, apresentaram 100% de similaridade, 28 destes são 14 pares de meios-irmãos. A similaridade média baseada em marcadores RAPD, entre acessos de açaizeiros de coloração violácea e verde (branco) oriundos dos municípios de Breves e Cametá no estado do Pará, foi de 36,88% (Costa et al., 2004).

Assim como observado para o agrupamento morfoagronômico, não houve tendência de formação de grupos de acordo com as procedências dos acessos. A variabilidade

morfoagronômica observada não foi correlacionada com a variabilidade revelada pelos marcadores RAPD (Teste de Mantel r = - 0,01506, p≤0,5356). Os descritores morfoagronômicos são em sua maioria quantitativos, controlados por múltiplos genes e sofrem influência ambiental, ao passo que os marcadores RAPD avaliam regiões dispersas por todo o genoma e a não concordância entre eles tem sido frequentemente reportada (Fajardo et al. 2018, Rohini et al. 2020). Os acessos apresentaram elevada variabilidade morfoagronômica e baixa variabilidade baseada em marcadores RAPD. Este tipo de resultado já foi reportado para outras espécies vegetais como as espécies do gênero *Arachis* (Choudhary et al., 2019; Ma et al., 2020) e o melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) (Pandey et al., 2019).

Considerando que a coloração dos frutos foi o único critério adotado na coleta das sementes para implantação do BAG e que a região de coleta é o centro de diversificação da espécie elevada variabilidade morfoagronômica era prevista. Esta variabilidade é extremamente importante para o desenvolvimento de cultivares mais produtivos e a implantação da coleção da Embrapa Amapá, como estratégia de conservação se mostrou eficiente. Por outro lado, a variabilidade observada por RAPD foi significativamente mais baixa do que o previamente reportado para acessos da espécie (Oliveira et al., 2007).

Em um estudo com açaí branco em uma comunidade rural no Estado do Amapá, DuVal (2010) reportou a existência de um sistema dinâmico de semente entre agricultores familiares. Neste sistema, para o componente uso e desenvolvimento de variedades os agricultores reportaram uso de progapação vegetativa (perfilhos - vegetative cutting); para o componente produção e estocagem de sementes em condição local os agricultores reportaram plantio de mudas originadas de sementes de açai branco espacialmente afastada do açaí violáceo para evitar polinização cruzada, e para o componente mecanismo de troca de sementes os agricultores reportaram uso preferencial de sementes próprias ou de outros agricultores em compração com uso de sementes do mercado local ou mercado formal de sementes de cultivares registradas. Baseado na metologia de bola de neve, onde os agricultores entrevistados indicam os próximos agricultores para serem entrevistados, a autora pode observar que o açaí branco foi introduzido na comunidade em um ou dois eventos, em 45 anos o material passou por 36 agricultores, e por meio de um processo gradual de seleção o material melhorado era adotato por muitos agricultores e foi difundido para outras cinco comunidades.

No presente estudo nós não temos registro da origem das sementes ou mudas utilizadas pelos agricultores para plantio das plantas matrizes. Por outro lado, sabe-se que as plantas estabelecidas em quintais agroflorestais dos agricultores são geralmente oriundas de plantas matrizes selecionadas por eles (Oliveira et al. 2007b). Adicionalmente, em função da baixa

frequência de ocorrência do açaí branco, da preferência deste tipo por muitos consumidores locais e pelo preço da polpa mais elevado quando comparado com o açaí violáceo imagina-se que a baixa diversidade genética observada pode estar relacionada aos sistemas de seleção e intercâmbio de sementes de açaí branco adotados pelos agricultores na região. Marcadores microssatélites desenvolvidos para *Euterpe edulis* têm sido testados em outras espécie do gênero e representam alternativa viável para identificar maior variabilidade genética entre acessos (Oliveira et al., 2010; Azêvedo et al., 2017).

#### Conclusões

- 1. Os acessos de açaí apresentam elevada variabilidade para os 18 descritores morfoagronômicos avaliados e está variabilidade permite selecionar acessos para introdução em programa de melhoramento.
- 2. Os acessos pertencentes ao grupo morfoagronômico 5 e 7 são indicados para compor programas de melhoramento, dado que se destacam quanto aos descritores massa de polpa de 100 frutos (PP) e massa total do cacho (PTC).
- 3. Os acessos de açaí apresentam baixa variabilidade baseada em marcador RAPD.

#### Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Amapá (FAPEAP), e a Universidade Federal de Amapá, pela infraestrutura, suporte técnico, recurso financeiro e bolsa de pesquisa.

#### Referências

AZÊVEDO, H.S.F.S.; BENVINDO, F.D.; CAVALCANTE, L.N.; HAVERROTH, M.; WADT, L.H.O.; CAMPOS, T. Transferability of heterologous microsatellite loci between species of *Euterpe* genus. **Genetics and Molecular Research**, v.16, 2017. DOI: 10.4238/gmr16039825.

BARBOSA, A.D.M.; REBELO, V.S.M.; MARTORANO, L.G.; GIACON, V.M. Characterization of acai waste particles for civil construction use. **Revista Matéria**, v.24, 2019. DOI: 10.1590/s1517-707620190003.0750.

BOVI, M.L.A.; GODOY JÚNIOR, G.; SÁES, L.A. Hibridos interespecíficos de palmiteiro (*Euterpe oleraceae* x *Euterpe edulis*). **Bragantia**, v.46, p.343–363, 1987. DOI: 10.1590/S0006-87051987000200015.

BRASIL. Lei Nº 13.123, de 20 de maio de 2015. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 2015.

CEDRIM, P.C.A.S.; BARROS, E.M.A.; NASCIMENTO, T.G. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.21, p.1–8, 2018. DOI: 10.1590/1981-6723.09217.

CHOUDHARY, D.; AGARWAL, G.; WANG, H.; PANDEY, M.K.; CULBREATH, A.K.; VARSHNEY, R.K.; GUO, B. Molecular markers and genomic resources for disease resistance in peanut-A review. **Legume Research**, v.42, p.137–144, 2019. DOI: 10.18805/LR-409.

CORDEIRO, M.A.; ALMEIDA, O.; RODRIGUES, E.M.S.; CHAVES NETO, A.M.J.; MACHADO, N.T. Produção de etanol através da hidrólise enzimática do caroço de açai (*Euterpe oleracea* Mart). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v.8, p.122–152, 2019. DOI: 10.5380/rber.v8i1.53977.

COSTA, M.R.; OLIVEIRA, M.S.P.; MOURA, E.F. Variabilidade genética em açaizeiro (*Euterpe oleraceae* Mart .). **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.21, 2001.

COSTA, M.R.; OLIVEIRA, M.S.P.; OHAZE, M.M.M. Divergência genética no açaizeiro com base em marcadores RAPD. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, p.89–95, 2004.

DUVAL, A. Açaí Branco: maintaining agrobiodiversity through a local seed system in the Amazon estuary. **The bulletin of the Yale Tropical Resources Institute**, v.29, p.16-21, 2010. FAJARDO, C.G.; SILVA, R.A.R.; CHAGAS, K.P.T.; VIEIRA, F.A. Genetic and phenotypic association of the carnauba palm tree evaluated by inter-simple sequence repeat and biometric traits. **Genetics and Molecular Research**, v.17, p.1–9, 2018. DOI: 10.4238/gmr18018.

FARIAS NETO, J.T. BRS Pai d'égua: cultivar de açaí para terra firme com

suplementação hídrica. Belém: Embrapa (Comunicado Técnico 317), 2019. 8p.

GALATE, R.S.; MOTA, M.G.C.; GAIA, J.M.D.; COSTA, M.S.S. Distância fenotípica entre matrizes de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) procedentes do nordeste do Pará. **Semina:** Ciencias Agrarias, v.35, p.1667–1681, 2014. DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n4p1667.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Pacote de Software de Estatísticas Paleontológicas para Educação e Análise de Dados. **Palaeontological Association**, v.4, p.1–9, 2001.

HEIJINK, B.M.; MCMICHAEL, C.N.H.; PIPERNO, D.R.; DUIVENVOORDEN, J.F.; CÁRDENAS, D.; DUQUE, Á. Holocene increases in palm abundances in north-western Amazonia. **Journal of Biogeography**, v.47, p.698–711, 2020. DOI: 10.1111/jbi.13721.

