



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE
***Syagrus harleyi* (Mart) Becc (Arecaceae), PALMEIRA ENDÊMICA DA CHAPADA**
DIAMANTINA

LORENA SOUZA SILVA



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Jequié-BA

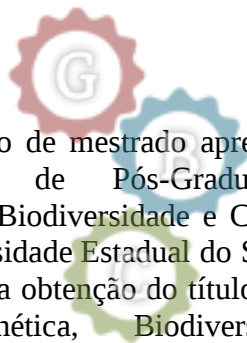
2020



LORENA SOUZA SILVA

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Syagrus harleyi* (Mart) Becc
(Arecaceae), PALMEIRA ENDÊMICA DA CHAPADA DIAMANTINA**

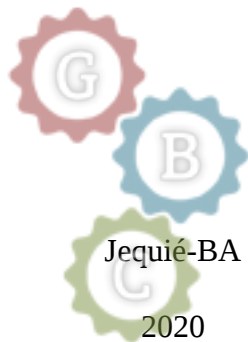


Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Waldschmidt

Coorientadores: Prof. Dr. Derval Gomes Pereira e Prof. Dr. Eduardo Mariano Neto



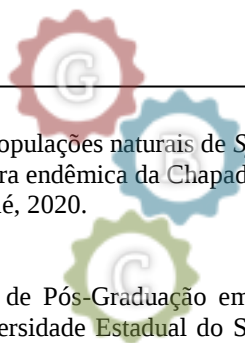
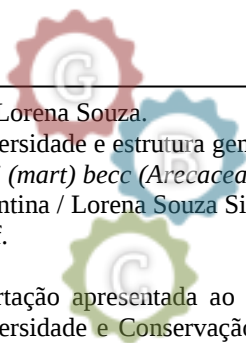
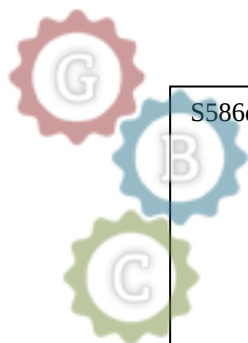
Jequié-BA

2020

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

S586d Silva, Lorena Souza.

Diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Syagrus harleyi* (mart) becc (Arecaceae), palmeira endêmica da Chapada Diamantina / Lorena Souza Silva.- Jequié, 2020.

52f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação da Profa. Dra. Ana Maria Waldschmidt e coorientação dos Profs. Drs. Derval Gomes Pereira e Eduardo Mariano Neto)

1.Coco de raposa 2.Conservação 3.Marcadores moleculares
4.Variabilidade genética I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
II.

CDD – 378

Rafaella Cância Portela de Sousa - CRB 5/1710. Bibliotecária – UESB - Jequié



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
Nº 16.825, de 04.07.2016

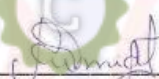
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Syagrus harleyi* (Mart) Becc (Arecaceae), PALMEIRA ENDÊMICA DA CHAPADA DIAMANTINA”.

Autor (a): Lorena Souza Silva

Orientador (a): Profa. Dra. Ana Maria Waldschmidt

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, pela Banca Examinadora:


Prof. Dr. Paulo Roberto A. de M. Affonso – UESB / Jequié, BA


Prof. Dr. Paulo Roberto A. de M. Affonso – UESB / Jequié-BA


Dra. Daniela Bitencourt Borges

Data de realização: 09 de setembro de 2020.

Campus de Jequié

(73) 3528-9725 | ppgbcb@uesb.edu.br

Campus de Itapetinga
Praça da Primavera, 40
Bairro Primavera
CEP 45.700-000
FAX: (77) 3261 - 8600

Campus de Jequié
Rua José Manoel Sobrinho, s/n
Bairro Jequiésinho
CEP 45.200-000
FAX: (73) 3528 - 9610

Campus de Vitória da Conquista
Estrada do Bem Querer, km 4
Bairro Universitário
CEP: 45031 - 300
FAX: (77) 3424 - 8600



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

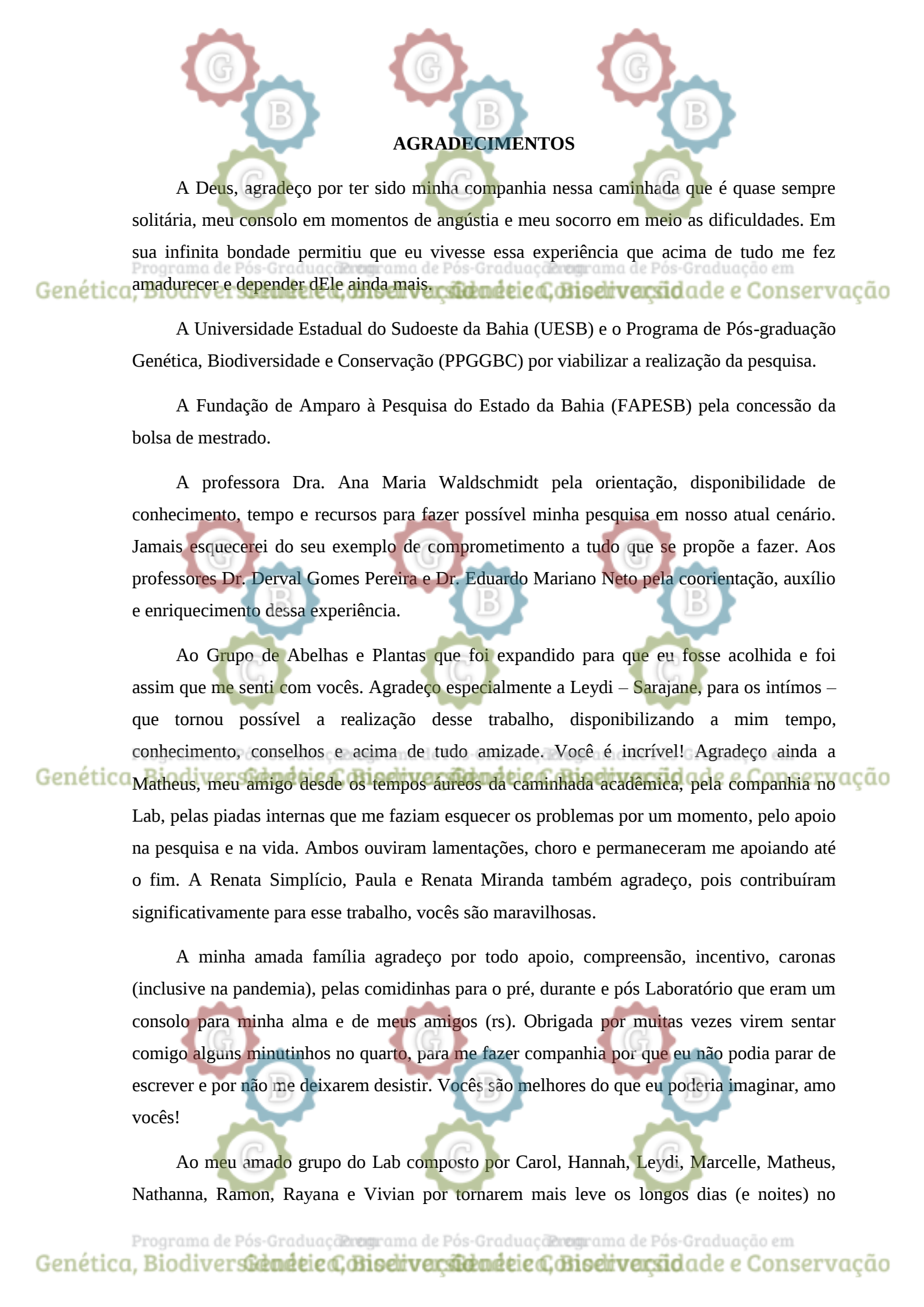


Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



A Deus, o meu Senhor, que até aqui me sustentou!

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço por ter sido minha companhia nessa caminhada que é quase sempre solitária, meu consolo em momentos de angústia e meu socorro em meio as dificuldades. Em sua infinita bondade permitiu que eu vivesse essa experiência que acima de tudo me fez amadurecer e depender dEle ainda mais.

A Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e o Programa de Pós-graduação Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) por viabilizar a realização da pesquisa.

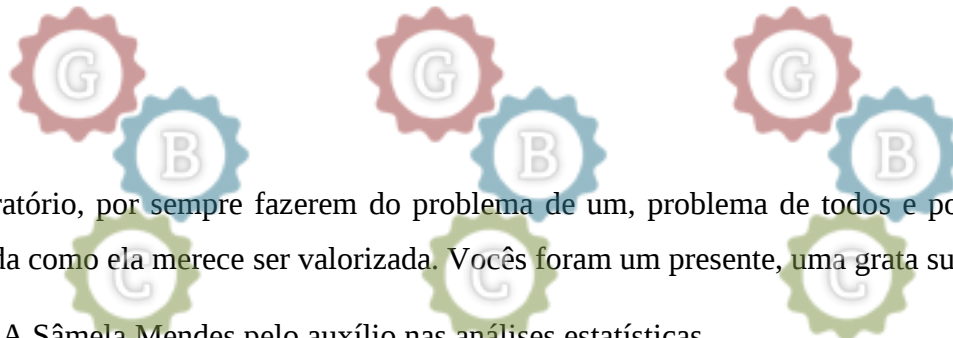
A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de mestrado.

A professora Dra. Ana Maria Waldschmidt pela orientação, disponibilidade de conhecimento, tempo e recursos para fazer possível minha pesquisa em nosso atual cenário. Jamais esquecerei do seu exemplo de comprometimento a tudo que se propõe a fazer. Aos professores Dr. Derval Gomes Pereira e Dr. Eduardo Mariano Neto pela coorientação, auxílio e enriquecimento dessa experiência.

Ao Grupo de Abelhas e Plantas que foi expandido para que eu fosse acolhida e foi assim que me senti com vocês. Agradeço especialmente a Leydi – Sarajane, para os íntimos – que tornou possível a realização desse trabalho, disponibilizando a mim tempo, conhecimento, conselhos e acima de tudo amizade. Você é incrível! Agradeço ainda a Matheus, meu amigo desde os tempos áureos da caminhada acadêmica, pela companhia no Lab, pelas piadas internas que me faziam esquecer os problemas por um momento, pelo apoio na pesquisa e na vida. Ambos ouviram lamentações, choro e permaneceram me apoiando até o fim. A Renata Simplício, Paula e Renata Miranda também agradeço, pois contribuíram significativamente para esse trabalho, vocês são maravilhosas.

A minha amada família agradeço por todo apoio, compreensão, incentivo, caronas (inclusive na pandemia), pelas comidinhas para o pré, durante e pós Laboratório que eram um consolo para minha alma e de meus amigos (rs). Obrigada por muitas vezes virem sentar comigo alguns minutinhos no quarto, para me fazer companhia por que eu não podia parar de escrever e por não me deixarem desistir. Vocês são melhores do que eu poderia imaginar, amo vocês!

Ao meu amado grupo do Lab composto por Carol, Hannah, Leydi, Marcelle, Matheus, Nathanna, Ramon, Rayana e Vivian por tornarem mais leve os longos dias (e noites) no



Laboratório, por sempre fazerem do problema de um, problema de todos e por valorizarem comida como ela merece ser valorizada. Vocês foram um presente, uma grata surpresa.

A Sâmela Mendes pelo auxílio nas análises estatísticas.

A todos vocês meu muito obrigada!

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

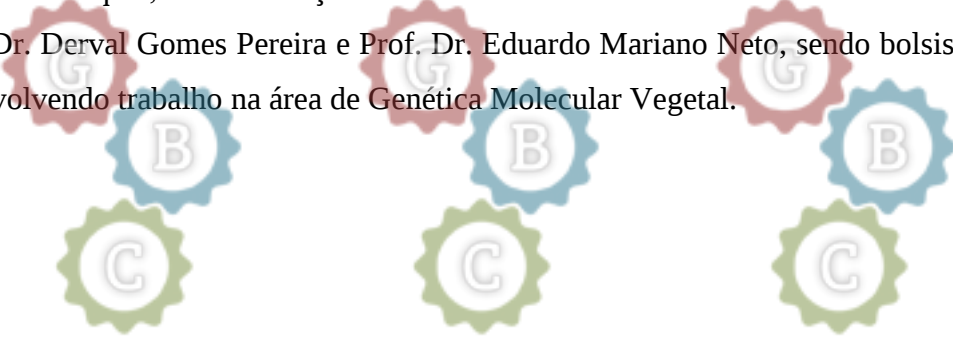


Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



BIOGRAFIA

Lorena Souza Silva, filha de Paulo Sérgio Pereira Silva e Ramália Souza Silva, nasceu em 01 de abril de 1995, em Jequié, Bahia. cursou Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no campus de Jequié, entre os anos de 2013 e 2017. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica pela CNPq (2014-2015) e FAPESB (2015-2016) no Laboratório de Genética Molecular sob orientação do Prof. Dr. Derval Gomes Pereira e coorientação da Profa. Dra. Ana Maria Waldschmidt. Ao final da graduação em 2017 apresentou a monografia intitulada “Diversidade genética em populações naturais de *Syagrus coronata* (Mart) Becc (Arecaceae), por meio de marcadores moleculares ISSR”. No ano seguinte, ingressou no mestrado pelo Programa de Pós-Graduação Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus de Jequié, sob orientação da Profa. Dra. Ana Maria Waldschmidt e coorientação do Prof. Dr. Derval Gomes Pereira e Prof. Dr. Eduardo Mariano Neto, sendo bolsista FAPESB e desenvolvendo trabalho na área de Genética Molecular Vegetal.



