



NATÁLIA PADILHA DE OLIVEIRA

**ESTUDOS POLÍNICOS, CITOGENÉTICA E
QUANTIDADE DE DNA NUCLEAR EM ESPÉCIES
DE *Oenocarpus* MART. (ARECACEAE)**

LAVRAS – MG

2012

NATÁLIA PADILHA DE OLIVEIRA

**ESTUDOS POLÍNICOS, CITOGENÉTICA E QUANTIDADE DE DNA
NUCLEAR EM ESPÉCIES DE *Oenocarpus* MART. (ARECACEAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento de Plantas,
área de concentração em Genética e
Melhoramento de Plantas, para a
obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dr^a. Lisete Chamma Davide

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Oliveira, Natália Padilha de.

Estudos polínicos, citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae) / Natália Padilha de Oliveira. – Lavras : UFLA, 2012.

97 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Lisete Chamma Davide.

Bibliografia.

1. Palinologia. 2. Citometria de fluxo. 3. Cariótipo. 4. Palmeiras.
5. Viabilidade polínica. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 631.523

NATÁLIA PADILHA DE OLIVEIRA

**ESTUDOS POLÍNICOS, CITOGENÉTICA E QUANTIDADE DE DNA
NUCLEAR EM ESPÉCIES DE *Oenocarpus* MART. (ARECACEAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento de Plantas,
área de concentração em Genética e
Melhoramento de Plantas, para a
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2012.

Dr^a. Vânia Helena Techio

UFLA

Dr. Sandro Barbosa

UNIFAL

Dr^a. Lisete Chamma Davide

Orientadora

LAVRAS – MG

2012

Aos meus pais, Enéas e Socorro, e à minha irmã Lucianna pelo apoio incondicional.

Ao meu avô, Joaquim (in memoriam), pelo carinho e dedicação.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, que esteve sempre do meu lado, independente da distância física, sem medir esforços para me ajudar. Obrigada por ser esse pai amigo e dedicado, por torcer pelo meu sucesso, por compartilhar momentos de tristeza e alegria e por acreditar em mim.

À minha mãe, pessoa que é meu espelho profissional. Sua dedicação vai além dos papéis familiares. Obrigada pelo incentivo, pelos valiosos ensinamentos, por ter estado do lado ao longo dessa jornada e por sempre acreditar na minha capacidade.

À professora Lisete, com quem muito aprendi durante esses anos e a quem devo a orientação dessa dissertação. Obrigada por ter sido um pouco minha mãe nos momentos em que precisei e pela confiança em mim depositada.

Às professoras Vânia e Giovana pelo apoio prestado ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu namorado Luis, cuja presença ao meu lado ao longo desses dois anos fez a distância física quase imperceptível. Obrigada pela ajuda, pelo incentivo, pelo amor e companheirismo.

À Iara Silva, pela ajuda sempre que solicitada, pelo companheirismo e amizade.

À minha amiga Kize, por ter sido minha família nesses anos, cuidando de mim e me apoiando sempre que precisei.

Aos meus amigos, Rodrigo, Karina, Larisse e Amanda, que mesmo distantes, se fizeram presente e torceram por minha conquista.

Ao meu amigo Davi pela paciência em me ensinar e pelas inúmeras ajudas prestadas durante a realização desse trabalho.

Aos colegas de curso, Paulinho e Lilian, pelos momentos de estudo e desesperos compartilhados.

Aos colegas de laboratório pelo apoio e companhia, em especial à Kátia, Gabriela e Cristina.

Ao Gabriel pelo auxílio no desenvolvimento da parte experimental deste trabalho.

Aos assistentes de pesquisa do Laboratório de Fitomelhoramento da Embrapa Amazônia Oriental, Antônio Teixeira Costa, Joel Pinheiro da Silva, Raimundo Costa de Souza e Euclides da Rosa Ribeiro pelo apoio infundável na coleta e envio das amostras.

À Embrapa Amazônia Oriental pela permissão da coleta e envio das amostras dos bancos de germoplasma de bacaba e patauá.

Aos professores do programa de Genética e Melhoramento de Plantas pelos ensinamentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras - UFLA pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas – CNPq pela concessão da bolsa.

RESUMO

O gênero *Oenocarpus* Mart. é constituído por espécies que possuem relevância sócio-econômica à população Amazônica e às regiões onde ocorrem naturalmente, fornecendo ao longo de décadas os mais variados tipos de produtos. Dentre elas tem-se *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*, cujos frutos representam seu grande potencial pela obtenção da bebida bacaba e de um azeite similar ao de oliva. No entanto, existe pouca informação na literatura sobre essas espécies, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de estudos que venham contribuir para o conhecimento, manejo e uso sustentável desses recursos genéticos, como também para a domesticação das mesmas e ao desenvolvimento da agricultura regional. O objetivo deste trabalho foi avaliar a morfologia e viabilidade polínica, além de caracterizar e comparar citogeneticamente e estimar a quantidade de DNA nuclear de espécies do gênero *Oenocarpus*. Foram utilizadas amostras de botões florais e sementes de cinco espécies (*O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*), conservadas *in vivo* no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Pará, Brasil. As espécies apresentaram diferenças consideráveis para as variáveis morfopolínicas, possibilitando a distinção das espécies. A viabilidade polínica média foi alta, porém as espécies também diferiram para este caráter. O número somático de cromossomos foi o mesmo, $2n = 36$, mas houve variação na morfologia cromossômica, a qual deve ser resultado de alterações estruturais que contribuíram para a diversificação dessas espécies. O conteúdo de DNA nuclear permitiu separar as espécies em dois grupos. Dessa forma, é aconselhado para programas de melhoramento que visem à obtenção de híbridos interespecíficos envolvendo as espécies desse gênero, que as diferenças citogenéticas sejam levadas em consideração.

Palavras-chave: Palinologia, viabilidade polínica, cariótipo, citometria de fluxo, Palmeiras.

ABSTRACT

The *Oenocarpus* Mart. genus comprises species that occur in Brazil, especially in the Amazon, where they have a great relevance to the local economy, providing various products. *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus*, *O. mapora* and *O. minor* are examples of these species, and their fruits represent its potential, of which a beverage and oil similar to olive's one are obtained. However, there is little information about this species, so it is necessary to develop studies that contribute to knowledge, management and sustainable use of these genetic resources, as well as to its domestication. The goal of this work was to evaluate pollen grains morphology and viability, and also characterize and compare cytogenetically and estimate nuclear DNA content of this five species. Samples of flower buds and seeds of *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*, conserved *in vivo* at Embrapa Eastern Amazon's germplasm bank, in Belém, Pará, Brazil. Significant differences to pollen morphology were found, enabling the distinction of species. The average of pollen grains viability for the five species was high and also different among species. The somatic chromosome number for all species was the same, $2n = 36$, however there was morphologic variation among the karyotypes, that can be result of structures changes and contributed to species diversification. Nuclear DNA content allowed dividing the species into two distinct groups. Thus, it is desirable for breeding programs that aim to obtain interspecific hybrids involving the species of this genus, to take into account the cytogenetic difference.

Key words: Palynology, pollen grains viability, karyotype, flow cytometry, Palms.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Aspectos gerais sobre as espécies do gênero <i>Oenocarpus</i> Mart.	12
2.1.1 <i>Oenocarpus bataua</i> Mart.	16
2.1.2 <i>Oenocarpus mapora</i> H. Karst.	17
2.1.3 <i>Oenocarpus minor</i> Mart.	18
2.1.4 <i>Oenocarpus distichus</i> Mart.	19
2.1.5 <i>Oenocarpus bacaba</i> Mart.	20
2.2 Importância de estudos sobre o grão de pólen	21
2.3 A citogenética e sua importância em vegetais	25
2.4 Uso da citometria de fluxo como auxílio em estudos citológicos.....	29
REFERÊNCIAS.....	32
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....	41
ARTIGO 1 MORFOLOGIA E VIABILIDADE POLÍNICA EM ESPÉCIES DE <i>Oenocarpus</i> Mart.....	41
RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	43
1 INTRODUÇÃO.....	44
2 MATERIAL E MÉTODOS	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4 CONCLUSÕES.....	63
AGRADECIMENTOS	64

REFERÊNCIAS.....	65
ARTIGO 2 Citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de <i>Oenocarpus</i> Mart.	69
RESUMO.....	70
ABSTRACT.....	71
1 INTRODUÇÃO.....	72
2 MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1 Material botânico.....	74
2.2 Caracterização citogenética	74
2.3 Estimativa da quantidade de DNA nuclear	77
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4 CONCLUSÕES.....	92
AGRADECIMENTOS	93
REFERÊNCIAS.....	94

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nas florestas tropicais há uma grande diversidade de palmeiras, sendo reconhecidas cerca de 2360 espécies, distribuídas em aproximadamente 190 gêneros (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP - APG, 2010). Estas espécies pertencem à família Arecaceae (= Palmae) e possuem importância singular ao homem fornecendo ao longo de décadas os mais variados tipos de produtos (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; VILLACHICA et al., 1996). No Brasil são encontrados cerca de 40 gêneros e 200 espécies, distribuídas em vários ecossistemas (SOUZA; LORENZI, 2005). Dentre estes, destaca-se o gênero *Oenocarpus* Mart. por sua importância sócio econômica, principalmente na Amazônia.

Este gênero é representado por nove espécies, as quais são encontradas ao longo do norte da América do Sul. Essas espécies diferem em muitos aspectos morfológicos, tais como: o tipo de estipe, o eixo de distribuição foliar, tamanho e coloração dos frutos, entre outros. Entretanto, na literatura há registros da ocorrência de híbridos interespecíficos naturais, característica que juntamente com as diferenças morfológicas podem ser aproveitadas em programas de melhoramento (VILLACHICA et al., 1996). Essas espécies são conhecidas por sua diversidade de utilização, com destaque para o azeite extraído do mesocarpo de seus frutos, bem como para a bebida produzida dos frutos, a qual é amplamente consumida na região amazônica (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; ZAMBRANA et al., 2007).

Devido à importância apresentada por essas espécies, principalmente à população amazônica, estudos que venham a contribuir para o manejo e uso sustentável desses recursos genéticos e, conseqüentemente, com a domesticação dos mesmos são de extrema importância, como também ao

desenvolvimento da agricultura regional. Neste sentido, estudos citogenéticos, de conteúdo de DNA, morfologia e viabilidade polínica são importantes, uma vez que auxiliam no entendimento da evolução de espécies, na conservação *in situ*, além de fornecerem importantes informações aos bancos de germoplasma e à taxonomia, bem como podem ser úteis em programas de melhoramento (AULER; BATTISTIN; REIS, 2006; BARELLA; KARSBURG, 2007; HARLEY, 1990; HARLEY; BAKER, 2001; MIRANDA, 1993b; SALGADO-LABOURIAU, 1973; THANIKAIMONI, 1966).

Na Embrapa Amazônia Oriental há bancos de germoplasma contendo representantes de espécies de *Oenocarpus*, são elas: *Oenocarpus bacaba* Mart., *Oenocarpus distichus* Mart., *Oenocarpus bataua* Mart., *Oenocarpus mapora* Karsten e *Oenocarpus minor* Mart. Segundo Valls (1988), um banco de germoplasma é valorizado à medida que seus acessos são identificados taxonomicamente e caracterizados, pois a ausência dessas atividades, associada à falta de conservação, impede o conhecimento mais profundo dos acessos e restringe seu uso para fins de pesquisa. Portanto, alguns estudos têm sido realizados ao longo desses anos com essas espécies, no entanto, há pouca informação na literatura sobre a citogenética, conteúdo de DNA, morfologia e viabilidade polínica para as espécies que compõem esses bancos.

Com base no exposto, os objetivos deste trabalho foram: i) avaliar a morfologia e a viabilidade polínica de espécies de *Oenocarpus*; ii) caracterizar citogeneticamente e estimar a quantidade de DNA nuclear dessas espécies.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais sobre as espécies do gênero *Oenocarpus* Mart.

De acordo com a classificação de Cronquist (1981), o gênero *Oenocarpus* pertence ao filo Magnoliophyta, classe Monocotiledônea, ordem Arecales, família Arecaceae, subfamília Arecoideae tribo Areceae e subtribo Euterpeinae. Antigamente *Oenocarpus* compunha o complexo *Oenocarpus/Jessenia*, o qual passou por muitas mudanças taxonômicas no que tange as espécies que o representam (BALICK, 1986).

A existência desse complexo era suportada pela presença de diferenças morfológicas que para alguns sistematas eram suficientes para separá-las em gêneros distintos. Dentro dessas características estava o número de estames, onde as espécies de *Oenocarpus* apresentavam seis como em *O. minor*, *O. mapora* e *O. distichus* e as de *Jessenia*, sete a 20, a exemplo de *O. bataua*. Outra característica levada em consideração era o tipo de endosperma, sendo homogêneo para *Oenocarpus* e ruminado para *Jessenia* (BALICK, 1986).

Atualmente são reconhecidas nove espécies: *O. bacaba* Mart., *O. balickii* F. Kahn, *O. bataua* Mart., *O. circumtextus* Mart., *O. distichus* Mart., *O. makeru* R. Bernal *et al.*, *O. mapora* H. Kart., *O. minor* Mart. e *O. simplex* R. Bernal *et al.* (HENDERSON, 1995).

As espécies deste gênero encontram-se distribuídas ao longo de toda a Amazônia Brasileira, ocorrendo também em países da região tropical sul-americana, como do centro da Bolívia até o norte da Venezuela e da região das Cordilheiras dos Andes até o delta do rio Amazonas (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; MONTUFAR; PINTAUD, 2006; VILLACHICA *et al.*, 1996). No Brasil possuem ocorrência marcante nos

estados do Amazonas, Pará, Acre, Amapá e Maranhão (CAVALCANTE, 1991; HENDERSON, 1995; LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983). Esta região é reconhecida como sendo o provável centro de origem dessas palmeiras, onde podem ser encontradas em mata fechada de terra firme, de igapó e várzea, em capoeiras, mas também são comuns em ambientes devastados (CAVALCANTE, 1991; LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983). Essas espécies podem ser vistas formando grupos ou como plantas isoladas (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; VILLACHICA et al., 1996).

As palmeiras do gênero *Oenocarpus* são arbóreas, perenes, monoicas e alógamas, e apresentam características morfológicas marcantes como o porte alto (variando de 12 m a 25 m), o estipe reto e alongado e as folhas compostas do tipo pinada, que se encontram distribuídas paralelamente no ápice do estipe. A inflorescência é interfoliar do tipo cacho e protegida por duas brácteas decíduas de tamanho e formato distintos. As flores são unissexuais dispostas em tríades, flores pistiladas ladeadas por flores estaminadas, na porção proximal e em díades, compostas apenas de flores estaminadas, na porção apical (BALICK, 1986; CAVALCANTE, 1991; HENDERSON, 1995; MENDONÇA et al., 2008; VILLACHICA et al., 1996).

A floração dessas espécies tem como características marcantes a termogênese e protandria, com a abertura das flores ocorrendo preferencialmente durante a noite (KÜCHMEISTER et al., 1998). A maturação da inflorescência é caracterizada por três fases: uma primeira de maturação das flores masculinas, com duração de até duas semanas, uma intermediária não reprodutiva com duração de aproximadamente sete dias, e uma última com a maturação das flores femininas, cuja duração também é de aproximadamente sete dias (KALUME, 2000; KÜCHMEISTER et al., 1998; ROJAS; STILES, 2009).

A polinização é realizada por principalmente por insetos, dentre os quais se destacam os coleópteros, hemípteros e dípteros, podendo também ser realizada pelo vento (KALUME; OLIVEIRA; CARREIRA, 2002; KARUBIAN et al., 2010; OLIVEIRA, 2012d). Os insetos são atraídos pelo odor das flores, que se intensifica com a termogênese, e nas quais encontram alimento, proteção, local para reprodução e oviposição (OLIVEIRA, 2012c). De acordo com Karubian et al. (2010), existe um grau de interação e distribuição geográfica entre a espécie *O. bataua* e seus polinizadores que sugere um significativo nível de especialização.

Os frutos das espécies de *Oenocarpus* são oblongos a elipsóides, com variação para tamanho, peso e cor, sendo que a dispersão das sementes dessas espécies é realizada preferencialmente por animais que se alimentam de seus frutos, principalmente pássaros frugívoros, mamíferos e roedores (BECKMAN; MULLER-LANDAU, 2007; CYMERYYS, 2005; OLIVEIRA, 2012b), a exemplo do pássaro guarda-chuva (*Cephalopterus penduliger*), grande apreciador dos frutos de patauá (*O. bataua*), o qual parece realizar a dispersão em locais específicos, provocando aglomerados de indivíduos aparentados (KARUBIAN et al., 2010).

Além da variabilidade morfológica já citada para essas espécies, o início do período reprodutivo também é uma característica que pode ser aproveitada pelos melhoristas, uma vez que as espécies começam a produzir em momentos diferentes, a maioria por volta dos sete anos, com exceção de *O. minor* e *O. mapora*, que começam a produzir com cerca de três anos (GOULDING; SMITH, 2007; OLIVEIRA, 2012d). Entretanto, essas espécies ainda não se encontram domesticadas e sua produção é oriunda, basicamente, do extrativismo (OLIVEIRA, 2012b).

A principal forma de propagação é por meio de sementes, porém, nas espécies que possuem estipe multicaule, como *O. mapora* e *O. minor*, há a possibilidade de exploração da propagação vegetativa por meio de seus

perfilhos (OLIVEIRA, 2012b, 2012d; SILVA et al., 2009). As sementes dessas espécies são recalcitrantes, não podendo dessa forma ser armazenadas, e não apresentam dificuldade de germinação, tendo porcentagem de sucesso de aproximadamente 95%.

Estas espécies representam um importante recurso à população amazônica e ao mercado regional, tendo participação significativa na economia de subsistência das populações ribeirinhas e indígenas. Basicamente todas as partes da planta dessas espécies têm utilidade, podendo também ser utilizadas na ornamentação e paisagismo (ESTUPIÑÁN-GONZALEZ; JIMÉNEZ-ESCOBAR, 2010; OLIVEIRA, 2012a, 2012b, 2012c, 2012d).

A polpa dos frutos dessas espécies é rica em proteínas e representa seu maior potencial econômico, sendo empregada na culinária para a preparação de refrescos e vinhos e as indústrias locais a utilizam na fabricação de sorvetes, além da extração de azeite similar ao de oliva (MONTÚFAR et al., 2010; SILVA, 2009). Da amêndoa dos frutos é obtido também um azeite, muito utilizado pela população local, cuja composição química e sabor são similares ao da polpa (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; NASCIMENTO et al., 2009; PESCE, 2009; RODRIGUES et al., 2010; SILVA, 2009; VILLACHICA et al., 1996). Este azeite possui grande valor biológico, com excelente percentual de proteínas, maior inclusive que o encontrado no óleo de soja (BALICK, 1986), e é utilizado na culinária, bem como para a lubrificação de armas, no preparo de cosméticos e como laxante (NUNEZ-AVELLANEDA; ROJAS-ROBLES, 2008). Das sementes são confeccionadas biojóias; de seus estipes extrai-se madeira de boa qualidade e durabilidade; e das folhas obtém-se fibras, sendo ambas as estruturas usadas na construção de casas (MILLER, 2002; VILLACHICA et al., 1996).

A pesquisa por recursos alternativos para a obtenção de óleo vegetal têm sido significativa, nos últimos anos, e como consequência tem estimulado a pesquisa com espécies oleaginosas nativas, como as espécies em foco, no entanto, as informações continuam escassas (MONTÚFAR et al., 2010; MONTÚFAR; PINTAUD, 2008).

2.1.1 *Oenocarpus bataua* Mart.

Popularmente conhecida no Brasil como patauá (Figura 1), a espécie *Oenocarpus bataua* possui como sinônimas *Jessenia bataua* Burret e *Jessenia weberbaueri* Burret (MILLER, 2002).



