

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

VII Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul
Resumos expandidos

22 a 24 de novembro de 2016 - Pelotas, RS

Márcia Vizzotto
Rodrigo Cezar Franzon
Luis Eduardo Correa Antunes
Editores Técnicos

*Embrapa
Brasília, DF
2017-*

ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE EMBRIÕES DE *BUTIA* (ARECACEAE)⁽¹⁾

Marcelo Piske Eslabão⁽²⁾; Leonardo Ferreira Dutra⁽³⁾; Rosa Lía Barbieri⁽³⁾; Gustavo Heiden⁽³⁾

(1) Trabalho executado com recursos do Macroprograma 6 - Uso e conservação do butiazeiro na agricultura familiar, Embrapa; CAPES-Embrapa; CNPq, FAPERGS.(2) Mestrando; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas, RS; marceloesl7@gmail.com

(3) Pesquisador; Embrapa Clima Temperado; Pelotas, RS.

INTRODUÇÃO

Butia é um gênero de palmeiras que ocorre na América do Sul em áreas das regiões Nordeste (BA), Centro-Oeste (GO, MS), Sudeste (MG, SP) e Sul (PR, SC, RS) do Brasil, no leste do Paraguai, no nordeste da Argentina e no Uruguai (MARCATO, 2004; LORENZI et al., 2010; ELLERT-PEREIRA et al., 2016). O gênero pode ser reconhecido pela disposição ascendente dos folíolos e pelas folhas em formato de “V” em corte transversal, além da presença de poros no endocarpo (MARCATO, 2004). Popularmente, as espécies desse gênero são denominadas de butiazeiros, e os frutos são conhecidos como butiás (MARCATO, 2004; LORENZI et al., 2010). Atualmente, ameaçados pela expansão das áreas agrícolas e urbanas, os butiazais são cada vez mais raros na paisagem (BARBIERI et al., 2015). Os produtos obtidos a partir das várias espécies de *Butia*, que ocorrem no Sul do Brasil, são fontes de renda alternativas em alguns locais do Rio Grande do Sul (LOPES et al., 2015).

Várias espécies de *Butia* sofrem risco de extinção, por habitar regiões com economia baseada na agropecuária e especulação imobiliária. Das 20 espécies do gênero, duas estão na lista de espécies da flora ameaçada, da IUCN (2016), nove no livro vermelho da flora ameaçada do Brasil (CNCFlora 2016) e oito estão presentes na lista de espécies da flora ameaçada do estado do Rio Grande do Sul (FZB/RS 2016).

A crescente importância econômica das espécies de *Butia* e o interesse na conservação *ex situ* de germoplasma das espécies do gênero demandam a realização de ensaios pela procura de métodos mais eficientes de propagação, para viabilizar a comercialização e diminuir os impactos antrópicos sofridos pelas espécies do gênero.

O estabelecimento de embriões *in vitro* vem sendo empregado para superar a dormência de sementes, em testes de viabilidade de sementes, no estudo de aspectos fisiológicos da germinação e como fonte de explantes, como tecidos de elevada totipotência. Por estarem alojados em ambiente asséptico dentro da semente, os embriões são considerados fontes de explante com baixo índice de contaminação (Hu et al., 1998). A germinação de sementes de muitas espécies de palmeiras é, em geral, lenta, irregular e ocorre em baixa porcentagem (RIBEIRO et al., 2011). Para solucionar problemas decorrentes das dificuldades de germinação, a propagação *in vitro*, via cultura de embriões, constitui ferramenta viável para a produção de mudas dessas espécies.

O presente trabalho tem como objetivo testar um protocolo de estabelecimento *in vitro* de embriões de espécies de *Butia*, com vistas à produção de mudas e conservação *ex situ* de recursos genéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Embriões foram obtidos de sementes de frutos maduros das espécies *B. archeri* (Glassman) Glassman, coletados em populações naturais na Serra dos Pireneus, GO; *B. catarinenses* Noblick e Lorenzi, obtidos de frutos comercializados em Laguna, SC; *B. eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc., oriundos de material do banco ativo de germoplasma de frutas nativas do Sul do Brasil,

da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS; *B. odorata* (Barb.Rodr.) Noblick, coletados em populações naturais de Encruzilhada do Sul, RS; *B. paraguayensis* (Barb.Rodr.) Bailey, coletados em espécime cultivado em Ronda Alta, RS; *B. purpurascens* Glassman, coletados em populações naturais em Jataí, GO e *B. yatay* (Mart.) Becc., coletados em populações naturais em Giruá, RS. O protocolo testado no presente trabalho para o estabelecimento *in vitro* de *Butia* foi descrito por Minardi et al. (2011) para *B. eriospatha* e Ribeiro et al. (2011) para *B. capitata*.