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



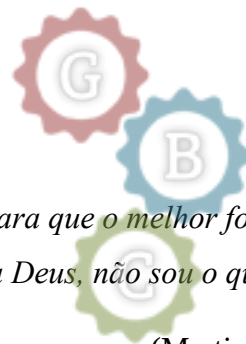
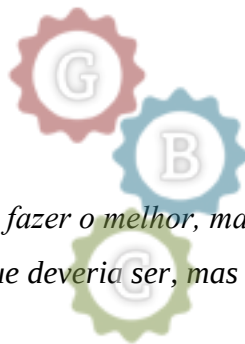
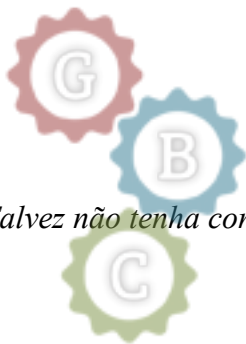
Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



RESUMO

Arecaceae é uma família de palmeiras que possui grande destaque devido a sua importância ecológica para o bioma Caatinga. Entre elas, *Syagrus harleyi*, conhecida popularmente por coco de raposa, é uma palmeira endêmica da Chapada Diamantina, de caule subterrâneo e que ainda não foi estudada sobre seus aspectos genéticos. Assim, o objetivo desse estudo consistiu em verificar a diversidade e a estruturação genética de populações naturais de *S. harleyi*. Para isso, foram analisados 100 indivíduos pertencentes a cinco localidades de ocorrência natural da espécie na Chapada Diamantina cujos DNAs foram amplificados com 10 marcadores microssatélites (SSR) heterólogos. Observou-se 90% de *loci* polimórficos (PLP), média de Heterozigosidade esperada $H_e=0,532$ e média de Heterozigosidade observada $H_o=0,768$. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) demonstrou que 89% da variação está dentro das populações e baixo índice de estruturação genética ($F_{ST} = 0,10$ $p<0.05$). Apesar dos diferentes resultados implementados pelas análises bayesianas STRUCTURE ($K=3$) e GENELAND ($K=4$) como números de grupos mais prováveis, o PCoA (Análise das Coordenadas Principais) separou as populações em quatro grupos, podendo ser então considerado o mais provável número de agrupamentos genéticos. A separação das populações PA (Palmeiras) e LE (Lençóis) em diferentes agrupamentos genéticos e o maior nível de estrutura entre elas podem ser explicados pela heterogeneidade de ambientes em que estas populações estão distribuídas, influenciando na polinização da espécie. A troca de alelos entre populações dos extremos da distribuição sinaliza a efetividade na dispersão dos frutos por aves e mamíferos, mesmo em longas distâncias. A menor variabilidade genética encontrada em MU (Mucugê) pode ser explicada pela variação em caracteres reprodutivos nos indivíduos desta população e pela fragmentação. Assim, os resultados obtidos para *S. harleyi* podem auxiliar em futuros projetos de manejo e conservação da espécie e fornecem dados para monitoramento da distribuição da diversidade genética em populações propensas a eventos incendiários.

Palavras-chave: Coco de raposa, conservação, marcadores moleculares, variabilidade genética.



ABSTRACT

Arecaceae is a family of palm trees that has great prominence due to its ecological importance for the Caatinga biome. Among them, *Syagrus harleyi*, popularly known as fox coconut, is an endemic palm of the Chapada Diamantina, with an underground stem and which has not yet been studied about its genetic aspects. Thus, the aim of this study was to verify the diversity and genetic structure of natural populations of *S. harleyi*. For that, 100 individuals belonging to five naturally occurring locations of the species in Chapada Diamantina were analyzed whose DNAs were amplified with 10 heterologous microsatellite markers (SSR). 90% of polymorphic loci (PLP) were observed, mean expected heterozygosity $H_e = 0.532$ and mean observed heterozygosity $H_o = 0.768$. Molecular Analysis of Variance (AMOVA) showed that 89% of the variation is within populations and has a low genetic structure index ($F_{ST} = 0.10$ $p < 0.05$). Despite the different results implemented by the STRUCTURE ($K = 3$) and GENELAND ($K = 4$) Bayesian analyzes as the most likely group numbers, the PCoA (Principal Coordinate Analysis) separated the populations into four groups and can therefore be considered the most likely number of genetic clusters. The separation of PA (Palmeiras) and LE (Lençóis) populations into different genetic groups and the higher level of structure between them can be explained by the heterogeneity of environments in which these populations are distributed, influencing the pollination of the species. The exchange of alleles between populations at the extremes of the distribution signals the effectiveness in the dispersion of fruits by birds and mammals, even over long distances. The lower genetic variability found in MU (Mucugê) can be explained by the variation in reproductive traits in individuals in this population and by fragmentation. Thus, the results obtained for *S. harleyi* can assist in future management and conservation projects of the species and provide data for monitoring the distribution of genetic diversity in populations prone to incendiary events.

Keywords: Coco de raposa, conservation, molecular markers, genetic variability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Indivíduo da palmeira *Syagrus harleyi* (Arecaceae) localizado no município de Ibicoara..... 18

Figura 2. Distribuição geográfica das localidades amostradas para *Syagrus harleyi* e as proporções de atribuição genética de cada população a cada um dos três grupos revelados pelo STRUCTURE, representadas em gráficos pizza.....24

Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 0,8% de DNA genômico de amostras foliares de *Syagrus harleyi* pertencentes a localidade de Lençóis-BA.....28

Figura 4. (A) Gráfico ΔK indicando o verdadeiro K ou o nível mais alto da estrutura (K=3); (B) Relação genética entre cinco populações naturais de *Syagrus harleyi* (99 indivíduos) estimadas pelo STRUCTURE com base em dez marcadores SSR (K = 3). As linhas verticais representam os indivíduos e as cores indicam o coeficiente de associação para cada indivíduo; barras com duas ou três cores representam genótipos com caráter de mistura.....30

Figura 5. (A) Mosaico de distribuição espacial de grupos genéticos em *Syagrus harleyi* com base no algoritmo de agrupamento implementado pelo GENELAND. Os pontos indicam a localização geográfica das populações e cada cor representa um agrupamento genético diferente (K=4); (B) Gráfico de Densidade indicando o melhor K.....31

Figura 6. Gráfico da Análise das Coordenadas Principais (PCoA) da primeira e da segunda coordenadas principais com base na composição genética a partir da análise com SSR das cinco populações de *Syagrus harleyi*.....33

Figura 7. Abelha *Trigona sp.* visitando um indivíduo da palmeira *Syagrus harleyi* no município de Lençóis-BA.....37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localidades amostradas de *Syagrus harleyi* no estado da Bahia.....23

Tabela 2. Distâncias geográficas (em quilômetros) entre as cinco populações de *Syagrus harleyi* coletadas no estado da Bahia, Brasil.....37

Tabela 3. Locos microsatélites heterólogos selecionados para amplificação das amostras de *Syagrus harleyi*.....25

Tabela 4. Parâmetros genéticos referentes aos dez *loci* SSR analisados nas populações de *Syagrus harleyi*.....27

Tabela 5. Análise da estrutura populacional e divergência genética em dez populações de *Syagrus harleyi* baseada em dez *primers* SSR.....30

Tabela 6. Valores de F_{ST} par a par por população (acima da diagonal) e Distância Genética par a par de Nei (1978) (abaixo da diagonal) para cinco populações de *Syagrus harleyi* no estado da Bahia, Brasil.....33

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AgNO: Nitrato de Prata

AMOVA: Análise de Variância Molecular

AN: Andaraí

bp: Pares de Bases

CTAB: Brometo de cetiltrimetilamônio

ΔK : deltaK

dNTPs: Desorribonucleotídeos Fosfatados

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg

FIS: Coeficiente de Endogamia

F_{ST}: Índice de Estruturação Genética

H_e: heterozigosidade esperada

H_o: heterozigosidade observada

IB: Ibicoara - BA

K: número de grupos formados

LE: Lençóis - BA

MgCl: Cloreto de Magnésio

MU: Mucugê

Na: Número de alelos por *primer*

NaCl: Cloreto de Sódio

NaOH: Hidróxido de Sódio

PA: Palmeiras - BA



PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

PLP: Porcentagem de *loci* polimórficos

PNCD: Parque Nacional da Chapada Diamantina

Rpm: rotações por minuto

SSR: Sequências de repetições simples

Ta: Temperatura de Anelamento

TE: Tris-EDTA

UTM: Universal Transverse Mercator



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Caatinga	18
2.2 Considerações sobre a família Arecaceae	19
2.3 Uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade genética.....	21
3. OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo Geral:	24
3.2 Objetivos Específicos:	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Delineamento amostral	25
4.2 Metodologia.....	27
4.2.1 Extração e amplificação de DNA:	27
4.2.2 Amplificação dos Marcadores Microssatélites.....	27
4.2.3 Análise dos Marcadores Microssatélites	29
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	37
7. CONCLUSÕES.....	42
8. REFERÊNCIAS	43



1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é um domínio morfoclimático endêmico do Nordeste brasileiro, marcado pelo clima semiárido. A característica de destaque do bioma é o endemismo de espécies de animais e plantas. Parte dessa região, mais especificamente na Chapada Diamantina, é tomada por pastagens rupestres, ambiente com vegetação quase que predominantemente arbustiva e que se desenvolve sobre afloramentos rochosos em grandes altitudes.

Dentre as famílias de plantas distribuídas pelo bioma, Arecaceae se destaca por seu grande valor ecológico, alimentício e econômico para as comunidades animais e humanas, por possuir espécies que frutificam durante todo o ano, representando uma fonte de alimento sempre disponível. A *Syagrus harleyi*, uma palmeira endêmica da Chapada Diamantina na Bahia, é uma espécie que ainda é desconhecida sobre vários aspectos de sua biologia e genética.

Para estudos genéticos populacionais, o uso de marcadores moleculares permite o acesso a informações que ajudam a esclarecer questões como a diversidade e estrutura genética das populações, se essas populações possuem indivíduos mais aparentados entre do que a média da população através do coeficiente de endogamia e fluxo gênico. Essas informações permitem inferir como está a variabilidade dentro e entre as populações, fornecendo dados que irão auxiliar no manejo da espécie e no desenvolvimento de projetos de conservação mais direcionados e específicos.

Nesse contexto, o objetivo foi caracterizar a diversidade e estrutura genética de *S. harleyi* com o intuito de conhecer como a variabilidade genética da espécie está distribuída dentro e entre suas populações e quais fatores podem estar relacionados, ampliando os conhecimentos acerca de Arecaceae.

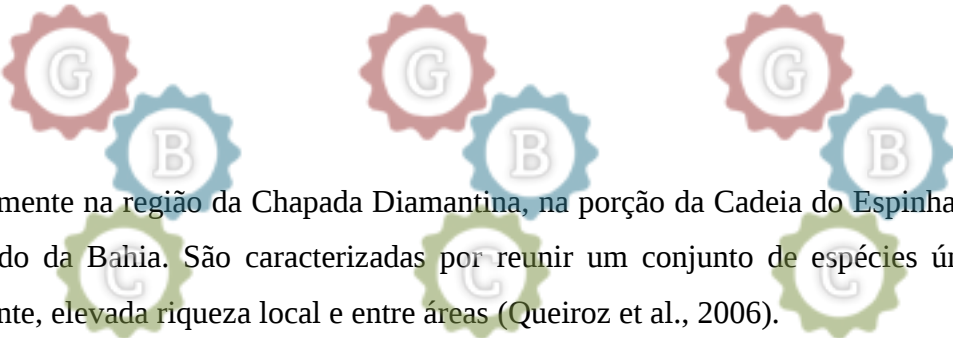
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre a Caatinga

A Caatinga (*caa* = floresta e *tinga* = branco, claro, em tupi) é o único bioma restrito ao território brasileiro, basicamente ao Nordeste do Brasil. Apesar de não possuir a exuberância das florestas tropicais úmidas, está longe de apresentar baixa diversificação de fauna e flora (Leal et al., 2005; Coutinho, 2016). O bioma é o terceiro maior do Brasil, caracterizado por períodos de seca severa que pode variar de seis a onze meses, alternados com chuvas maiores entre novembro e abril, mas que geralmente se resumem a dois ou três meses (Silva e Lacher, 2020). Sabe-se que em termos de cobertura vegetal da região Nordeste, a Caatinga representa 70%, ou seja aproximadamente 800.000 km², da região. Porém, o uso indiscriminado dessa biodiversidade está levando a diminuição do bioma original, restando apenas 30% desta (Alves et al., 2009; Antongiovanni et al., 2018).

Ocupando a posição central do estado da Bahia, a Chapada Diamantina se caracteriza por apresentar um mosaico de vegetação que inclui Cerrados, Campos Rupestres, florestas e Caatingas com grande diversidade. É uma das regiões mais elevadas do bioma Caatinga, com altitudes que variam entre 200 e 1.800 m e temperaturas mais amenas do que nas regiões circundantes, com médias anuais inferiores a 22° C. Nos maciços e serras altas, os solos são em geral rasos, pedregosos e pobres ou com grandes afloramentos de rocha (Juncá et al., 2015). O solo da Caatinga é do tipo Latossolo, em geral, e algumas espécies de vegetais nativas apresentam sílica dentro ou entre suas células como mecanismo de estratégia para sobrevivência nesse ambiente, já que as condições do ambiente podem levar a dessecação das plantas (Ricardo et al., 2018).