Figura 1 Aspecto geral de um exemplar de patauá, *Oenocarpus bataua* Mart.
Foto: Natália Oliveira.

O patauá tem o estipe monocaule e apresenta fase reprodutiva tardia, iniciando por volta dos sete anos, produzindo em média 2000 frutos por

cacho, totalizando cerca de 40 kg de frutos (GOULDING; SMITH, 2007; VILLACHICA et al., 1996). De acordo com Miller (2002), sua produção é bianual devido à demora na maturação das inflorescências e abertura das flores, além do período entre a polinização e a maturação dos frutos.

A ocorrência de híbridos interespecíficos naturais entre esta espécie e *O. bacaba* é uma característica que pode ser explorada em futuros programas de melhoramento (VILLACHICA et al., 1996). Este autor sugere também a possibilidade de obtenção de híbridos envolvendo outras espécies do gênero.

2.1.2 *Oenocarpus mapora* H. Karst.

No Brasil, esta palmeira é chamada de bacabi, bacaba, bacabinha, bacabaí ou bacabaçaí e apresenta como sinonímia *O. panamanus* Bailey (BALICK, 1986).

A bacabi apresenta estipe multicaule (Figura 2), na maioria das vezes formando touceira com mais de 16 plantas, e fase reprodutiva iniciando por volta do terceiro ano de plantio (BALICK, 1986; OLIVEIRA, 2012c).



Figura 2 Aspecto geral de um exemplar de bacabi, *Oenocarpus mapora* Karsten. Foto: Natália Oliveira.

2.1.3 *Oenocarpus minor* Mart.

Esta palmeira é popularmente conhecida no Brasil, por várias denominações, tais como, bacabi, bacaba, bacaba-mirim, bacabinha, entre outros (BALICK, 1986), sendo *Oenocarpus microspadix* Burret e *Oenocarpus intermedius* Burret suas sinónimas (OLIVEIRA, 2012d).

As folhas compostas são menores do que as das outras espécies do gênero *Oenocarpus* (BALICK, 1986; MENDONÇA et al., 2008). Apresenta vantagens econômicas do ponto de vista de produção, quando comparadas às outras palmeiras desse gênero, por ter sua fase reprodutiva iniciada por volta dos três anos. Por perfilhar (Figura 3), como *O. mapora*, permite a reprodução assexuada além da sexuada via sementes (OLIVEIRA, 2012d).



Figura 3 Aspecto geral de um exemplar de bacabinha, *Oenocarpus minor* Mart. Foto: Natália Oliveira.

2.1.4 *Oenocarpus distichus* Mart.

No Brasil essa espécie é popularmente conhecida como bacaba de leque, em vista da distribuição foliar peculiar, que apresenta formato semelhante a um grande leque (Figura 4), sendo considerada uma das palmeiras mais bonitas dessa região (CAVALCANTE, 1991; PESCE, 2009). Pode também ser chamada de bacaba branca, bacaba do Pará, bacaba de azeite, bacaba-assú, palmeira-norte-sul, dentre outros (BALICK, 1986).

A produção desta espécie tem início por volta dos cinco anos, em plantios experimentais, sendo que cada planta chega a produzir dois cachos por ano, cada um pesando em torno de 21 kg, com aproximadamente 4000 frutos. A exploração de seus frutos é oriunda, quase que essencialmente do

extrativismo, já que essa espécie não se encontra domesticada e nem se tem relato de grandes plantações (OLIVEIRA, 2012b).



Figura 4 Aspecto geral de um exemplar de bacaba de leque, *Oenocarpus distichus* Mart. Foto: Natália Oliveira.

2.1.5 *Oenocarpus bacaba* Mart.

No Brasil, esta espécie é vulgarmente conhecida como bacaba (Figura 5), bacaba vermelha, bacabão, bacabeira, dentre outros (BALICK, 1986).

Assim como o patauá apresenta o início da fase reprodutiva mais tardia, por volta dos sete anos. A produção desta espécie é de cerca de três cachos por ano, cada um pesando em média 17 kg e contendo aproximadamente 1300 (OLIVEIRA, 2012a).

Por ser uma palmeira resistente ao fogo, suporta longos períodos de seca e tem preferência por áreas de intensa luminosidade (ANDRADE, 2001), sendo recomendada para o enriquecimento de áreas degradadas e para arborização. Pode ser utilizada em plantio solteiro, em consórcio com outras culturas como o milho, a mandioca e o feijão, com fruteiras semi-perenes ou em sistemas agroflorestais (OLIVEIRA, 2012a).



Figura 5 Aspecto geral de um exemplar de bacabão, *Oenocarpus bacaba* Mart. Foto: Socorro Padilha.

2.2 Importância de estudos sobre o grão de pólen

O grão de pólen é definido como o micrósporo maduro produzido nas anteras, contendo células reprodutivas masculinas, as quais contém a metade do número de cromossomos da espécie, capaz de fertilizar a oosfera dando origem ao zigoto (OLIVEIRA, 2007). Quando maduro encontra-se

rodeado por uma fina camada de celulose, a intina, e por fora desta há outra camada, a exina, composta principalmente por esporopolenina, substância que confere grande resistência ao grão de pólen (BELTRATI, 1994).

Grãos de pólen, esporos e outros palinomorfos refletem na morfologia, a espécie de origem (LEONHARDT; LORSCHHEITEN, 2007), sendo a morfologia polínica um estudo básico importante na identificação de famílias, de gêneros e de um grande número de espécies vegetais. Em plantas superiores o grão de pólen é o responsável pela transmissão do material genético masculino na fase reprodutiva. O conhecimento das características palinológicas das espécies de qualquer família é fundamental, uma vez que a grande diversidade morfológica existente é fundamental em estudos taxonômicos, morfológicos e paleobotânicos, e podem auxiliar programas de melhoramento (SALGADO-LABOURIAU, 1973). Nas espécies da família Arecaceae a diversidade sobre a morfologia polínica vem sendo registrada em estudos como os de Harley e Baker (2001) e Rodríguez (2003) entre outros, com várias finalidades, dentre elas a palinotaxonomia.

Para Salgado-Labouriau (1973), a exina tem mostrado ser o elemento mais importante na identificação da variabilidade e até na separação de espécies diferentes e afins. Assim, estudos sobre amostras polínicas de plantas vivas constituem uma forma de abordar problemas genéticos tanto na evolução de “*taxa*” endêmicos como na filogenia de famílias (MIRANDA et al., 1995). A posição das aberturas é importante no contexto filogenético evolucionário, por estarem localizadas ao acaso na superfície dos grãos de pólen e, freqüentemente, tem lugar definido com relação aos pólos e ao equador (MELHEM, 1978).

Erdtman (1952) e Salgado-Labouriau (1973) realizaram trabalhos sobre a morfologia dos grãos de pólen de espécies pertencentes à família Arecaceae (= Palmae). O primeiro autor estudou 75 espécies e 55 gêneros constatando que aqueles guardam estreita semelhança com as da família

Liliaceae e de outras monocotiledôneas, principalmente nas características da abertura, não havendo indicações palinológicas de que as palmeiras formem um grupo isolado, sem estreita conexão com outras famílias. Já Salgado-Labouriau (1973) separou três grupos taxonômicos dessa família utilizando os grãos de pólen por meio de características distintas de forma, abertura e ornamentação da exina (parede externa) sendo eles: Grupo I- grãos triangulares (*Astrocaryum*, *Attalea* e *Syagrus*); Grupo II- grãos circulares (*Astrocaryum*, *Attalea* e *Butia*) e Grupo III – grãos elípticos ou subelípticos (*Attalea*, *Butia*, *Orbignya*, *Cocos* e *Syagrus*). Investigações feitas por Harley (1990) e Thanikaimoni (1966) também contribuíram para a separação de grupos taxonômicos com base na morfologia polínica dessa família. Para Miranda, Absy e Clement (1999), as características estruturais específicas das aberturas dos grãos de pólen permitem a determinação do táxon ao qual pertencem.

No caso das espécies do gênero *Oenocarpus*, os primeiros estudos sobre a descrição de grãos de pólen foram feitos por Martius (1823 citado por BALICK, 1986) que os caracterizou como amarelos, uniformemente elípticos-globosos, longitudinalmente sulcados e fissurados, mas não mencionou as espécies. Balick (1986) descreveu o pólen das espécies deste gênero como solitário, heteropolar, monosulcado na forma elíptica e tricotomosulcado na forma triangular, ambos em vista polar. Este mesmo autor descreveu o pólen do antigo gênero *Jessenia* como solitário, heteropolar, usualmente monosulcado na forma elíptica a elíptica globosa, e raramente tricotomosulcado. A morfologia polínica de *O. bacaba* foi relatada por Chaves et al. (2003), ao estudarem várias palmeiras de potencial econômico onde constataram diversidade na forma, tamanho, tipo de abertura dos grãos de pólen confirmando que a família é euripalina, ou seja, tem grande variação dentro das diferentes espécies.

Outro aspecto importante a ser observado no grão de pólen é a sua viabilidade, uma vez que representa o primeiro passo para que se

compreenda como eles germinam no estigma determinando uma fase crucial para a fertilização (DAFNI, 1992). A viabilidade dos grãos de pólen é relevante em trabalhos de melhoramento genético, podendo também ser utilizado para diagnosticar fatores envolvidos na formação de flores e embriões. Para Kearns e Inouye (1993), a viabilidade polínica também é essencial para trabalhos de monitoramento de pólen armazenado.

A viabilidade do pólen pode ser avaliada por métodos diretos ou indiretos com base em um grande número de metodologias (DAFNI, 1992; KEARNS; INOUE, 1993). Dentre os métodos diretos podem-se mencionar a germinação do grão de pólen e dos indiretos as técnicas de coloração, utilizando corantes como o lugol e a solução de Alexander, dentre outros (KEARNS; INOUE, 1993).

Alguns trabalhos envolvendo espécies de palmeiras já foram desenvolvidos (MIRANDA, 1993a; OLIVEIRA; COUTURIER; BESERRA, 2003; OLIVEIRA; MAUÉS; KALUME, 2001; OSTROROG; BARBOSA, 2009). A viabilidade polínica da pupunheira foi abordada por Miranda (1993b), utilizando amostras de grãos de pólen conservadas *in vitro* com vista a auxiliar no melhoramento genético dessa espécie. Neste trabalho foram abordados fatores que afetam a viabilidade de grãos de pólen conservados, como a umidade relativa, a temperatura, a pressão do oxigênio, a liofilização e a fisiologia, além da análise da correlação deste parâmetro com a frutificação. Segundo essa autora, a conservação de grãos de pólen desta espécie pode ser prolongada sem afetar sua viabilidade mantendo-os sob umidade relativa de 40%, temperatura e pressão do oxigênio baixas e utilizando o processo de liofilização.

Para diferentes genótipos de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), Oliveira, Maués e Kalume (2001), avaliando a viabilidade polínica de grãos de pólen frescos e armazenados obtiveram valores acima de 85,5%. No caso do tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.), outra palmeira nativa da

Amazônia, a viabilidade de grãos de pólen também foi alta ao se avaliada em botões florais e flores recém abertas com médias acima de 84,8% (OLIVEIRA; COUTURIER; BESERRA, 2003). No que diz respeito às espécies do gênero *Oenocarpus* não há relatos sobre estudos dessa natureza.

2.3 A citogenética e sua importância em vegetais

A citogenética é a área da biologia que visa o estudo dos cromossomos, seu comportamento durante as divisões celulares, a sua morfologia, estrutura, quantidade, entre outros aspectos (GUERRA, 2000).

Embora existam abordagens citogenéticas mais sofisticadas, como os bandeamentos DAPI, CMA, FISH e GISH (MORAES, 2007), que marcam regiões específicas do genoma, as metodologias clássicas, como estudo de cariótipo, coloração convencional e bandeamentos não fluorescentes, continuam sendo de grande relevância para muitas espécies, pois esses estudos fornecem informações importantes acerca de sua evolução (ÉDER-SILVA; FELIX; BRUNO, 2007). Segundo Ortolani, Mataqueiro e Moro (2007), as análises cariotípicas são procedimentos importantes na diferenciação de taxa relacionados, principalmente onde as características fenotípicas não são suficientes para discriminá-los. Nas últimas décadas, muitos estudos cariológicos foram desenvolvidos e forneceram informações fundamentais para a área de sistemática de plantas e análises evolutivas (STACE, 2000).

Apesar da importância para a taxonomia, poucas espécies de angiospermas descritas têm seu número cromossômico conhecido (BENNETT, 1998), além de que muitos dos relatos encontrados na literatura podem ser incertos por terem sido baseados em poucos dados, como por exemplo, provenientes de uma única população ou mesmo de uma única planta (BALDISBERGER; WIDMER, 2009). Esses autores ainda destacam

que tais eventos reduzem a utilidade dos resultados, principalmente em grupos com taxonomia confusa e/ou naqueles em que há freqüentes variações quanto ao número cromossômico. Para que um estudo cariotípico forneça dados confiáveis, Stace (2000) propõe que três condições devem ser atendidas: i) as plantas investigadas devem ser oriundas de populações silvestres conhecidas; ii) haver espécimes catalogados em herbário; iii) a contagem deve ser realizada em várias plantas de populações distintas.

Os cromossomos podem ser avaliados em células em divisão meiótica ou mitótica, dependendo do objetivo do estudo. Quando vistos em metáfase de células em divisão mitótica, os cromossomos apresentam uma forma característica que possibilitam ser analisados, medidos e utilizados para identificação individual dos pares cromossômicos. Esta forma característica é devido ao comprimento do DNA e posição diferencial da constrição primária, o centrômero (RÖSER, 1999). Dessa forma, as características mais evidentes e utilizadas em estudos de cariótipo são a posição do centrômero, o número e tamanho dos cromossomos, mas ainda é possível analisar os cromossomos pela quantidade de DNA, tamanho do centrômero, largura do cromossomo e outros parâmetros que, por serem mais trabalhosos, são menos empregados (GUERRA, 1988). O número, assim como a morfometria dos cromossomos são características amplamente usadas em estudos de citotaxonomia, que juntamente com outras características citológicas, ajudam no entendimento de variações genéticas envolvidas na evolução de um determinado grupo, na delimitação taxonômica mais clara de espécies, como também na caracterização de genomas de plantas e de animais, incluindo a espécie humana (BALTISBERGER; WIDMER, 2009).

Como ferramenta de análise de biodiversidade, a taxonomia clássica baseia-se, em geral, apenas em caracteres morfológicos. No entanto, informações citogenéticas têm contribuído de forma complementar e até mesmo de forma decisiva na confirmação ou reformulação de dados

taxonômicos com base em dados cromossômicos, pois tratam de um caráter bem conservado nas espécies ao longo da evolução (BAEZA; RUIZ; NEGRITTO, 2010; BARELLA; KARSBURG, 2007; MORAES, 2007). Röser (1995), analisando os mecanismos de disploidia envolvidos na família *Arecaceae*, identificou que as diferenças no número cromossômico encontrado nos três gêneros da tribo *Corypheeae*, *Licuala*, *Jonhannesteijsmannia* e *Livistona*, são devido à ocorrência de aneuploidia. Isto foi verificado por meio de estudos do cariótipo, padrão de bandeamento C, DAPI, AgNO₃-, análise da intérfase e prófase, além da quantidade de DNA nuclear. Os gêneros apresentaram diferenças marcantes na estrutura cariotípica, variação na classificação do tipo de núcleo (de semi-reticulado a arreticulado), entretanto as quantidades de DNA e área por cromossomos foram apenas sutilmente diferentes entre os gêneros, sugerindo, então que a aneuploidia foi o principal mecanismo envolvido na diferenciação dos gêneros desta tribo.

Estudos cariotípicos são também de grande valia na caracterização de bancos de germoplasma, para programas de estratégias de conservação de espécies ameaçadas de extinção e em trabalhos de melhoramento vegetal (AULER; BATTISTIN; REIS, 2006; KARSBURG; BATTISTIN, 2006). Cardoso et al. (2009) utilizaram informações de contagem cromossômica e viabilidade de pólen associada a obtenção de sementes por meio da hibridação artificial para verificar a possibilidade de cruzamento entre acessos não comerciais e cultivares de *Gerbera* spp. Neste trabalho não houve diferenciação no número de cromossomos entre as amostras envolvidas, mas foi verificada diferenças na viabilidade de pólen e na obtenção de sementes, de forma que os híbridos envolvendo acessos não comerciais e cultivares foram considerados viáveis e demonstrou a possibilidade de obtenção de novas combinações alélicas e transferência de caracteres desejáveis. Dentro desse contexto, o emprego de técnicas de bandeamento, que diferenciam longitudinalmente os cromossomos, permite

a construção de mapas físicos dos cromossomos de uma espécie, além de possibilitar a identificação e a caracterização individual destes, por meio do número e/ou posição das bandas nos respectivos cromossomos (MORAES, 2007).

Existem vários relatos na literatura sobre estudos citogenéticos envolvendo espécies de palmeiras, no entanto, os trabalhos mais expressivos, em termos de quantidade de taxa envolvidos e metodologias empregadas, são os mais antigos (ANUNCIACÃO FILHO, 1986; CORRÊA et al., 2009; OLIVEIRA, 2011; OLIVEIRA et al., 2008a, 2008b; READ, 1965, 1966; RÖSER, 1993, 1994, 1995, 1999, 2000; RÖSER; JOHNSON; HANSON, 1997).

Röser (1995) cita que informações cromossômicas para palmeiras estão disponíveis para cerca de 100 gêneros, com trabalhos envolvendo espécies de todas as subfamílias e de grande parte das tribos e subtribos. Enquanto para alguns gêneros se encontram apenas informações acerca do número cromossômico, como em *Oenocarpus*, para outros como *Coccothrinax*, *Phoenix* e *Johannesteijsmannia* existem trabalhos com de caracterização citogenética que vai além do estudo do cariótipo, envolvendo bandeamentos com fluorocromos, estudos sobre o núcleo interfásico, inferências sobre alterações cromossômicas envolvidas na diferenciação de espécies, além de estudos meióticos para confirmação do número cromossômico haploide. Entretanto, informações como o número básico de cromossomos na família continuam apenas no âmbito das hipóteses. De acordo com este mesmo autor, as tendências na evolução das palmeiras sugerem $x = 18$ como número básico, visto que na maioria das espécies mais primitivas o número diploide comumente encontrado é de $2n = 36$ cromossomos, tido então como o original (MOORE; UHL, 1973). Porém, os números diploides já relatados para espécies de palmeiras variam de $2n = 26$ a 36 cromossomos, sendo este comum para integrantes de uma mesma tribo ou subtribo (RÖSER, 1995).

Recentemente foi realizado um estudo de caracterização cariológica de cinco espécies do gênero *Butia*, onde foi encontrado o mesmo número cromossômico em células somáticas para as espécies estudadas, $2n=2x=32$ (CORRÊA et al., 2009). Tais resultados suportam as hipóteses sugeridas para a variação numérica existente dentro desta família, além de sugerir tratar-se de espécies mais derivadas deste grupo. Este mesmo autor cita um relato de $2n = 16$, que seria resultado de artefato da técnica. Oliveira (2011), estudando espécies do gênero *Euterpe* encontrou o mesmo número cromossômico para *E. edulis*, *E. precatória* e *E. oleracea*, $2n = 36$ cromossomos. No entanto, constatou diferenças significativas entre essas espécies para a posição de satélite, comprimento total do lote haploide e quantidade de DNA, possibilitando diferenciá-las.