Frutos com polpa firme, sem sinal de ataque de pragas ou microorganismos, foram despolpados manualmente e lavados em água corrente. Após a secagem em estufa a 30°, por uma semana, as sementes foram armazenadas em câmara fria, a 6°C até a realização do experimento. As sementes foram quebradas com torno manual de bancada, os embriões extraídos com auxílio de estiletes e desinfestados com álcool etílico 70%, hipoclorito de sódio comercial e detergente, seguida de três lavagens com água autoclavada. Posteriormente, dez embriões de cada espécie foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), adicionado de 0,5 mg.L⁻¹ de ácido dicloro-fenoxiacético (2,4-D) e carvão ativado a 0,1%. As culturas com os embriões foram mantidas por sete dias na ausência de luz, em sala de crescimento a aproximadamente 25°C. Após este período, os explantes foram expostos à luz, sob um fotoperíodo de 16 horas. Decorridos 30 dias após a inoculação, foi avaliado o percentual de germinação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de embriões germinados variou de 20 a 80% (Tabela 1), indicando que há diferenças entre as espécies testadas quanto ao seu potencial germinativo. Pelos resultados obtidos, pode-se sugerir que *B. eriospatha* (Figura 1B), *B. catarinensis* e *B. paraguayensis* possuem maior aptidão para germinação de embriões *in vitro*, enquanto *B. yatay* possui a menor. Evidenciou-se a presença de oxidação em alguns dos materiais, constatada em função do escurecimento de estruturas do embrião, associadas à ausência de seu desenvolvimento, entretanto, não houve contaminações. Constatou-se que apenas a espécie *B. paraguayensis*, em uma das amostras, emitiu raízes (Figura 1A).

Tabela 1. Percentagem de germinação *in vitro* de embriões de sete espécies de *Butia* (Arecaceae). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2016.

Espécie	Embriões germinados (%)
<i>B. archeri</i>	40
<i>B. catarinensis</i>	70
<i>B. eriospatha</i>	80
<i>B. odorata</i>	50
<i>B. paraguayensis</i>	60
<i>B. purpurascens</i>	40
<i>B. yatay</i>	20



Figura 1. A – Germinação *in vitro* do embrião de *B. paraguayensis*. Radícula destacada. **B** - Germinação *in vitro* do embrião de *B. eriospatha*

As amostras que não germinaram apresentaram escurecimento e ressecamento do embrião. Segundo Minardi (2011), estes são problemas frequentemente encontrados durante os estádios iniciais do desenvolvimento de embriões *in vitro* e é consequência da produção excessiva de polifenóis, provavelmente como mecanismo de defesa.

Em *B. eriospatha*, nos primeiros dias após a inoculação dos embriões, notou-se um acentuado intumescimento dos mesmos e na segunda semana de incubação, observaram-se os primeiros sinais de crescimento por meio do desenvolvimento da radícula (MINARDI et al., 2011). Em macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart.), uma espécie de palmeira, foi possível verificar o crescimento e desenvolvimento da plâmula e da raiz primária após 30 dias da inoculação (BANDEIRA et al., 2013), enquanto que, em tamareira (*Phoenix dactylifera* L.), outra espécie de palmeira, foi observado, após 15 dias. De acordo com Costa et al. (2010), o tempo de germinação das sementes de tamareira é muito menor do que o verificado para a maioria das palmeiras. Segundo (FIOR et al., 2014), com a abertura total da cavidade embrionária, a emergência de plântulas de *B. odorata* inicia-se aos 24 dias após a semeadura em embalagens semipermeáveis fechadas com sacos plásticos, enquanto para *B. catarinensis*, Sampaio et al. (2012), constataram que a germinação das sementes ocorreu somente a partir do 12º mês. De acordo com Fior (2014), a dormência das sementes do gênero *Butia* não está relacionada ao embrião, mas sim à barreira mecânica imposta pelos tecidos da semente, o que dificulta o desenvolvimento do embrião na fase de germinação. O cultivo de embriões *in vitro* possibilita estudos sobre o processo germinativo e o desenvolvimento de plântulas e constitui alternativas para a propagação da espécie.

