

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE SEMENTES DE
Butia odorata (BARB. RODR.) NOBLICK DURANTE A SUPERACÃO DA
DORMÊNCIA

Bruna Baratto
Bióloga/UNIVATES

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Ênfase Fisiologia e Manejo Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2016

CIP - Catalogação na Publicação

Baratto, Bruna
CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE
SEMENTES DE *Butia odorata* (BARB. RODR.) NOBLICK
DURANTE A SUPERÇÃO DA DORMÊNCIA. / Bruna Baratto. -
- 2016.
66 f.

Orientador: Claudimar Sidnei Fior.
Coorientadora: Alexandra Antunes Mastroperti.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2016.

1. Superção da dormência. 2. Anatomia de
sementes. 3. Histoquímica de seementes. 4. Germinação.
I. Fior, Claudimar Sidnei, orient. II. Mastroperti,
Alexandra Antunes, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Folha de homologação

BRUNA BARATTO
Bióloga - Centro Universitário Univates

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 29.02.2016
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 01.07.2016
Por

CLAUDIMAR SIDNEI FIOR
Orientador - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

ALEXANDRA ANTUNES MASTROBERTI
Coorientadora - PPG Botânica/UFRGS

GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
PPG Fitotecnia/UFRGS

SOFIA AUMOND KUHN
PPG Botânica/UFRGS

ADILSON TONIETTO
FEPAGRO

PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de
Agronomia

*À minha mãe, Maristela Baratto,
ao meu pai, Odacir Baratto, e à minha
amada avó, Rosina Baratto;
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Se estás lendo esta página, é porque eu consegui. E no final destes dois anos, construído por momentos felizes e outros nem tanto. Conteí com o apoio de várias pessoas para alcançar esta vitória e por isso, deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos...

À DEUS,

A CAPES pela concessão da bolsa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Claudimar Sidnei Fior, pelo aceite da orientação, pela amizade, pelo incentivo, calma e bom humor nas horas mais difíceis da realização deste trabalho. Sem contar com os valiosos conhecimentos compartilhados e pelo excepcional talento em ensinar.

À minha co-orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Alexandra Antunes Mastroberti, pelos ensinamentos que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Adilson Tonietto, Sofia Aumond Kuhn e Gilmar Arduino Bettio Marodin, pela solicitude em participar da avaliação.

Um agradecimento especial ao pesquisador Gilson Schlindwein, pela honra de sua parceria neste trabalho, além de compartilhar seus conhecimentos do início ao fim deste.

Ao Prof. Dr. Jorge Ernesto Mariath, pela disponibilização de estrutura para a realização desta pesquisa, bem como me receber.

À técnica Juliana Troleis, pelos risos e sorriso, amizade e presteza, pela paciência em explicar tudo, me colocar a par de um Laboratório de Anatomia Vegetal.

À Amanda Pezzi, pela essencial contribuição para meu ingresso no mestrado.

À Eduarda D. Avrella, amiga, companheira, que dividiu comigo todos os momentos desta jornada.

Aos colegas Agrônomos e Engenheiros Florestais: Aquélis A. Emer, Manuela Sulzbach, Pedro A Veit, Paula D. Oliveira, Júlio Lucchiese, Gerson Boettcher, Henrique Ceccagno e Samanta S. Campos, por tudo o que vocês representam e representarão na minha vida e por todos os momentos que jamais esquecerei, e, que com certeza, o tempo não apagará. Adoro muito vocês.

Aos Biólogos Danilo Rocha, Fernanda Nogueira, Juliana Bittencourt, Marcos L. Gaeta e Sofia A Kuhn, pessoas maravilhosas que conheci no Laboratório de Anatomia Vegetal: por aguentarem minhas lágrimas e por não medirem esforços em me ajudar em tudo o quanto foi possível, desde processamento de material, revisões de texto, incentivos, conselhos e abraços verdadeiros. Meu obrigada.

Aos bolsistas: Elisândra, Guilherme, Jorge e Marino, que muito contribuíram em diferentes etapas do trabalho. Ao voluntário Luciano Alves, pela contribuição até o final do meu trabalho.

Aos professores do PPG Fitotecnia, pelos ensinamentos que muito somaram na minha formação.

Aos meus familiares pelo amor, carinho, compreensão e incentivo, nos estudos.

À secretária Marisa, pela solicitude e amizade e por tornar as coisas mais simples.

Aos meus irmãos de apê “04”, Débora e Antônio, pela amizade, cumplicidade e companheiros.

A todos aqueles que direta ou indiretamente participaram de minha formação, meus sinceros agradecimentos.

CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE SEMENTES DE *Butia odorata* (BARB. RODR.) NOBLICK DURANTE A SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA¹

Autor: Bruna Baratto
Orientador: Claudimar Sidnei Fior
Coorientadora: Alexandra Antunes Mastroberti

RESUMO

O gênero *Butia* compreende 20 espécies distribuídas, em sua maioria, no sul da América do Sul. *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick é uma palmeira endêmica do bioma Pampa, com alto potencial alimentício e ornamental. Seu diásporo é composto por um pirênio que abriga de uma a três sementes, as quais apresentam germinação irregular e lenta, resultado de dormência. Sabe-se que há relação dessa dormência com o opérculo da semente, e qual sua composição química também é citada como agravante. Através da remoção desta estrutura tem-se alta porcentagem germinativa, em curto período. A relação entre o opérculo e a influência da temperatura no período da germinação ainda é desconhecida para *B. odorata*, uma vez que a descrição morfoanatômica da espécie é incipiente e sua histoquímica é inexplorada. Este trabalho objetivou caracterizar a morfologia da estrutura de dispersão e descrever aspectos anatômicos e histoquímicos das sementes de *B. odorata* quando submetidas a tratamento para a superação da dormência. Diásporos de populações naturais foram semeados em caixas *gerbox*, sobre areia média lavada, esterilizada e umedecida. O material foi disposto em câmara de germinação sem iluminação interna por 20 dias sob temperatura de 40 °C, seguido de 20 dias a 30 °C. Após isoladas dos endocarpos, as sementes foram desbastadas e fixadas. Através de amostragens a cada cinco dias, foram caracterizadas modificações anatômicas e a mobilização de reservas na semente. As sementes apresentam um envoltório (testa) com presença de estrias e no opérculo há presença de compostos fenólicos e ausência de lignina. O endosperma é homogêneo, branco e brilhante, com as células da região micropilar apresentando paredes espessas em relação ao restante do endosperma, sendo essas metabolizadas ao longo das amostragens. O embrião é pequeno, basal e apresenta a plúmula já diferenciada na primeira amostragem. Ao longo das amostragens e durante a manutenção dos pirênios sob temperatura de 40 °C foi percebida a formação de uma zona de fragilidade no endosperma micropilar, o que, ao que tudo indica, está relacionado com a germinação. As reservas encontradas, as quais estavam presentes no endosperma e no embrião das sementes, foram: amido, polissacarídeos totais, lipídios totais, proteínas totais e compostos fenólicos na região opercular. A mobilização das reservas ocorreu antes mesmo do opérculo ser rompido.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (66F.) Fevereiro, 2016.

**MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE
Butia odorata (BARB. RODR.) NOBLICK SEEDS DURING WARM
STRATIFICATION¹**

Author: Bruna Baratto

Adviser: Claudimar Sidnei Fior

Co adviser: Alexandra Antunes Mastroberti

ABSTRACT

The *Butia* genus comprises 20 species distributed mostly in southern South America. *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick is an endemic palm tree from the Pampa biome, with high food and ornamental potential. Its diaspore is composed of a pyrene which houses one to three seeds that have irregular and slow germination as a result of dormancy. It is known that there is a relationship between dormancy and seed operculum and its chemical composition can also be an aggravator. By removing this structure, seeds exhibit high germination percentage in a short period. The relationship between the operculum, as well as the influence of temperature on the germination period, is still unknown to *B. odorata*, since the morphoanatomical description of the species is incipient and its histochemical characteristics are unexplored. This study aimed to characterize the morphology of the dispersion structure and describe anatomical and histochemical features of *B. odorata* seeds when undergoing dormancy breaking treatment. Diaspores of natural populations were sown in gerbox on average washed, sterilized and moistened sand. The material was placed in a dark germination chamber for 20 days at 40 °C, followed by 20 days at 30 °C. Following this procedure, endocarps isolated from the seeds were chopped and fixed. By sampling every five days, anatomical changes and the mobilization of reserves in the seed were characterized. The seeds presented stretch marks in the involucre (seed coat or testa) and phenolic compounds with absence of lignin in the operculum. The endosperm is homogeneous, white and shiny, and the micropilar cells present thick walls, in relation to the rest of the endosperm, that were metabolized along the sampling. The embryo is small, basal and has differentiated plumule. While sampling at 40 °C the formation of a fragile zone in the micropilar endosperm was noted, which seems to be germination related. The reserves present in the endosperm and the embryo of seeds were: starch, total polysaccharides, total lipid, protein and phenolic compounds in the opercular region. The mobilization of reserves occurred even before the operculum was broken.

¹ Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (66p.) February, 2016.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 ASPECTOS GERAIS DO GÊNERO <i>BUTIA</i> (BECC.) BECC.	3
2.2 DESCRIÇÃO E BIOLOGIA DO GÊNERO	5
2.3 CARACTERÍSTICA DOS DIÁSPOROS E SEMENTES DO GÊNERO	8
2.4 GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE PALMEIRAS.....	9
2.5 DORMÊNCIA EM SEMENTES DE PALMEIRAS E MÉTODOS UTILIZADOS PARA A SUA SUPERAÇÃO.	11
2.6 FORMAÇÃO, DESENVOLVIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE <i>B.</i> spp. .	15
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
3 ARTIGO	25
3.1 SUPERAÇÕES DA DORMÊNCIA EM <i>BUTIA ODORATA</i> : DESCRIÇÃO MORFOANATÔMICA DO PROCESSO GERMINATIVO E SUA APLICAÇÃO PARA CULTIVO.	25
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Procedimento para a superação de dormência em pirênios de <i>B. odorata</i> e amostragens para os estudos morfoanatômicos e histoquímicos. FEPAGRO, Porto Alegre-RS, 2014.....	29
2. Resultados dos testes histoquímicos aplicados em sementes <i>B. odorata</i> para detecção das principais classes de metabólitos. UFRGS, Porto Alegre-RS, 2015.....	35

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Populações de *B. odorata in situ* (A) Ráquila de *B. odorata* com a presença de flores (B). **Seta branca**: Flor estaminada. **Seta preta**: Flor pistilada. Escala: (B) 0,5cm..... 7

ARTIGO

1. Metodologia para superação da dormência dos pirênios de *B. odorata*. Preparação das caixas de germinação (A). Pirênios semeados (B). Pirênios encobertos pelo substrato (C). Material embalado em câmara de germinação (D). Retirada da amostra das caixas de germinação (E-F)..... 36
2. Estrutura de dispersão de *B. odorata*. Frutos maduros (A). Pirênio partido, com a presença de uma semente (B) e a presença dos poros germinativos (setas brancas) e o lóculo (seta preta). Semente isolada (C) com estrias reticuladas (seta preta) e longitudinais (asterisco). Corte longitudinal em material fresco (D). Corte longitudinal da semente após 5 dias da semeadura (E). Corte longitudinal da semente após 30 dias da semeadura (F). **EM** (embrião), **EN** (endocarpo), **ED2** (endosperma), **AC** (câmara de ar), **OP** (opérculo), **CE** (cavidade embrionária). Escalas: (A) 2cm, (B-F) 2mm..... 37
3. Alterações morfoanatômicas do desenvolvimento no embrião de *B. odorata*..... 38
4. Secções longitudinais da semente de *B. odorata*. Região proximal do opérculo (A), Detalhe da disposição linear (triângulo) e sem ornamentação (asterisco) no endosperma (B), Zona de fragilidade (linha pontilhada) do endosperma micropilar (C), Diferenciação do hiperfilo (D), Região proximal do embrião na 2ª amostragem (E) com a presença da plúmula (seta preta), Região proximal do embrião na 5ª amostragem (F), Metabolização do endosperma na 3ª amostragem (G), Embrião com o opérculo removido (linhas pontilhadas) na 8ª amostragem (H), Detalhamento das células da zona do rompimento do opérculo (I). **EM** (embrião), **ED1** (endosperma micropilar), **ED2** (endosperma), **EP** (fragmentos do endocarpo), **OP** (opérculo), **HA** (hiperfilo). Escalas: (A-E) 500 µm, (B) 2mm, (C e H) 200 µm, (D) 50 µm, (F-I) 100 µm, (G) 1mm..... 39

5. Secções longitudinais da semente de *B. odorata*. Embrião com a plúmula (seta) na sétima amostragem (A), detalhe da plúmula (seta) na 9ª amostragem (B), detalhe da plúmula (seta) com os catáfilos (asteriscos) e o eixo embrionário (seta linha) na sétima amostragem (C), Metabolização do endosperma na 7ª amostragem (D). **EM** (embrião), **ED1** (endosperma micropilar), **ED2** (endosperma), **OP** (opérculo). Escalas: (A e E) 500 µm, (B e C) 100 µm..... 40
6. Semente de *B. odorata* germinada. Plântula conectada ao haustório (seta) após cinquenta e cinco dias de semeadura (A), corte anatômico detalhando as células do haustório (seta) de plântula aos cinquenta e cinco dias após semeadura (B). **ED2** (endosperma), **HYP** (hiperfilo), **CA** (catáfilo), **PR** (radícula), **HA** (haustório), **CS** (bainha cotiledonar). Escalas: (A) 2 mm, (B) 100 µm..... 41
7. Testes histoquímicos em semente de *B. odorata*. Região do opérculo (A), Material fresco submetido ao teste para lignina (B), Material fresco submetido ao teste para lipídios totais (C), Região distal do embrião (1ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (D), Região proximal do embrião, zona “M” (2ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (E), Centro e região distal do embrião (7ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (F), Material fresco submetido ao teste para amido (1ª amostragem) (G), Endosperma (4ª amostragem) submetido ao teste para amido (H), Região proximal do embrião, zona “M” (7ª amostragem) submetido ao teste para amido (I). Endosperma (1ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (J), Endosperma (2ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (K), Endosperma (7ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (L), Material fresco submetido ao teste para polissacarídeos totais (M), Endosperma (2ª amostragem) submetido ao teste para polissacarídeos totais (N), Endosperma (7ª amostragem) submetido ao teste para polissacarídeos totais (O). Escalas: (A, D, E, J, L, N, O) 20 µm, (B, C, G, M) 1mm, (F, H, K) 50 µm, (I) 500 µm..... 42

1 INTRODUÇÃO

As palmeiras (Arecaceae) formam um grupo de plantas monocotiledôneas, dentro da ordem Arecales. Essas plantas são caracterizadas pela presença de folhas pinadas inseridas em longos pecíolos, na extremidade de um caule cilíndrico do tipo estipe, podendo atingir grandes alturas (Uhl & Dransfield, 1987). Esta família tem grande relevância econômica (Marcato, 2004), sendo a terceira família botânica economicamente mais importante, estando atrás apenas das famílias Poaceae e Fabaceae (Janick & Paull, 2006).