Apesar da importância desse tipo de estudo há várias espécies de palmeiras de ocorrência no Brasil que ainda possuem pouca ou nenhuma informação a respeito de seu cariótipo, como é o caso das espécies do gênero *Oenocarpus*, que apresenta apenas a determinação do número de cromossomos para a espécie *O. bataua*, $2n=36$ (RÖSER; JOHNSON; HANSON, 1997). Este mesmo problema é citado em trabalhos recentes de estudos citogenéticos com espécies de outras famílias (ALVES; FELIX, 2007; AULER; BATTISTIN; REIS, 2006; BARELLA; KARSBURG, 2007; CORRÊA et al., 2009; DAHMER; WITTMANN; KAMINSKI, 2009; SILVEIRA et al., 2006).

2.4 Uso da citometria de fluxo como auxílio em estudos citológicos

Sabe-se que a maior parte do DNA dos eucariontes está presente no núcleo das células. A quantidade de DNA nuclear de um dado organismo é normalmente referida como valor C (BENNET; LEITCH, 1995) e expressa o tamanho do genoma, ou seja, a quantidade de material genético existente no

lote haplóide. O valor C possui significado biológico fundamental e o conhecimento de seu valor pode ser útil em vários campos, como biologia molecular e celular, ecologia, fitogeografia e sistemática (BENNET; LEITCH, 1995; DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005).

A citometria de fluxo foi originalmente desenvolvida, no fim dos anos 50, para a contagem e análise de células sanguíneas (CÔRTE-REAL et al., 2002). Com a evolução da técnica e o aparecimento de novos marcadores fluorescentes sua utilização foi generalizada para outras áreas e com outras células, como as vegetais e as microbianas. Apesar da utilização da citometria de fluxo em células vegetais ter ocorrido apenas no início dos anos 80, o número de aplicações tem aumentado continuamente (DOLEŽEL, 1997). Associada a outras técnicas citológicas, a citometria de fluxo é considerada uma ferramenta muito importante para o estudo de vegetais, pois permite detectar pequenas diferenças na quantidade de DNA das espécies.

A análise por citometria de fluxo do conteúdo em DNA nuclear baseia-se na intensidade de fluorescência relativa emitida pelos núcleos corados com um fluorocromo específico para o DNA. A amostra a ser analisada tem de se encontrar na forma de uma suspensão de partículas individuais (DOLEŽEL, 1997). Várias metodologias têm sido desenvolvidas para liberar núcleos intactos de células vegetais. Entretanto, o método clássico desenvolvido por Galbraith et al. (1983) continua a ser o mais utilizado, devido sua simplicidade e rapidez, demonstrando excelentes resultados para muitas espécies vegetais (DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005).

Como vantagens, a citometria de fluxo apresenta a facilidade de preparação das amostras, a rapidez na obtenção dos resultados, não necessita que as células estejam em divisão e nem em um estágio específico, não danifica as células e é capaz de identificar indivíduos mixoplóides. Por essas razões, é uma metodologia amplamente utilizada em diversas áreas, indo da

investigação básica (estimativa de ploidias) até em estudos de melhoramento genético de plantas (DOLEŽEL, 1997).

Em espécies vegetais as principais aplicações desta técnica envolvem a análise de ploidia, a detecção de alterações numéricas e a estimativa do tamanho do genoma (BENNETT; LEITCH, 2005; DOLEŽEL; BARTOŠ, 2005; LOUREIRO, 2007). Entretanto, pode também ser utilizada em estudos de determinação do sexo em uma determinada fase do desenvolvimento, em análises de genotoxicidade, em estudos sobre o ciclo celular de uma determinada espécie, na análise e separação de cromossomos, entre outros (LOUREIRO; SANTOS, 2002).

Em espécies de palmeiras Röser, Johnson e Hanson (1997) estimaram a quantidade de DNA para 83 espécies, de forma que abrangeram as seis subfamílias que constituem *Arecaceae*. No entanto, estes autores utilizaram outra metodologia para obtenção dessas estimativas, a microdensitometria de núcleos utilizando o corante Feulgen. Neste trabalho 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. Único relato encontrado na literatura utilizando a metodologia de citometria de fluxo para estimativa de conteúdo de DNA é de Oliveira (2011) que confirmou os grupos obtidos para três espécies do gênero *Euterpe* utilizando medidas citogenéticas com os grupos formados por meio das estimativas de tamanho do genoma obtidas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, L. I. F.; FELIX, L. P. Citogenética de espécies de Iridaceae ocorrentes no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 141-143, jul. 2007.
- ANDRADE, I. P. **Frutos de palmeiras na Amazônia**. Manaus: INPA, 2001. 97 p.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **Angiosperm Phylogeny Group System II**. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>>. Acesso em: 24 out. 2010.
- ANUNCIÇÃO FILHO, C. J. **Estudos citogenéticos do Babaçu (*Orbignya spp.*)**. 1986. 48 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1986.
- AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.
- BAEZA, C.; RUIZ, E.; NEGRITTO, M. Comparative karyotypic analysis in the *Alstroemeria hookeri* Lodd. (*Alstroemeriaceae*) complex sensu Bayer (1987). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 1, p. 119-124, 2010.
- BALICK, M. J. **Systematics and economic botany of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex**. New York: New York Botanical Garden, 1986. 140 p. (*Advances in Economic Botany*, 3).
- BALTISBERGER, M.; WIDMER, A. Chromosome numbers and karyotypes within the *Ranunculus alpestris*-group (*Ranunculaceae*). **Organisms Diversity & Evolution**, Berlin, v. 9, n. 3, p. 232-243, Aug. 2009.
- BARELLA, A. P. W.; KARSBURG, I. V. Caracterização morfológica dos cromossomos mitóticos de *Parkia pendula* (WILLD.) BENTH ex WALP. e *Dinizia excelsa* DUCKE (FABACEAE, MIMOSOIDEAE). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 5, n. 1, p. 85-93, 2007.
- BECKMAN, N. G.; MULLER-LANDAU, H. C. Differential effects of hunting on pre-dispersal seed predation and primary and secondary seed removal of two neotropical tree species. **Biotropica**, Saint Louis, v. 39, n. 3, p. 328-339, June 2007.

BELTRATI, C. M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: Instituto de Biociências, 1994. 44 p.

BENNETT, M. D. Plant genome values: how much do we know? **Proceedings National Academy of Science**, Washington, v. 95, n. 5, p. 2011-2016, Mar. 1998.

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 1, p. 113-176, Mar. 1995.

CARDOSO, C. D. et al. Caracterização citogenética, viabilidade de pólen e hibridização artificial em gérbera. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 40-44, jan./abr. 2009.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 3. ed. Belém: CEJUP, 1991. 279 p. (Coleção Adolfo Ducke).

CHAVES, L. S. et al. Caracterização morfológica dos grãos de pólen de quatro espécies de palmeiras da região amazônica: *Astrocaryum gynacanthum* Martius, *Chelyocarpus ulei* Dammer, *Oenocarpus bacaba* Martius e *Mauritia flexuosa* Linnaeus Fillius. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA, 54., 2003, Belém. **Resumos...** Belém: UFRA; EMBRAPA, 2003. 1 CD-ROM.

CORRÊA, L. B. et al. Caracterização cariológica de palmeiras do gênero *Butia* (Arecaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1111-1116, dez. 2009.

CÔRTE-REAL, M. et al. Contributos da citologia analítica para estudos de biologia de leveduras. **Boletim de Biotecnologia**, Póvoa de Santa Iria, v. 71, n. 1, p. 19-33, 2002.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1981. 1262 p.

CYMERSYS, M. *Bacaba*. In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR, 2005. p. 177-180.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach**. New York: Oxford University, 1992. 250 p.

DAHMER, N.; WITTMANN, M. T. S.; KAMINSKI, P. E. Chromosome number and karyotype of the endangered Amazonian woody *Centrolobium*

paraenses Tul. species. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 9, n. 4, p. 382-385, 2009.

DOLEŽEL, J. Applications of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, Olomouc, v. 38, n. 3, p. 285-302, 1997.

DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 99-110, Mar. 2005.

ÉDER-SILVA, E.; FELIX, L. P.; BRUNO, R. L. A. Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 110-114, abr. 2007.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms**. Stockholm: Almquist & Wikseel, 1952. 588 p.

ESTUPIÑÁN-GONZALEZ, A. C.; JIMÉNEZ-ESCOBAR, N. D. Plants use by rural communities in the tropical zone of the Parque Nacional Natural Paramillo (Cordoba, Colombia). **Caldasia**, Bogotá, v. 32, n. 1, p. 21-38, 2010.

GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissue. **Science**, New York, v. 220, n. 4601, p. 1049-1051, June 1983.

GOULDING, M.; SMITH, N. **Palms: sentinels for Amazon conservation**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 2007. 356 p.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, Würzburg, v. 120, n. 3/4, p. 339-350, May 2000.

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142 p.

HARLEY, M. M. Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. **Review of Paleobotanic and Palinology**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 137-147, 1990.

HARLEY, M. M.; BAKER, W. J. Pollen aperture morphology in Arecaceae: application within phylogenetic analyses, and a summary of the fossil record of palm like pollen. **Grana**, Stockholm, v. 40, n. 1, p. 45-77, Feb. 2001.

- HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. New York: Oxford University, 1995. 362 p.
- KALUME, M. A. de A. **Avaliação do comportamento reprodutivo em acessos de bacabizeiro *Oenocarpus mapora* Karsten (Arecaceae)**. 2000. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2000.
- KALUME, M. A. de A.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; CARREIRA, L. M. M. Avaliação do sistema reprodutivo em acessos de bacabinha (*Oenocarpus mapora* Karsten.) em Belém, PA. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, Belém, v. 18, n. 1, p. 85-99, 2002.
- KARSBURG, I. V.; BATTISTIN, A. Meiose e número cromossômico de cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 4, n. 1, p. 47-60, 2006.
- KARUBIAN, J. et al. Destination-based seed dispersal homogenizes genetic structure of a tropical palm. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 19, n. 8, p. 1745-1753, Aug. 2010.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Fort Collins: Colorado University, 1993. 583 p.
- KÜCHMEISTER, H. et al. A polinização e sua relação com a termogênese em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 28, n. 3, p. 217-245, 1998.
- LEONHARDT, A.; LORSCHBITTER, M. L. Palinomorfos do perfil sedimentar de uma turfeira em São Francisco de Paula, Planalto Leste do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 47-59, jan./mar. 2007.
- LLERAS, E.; GIACOMETTI, D. C.; CORADIN, L. Áreas críticas de distribución de palmas en las Americas para colecta, evaluación y conservación. In: INFORME DE LA REUNIÓN DE CONSULTA SOBRE PALMERAS POCO UTILIZADAS DE AMERICA TROPICAL, 1., 1983, Turrialba. **Annales...** Turrialba: FAO, 1983. p. 67-101.
- LOUREIRO, J.; SANTOS, C. Aplicação da citometria de fluxo ao estudo do genoma vegetal. **Citeseer**, University Park, v. 77, p. 18-29, 2002.
- LOUREIRO, J. C. M. **Flow cytometric approaches to study plant genomes**. 2007. 122 p. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade de Aveiros, Aveiros, 2007.

MELHEM, T. S. **Palinologia**: suas implicações e perspectivas no Brasil. São Paulo: Museu Paulista, 1978. v. 2, 368 p. (Coleção Museu Paulista, Série Ensaio).

MENDONÇA, M. S. et al. Morfo-anatomia do fruto e semente e *Oenocarpus minor* Mart. (ARECACEAE). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 90-95, jan./mar. 2008.

MILLER, C. Fruit production of the Ungarahua Palm (*Oenocarpus bataua*, Arecaceae) in an indigenous manage reserve. **Economic Botany**, New York, v. 56, n. 2, p. 165-176, 2002.

MIRANDA, I. P. de A. **Estudos de alguns parâmetros biológicos, químicos e bioquímicos do pólen da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) Arecaceae**. 1993. 152 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1993a.

_____. Importância da conservação *in vitro* do pólen da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) Arecaceae para o melhoramento genético. In: FERREIRA, E. J. G. et al. (Ed.). **Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia**: fatos e perspectivas. Manaus: SCT/INPA, 1993b. v. 2, p. 361-371.

MIRANDA, I. P. de A.; ABSY, M. L.; CLEMENT, C. R. Pollen morphology of *Bactris gasipaes* Kunth (Palmae). In: HENDERSON, A.; BORCHSENIUS, F. (Ed.). **Evolution, variation, and classification of palms**. New York: Botanical Garden, 1999. p. 237-243. (Memoirs of the New York Botanical Garden, 83).

MIRANDA, I. P. de A. et al. Analyse multiparamétrique de la composition minérale des pollens d'une population de *Bactris gasipaes* (Arecaceae). **Grana**, London, v. 34, n. 6, p. 434-440, 1995.

MONTUFAR, R. et al. *Oenocarpus bataua* Mart. (Arecaceae): rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, Chicago, v. 87, n. 2, p. 167-172, Apr. 2010.

MONTUFAR, R.; PINTAUD, J. C. Variation in species composition, abundance and microhabitat preferences among western Amazonian terra firme palm communities. **Botanical Journal of the Linnean Society**, New York, v. 151, n. 1, p. 127-140, 2006.

MOORE, H. E.; UHL, N. W. Palms and the origin and evolution of monocotyledons. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 48, p. 414-436, 1973.

MORAES, I. C. R. **Caracterização citogenética da biologia reprodutiva de três espécies do gênero *Hypericum* L. (Clusiaceae)**. 2007. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2007.

NASCIMENTO, A. R. T. et al. Palm communities in the kraho indigenous territory, Tocantins, Brazil: biodiversity and ethnobotanical features. **Interciencia**, Caracas, v. 34, n. 3, p. 182-188, 2009.

NUNEZ-AVELLANEDA, L. A.; ROJAS-ROBLES, R. Reproductive biology and pollination ecology of the milpesos palm *Oenocarpus bataua* in the Colombian Andes. **Caldasia**, Bogotá, v. 30, n. 1, p. 101-125, 2008.

OLIVEIRA, J. F. de. **Viabilidade polínica e propagação *in vitro* de *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith**. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

OLIVEIRA, L. C. **Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe***. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

OLIVEIRA, M. do S. P. *Oenocarpus bacaba* Martius. In: CORADIN, L. (Ed.). **Plantas para o futuro: região Norte**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2012a. No prelo.

_____. *Oenocarpus distichus* Martius. In: CORADIN, L. (Ed.). **Plantas para o futuro: região Norte**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2012b. No prelo.

_____. *Oenocarpus mapora* Karsten. In: CORADIN, L. (Ed.). **Plantas para o futuro: região Norte**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2012c. No prelo.

_____. *Oenocarpus minor* Martius. In: CORADIN, L. (Ed.). **Plantas para o futuro: região Norte**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2012d. No prelo.

OLIVEIRA, M. do S. P.; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart) em Belém, Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 343-353, 2003.

OLIVEIRA, M. do S. P.; MAUÉS, M. M.; KALUME, M. A. de A. Viabilidade de póen in vivo e in vitro em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 27-33, 2001.

OLIVEIRA, N. P. de et al. Contagem cromossômica em *Astrocaryum vulgare* Mart. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 2008, Brasília. **Resumos...** Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008a. v. 1, p. 180.

_____. Determinação do número cromossômico em espécies do complexo *Oenocarpus/Jessenia*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 2008, Brasília. **Resumos...** Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008b. v. 1, p. 180.

ORTOLANI, F. A.; MATAQUEIRO, M. F.; MORO, J. R. Caracterização citogenética em *Schlumbergera truncata* (Haworth) Moran e *Schlumbergera x buckleyi* (T. Moore) Tjaden (Cactaceae). **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 361-367, 2007.

OSTROROG, D. R. V.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Geonoma brevispatha* Barb. Rodr. (Arecaceae) em mata de galeria inundável em Uberlândia, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 479-488, jul./set. 2009.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed. rev. e atual. Belém: Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 66 p.

READ, R. W. Chromosome numbers in the Coryphoidea. **Cytologia**, Tokyo, v. 30, p. 385-391, 1965.

_____. New chromosome counts in palms. **Principes**, Lawrence, v. 28, p. 20-30, 1966.

RODRIGUES, A. M. D. et al. Fatty acid profiles and tocopherol contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 21, n. 10, p. 2000-2004, 2010.

RODRÍGUEZ, S. M. Variaciones en la morfología polínica de Arecaceae en Cuba: abertura tricotomosulcada y estratificación de la exina. **Revista del Jardín Botánico Nacional**, Havana, v. 24, n. 1, p. 71-79, 2003.

ROJAS-ROBLES, R.; STILES, F. G. Analysis of a supra-annual cycle: reproductive phenology of the palm *Oenocarpus bataua* in a forest of the

Colombian Andes. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 25, n. 1, p. 41-51, Jan. 2009.

RÖSER, M. Chromosome structures and karyotype rearrangement in Palms (Palmae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, n. 83, p. 61-71, 1999.

_____. DNA amounts and qualitative properties of nuclear genomes in palms (Arecaceae). In: WILSON, K. L.; MORRISON, D. A. (Ed.). **Monocots: systematics and evolution**. Melbourne: CSIRO, 2000. p. 538-544.

_____. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Vienna, v. 189, n. 1, p. 83-122, 1994.

_____. Trends in the karyo-evolution of palms. In: KEW CHROMOSOME CONFERENCE, 4., 1995, Kew. **Proceedings...** Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. p. 249-265.

_____. Variation and evolution of karyotype characters in palm subfamily Coryphoideae Sl. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 106, n. 2, p. 170-182, 1993.

RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA amounts in palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1997.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1973. 291 p.

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

SILVA, R. A. M. da et al. Emergência e crescimento de plântulas de bacabi (*Oenocarpus mapora* Karsten) e bacaba (*Oenocarpus distichus* Mart.) e estimativas de parâmetros genéticos. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 3, p. 601-608, 2009.

SILVEIRA, F. T. et al. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero *Myrciaria*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 327-333, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental resource for the 20th and 21th centuries. **Taxon**, Utrecht, v. 49, p. 451-477, Aug. 2000.

THANIKAIMONI, G. **Contribution à l' étude palynologique des palmiers**. Paris: Institut Français de Pondichéry, 1966. tome 5, 20 p.

VALLS, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV, 1988. p. 106-128.

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

ZAMBRANA, N. Y. P. et al. Diversity of palm uses in the western Amazon. **Biodiversity and Conservation**, Bengaluru, v. 16, n. 10, p. 2771-2787, Oct. 2007.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

**MORFOLOGIA E VIABILIDADE POLÍNICA EM ESPÉCIES DE
Oenocarpus Mart.**

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a morfologia e a viabilidade de grãos de pólen em espécies do gênero *Oenocarpus* Mart. Foram utilizados grãos de pólen de cinco espécies (*O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*), retirados ao acaso de inflorescência recém-abertas de quatro plantas por espécie, conservadas *in vivo* no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Pará, Brasil. Para avaliar a morfologia, os grãos de pólen foram preparados segundo o método acetolítico e analisados sob microscopia de luz e eletrônica de varredura. Para a viabilidade, foi utilizada a técnica de esmagamento das anteras em ácido acético 45% sob microscópio estereoscópio, seguida da coloração com reativo de Alexander. As cinco espécies apresentaram grãos de pólen com variações morfológicas consideráveis para as características avaliadas, principalmente *O. minor*, sendo que dois tipos ocorreram com maior frequência. O tipo monocolpado foi registrado em todas as espécies, o tricotomolpado, em quatro delas, enquanto que *O. minor* apresentou também o tipo 4-cotomolpado. De um modo geral, os grãos de pólen foram mônades, heteropolares, com simetria bilateral e de tamanho médio, exceto em dois tipos polínicos de *O. minor* classificados como grandes. Para a viabilidade, foi detectada diferença significativa para porcentagem de grãos de pólen viáveis ($P \leq 0,01$) entre espécies e entre plantas dentro das espécies *O. bacaba* e *O. bataua*, mas a média de grãos de pólen viáveis foi alta para todas. Portanto, as cinco espécies do gênero *Oenocarpus* estudadas possuem grande diversidade polínica e alta viabilidade polínica, o que leva a crer que a morfologia polínica pode ser utilizada como auxílio na diferenciação taxonômica dessas espécies.