LINDOLFO, M.M.; MATOS, G.S.B.; PEREIRA, W.V.S.; FERNANDES, A.R. Productivity and nutrition of fertigated açaí palms according to boron fertilization. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.42, p.1–9, 2020. DOI: 10.1590/0100-29452020601.

MA, J.; ZHAO, Y.; CHEN, H.; FU, C.; ZHU, L.; ZHOU, X.; XIA, H.; HOU, L.; LI, G.; ZHUANG, W.; WANG, X.; ZHAO, C. Genome-wide development of polymorphic microsatellite markers and their application in peanut breeding program. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.44, p.25–32, 2020. DOI: 10.1016/j.ejbt.2020.01.004.

OLIVEIRA, M.S.P.; AMORIM, E.P.; SANTOS, J.B.; FERREIRA, D.F. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseado em marcadores RAPD. **Ciência agrotecnica**, v.31, p.1645–1653, 2007. DOI: 10.1590/S1413-70542007000600007.

OLIVEIRA, M.S.P.; SANTOS, J.B.; AMORIM, E.P.; FERREIRA, D.F. Variabilidade genética entre acessos de açaizeiro utilizando marcadores microssatélites. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1253–1260, 2010. DOI: 10.1590/S1413-70542010000500025.

PANDEY, P.; ANSARI, W.A.; KASHYAP, S.P.; BHARDWAJ, D.R.; TIWARI, S.K.; SINGH, B. Genetic diversity of Indian bitter gourd (*Momordica charantia*) by ISSR and morphological markers. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.89, p.2037–2042, 2019.

PIMENTEL, M.S.; JARDIM, M.A.G. Morfologia das infrutescências e inflorescências do açaípreto (*Euterpe oleracea* Mart.) e das etnovariedades branco, espada e tinga (*Euterpe* spp.). In: **Diversidade biológica das áreas de proteção ambiental, Ilhas do Combu e Algodoal- Maiandeua.** Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi: Coleção Adolpho Ducke, 2009. p.79–87.

QUEIROZ, J.A.L.; MOCHIUTTI, S. **Guia prático de manejo de açaizais para produção de frutos**. 2.ed. Macapá: Embrapa Amapá, 2012. 1–30p.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2015.

ROHINI, M.R.; SANKARAN, M.; RAJKUMAR, S.; PRAKASH, K.; GAIKWAD, A.; CHAUDHURY, R.; MALIK, S.K. Morphological characterization and analysis of genetic diversity and population structure in *Citrus* × *jambhiri* Lush. using SSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.4, 2020. DOI: 10.1007/s10722-020-00909-4.

SANTOS, E.C.P. Sequenciamento e análie de novo do transcriptoma de frutos preto e branco de *Euterpe oleracea* (**Açaí**) durante a maturação. 2017. 85p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Belém.

SILVA, M.G.C.P.C.; AHNERT, D.; SILVA, L.A.M. Relato de ocorrência da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart.) com perfilhamento na Bahia, Brasil. **Agrotrópica**, v.26, p.211–216, 2014.

SILVEIRA, T.F.F.; SOUZA, T.C.L.; CARVALHO, A.V.; RIBEIRO, A.B.; KUHNLE, G.G.C.; GODOY, H.T. White açaí juice (*Euterpe oleracea*): Phenolic composition by LC-ESI-MS/MS, antioxidant capacity and inhibition effect on the formation of colorectal cancer related compounds. **Journal of Functional Foods**, v.36, p.215–223, 2017. DOI: 10.1016/j.jff.2017.07.001.

TAGORE, M.P.B.; CANTO, O.; SOBRINHO, M.V. Políticas públicas e riscos ambientais em áreas de várzea na Amazônia: o caso do PRONAF para produção do açai. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v.45, p.194–214, 2018. DOI: 10.5380/dma.v45i0.51585.

TEIXEIRA, D.H.L.; OLIVEIRA, M.S.P. DE; GONÇALVES, F.M.A.; NUNES, J.A.R. Correlações genéticas e análise de trilha para componentes da produção de frutos de açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.1135–1142, 2012. DOI: 10.1590/S0100-29452012000400022.