O gênero *Butia* (Becc.) Becc., por sua vez, distribui-se na América do Sul, norte da Argentina e Uruguai, ocorrendo desde campos limpos até cerrados (Henderson *et al.*, 1995). A utilização de algumas espécies do gênero é datada de milhares de anos por meio de pesquisas arqueológicas (Galetti *et al.*, 2003). Além dos frutos, as folhas também eram utilizadas para a cobertura de cabanas, produção de cestas, armadilhas para caça, confecção de chapéus, bolsas e redes (Rivas & Barbieri, 2014). Hoje, os frutos continuam sendo consumidos in natura, e estão presentes na fabricação de derivados (Geymonat & Rocha, 2009) e as plantas são muito apreciadas no paisagismo (Lorenzi *et al.*, 2004).

Diante da procura por essas espécies para a utilização, tanto no consumo e processamento de seus frutos, como no paisagismo, ainda não se tem uma produção de mudas viável para a comercialização. Os plantios comerciais e/ou ornamentais, na sua maioria, são representativos do extrativismo (Fior *et al.*, 2013). A dificuldade na produção de mudas de espécies do gênero *Butia* está associada aos obstáculos relacionados com os

tegumentos da semente, os quais também constituem o opérculo, uma estrutura proeminente e rígida na região da micrópila (Fior *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2013) o que ocasionam a dormência neste órgão e que torna a germinação lenta e com baixo percentual (Geymonat & Rocha, 2009). Portanto, é de grande importância o entendimento desta estrutura bem como o fenômeno de dormência nas sementes.

Assim, visando contribuir aos aspectos estruturais da semente durante a germinação após a superação da dormência em *Butia odorata*, este trabalho teve como objetivo descrever a estrutura de dispersão e caracterizar anatômica e histoquimicamente as sementes da espécie. Para tal, a dissertação foi construída em dois capítulos. No primeiro foi realizada uma revisão bibliográfica abordando características do gênero e os métodos utilizados para a superação da dormência nessas espécies. No segundo, foram analisadas as alterações anatômicas ocorrentes nas sementes de *B. odorata* quando os pirênios eram submetidos a uma elevada temperatura para a superação da dormência, seguida da temperatura para a germinação, bem como a histoquímica nessas amostragens.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais do gênero *Butia* (Becc.) Becc.

As palmeiras, como são popularmente conhecidas, fazem parte da família *Arecaceae* que compreende 2.385 espécies divididas em 183 gêneros (APG III, 2009). Neste contexto, o Brasil é o terceiro em ordem de diversidade de palmeiras nativas, possuindo aproximadamente 39 gêneros e 264 espécies (Leitman *et al.*, 2012) que são predominantemente distribuídas na Floresta Amazônica e Bioma Mata Atlântica (Lorenzi *et al.*, 2010).

O gênero *Butia* (Becc.) Becc. pertence à subtribo *Butiinae*, compreende 20 espécies descritas, sendo 19 com ocorrência no Brasil. Essas espécies são caracterizadas pela presença de inflorescências diclamídias protegida por uma bráctea peduncular persistente e apresenta em seu pecíolo fibras dentiformes, sendo um caráter de importância taxonômica (Marcato, 2004). Espécies do gênero distribuem-se amplamente na América do Sul, sendo também descritas no sul do Brasil, norte da Argentina e Uruguai. A separação dos continentes contribuiu com a distribuição atual dos vários grupos do gênero, assim como de suas adaptações, originando neste gênero espécies tolerantes a baixas temperaturas. Dentre elas *Butia eriospatha*, *Butia microspadix*, *Butia odorata*, *Butia lallemantii* e *Butia yatay* (Geymonat & Rocha, 2009). De maneira geral, as palmeiras se concentram em regiões com temperatura e umidade elevadas, em locais mais frios e secos, a diversidade de espécies diminui (Tomlinson, 1990).

No Rio Grande do Sul, seis gêneros de palmeiras estão representados, *Trithrinax*, *Geonoma*, *Bactris*, *Syagrus*, *Euterpe* e *Butia*. Com relação ao gênero *Butia*, suas espécies apresentam ampla distribuição geográfica e diversas delas apresentam risco de extinção, principalmente devido ao extrativismo (Rossato, 2007). Para Geymonat & Rocha (2009), as palmeiras também carregam consigo todo um ecossistema, uma diversidade biológica única. Com relação ao potencial econômico, o uso de palmeiras para matéria prima é descrito para muitos povos que habitaram a região sul do Brasil (Rossato, 2007). Além da utilização dos seus frutos, as folhas também eram muito utilizadas para a produção de cestas, redes, armadilhas e coberturas para moradias (Rivas & Barbieri, 2014). Das folhas também eram extraídas fibras, chamadas de “crinas do butiá” que eram utilizadas para a confecção de colchões e estofarias (Tonietto *et al.*, 2009).

Rivas & Barbieri (2014) comentam que, nos últimos anos, é notável o aumento da valorização de produtos derivados do butiá. Aliado a isso, se tem a preocupação da conservação dos butiazais, pois, se extraem todas as sementes que poderiam originar novas plantas. Todavia, as espécies do gênero *Butia* vêm sendo pesquisadas e a sua biologia descrita, bem como os métodos para sua propagação e superação da dormência (Lédo *et al.*, 2007; Fior *et al.*, 2011; Lopes *et al.*, 2011; Minardi *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2011; Schlindwein *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2013; Fior *et al.*, 2013, Magalhães *et al.*, 2013; Baskin & Baskin, 2014). No entanto, os métodos que apresentam resultados satisfatórios são onerosos para uma escala comercial. O conhecimento sobre o mecanismo de dormência e os fatores que regulam este processo ainda são desconhecidos para *B. odorata*.

Além da insuficiência de métodos adequados para a superação da dormência e o desenvolvimento lento das plantas de *Butia* spp, o pastejo e pisoteio de gado aliados à introdução de espécies exóticas forrageiras também contribui com a falta da regeneração natural dessas espécies. Um exemplo é o capim coast-cross [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.]

uma gramínea introduzida no Brasil, a qual é disseminada pelo gado e apresenta fácil adaptação ao meio. Devido o seu crescimento rastejante, suas tramas acabam sufocando as plântulas de *Butia* spp e, assim, dificultando sua regeneração natural (Cardoso, 1999).

2.2 Descrição e biologia do gênero

Em 2010, algumas populações do gênero passaram por revisões taxonômicas e filogenéticas (Marcato, 2004; Noblick, 2011), sendo as populações então conhecidas pela ciência como *B. capitata* divididas de acordo com sua distribuição geográfica. Dessa forma, o nome *B. capitata* se limitou à espécie com ocorrência no cerrado brasileiro, nos estados da Bahia, Goiás e Minas Gerais. As populações distribuídas no litoral Sul de Santa Catarina e Norte do Rio Grande do Sul foram denominadas *Butia catarinenses*, enquanto que, no sudeste do Rio Grande do Sul, até parte do Uruguai, as populações foram classificadas como *B. odorata*.

Essas espécies são caracterizadas pela presença de folhas geralmente pinadas, com presença de bainha, inseridas em longos pecíolos, na extremidade de um caule cilíndrico do tipo estipe, podendo atingir grandes alturas (Marcato, 2004). Preferem solos drenados, arenosos e ambientes isolados. Mas se adaptam muito bem em outros tipos de solo e tem tolerância a secas e ventos fortes (Geymonat & Rocha, 2009).

Apresentam inflorescências normalmente isoladas, associadas a uma bráctea persistente do tipo lenhosa. As flores podem estar isoladas ou em tríades na ráquila, sendo duas flores pistiladas juntamente com uma flor estaminada (Fig. 1A). O gineceu é apocárpico ou sincárpico, seu ovário possui basicamente três carpelos, com um a três lóculos e óvulos. Apresentam um tegumento externo mais espesso e o interno delgado (Marcato, 2004). No ápice dos tegumentos há uma abertura, a micrópila (Souza *et al.*, 2012), que, no caso de *Butia* spp, é preenchida pelo opérculo.

Seus frutos apresentam um epicarpo liso, estriado, escamoso ou piloso. O mesocarpo pode ser fibroso ou carnosos. O endocarpo é espesso e duro com a presença de poros (Marcato, 2004; Geymonat & Rocha, 2009). Cada endocarpo abriga de uma a três sementes, conhecidas popularmente por amêndoas.

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick, é uma palmeira com estipe (Holttum, 1955) de dois a nove metros, com até 32 folhas contemporâneas (Marcato, 2004; Lorenzi, 2010) (Figura 1A). Dentre estas, de 12 a 14 renovam-se anualmente. A espécie é monóica com inflorescência peduncular, apresentando flores díclinas, ou seja, presença das flores pistiladas e da flor estaminada, agrupadas na ráquila (Figura 1B). Seus frutos, conhecidos popularmente como butiás, são drupas de forma ovóide a depresso-globosa e contém de uma a três sementes, as quais apresentam germinação lenta e desuniforme (Geymonat & Rocha, 2009; Lorenzi *et al.*, 2010). Quando maduros, os frutos apresentam a coloração do mesocarpo amarelo ou laranja-avermelhado. A polpa comestível é rica em vitamina C, potássio e carotenóides (Rivas & Barbieri, 2014). A dispersão dos frutos ocorre no verão até início do outono, sendo normalmente do tipo zoocórica (Zona & Henderson, 1989).



FIGURA 1. Populações de *B. odorata in situ* (A) Ráquila de *B. odorata* com a presença de flores (B). Seta branca: Flor estaminada. Seta preta: Flor pistilada. Escala: (B) 0,5cm.

2.3 Característica dos diásporos e sementes do gênero

A maioria das palmeiras apresentam seus frutos de forma ovóide (Lorenzi *et al.*, 1996), no entanto, Tomlinson (1990) salienta que as formas elipsóide a obovóide são frequentes, com uma classe de intervalo de tamanho entre 1,0 – 1,4 cm (Uhl & Dransfield, 1987). Os frutos são compostos por uma estrutura denominada diásporo ou pirênio que abriga em seu interior as sementes. Esta composição é responsável pelo estabelecimento de novos indivíduos em novos ambientes (Borghetti, 2000) e representam uma adaptação ao local em que vivem estas espécies (Uhl & Dransfield, 1987), ocupando, portanto, uma posição crítica na história de vida dessas plantas. As estratégias de dispersão e colonização de habitats por espécies de *Butia* estão, em grande parte, relacionadas com as características dos seus pirênios, que consistem de sementes grandes, confinadas no interior deste endocarpo (Uhl & Dransfield, 1987) que é relativamente espesso e resistente, tendo na sua estrutura externa um a três poros germinativos (Marcato, 2004) e sob eles o opérculo, que logo abaixo abriga o embrião.

O embrião é relativamente pequeno com relação ao endosperma e, na maioria das vezes é cilíndrico (Pérez, 2009). O endosperma é o componente restante do interior da semente, podendo ser homogêneo ou ruminado (Marcato, 2004). Quando homogêneo, apresenta a superfície do tecido sólida e uniforme, já o ruminado apresenta a superfície irregular, devido às dobras do tegumento da semente (Orozgo-Segovia *et al.*, 2003; Mariath *et al.*, 2012). Cada pirênio abriga em seu interior uma a três sementes que podem ter diversas formas e tamanhos, permitindo assim, a variabilidade genética das populações, já que resultam da reprodução sexuada (Borghetti, 2000). Mesmo sendo no mesmo diásporo, há indícios de que cada semente se comporta de forma independente. Segundo Fior (2011), para *B. odorata* não há prevalência na germinação, formação e desenvolvimento da plântula de alguma das sementes em um mesmo diásporo em detrimento à(s) outra(s). É possível, portanto, um mesmo diásporo originar de uma a três

plântulas. Essa informação é corroborada pelo trabalho de Schlindwein *et al.*, (2007), os quais trabalharam com semeadura de diásporos de *B. odorata*, obtendo, em média, mais de uma plântula emergida por diásporo semeado.

As características morfológicas dessas estruturas (frutos e sementes) são pouco modificadas pelo ambiente, constituindo-se com isso um critério bastante seguro para a identificação de famílias, gêneros e também espécies (Gunn, 1981; Oliveira & Pereira, 1984; Groth & Liberal, 1988; Barroso *et al.*, 1999).

A rigidez do endocarpo é dita por alguns autores como sendo responsável pela dormência, pois, impossibilita entrada de água (Orozco-Segovia *et al.*, 2003; Geymonat & Rocha, 2009), além de oferecer resistência mecânica ao embrião. Porém, em trabalhos no qual estas estruturas foram removidas, não se verificou tal influência (Fior *et al.*, 2011).

2.4 Germinação em sementes de palmeiras

São consideradas germinadas as sementes em que uma das partes do embrião emergiu dos envoltórios, acompanhada de algum sinal de ativação de processos metabólicos, como por exemplo, a emissão da radícula (Labouriau, 1983; Bewley & Black, 1994). No que diz respeito às palmeiras, Lorenzi *et al.*, (2004) comentaram que os melhores resultados para a germinação das sementes são obtidos com sementes provenientes de frutos maduros, pois em frutos imaturos a germinação é muito falha, podendo até não ocorrer, já que o endosperma se encontra ainda aquoso, não solidificado. Além da maturidade dos frutos, a temperatura também pode influenciar nas taxas de germinação, assim como, a velocidade em que ela ocorre.