Palavras-chave: Citologia, Taxonomia, Palinologia, Arecaeae, Amazônia, Palmeiras.

ABSTRACT

The work aimed to evaluate the morphology and the viability of pollen grains in species of the genus *Oenocarpus* Mart. Pollen grains of five species were used (*O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* and *O. minor*), taken at random from recently opened inflorescence of four plants per species, which are conserved in the Active Germplasm Bank from Embrapa Eastern Amazon, in Belém, Pará, Brazil. For morphology study, the pollen grains were prepared according to the acetolytic method and were examined under light and scanning electron microscopy. For viability, we use the technique of crushing the anthers in 45% acetic acid under stereoscopic microscope, followed by the color reaction with Alexander's reagent. The five species presented pollen grains with considerable morphological variations considering the appraised characteristics, mainly *O. minor*, and two types occurred more frequently. The monocolpate type was registered in all the species, the trichotomocolpate one in four of them, while *O. minor* also presented pollen grains 4-chotomocolpate. In general, the pollen grains were monad, heteropolar, with bilateral symmetry and of medium size, except in two pollinic types of *O. minor* classified as large. For viability, significant difference was detected for percentage of viable pollen grains ($P \leq 0.01$) among species and among plants within species *O. bacaba* and *O. bataua*. However, the average percentage of viable pollen was high for all. Therefore, the five species of *Oenocarpus* studied possess high pollinic diversity and high pollinic viability, what suggests that the pollinic morphology can be used as an auxiliary parameter in the taxonomic differentiation of these species. The high pollinic viability indicates a great potential for fertilization.

Key words: Citology, Taxonomy, Palynology, Arecaeae, Amazonian, Palms.

1 INTRODUÇÃO

As palmeiras constituem a família Arecaceae (=Palmae) representadas por plantas de grande importância ao homem, fornecendo ampla variedade de produtos (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; VILLACHICA et al., 1996). Dentre os gêneros que ocorrem no Brasil, *Oenocarpus* Mart., destaca-se pela expressão sócio econômica à população local da região Amazônica (BALICK, 1986). Este gênero encontra-se constituído por nove espécies, das quais apenas *O. makeru* e *O. simplex* não têm ocorrência no Brasil (PLANT..., 2012). De forma geral, todas as partes da planta têm utilidade. Entretanto, é dos frutos e das sementes dessas espécies que se obtém um azeite, muito utilizado pela população local, cuja composição química e sabor são similares ao azeite de oliva (BALICK, 1986; LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; PESCE, 2009; RODRIGUES et al., 2010; VILLACHICA et al., 1996). Seus frutos também são utilizados para a obtenção de uma polpa rica em proteínas e que representa seu maior potencial econômico, sendo utilizada na culinária local para a preparação de refrescos, vinhos, sorvetes e picolés (ESTUPIÑÁN-GONZALEZ; JIMÉNEZ-ESCOBAR, 2010; MONTÚFAR et al., 2010).

Apesar do potencial econômico demonstrado por essas espécies, nenhuma se encontra domesticada e as informações disponíveis na literatura ainda são escassas, constituindo fatores limitantes para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético. Na Embrapa Amazônia Oriental há Bancos de Germoplasma contendo representantes de cinco espécies deste gênero, *O. bacaba* Mart., *O. bataua* Mart., *O. distichus* Mart., *O. mapora* Karsten e *O. minor* Mart, os quais foram coletados em várias localidades e que são conservados na forma *in vivo*. Entretanto, para que o germoplasma dessas espécies sejam utilizados devem ser caracterizados e avaliados sob vários aspectos.

Dentro dessa perspectiva, informações acerca da morfologia e viabilidade polínica possibilitam um melhor entendimento da evolução das espécies, auxiliam estudos de conservação e de taxonomia, além de fornecerem importantes informações para bancos de germoplasma, viabilizando futuros programas de melhoramento (SOARES et al., 2011; WALKER; DOYLE, 1975).

A morfologia dos grãos de pólen de palmeiras vem sendo estudada desde o início do século passado, e existe alguns relatos preliminares sobre duas espécies deste gênero *O. mapora* e *O. bataua* (BALICK, 1986; SOWUNMI, 1972; THANIKAIMONI, 1970). Porém, não há informação na literatura sobre demais espécies conservadas nesses Bancos de Germoplasma.

Alguns trabalhos envolvendo a viabilidade polínica de espécies de palmeiras já foram desenvolvidos (OLIVEIRA; COUTURIER; BESERRA, 2003; OLIVEIRA; MAUÉS; KALUME, 2001; OSTROROG; BARBOSA, 2009). Mas, para as espécies do gênero *Oenocarpus*, há relatos apenas para *O. mapora* (KALUME, 2000).

Com vista a auxiliar na caracterização das espécies desse gênero, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a morfologia e a viabilidade polínica de *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus*, *O. mapora* e *O. minor*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de pólen obtidos de botões florais em pré-antese retirados ao acaso de ráquulas de uma inflorescência recém aberta de quatro genótipos, representantes de cinco espécies do gênero *Oenocarpus* (*O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*) conservadas *in vivo* no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Pará, Brasil (Tabela 1). As coletas foram realizadas durante o período de florescimento de cada espécie, as quais ocorreram por volta das 9:00 horas da manhã. Após a coleta as ráquulas foram cortadas, colocadas em recipientes de vidro contendo solução fixadora de Carnoy (3 álcool etílico: 1 ácido acético), armazenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e enviadas ao Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de Lavras, Lavras –MG, onde foram estocadas sob as mesmas condições até a realização das análises citológicas.

Para a análise da morfologia polínica as amostras foram preparadas segundo o método acetolítico de Erdtman (1952). Para cada espécie foram retiradas as anteras de dois botões florais escolhidos ao acaso de quatro genótipos diferentes e colocados em um microtubo. As lâminas foram preparadas utilizando gelatina glicerinada e em seguida avaliadas em microscópio de campo claro, equipado com microcâmera para a digitalização das imagens.

Foram mensurados o diâmetro menor (d) ou equatorial (E) e o diâmetro maior (D) ou polar (P), de acordo com o tipo polínico, e a espessura da exina de 40 grãos de pólen, para cada tipo encontrado por espécie (Figura 1). As medidas dos grãos de pólen foram realizadas com o auxílio do programa Image Tool 3.0 da UTHSCA (The University of Texas Health Science in San Antonio). Foi estabelecida a relação P/E para os grãos de pólen por meio da qual foram classificados os tipos polínicos. O tamanho do grão de pólen foi determinado a partir da medida do diâmetro maior ou polar com base na terminologia adotada por Walker e Doyle (1975).

Tabela 1 Identificação das plantas fornecedoras dos grãos de pólen para as análises de morfologia e viabilidade polínica de cinco espécies do gênero *Oenocarpus* conservadas no Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental.

Espécie	Identificação (BAG)	Nome comum	Procedência
<i>O. bacaba</i>	31013-3	Bacabão	Terra Santa - PA
	61025-02	Bacabão	Oiapoque – AP
	61013-05	Bacabão	Porto Grande - AP
	61006-1	Bacabão	Mazagão – AP
<i>O. bataua</i>	22024-3	Patauí	Monte Alegre - PA
	22013-4	Patauí	Confiança – RR
	22023-5	Patauí	Serra do Aracá - RR
	22001-4	Patauí	Apiaú – RR
<i>O. mapora</i>	899-1	Bacaby	Abaetetuba - PA
	858-1	Bacaby	Abaetetuba - PA
	11006-3	Bacaby	Rio Branco - AC
	11007-8	Bacaby	Cruzeiro do Sul - AC
<i>O. distichus</i>	31001-2	Bacaba-de-leque	Juruti – PA
	31030-5	Bacaba-de-leque	Oriximiná – PA
	31006-5	Bacaba-de-leque	Oriximiná – PA
	21004-4	Bacaba-de-leque	Prainha – PA
<i>O. minor</i>	31023-4	Bacabinha	Terra Santa - PA
	31020-2	Bacabinha	Terra Santa - PA
	31015-2	Bacabinha	Terra Santa - PA
	31017-4	Bacabinha	Terra Santa - PA

O tipo polínico foi determinado de acordo com o número de aberturas apresentada pelos grãos de pólen. Essas aberturas foram consideradas como sendo colpos, uma vez que a terminologia sulco ou colpo

é proveniente do local de ocorrência da abertura, se no pólo ou equador do grão de pólen, respectivamente, e que segundo Walker e Doyle (1975) é determinada pelo posicionamento dos meiócitos dentro da tétrade. Ainda segundo esses autores, na ausência de seu conhecimento deve-se utilizar o termo *colpado*. À medida que não foram encontrados trabalhos que descrevessem o posicionamento dos meiócitos com suas respectivas aberturas dentro da tétrade para as espécies estudadas, utilizou-se o termo *colpado*.

Nas amostras processadas para microscopia eletrônica de varredura (MEV) as anteras foram lavadas três vezes por dez minutos em tampão cacodilato de sódio (0,1M) e pós fixadas em tetróxido de ósmio (1 %) por uma hora em temperatura ambiente. Passado este período foram lavadas por três vezes em água destilada e desidratadas em gradiente de acetona de 25 %, 50 %, 75 %, 90 % e 100 % sendo esta última realizada duas vezes e tendo cada etapa a duração de 10 min. Em seguida foram levadas ao aparelho de ponto crítico (CPD 030). Na seqüência os grãos de pólen foram retirados e colocados sobre *stubs* e levados ao evaporador de ouro (SCD 050). As imagens foram obtidas em aparelho MEV-LEO-EVO40.

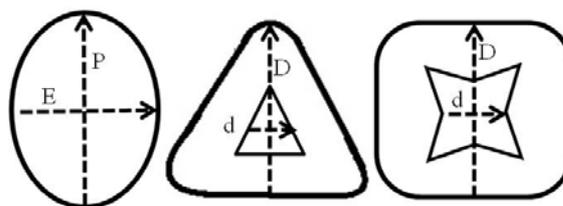


Figura 1 Esquema das medidas utilizadas para caracterizar os grãos de pólen das espécies do gênero *Oenocarpus*.

Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen foram retiradas anteras de botões florais selecionados ao acaso das ráquulas das quatro

amostras utilizadas para avaliação da morfologia polínica para cada espécie. Utilizou-se a técnica de esmagamento das anteras em ácido acético 45 % sob microscópio estereoscópio, seguida da coloração com reativo de Alexander (verde malaquita + fucsina ácida) (ALEXANDER, 1980). As lâminas foram deixadas em câmara úmida por aproximadamente 12h para melhor fixação da coloração. Foram preparadas cinco lâminas por planta para cada espécie. As lâminas foram observadas em microscópio de campo claro (Leica DMLS), equipado com microcâmera (Nikon Digital Sight DS-Fi1) para digitalização das imagens. Foram avaliados 200 grãos pólen por lâmina, sendo considerados como viáveis os pólenes que apresentaram coloração roxa com distribuição homogênea, os de coloração verde foram classificados como inviáveis. A porcentagem de grãos de pólen viáveis foi obtida pela razão do número de grãos viáveis/número de grãos contados, multiplicado por 100. Os dados foram submetidos à análise estatística considerando o modelo hierárquico com 20 grupos (5 espécies e 4 plantas) e cinco repetições, realizada no software Genes (CRUZ, 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grãos de pólen avaliados nas cinco espécies do gênero *Oenocarpus* apresentaram variações para as características morfológicas avaliadas e foram bastante distintos, sendo separados em tipos, com maior frequência de dois tipos: o monocolpado e o tricotomolcopado. O tipo monocolpado foi registrado nas cinco espécies e apresentou alta variação nas medidas para *O. minor*, com basicamente três tamanhos (Tabela 2). No caso do tipo tricotomolcopado este ocorreu em quatro espécies, exceto em *O. bataua* (Tabela 3).

Tabela 2 Estatística descritiva para diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE), expressos em μm , em grãos de pólen do tipo monocolpado presentes nas cinco espécies de *Oenocarpus*.

Espécie	Monocolpado					
	Média		Desvio Padrão		Intervalo de confiança	
	DE	DP	DE	DP	DE	DP
<i>O. bacaba</i>	32,20	49,38	2,04	3,10	$\pm 0,63$	$\pm 0,96$
<i>O. bataua</i>	31,85	42,09	3,74	3,18	$\pm 1,16$	$\pm 0,99$
<i>O. distichus</i>	26,71	38,33	3,34	2,84	$\pm 1,03$	$\pm 0,88$
<i>O. mapora</i>	26,57	39,50	2,87	4,38	$\pm 0,89$	$\pm 1,36$
<i>O. minor</i>	35,61	50,58	4,07	5,11	$\pm 1,26$	$\pm 1,58$
<i>O. minor</i>	36,84	53,95	3,04	4,86	$\pm 0,94$	$\pm 1,51$
<i>O. minor</i>	38,84	48,72	3,16	3,66	$\pm 0,98$	$\pm 1,13$

De um modo geral, os grãos de pólen foram classificados como mônades, heteropolares, com simetria bilateral e de tamanho médio, exceto dois tipos polínicos presentes em *O. minor* que foram classificados como grandes, possuindo tamanho médio de 50,58 e 53,95 μm (Tabelas 2 e 3). Os

menores grãos de pólen ocorreram na espécie *O. mapora*, enquanto os maiores em *O. minor*. Dentro da família Arecaceae há, de acordo com a literatura, grande variação para o tamanho dos grãos de pólen (CASSINO; MEYER, 2011; CHAVES, 2006; HARLEY; DRANSFIELD, 2003; MACEDO; SOUZA; BAUERMANN, 2009; RANGEL; BOGOTÁ; JIMÉNEZ, 2001).

Tabela 3 Estatística descritiva para diâmetro maior (D) e diâmetro menor (d), expressos em (μm), em grãos de pólen tipo tricotomocolpado presentes nas cinco espécies de *Oenocarpus*.

Espécie	Tricotomocolpado					
	Média		Desvio Padrão		IC	
	D	D	d	D	D	D
<i>O. bacaba</i>	4,03	43,22	1,43	3,44	$\pm 0,44$	$\pm 1,07$
<i>O. bataua</i>	-	-	-	-	-	-
<i>O. distichus</i>	5,54	30,90	1,25	2,42	$\pm 0,39$	$\pm 0,75$
<i>O. mapora</i>	3,14	33,54	1,16	2,60	$\pm 0,36$	$\pm 0,81$
<i>O. minor</i>	6,77	44,17	2,59	3,37	$\pm 0,81$	$\pm 1,05$

Oliveira (2011), estudando a palinologia de três espécies do gênero *Euterpe* Mart., *E. edulis* Mart., *E. oleraceae* Mart. e *E. precatória* Mart., classificaram os grãos de pólen como de tamanho médio, bem como Martins, Miranda e Nunes (2003) que estudando a morfologia polínica de populações de *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés, o caiaué, classificaram os grãos de pólen dessa espécie como médio, e apresentando variação de 42,5 a 49 μm entre as populações. Esses mesmos autores citam que em trabalhos anteriormente desenvolvidos com espécies da família Arecaceae foram descritos grãos de pólen com tamanho dentro da faixa de variação para tamanho médio.

Entretanto, Roubik e Moreno (1991), trabalhando também com *E. oleifera* e Bauermann et al. (2010), estudando a diferenciação polínica de cinco gêneros de palmeiras, *Butia* Becc., *Euterpe*, *Geonoma* Willd., *Syagrus* Mart. e *Thrillerinax* Mart., encontraram grãos de pólen de tamanho médio a grande.

No que tange a forma e abertura, os grãos de pólen variaram de elípticos a irregularmente elípticos ou piriformes com abertura monocolpada, sendo o colpo contínuo e longo, triangulares com abertura tricotomocolpada ou ainda retangulares com abertura 4-cotomocolpada (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6). Dos tipos monocolpados encontrados, os grãos de pólen foram classificados como prolatos, com exceção da espécie *O. bataua* (Figura 3) e o de formato piriforme de *O. minor* (Figura 6A), que foram classificados como subprolatos. Na espécie *O. bataua* foram encontrados apenas grãos de pólen monocolpados, enquanto que em *O. bacaba*, *O. distichus* e *O. mapora*, ocorreram os tipos monocolpados e tricotomocolpados. Estes dois tipos assemelham-se com os grãos de pólen encontrados para o gênero *Areca* L. (HARLEY; DRANSFIELD, 2003).

Em *O. minor*, além das formas anteriormente citadas ocorreram também grãos de pólen com abertura 4-cotomocolpada, sendo que nesta espécie os de tipo monocolpado exibiram três diferentes formas, podendo ser considerada cada uma como tipos polínicos distintos. Esse fator parece não ser explicado pelo local de coleta das amostras para composição do banco de germoplasma, uma vez que as amostras analisadas de *O. minor* foram oriundas de um mesmo município, Terra Santa (PA).

O termo monocolpado também foi utilizado por Sowunmi (1972) para descrever os tipos polínicos de 120 gêneros de palmeiras. No entanto, Balick (1986) classificou os grãos de pólen das espécies *O. bataua* e *O. mapora* como tendo abertura do tipo monossulcada e tricotomossulcada. Esta diferença de terminologia deve-se a determinação do que seria o eixo polar e equatorial dos grãos de pólen, como já comentado anteriormente.

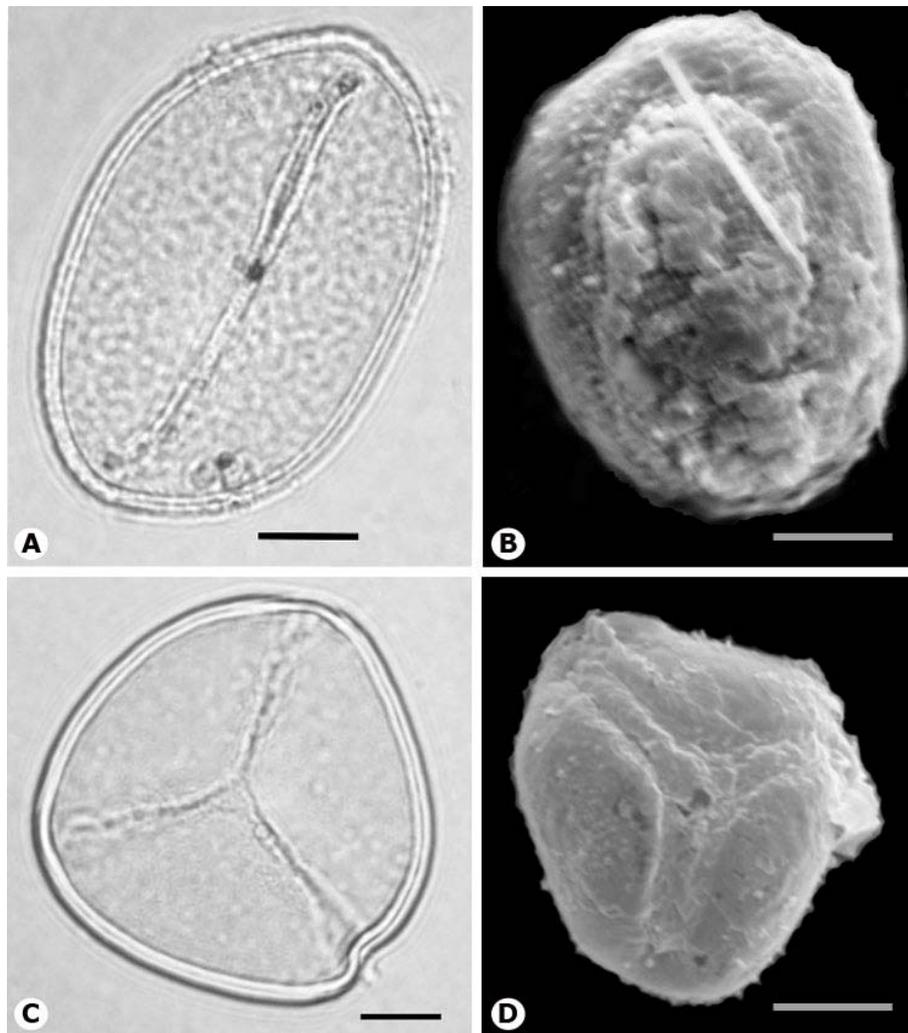


Figura 2 Grãos de pólen da espécie *Oenocarpus bacaba* evidenciando a face apertural. A: grão de pólen monocolpado em acetólise; B: grão de pólen monocolpado em MEV; C: grão de pólen tricotomocolpado em acetólise; D: grão de pólen tricotomocolpado em MEV. Barras equivalem 10 µm.