YOKOMIZO, G.K.I.; FARIAS NETO, J.T.; OLIVEIRA, M.S.P. Ganho esperado na seleção de progênies de polinização aberta de *Euterpe oleracea* para produção de frutos. **Scientia Forestalis**, v.44, p.241–248, 2016.

**Tabela 1.** Minimum, mean and maximum values, coefficient of variation and summary of analysis of variance (ANOVA) of 14 morphoagronomic descriptors evaluated in the açai accessions.

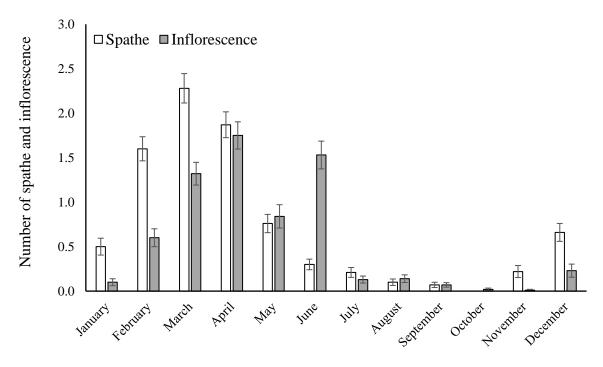
Descriptor	Mean squared		CV (04)	Values		
Descriptor	Accessions	Error	_ CV (%)	Min	Mean	Max
PH	-	-	13,30	6,48	9,77	13,21
CIRC	-	-	13,39	23,00	37,40	50,00
INL	-	-	17,18	27,50	61,53	92,00
LFD	1,2835**	0,1336	4,92	12,69	14,77	17,03
TFD	1,0753**	0,1379	5,25	11,43	12,91	14,91
HFW	1453,1**	169,10	13,74	109,74	180,07	266,04
HSW	1181,5**	121,35	14,39	101,72	153,33	233,04
HFPW	146,90**	76,93	28,88	9,53	34,80	85,75
PY	$0,0039^*$	0,0028	25,33	5,25	19,35	39,55
TPW	6,5156**	2,7768	45,84	0,48	4,39	11,61
FWPP	5,5027**	2,1462	51,54	0,13	3,52	9,79
NRPP	1,3757**	0,2286	16,40	36	91,27	139
LRP	108,66**	29,93	14,78	5	51,10	74
FYPP	0,0054 <sup>ns</sup>	0,0049	13,25	13,16	77,31	98,62

Plant height (PH), circumference (CIRC), five-internode length (INL) of the main stipe of each clump; longitudinal diameter (LFD, mean of 50 fruits), transversal diameter (TFD, mean of 50 fruits), hundred-fruit weight (HFW), hundred-seed weight (HSW), hundred-fruit pulp weight (HFPW), pulp yield (PY), total panicle weight (TPW), fruit weight per panicle (FWPP), number of rachillas per panicle (NRPP), length of rachillas of the panicle (LRP) and fruit yield per panicle (FYPP). <sup>ns</sup>: not significant. \* and \*\*: significant at 5 and 1% probability by the F-test.

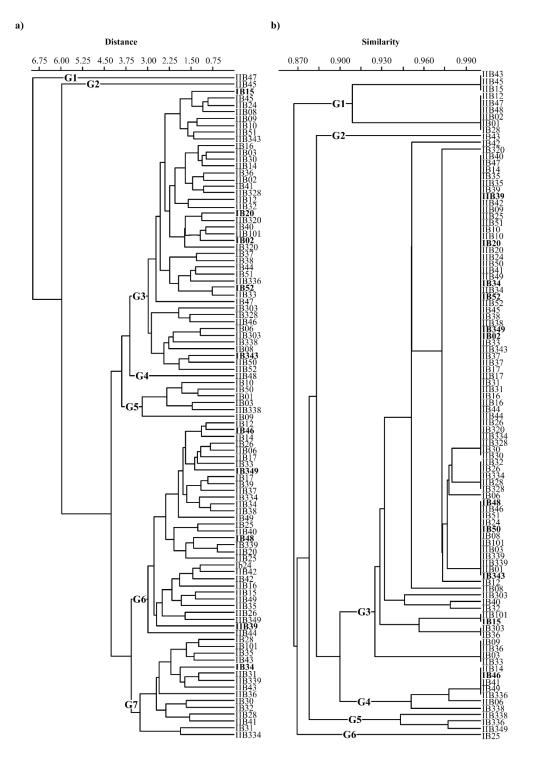
**Tabela 2.** RAPD markers used, total number of fragments (NTF); total number of polymorphic fragments (NTP); percentage of polymorphism (P%) and polymorphic information content (PIC) observed among the açai accessions.