Com relação à temperatura, estudos apontam que existe uma faixa específica para cada espécie em que estas demonstram as maiores taxas de germinação. Para a família Arecaceae essa faixa varia de 24 a 35°C (Meerow & Broschat, 1991; Lorenzi *et al.*, 2004). Além disso, Rees (1962) constatou que temperaturas alternadas também favorecem a

germinação de várias espécies de palmeiras. Já, Carpenter (1988) observou um aumento na taxa de emergência de plântulas quando os diásporos foram submetidos à temperatura de 40°C seguido de 30°C. Pimenta *et al.*, (2010), testando o efeito da maturação associado a temperatura em sementes de *Phoenix canariensis* hort. ex Chabaud, concluíram que os resultados superiores foram provenientes de frutos com coloração marrom (estádio avançado de maturação) e temperatura alternada de 20 e 30°C. Porém, Aguiar *et al.*, (2005), observaram que em sementes de *Rhapis excelsa*, os resultados mais satisfatórios foram provenientes de frutos com coloração amarela, ou seja, coloração intermediária, e sob temperatura de 25°C. Para *Syagrus romanzoffiana*, Fior *et al.*, (2003) obtiveram os resultados superiores com frutos maduros e temperatura constante de 30°C, resultando em 88% de emergência. Frutos de *Butia odorata*, coletados desde o início do amarelecimento até abscisão total apresentam o mesmo teor de água após sete dias da coleta (Fior, 2011), indicando, com isso, que o teor de água do fruto também pode contribuir com estes índices de germinação para as espécies citadas acima. Além disso, o trabalho desse autor constatou que os diásporos nesses três estádios de maturação apresentaram germinação média de 90%.

Sch lindwein *et al.*, (2013), trabalhando com elevada temperatura em diásporos de *Butia odorata*, concluíram que a germinação é favorecida por um tratamento de umidificação e aquecimento. Salientaram ainda que este aumento da temperatura inicial é benéfico se submetido a um curto período, neste caso, 20 dias na temperatura de 40°C, seguido de 20 dias a 30°C. Rodrigues *et al.*, (2014), relataram maiores porcentagens na germinação de *Bactris maraja* Mart., quando o material era submetido a temperaturas alternadas. Mas foi com a presença do endocarpo aliada a temperatura de 40°C que possibilitou os resultados superiores aos demais tratamentos.

Com relação ao tipo de germinação de palmeiras, Meerow & Broschat, (1991), propõem dois tipos: germinação adjacente e remota. Na germinação do tipo remota, o eixo

embrionário desenvolve-se mantendo certa distância da semente e a primeira estrutura a emergir é o pecíolo cotiledonar, que cresce abaixo da superfície do solo, posteriormente a raiz primária e em sequência, a parte aérea da plântula. Neste caso, o cotilédone denominado haustório e associado à região do limbo cotiledonar (Meerow & Broschat, 1991), permanece no interior da semente atuando na absorção de nutrientes presentes no endosperma e transferindo-os para a plântula em desenvolvimento.

Por outro lado, na germinação adjacente, uma pequena porção do cotilédone emerge da semente, porém, assim como na germinação remota, o haustório forma-se no interior da semente, tendo a mesma atuação que a germinação do tipo remota.

2.5 Dormência em sementes de palmeiras e métodos utilizados para a sua superação.

Devido a adaptações ambientais ao longo da evolução, algumas palmeiras adquiriram estratégias distintas para a perpetuação de sua espécie, como por exemplo, *Butia lallemantii* Deble & Marchiori, onde sua propagação ocorre também por perfilhamento, distintamente da maior parte das espécies dessa família, que é propagada quase que exclusivamente através de sementes. Algumas dessas espécies apresentam sementes com baixa porcentagem germinativa, germinação irregular, além de demorada (Ferreira *et al.*, 2010).

As sementes depois de dispersas dependem de vários fatores para sua germinação. Para o crescimento do embrião são necessárias condições físico-químicas favoráveis, assim como a disponibilidade de água. Mesmo em condições favoráveis, há sementes que não germinam, apresentando assim, uma dormência, muitas vezes sendo originária de um bloqueio na própria semente ou na sua unidade de dispersão (Ferreira *et al.*, 2004).

O conhecimento empírico de dormência de sementes deu-se há muito tempo, mas foi na primeira década do século XX que as abordagens científicas começaram a surgir. A

dormência foi classificada de acordo com sua origem; podendo ser primária, onde se instala na fase de maturação da semente, tornando-se dormente antes de ser dispersa pela planta mãe; ou pode ter classificação secundária, também chamada de dormência induzida, onde, devido à falta de um ambiente favorável à germinação, a semente adquire dormência (Bewley & Black, 1994).

A dormência em sementes tem sido definida por Bewley (1997) como o bloqueio da germinação de uma semente intacta e viável, submetida a condições favoráveis à sua germinação. Baskin & Baskin, (2004) consideraram como sendo uma semente dormente aquela que não tem a capacidade de germinar dentro de um período específico de tempo, mesmo se há combinação de fatores ambientais favoráveis. Ao encontro, Cardoso (2004) ressalta que nessas sementes há um bloqueio interno que leva a uma falha na germinação, o qual, por meio da quebra de dormência ou pós-maturação, pode ser superado. Do ponto de vista morfogênético, Cocucci (2005) define a dormência como um evento fisiológico caracterizado por uma desaceleração gradual dos processos vitais do órgão, até a sua inatividade. As células têm suas organelas em estado de repouso, mas são capazes de retomarem sua atividade, se estimuladas.

Há vários fatores que podem atuar isolada ou conjuntamente no bloqueio da germinação de sementes. De acordo com estes fatores Baskin & Baskin, (2004) reconhecem cinco tipos de dormência: fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física e dormência física + fisiológica, ou dormência combinada. A dormência morfológica e a dormência física são também denominadas, respectivamente, dormência por imaturidade do embrião e dormência tegumentar (Bewley & Black, 1994).

A dormência fisiológica é aquela em que a presença de substâncias inibidoras ou ausência de substâncias promotoras responsáveis pela germinação impedem que esta ocorra. Podendo ser subdividida em profunda, quando os embriões não crescem ou, se crescem, produzem plântulas anormais, frequentemente encontrados em espécies arbóreas

e, intermediária e não profunda, quando os embriões excisados das sementes produzem plântulas normais, comum em algumas variedades de *Lactuca sativa* (Cardoso, 2004).

Dormência morfológica é aquela em que o embrião da semente é subdesenvolvido em termos de tamanho, mas é diferenciado em cotilédones e eixo hipocótilo-radícula (Baskin & Baskin, 2004). Nesta classe de dormência o embrião não é fisiologicamente dormente, simplesmente necessita de um maior período de tempo para crescer e germinar, conhecido também por período de pós-maturação. Várias são as famílias que apresentam este tipo de dormência, dentre elas está a família *Arecaceae*. A modalidade de dormência do tipo morfofisiológica ocorre quando os embriões são subdesenvolvidos e fisiologicamente dormentes, como é o caso de sementes de *Annona crassilora* (araticum) (Cardoso, 2004).

A dormência física é aquela em que o tegumento e/ou o pericarpo são impermeáveis à entrada de água. Neste tipo de dormência enquadra-se a espécie *Serenoa repens*, representante da família *Arecaceae*. Por fim, a dormência física + fisiológica, é conceituada como aquela em que, na mesma semente, coexiste dormência fisiológica do embrião e impermeabilidade do tegumento à água (Baskin & Baskin, 2004). Porém, Cardoso, (2004) apresenta a dormência dos tipos química, física e mecânica para o tipo exógena, citando estas como relacionadas à impermeabilidade do tegumento devido ao efeito mecânico e/ou à presença de substâncias inibidoras dos tecidos. De acordo com Fenner & Thompson, (2005), a dormência do tipo fisiológica permite maior flexibilidade de respostas ao ambiente em relação às dormências morfológica e física, já que apresenta diferentes graus de profundidade e, ao contrário das outras duas, pode ser reversível.

Trabalhando com *Butia capitata*, Oliveira *et al.*, (2013) concluíram que a dormência nesta espécie é determinada pela incapacidade do embrião em ultrapassar a barreira formada pelo opérculo e esta barreira está vinculada ao número de revestimentos

na região da micrópila e das camadas celulares do endosperma, não sendo causada pelas características dos componentes celulares.

De acordo com Schlindwein, (2012), as sementes de *Butia odorata* apresentam dormência primária, ou seja, é aquela que se instala durante a fase de desenvolvimento e/ou maturação da semente, sendo dispersa da planta-mãe já em estado dormente. No entanto, resultados obtidos por Fior *et al.*, (2011) através da remoção do opérculo que cobre o orifício de germinação em *Butia* spp, promoveram elevada germinação imediatamente após a semeadura, sem a necessidade de outros procedimentos de superação de dormência, supondo-se que a dormência seja exógena mecânica.

Do ponto de vista ecológico, a dormência em seus diferentes graus evita a germinação rápida e uniforme de sementes produzidas em um dado momento, evitando assim a competição entre plântulas ou a morte de todas elas imediatamente após sua emergência, em caso de mudança drástica das condições ambientais (Zaidan & Barbedo, 2004). Trata-se um fenômeno fundamental para a perpetuação e a sobrevivência das espécies vegetais nos mais variados ecossistemas. Ainda, para Fenner & Thompson, (2005), a função primordial da dormência é prevenir a germinação quando as condições ambientais são favoráveis a esta, mas desfavoráveis à sobrevivência e ao crescimento das plântulas.

Por outro lado, a dormência torna-se um obstáculo para a agricultura, uma vez que gera germinação insatisfatória e desuniformidade em estandes de plântulas, havendo necessidade, muitas vezes, de se utilizar tratamento adequado para a superação da dormência antes da semeadura, o que nem sempre é prático e viável, uma vez que há deficiência em conhecimentos básicos para algumas espécies (Fior, 2011).

2.6 Formação, desenvolvimento e composição química de sementes de *Butia* spp.

Há relatos que, na evolução das espécies vegetais, o surgimento das sementes deu-se por volta de 360 a 340 milhões de anos, no período devoniano (Buckeridge & Reid, 1996). Próximo ao surgimento da agricultura há pouco mais de 10 mil anos, o homem percebeu que poderia multiplicar plantas desejadas através das suas sementes. Houve então a necessidade de se entender o comportamento desta estrutura e assim, criar métodos para um manejo das espécies cultivadas (Marcos-Filho, 2005).

As sementes são estruturas biológicas complexas, o que as torna fascinantes para a pesquisa. Iniciando pelos anos que podem permanecer em estado dormente até o seu estabelecimento e formação da plântula. Resultado da fecundação do rudimento seminal maduro que se desenvolve no interior do ovário, possui em sua constituição o tegumento e o embrião, sendo o endosperma mais volumoso em algumas espécies, e reduzido a poucas camadas celulares em outras (Marcos-Filho, 2005). Segundo Corner, (1966), as camadas tegumentares do rudimento seminal originam o tégmen e a testa, sendo esta o principal modulador das interações entre a semente e o ambiente. Na espécie *B. capitata*, este revestimento apresentou a presença de substâncias fenólicas e ausência de lignina (Moura *et al.*, 2010; Neves *et al.*, 2013).

Também é visível uma linha ressaltada de coloração clara, resultante da adesão do funículo ao tegumento (Marcos-Filho, 2005), a rafe. Oliveira *et al.*, (2013) perceberam em sementes de *Butia capitata* a existência de um arilo, formado por camadas de células mucilaginosas na região micropilar, constituindo o primeiro relato para Arecaceae. Segundo Beltrati *et al.*, (2012), o arilo consiste em um apêndice carnoso do funículo e está relacionado com o modo de dispersão, no caso zoocórica.

Na fase inicial do desenvolvimento das sementes, é onde ocorre a divisão celular e conseqüentemente, um aumento imediato no peso da semente, sendo a água o maior

representante para este aumento de peso (Castro *et al.*, 2004). Nesta fase também ocorre a diferenciação no plano básico do corpo do embrião presente na semente. Segundo as descrições estabelecidas por Tomlinson, (1990), o embrião apresenta uma região proximal, que consiste no eixo embrionário, e outra região distal, que corresponde ao limbo cotiledonar. Na sequência, ocorre a expansão celular acompanhada da deposição de reservas no endosperma e cotilédones, diminuindo o conteúdo de água nas células e seguindo para uma fase pré-programada de secagem e maturação ou dessecação, onde ocorre um declínio rápido no conteúdo de água (Bewley & Black, 1994). Algumas sementes são “sensíveis” a esta dessecação e acabam perdendo a viabilidade com a desidratação (Farnsworth, 2000; Tweddle *et al.*, 2003), variando entre as espécies (Sun, 1999; Berjak, 2008).

A tolerância à dessecação é determinada pelo teor de água crítico, que ocasiona a perda de viabilidade, e de igual importância é o tempo de persistência que uma semente pode resistir a essa dessecação antes da senescência (Hill *et al.*, 2010). Para tal, Roberts, (1973) reconheceu duas categorias para a classificação desse comportamento, as ortodoxas e as recalcitrantes. Mais tarde, Ellis *et al.*, (1990) criaram a categoria das intermediárias.

As sementes que apresentam comportamento recalcitrante são dispersas da planta-mãe com elevado teor de água, sendo a redução desse percentual de umidade associado à perda de viabilidade das sementes. Mesmo a umidade sendo mantida a níveis adequados durante o armazenamento, sua longevidade é curta, variando de semanas a alguns meses (King & Roberts, 1980).

Sementes com comportamento intermediário são assim chamadas por apresentarem comportamento que se situa fisiologicamente entre a classe ortodoxa e recalcitrante. São aquelas que toleram secagem considerável, mas não completa (Black *et al.*, 2002).

As sementes com comportamento ortodoxo podem apresentar baixo teor de água (5 a 10% de seu peso fresco) quando dispersas da planta-mãe (Ferreira *et al.*, 2004). Elas

podem sobreviver aos estresses do ambiente e retomarem suas atividades metabólicas após as condições estarem favoráveis à germinação (Castro *et al.*, 2004). As sementes com comportamento ortodoxo, de maneira geral, aumentam sua longevidade com a redução do teor de água e podem ser armazenadas por muitos anos, sem que haja perdas significativas na sua viabilidade (Seiffert *et al.*, 2006). Esta tolerância à dessecação permite às sementes sobreviver durante períodos desfavoráveis ao crescimento da planta. Sementes de *B. odorata* podem apresentar esse comportamento ortodoxo, diferenciando-se da grande maioria das espécies da família Arecaceae (Fior, 2011).