A ocorrência dos grãos de pólen tricotomocolpados parece ser diferente entre as espécies, sendo mais raros em *O. mapora* e mais frequentes em *O. bacaba* e *O. minor*. Já o tipo monocolpado parece ser menos frequente na espécie *O. minor*. Entretanto, é necessário avaliar os

genótipos separadamente e a frequência de cada tipo polínico para determinar se tal diferença existe.

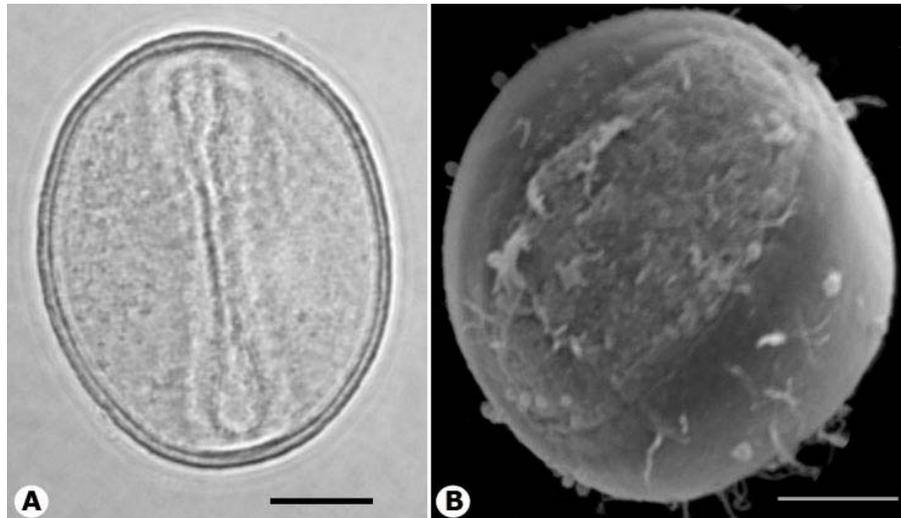


Figura 3 Grãos de pólen monocolpado da espécie *Oenocarpus bataua* evidenciando a face apertural. A: metodologia de acetólise; B: em MEV. Barra equivale 10 μm .

Não há registro na literatura da ocorrência de grãos de pólen com tipo de abertura 4-cotomocolpada em palmeiras, bem como da ocorrência de mais de dois tipos polínicos dentro de uma espécie, como foi verificado em *O. minor*. Barford (1988), investigando a morfologia polínica dos gêneros *Ammadra* O. F. Cook, *Palandra* O. F. Cook e *Phytelephas* Ruiz & Pav., encontraram apenas o tipo monossulcado, com exceção da espécie *A. decasperma* que apresentou principalmente grãos de pólen monoporados. Em estudos desenvolvidos por Chaves (2006) e Martins, Miranda e Nunes (2003), com as espécies *E. oleifera*, *Orbignya phalerata* Mart., respectivamente, foram encontrados os tipos monocolpados e tricotomocolpados. Balick (1986), trabalhando com espécies do gênero *Oenocarpus* encontrou grãos de pólen monossulcados e tricotomossulcados para *O. mapora*, *O. circumtextus* Mart. e *O. bataua*. Ambwani e Kumar

(1993). Ferguson et al. (1983) também encontraram esses tipos polínicos para espécies do gênero *Licuala* Wurm e *Pinanga* Blume, respectivamente. Entretanto, a frequência da condição tricotomocolpada ou tricotomossulcada é descrita como não expressiva em todos os trabalhos.

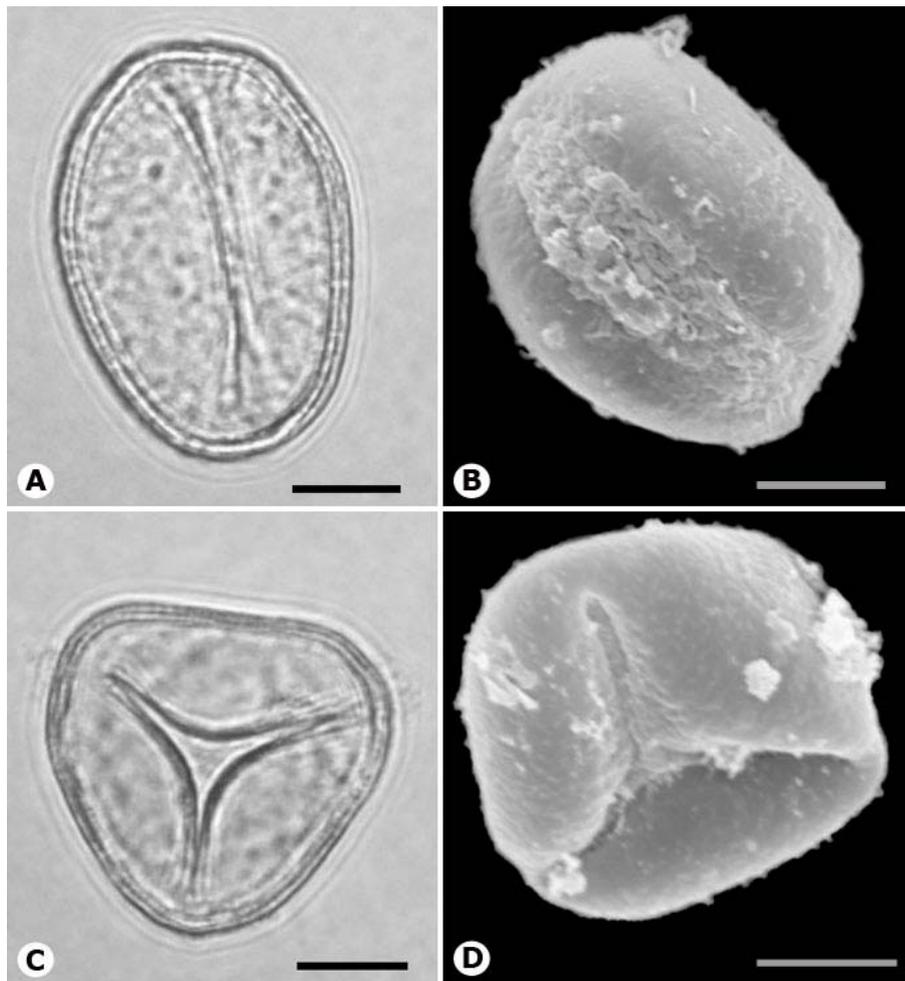


Figura 4 Grãos de pólen da espécie *Oenocarpus distichus* evidenciando a face apertural. A: grão de pólen monocolpado em acetólise; B: grão de pólen monocolpado em MEV; C: grão de pólen tricotomocolpado em acetólise; D: grão de pólen tricotomocolpado em MEV. Barras equivalem 10 µm.

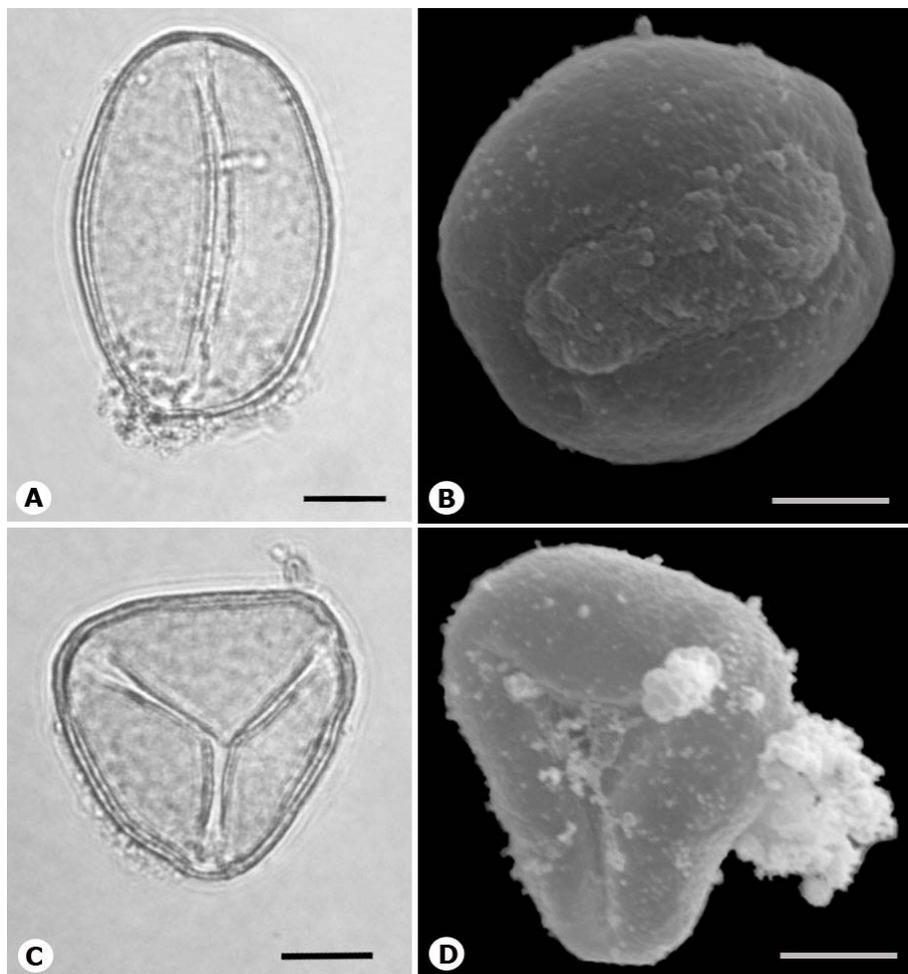


Figura 5 Grãos de pólen da espécie *Oenocarpus mapora* evidenciando a face apertural. A: grão de pólen monocolpado em acetólise; B: grão de pólen monocolpado em MEV; C: grão de pólen tricotomocolpado em acetólise; D: grão de pólen tricotomocolpado em MEV. Barras equivalem 10 µm.

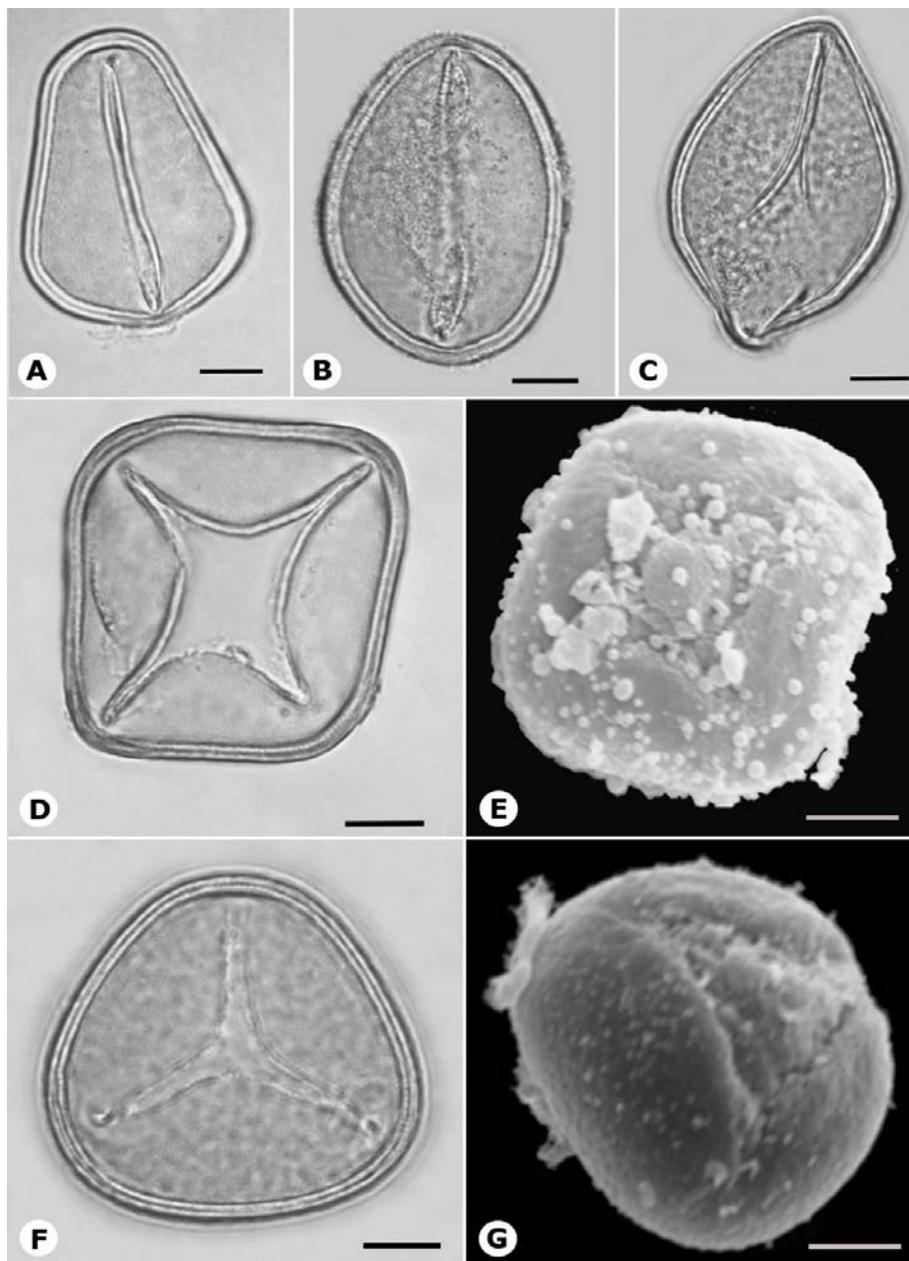


Figura 6 Grãos de pólen da espécie *Oenocarpus minor* evidenciando a face apertural. A, B, C: grãos de pólen monocolpados em acetólise; D, E: grãos de pólen tetracotomocolpados em acetólise e MEV, respectivamente; F, G: grãos de pólen tricotomocolpados em acetólise e MEV, respectivamente. Barras equivalem 10 µm.

Harley (1990) e Thanikaimoni (1970) mencionam ser comum a ocorrência de dimorfismo (mais de um tipo polínico) em espécies de *Arecaceae*, sendo que os grãos de pólen com condição tricotomocolpada teriam significado evolutivo, sugerindo que as espécies em que há a ocorrência deste tipo polínico sejam mais derivadas. Dessa forma, é possível que a ocorrência do tipo 4-cotomocolpado indique um grau de especialização ainda mais significativo. Pode-se inferir então, que a espécie *O. bataua* seja a mais primitiva dentre as espécies estudadas e *O. minor* a mais derivada.

Vale ressaltar também que o tubo polínico do grão de pólen germina através da abertura presente deste, e no caso das espécies estudadas esta abertura é o colpo. Dessa forma, quanto maior o número de colpo, maior deve ser a probabilidade de sucesso na emergência do tubo polínico, sendo então a quantidade de abertura uma vantagem evolutiva. Com base nisso, pode-se inferir que os grãos de pólen das espécies *O. mapora*, *O. distichus* e *O. bacaba* tenham maior sucesso na germinação do grão de pólen do que *O. bataua*, por apresentarem o tipo tricotomocolpado. No entanto, a espécie *O. minor* se destacaria dentre todas as outras pela presença do tipo 4-cotomocolpado.

Quanto ao tamanho da exina, o menor valor médio foi encontrado na espécie *O. mapora*, tanto para grãos monocolpados, quanto para tricotomocolpados. Enquanto o maior foi obtido para *O. minor*, independente do tipo polínico (Tabela 4). No presente trabalho não foi possível analisar e classificar a superfície da exina dos grãos de pólen.

Tabela 4 Médias para a espessura da exoexina e endoexina (μm) nos diferentes tipos de grãos de pólen encontrados nas cinco espécies de *Oenocarpus*.

Espécie	Exina		
	Monocolpado	Tricotomocolpado	4-cotomocolpado
<i>O. bacaba</i>	1,740	1,776	-
<i>O. bataua</i>	1,767	-	-
<i>O. distichus</i>	1,805	1,696	-
<i>O. mapora</i>	1,557	1,647	-
<i>O. minor</i> 1*	2,566	2,129	2,1965
<i>O. minor</i> 2*	2,345	-	-
<i>O. minor</i> 3*	2,617	-	-

*: Referente a cada um dos três tipos polínicos monocolpados encontrados para *O. minor*.

No que tange à viabilidade polínica, a análise de variância detectou diferenças significativas para porcentagens de grãos de pólen viáveis ao nível de 1 % de probabilidade entre as espécies de *Oenocarpus* avaliadas e entre genótipos dentro das espécies 1 (*O. bacaba*) e 2 (*O. bataua*) (Tabela 5). Mesmo havendo diferenças entre as espécies, a viabilidade polínica média encontrada foi alta. As maiores porcentagens de grãos de pólen viáveis foram registradas em *O. mapora*, com média de 96,15 %, seguida pelas espécies *O. distichus* e *O. minor* com 95,68 % e 93,85 %, respectivamente. As menores porcentagens ocorreram nas espécies *O. bataua* (genótipo 2 com 80,7 %) e *O. bacaba* (genótipo 4 com 84,8 %), cujas viabilidades médias atingiram 91,08 % e 91,73 %. Vale ressaltar que mesmo os genótipos que apresentaram os menores valores podem ser considerados bons doadores de grãos de pólen, uma vez que tiveram viabilidade polínica de pelo menos 80%. Nos trabalhos realizados por Oliveira, Couturier e Beserra (2003) e Oliveira, Maués e Kalume (2001), esse mesmo caráter foi

avaliado em botões florais recém colhidos de plantas de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) e de tucumazeiro (*Astrocaryum vulgare* Mart.) e obtiveram médias de 84,8% e 85,5%, respectivamente.

A maior diferença nas taxas de viabilidade polínica entre os genótipos ocorreu em *O. bataua* com 15,9 % (Tabela 5). Em *O. bacaba* e *O. minor* essa diferença foi de 11,7 % e 7,5%, respectivamente. Enquanto a diferença encontrada entre as médias de viabilidades entre as espécies foi de 5,07 %. Kalume (2000), trabalhando com comportamento reprodutivo de acessos da espécie *O. mapora* encontrou viabilidade polínica média inferior ao valor encontrado neste trabalho, sendo de 83,70% em grãos de pólen armazenados. Oliveira et al. (2010), avaliando a viabilidade de pólen em três espécies de palmeiras do gênero *Euterpe*, também encontraram alta viabilidade polínica, com média geral de 94%.

Tabela 5 Médias para porcentagens de grãos de pólen viáveis entre e dentro de cinco espécies do gênero *Oenocarpus*.

Grãos de pólen viáveis (%) por espécie					
Genótipos	<i>O. bacaba</i>	<i>O. bataua</i>	<i>O. mapora</i>	<i>O. distichus</i>	<i>O. minor</i>
1	92,7	95,2	95,7	96,5	92,7
2	92,5	80,7	95,8	97,6	90,3
3	96,9	96,6	97,2	94,6	97,8
4	84,8	91,8	95,9	94,0	94,3
Média	91,73	91,08	96,15	95,68	93,78

A diferença de viabilidade encontrada dentro das amostras de *O. bacaba* e *O. bataua* parece não ser explicada pelo fato de as amostras analisadas serem oriundas de diferentes locais de coleta durante a composição do banco de germoplasma, uma vez que as amostras analisadas

para *O. mapora* e *O. distichus* também são provenientes de municípios distintos. Dessa forma, é provável que esta diferença seja explicada por variação genotípica das plantas analisadas.