A alta taxa de endemismo de espécies na Caatinga é influenciada pelos diferentes habitats relacionados a substratos geológicos (superfícies sedimentares e cársticas), que reúnem endemias restritas a um único fragmento ou a vários fragmentos com perfis geológicos semelhantes (Fernandes et al., 2019). Uma parcela da paisagem da Caatinga é formada por grandes depressões periféricas, constituídas por rochas cristalinas e sedimentares. A maior parte dessa região é coberta por pastagens rupestres, vegetação rica em espécies e famílias de plantas com adaptações exclusivas que permitem o seu desenvolvimento em solos muito pobres (Silva e Lacher, 2020). Na região Nordeste, os campos rupestres ocorrem



estritamente na região da Chapada Diamantina, na porção da Cadeia do Espinhaço que ocupa o estado da Bahia. São caracterizadas por reunir um conjunto de espécies único em cada ambiente, elevada riqueza local e entre áreas (Queiroz et al., 2006).

2.2 Considerações sobre a família Arecaceae

Arecaceae, conhecida como a família das palmeiras, tem sido alvo de vários estudos nos últimos anos devido a sua grande relevância tanto ecológica quanto econômica (e.g.: Bacon et al., 2017; Silva-Cardoso et al., 2017). Grupo complexo, forma um dos principais troncos evolutivos das monocotiledôneas e representa a terceira família botânica mais importante para o ser humano (Dransfield & Uhl, 1987; Johnson, 1998). As palmeiras são consideradas pelos botânicos as aristocratas do reino vegetal, sendo denominadas de “Príncipes das florestas”, por seu porte altaneiro e elegante que as distingue facilmente de outras plantas (Bondar, 1964; Lorenzi et al., 1996). Esta família é composta por representantes dióicos e monóicos, de morfologia variada distribuídos em cinco subfamílias (Arecoideae, Ceroxyloideae, Coryphoideae, Nypoideae e Calamoideae), 252 gêneros e mais de 2600 espécies (Miranda et al., 2001; Dransfield et al., 2005). A maior parte da diversidade de espécies é representada por Arecoideae, e Cocoseae é uma tribo abundante dentro dessa subfamília agrupando os gêneros *Attalea*, *Bactris*, *Cocos*, *Desmoncus*, *Jubaea* e *Syagrus* (Judd et al., 2009; Roncal et al., 2013).

As palmeiras se destacam entre as espécies vegetais por sua notória importância para diversas comunidades animais, pois, em geral, apresentam pouca sincronia de frutificação quando comparado com outras espécies do mesmo bioma. Esse comportamento também é comum entre membros da família, como acontece com as espécies *Syagrus comosa*, *Syagrus flexuosa* e *Syagrus glazioviana*, que por possuírem períodos de frutificação variados entre si podem ser espécies fundamentais para a manutenção de frugívoros (Bruno et al., 2019). Com isso, em épocas de escassez de alimentos, as palmeiras são frequentemente chamadas de “espécies chave”, podendo causar um colapso na comunidade de frugívoros, se estas estiverem ausentes (Terborgh, 1986; Peres, 1994; Donatti, 2004). Destaca-se também a importância da família para os polinizadores como besouros, abelhas e moscas, que são atraídos por propriedades estruturais e químicas das palmeiras e visitam as inflorescências em busca de alimento e abrigo (Barfod et al., 2011).



A família tem um grande valor socioambiental por reunir espécies empregadas na alimentação tanto animal quanto humana, como pela confecção de artesanato e utensílios domésticos (Noblick, 2010; Klein et al., 2017; Oliveira, 2019). As folhas, a madeira e as sementes de muitas espécies de palmeiras são utilizadas por artesãos nativos da região em que elas ocorrem, como por exemplo o licuri, e são utilizadas como ração, cobertura de construções campestres, paredes e portas (Drumond, 2007; Campos et al., 2019).

Dentre os gêneros que compõem Arecaceae está *Syagrus*, composto por 36 espécies endêmicas da América do Sul, 30 destas ocorrendo no Brasil, com o maior centro de dispersão na região Nordeste, sobretudo nos estados da Bahia e Minas Gerais (Lorenzi et al. 2004). Das espécies situadas na Bahia, encontra-se *Syagrus harleyi* (Fig. 1), uma palmeira endêmica da Chapada Diamantina, característica por ter caule subterrâneo e não desenvolvido verticalmente, e ainda ser desconhecida sob os aspectos genéticos e ecológicos (Gonçalves et al., 2012).

Os indivíduos adultos de *S. harleyi* apresentam até 1,5 m de altura, com 3 a 8 folhas pinadas por estipe. As pinas das folhas variam em sua rigidez de acordo com a altitude em que é encontrada; quando ocorre em altitudes acima de 900 m, tendem a ser mais largas e rígidas, enquanto as folhas dos indivíduos encontrados na variação de 400 a 700 m são mais estreitas e flexíveis. A inflorescência possui flores unissexuadas e amarelas, com perianto não evidente, do tipo interfoliar. As flores masculinas são longas e coriáceas contendo seis estames e as flores femininas relativamente mais curtas com ovário súpero e trilocular, os frutos medem aproximadamente 2,5 cm de comprimento e possuem coloração alaranjada (Soares, 2020). Sua forma de vida é do tipo Hemicriptófito, ou seja, a parte aérea da planta pode morrer e rebrotar pois suas gemas de renovo ficam próximas ao solo. Essa característica pode conferir vantagem para sobrevivência, dependendo das condições do ambiente em que a espécie ocorre (Neves e Conceição, 2010; Noblick, 2019). Após uma queimada de um campo rupestre na Chapada Diamantina, entre seis espécies que rebrotaram estava *S. harleyi* (Neves e Conceição, 2010). Vê-se então, a sua importância na sucessão ecológica, como espécie pioneira, em um ecossistema perturbado.

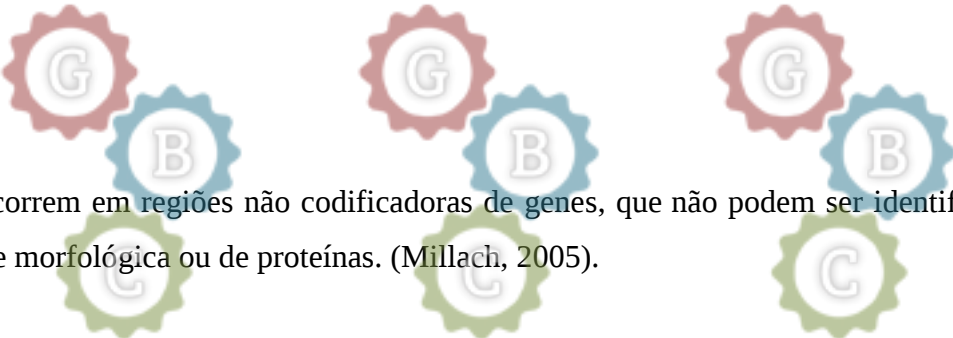


Figura 1. Indivíduo da palmeira *Syagrus harleyi* (A), inflorescência (B) e frutos (C). Fonte: Acervo pessoal.

Somando-se a isso, a sobrevivência das populações depende sobremaneira de como elas respondem a ação do acaso ou a fatores estocásticos. A estocasticidade genética abrange a depressão endogâmica, perda de variabilidade genética e acúmulo de mutações deletérias (Frankham et al., 2008). Avaliar o fluxo gênico e dispersão de uma espécie através de estudos de estruturação populacional permite estimar a diferenciação genética de populações ao longo de sua distribuição geográfica e abordar como a espécie pode ter chegado ao padrão atual de diversidade (Zolet et al., 2017). Embora *S. harleyi* tenha sido estudada quanto a sua demografia (Gonçalves et al., 2012), ainda não existem estudos moleculares que indiquem o nível de diversidade genética em populações naturais da espécie.

2.3 Uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade genética

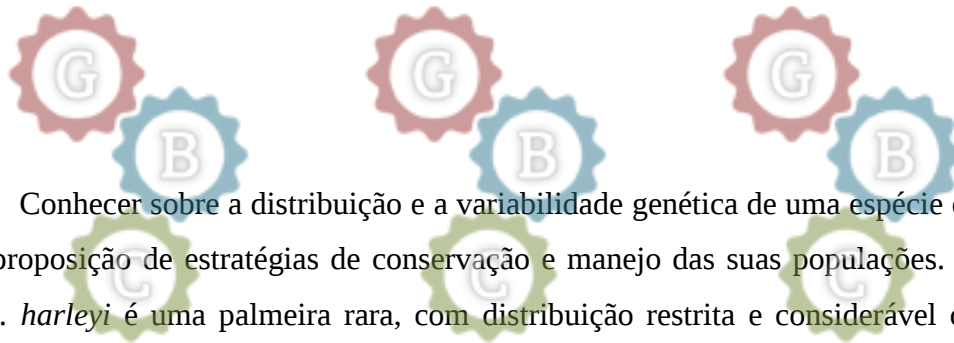
Marcadores moleculares são definidos como fragmentos de DNA que sinalizam padrões de marcas no genoma que podem ser relacionados a diversidade genética e inter-relações genéticas entre indivíduos, espécies e/ou grupos de espécies. O acesso a essas informações permite entender a capacidade das espécies de lidar com pressões ambientais e avaliar se essas espécies correm risco de extinção, dados essenciais para o manejo de espécies. São muito utilizados e valorizados em áreas como genética, biologia molecular e biotecnologia para pesquisas com genética de populações, filogeografia, filogenia molecular e mapeamento genético (Frankham, 2003; Zolet et al., 2017). Podem ser classificados de acordo com dois tipos de herança alélica: dominantes (não permitem a diferenciação entre indivíduos heterozigotos) ou codominantes (permitem a diferenciação entre indivíduos) (Adhikari et al., 2017). O avanço principal que essas técnicas trazem é a possibilidade de identificar mutações



que ocorrem em regiões não codificadoras de genes, que não podem ser identificadas com a análise morfológica ou de proteínas. (Millach, 2005).

A partir de metodologias de análise molecular obtêm-se informações sobre a variabilidade genética, essencial para estudos de conservação das espécies. Os marcadores genéticos podem ser divididos em três categorias: baseados em hibridização, em PCR (Reação em Cadeia da Polimerase ou *Polymerase Chain Reaction*) e marcadores baseados em sequenciamento. Abordagens baseadas em PCR são comumente utilizadas devido à sua simplicidade e exigência de pequenas quantidades de DNA. Um dos marcadores moleculares mais utilizados nos últimos estudos, os microssatélites ou SSR (Sequências de Repetições Simples ou *Simple Sequence Repets*), se caracterizam pela codominância e por utilizarem *primers* específicos. Esse marcador tem sido utilizado com a finalidade de compreender a base molecular de diversos aspectos biológicos através da detecção e análise de polimorfismos genéticos (Bornet & Branchard, 2001; Faleiro, 2007; Zolet et al., 2017).

Na família Arecaceae, os marcadores SSR tem sido aplicados em diversos estudos populacionais. Para *Syagrus romanzoffiana*, palmeira endêmica da América do Sul, demonstrou-se que, apesar do alto número de indivíduos, a espécie possui alta consanguinidade nas populações analisadas (Laindorf et al., 2018). A partir da análise de 38 genótipos de *Phoenix sylvestris* foi observado que as populações de Amtoli, Doshmina e Kuakata na costa de Bangladesh continham a maior diversidade de alelos em 38 genótipos (Huda et al., 2019). Também, dados de agrupamento hierárquico em um banco de germoplasma de *Cocos nucifera* agruparam os genótipos em dois grupos principais com dois subgrupos em cada, correspondendo às origens geográficas das amostras (Geethanjali et al., 2018). Na avaliação de três populações de *Acrocomia emensis* a análise bayesiana separou três grupos distintos, apesar destas apresentarem um grande compartilhamento de alelos (Neiva et al., 2016). Um estudo relacionou as diferenças fenotípicas de *Euterpe edulis* com o padrão de diversidade genética em oito populações distribuídas no Cerrado e Mata Atlântica. Foi encontrada uma baixa diversidade genética para espécie e dois agrupamentos genéticos, onde um reunia o morfotipo verde em um agrupamento e os morfotipos amarelo e vermelho no segundo agrupamento (Coelho et al., 2020). Em um estudo recentemente realizado com *Syagrus coronata*, no Brasil, foram identificados altos níveis de diversidade genética e níveis de estruturação genética moderados para a espécie (Simplício et al., no prelo).



Conhecer sobre a distribuição e a variabilidade genética de uma espécie é fundamental para proposição de estratégias de conservação e manejo das suas populações. Considerando que *S. harleyi* é uma palmeira rara, com distribuição restrita e considerável capacidade de regeneração ambiental é importante prevenir a redução da diversidade genética e/ou extinção da espécie. Nesse contexto, esse estudo tem como objetivo avaliar o status de diversidade e estrutura genética em populações naturais de *S. harleyi*, uma espécie endêmica, e auxiliar futuros programas de conservação em um manejo eficaz da espécie.