Para Baskin & Baskin, (2014) a região apical do embrião atua como um órgão de absorção, denominado haustório, o qual absorve e metaboliza os produtos da hidrólise do endosperma. As reservas embrionárias devem ser mobilizadas para que ocorra o processo de germinação e esta mobilização inicia juntamente com a fase de embebição da semente (Nonogaki *et al.*, 2010).

Trabalhos recentes têm demonstrado a anatomia e a composição química de algumas sementes de areáceas. Proteínas e lipídios são as principais reservas relatadas para *Acrocomia aculeata* (Moura *et al.*, 2010); *Phoenix dactylifera* L. (DeMason & Thomson, 1981); *Washingtonia filifera* (DeMason, 1988a); *Euterpe edulis* (Panza *et al.*, 2004). A presença de amido no embrião foi verificada somente para *B. capitata* (Oliveira *et al.*, 2013) e *E. edullis* (Panza *et al.*, 2004). Todavia, para *B. odorata* não foram encontrados trabalhos verificando tais aspectos.

Ademais, o conhecimento das estruturas anatômicas e histoquímicas da semente de *Buita odorata* podem contribuir para a compreensão do processo germinativo. Logo, as observações morfoanatômicas são importantes na fitopatologia, taxonomia, ecologia, fisiologia, silvicultura e tecnologia de sementes (Mendonça *et al.*, 2008).

Estudos realizados até o momento com *B. odorata* contribuem para uma análise mais específica da relação da estrutura de dispersão desta espécie com a dormência

imposta. Entretanto, estes ainda são incipientes, pois a morfoanatomia da semente ainda não foi esclarecida, tão pouco as estruturas da região do opérculo que impossibilitam a germinação (Fior *et al.*, 2013).

2.7 Referências Bibliográficas

AGUIAR, F. F. A. et al. Germinação de sementes de *Rhapis excelsa* (Thunb.) Henry ex Rehder: efeitos da temperatura, luz e substrato. **Hoehnea**, São Paulo, v.32, n.1,119-126p, 2005.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 161, 105–121p, 2009.

BEWLEY, J.D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v.9, 1055-1066p, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc156979/pdf/091055.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: hysiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BELTRATI, C. M. et al. Semente. In: APPEZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2012. p. 369- 391.

BARROSO, G.M. et al. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Editora UFV,1999.

BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, Wellingford, v.14, p.1-16, 2004. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2f30047_11d9a98819383fe7e6aea847eb076ec5_journalssr1401s0960258504000017a.pdf&cover=y&code=3d0e10f42b54a09e5e74d9e8bd98cb77>. Acesso em: 27 out. 2015.

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. What kind of seed dormancy might palms have?. **Seed Science Research**, Wellingford, v.24, p.17-22, 2014.

BERJAK, P.; PAMMENTER. N. W. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, Oxford, v.101, n.2, 213-228p, 2008.

BLACK, M.; OBENDORF, R. L.; PRITCHARD, H. W. Damage and tolerance in retrospect and prospect. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford: CABI, 2002. p.367-382

BORGHETTI, F. Ecofisiologia da germinação das sementes. **Universa**, Brasília, v.8, p. 149-180, 2000.

BUCKERIDGE, M. S.; REID, J. S. G. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.48, p.153-162, 1996.

CARPENTER, W. J. Seed after-ripening and temperature influence in *Butia capitata* germination. **HortScience**, Alexandria, v. 23, n. 4, 702-703p. 1988.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162

CORNER, E. J. H. **The Natural History of Palm**. London: Weidenfeld and Nicolson, 1966.

CARDOSO, M. C. L. **El Palmar, la palma y el butiá**. Rocha, Uruguay: Proibides, 1999. (Fichas didáticas)

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.95-108

COCUCCI, A. E. Morphogenetic seed types of Spermatophyta. **Plant Systematics and Evolution**, v.250, p.1-6, 2005.

DEMASON, D. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. **American Journal of Botany**, Columbus, v.75, p.330-337, 1988a.

DEMASON, D.; TOMSON, W. W. Structure and ultrastructure of the cotyledon of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Botanical Gazette**, Chicago, v.142, p.320-328, 1981.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v.41, n.9, p.1167-1174, 1990.

FARNSWORTH, E. The ecological and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 31, n.1, p.107-138, 2000.

FIOR, C. S., et al. Superação de dormência em sementes de *Butia capitata*. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p.1150-1153, 2011.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo: Artmed, 2004. 323 p.

FERREIRA, S. A. N.; CASTRO, A. F.; GENTIL, D. F. O. Emergência de plântulas de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em função do prétratamento das sementes e da condição de semeadura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.4, p.1189-1195, 2010.

FENNER, M.; THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

- FIOR, C. S. **Propagação de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick & Lorenzi**. 2011. 184 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- FIOR, C. S.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F. Emergência de plântulas de *Butia odorata* (BARB. RODR.) Noblick em casa de vegetação. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.37, n.7, p.503-510, 2013.
- FIOR, C. S. et al. Superação de dormência em sementes de *Butia capitata*. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1150-1153, 2011.
- GEYMONAT, G.; ROCHA, N. **M'botiá. Ecosistema único en el mundo**. Castillos: Casa Ambiental, 2009. 405 p
- GROTH, D.; LIBERAL, O.H.T. **Catálogo de identificação de sementes**.Campinas: Fundação Cargill, 1988. 182p.
- GUNN, C.R. Seed topography in the Fabaceae. **Seed Science and Technology**, Zurich, n. 9, p.737-757, 1981.
- GALETTI, M., PIZO, M. A., MORELLATO, P. Fenologia, frugivoria e dispersão de sementes. In: CULLEN, Jr. L.; RUDRAN, R.; VALLADARES-PADUA, C. (Org.) **Métodos de Estudos em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre**. Curitiba: UFPR, 2003. 395-422p.
- HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field Guide to the palms of the Americas**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1995.
- HILL, J. P.; EDWARDS, W.; FRANKS, P. J. How long does it take for different seeds to dry. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 37, n. 6, p. 575-583, 2010.
- HOLTUM, R. Growth-habits of Monocotyledons - Variations on a theme. **Phytomorphology**, Delli, v.5, n.4, p.399-413, 1955.
- JANICK, J.; PAULL, R. E. **The Encyclopedia of Fruit & Nuts**. Cambridge: Cambridge University, 2006. 160p.
- KING, M. W.; ROBERTS, E. H. Maintenance of recalcitrant seeds in storage. In: CHIN, H. F.; ROBERTS, E. H. (Ed). **Recalcitrant crop seeds**. Kuala Lumpur: Tropical Press, 1980. cap. 4. p.53-89
- LOPES, P. S. N. et al.Tratamentos físicos e químicos para superação de dormência em sementes de *Butia capitata* (Martius) Beccari. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 120-125, 2011.
- LORENZI, H. et al. **Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2004. 416 p.
- LORENZI, H. et al. (Ed). **Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2010. 367p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. 170p.

LÉDO, A. S. et al. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de coqueiro-anão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p.147-154, 2007.

LEITMAN, P. et al. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. [Rio de Janeiro]: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, [2016]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB120993>>. Acesso em: 22 Jan. 2016

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MENDONÇA, M. S. et al. Morfo-anatomia do fruto e semente de *Oenocarpus minor* Mart. (Arecaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.30, n.1, Londrina, 2008.

MEEROW, A. W.; BROCHAT, T. K. **Palm seed germination**. Gainesville: University of Florida, 1991. (Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida Cooperative Extension Service Bulletin, 274).

MOURA, E.F.; VENTRELLA, M.C.; MOTOIKE, S.Y. Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, p.375-495, 2010.

MAGALHÃES, H. M. et al. Structure of the zygotic embryos and seedlings of *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, Berlin, v. 27, p. 273–283, 2013.

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

MARIATH, J. E. A.; SANTOS, R. P.; BITTENCOURT JR., N. S. Flor. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. 3.ed. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2012. 404p.

MINARDI, B. D. et al. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. **Insula**, Florianópolis, v. 40, p. 70-81, 2011.

MOURA, E.F.; VENTRELLA, M.C.; MOTOIKE, S.Y. Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, p.375-495, 2010.

NEVES, S. C. et al. Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitrivir*). **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Jena, v.208, n.1, p.68-78, 2013.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination – still a mystery. **Plant Science**, Limerick, 2010. (in press)

NOBLICK, L. R. Validation of the name *Butia odorata*. **PALMS**, Lawrence, v.55, n.1, p.48-49, 2011.

- OLIVEIRA, N. C. C. et. al. Efeito da maturação e temperatura na germinação de sementes de *Phoenix canariensis* hort. Ex Chabaud- Arecaceae. **Trees**, Berlin, v.27, p.1633-1645, 2013.
- OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T.S. Morfologia dos frutos alados em Leguminosae-Caesalpinioideae-Martiodendron Gleason, Peltophorum (Vogel) Walpers, Sclerolobium Vogel, Tachigalia aublet e Schizolobium Vogel. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v.36, n. 60, p.35-42, 1984.
- OLIVEIRA, N. C. C. et. al. Efeito da maturação e temperatura na germinação de sementes de *Phoenix canariensis* hort. Ex Chabaud- Arecaceae. **Trees**, Berlin, v.27, p.1633-1645, 2013.
- OROZCO-SEGOVIA, A. et al. Seed Biology of Palms: A Review. **PALMS**, Lawrence, v.47, n.2, p.79-94, 2003.
- PANZA, V.; LÁINEZ, V. E.; MALDONADO, S. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.145, p.445–453, 2004.
- PÉREZ, H. E. Promoting germination in ornamental palm seeds through dormancy alleviation. **HortTechnolog**, Alexandria, v. 19, n. 4, 682-685p, 2009.
- PIMENTA, R. S. et al. Efeito da maturação e temperatura na germinação de sementes de *Phoenix canariensis* hort. Ex Chabaud – ARECACEAE. **Revista Árvore**, v.34, n.1, 31-38p, 2010.
- REES, A.R. High-temperature pre-treatment and the germination of seed of the oil palm, *Elaeis guineensis*. **Annals of Botany**, Oxford, 26: 569–581p, 1962.
- RIBEIRO, L. M. et al. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, 133-139p, 2011.
- RIVAS, M.; BARBIERI, R. L. **Boas práticas em manejo para o extrativismo sustentável do Butiá**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 50p.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v.1, p.499-514, 1973.
- RODRIGUES, J. K.; MENDONÇA, S.; GENTIL, D. F. O. Efeito da temperatura, extração e embebição de sementes na germinação de *Bactris maraja* Mart. (Arecaceae). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.38, n.5, p.857-865, 2014.
- ROSSATO, M. **Recursos genéticos de palmeiras do gênero *Butia* do Rio Grande do Sul**. 2007. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.
- SCHINDWEIN, G. et al. Alleviation of seed dormancy in *Butia odorata* palm tree using drying and moist-warm stratification. **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v.41, p.1-11, 2013.

SEIFFERT, M. et al. Efeito da secagem e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Protium widgrenii* Engler. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p.35-42, 2006.

SCHLINDWEIN, G. et al. Influência de regimes de temperatura e da secagem sobre germinação de diásporos de *Butia capitata* (Becc.). In: CONGRESO NACIONAL DE HORTIFRUTICULTURA, 11., CONGRESO DE PROMOCIÓN DEL CONSUMO DE FRUTAS Y VERDURAS, 3., 2007, Montevideo. **Resumos...** Montevideo: Sociedad Uruguaya de Hortifruticultura, 2007. 1 CD-ROM.

SCHLINDWEIN, G. **Implicações ecológicas da dormência de sementes de *Butia odorata* (Arecaceae)**. 2012. 132 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S.; MOURÃO, K. S. M. Fruto. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. 3.ed. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2012. 404p.

SUN, W. Q. Desiccation sensitivity of sixty-four tropical, subtropical and temperate recalcitrant seeds. **Asian Journal of Tropical Biology**, Singapore, v. 3, p.9-13, 1999.

TOMLINSON, P. B. **The structural biology of palms**. Oxford: Clarendon Press, 1990. 477p.

TONIETTO, A.; SCHLINDWEIN, G.; TONIETTO, S. M. **Usos e potencialidades do butiazeiro**. Porto Alegre: Fepagro, 2009. 28p. (Circular Técnica, n. 26). Disponível em: http://www.sct.rs.gov.br/include/download.php?arq=1256811442butia_oficial.pdf. Acesso em: 22 fev 2016.

TWEDDLE, J. C. et al. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 91, n. 2, p.294-304, 2003.

UHL, N. W.; DRANSFIELD, J. **Genera Palmarum: a classification of palms based on the work of Harold E. Moore, Jr. L. H. Lawrence**, Kansas: Allen Press / Bailey Hortorium and the International Palm Society, 1987.

WALDOW, D. A. G., et al. *In vitro* culture of zygotic embryos of *Butia eriospatha*. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Butia eriospatha*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, 2179-2188p, 2013.

ZAIDAN, L.B.P.; BARBEDO, C. J. Quebra da dormência em sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. Cap. 8, p.135-146.

ZONA, S.; HENDERSON, A. A review of animal-mediated seed dispersal of palms. **Selbyana**, Sarasota, v.11, p.6–20, 1989.

3 ARTIGO

Superações da dormência em *Butia odorata*: Descrição morfoanatômica do processo germinativo e sua aplicação para cultivo.

(manuscrito formatado segundo normas do Periódico Trees)

Overcome dormancy in *Butia odorata*: morphoanatomical description of the germination process and its application for cultivation

Abstract

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick is a native palm tree with high food and ornamental potential, but with slow and uneven germination. This work aimed to characterize the seed morphology and anatomy related to dormancy and mobilization of reserves during dormancy breaking treatment. Diaspores were seeded in *gerbox* on average washed sand, and kept in a growth chamber for 20 days at a temperature of 40 ° C, followed by 20 days at 30 ° C. Every five days diaspores were removed had their seeds isolated, chopped and fixed for further microscopy analysis. *B. odorata* pyrenes present an obovate depression and have three germinative pores. Endocarp is consistent and has grooves in its structure. The seeds present an involucre with streaks and the operculum presented phenolic compounds and no lignin. The endosperm is homogeneous, white and shiny. The micropylar endosperm cells have thick walls that are quickly metabolized. The embryo is small, basal, and presents the plumule, as well as differentiated regions as early as ten days after sowing. At the end of the 40 ° C period, breakdown of micropilar endosperm cells and weakening of the middle lamella was noticed, which resulted in the rupture of the operculum and germination. The reserves found in endosperm and embryo were: starch, total polysaccharides, total lipid, protein and phenolic compounds in opercular region. The mobilization of reserves occurred even before the operculum was removed.