Outro aspecto a ser considerado é que as cinco espécies apresentam protândria, sendo a fase de floração masculina em cada inflorescência longa e gradativa, com duração média entre sete e quatorze dias (KÜCHMEISTER et al., 1998; OLIVEIRA; PADILHA; FERNANDES, 2002). Logo, acredita-se que as variações nas taxas de viabilidade polínica também possam estar associadas a alguns fatores, tais como: a coleta das ráquulas em diferentes dias da floração, uma vez que a antese das flores masculinas é vespertina e explosiva, e a posição do botão floral na inflorescência (OLIVEIRA; COUTURIER; BESERRA, 2003). De acordo com Shivanna e Rangaswamy (1992) podem existir variações consideráveis nas taxas de fertilidade entre indivíduos de uma espécie e entre amostras de um mesmo indivíduo devido ao período de florescimento, as alterações ambientais e, sobretudo, às diferenças genotípicas.

Tais resultados indicam que apesar da ocorrência de dimorfismo polínico em três das espécies estudadas e *O. minor* ter apresentado cinco tipos de grãos de pólen, a viabilidade desses grãos foi pouco afetada, sugerindo que a taxa de anormalidades meióticas não deva ser significativa.

Assim sendo, não devem ocorrer restrições quanto ao manejo dessas espécies e nem quanto à escolha de indivíduos doadores de grãos de pólen para programas de melhoramento que visem à obtenção de híbridos, quanto à viabilidade polínica (Figura 7). As espécies *O. mapora* e *O. minor*, no entanto, podem ser consideradas as melhores doadoras de grãos de pólen por terem apresentado os maiores valores de viabilidade polínica.

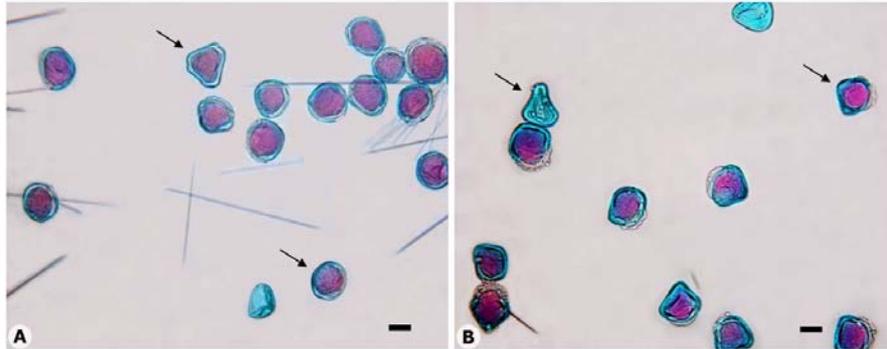


Figura 7 Grãos de pólen do gênero *Oenocarpus* corados com reativo de Alexander (1980). A: *O. bacaba*; B: *O. minor*. Setas evidenciam a ocorrência de diferentes tipos polínicos. Barras indicam 20 μ m.

As cinco espécies do gênero *Oenocarpus* avaliadas apresentaram altas taxas de viabilidade polínica e variação na morfologia polínica. Como algumas dessas espécies estão conservadas na mesma área experimental e, aparentemente, não há barreiras que impeçam seus cruzamentos, pode-se sugerir que essas características também favoreçam a polinização entre elas.

Com base nos resultados obtidos, *O. bataua* parece ser a espécie mais basal dentre as estudadas e *O. minor*, a mais derivada. No entanto, apesar das diferenças morfológicas, a viabilidade polínica foi alta para todas, indicando então que esta diferença morfológica não tenha afetado este caráter.

4 CONCLUSÕES

As cinco espécies do gênero *Oenocarpus* apresentam diversidade para a morfologia e viabilidade polínica.

A diversidade morfológica dos grãos de pólen pode ser utilizada como auxílio na diferenciação taxonômica dessas espécies.

A alta viabilidade polínica detectada nas cinco espécies indica que estas têm potencial para a fertilização.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos assistentes de pesquisa da Embrapa Amazônia Oriental, pelo apoio nas coletas e envio dos materiais, ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Lavras, pelo auxílio e concessão do espaço para realização de parte deste trabalho, bem como à FINEP, CAPES e FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPQ pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 13-18, Feb. 1980.
- AMBWANI, K.; KUMAR, M. Pollen morphology of the coriphoid genus *Licuala* (Palmae). **Grana**, Stockholm, v. 32, n. 1, p. 164-168, 1993.
- BALICK, M. J. **Systematics and economic botany of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex**. New York: New York Botanical Garden, 1986. 140 p. (Advances in Economic Botany, 3).
- BARFORD, A. Pollen morphology of *Ammandra*, *Palandra* and *Phytelephas* (Arecaceae). **Grana**, Stockholm, v. 27, n. 1, p. 239-242, 1988.
- BAUERMANN, S. G. et al. Diferenciação polínica de *Butia*, *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus* e *Trithrinax* e implicações paleoecológicas de Arecaceae para o Rio Grande do Sul. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 65, n. 1, p. 35-46, 2010.
- CASSINO, R.; MEYER, K. E. B. Morfologia de grãos de pólen e esporos de níveis holocênicos de uma vereda do Chapadão dos Gerais (Buritizeiro, Minas Gerais), Brasil. **Jornal Brasileiro de Geociências**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 41-70, 2011.
- CHAVES, L. S. **Indicadores palinológicos do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Arecaceae em ecossistemas antrópicos e naturais na Amazônia central**. 2006. 78 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas, Manaus, 2006.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes: estatística experimental**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 382 p.
- ERDTMAN, V. **Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms**. Stockholm: Almqvist & Wilsell, 1952. 539 p.
- ESTUPIÑÁN-GONZALEZ, A. C.; JIMÉNEZ-ESCOBAR, N. D. Plants use by rural communities in the tropical zone of the Parque Nacional Natural Paramillo (Cordoba, Colombia). **Caldasia**, Bogotá, v. 32, n. 1, p. 21-38, 2010.
- FERGUSON, I. K. et al. Notes on the pollen morphology of *Pinanga* with special reference to *P. aristata* and *P. pilosa* (Palmae: Arecoideae). **Grana**, Stockholm, v. 22, n. 1, p. 65-72, 1983.

HARLEY, M. M. Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. **Review of Paleobotanic and Palinology**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 137-147, 1990.

HARLEY, M. M.; DRANSFIELD, J. Triporate pollen in the Arecaceae. **Grana**, Stockholm, v. 42, n. 1, p. 3-19, 2003.

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

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

LLERAS, E.; GIACOMETTI, D. C.; CORADIN, L. Áreas críticas de distribución de palmas en las Americas para colecta, evaluación y conservación. In: INFORME DE LA REUNIÓN DE CONSULTA SOBRE PALMERAS POCO UTILIZADAS DE AMERICA TROPICAL, 1., 1983, Turrialba. **Annales...** Turrialba: FAO, 1983. p. 67-101.

MACEDO, R. B.; SOUZA, P. A.; BAUERMAN, S. G. Catálogo de pólenes, esporos e demais palinóforos em sedimentos holocênicos em Santo Antônio da Patrulha, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 62, n. 2, p. 43-78, 2009.

MARTINS, L. H. P.; MIRANDA, I. P. A.; NUNES, C. D. Morfologia polínica de populações Amazônicas de *Elaeis oleifera*. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 33, n. 2, p. 159-166, 2003.

MONTÚFAR, R. et al. *Oenocarpus bataua* Mart. (Arecaceae): rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, Chicago, v. 87, n. 2, p. 167-172, Apr. 2010.

OLIVEIRA, L. C. **Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe***. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

OLIVEIRA, L. C. et al. Viabilidade polínica de *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 29., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. 1 CD-ROM.

- OLIVEIRA, M. do S. P.; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart) em Belém, Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 343-353, 2003.
- OLIVEIRA, M. do S. P.; MAUÉS, M. M.; KALUME, M. A. de A. Viabilidade de pólen in vivo e in vitro em genótipos de açazeiro. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 27-33, 2001.
- OLIVEIRA, M. do S. P.; PADILHA, N. C. C.; FERNANDES, T. S. D. Ecologia da polinização de *Oenocarpus mapora* Karsten. (Arecaceae) nas condições de Belém, PA. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n. 38, p. 91-106, 2002.
- OSTROROG, D. R. V.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Geonoma brevispatha* Barb. Rodr. (Arecaceae) em mata de galeria inundável em Uberlândia, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 479-488, jul./set. 2009.
- PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed. rev. e atual. Belém: Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 66 p.
- PLANT list. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 2 fev. 2012.
- RANGEL, J. O.; BOGOTÁ, R. G.; JIMÉNEZ, L. C. Atlas palinológico de la Amazonia Colombiana IV: familia Arecaceae. **Caldasia**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 281-300, 2001.
- RODRIGUES, A. M. D. et al. Fatty acid profiles and tocopherol contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 21, n. 10, p. 2000-2004, 2010.
- ROUBIK, D. W.; MORENO, J. E. **Pollen and spores of Barro Colorado Island**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1991. 268 p.
- SHIVANNA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. **Pollen biology: a laboratory manual**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. 119 p.
- SOARES, T. L. et al. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, dez. 2011.

SOWUNMI, M. A. Pollen morphology of the Palmae and its bearing on taxonomy. **Review of Paleobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 1-80, 1972.

THANIKAIMONI, G. Les Palmiers: palynologie et systématique. **Travaux de la Section Scientifique et Technique**, Pondichéry, v. 11, p. 1-286, 1970.

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

WALKER, J. W.; DOYLE, J. A. The bases of Angiosperm phylogeny: palynology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, New York, v. 62, p. 664-723, 1975.

ARTIGO 2

**Citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de *Oenocarpus*
Mart.**

RESUMO

O gênero *Oenocarpus* (Arecaceae) é constituído por espécies com grande importância econômica para a população amazônica, bem como apresenta expressivo potencial para a economia do país pelos diversos produtos obtidos dessas espécies. No entanto, são poucos os trabalhos que tratam das características cromossômicas e do conteúdo de DNA das espécies desse gênero. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e comparar o complemento cromossômico e estimar a quantidade de DNA nuclear das espécies *Oenocarpus bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus*, *O. mapora* e *O. minor*. Para tanto, cromossomos metafásicos foram obtidos pela técnica de esmagamento em ácido acético 45%, utilizando como coranteorceína acética 1%. A estimativa da quantidade de DNA foi feita por meio da citometria de fluxo, utilizando o tampão Marie e a espécie *Vicia faba* foi utilizada como padrão interno de referência. A contagem de cromossomos para as espécies foi inédita, exceto para *O. bataua*, como também a descrição dos cariótipos de todas as cinco espécies. Encontrou-se o mesmo número cromossômico para as espécies, $2n = 36$, confirmando o relato anterior para *O. bataua*. Diferenças entre as fórmulas cariotípicas, quantidade e posicionamento da constrição secundária foram encontradas. A quantidade de DNA nuclear foi significativamente maior para as espécies *O. minor* e *O. bacaba*. A constância do número cromossômico aliada às variações nas fórmulas cariotípicas e na quantidade de DNA sugerem a ocorrência de alterações estruturais como um mecanismo importante na especiação do gênero *Oenocarpus*.

Palavras-chave: Palmeiras, Número cromossômico, Cariótipo, Conteúdo de DNA.

ABSTRACT

The *Oenocarpus* genus (Arecaceae) comprises species with great economic importance for Amazonian population, as well as present significant economic potential for the country by the various products obtained from these species. However, a few works on cytogenetic characteristic and nuclear DNA amounts have been realized. For that, the aim of this work was to characterize and compare the chromosomic complement and estimate nuclear DNA content of *Oenocarpus bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus*, *O. mapora* and *O. minor*. Metaphase chromosomes were obtained by squash procedure in acetic acid 45%, and stained with acetic orcein 1%. Nuclear DNA content was estimated by flow cytometry, using Marie buffer and *Vicia faba* as internal standard for comparison. Chromosome counts for the species are first records, but *O. bataua*, as well as caryotype descriptions for all five. The species showed the same chromosome number, $2n = 36$, confirming earlier records. Differences in karyotypes, number and position of secondary constriction were found. Nuclear DNA content was significantly higher in *O. minor* and *O. bacaba*. The number of chromosomes and the results for DNA amount suggest that structures changes should have an important participation on the evolution of these species.

Key words: Palms, Chromosome number, Caryotype, Nuclear DNA content.

1 INTRODUÇÃO

A família Arecaceae Bercht. e J. Presl compreende cerca de 2360 espécies distribuídas em 190 gêneros (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP - APG, 2010), sendo considerada uma das mais abundantes dentre as monocotiledôneas (RÖSER, 1995). Espécies desta família têm ampla distribuição, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais, e destacam-se das outras espécies de monocotiledôneas pelo tipo de caule, distribuição e arquitetura das folhas, dentre outras características (LLERAS; GIACOMETTI; CORADIN, 1983; RÖSER, 1995; VILLACHICA et al., 1996). Entre os gêneros tipicamente tropicais está *Oenocarpus* Mart. formado por nove espécies, as quais são encontradas ao longo do norte da América do Sul e que possuem importância econômica significativa à população amazônica, com destaque para os produtos obtidos de seus frutos (BALICK, 1986; HENDERSON, 1995; ZAMBRANA et al., 2007). Em virtude da importância e do potencial econômico demonstrado por essas espécies, torna-se relevante a realização de estudos que venham a contribuir para seu conhecimento, manejo e uso sustentável desses recursos genéticos e, por conseguinte, com a domesticação das mesmas.

A citogenética é uma ferramenta de grande utilidade, pois fornece informações úteis para a caracterização de bancos de germoplasma, bem como para a manipulação desses recursos em programas de melhoramento genético (AULER; BATTISTIN; REIS, 2006; KARSBURG; BATTISTIN, 2006). Na literatura há vários relatos de trabalhos envolvendo citogenética de palmeiras, alguns incluindo cariótipos, padrão de bandeamento e comparação de núcleo interfásico (CORRÊA et al., 2009; OLIVEIRA, 2011; READ, 1965, 1966; RÖSER, 1993, 1994, 1995, 1999, 2000; RÖSER; JOHNSON; HANSON, 1997). Para o gênero *Oenocarpus* existe apenas a citação do número cromossômico da espécie *O. bataua* Mart. ($2n = 36$)

(RÖSER; JOHNSON; HANSON, 1997), demonstrando dessa forma a necessidade de realização de outros trabalhos.

A análise da quantidade de DNA nuclear por meio da citometria de fluxo em espécies vegetais é uma ferramenta que tem sido aplicada, principalmente na estimativa do tamanho do genoma, análise de ploidia e na detecção de alterações numéricas (BENNETT; LEITCH, 2005; DOLEŽEL; BARTOS, 2005; LOUREIRO, 2007). Para espécies de palmeiras, existem poucos estudos sobre a quantidade de DNA nuclear por meio da citometria de fluxo (OLIVEIRA, 2011). O mais amplo relato de quantidade de DNA em palmeiras foi realizado por Röser, Johnson e Hanson (1997), onde esta foi estimada para um número considerável de espécies de diferentes gêneros, dentre elas *O. bataua* utilizando a técnica de densitometria por Feulgen. Para as demais espécies do gênero *Oenocarpus* não foram encontrados relatos.

A existência de germoplasma de cinco espécies desse gênero (*O. bacaba* Mart., *O. bataua* Mart., *O. distichus* Mart., *O. mapora* H. Karst. e *O. minor* Mart.) conservados na Embrapa Amazônia Oriental, e que necessita ser caracterizado sob vários aspectos para disponibilização a programas de melhoramento, reforça a necessidade da realização de tais estudos para as demais espécies, bem como para complementar os dados existentes na literatura.

Neste contexto, o presente trabalho objetivou caracterizar e comparar o complemento cromossômico e estimar a quantidade de DNA nuclear de cinco espécies de *Oenocarpus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material botânico

Foram utilizadas sementes de três plantas, representantes de cinco espécies do gênero *Oenocarpus* (*O. bacaba*, *O. bataua*, *O. mapora*, *O. distichus* e *O. minor*) conservadas *in vivo* no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, Pará, Brasil (Tabela 1). As exsiccatas das plantas representantes de cada espécie foram registradas no Herbário dessa empresa (*O. bataua* – IAN 148961, 148962, 148963; *O. mapora* – IAN 187194, 187195, 187196; *O. minor* – IAN 186343, 186344, 187198; *O. distichus* – IAN 187390, 187391, 183824; *O. bacaba* – IAN 183825, 183826, 183827). As sementes foram obtidas de cachos em maturação completa, cujos frutos foram beneficiados mecanicamente, sendo retiradas ao acaso 20 sementes cacho/planta.

2.2 Caracterização citogenética

Após o beneficiamento as sementes foram lavadas, colocadas em sacos plásticos identificados, contendo como substrato serragem úmida e curtida e enviadas ao Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de Lavras (Lavras, Minas Gerais), onde foram colocadas em gerbox e levadas à BOD para germinar, em temperatura fixa de 28°C e fotoperíodo de 12 horas.

Para a avaliação citogenética, pontas de raízes com cerca de 1 cm, provenientes das sementes germinadas, foram coletadas e pré-tratadas em solução de 8-hidroxiquinoleína 2mM por 7 h em geladeira. Em seguida as

raízes foram fixadas em solução Carnoy (3 álcool: 1 ácido acético) e armazenadas em freezer -20°C até o momento de utilização.

Para o preparo das lâminas, as raízes foram submetidas à digestão enzimática com pectinase/celulase (100/200u) por 45min em estufa a 37°C, seguida de hidrólise com HCl 1N em banho maria por 12min. As lâminas foram confeccionadas pela técnica de esmagamento, onde os meristemas foram macerados com ácido acético 45%, utilizando como coranteorceína acética 1%.

As lâminas foram visualizadas em microscópio de campo claro (Leica DMLS), equipado com microcâmera (Nikon Digital Sight DS-Fi1) para digitalização das melhores metáfases.

De cada espécie foram selecionadas dez metáfases para contagem dos cromossomos, das quais quatro ou cinco foram utilizadas na construção dos cariótipos. Foram obtidas as medidas do braço curto (c) e longo (l) dos cromossomos, utilizando o programa Image Tool 3.00 da UTHSCA (The University of Texas Health Science Center in San Antonio). A partir das medidas dos braços foram calculados o comprimento total do cromossomo ($C_{ti} = l + c$), o comprimento relativo de cada cromossomo ($CR = C_{ti}/CTLH \times 100$), relação de braços ($RB = l/c$), o índice centromérico ($IC = c/C_{ti} \times 100$) e o comprimento total do lote haplóide ($CTLH = \sum C_{ti}/2$). A morfologia cromossômica foi determinada a partir dos valores de RB, de acordo com o proposto por Levan, Fredga e Sandenberg (1964), e o índice centromérico, conforme proposto por Guerra (1986). Os cariogramas foram construídos com auxílio do programa Adobe Photoshop CS2.

Os índices obtidos foram também utilizados para determinar a simetria do cariótipo de acordo com Zarco (1986), que leva em conta a assimetria intracromossômica (A_1) dada pela posição do centrômero e a intercromossômica (A_2) dada pela diferença de tamanho dos cromossomos,

bem como pelo método proposto por Stebbins (1971), além de serem usados para construir o idiograma e o cariograma das espécies.

Tabela 1 Identificação das plantas das cinco espécies do gênero *Oenocarpus* fornecedoras das sementes e plântulas às análises citogenética e de citometria de fluxo.