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Estimar a diversidade e a estrutura genética de *Syagrus harleyi*, espécie endêmica da Chapada Diamantina, em sua área natural de ocorrência para gerar subsídios para planos de manejo e conservação da espécie.

3.2 Objetivos Específicos:

- Ampliar os conhecimentos acerca da distribuição natural de *S. harleyi*;
- Testar locos SSR heterólogos para espécie;
- Analisar a diversidade e estrutura genética populacional de *S. harleyi* por meio de marcadores SSR, a fim de verificar a influência da fragmentação e da distribuição geográfica na diversidade genética das populações amostradas;
- Fornecer subsídios para futuros monitoramentos genéticos sobre as populações que estão sob influência de fatores estocásticos, como o fogo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento amostral

Inspeções de campo foram realizadas em sete municípios ao longo da distribuição geográfica de *S. harleyi*. Expedições de coletas foram realizadas nos municípios de Andaraí, Ibicoara, Lençóis, Mucugê e Palmeiras, situados na Chapada Diamantina (Parque Nacional da Chapada Diamantina), Bahia (Tabela 1, Fig. 2). Foram extraídas amostras foliares jovens de 99 indivíduos de *S. harleyi* distribuídos nas cinco populações, coletadas no ano de 2015. Foi considerada uma distância mínima de 10 m entre as amostras para evitar a coleta de rebroto de um mesmo indivíduo. Todas as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Genética Molecular da UESB – Jequié, onde foram devidamente cortadas e armazenadas em papel alumínio a -20°C. Amostras de inflorescência foram coletadas e depositadas no Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (HUESB).

Tabela 1. Localidades amostradas de *Syagrus harleyi* no estado da Bahia.

Localidade	Código	Coordenadas geográficas	A	N
Palmeiras	PA	12° 26' 35,2'' S; 041° 29' 05,9'' W	701	20
Lençóis	LE	12° 27' 47,9'' S; 041° 25' 04,9'' W	753	20
Andaraí	AN	12° 52' 05,1'' S; 041° 18' 29,7'' W	522	19
Mucugê	MU	13° 00' 00,2'' S; 041° 22' 53,4'' W	1004	20
Ibicoara	IB	13° 24' 02,9'' S; 041° 14' 04,7'' W	1075	20

A = altitude em metros e N = número de indivíduos amostrados.

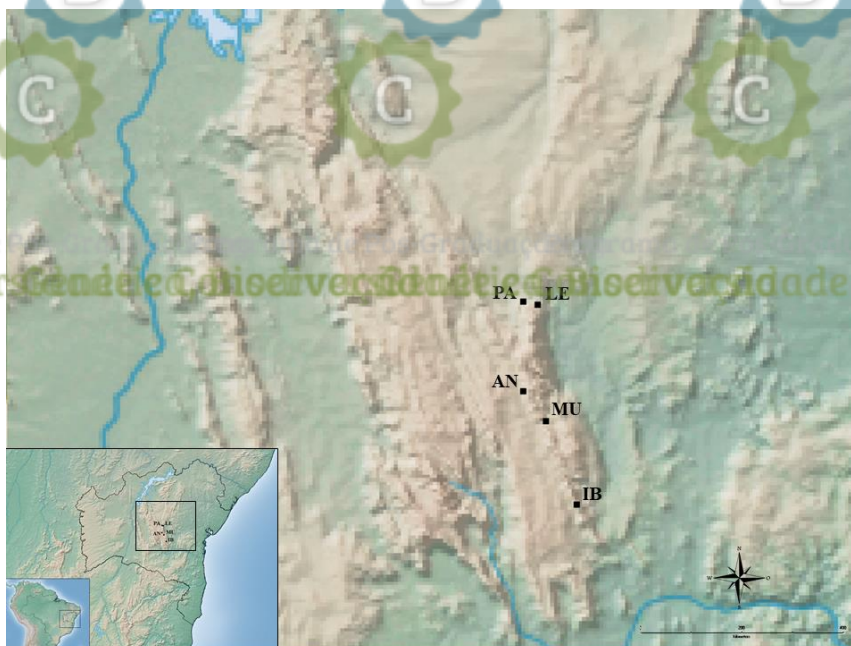


Figura 2. Distribuição geográfica das cinco localidades na região da Chapada Diamantina – Bahia, amostradas para *Syagrus harleyi*: Palmeiras (PA), Lençóis (LE), Andaraí (AN), Mucugê (MU) e Ibicoara (IB). A inserção destaca a região central do estado da Bahia.

A distância geográfica entre todas as populações foi coletada através do DIVA-GIS (Hijmans et al., 2001) (Tabela 2), utilizando como parâmetro as coordenadas geográficas coletadas em campo. As coordenadas geográficas foram transformadas de graus, minutos e segundos para coordenadas UTM (Universal Transverse Mercator) para o cálculo da distância entre as localidades.

Tabela 2. Distâncias geográficas (em quilômetros) entre as cinco populações de *S. harleyi* coletadas no estado da Bahia, Brasil.

	PA	LE	AN	MU	IB
PA	0				
LE	8,0	0			
AN	47,0	46,0	0		
MU	63,0	61,0	20,0	0	
IB	108,0	106,0	65,0	45,0	0

4.2 Metodologia

4.2.1 Extração e amplificação de DNA

A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo de Arruda et al. (2017) com modificações. A metodologia consiste no tampão de lise com 700 μ L composto por Tris-HCL 100mM pH 8,0, EDTA 20 mM (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético), CTAB 3% (Brometo de cetiltrimetilamônio), NaCl 2,5 M, Polivinilpirrolidona 2% e 2-mercaptoetanol 5%. A partir de 100 g de tecido macerado e mistura deste com o tampão, as amostras foram incubadas a 60°C por 20 min, sendo vertidas a cada 10 min em vórtex. Após a incubação, para a desproteinização foram adicionados 600 μ L de clorofórmio-álcool isoamílico 24:1 (v/v) às amostras, sendo invertidas durante 5 min e, em seguida centrifugadas à 13000 rpm por 5 min. O processo de desproteinização repetiu-se após o sobrenadante ser transferido para novos tubos, com adição de 50 μ L de CTAB 10%. Ao sobrenadante final foram adicionados 400 μ L de isopropanol gelado e mantidos a -20°C, por no mínimo 2 h. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas à 13000 rpm por 30 min e o sobrenadante descartado. O *pellet* formado foi lavado duas vezes com álcool 70%, seguida de uma limpeza com álcool 95% e secado à temperatura ambiente. Após a secagem, as amostras foram ressuspensas em 50 μ L de tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM). Para quantificar o DNA extraído e avaliar sua integridade, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 0,8% e em seguida avaliadas através do espectrofotômetro Nanodrop para a medição da concentração de ácido nucléico e da pureza das amostras de ácido nucleico < 15000 (dsDNA) ng/ μ L sem diluição. Duas alterações foram necessárias no protocolo para que este fosse eficiente na obtenção de DNA íntegro para a espécie: o aumento do período de centrifugação para 30min após *overnight* e diminuição na quantidade de tampão TE adicionado no final da extração para 50 μ L.

4.2.2 Amplificação dos Marcadores Microsatélites

Um total de 17 locos microsatélites desenvolvidos para *Bactris gasipaes* (Billote et al., 2004; Rodrigues et al., 2004), *Cocos nucifera* (Perera et al., 1999 e Rivera et al., 1999) e *Euterpe edulis* (Gaioto et al., 2001) foram testados para *S. harleyi* e as marcas de Taq DNA Polimerase Biotools, Invitrogen e Phoneutria. As amplificações de DNA para os marcadores SSR (microsatélites) foram realizadas de acordo com o protocolo de Peters et al. (1998). O

coquetel otimizado para as reações de PCR contendo 10 µL foi composto por: 0,4 µL de dNTPs a 2,5 mM, 1,0 µL de tampão 10X, 0,5 µL de MgCl₂ a 25 mM, 6,5 µL de H₂O Mili-Q (Millipore) autoclavada, 0,1 µL Taq polimerase Platinum (5 U/µL) (Invitrogen), 0,2 µL de cada *primer* (*Forward* e *Reverse*) a 20 mM e 1,0 µL de DNA genômico (~20 ng). O programa de condições de amplificação envolve uma etapa de desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C, seguida de 40 ciclos de 30 segundos para a desnaturação (94°C), 1 minuto para anelamento dos iniciadores seguindo a temperatura ideal para cada *primer* (Tabela 3) e 1 minuto para extensão (72°C). A finalização do programa consta de uma etapa de 5 minutos a 72°C para a completa extensão dos produtos amplificados.

Tabela 3. Locus microsatélites heterólogos selecionados para amplificação das amostras de *Syagrus harleyi*.

Locus	Sequências dos Primers	Tamanho dos fragmentos (bp)	Ta	Na
Bg02-09	F: CGCAGCAGCAGCAATAAATA R: TCCAGCAACTTTCAGTCGAG	108-150	56	3
Bg02-10	F: ATTGGGTCCAGATCCTCTTT R: GTGGCACACATGGGGTTC	150-176	58	3
CNZ04	F: CCTATTGCACCTAAGCAATTA R: TGATTTTCGAAGAGAGGTC	128-158	56	4
CNZ10	F: CCTATTGCACCTAAGCAATTA R: ATGATTTTCGAAGAGAGGTC	129-169	56	8
CNZ50	F: TCGACTAAGTGTTGTCCATTC R: ATCCATCCAGGATCCCAATAT	114-120	60	1
CNZ51	F: CTTTAGGGAAAAAGGACTGAG R: ATCCATGAGCTGAGCTTGAAC	138-150	56	4
CNZ57	F: AGTGACAGCTCAAAGCAGTAT R: GTGGAGTACACAACCTATGGA	99-105	58	5
EE54	F: CATGTATCTAAGGAACAAGG R: CTGTGCTCTCTCATTCTCA	113-115	58	8
mBgCIR066	F: GCATGTTGCATTGACTA R: GAATCCTGGTTCAGATACT	253-257	50	7
mBgCIR091	F: CAAGAACAGGCTCAGTCTA	200-212	56	5

R: TGCAATCAACCCAAGAT

Total

48

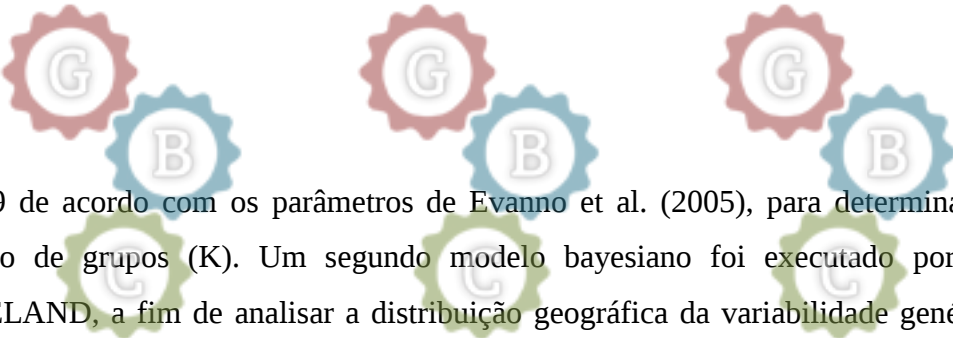
Ta: Temperatura de anelamento em ° C; Na: Número de alelos por *primer*.

Os produtos das amplificações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante a 8% e visualizados com coloração de nitrato de prata 0,2%. O gel foi fixado por sete minutos com uma solução fixadora (etanol P.A., ácido acético e 1 mL da solução de AgNO₃ a 20%), lavado por duas vezes com água destilada e submetido à revelação através da solução reveladora (NaOH 0,5 mol/L e 100 µL Formol P.A.) aquecida por 30 segundos no microondas e então dispensada sobre o gel. A solução foi agitada até que as bandas pudessem ser visualizadas no gel, que em seguida foi fotografado sob luz branca através do fotodocumentador Lpix (Loccus®).

4.2.3 Análise dos Marcadores Microssatélites

Para verificar a presença de alelos nulos foi utilizado o software MicroChecker v 2.2 (Oosterhout et al. 2004). Com o software GenAlEx (Peakall & Smouse 2012), foram calculados os seguintes índices de diversidade: Número de alelos por *primer* (NA), Percentual de *Loci* Polimórficos (PLP), Heterozigosidade observada (Ho), Heterozigosidade esperada (He), distância genética par a par de Nei, Fluxo Gênico ($N_m = [(1 / F_{ST}) - 1] / 4$) e Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para todas as populações. Com o mesmo software, para o gráfico de Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi utilizada a matriz de covariância de distâncias genéticas com padronização de dados, conforme implementado pelo programa. Foi realizada a Análise da Variância Molecular (AMOVA) dentro e entre populações com 1.000 permutações, com base no Índice de Estruturação Genética ($F_{ST} = (H_t - \text{Média de } H_e) / H_t$, sendo H_t = heterozigosidade total esperada) e o Coeficiente de Endogamia ($F_{IS} = (\text{Média } H_e - \text{Mean } H_o) / \text{Mean } H_e$) segundo Wright (1951).