Keywords Palms. Operculum. Histochemistry. Seed anatomy. Dormancy.

INTRODUÇÃO

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick é uma espécie monocotiledônea pertencente a família Arecaceae. Seus frutos, comumente chamados de butiás, são drupas que contêm de uma a três sementes (Geymonat e Rocha 2009; Lorenzi et al. 2010) as quais apresentam germinação lenta e irregular devido a dormência (Geymonat e Rocha 2009; Lorenzi et al. 2010; Ferreira et al. 2010).

Essa espécie apresenta grande importância econômica, tanto pelo seu potencial alimentício, que fornece diversos derivados, como por seu apelo ornamental (Lorenzi et al. 2004). Atualmente a comercialização de mudas é oriunda do extrativismo e as tentativas realizadas para fins de cultivo ainda são onerosas e inviáveis (Fior et al. 2011). Somado a isso, o pastejo e pisoteio do gado aliado a presença de espécies exóticas interfere também no processo de regeneração dessas populações, que possuem propagação exclusivamente por sementes (Geymonat e Rocha 2009; Lorenzi et al. 2010; Ferreira et al. 2010). Neste contexto, a espécie apresenta-se vulnerável (Leitman et al. 2012) e, segundo Rivas e Barbieri (2014) as populações naturais devem ser consideradas como áreas prioritárias para conservação.

Frente a esse cenário, estudos que visem compreender estratégias reprodutivas de *B. odorata* são essenciais tanto para auxiliar em medidas de conservação dos butiazais como desenvolver novas técnicas de cultivo para fins comerciais (Fior et al. 2011; Lopes et al. 2011).

Faltam estudos que sobre as características das sementes e processos germinativos que esclareçam os mecanismos relacionados com a dormência das sementes. Alguns trabalhos apresentam grandes contribuições na superação da dormência, por exemplo, a remoção do opérculo das sementes (Fior et al. 2011) e o tratamento com elevada temperatura nas primeiras semanas após a sementeira (Carpenter 1988; Schlindwein et al. 2013). Além disso, através de uma descrição anatômica da semente de *B. capitata* foi possível descrever a incapacidade do embrião em superar a barreira imposta pelo opérculo (Oliveira et al. 2013). No entanto, não foram encontrados estudos que visem a caracterização das sementes de *Butia* spp, relacionada aos possíveis mecanismos de dormência, sendo o entendimento morfoanatômico e o processo de mobilização de reservas das sementes ainda incipientes. Diante disso, este trabalho se propôs a caracterizar a

morfologia do pirênio de *B. odorata*, e analisar anatômica e histoquimicamente suas sementes, com o objetivo de contribuir com a elucidação dos mecanismos de dormência e germinação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e processamento do material.

Frutos maduros de *B. odorata* foram coletados de sete plantas matrizes, tendo como critério de coleta, a presença de frutos em maturação visual nas ráquias das plantas, com predominância da cor amarela ou laranja do epicarpo. Poucas horas após a coleta o material foi submetido ao despulpamento através de fricção manual sob água para a remoção da polpa (mesocarpo). Logo, os pirênios foram secos à sombra em temperatura ambiente (~25°C) por um período de sete dias no Laboratório de Horticultura e Silvicultura na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Parte do material vegetal foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) com o número de registro ICN 181061.

Superação da dormência e germinação

Os estudos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO). Para seleção do material a ser trabalhado, foi elaborado um teste piloto visando a escolha de propágulos mais responsivos ao teste de superação de dormência descrito por Carpenter (1988) com alterações propostas por Schlindwein, et al. (2013). A escolha desse método deveu-se à necessidade de preservação da integridade do pirênio durante o tratamento de superação de dormência. Foram utilizados pirênios de *B. odorata* de diferentes localidades do Rio Grande do Sul, constituindo os acessos. Destes, o que apresentou a maior porcentagem de germinação em um prazo máximo de 55 dias foram os pirênios coletados em Barão do Triunfo, sendo esse, portanto, o acesso selecionado para os estudos que seguem. Após secos, os pirênios foram submetidos ao processo de superação da dormência. Para tanto, foram semeados sobre areia média lavada e esterilizada, umedecida com água destilada a 60 % da capacidade de retenção (Brasil 2009), em caixas de germinação do tipo *gerbox*, 25 pirênios por caixa. O estudo foi composto por 8 caixas, totalizando 200 pirênios. Depois de semeados, os

pirênios foram cobertos com uma leve camada do mesmo substrato. Em seguida, as caixas de germinação foram tampadas e envoltas individualmente em embalagens plásticas para manter a umidade. Logo, permaneceram por 20 dias sob temperatura de 40 °C em câmara de germinação tipo Mangelsdorf, sem iluminação interna. Transcorrido esse tempo, as caixas foram transferidas para ambiente com temperatura de 30 °C por mais 20 dias, totalizando 40 dias desde a semeadura (Tab. 1). Esse método em temperatura de 40°C foi denominado neste artigo, pré-aquecimento. A cada cinco dias as caixas de germinação eram abertas e retiradas amostras de cinco pirênios para avaliações anatômicas e histoquímicas (Tab. 1), sendo a primeira amostragem realizada antes da semeadura. Dentro destes intervalos também foi feita a verificação e manutenção do nível de umidade da areia.

Tab.1 Procedimento para a superação de dormência em pirênios de *B. odorata* e amostragens para os estudos mofoanatômicos e histoquímicos. FEPAGRO, Porto Alegre-RS, 2014.

Amostragens	Superação da dormência (warm stratification)					Germinação			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a
Dias transcorridos após semeadura	0	5	10	15	20	25	30	35	40
Temperatura	40°					30°			

Procedimento para as análises anatômicas

Após a retirada das amostras em cada intervalo, os pirênios foram submetidos à pressão em um torno de bancada para a remoção do endocarpo e isolamento das sementes. Em seguida as sementes foram desbastadas de forma longitudinal, retirando-se parte do endosperma próximo ao embrião, sem expô-lo, deixando-o encoberto por fina camada de endosperma. Em seguida, o material era dividido em duas amostras, sendo uma delas destinadas a material de reserva. Ambas as amostras foram imersas em solução fixadora com glutaraldeído 1 % e formaldeído 4 %, em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 (McDowell e Trump 1976). Após, somente uma amostra, representada por três sementes

desbastadas seguiram o processo. Foram desidratadas em série etílica passando-as em clorofórmio-etanol, pré-infiltradas em uma solução de etanol absoluto e resina 2-hidroxietil-metacrilato (1:1) e incluídas na mesma resina. O material foi emblocado em hidroxietilmetacrilato e polimerizado com um catalisador Hardener II (Kit Technoviz 7100). O material emblocado foi posteriormente seccionado em micrótomo de rotação LEICA RM2265 com 2-5 µm de espessura, aderidos em lâmina de vidro e subsequentemente, corados com Azul de Toluidina O (C.I.52040) - 0,1% e pH 4,4 (O'Brien; McCully 1981) e fuscina básica 1%. As análises e as fotomicrografias do material foram realizadas sob microscopia de Campo Claro em microscópio Leica DMR HC, com câmara digital Leica DFC500.

Testes Histoquímicos

A detecção de compostos químicos nos tecidos foi feita diretamente nos cortes incluídos em resina e em cortes à mão livre do material fixado. Os testes utilizados foram: Sudan Black B (Pearse 1980) e Sudan III (Sass 1951), para detectar lipídios totais; Lugol (Johansen 1940) para detectar amido; Xilidine Ponceau 0,1% em ácido acético 3% (O'Brien and McCully 1981), para detectar proteínas totais; Reativo de Schiff (PAS - Periodic Acid - Schiff) (Lillie 1965) para detectar polissacarídeos totais; Cloreto Férrico 10% (Johansen 1940) para detectar substâncias fenólicas e Floroglucinol/ HCl (Sass 1951) para detecção de ligninas. As secções foram fotografadas e analisadas como descrito acima para a anatomia.

RESULTADOS

Morfologia

Os frutos de *B. odorata* apresentam forma levemente globosa com uma extremidade mais achatada a qual é fixada à ráquila, sendo o lado oposto pontiagudo (Fig. 2A). O epicarpo apresenta coloração laranja-avermelhada quando os frutos estão maduros (Fig. 2A). O pirênio é depresso obovado e apresenta três poros germinativos, dispostos na região dos polos (Fig. 2B).

O endocarpo possui uma estrutura de consistência rígida, coloração marrom acinzentado opaca. Tanto na superfície externa quanto interna há a presença de estrias dispostas de maneira reticulada em toda a estrutura. O endocarpo limita a cavidade denominada de lóculo, que abriga uma semente (Fig. 2B).

As sementes de *B. odorata* possuem um envoltório constituído pela testa e o tégmen, em todo seu entorno com coloração marrom avermelhado e com presença de estrias de coloração clara, análogas às estrias do endocarpo (Fig. 2C). Porém, estão de forma reticulada somente nas laterais da semente e ordenadas de maneira longitudinal na região da rafe, disposta ao longo do eixo da semente (Fig. 2C). Esta mesma disposição das estrias é vista nos lóculos onde cada semente se encontrava inserida no endocarpo, proporcionando uma espécie de impressão digital única para cada semente (Fig. 2B).

Na região micropilar, ocorre uma protuberância no envoltório da semente, com coloração amarelada, em formato cônico, o opérculo (Fig. 2C). Logo abaixo do opérculo se encontra o embrião, sua posição é linear basal e está fixado na cavidade embrionária (Fig. 2D). O embrião possui duas regiões distintas: a região proximal cilíndrica, voltada para o opérculo, de coloração amarelada e a região distal com coloração esbranquiçada e pontiaguda (Fig. 2D). Logo abaixo da região distal do embrião das sementes referentes a primeira amostragem, ou seja, material que não foi submetido a elevada temperatura, observa-se uma linha no centro do endosperma, posicionada de maneira paralela à região da rafe no interior da semente. Na segunda amostragem (cinco dias após sementeira) esta linha apresentava-se expandida, formando uma câmara de ar no endosperma (Fig. 2E), sendo essa câmara de ar, na oitava amostragem, a região que ocupa a maior parte do endosperma no centro da semente (Fig. 2F).

Anatomia

Foram observadas mudanças morfológicas relevantes no embrião ao longo do período de amostragens. Estas modificações estão esquematizadas na Fig. 3.

As sementes de *B. odorata* apresentam um revestimento (testa) com 5 a 7 camadas de células mortas de formato irregular e parede delgada o qual não se altera ao longo das amostragens. O opérculo é uma região da testa também composto por camadas enrijecidas pluriestratificadas constituídas por células mortas, não apresentando núcleo e citoplasma

evidentes. As células são de formato isodiamétrico em corte longitudinal e paredes finas. Observou-se acima da região opercular e ao longo da testa fragmentos representativos do endocarpo (Fig. 4A). A presença do endocarpo foi observada em todas as amostragens.

O endosperma da semente possui duas regiões distintas, onde as células se diferenciam, porém, a estrutura é a mesma: o endosperma na região micropilar (ED1) situado entre o opérculo e a região proximal do embrião e o endosperma (ED2) que envolve o embrião.

O endosperma da região micropilar é homogêneo, ou seja, todas as células são isodiamétricas, sem espaço intercelular. Já o endosperma apresenta suas células dispostas linearmente em torno do embrião e sem esta organização em outras regiões do endosperma. (Fig. 4B). As células do endosperma apresentam paredes delgadas enquanto que as células do endosperma na região micropilar apresentam as paredes mais espessas (Fig. 4C). Em secção longitudinal nota-se um limite entre as duas regiões do endosperma, a “linha de fraqueza”, representada por células de menor calibre e obliteradas que se estende até o encontro das células do opérculo (Fig. 4C). Observa-se ainda o descolamento da lamela média das células dessa região (Fig. 4C).

Essa “linha de fraqueza”, representada pelo descolamento da lamela média, foi visível a partir da segunda amostragem (cinco dias após semeadura), acompanhado do início da diferenciação do hiperfilo, responsável pela posterior formação do haustório, (Fig. 4D) e da atenuação (consumo) do endosperma micropilar (Fig. 4E). Este consumo parece estar metabolizado totalmente na quinta amostragem (vinte dias após semeadura) (Fig. 3, 4F), enquanto que o início do consumo do endosperma ocorre somente a partir da terceira amostragem (Fig. 4G), ou seja, cerca de dez dias do início do tratamento de superação de dormência.

O embrião está inserido na cavidade embrionária em posição linear e basal, sendo esta posição referente ao seu posicionamento voltado para a região micropilar (Fig. 2F). Esta estrutura apresenta epiderme constituída por uma única camada de células justapostas e é composto pelo eixo embrionário e pelo cotilédone. A partir da terceira amostragem (dez dias após semeadura) o cotilédone inicia sua diferenciação em duas porções: o hiperfilo e a região de alongamento do cotilédone que eleva a plúmula, distanciando-a da semente e o hipofilo, que formará a bainha cotiledonar (Fig. 5A).

No eixo embrionário, a plúmula foi observada em embriões de sementes sem tratamento, ou seja, amostragem referente aos diásporos coletados a campo sem a

interferência da variação de temperatura. Esta estrutura foi se desenvolvendo ao longo dos dias de amostragem (Fig. 4E, 5B, 5C) e ao 35º dia após a sementeira, foi possível observar catáfilos e eixo hipocótilo-radícula nitidamente diferenciados na plúmula (Fig. 5A, B).

O alongamento do hiperfilo, que é visto como uma região de intensa multiplicação celular, também chamada de zona “M” (Oliveira et al., 2013) foi verificado após a primeira amostragem (cinco dias após a sementeira) (Fig. 3e). Nesta mesma amostragem, a região haustorial do hiperfilo também apresenta essa intensa multiplicação celular (Fig 4D), que a partir da sétima amostragem (trinta dias após sementeira) está diferenciada em uma estrutura alongada e projetada para o interior da semente, o qual apresenta uma constrição distal (Fig. 5A).