Espécie	Planta	Nome comum	Procedência
<i>O. bacaba</i>	1	Bacabão	Magazão-AP
	2	Bacabão	Macapá-AP
	3	Bacabão	Porto Grande-AP
<i>O. bataua</i>	1	Patauá	Irituia-PA
	2	Patauá	Anajás-PA
	3	Patauá	Anajás-PA
<i>O. mapora</i>	1	Bacaby	Abaetetuba-PA
	2	Bacaby	Abaetetuba-PA
	3	Bacaby	Abaetetuba-PA
<i>O. distichus</i>	1	Bacaba-de-leque	Oriximiná-PA
	2	Bacaba-de-leque	Oriximiná-PA
	3	Bacaba-de-leque	Oriximiná-PA
<i>O. minor</i>	1	Bacabinha	Terra Santa-PA
	2	Bacabinha	Terra Santa-PA
	3	Bacabinha	Terra Santa-PA

Os valores obtidos para a variável CTLH foram submetidos à análise de variância no programa GENES (CRUZ, 2006) e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

2.3 Estimativa da quantidade de DNA nuclear

Amostras de folhas frescas das três plantas de cada espécie utilizadas nas análises cariotípicas foram usadas para a estimativa de quantidade de DNA nuclear. O preparo das amostras e as análises por citometria de fluxo foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos (UFLA).

A suspensão de núcleos foi obtida por meio da maceração de aproximadamente 20 mg das amostras de folhas frescas de cada espécie em 1 mL de tampão Marie, de acordo com o protocolo desenvolvido por Galbraith et al. (1983), utilizando o iodeto de propídio (1mg/ml) como fluorocromo e a espécie *Vicia faba* L. como padrão interno de referência. Para cada amostra foram analisados pelo menos 10.000 núcleos.

A análise foi realizada no citômetro FacsCalibur (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), sendo os histogramas obtidos no software Cell Quest (Becton Dickinson e Companhia, San Jose, CA, USA) e analisados no software WinMDI 2.8.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cinco espécies do gênero *Oenocarpus* apresentaram o mesmo número cromossômico, $2n = 36$ (Figura 1), porém com variações quanto ao tamanho e à morfologia. O número cromossômico encontrado para *O. bataua* coincide com o citado por Röser, Johnson e Hanson (1997). Em uma das amostras de *O. bacaba* (Macapá-AP) foram encontradas algumas células com $2n = 37$ cromossomos (Figura 1B), indicando a ocorrência de mixoploidia. Entretanto, todas as amostras utilizadas neste trabalho foram classificadas morfológicamente como *O. bacaba*, como mostrado na tabela 1. Para confirmação desta hipótese, é necessário que outros estudos sejam realizados, tais como a análise meiótica da amostra em questão e técnicas como FISH e GISH.

Com exceção de *O. bataua*, as demais contagens obtidas no presente trabalho, bem como os cariótipos das cinco espécies, são inéditas, o que de acordo com Éder-Silva, Felix e Bruno (2007) é um fato comum para plantas tropicais, por serem pouco estudadas.

Os complementos cromossômicos das cinco espécies encontraram-se formados por pares de tamanho variando de pequenos a médios, sendo estes últimos em maior quantidade. Apesar de terem apresentado o mesmo número cromossômico, diferenças quanto ao tamanho e posicionamento do centrômero e da constrição secundária foram observadas entre as espécies (Figuras 2 e 3). O maior e menor tamanho médio expresso em μm , encontrado para os pares de cromossomos das espécies, e seus comprimentos relativos foram, respectivamente: 4,38 (8,8%) e 1,15 (2,3%) para *O. bacaba*; 4,46 (8,5%) e 1,06 (2,0%) para *O. bataua*; 4,06 (9,0%) e 0,97 (2,2%) para *O. distichus*; 4,84 (9,1%) e 1,16 (2,2%) para *O. mapora*; e 5,30 (9,4%) e 1,15 (2,1%) para *O. minor*.

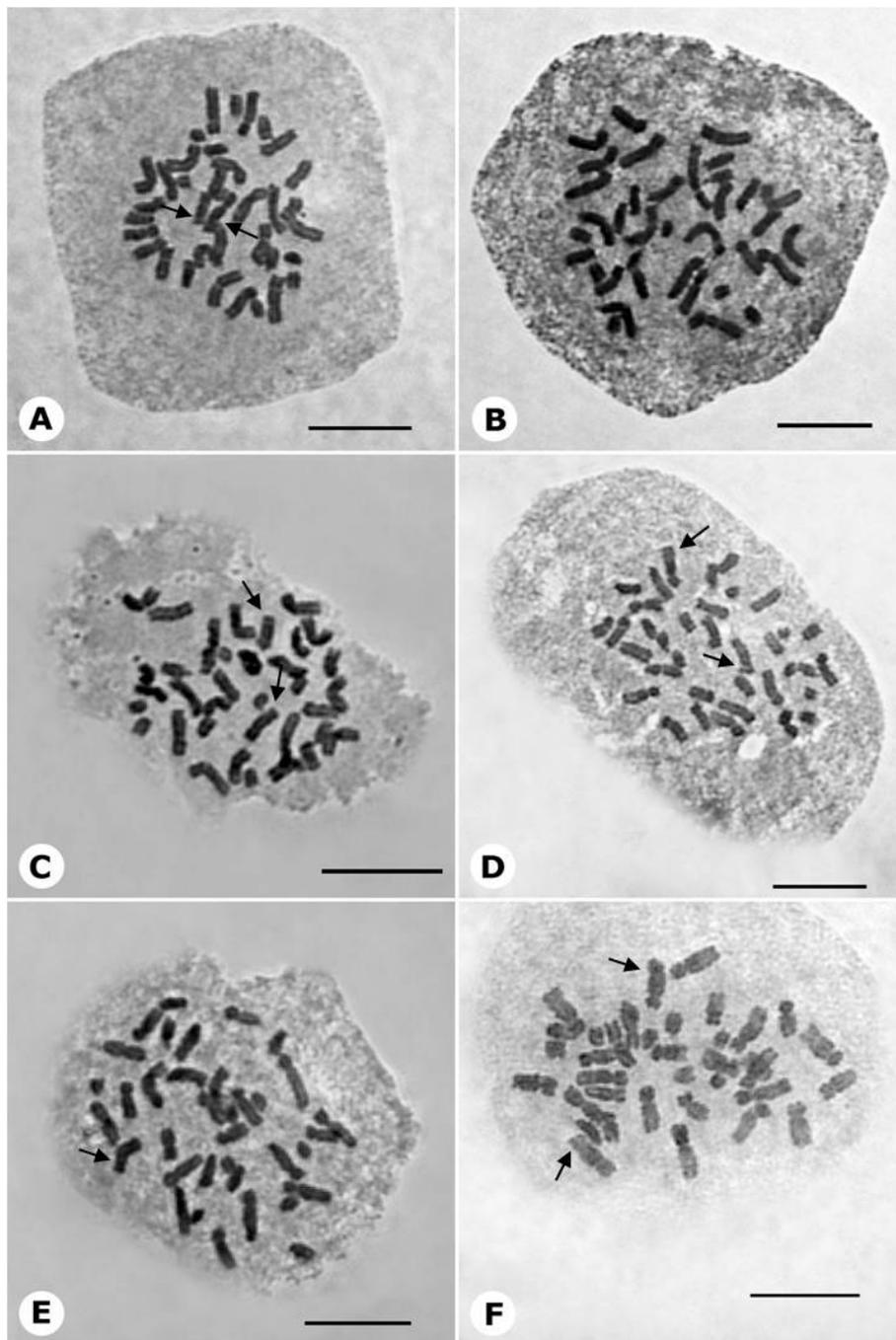


Figura 1 Metáfases mitóticas obtidas para espécies do gênero *Oenocarpus* com $2n = 36$. A: *O. bacaba*; B: *O. bacaba* com $2n = 37$; C: *O. bataua*; D: *O. distichus*; E: *O. mapora*; F: *O. minor*. Setas indicam as constrições secundárias. Barras equivalem $10 \mu\text{m}$.

No caso do maior comprimento total para o lote haploide, este foi registrado em *O. minor*, com 52,97 μm , enquanto o menor ocorreu em *O. distichus*, que apresentou 46,02 μm . No entanto, pode-se notar que não houve diferença significativa entre as espécies para o comprimento total do lote haploide (CTLH), as quais formaram um único grupo. Os valores médios do comprimento relativo de cada par de cromossomos das espécies *O. bacaba* e *O. bataua* têm proporções mais similares e *O. minor* apresentou valores mais distintos dentre as espécies estudadas (Tabela 2). No entanto, nenhuma diferença significativa foi apontada pelo teste de Scott-Knott, quando se comparou cada par de cromossomos entre as espécies.

As fórmulas cariotípicas apresentadas pelas espécies, de acordo com Levan, Fredga e Sandenberg (1964), foram as seguintes: *O. bacaba* (4M + 10SM + 4A), *O. bataua* (6M + 11SM + 1A), *O. distichus* (2M + 12SM + 4A), *O. mapora* (2M + 12SM + 4A) e *O. minor* (2M + 11SM + 5A), demonstrando que embora possuam o mesmo número cromossômico apresentam cariótipos diferentes. Mesmo assim, é possível perceber que há uma maior proporção de cromossomos submetacêntricos em todas as espécies, sendo as diferenças entre os complementos cromossômicos atribuídas ao número e posicionamento de cromossomos metacêntricos e acrocêntricos (Tabela 2).

As fórmulas cariotípicas mais semelhantes foram exibidas pelas espécies *O. mapora* e *O. minor*, e *O. distichus* e *O. minor* ambas com concordância na morfologia para 11 pares de cromossomos, sugerindo uma maior proximidade entre essas espécies. Morfologicamente, as espécies *O. mapora* e *O. minor* também são muito semelhantes, compartilhando características únicas dentre as cinco, tais como a presença de caules múltiplos, início do período reprodutivo, tamanho dos cachos e frutos. Por outro lado, o cariótipo mais distinto foi apresentado por *O. bataua*, o qual se aproximou mais dos de *O. distichus* e *O. mapora* compartilhando a morfologia de 8 pares de cromossomos com ambas as espécies. No capítulo

anterior, esta espécie também se diferenciou das demais quanto à morfologia polínica, apresentando apenas grãos de pólen monocolpados, enquanto outros tipos polínicos foram registrados nas outras espécies.

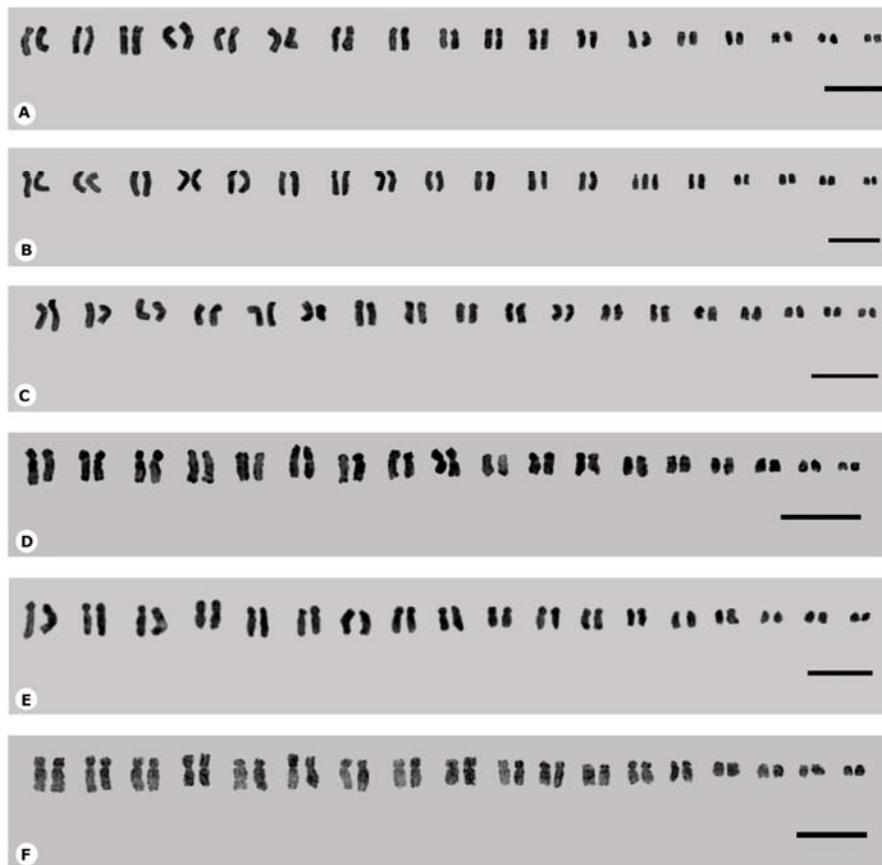


Figura 3 Apresentação dos cariogramas obtidos para as espécies de *Oenocarpus*. (A) *O. bacaba*; (B) *O. bacaba* com $2n = 37$; (C) *O. bataua*; (D) *O. distichus*; (E) *O. mapora*; (F) *O. minor*. Barras indicam $10 \mu\text{m}$.

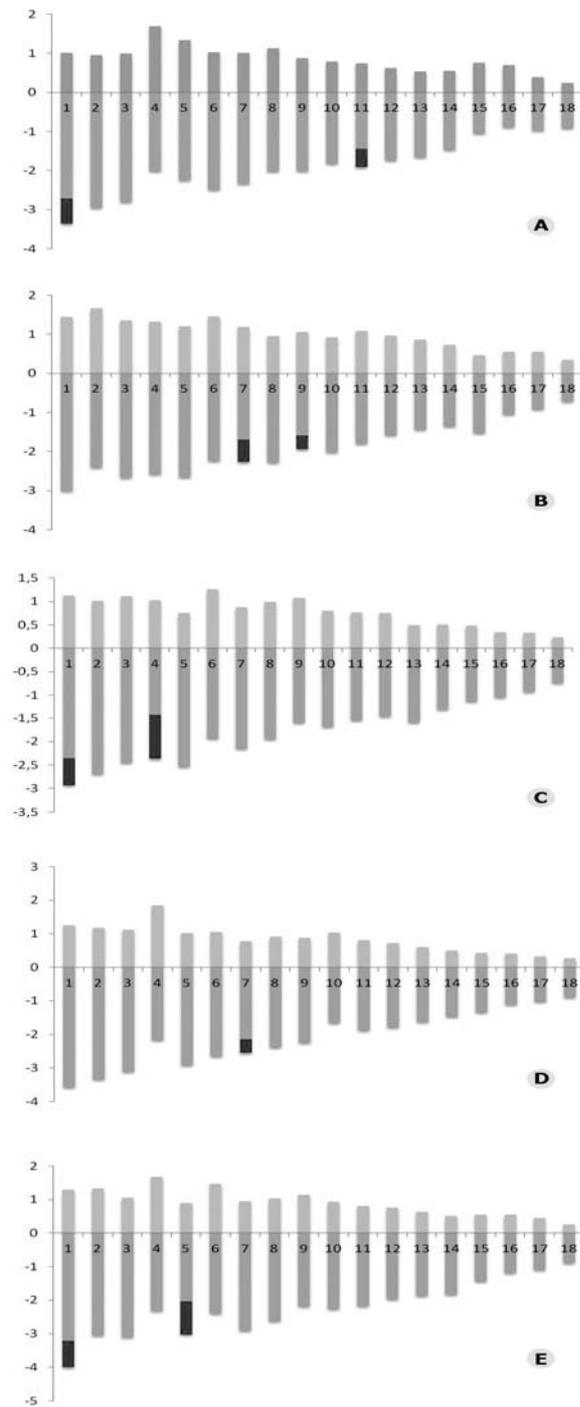


Figura 2 Idiogramas para as espécies *O. bacaba* (A), *O. bataua* (B), *O. distichus* (C), *O. mapora* (D) e *O. minor* (E).

Tabela 2 Comprimento relativo médio, índice centromérico e comprimento total do lote haploide (CTLH) para as espécies *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus*, *O. mapora* e *O. minor*. m= metacêntrico; sm= submetacêntrico; a= acrocêntrico; A₁= índice de assimetria intracromossômica; A₂= índice de assimetria intercromossômica.

Par	Valor absoluto/ Comprimento relativo médio (%)					Índice centromérico (morfologia)				
	<i>O. bacaba</i>	<i>O. bataua</i>	<i>O. distichus</i>	<i>O. mapora</i>	<i>O. minor</i>	<i>O. bacaba</i>	<i>O. bataua</i>	<i>O. distichus</i>	<i>O. mapora</i>	<i>O. minor</i>
1	4,38 (8,8)	4,46 (8,5)	4,06 (9,0)	4,84 (9,1)	5,30 (9,3)	23,27 (a)*	32,61 (sm)	27,76 (sm)*	26,16 (sm)	24,57 (a)*
2	3,92 (7,8)	4,08 (7,7)	3,71 (8,2)	4,52 (8,5)	4,38 (7,7)	24,66 (a)	41,14 (m)	27,48 (sm)	25,99 (sm)	30,43 (sm)
3	3,81 (7,6)	4,03 (7,6)	3,57 (7,9)	4,24 (8,0)	4,17 (7,4)	26,35 (sm)	33,68 (sm)	31,44 (sm)	26,66 (sm)	25,66 (sm)
4	3,72 (7,4)	3,91 (7,4)	3,40 (7,5)	4,03 (7,6)	4,00 (7,1)	45,97 (m)	33,98 (sm)	30,34 (sm)*	46,23 (m)	42,16 (m)
5	3,59 (7,2)	3,86 (7,3)	3,29 (7,3)	3,95 (7,4)	3,94 (6,9)	37,39 (m)	31,21 (sm)	22,92 (a)	26,11 (sm)	23,23 (a)*
6	3,52 (7,1)	3,70 (7,0)	3,19 (7,1)	3,71 (6,9)	3,87 (6,8)	29,37 (sm)	39,57 (m)	39,47 (m)	28,39 (sm)	38,24 (m)
7	3,36 (6,7)	3,47 (6,6)	3,04 (6,7)	3,33 (6,3)	3,86 (6,8)	30,47 (sm)	34,6 (sm)*	29,19 (sm)	23,36 (a)*	24,97 (a)
8	3,15 (6,3)	3,24 (6,2)	2,93 (6,5)	3,31 (6,2)	3,67 (6,5)	36,09 (sm)	29,62 (sm)	33,79 (sm)	27,98 (sm)	28,66 (sm)
9	2,89 (5,8)	3,01 (5,7)	2,67 (5,9)	3,13 (5,9)	3,33 (5,9)	30,61 (sm)	35,5 (sm)*	33,69 (sm)	28,32 (sm)	34,66 (sm)
10	2,61 (5,2)	2,94 (5,6)	2,49 (5,5)	2,70 (5,1)	3,19 (5,6)	30,32 (sm)	31,56 (sm)	32,37 (m)	38,86 (m)	29,36 (sm)
11	2,55 (5,1)	2,89 (5,5)	2,32 (5,1)	2,70 (5,1)	2,98 (5,3)	29,7 (sm)*	37,86 (m)	33,42 (sm)	30,27 (sm)	27,40 (sm)
12	2,36 (4,7)	2,55 (4,9)	2,21 (4,9)	2,52 (4,7)	2,73 (4,8)	26,52 (sm)	38,15 (m)	34,21 (sm)	29,07 (sm)	28,15 (sm)

Tabela 2, conclusão

13	2,19 (4,4)	2,31 (4,4)	2,09 (4,6)	2,24 (4,2)	2,51 (4,4)	24,53 (a)	37,92 (m)	23,98 (a)	27,47 (sm)	25,74 (sm)
14	2,03 (4,1)	2,09 (4,0)	1,82 (4,0)	1,97 (3,7)	2,34 (4,1)	27,77 (sm)	35,44 (sm)	27,79 (sm)	25,87 (sm)	22,12 (a)
15	1,81 (3,6)	1,99 (3,8)	1,62 (3,6)	1,76 (3,3)	2,00 (3,5)	42,32 (m)	23,28 (a)	29,68 (sm)	24,36 (a)	28,41 (sm)
16	1,60 (3,2)	1,60 (3,0)	1,39 (3,1)	1,52 (2,9)	1,74 (3,1)	44,68 (m)	35,02 (sm)	24,89 (a)	27,38 (sm)	32,49 (sm)
17	1,36 (2,7)	1,47 (2,8)	1,26 (2,8)	1,35 (2,5)	1,55 (2,7)	28,79 (sm)	37,81 (m)	26,78 (sm)	24,91 (a)	29,81 (sm)
18	1,15 (2,3)	1,06 (2,0)	0,97 (2,2)	1,16 (2,2)	1,15 (2,0)	20,98 (a)	32,90 (sm)	24,36 (a)	23,32 (a)	23,43 (a)
CTLH ¹	49,998 a	52,669 a	46,021 a	52,970 a	56,714 a	-	-	-	-	-
A1	0,533	0,464	0,566	0,594	0,586	-	-	-	-	-
A2	0,346	0,357	0,344	0,378	0,356	-	-	-	-	-

¹Médias não diferiram pelo teste de comparação de Scott-Knott, a nível de 5% de probabilidade. (*) Indicam cromossomos satelitados.