Executamos o modelo de agrupamento bayesiano com o software STRUCTURE 2.2.3 (Pritchard et al., 2000). O número de populações foi ajustado para variar de um a cinco com 10 iterações, o que abrange o número máximo de locais amostrados. Foram utilizadas 1 milhão de MCMC (Cadeia de Markov Monte Carlo) com comprimento de *burn-in* de 1.000 gerações. Os resultados do STRUCTURE foram analisados via Structure Harvester Web



v.0.6.9 de acordo com os parâmetros de Evanno et al. (2005), para determinar o provável número de grupos (K). Um segundo modelo bayesiano foi executado por meio do R GENELAND, a fim de analisar a distribuição geográfica da variabilidade genética (Guillot, 2012). O número de clusters (K) foi definido de um a seis para que o verdadeiro K fosse encontrado nesse intervalo; foram utilizadas 1 milhão de MCMC com comprimento de *burn-in* de 1.000 gerações. O teste de Mantel foi realizado através do software Allele in Space (AIS) para verificar se havia correlação entre as distâncias genéticas e geográficas (Miller, 2005).



5. RESULTADOS

Das sete regiões visitadas para a coleta de *S. harleyi* que incluem Andaraí, Ibicoara, Lajedinho, Lençóis, Morro do Chapéu, Mucugê e Palmeiras conseguimos amostras somente em cinco, todas situadas na Chapada Diamantina (Tabela 1, Fig. 2) e coincidindo com a área de ocorrência citada por Gonçalves et al. (2012). O DNA obtido nas extrações foi de boa qualidade (Fig. 3) e em quantidade suficiente para amplificação e análises. A concentração média de DNA obtida foi de 270 ng/μl.

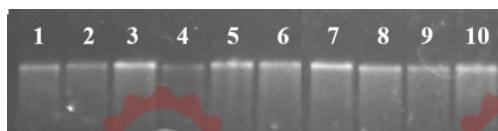


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 0,8% de DNA genômico de amostras foliares de *Syagrus harleyi* pertencentes a localidade de Lençóis-BA.

Diversidade Genética dos *Loci* SSR

Não foram encontrados alelos nulos para os 10 *loci* SSR amplificados nas cinco populações de *S. harleyi*, os quais amplificaram em temperaturas distintas, variando de 50° a 60°C (Tabela 3). No total foram detectados 48 alelos, com uma média 4,8/*locus*, variando de um (CNZ50) a oito (CNZ10 e EE54) alelos por *primer*. Foram encontrados alelos privados em quatro populações amostradas: PA, AN, MU e IB. Foram observados 90% de *loci* polimórficos (PLP). A Heterozigosidade esperada (He) variou de 0,490 (MU) a 0,574 (AN) com uma média de 0,532 e a Heterozigosidade observada (Ho) variou de 0,750 (AN) a 0,792 (IB), com uma média de 0,768 (Tabela 4). O valor negativo manifestado pelo coeficiente de endogamia ($F_{IS} = -0,463$) revela um excesso de heterozigosidade ou ausência de endogamia nas populações.

Tabela 4. Parâmetros genéticos referentes aos dez *loci* SSR analisados nas populações de *Syagrus harleyi*.

População	He	IC	Ho	IC	FIS	IC	PLP (%)
PA	0,493	±0,057	0,751	±0,096	-0,533	0,103	90
LE	0,545	±0,068	0,770	±0,103	-0,467	0,126	90
AN	0,574	±0,072	0,750	±0,109	-0,364	0,145	90
MU	0,490	±0,060	0,775	±0,107	-0,598	0,137	90
IB	0,558	±0,071	0,792	±0,099	-0,469	0,119	90
Média	0,532	±0,029	0,768	±0,044	-0,463	0,055	90

He: heteroziguidade esperada; Ho: heteroziguidade observada; IC: intervalo de confiança; PLP: Percentual de locos polimórficos.

A análise para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) revelou que todas as populações apresentavam desvios significativos em pelo menos um loco. As populações LE e IB tiveram desvios significativos para um loco, seguidas de PA e AN com desvios em dois locos e MU com desvios em três locos. O loco mais representativo entre as populações foi o mBgCIR066, apresentando desvios do EHW em três populações (LE, AN e MU).

Estrutura Populacional

A Análise da Variância Molecular (AMOVA) demonstrou que 89% da variação ocorre dentro das populações de *S. harleyi*, enquanto 11% está entre as cinco populações analisadas (Tabela 5). A média de fluxo gênico entre as cinco populações em uma geração foi $Nm=2,5$. O índice de estruturação genética revelou um índice moderado/baixo de estruturação genética nas populações $F_{ST} = 0,10$ ($p<0,05$).

Tabela 5. Análise da estrutura populacional e divergência genética em dez populações de *Syagrus harleyi* baseada em dez *primers* SSR.

	AMOVA (%)	F _{ST}	p-valor	FIS
Entre populações	11	0,10	$p<0,05^*$	-0,463
Dentro de populações	89			

*valor significativo ($p < 0,05$)

O STRUCTURE determinou um $K=3$ ($\Delta K= 148,48$) como a maior probabilidade de *clusters* existentes, com apenas um pico no valor de ΔK (Fig. 4 A e B). O *cluster* 1 representado pela cor verde agrupou as populações PA e MU, o *cluster* 2 é representado pela cor azul e é formado apenas por LE e o *cluster* 3, na cor vermelha, por AN e IB. O GENELAND separou as cinco populações em quatro grupos – grupo 1 formado por PA, grupo 2 por LE e MU, grupo 3 por AN e grupo 4 por IB (Fig 5).

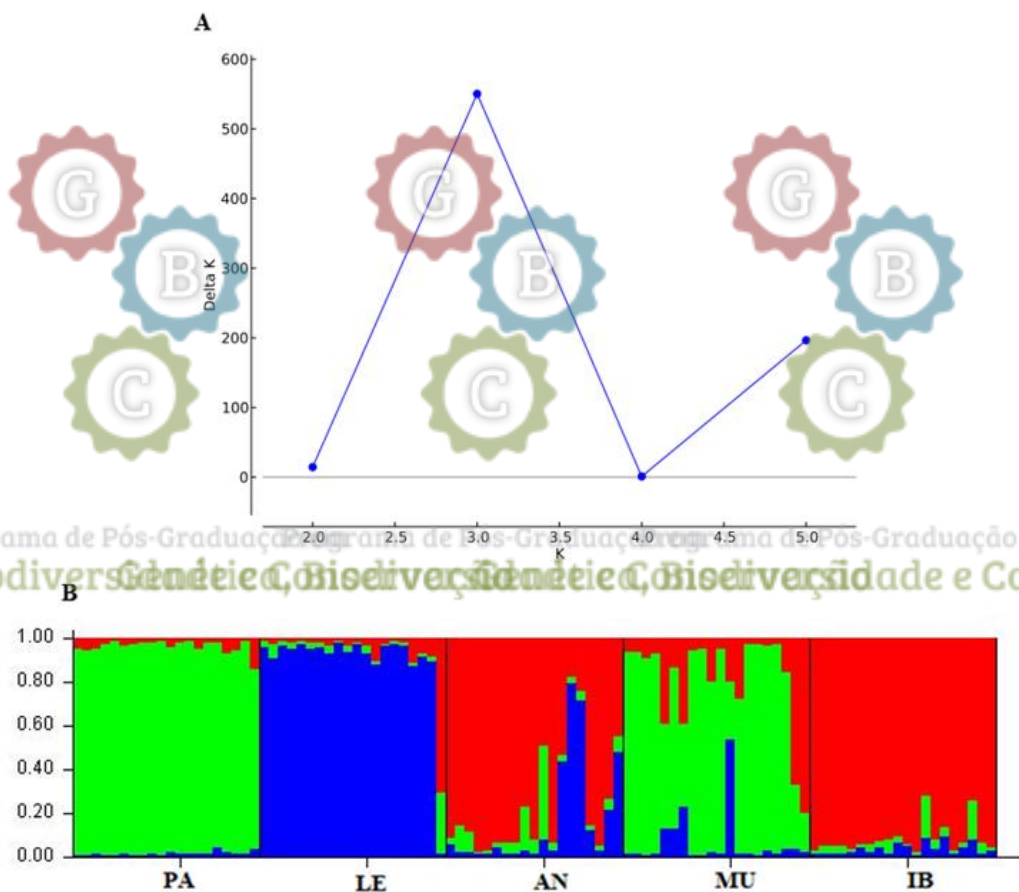
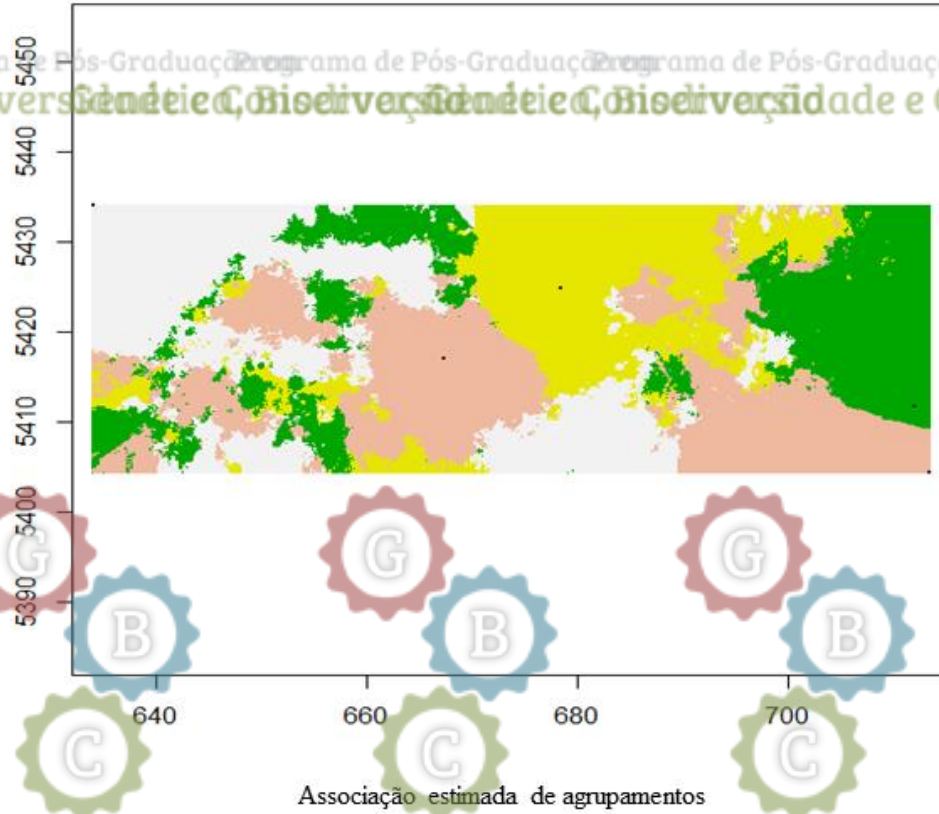


Figura 4. (A) Gráfico ΔK indicando o verdadeiro K ou o nível mais alto da estrutura ($K=3$); (B) Relação genética entre cinco populações naturais de *Syagrus harleyi* (99 indivíduos) estimadas pelo STRUCTURE com base em dez marcadores SSR ($K = 3$). As linhas verticais representam os indivíduos e as cores indicam o coeficiente de associação para cada indivíduo; barras com duas ou três cores representam genótipos com caráter de mistura.

A



B

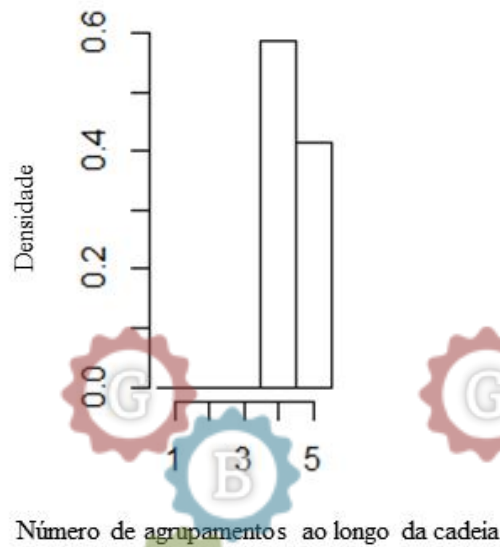


Figura 5. (A) Mosaico de distribuição espacial de grupos genéticos em *Syagrus harleyi* com base no algoritmo de agrupamento implementado pelo GENELAND. Os pontos indicam a localização geográfica das populações e cada cor representa um agrupamento genético diferente sendo o agrupamento verde PA, agrupamento bege LE e MU, agrupamento amarelo AN e agrupamento cinza IB (K=4); (B) Gráfico de Densidade indicando o melhor K.

A análise de coordenadas principais (PCoA) para as cinco populações de *S. harleyi* está alinhada com os resultados do GENELAND e também separou as populações em quatro grupos (Fig. 6). A população de MU formou o grupo I, PA formou o grupo II, no grupo III AN e IB e por fim LE formando o grupo IV. O primeiro vetor principal representou 37,18% da variação genética, o segundo vetor principal representou 31,87% e o terceiro vetor principal representou 21,62% da variação.