Ainda, na sétima amostragem, o consumo do endosperma se torna mais intenso (Fig. 5D) e na oitava amostragem ocorre o rompimento do opérculo (Fig. 4H, I). As células desta estrutura não manifestam resistência ao serem impulsionadas pelo embrião (Fig. 4I), propiciando assim, o desenvolvimento do hiperfilo para o exterior da semente. Da mesma maneira, a porção haustorial segue se diferenciando após o rompimento do opérculo, e na nona amostragem (40 dias após sementeira), já são observadas invaginações das células do haustório (Fig. 3).

Aos cinquenta e cinco dias, além do expressivo crescimento do hiperfilo, que conecta a plântula à semente, o haustório apresenta invaginações e vários espaços intercelulares (Fig. 6A, B). A plântula em estágio de desenvolvimento inicial pode ser observada na Fig 6A, a qual apresenta um catáfilo em forma tubular, radícula e bainha cotiledonar.

Histoquímica

Os compostos de reserva encontrados nas sementes foram: amido, polissacarídeos totais, lipídios totais, proteínas totais e compostos fenólicos na região opercular (Figura 7A) (Tabela 2). Ligninas não foram encontradas (Figura 7B) quando submetidas ao teste de floroglucinol. Estes compostos sofreram algumas alterações ao longo das amostragens, com exceção aos compostos fenólicos.

Em corte longitudinal do material fresco submetido à Sudan III para detecção de lipídios, na primeira amostragem, ou seja, material sem a submissão à estratificação,

mostrou a presença de corpos lipídicos no endosperma e embrião da semente (Fig. 7C), representado pela coloração avermelhada. Em corte anatômico submetido à Sudan Black, esta amostragem reagiu a uma concentração de lipídios na região central do embrião (Fig. 7D). Na segunda amostragem, cinco dias após a semeadura, corpos lipídicos com esse mesmo reagente também foram observados no embrião e endosperma, porém, no embrião esse composto foi mobilizado para a zona “M” (Fig. 7E). Na quarta amostragem não houve a presença de lipídios no endosperma e embrião. Já na sétima amostragem, trinta dias após a semeadura, os corpos lipídicos detectados por Sudan Black foram mobilizados para a região distal do embrião (Fig. 7F), região que já está em processo de formação do haustório (Fig. 3).

Em material fresco, na primeira amostragem, o amido detectado pelo Lugol, foi observado somente na região do embrião (Fig. 7G), em maior presença na região proximal, zona “M”. Na segunda e quarta amostragem não foi observada a presença do amido no endosperma e embrião das amostras (Fig. 7H). Na sétima amostragem, em corte anatômico, após trinta dias de semeadura, foi verificada a presença de amido na região proximal, na zona com intensa multiplicação celular (Fig. 7I).

O Xilidine, o qual reage às proteínas totais demonstrou reação positiva no endosperma na primeira amostragem (Fig. 7J). Cinco dias após a semeadura, segunda amostragem, ocorreu a metabolização dessas proteínas do endosperma (Fig. 7K). Na sétima amostragem, após trinta dias, foi observada novamente a presença de proteínas totais no endosperma (Fig. 7L).

Em material fresco, referente à primeira amostragem, foi possível observar a presença de polissacarídeos totais no endosperma e em maior presença na região distal do embrião (Fig. 7M). Na segunda amostragem, cinco dias após semeadura, não foi observada a presença desses polissacarídeos no interior das células do embrião e endosperma apenas nas paredes (Fig. 7N). Na sétima amostragem, os polissacarídeos foram verificados no endosperma (Fig. 7O).

Tab. 2 Resultados dos testes histoquímicos aplicados em sementes *B. odorata* para detecção das principais classes de metabólitos. UFRGS, Porto Alegre-RS, 2015

Metabólitos	Teste	Embrião	Endosperma	Testa
Lipídios totais	Sudan III e Sudan Black	+	+	-
Amido	Lugol	+	+	-
Proteínas totais	Xilidine Ponceau	-	+	-
Polissacarídeos totais	P.A.S	+	+	-
Compostos Fenólicos	Cloreto de Ferro III	-	-	+
Ligninas	Floroglucinol	-	-	-

(-) reação negativa; (+) reação positiva.

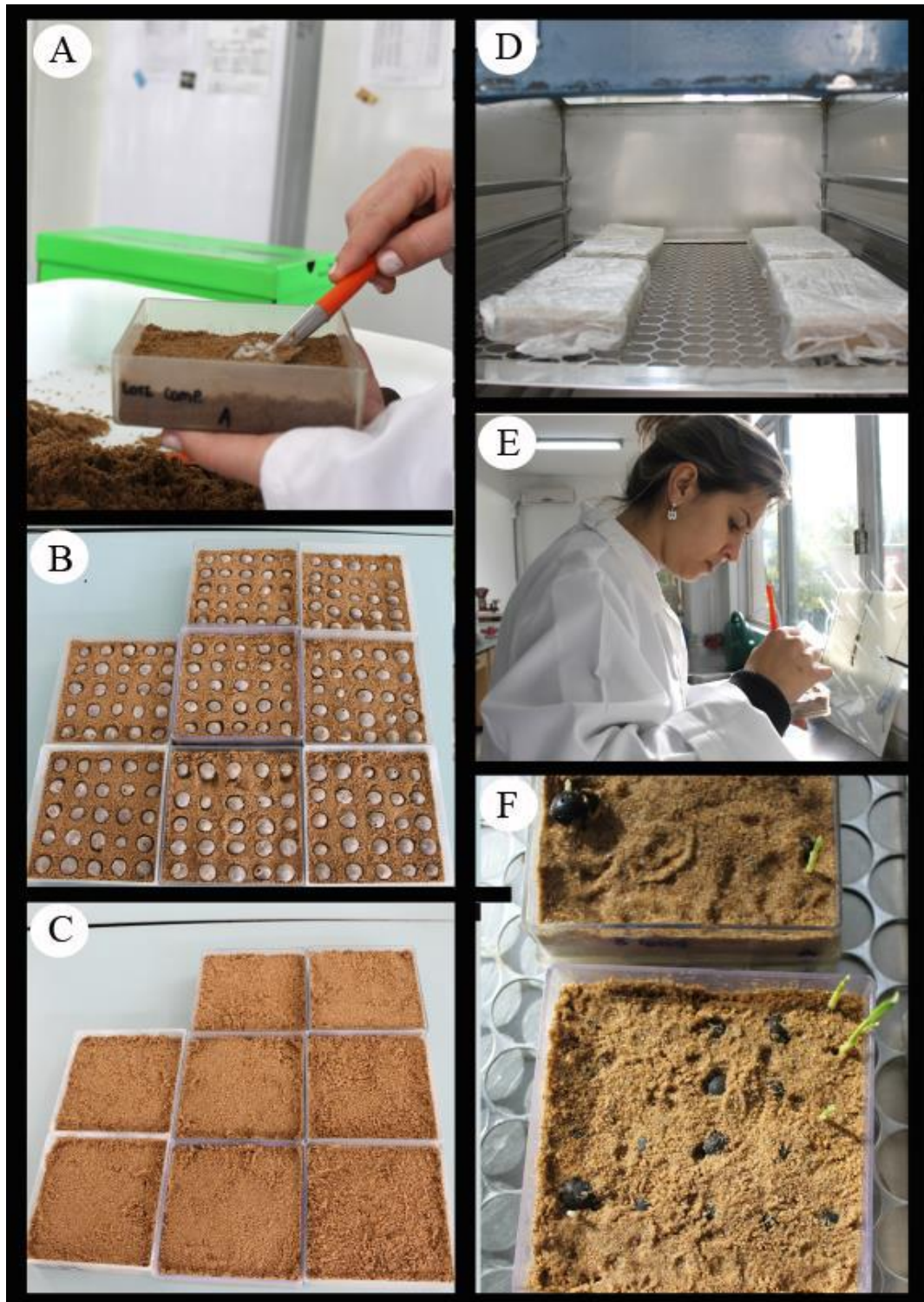


Fig. 1 Metodologia para superação da dormência dos pirênios de *B. odorata*. Preparação das caixas de germinação (A). Pirênios semeados (B). Pirênios encobertos pelo substrato (C). Material embalado em câmara de germinação (D). Retirada da amostra das caixas de germinação (E-F).

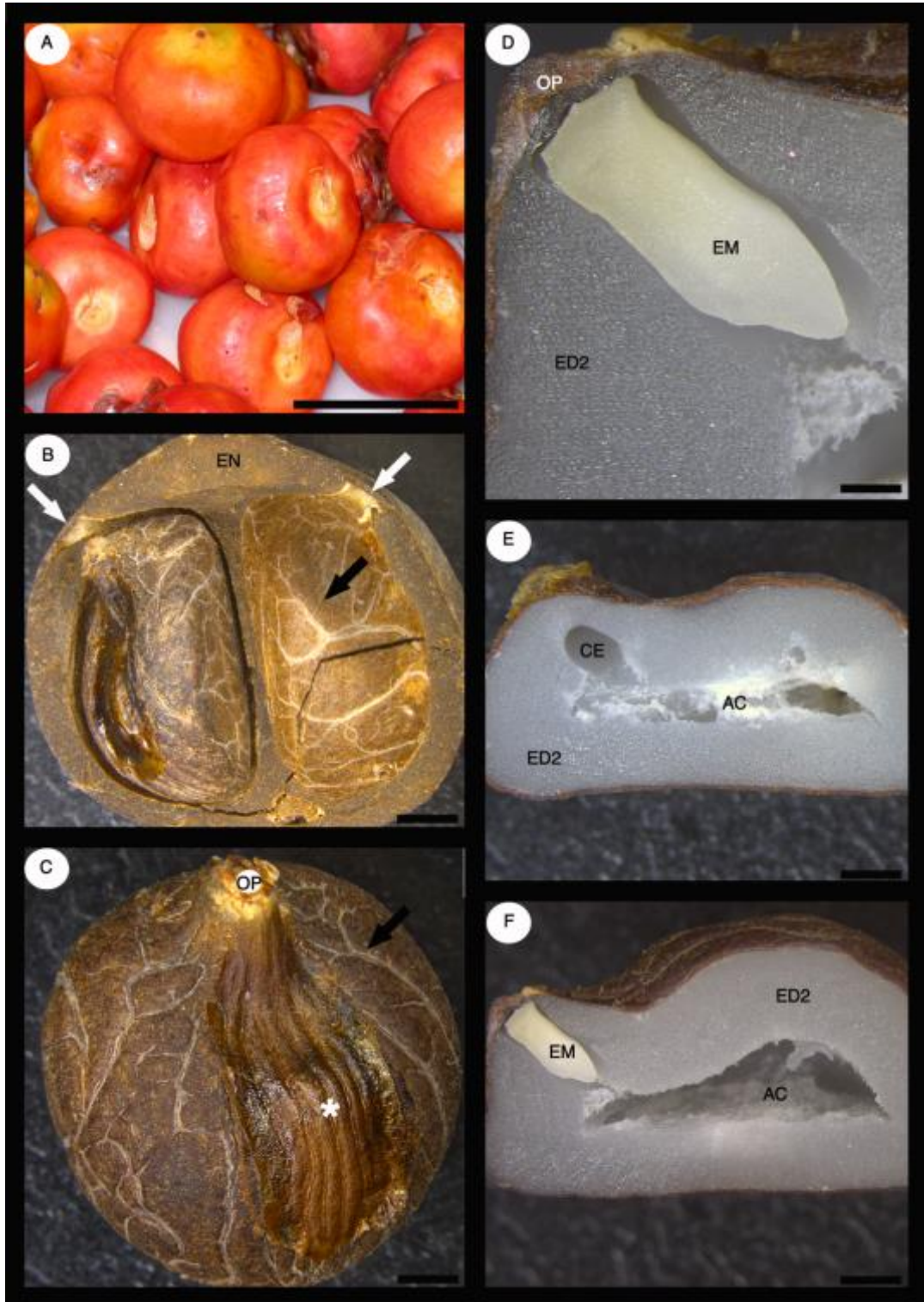
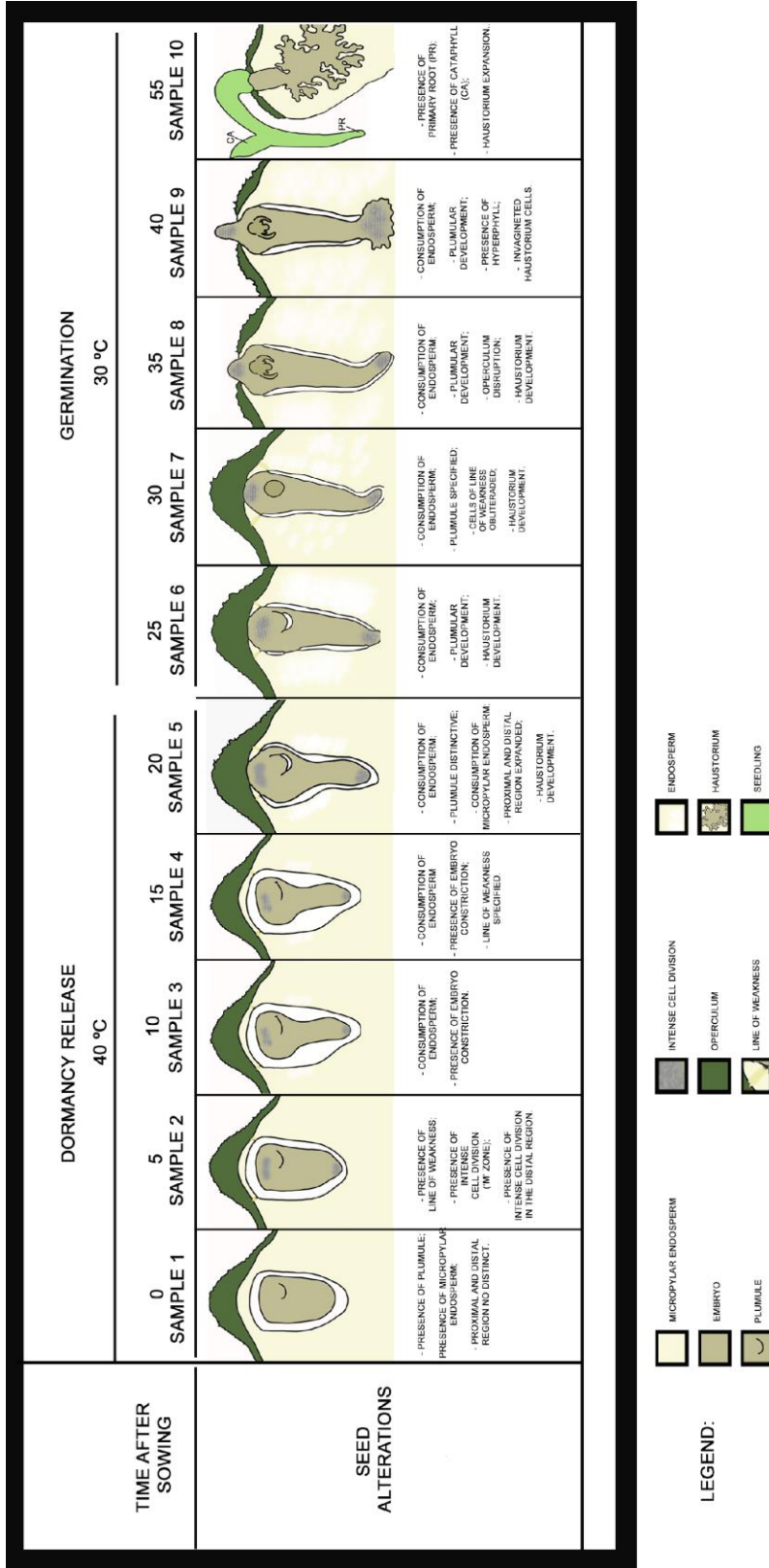