De modo geral, apenas três pares cromossômicos (3, 8 e 9) mostraram morfologia coincidente para as cinco espécies e os pares 11, 12, 14 e 18 diferiram para apenas uma espécie em cada um. Embora tenha apresentado a mesma morfologia nas cinco espécies, o par nove diferenciou-se entre as espécies quanto ao posicionamento da constrição secundária.

Os cariótipos das espécies *O. bacaba*, *O. bataua*, *O. distichus* e *O. minor* permitiram a visualização de dois pares de cromossomos satelitados, estando localizados nos pares 1 e 11, 7 e 9, 1 e 4, e 1 e 5, respectivamente (Figuras 2 e 3). No caso de *O. mapora*, apenas o par sete foi observado com satélite em todas as metáfases avaliadas. Nesta espécie, apenas uma das metáfases utilizadas para a confecção dos cariótipos demonstrou a presença de dois pares satelitados. Este fato pode ser explicado pela diferença de condensação apresentada pelas metáfases, que pode ter dificultado a visualização de um segundo par satelitado. Portanto, sugere-se que outras metáfases sejam avaliadas, além da realização de estudos como o de coloração com prata (bandeamento NOR) para a confirmação do número de constrições secundárias desta espécie.

O comprimento dos satélites variou de 0,34 μm , em *O. bataua*, a 0,98 μm em *O. minor*. Apesar da diferença de comprimento encontrada, todas foram observadas na região subterminal dos braços longos dos cromossomos, o que de acordo com Röser (1999) é comum em palmeiras. Entretanto, os satélites encontrados por este autor tem maior frequência de ocorrência no braço curto. Este mesmo autor afirma que este fato muitas vezes é limitante na identificação dessas estruturas, e pode explicar também a dificuldade encontrada neste trabalho para confirmação da quantidade de constrições secundárias em *O. mapora*.

A ocorrência de mais de um par de constrições secundárias em palmeiras já foi descrita por Röser (1993, 1995) para as espécies *Livistona*

chinensis (Jacq.) R. Br. ex Mart., *Coccothrinax crinita* subesp. *brevicrinis* Borhidi & O. Muñiz, *Chamaerops humilis* L., *Lepidocaryum tenue* Mart., *Heterospathe woodfordiana* Becc., *Jubaea chilensis* Baill., *Aphandra natalia* (Balslev & A. J. Hend.) Barfod e *Pseudophoenix vinifera* (Mart.) Becc., com destaque para esta última espécie que apresentou cinco pares de cromossomos satelitados. No entanto, Oliveira (2011), trabalhando com espécies de do gênero *Euterpe*, que pertencem à mesma subtribo do gênero *Oenocarpus*, Euterpeinae encontraram apenas um par de constrições secundárias em *E. edulis*, *E. oleracea* e *E. precatória*.

O número de cromossomos das espécies que compõe a família Arecaceae varia de $2n = 26$, como encontrado para espécies do gênero *Calamus* L., a $2n = 36$, encontrado para diversas subtribos, como é o caso de Euterpeinae, a qual pertence às espécies do gênero *Oenocarpus* (RÖSER, 1999). Até o momento, a exceção dessa variação é relatada apenas para a espécie *Voanioala gerardii* J. Dransf., que apresenta $2n = 606 \pm 3$ cromossomos, sugerindo que a ocorrência de eventos que levaram a dispoloidia teve papel muito mais importante na evolução cariotípica desta família do que a ocorrência de eventos de poliploidia (RÖSER, 1995, 1999).

De acordo com Röser (1995), o número diploide $2n = 36$ sugere o número básico de $x = 18$ cromossomos, considerado, como mais primitivo dentro da família Arecaceae, apesar de existir a hipótese de que o número básico original seria $x = 9$, sendo $x = 18$ um número derivado deste. Entretanto, de acordo com Röser (1995) não há até o presente momento resultados experimentais que suportem essa hipótese.

Desta forma, o gênero *Oenocarpus* parece ser mais primitivo do que outros gêneros que apresentam número diplóide diferente do supracitado, e que seriam derivados deste. Segundo Röser (1995), a variação do número de cromossomos dentro de gêneros não é comum. Este fato foi constatado por Corrêa et al. (2009) ao realizar a caracterização cariotípica de espécies de

palmeiras do gênero *Butia*, que encontraram $2n = 32$ cromossomos e mesmas fórmulas cariotípicas para as espécies *B. capitata* (Mart.) Becc, *B. eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc, *B. odorata* (Barb. Rodr.) Noblick ex Marcato, *B. paraguayensis* (Barb. Rodr.) L. H. Bailey e *B. yatay* (Mart.) Becc. Assim como Oliveira (2011), em estudo com espécies do gênero *Euterpe* M., também encontrou mesmo número cromossômico, $2n = 36$, para as *E. edulis* Mart., *E. oleracea* Mart. e *E. precatória* Mart, as quais, no entanto, apresentaram fórmulas cariotípicas distintas. Tais resultados corroboram com os encontrados no presente trabalho.

Levando-se em consideração as informações acerca dos cariótipos das espécies do gênero *Oenocarpus* aqui estudadas e enfatizando as diferenças de posicionamento do centrômero e das constrições secundárias, pode-se inferir que muitas alterações, principalmente rearranjos estruturais, como translocações e inversões pericêntricas, foram acumuladas ao longo da evolução dessas espécies. De acordo com Stebbins (1971), esses rearranjos têm importância significativa, pois aumentam a assimetria cariotípica. Sendo assim, cariótipos mais simétricos seriam considerados como mais primitivos e cariótipos assimétricos, mais derivados.

Quanto à similaridade cariotípica, o cariótipo mais simétrico de acordo com o modelo proposto por Stebbins (1971) foi apresentado pela espécie *O. bacaba*, na qual 72% dos cromossomos tiveram razão de braços maior que 2, sendo classificada na categoria 3b. *O. bataua* foi a segunda espécie com cariótipo mais simétrico, apresentando 33% dos cromossomos com razão de braços maior que 2 e classificada na categoria 2c. As espécies *O. distichus*, *O. mapora* e *O. minor* foram classificadas na categoria 3c, apresentando os cariótipos mais assimétricos.

Entretanto, quando se considera o modelo proposto por Zarco (1986), a espécie *O. bataua* aparece mais separada das demais, em consequência de ter demonstrado cariótipo mais simétrico, de acordo com os

índices de assimetria inter e intracromossômica (Figura 4). Com base nestes dados, esta espécie seria considerada a mais primitiva dentre as estudadas no presente trabalho. Neste mesmo pensamento, as espécies *O. mapora* e *O. minor* seriam as mais derivadas por terem os cariótipos mais assimétricos, reforçando a classificação segundo Stebbins (1971). Vale ressaltar que essas espécies são as mais semelhantes morfologicamente dentre as cinco estudadas neste trabalho.

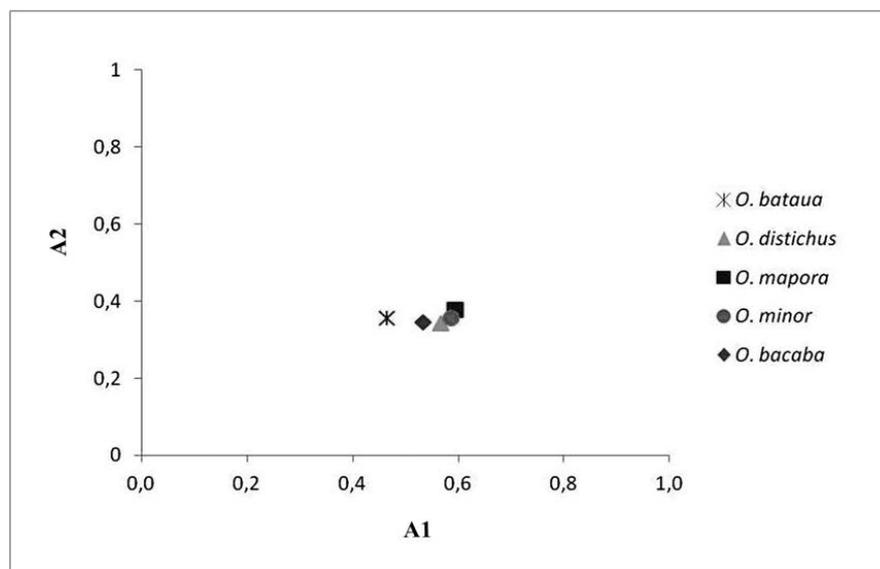


Figura 4 Gráfico de dispersão demonstrando a assimetria cariotípica obtida para as espécies do gênero *Oenocarpus*, segundo Zarco (1986)

Dessa forma, pode-se perceber que houve certa diferença entre os resultados obtidos por ambas as metodologias, envolvendo as espécies *O. bataua* e *O. bacaba*. No entanto, o modelo de simetria cariotípica proposta por Zarco (1986) fornece resultados mais confiáveis, pois além de levar em consideração a variação inter e intracromossômica, o modelo proposto por Stebbins (1971) é criticado por apresentar classes muito amplas, que não

conseguiriam distinguir pequenas variações entre cariótipos de taxa relacionados.

Quanto à quantidade de 2C DNA nuclear, os valores médios encontrados variaram de 6,46 a 6,96 pg, sendo o menor valor encontrado para *O. bataua* e o maior valor para *O. minor* (Tabela 3). A análise de comparação de médias permitiu dividir as espécies em dois grupos, o primeiro formado pelas espécies *O. bataua*, *O. distichus* e *O. mapora*, que apresentaram valores significativamente menores do que os apresentados pelo segundo, grupo formado pelas espécies *O. bacaba* e *O. minor*. O coeficiente de variação médio foi de 0,684% expressando qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos nas estimativas da quantidade de DNA nuclear das espécies. Segundo Marie e Brow (1993), valores de coeficientes de variação inferiores a 2% indicam a alta qualidade dos dados. Na figura 4, constam os histogramas com a visualização dos picos bem definidos da quantidade de DNA nuclear para as cinco espécies.

Tabela 3 Quantidade média de 2C de DNA (pg) obtida por meio da citometria de fluxo com seus respectivos coeficientes de variação para espécies do gênero *Oenocarpus*.

Genótipo	<i>O. bacaba</i>	<i>O. bataua</i>	<i>O. distichus</i>	<i>O. mapora</i>	<i>O. minor</i>
1	6,82	6,32	6,62	6,47	6,81
2	6,76	6,65	6,53	6,6	6,97
3	6,8	6,40	6,57	6,38	7,1
Média	6,79b	6,46a	6,55a	6,48a	6,96b
CV (%)	0,81	0,71	0,71	0,7	0,49

Letras iguais indicam grupos formados pelo teste de Scott-Knott a nível de 5 % de probabilidade.

Pode-se perceber que não houve coincidência entre os grupos formados por esta metodologia quando comparado com os formados pela comparação de médias do CTLH. É válido lembrar que o comprimento total

do lote haploide é uma medida altamente influenciada pelo grau de condensação dos cromossomos, o que não acontece quanto ao uso da citometria de fluxo. O que permite inferir que os resultados obtidos pela citometria sejam mais consistentes.

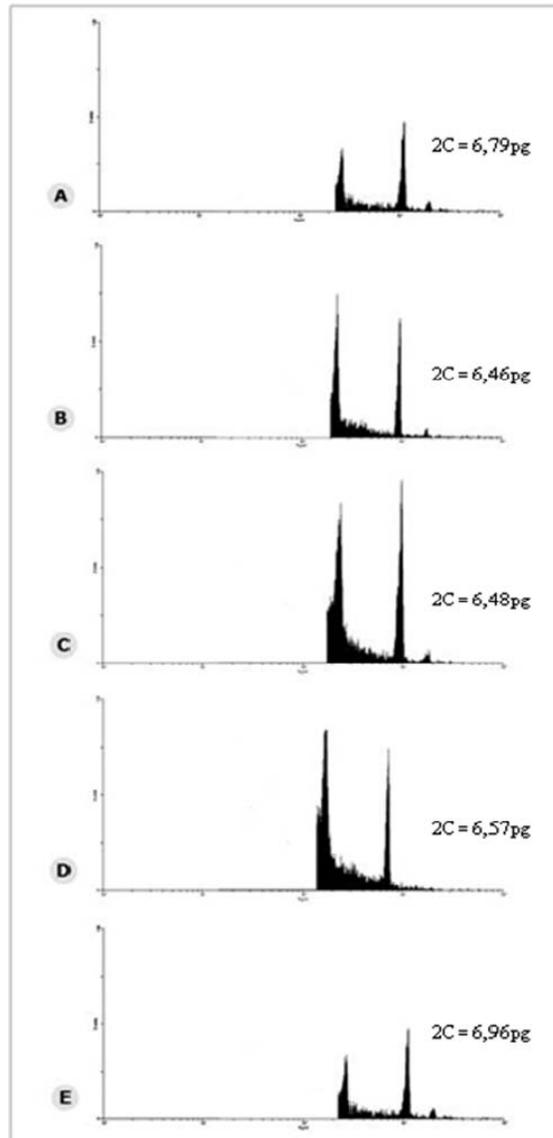


Figura 3 Histogramas obtidos para as quantidades de DNA nuclear de espécies do gênero *Oenocarpus*. (A) *O. bacaba*; (B) *O. bataua*; (C) *O. distichus*; (D) *O. mapora*; (E) *O. minor*.

Estimativas da quantidade de DNA nuclear para espécies de palmeiras já foram registradas, sendo o trabalho desenvolvido por Röser, Johnson e Hanson (1997), o mais expressivo pela abrangência de taxa. No entanto, basearam-se em outra metodologia, microdensitometria por coloração com Feulgen. Estes autores encontraram para a espécie *O. bataua* 15,70 pg de DNA 4C, valor este que se diferencia do encontrado no presente trabalho em cerca de 3 pg. Oliveira (2011), estimando a quantidade de DNA nuclear por meio da citometria de fluxo para três espécies do gênero *Euterpe* encontrou valores superiores aos obtidos para as espécies do gênero *Oenocarpus*, sendo a quantidade de DNA de *E. precatória* também inferior a relatada anteriormente por Röser, Johnson e Hanson (1997). Vale ressaltar que além da metodologia diferente, Röser, Johnson e Hanson (1997) utilizaram meristema de raiz para a obtenção do conteúdo de DNA, enquanto neste trabalho e no desenvolvido por Oliveira (2011) se utilizou folíolos. Essas diferenças metodológicas podem explicar as diferenças encontradas nos resultados.

Com base nos resultados apresentados neste capítulo no anterior, pode-se inferir que a espécie *O. bataua* seja, dentre as estudadas, a mais primitiva, por ter apresentado cariótipo mais simétrico, menor quantidade de DNA e apenas um tipo polínico. As espécies *O. distichus* e *O. mapora* seriam espécies intermediárias, as quais apresentaram maiores similaridades cariotípicas e mesmos tipos polínicos. Por sua vez, as espécies *O. bacaba* e *O. minor* seriam as mais derivadas, apresentando os cariótipos mais assimétricos, sendo que a primeira apresentou cinco tipos polínicos distintos.

4 CONCLUSÕES

As espécies do gênero *Oenocarpus* aqui abordadas apresentam complementos cromossômicos morfológicamente distintos, apesar da concordância do número somático de cromossomos entre elas.

A quantidade de DNA nuclear também é variável entre as espécies, separando-as em dois grupos diferentes.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, à Embrapa Amazônia Oriental pelo auxílio concedido e fornecimento dos materiais botânicos, ao Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras, pelo apoio nas análises e à FINEP, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **Angiosperm Phylogeny Group System II**. Disponível em:
<<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>>. Acesso em: 24 out. 2010.
- AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.
- BALICK, M. J. **Systematics and economic botany of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex**. New York: New York Botanical Garden, 1986. 140 p. (Advances in Economic Botany, 3).
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 1, p. 113-176, Mar. 1995.
- CORRÊA, L. B. et al. Caracterização citológica de palmeiras do gênero *Butia* (Arecaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1111-1116, dez. 2009.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes: estatística experimental**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 382 p.
- DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 99-110, Mar. 2005.
- ÉDER-SILVA, E.; FELIX, L. P.; BRUNO, R. L. A. Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 110-114, abr. 2007.
- GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissue. **Science**, New York, v. 220, n. 4601, p. 1049-1051, June 1983.
- GUERRA, M. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 741-743, 1986.
- HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. New York: Oxford University, 1995. 362 p.

KARSBURG, I. V.; BATTISTIN, A. Meiose e número cromossômico de cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 4, n. 1, p. 47-60, 2006.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, Lund, v. 52, p. 201-220, 1964.

LLERAS, E.; GIACOMETTI, D. C.; CORADIN, L. Áreas críticas de distribución de palmas en las Americas para colecta, evaluación y conservación. In: INFORME DE LA REUNIÓN DE CONSULTA SOBRE PALMERAS POCO UTILIZADAS DE AMERICA TROPICAL, 1., 1983, Turrialba. **Annales...** Turrialba: FAO, 1983. p. 67-101.

LOUREIRO, J. C. M. **Flow cytometric approaches to study plant genomes**. 2007. 122 p. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade de Aveiros, Aveiros, 2007.

MARIE, D.; BROWN, S. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, Paris, v. 78, n. 1/2, p. 41-51, 1993.

OLIVEIRA, L. C. **Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe***. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

READ, R. W. Chromosome numbers in the Coryphoidea. **Cytologia**, Tokyo, v. 30, p. 385-391, 1965.

_____. New chromosome counts in palms. **Principes**, Lawrence, v. 28, p. 20-30, 1966.

RÖSER, M. Chromosome structures and karyotype rearrangement in Palms (Palmae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, n. 83, p. 61-71, 1999.

_____. DNA amounts and qualitative properties of nuclear genomes in palms (Arecaceae). In: WILSON, K. L.; MORRISON, D. A. (Ed.). **Monocots: systematics and evolution**. Melbourne: CSIRO, 2000. p. 538-544.

_____. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Vienna, v. 189, n. 1, p. 83-122, 1994.

_____. Trends in the karyo-evolution of palms. In: KEW CHROMOSOME CONFERENCE, 4., 1995, Kew. **Proceedings...** Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. p. 249-265.

_____. Variation and evolution of karyotype characters in palm subfamily Coryphoideae Sl. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 106, n. 2, p. 170-182, 1993.

RÖSER, M.; JOHNSON, M. A. T.; HANSON, L. Nuclear DNA amounts in palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1997.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. New York: A. Wesley, 1971. 216 p.

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

ZAMBRANA, N. Y. P. et al. Diversity of palm uses in the western Amazon. **Biodiversity and Conservation**, Bengaluru, v. 16, n. 10, p. 2771-2787, Oct. 2007.

ZARCO, C. R. A new method for estimating karyotype asymmetry. **Taxon**, Utrech, v. 35, n. 3, p. 526-530, 1986.