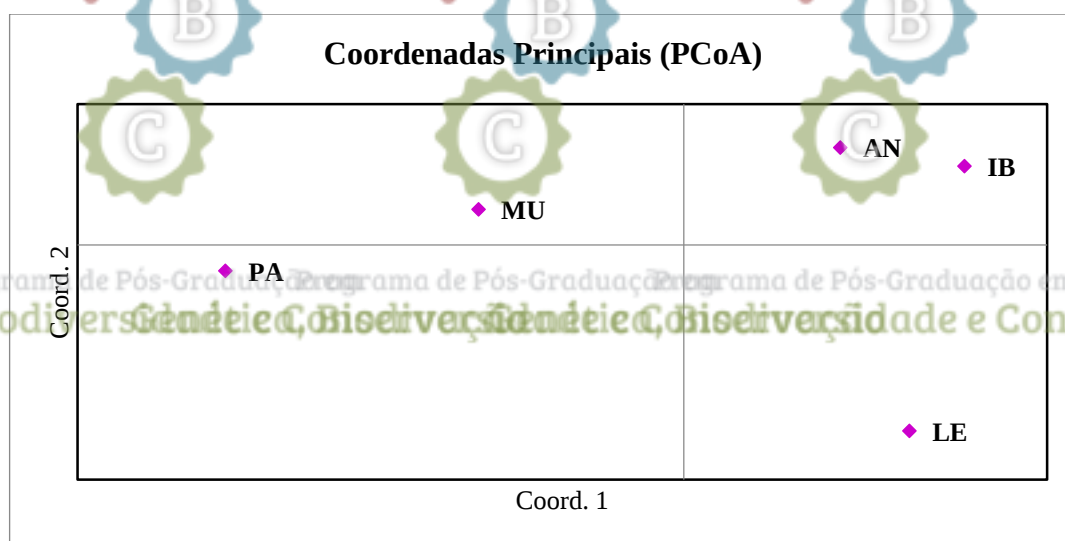


Figura 6. Gráfico da Análise das Coordenadas Principais (PCoA) da primeira e da segunda coordenadas principais com base na composição genética a partir da análise com SSR das cinco populações de *Syagrus harleyi*.

Para o índice F_{st} par a par, as populações que apresentaram menor nível de estruturação foram PA e MU (0,042) e o maior nível de estruturação foi encontrado para PA e IB (0,085). O segundo menor valor de F_{st} par a par foi encontrado para AN e MU (0,049). A distância genética de Nei mostrou que as populações mais próximas geneticamente foram PA e MU

(0,093), enquanto as mais distantes geneticamente foram PA e IB (0,240) (Tabela 6). De acordo com o teste de Mantel, existe uma baixa correlação positiva e significativa entre as distâncias genéticas e geográficas ($r=0,207$, $p<0,001$) entre as populações analisadas.

Tabela 6. Valores de F_{st} par a par por população (acima da diagonal) e Distância Genética par a par de Nei (1978) (abaixo da diagonal) para cinco populações de *Syagrus harleyi* no estado da Bahia, Brasil.

	PA	LE	AN	MU	IB
PA	0	0,083	0,077	0,042	0,085
LE	0,232	0	0,066	0,069	0,066
AN	0,222	0,217	0	0,049	0,051
MU	0,093	0,196	0,132	0	0,058
IB	0,240	0,211	0,163	0,154	0

6. DISCUSSÃO

Os evidenciam que a utilização de locos microssatélites heterólogos, estes foram eficientes ao quantificar a diversidade genética contida nas populações de *S. harleyi*. Conforme Carvalho-Zilse e Kerr (2006), o maior sucesso de transferência de marcadores ocorre entre espécies filogeneticamente mais próximas e, por isso fizemos a transferibilidade dos marcadores microssatélites desenvolvidos para *B. gasipaes* (Billotte et al., 2004; Rodrigues et al., 2004), *C. nucifera* (Perera et al., 1999; Rivera et al., 1999) e *E. edulis* (Gaiotto et al., 2001). Outros estudos com transferência de locos microssatélites também foram realizados para espécies de *Citrus* (Cristofani-Yaly et al., 2011), para *Borassus flabellifer* (Manju et al., 2016), espécies do gênero *Euterpe* (Azevêdo et al., 2017) e para *Syagrus romanzoffiana* (Laindorf et al., 2019).

Diversidade Genética das populações de *Syagrus harleyi*

Diversos fatores influenciam a distribuição dessa diversidade entre populações como o tamanho efetivo da população, o sistema reprodutivo da espécie e sua distribuição geográfica (Ellegren e Galtier, 2016). Os desvios no EHW para todas as populações estudadas sugerem que as mesmas podem estar passando por processos de mutação, seleção, migração ou deriva. Em se tratando de espécies endêmicas, estas podem ser mais limitadas ecologicamente e suscetíveis a perda de variação por deriva ou gargalo (Ellstrand e Elam, 1993; Hamrick e Godt, 1996; Frankham et al., 2008). Podemos observar que os valores aqui obtidos para diversidade genética foram classificados como moderado/alto ($H_e=0,532$) e pouco variáveis ao longo da distribuição da espécie.

Outros estudos com marcadores SSR evidenciaram que valores de diversidade genética podem variar em populações de espécies endêmicas com distribuição restrita. Por exemplo, para *Phoenix theophrasti*, palmeira endêmica da costa sudoeste da Turquia, foram encontrados valores médios de $H_e=0,38$ para as populações e com variação entre $H_e=0,520$ a $0,780$ (Vardareli et al., 2019). A diversidade genética em outra espécie de palmeira, *Phoenix dactilifera*, variou de $H_e=0,555$ a $0,600$ ao longo dos grupos analisados, com a média geral de $H_e=0,576$ (Zehdi-Azouzi et al., 2016). Em cinco populações de *Pitcairnia azouryi*, espécie de bromélia encontrada no Sul do Espírito Santo e norte do Rio de Janeiro obteve-se uma diversidade média de $H_e=0,545$ que variou entre $H_e=0,379$ a $0,758$ (Manhães et al., 2020).

Populações da espécie *Coccoloba cereifera* foram analisadas utilizando 13 locos microssatélites revelando uma média de diversidade genética $H_e=0,507$ e variação de 0,324 a 0,566 (Moreira et al., 2010). Os estudos mostram que, apesar da ampla variação encontrada, a média de diversidade genética geralmente é moderada.

Os maiores valores de diversidade genética encontrados foram para as populações IB e AN (Tabela 4). IB é a localidade mais separada geograficamente das demais. A dispersão de frutos do gênero *Syagrus* em geral ocorre por meio de aves e mamíferos, que ao percorrerem longas distâncias permitem que *pool* gênico da espécie seja amplamente distribuído em sua área de ocorrência (Rocha, 2009). O segundo maior índice de diversidade genética (AN) reflete um padrão comum de distribuição da diversidade genética, onde as populações centrais tendem a apresentar maior diversidade quando comparadas com as populações mais periféricas (Eckert et al., 2008; Medrano et al., 2008; Sugai et al., 2015). Entretanto, a população MU, também centralizada, teve o índice mais baixo de diversidade genética entre as populações ($H_e=0,490$). Observou-se que as populações dessa localidade possuem aspectos fenológicos, vegetativos e reprodutivos significativamente diferentes entre os ambientes em que ela está distribuída. Constatou-se que a viabilidade polínica tem uma média geral menor para a população (73,3%) (Andrade, 2018) quando comparada à média de outras espécies de palmeiras, e essa variação pode influenciar na polinização entre indivíduos da população e consequentemente no compartilhamento de alelos com as demais populações da espécie. Outro fator que pode interferir na distribuição da diversidade genética é a fragmentação de habitat na região da Caatinga, que possui atualmente metade da sua vegetação original perdida em consequência da degradação. Com registros de efeito de borda de até 1 km, o núcleo dos fragmentos fica cada vez mais exposto às pressões antrópicas e vulnerável à perda de diversidade genética (Antongiovanni et al., 2018).

Fluxo Gênico e Estrutura Genética

A viabilidade das populações em longo prazo está diretamente relacionada ao fluxo gênico entre populações, pois torna possível manter a variação genética e dispersa genes potencialmente adaptativos (Segelbacher et al., 2010). A taxa de fluxo gênico entre as cinco populações foi alta e, considerando que $N_m > 1$, a troca de alelos entre as populações é suficiente para impedir o impacto da deriva genética nas populações (Slarkin, 1985). Nossos resultados mostraram que a maior diferenciação genética está no componente

intrapopulacional (Tabela 5). Estudos similares com populações naturais de outras espécies de plantas evidenciam essa dinâmica como os estudos realizados com *Phoenix dactylifera* (Al-Faifi et al., 2016), *Phoebe chekiangensis* (Ding et al., 2015) e *Syagrus romanzoffiana* Glassman (Laindorf et al., 2018).

Foi encontrada diferença no número de grupos formados pelo STRUCTURE (K=3) e pelo GENELAND (K=4). A separação em quatro agrupamentos se repete na análise do PCoA, o que sugere que esse deve ser o verdadeiro número de grupos. Ressaltamos que, o Structure utiliza apenas dados genéticos enquanto a análise implementada pelo GENELAND leva em consideração previamente os dados genéticos e geográficos. Podemos observar que não há um isolamento na distribuição da estrutura populacional, corroborando a mistura evidenciada pela mescla de cores ao longo do mosaico (Fig. 5).

O maior índice de F_{st} par a par encontrado foi entre as populações PA e IB (Tabela 6). Da mesma forma, na separação de grupos revelada pelo STRUCTURE, PA pertence ao *cluster* 1 e IB ao *cluster* 3 com baixa taxa de mistura entre os dois *clusters* (Fig. 4). O maior isolamento genético entre essas populações pode ser explicado pela maior distância geográfica entre as localidades, sendo PA no Norte da distribuição e IB no Sul (Tabela 2). As localidades mais próximas geograficamente, PA e LE, apresentaram baixo compartilhamento alélico entre as populações, o que não era esperado (Tabela 3 e Fig. 4B). Os resultados mostram que apesar da maior frequência alélica de um grupo, ambas as populações ainda mantêm alelos de todos os agrupamentos genéticos, o que pode ser um reflexo da heterogeneidade espacial comum em campos rupestres onde *S. harleyi* é encontrada. Os locais de ocorrência natural da espécie são caracterizados por serem muito próximos e também muito diferentes entre si, o que resulta em um padrão de vegetação único em cada área. Tais diferenças entre habitats já são registradas para as duas populações (PA e LE), sendo a população de LE considerada uma área de tensão ecológica composta por porções de campos rupestres sobre afloramento rochosos, florestas sazonais e Cerrado (Silva-Pereira e Santos, 2006). Existe uma tendência de que o fluxo gênico ocorra mais fortemente entre ambientes semelhantes, o que é denominado de “isolamento por ambiente”. Nesse cenário, existe a possibilidade de imigrantes (ou híbridos) de diferentes ambientes serem selecionados em um novo ambiente, e consequentemente, é criada uma barreira para o fluxo gênico entre essas populações (Sexton et al., 2013). Outro ponto que difere as paisagens desses locais é a forte antropização sofrida pela população de LE, local que está à beira da estrada, à margem do rio Mucugezinho e tem visitação constante de nativos e turistas devido ao comércio local. Já a

população de PA fica em um paredão rochoso à beira da BR-242. O efeito da atividade humana no ambiente pode influenciar na atividade de dispersores e polinizadores e consequentemente afetar a diversidade e estrutura genética da espécie.

Os fatores que contribuem para essas dinâmicas populacionais podem ser explicados pelo comportamento dos polinizadores da espécie, pois o movimento do pólen tem importância direta na estrutura genética da população (Laindorf et al., 2018). Até o momento, não existem estudos sobre a dispersão de pólen para *S. harleyi*, entretanto a abelha *Trigona spinipes* foi sugerida como polinizador efetivo para a espécie e as formigas (Formidacae), a abelha *Apis mellifera* e espécies de Díptera foram considerados como possíveis polinizadores ocasionais (Andrade, 2018). Em campo pudemos observar abelhas *Trigona sp.* sobrevoando um indivíduo da espécie (Fig. 7). O gênero *Trigona* é polinizador comum para espécies de Arecaceae como relatado para *Syagrus coronata*, *Syagrus petraea*, *Syagrus smithii* e *Euterpe edulis* (Rocha, 2009; Dorneles et al., 2013; Silberbauer-Gottsberger & Vanin, 2013; Guerrero-Olaya & Núñez-Avellaneda, 2017). Essa espécie possui curta distância de voo de forrageamento e demonstra um comportamento dominante sobre a fonte de alimento, o que pode influenciar na visitação de outros polinizadores (Soares et al., 2019).



Figura 7. Abelha *Trigona sp.* visitando um indivíduo da palmeira *Syagrus harleyi* no município de Lençóis-BA.

Embora os níveis de diversidade encontrados aqui sejam moderados, salientamos a relevância do monitoramento da diversidade e estrutura genética das populações de *S. harleyi*, considerando a crescente constatação de fragmentação da paisagem na Caatinga (Antongiovanni et al., 2018), região de ocorrência da espécie. Portanto, acreditamos que os resultados obtidos em nosso trabalho viabilizem comparações futuras de seu padrão de diversidade genética.