Fig. 2 Estrutura de dispersão de *B. odorata*. Frutos maduros (A). Pirênio partido, com a presença de uma semente (B) e a presença dos poros germinativos (setas brancas) e o lóculo (seta preta). Semente isolada (C) com estrias reticuladas (seta preta) e longitudinais (asterisco). Corte longitudinal em material fresco (D). Corte da semente após 5 dias da semeadura (E). Corte longitudinal da semente após 30 dias da semeadura (F). EM (embrião), EN (endocarpo), ED2 (endosperma), AC (câmara de ar), OP (opérculo), CE (cavidade embrionária). Escalas: (A) 2cm, (B-F) 2mm.



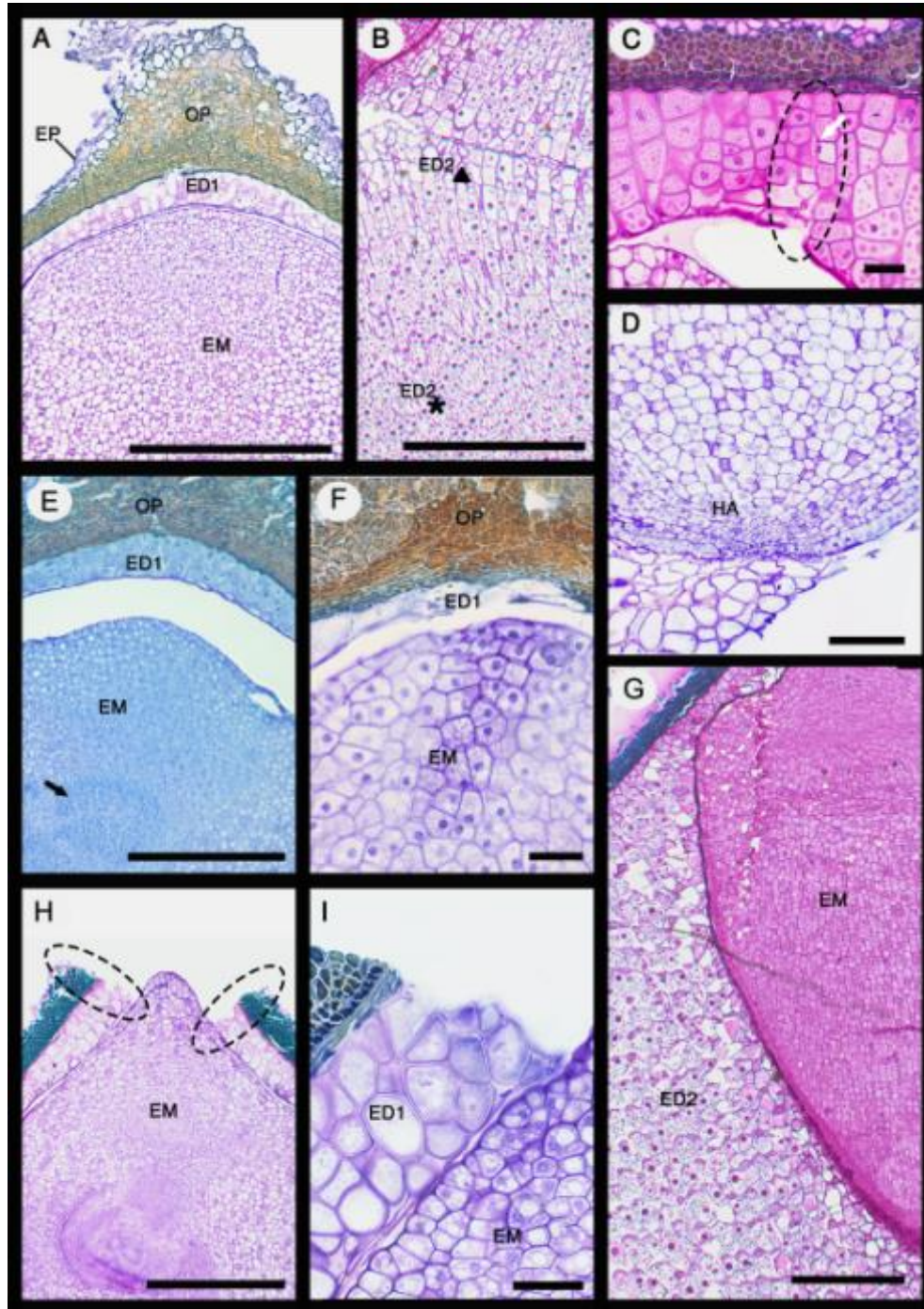


Fig. 4 Secções longitudinais da semente de *B. odorata*. Região proximal do opérculo (A), Detalhe da disposição linea (triângulo) e sem ornamentação (asterisco) no endosperma (B), Zona de fragilidade (linha pontilhada) do endosperma micropilar (C), Diferenciação do hiperfilo (D), Região proximal do embrião na 2ª amostragem (E) com a presença da plúmula (seta preta), Região proximal do embrião na 5ª amostragem (F), Metabolização do endosperma na 3ª amostragem (G), Embrião com o opérculo removido (linhas pontilhadas) na 8ª amostragem (H), Detalhamento das células da zona do rompimento do opérculo (I). EM (embrião), ED1 (endosperma micropilar), ED2 (endosperma), EP (fragmentos do endocarpo), OP (opérculo), HA (hiperfilo). Escalas: (A-E) 500 µm, (B) 2mm, (C e H) 200 µm, (D) 50 µm, (F-I) 100 µm, (G) 1mm.

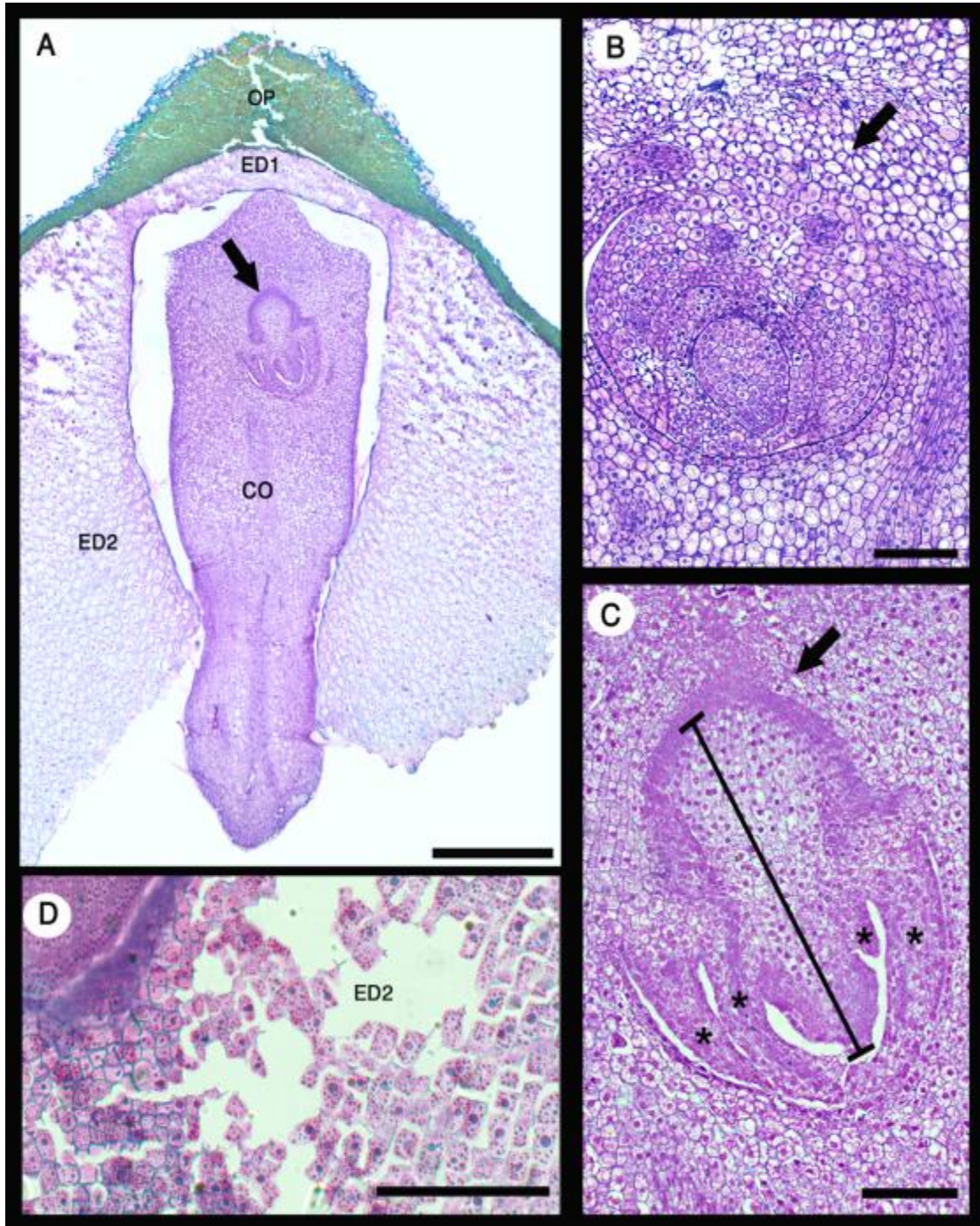


Fig. 5 Secções longitudinais da semente de *B. odorata*. Embrião com a plúmula (seta) na sétima amostragem (A), detalhe da plúmula (seta) na 9ª amostragem (B), detalhe da plúmula (seta) com os catáfilos (asteriscos) e o eixo embrionário (seta linha) na sétima amostragem (C), Metabolização do endosperma na 7ª amostragem (D). EM (embrião), ED1 (endosperma micropilar), ED2 (endosperma), OP (opérculo). Escalas: (A e E) 500 μ m, (B e C) 100 μ m.

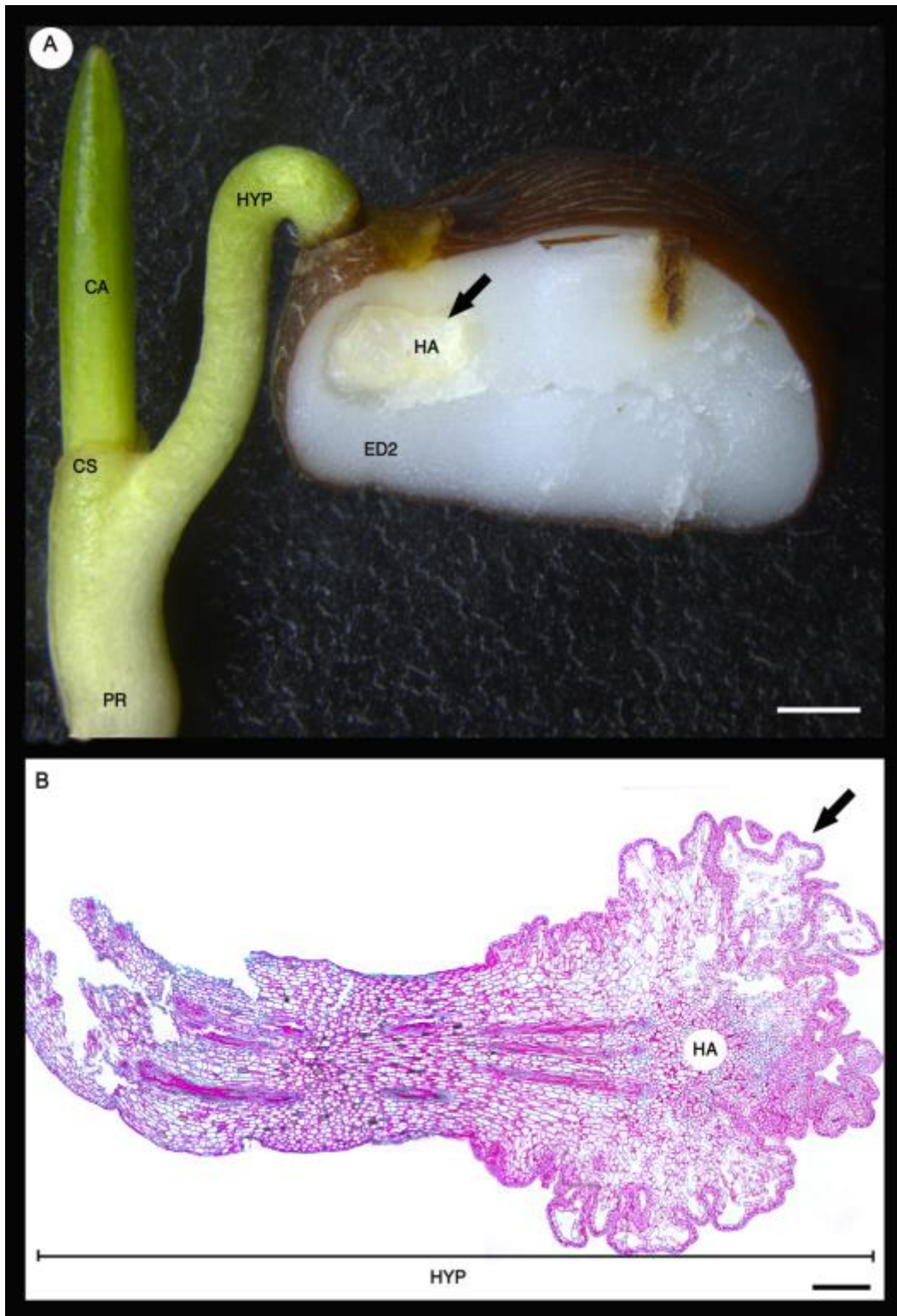


Fig. 6 Semente de *B. odorata* germinada. Plântula conectada ao haustório (seta) após cinquenta e cinco dias de semeadura (A), corte anatômico detalhando as células do haustório (seta) de plântula aos cinquenta e cinco dias após semeadura (B). ED2 (endosperma), HYP (hiperfilo), CA (catáfilo), PR (radícula), HA (haustório), CS (bainha cotiledonar). Escalas: (a) 2 mm, (b) 100 μ m.