CONCLUSÕES

Há diferença de resposta na germinação de embriões de espécies de *Butia*.

O estabelecimento *in vitro* de embriões de *Butia* pode ser considerado como uma estratégia promissora na produção de mudas e conservação *ex situ* de recursos genéticos.

AGRADECIMENTOS

Capes-Embrapa, FAPERGS, CNPq.

REFERÊNCIAS

BANDEIRA, F. B.; XAVIER, A.; LANI, E. R. G.; OTONI, W. C. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos maduros de macaúba influenciada por temperaturas de armazenamento dos frutos e concentrações de sacarose. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 691-700, jul./ago. 2013.

BARBIERI, R. L.; MARCHI, M. M.; GOMES, G. C.; BARROS, C. H.; MISTURA, C.; DORNELLES, J. E. F.; HEIDEN, G.; BESKOW, G. T.; RAMOS, R. A.; VILLELA, J. C. B.; DUTRA, F. A.; COSTA, F. A.; SOSINSKI, E. E.; SAMPAIO, L. A.; LANZETTA, P.; ROCHA, P. S. G.; ROCHA, N.; PUPPO, M.; DABEZIES, J. M.; RIVAS, M. (Ed.). **Vida no butiaçal**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2015. 200 p.

CNCFLORA-CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA. **Lista vermelha da flora ameaçada do brasil**. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha/ARECACEAE>. Acessado em: 3 ago. 2016

COSTA, N. M. S.; ALOUFA, M. A. I. Influência da luz na germinação *in vitro* de sementes de tamareira (*Phoenix dactylifera* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, no. esp1., p. 1630-1633, dez. 2010.

ELLERT-PEREIRA, P. E.; ESLABÃO, M. P. Butia. In: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15703>>. Acesso em: 27 Jul. 2016

FIOR, C. F.; PEZZI, A.; SCHWARZ, S. F. Desenvolvimento inicial de mudas de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick cultivadas em recipientes. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 5, p. 706-714, set./out. 2014.

FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL. **Lista de espécies da flora ameaçada do rio grande do sul. Consulta à lista final**. Disponível em: https://secweb.procergs.com.br/livlof/?id_modulo=2&id_uf=23&ano=2013. Acessado em: 3 Ago. 2016

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embrião. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa SPI: Embrapa CNPH. 1998. p. 371-393.

IUCN- UNIÃO INTERNACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DA NATUREZA E DOS RECURSOS NATURAIS. **A Lista Vermelha da IUCN de espécies ameaçadas**. Versão 2016-1. Disponível em: [Www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Acessado em: 3 Ago. 2016

LOPES, R.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; CAVALLARI, M. M.; BARBIERI, R. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. da. (Ed.). **Palmeiras Nativas do Brasil**, Brasília: Transferência de Tecnologia, 2015. 432 p.

LORENZI, H. NOBLICK, L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. J. L. (Ed.). **Flora brasileira – Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Plantarum, 2010. 384 p.

MARCATO, A. C. **Revisão taxonômica do gênero *Butia* (Becc.) Becc. (Palmae) e filogenia da subtribo *Buttiinae* Saakov (Palmae)**. 2004. 147 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MINARDI, B. D.; VOYTENA, A. P. L.; RANDI, A. M.; ZAFFARI, G. R. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Butia eriospatha* (Mart. Ex Drude) Becc. **INSULA Revista Botânica**, Florianópolis, n. 40, p. 70-81, 2011.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, jul. 1962.

RIBEIRO, L. M.; NEVES, S. da C.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, p.133-139, mar./abr. 2011.

SAMPAIO, L. K. A.; PERONIE, N.; HANAZAKI, N. Influência da despolpa do fruto e do choque térmico na germinação de *Butia catarinensis* Noblick e Lorenzi. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 127-130, jan./mar. 2012.