É importante mencionar que a área de ocorrência natural de *S. harleyi* é constantemente impactada por eventos incendiários. No Cerrado brasileiro, a ocorrência desses eventos é comum, principalmente em campos mais abertos. Após os períodos chuvosos, a fitomassa seca e se torna um “foco” para o início dos incêndios (Coutinho, 1990; Miranda et al., 2009). Os incêndios podem ocasionar grande perturbação à biodiversidade e integridade de áreas como Unidades de Conservação situadas no Parque Nacional da Chapada Diamantina (PNCD) (Medauar et al., 2017). A análise realizada pelos autores supracitados encontrou 30.743,04 hectares de área queimada entre setembro e dezembro de 2015, parcela que representa 20,40% da área total do PNCD, e que corresponde a área de ocorrência de *S. harleyi*. Em geral, as espécies que possuem caule subterrâneo parecem ser mais comuns em campos abertos do Cerrado e podem apresentar uma vantagem em cenários onde os incêndios ocorrem com frequência, pois a rebrota é assegurada por um meristema apical subterrâneo (Liesenfeld e Vieira, 2018). Entretanto, não foram encontrados indivíduos da espécie em duas (Lajedinho e Morro do Chapéu) das sete localidades descritas como região de ocorrência da espécie que foram visitadas em nossas expedições de coleta, o que pode ser um reflexo da frequência e intensidade em que esses eventos incendiários acontecem.

A identificação de áreas com a maior diversidade genética de *S. harleyi* contribui com informações úteis para a detecção de populações a serem conservadas. Assim, nossos resultados revelaram uma diversidade moderada distribuída entre as populações e alta taxa de fluxo gênico entre elas. A diferenciação genética entre as populações pode estar relacionada a heterogeneidade entre os ambientes em que ela ocorre, moldando os processos de polinização da espécie. Para planos de manejo e conservação indicamos todas as cinco populações de *S. harleyi*, considerando que quatro delas possuem alelos privados, além de se tratar de uma espécie endêmica. Frisamos ainda a importância da caracterização genética de espécies endêmicas, com a finalidade de delinear estratégias de conservação e manejo sustentável das populações.

A caracterização da diversidade genética de *S. harleyi* apresentada em nossos estudos é de extrema importância, pois permite elucidar aspectos genéticos da espécie pouco estudada até o momento. Nossos dados permitem futuros planos de manejo e conservação da espécie e subsídios para outros estudos com palmeiras em regiões que passam por eventos incendiários recorrentes.

7. CONCLUSÕES

- Os 10 marcadores microssatélites selecionados revelaram um índice moderado de diversidade genética para a espécie, comum para espécies endêmicas, com pouca variação ao longo da sua distribuição. Alta taxa de fluxo gênico foi encontrada, evidenciada pela baixa estruturação revelada nas populações. As populações que apresentaram o maior índice de estruturação provavelmente refletem a heterogeneidade dos ambientes que estão inseridas. A menor diversidade encontrada em uma das populações do centro de distribuição da espécie possivelmente se dá devido ao efeito da menor viabilidade polínica e da fragmentação do habitat.

8. REFERÊNCIAS

ADHIKARI, S.; SAHA, S.; BISWAS, A.; RANA, TS.; BANDYOPADHYAY, TK. & GHOSH, P. 2017. Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. *The Nucleus*, vol. 60, no. 3, p. 283–297. doi:10.1007/s13237-017-0214-7

ALVES, JJA.; ARAÚJO, MP. & NASCIMENTO, SS. 2009. Degradação da Caatinga: uma investigação Ecogeográfica. *Revista Caatinga*, vol. 22, no. 3, p. 126-135.

ANDRADE, JB. 2018. Estrutura populacional e biologia reprodutiva de *Syagrus harleyi* Glassman, no município de Mucugê/BA. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana. Dissertação de mestrado em Recursos Genéticos Vegetais. 89 p.

ANTONGIOVANNI, M.; VENTICINQUE, EM. & FONSECA, CR. 2018. Fragmentation patterns of the Caatinga drylands. *Landscape Ecology*, vol. 33, no. 8, p. 1353-1367.

ARRUDA, SR.; PEREIRA DG.; SILVA-CASTRO MM.; BRITO, MG. & WALDSHMIDT, AM. 2017. An optimized protocol for DNA extraction in plants with a high content of secondary metabolites, based on leaves of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Leguminosae). *Genetics Molecular Research*, vol. 16, no. 3, p. 1-9. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039063>

AZÊVEDO, H.; BENVINDO, F.D.; CAVALCANTE, LN.; HAVERROTH, M.; WADT, LDO. & CAMPOS, TD. 2017. Transferability of heterologous microsatellite loci between species of *Euterpe* genus. *Genetics and Molecular Research*, vol. 16, no. 4, p. 1-7. gmr16039825

BACON, CD.; MORAES, RM.; JARAMILLO, C. & ANTONELLI, A. 2017. Endemic palm species shed light on habitat shifts and the assembly of the Cerrado and Restinga floras. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 110, p. 127-133. doi:10.1016/j.ympev.2017.03.013

BARFOD, AS.; HAGEN, M. & BORCHSENIUS, F. 2011. Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). *Annals of Botany*, vol. 108, no. 8, p. 1503-1516.

BILLOTTE, N.; COUVREUR, T.; MARSEILLAC, N.; BROTTIER, P.; PERTHUIS, B.; VALLEJO, M.; NOYER, JL.; JACQUEMOUD-COLLET, JP.; RISTERUCCI, AM. & PINTAUD, JC. 2004. A new set of microsatellite markers for the peach palm (*Bactris*

gasipaes Kunth); characterization and across-taxa utility within the tribe Cocoeae. *Molecular Ecology Notes*, vol. 4, no. 4, p. 580-582.

BONDAR, G. 1964. *Palmeiras do Brasil*. São Paulo: Instituto de Botânica. 554 p. Instituto de Botânica. Boletim. no. 2.

BORNET B. & BRANCHARD M. 2001. Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 19, no. 3, p. 209-215.

BRUNO, MMA.; MASSI, KG.; VIDAL, MM. & DU VALL HAY, J. 2019. Reproductive phenology of three *Syagrus* species (Arecaceae) in a tropical savanna in Brazil. *Flora*, vol. 252, p. 1-32.

CAMPOS, JLA.; de ARAÚJO, EL.; GAOUE, OG. & ALBUQUERQUE, UP. 2019. Socioeconomic Factors and Cultural Changes Explain the Knowledge and Use of Ouricuri Palm (*Syagrus coronata*) by the Fulni-ô Indigenous People of Northeast Brazil. *Economic Botany*, vol. 73, no. 2, p. 187-199. doi:10.1007/s12231-019-09457-0

CARVALHO-ZILSE, GA. & KERR, WE. 2006. Utilização de marcadores microsatélites para estudos populacionais em *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *Magistra*, vol. 18, no. 4, p. 213-220.

COELHO, GM.; SANTOS, AS.; MENEZES, IPP.; TARAIZI, R.; SOUZA, FMO.; SILVA, M. das GCPC. & GAIOTTO, FA. 2020. Genetic structure among morphotypes of the endangered Brazilian palm *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae). *Ecology and Evolution*. p. 1-10. doi:10.1002/ece3.6348

COUTINHO, L. 2016. *Biombras brasileiros*. São Paulo: Oficina de Textos.

COUTINHO, LM. 1990. Fire in the ecology of the Brazilian Cerrado. In: *Fire in the tropical biota*. Berlin: Springer - Berlin, Heidelberg. p. 82-105. doi:10.1007/978-3-642-75395-4_6

DING, Y.; ZHANG, J.; LU, Y.; LOU, L. & TONG, Z. 2015. Development of EST-SSR markers and analysis of genetic diversity in natural populations of endemic and endangered plant *Phoebe chekiangensis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 63, p. 183-189. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2015.10.008>

DONATTI, CI. 2004. Consequência da defaunação na dispersão e pedração de sementes e no recrutamento de plântulas da palmeira brejaúva (*Astrocaryum aculeatissimum*). Piracicaba:

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Dissertação de Mestrado em Ecologia de Agroecossistema. 89 p.

DORNELES, LL.; ZILLIKENS, A.; STEINER, J. & PADILHA, MTS. 2013. Biologia da polinização de *Euterpe edulis* Martius (Arecaceae) e associação com abelhas sociais (Apidae: Apini) em sistema agroflorestal na Ilha de Santa Catarina. Iheringia, Série Botânica, vol. 68, no. 1, p. 47-57.

DRANSFIELD, J. & UHL, NW. 1987. Genera *Palmarum*: a classification of palms based on the work of Harold E. Moore, Jr. South African Journal of Botany, vol. 54, no. 5, p. 511-513.

DRANSFIELD, J.; UHL, NW.; ASMUSSEN, CB.; BAKER, WJ.; HARLEY, MM. & LEWIS, CE. 2005. A new phylogenetic classification of the palm family, Arecaceae. Kew Bulletin, vol. 60, no. 4, p. 559-569.

DRUMOND, MA. 2007. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Petrolina. Embrapa Sêmi-Árido, Pernambuco. 16 p.

ECKERT, CG.; SAMIS, KE.; & LOUGHEED, SC. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. Molecular Ecology, vol. 17, no. 5, p. 1170-1188. doi:10.1111/j.1365-294x.2007.03659.x

ELLEGREN, H. & GALTIER, N. 2016. Determinants of genetic diversity. Nature Reviews Genetics, vol. 17, no. 7, p. 422-433. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.58>

ELLSTRAND, NC., & ELAM, DR. 1993. Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. Annual Review of Ecology and Systematics, vol. 24, no. 1, p. 217-242. doi:10.1146/annurev.es.24.110193.001245

EVANNO, G.; REGNAUT, S. & GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, vol. 14, no. 8, p. 2611-2620.

FALEIRO, FG. 2007. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. 1ª ed. Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 102 p.

FERNANDES, MF.; CARDOSO, D. & QUEIROZ, LP. 2019. An updated plant checklist of the Brazilian Caatinga seasonally dry forests and woodlands reveals high species richness and endemism. Journal of Arid Environments, vol. 174, no. 104079, p. 1-8. doi:10.1016/j.jaridenv.2019.104079

FRANKHAM, R. 2003. Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, vol. 326, p. 22–29. doi:10.1016/s1631-0691(03)00023-4

FRANKHAM, R.; BALLOU, JD. & BRISCOE, DA. 2008. *Fundamentos de Genética da Conservação*. 1ª ed. Ribeirão Preto: Editora SBG (Sociedade Brasileira de Genética). 280 p.

GAIOTTO, FA.; BRONDANI, RPV. & GRATTAPAGLIA, D. 2001. Microsatellite markers for Heart of Palm - *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart (Arecaceae). *Molecular Ecology Notes* vol. 1, no. 1, p. 86-88.

GEETHANJALI, S.; RUKMANI, JA.; RAJAKUMAR, D.; KADIRVEL, P. & VISWANATHAN, PL. 2018. Genetic diversity, population structure and association analysis in coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm using SSR markers. *Plant Genetic Resources*, vol. 16, no. 2, p. 156-168.

GONÇALVES, CN.; MESQUITA, FW. & VIANA, FA. 2012. Demografia de *Syagrus harleyi*, uma palmeira acaule endêmica da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus*, vol. 12, no. 2, p. 313-321.

GUERRERO-OLAYA, NY. & NÚÑEZ-AVELLANEDA, LA. 2017. Ecología de la polinización de *Syagrus smithii* (Arecaceae), una palma cantarofila de la Amazonia Colombiana. *Revista peruana de biología*, vol. 24, no. 1, p. 43-54.

GUILLOT, G., MORTIER, F., & ESTOUP, A. 2005. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, vol. 5, no. 3, p. 712-715. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01031.x>

HAMRICK, JL. & GODT, MJW. 1996. Effects of Life History Traits on Genetic Diversity in Plant Species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 351, no. 1345, p. 1291–1298. doi:10.1098/rstb.1996.0112

HIJMANS, RJ.; GUARINO, L.; CRUZ, M. & ROJAS, E. 2001. Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genetic Resources Newsletter* no. 127, p. 15-19.

HUDA, MN.; HASAN, M.; ABDULLAH, HM. & SARKER, U. 2019. Spatial distribution and genetic diversity of wild date palm (*Phoenix sylvestris*) growing in coastal Bangladesh. *Tree Genetics & Genomes*, vol. 15, no. 1, p. 1-11.

JOHNSON, DV. 1998. Non-wood forest products 10: tropical palms. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/x0451e/x0451e00.HTM>>. Acesso em 12 fevereiro de 2019.

JUDD, WS.; CAMPBELL, CS.; KELLOGG, EA.; STEVENS, PF.; & DONOGHUE, MJ. 2009. Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora. 632 p.

JUNCA, FM; FUNCH, L & ROCHA, W. 2005. Biodiversidade e Conservação da Chapada Diamantina. Ministério do Meio Ambiente, Série Biodiversidade 13. Brasília. 411 p.

KLEIN, JA.; BARRELLA, W. & RAMIRES, M. 2017. A sustentabilidade do artesanato ecológico numa unidade de conservação do Sudeste Brasileiro. In: Anais do Encontro Nacional de Pós-Graduação, Brasil. p. 97.

LAINDORF, BL.; FREITAS, KE.; LUCINI, F.; STEFENON, VM.; KÜSTER, MC.; SCHÜNEMANN, AL.; PUTZKE, J.; VICTÓRIA, FC. & PEREIRA, AB. 2018. Genetic Diversity and Structure of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Arecaceae) in Southern Brazil. Tropical Conservation Science, vol. 11, p. 1-10. doi:10.1177/1940082918798330

LAINDORF, BL.; METZ, GF.; KÜSTER, MCT.; LUCINI, F.; FREITAS, KEJ.; VICTÓRIA, FC. & PEREIRA, AB. 2019. Transfer of microsatellite markers from other Arecaceae species to *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae). Genetics and Molecular Research, vol. 18, no. 3, p. 1-10. gmr18183

LEAL, IR.; TABARELLI, M. & DA SILVA, JMC. 2005. Ecologia e Conservação da Caatinga. 2ª ed. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. 822 p. Edição Universitária da UFPE.