Markers	Sequence (5'-3')	NTF	NFP	P%	PIC
OPB-01	GTTTCGCTCC	4	4	100	0.09
OPB-10	CTGCTGGGAC	4	4	100	0.16
OPB-18	CCACAGCAGT	4	4	100	0.23

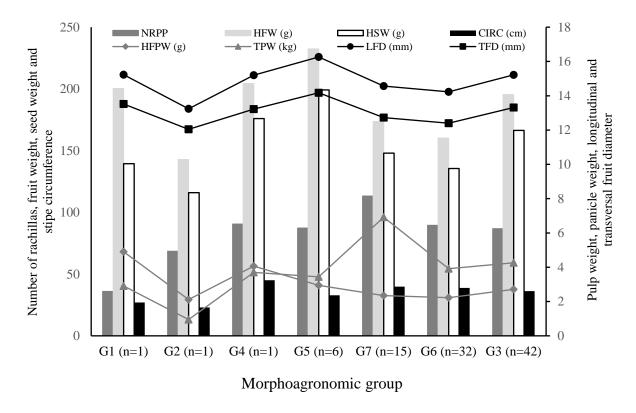
OPBA-01	TTCCCCACCC	3	2	66.6	0.01
OPBA-02	TGCTCGGCTC	2	2	100	0.02
OPBA-03	GTGCGAGAAC	5	4	80	0.02
OPBA-05	TGCGTTCCAC	5	5	100	0.02
OPBA-06	GGACGACCGT	5	5	100	0.05
OPBA-07	GGGTCGCATC	6	1	16.66	0.00
OPBA-08	CCACAGCCGA	2	0	0	0.00
OPBA-09	GGAACTCCAC	4	4	100	0.08
OPBA-10	GGACGTTGAG	4	1	25	0.00
OPF-1	ACGGATCCTG	2	2	100	0.06
Total		50	38	-	-
Mean		3.84	2.92	76.02	-



**Figura 1.** Mean number of spathes emitted (NSE) and flowering inflorescences (NFI) per lump in function of months by the açai accessions. Bars represent the standard error of the mean.



**Figura 2.** Dendrograms of distance and similarity among the açai accessions generated using the Euclidean distance and UPGMA cluster method (A) based on the descriptors number of rachillas per panicle (NRPP), hundred-fruit weight (HFW), hundred-seed weight (HSW), stipe circumference (CIRC), hundred-fruit pulp weight (HFPW), total panicle weight (TPW), longitudinal fruit diameter (LFD) and transversal fruit diameter (TFD); and (B) based on the RAPD band profiles, and (B) Jaccard similarity index and UPGMA cluster method based on the RAPD markers. In bold, accessions that did not present tillering (solitary stipe).



**Figura 3.** Mean values of number of rachillas per panicle (NRPP), hundred-fruit weight (HFW), hundred-seed weight (HSW), stipe circumference (CIRC), hundred-fruit pulp weight (HFPW), total panicle weight (TPW), longitudinal fruit diameter (LFD) and transversal fruit diameter (TFD) in function of the morphoagronomic group defined in the cluster analysis (n – number of accessions in each group).

#### **CONCLUSÕES FINAIS**

A caracterização morfoagronômica possibilitou a observação de elevada variabilidade fenotípica com base nos 18 descritores morfoagronômicos utilizados, sendo possível por meio da análise de agrupamento UPGMA observar a formação de sete grupos, podendo deles obter indivíduos que podem ser indicados para compor programas de melhoramento genético para produção de frutos.

Na caracterização molecular os 13 primers RAPD utilizados demonstraram baixa variabilidade genética baseado no baixo polimorfismo observado para os acessos estudados. Por meio do agrupamento UPGMA foi possível a formação de seis grupos com elevada similaridade entre e dentro grupos.

A variabilidade morfoagronômica não teve relação com a variabilidade observada pelos marcadores RAPD.