LIESENFELD, MVA. & VIEIRA, G. 2018. Postfire palm resprouting in the Amazonian Forest: Are underground stems an advantage? Perspectivas Rurales Nueva Época, vol. 16, no. 31, p. 11-23. <https://doi.org/10.15359/prne.16-31.1>

LORENZI, H.; SOUZA, HM.; MEDEIROS-COSTA, JT.; CERQUEIRA, LSC. & BEHR, N. 1996. Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas. Nova Odessa: Editora Plantarum, p.1-20.

LORENZI, H.; SOUZA, HM.; MADEIROS-COSTA, JT.; CERQUEIRA, LSC. & FERREIRA, E. 2004. *Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas*. Nova Odessa, Editora Plantarum.

MANHÃES, V. da C., de MIRANDA, F. D., CLARINDO, W. R., & CARRIJO, T. T. (2019). Genetic diversity and karyotype of *Pitcairnia azouryi*: an endangered species of Bromeliaceae endemic to Atlantic Forest inselbergs. *Molecular Biology Reports*, vol. 47, no. 1, p 179-189. doi:10.1007/s11033-019-05118-6

MANJU, KP.; MANIMEKALAI, R.; NAGANEESWARAN, SA.; ARUNACHALAM, V. & KARUN, A. 2016. Microsatellites mining in date palm ('*Phoenix dactylifera*'L.) and their cross transferability across 'Arecaceae'family. *Plant Omics*, vol. 9, no. 3, p. 191-197. DOI:10.21475/poj.16.09.03.p7793

MEDAUAR, PAS.; POELKING, EL. & OLIVEIRA, SF. 2017. Mapeamento das ocorrências de Incêndios florestais no Parque Nacional da Chapada Diamantina-Ba no ano de 2015. In: *Anais do Simpósio Regional de Geoprocessamento e Sensoriamento Remoto – Geonordeste 2017*, Salvador, Brasil. p. 464-468.

MILLACH, SCK. 2005. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro*. Petrolina: Embrapa Semiárido. p.1-8.

MILLER, MP. 2005. Alleles In Space (AIS): Computer Software for the Joint Analysis of Interindividual Spatial and Genetic Information. *Journal of Heredity*, vol. 96, no. 6, p. 722-724. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi119>

MIRANDA, HS.; SATO, MN.; NETO, WN. & AIRES, FS. 2009. Fires in the Cerrado, the Brazilian savanna. *Tropical fire ecology*, p. 427-450. doi:10.1007/978-3-540-77381-8_15

MIRANDA, IPA.; RABELO, A.; BUENO, CR.; BARBOSA, EM. & RIBEIRO, MNS. 2001. *Frutos de Palmeiras da Amazônia*. Manaus: MCT INPA, p. 7-10.

MOREIRA, RG.; MCCAULEY, RA.; CORTÉS-PALOMEC, AC.; FERNANDES, GW. & OYAMA, K. 2010. Spatial genetic structure of *Coccoloba cereifera* (Polygonaceae), a critically endangered microendemic species of Brazilian rupestrian fields. *Conservation Genetics*, vol. 11, no. 4, p. 1247-1255. doi:10.1007/s10592-009-9953-6

NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, vol. 89, no. 3, p. 583-590. doi:PMC1213855

NEIVA, DS.; JÚNIOR, AM.; OLIVEIRA, DA.; ROYO, VA.; BRANDÃO, MM. & MENEZES, EV. 2016. *Acrocomia emensis* (Arecaceae) genetic structure and diversity using SSR molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, vol. 15, no. 1, p. 1-11. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15017785>

NEVES, SPS. & CONCEIÇÃO, AA. 2010. Campo rupestre recém queimado na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: plantas de rebrota e sementes, com espécies endêmicas na rocha. *Acta Botanica Brasilica*, vol 24, no. 3, p. 697–707.

NOBLICK, LR. 2010. *Syagrus* Mart. In: LORENZI, H.; NOBLICK, LR.; KAHN, F.; FERREIRA, E. In: *Flora Brasileira: Arecaceae (Palmeiras)*. Nova Odessa: Instituto Plantarum. p. 304-360.

NOBLICK, LR. Guide to the Palms of Northeastern Brazil. Disponível em: <https://www.palmpedia.net/wiki/images/c/c1/GuidetothePalmsOfNortheasternBrazil_LNoblick.pdf> Acesso em: 03 de Agosto de 2020.

OLIVEIRA, JLF. 2019. Cinética e pirólise do óleo de licuri (*Syagrus coronata*) utilizando vermiculita sódica/ácida com óxido de zinco para obtenção de bio-óleo. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Tese de doutorado em Química. 88 p.

PEAKALL, R. & SMOUSE, PE. 2012. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, vol. 28, no. 19, 2537-2539. doi:10.1093/bioinformática/bts460.

PERERA, L.; RUSSELL, JR.; PROVAN, J. & POWELL, W. 1999. Identification and characterisation of microsatellites in coconut (*Cocos nucifera* L.) and the analysis of coconut populations in Sri Lanka. *Molecular Ecology Notes*, vol. 8, no. 2, p. 344-346.

PERES, CA. 1994. Compositon, density and fruiting phenology of arborescent palms in the Amazonian terra firm forest. *Biotrópica*, vol. 26, no. 3, p. 285-294.

PETERS, JM.; QUELLER, DC.; IMPERATRIZ-FONSECA, VL & STRASSMANN, JE. 1998. Microsatellites loci for stingless bees. *Molecular Ecology*, vol. 7, no. 6, p. 783-792.

PRITCHARD, JK.; STEPHENS, M. & DONNELLY, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, vol. 155, no. 2, p. 945-959.

QUEIROZ, LP.; RAPINI, A. & GIULIETTI, AM. 2006. Rumo ao amplo conhecimento da Biodiversidade do semiárido brasileiro. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília, 144 p.

RICARDO, SDF.; COE.; HHG.; DIAS, RR.; SOUSA, LOF. & GOMES, E. 2018. Reference collection of plant phytoliths from the Caatinga biome, Northeast Brazil. *Flora*, vol. 249, p. 1–8. doi:10.1016/j.flora.2018.09.003.

RIVERA, R.; EDWARDS, KJ.; BARKER, JHA.; ARNOLD, GM.; AYAD, G.; HODGKIN, T. & KARP, A. 1999. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. *Genome*, vol. 42, no. 4, p. 668-675.

ROCHA, KMR. 2009. Biologia reprodutiva da palmeira licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) (ARECACEAE) na ecorregião do Raso da Catarina, Bahia. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. 98 p.

RODRIGUES, DP.; VINSON, C.; CIAMPI, AY.; FARIAS, IP.; LEMES, MR.; ASTOLFI-FILHO, S. & CLEMENT, CR. 2004. Novel microsatellite markers for *Bactris gasipaes* (Palmae). *Molecular Ecology Notes*, vol. 4, no. 4, p. 575-576.

RONCAL, J.; KAHN, F.; MILLAN, B.; COUVREUR, TLP. & PINTAUD, J. 2013. Cenozoic colonization and diversification patterns of tropical American palms: evidence from *Astrocaryum* (Arecaceae). *Botanical Journal Linnean Society*, vol. 171, no. 1, p. 120-139. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01297.x>

SEGELBACHER, G.; CUSHMAN, SA.; EPPERSON, BK.; FORTIN, M.-J.; FRANCOIS, O.; HARDY, O. J., HOLDEREGGER, R.; TARBELET, P.; WAITS, LP. & MANEL, S. 2010. Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conservation Genetics*, vol. 11, no. 2, p. 375–385. doi:10.1007/s10592-009-0044-5

SEXTON, JP.; HANGARTNER, SB. & HOFFMANN, AA. 2013. Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution*, vol. 68, no. 1, p. 1–15. doi:10.1111/evo.12258

SILBERBAUER-GOTTSBERGER, SA & VANIN, GG. 2013. Interactions of the Cerrado Palms *Butia paraguayensis* and *Syagrus petraea* with Parasitic and Pollinating Insects. *Sociobiology*, vol. 60, no. 3, p. 306-316.

SILVA-CARDOSO, IM. DE A.; SOUZA, AM. & SCHERWINSKI-PEREIRA, JE. 2017. The palm tree *Syagrus oleracea* Mart. (Becc.): A review. *Scientia Horticulturae*, vol. 225, p. 65-73.

SILVA, JMC. & LACHER JR, TE. 2020. Caatinga - South America. In: GOLDSTEIN, M. & DELLASALA, D. *Encyclopedia of the World's Biomes*. Elsevier. p. 554-561. doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.11984-0

SILVA-PEREIRA, V.; & SANTOS, GMM. 2006. Diversity in bee (Hymenoptera: Apoidea) and social wasp (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae) community in "campos rupestres", Bahia, Brazil. *Neotropical Entomology*, vol. 35, no. 2, p. 165-174. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000200003>

SIMPLÍCIO, RR. 2017. Diversidade genética em populações naturais de *Syagrus coronata* (MART) BECC. (ARECACEAE). Jequié: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Dissertação de mestrado em Genética, Biodiversidade e Conservação. 78 p.

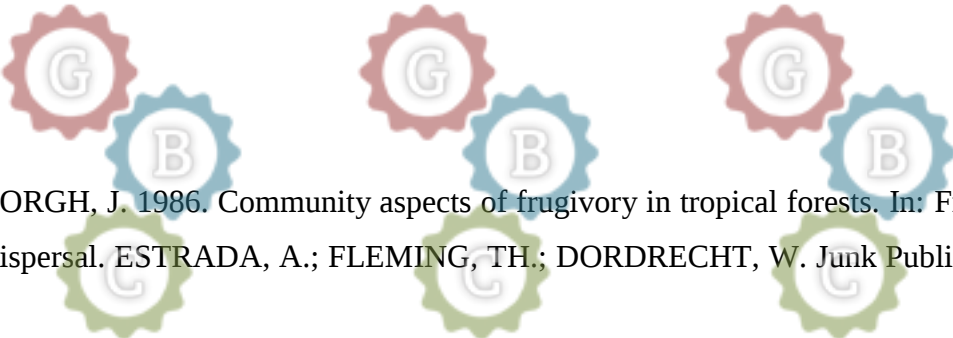
SIMPLÍCIO, RR.; PEREIRA, DG. & WALDSCHMIDT, AM. 2017. Transferability of microsatellite markers in *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), an iconic palm tree from the Brazilian semiarid region. *Genetics and Molecular Research*, vol. 16, no. 2, p. 1-6. gmr16029699. doi:<http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029699>

SLARKIN, M. 1985. Gene Flow in Natural Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, vol. 16, no. 1, p. 393-430. doi:10.1146/annurev.es.16.110185.002141

SOARES, KO.; Lima, MV.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, AAF.; SILVA, FJDA.; LIMA, AIBLC.; & COSTA, CRG. 2019. Factors influencing the foraging behavior of *Trigona spinipes* (apidae, meliponinae). *Biological Rhythm Research*, p. 1-11. doi:10.1080/09291016.2019.1616903

SOARES, KP. *Syagrus* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15739>>. Acesso em: 31 jul. 2020.

SUGAI, K.; WATANABE, S.; KUISHI, T.; IMURA, S.; ISHIGAKI, K.; YOKOTA, M.; YANAGAWA, S. & SUYAMA, Y. 2015. Extremely low genetic diversity of the northern limit populations of *Nypa fruticans* (Arecaceae) on Iriomote Island, Japan. *Conservation Genetics*, vol. 17, no. 1, p. 221-228. doi:10.1007/s10592-015-0773-6



TERBORGH, J. 1986. Community aspects of frugivory in tropical forests. In: Frugivores and seed dispersal. ESTRADA, A.; FLEMING, TH.; DORDRECHT, W. Junk Publishers. p. 371-384.

VAN-OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, WF.; WILLS, DPM. & SHIPLEY, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, vol 4, no. 3, p. 535–538. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

VARDARELI, N.; DOĞAROĞLU, T.; DOĞAÇ, E.; TAŞKIN, V. & GÖÇMEN TAŞKIN, B. 2019. Genetic characterization of tertiary relict endemic *Phoenix theophrasti* populations in Turkey and phylogenetic relations of the species with other palm species revealed by SSR markers. Plant Systematics and Evolution, vol. 305, no. 6, p. 415-429. doi:10.1007/s00606-019-01580-8

WRIGHT, S. 1951. Genetical structure of populations. Annals of Eugenics, vol. 15, p. 323-353.

ZEHDI-AZOUZI, S.; CHERIF, E.; GUENNI, K.; ABDELKRIM, AB.; BERMIL, A.; RHOUMA, S.; SALAH, MB.; SANTONI, S.; PINATUD, JC.; ABERLENC-BERTOSSI, F. & HANNACHI, AS. 2016. Endemic insular and coastal Tunisian date palm genetic diversity. Genetica, vol. 144, no. 2, p. 181–190. doi:10.1007/s10709-016-9888-z

ZOLET, ACT.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, CM. & PASSAIA, G. 2017. Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações. 1ª ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 181 p.