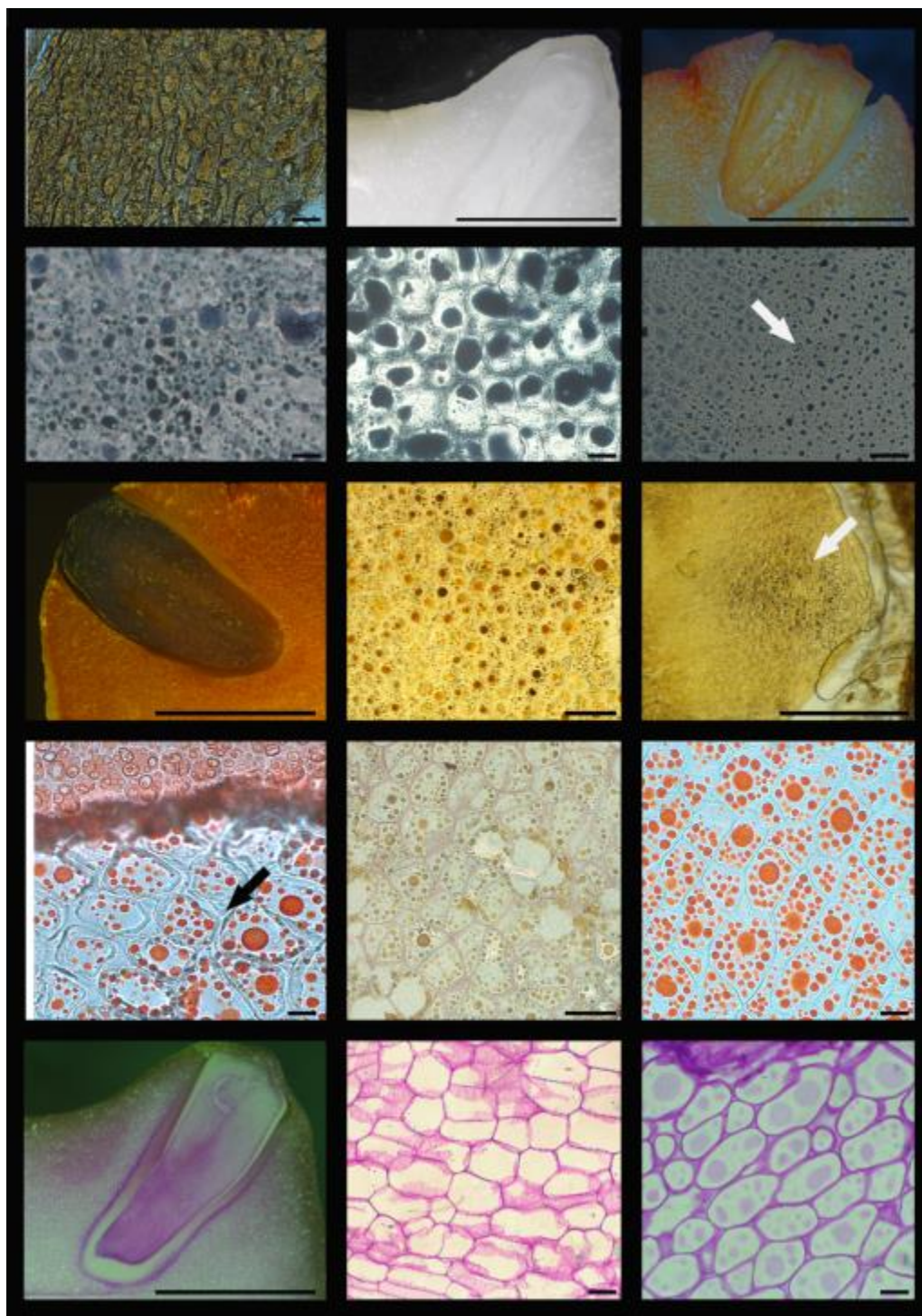


Fig. 7 Testes histoquímicos em semente de *B. odorata*. Região do opérculo (A), Material fresco submetido ao teste para lignina (B), Material fresco submetido ao teste para lipídios totais (C), Região distal do embrião (1ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (D), Região proximal do embrião, zona “M” (2ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (E), Centro e região distal do embrião (7ª amostragem) submetido ao teste para lipídios totais (F), Material fresco submetido ao teste para amido (1ª amostragem) (G), Endosperma (4ª amostragem) submetido ao teste para amido (H), Região proximal do embrião, zona “M” (7ª amostragem) submetido ao teste para amido (I). Endosperma (1ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (J), Endosperma (2ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (K), Endosperma (7ª amostragem) submetido ao teste para proteínas (L), Material fresco submetido ao teste para polissacarídeos totais (M), Endosperma (2ª amostragem) submetido ao teste para polissacarídeos totais (N), Endosperma (7ª amostragem) submetido ao teste para polissacarídeos totais (O). Escalas: (A, D, E, J, L, N, O) 20 μ m, (B, C, G, M) 1mm, (F, H, K) 50 μ m, (I) 500 μ m.

DISCUSSÃO

A semente de *B. odorata* tem similaridades com sementes de outras palmeiras do gênero já descritas na literatura. No entanto, os testes histoquímicos durante o acompanhamento da germinação das sementes permitiram a obtenção de algumas informações sobre a mobilização de reservas e metabolização do endosperma da região micropilar para o gênero de Arecaceae.

O endocarpo rígido que envolve as sementes de *B. odorata*, fornece proteção mecânica (Tomlinson 1990), já que a fina espessura da testa das sementes desempenha função contra injúrias biológicas devido aos compostos presentes (Werker 1997). Para Esaú (1977), o arranjo compacto das células do tegumento da semente está diretamente relacionado com o grau de impermeabilidade. O arranjo de células no tegumento das sementes de *B. odorata* é representado por células pequenas com a presença de compostos fenólicos. Estas células apresentam espaço intercelular o que pode ser um contribuinte para a permeabilidade do tecido. As estrias observadas nos lóculos do endocarpo de *B. odorata* são representadas por sulcos finos e superficiais, o qual Oliveira et al. (2013) definem como sendo fibras em *B. capitata*.

A dificuldade das sementes de *Butia* spp em germinar está associada às células do opérculo, o qual constitui uma barreira que impossibilita a germinação do embrião (Fior et al 2011; Oliveira et al. 2013). Em *B. capitata* a remoção desta estrutura possibilita uma maior porcentagem germinativa (Fior et al, 2011; Oliveira et al 2013), no entanto, a remoção do opérculo para cultivo em escala se torna muito onerosa (Fior et al 2011), sendo tal método inviável. A submissão dos pirênios de *Butia* spp a um período com temperatura elevada torna-se uma alternativa de baixo custo e apresenta bons percentuais de germinação (Schlindwein et al. 2013) sendo portanto viável para produção em escala.

Schlindwein (2012) verificaram que um período com elevada temperatura ocorre a campo e tal fenômeno promove a superação da dormência das sementes de *B. odorata*. Esses dados corroboram os resultados deste trabalho, onde o rompimento do opérculo ocorreu após os pirênios permanecerem sob temperatura de 40 °C por vinte dias. Nesse sentido, a germinação lenta e irregular das sementes dessa espécie, em ambiente natural, poderia ser explicada devido ao período de dispersão de seus frutos, o qual ocorre no verão até o início do outono. Com isso, a maioria das sementes permanece dormente até que ocorra um aumento significativo na temperatura (Broschat 1998; Carpenter 1988;

Schlundwein et al. 2013) por um certo período de tempo, que normalmente ocorre no final da primavera e verão seguintes à sua dispersão. Para Ramos e Varela (2003) a temperatura ideal para que ocorra a germinação e o estabelecimento da plântula, normalmente, está relacionada à faixa de temperatura típica do local de ocorrência da espécie.

Em estudo feito com sementes de *B. capitata* (Oliveira et al. 2013) os autores perceberam alterações morfológicas no embrião de sementes, com o opérculo intacto, quando estas eram embebidas em água. Segundo Nonogaki et al. (2010) a germinação inicia muito antes, com a fase de embebição da semente e a mobilização das reservas embrionárias. Durante o pré-aquecimento de 40 °C, os resultados do nosso trabalho também mostram o desenvolvimento do embrião antes da ruptura do opérculo, sendo nítido o crescimento da região do hiperfilo e o desenvolvimento do eixo hipocótilo-radícula. Porém, a permanência dos pirênios a 40 °C não resulta na emergência do hiperfilo, e na germinação propriamente dita, a qual depende da redução da temperatura para 30 °C (Schlundwein et al. 2013). Isto demonstra que os processos de superação da dormência e de germinação requerem faixas distintas de temperatura. Desta forma, considerando o conceito de germinação que se baseia no aparecimento da raiz primária ou de outra estrutura embrionária (Sert et al. 2009), nosso estudo verificou que tal processo ocorre após os pirênios serem submetidos a redução da temperatura de 40° para 30 °C – o qual após superação da dormência fisiológica, promove a sua germinação.

Com relação a um processo de dormência morfológica, embora, Baskin e Baskin (2014), considerem que sementes da família Arecaceae possuam embrião imaturo, a presença da plúmula em embriões de *B. odorata*, observada na primeira amostragem desse estudo, sugere que neste estágio estes sejam capazes de formar plântulas, quando isolados em meio de cultura, conforme verificado por Fior et al. (2011). A dificuldade do embrião em romper seus envoltórios é atribuída a um componente mecânico associado aos tecidos metabolicamente ativos do endosperma (da Silva et al. 2007; Hussey 1958; Myint et al. 2010; Pérez 2009; Ribeiro et al. 2011; Vandeloos et al. 2008), denominado de dormência fisiológica não profunda (Baskin and Baskin 1998, 2004). Os dados do presente estudo mostraram que períodos com temperaturas elevadas estimulam a expansão embrionária, e também a atividade enzimática responsável pela hidrólise dos tecidos da região micropilar e à mobilização de reservas do endosperma, reduzindo assim a restrição mecânica e aumentando a oferta de nutrientes durante o crescimento do embrião. Assim, estes eventos estariam relacionados ao processo de superação da dormência fisiológica (Bewley 1997) modulada por regimes de temperatura (Baskin and Baskin 1998, 2004). A necessidade de

pré-aquecimento (40 °C) para superação da dormência também foi constatada em pirênios da palmeira *Elaeis guineensis* por Hussey (1958), Rees (1962), Jiménez et al. (2008). A utilização do método de pré-aquecimento utilizada neste trabalho possibilitou a rápida superação da dormência das sementes de *B. odorata* sendo dispensável a remoção dos respectivos endocarpos. Com relação a presença do endocarpo, Lopes et al. (2011) afirma que esta estrutura é responsável pela dormência das sementes de *Butia capitata*, isto não foi verificado para *B. odorata*, pois, mesmo com os endocarpos presentes, os embriões mostraram-se em crescimento, demonstrando que esta estrutura não impede a germinação.

A plântula de monocotiledônea é caracteristicamente complexa e, na ordem Poales, essa estrutura varia muito entre as famílias (Tillich 2007). Com relação a nomenclatura utilizada para a definição dos componentes da semente e da plântula, a literatura apresenta diversas interpretações e informações conflituosas, que muitas vezes, não corresponde à homologias entre estruturas. A utilização do termo hiperfilo é discutido por Tillich (2007), que retrata como sendo a parte distal do cotilédone de monocotiledôneas, o qual inclui uma porção haustorial e uma porção de alongamento, muitas vezes chamada de limbo cotiledonar e pecíolo cotiledonar, respectivamente (Fior et al. 2013; Magalhães et al. 2013; Oliveira et al. 2013). Tillich (2007) considera como sendo inadequado a utilização dos termos pecíolo e limbo cotiledonar, uma vez que o hiperfilo é unifacial. Por outro, Cook (1939) e Tomlinson (1961) introduzem o termo apócole para definir essa parte do cotilédone (hiperfilo) que se alonga e empurra a plântula, típica da germinação hipógea e remota das palmeiras. Ainda, essa região de alongamento parece ser a zona “M” descrita por Oliveira et al (2013) para *Butia capitata*. Além do hiperfilo, Tillich (2007), descreve uma região bifacial denominada hipofilo no embrião de Arecaceae, o qual forma uma pequena bainha cotiledonar que envolve a região do nó cotiledonar. Diante disso, neste trabalho priorizou-se a utilização dos termos hiperfilo e hipofilo cotiledonar, pois esses conceitos basearam-se em estudos ontogenéticos de sementes e plântulas de monocotiledôneas que visam compreender homologias entre as estruturas reprodutivas e somente assim permitem entender o processo evolutivo deste grupo de plantas (Handerson et al. 2006; Tillich 2007, Tillich 2003)

O desenvolvimento da porção distal do cotilédone em haustório contribui com a transferência de nutrientes do endosperma para o embrião (Meerow e Broschat 1991). Esta estrutura desenvolve invaginações denominadas por Corner (1966) de papilas. Em *Euterpe precatoria*, à medida que o embrião se desenvolve, o haustório vai ocupando o lugar do endosperma, sendo composto de 63 % de espaço intercelular e 37 % de volume celular

(Aguiar e Mendonça 2001). O haustório absorve o endosperma e ocupa grande parte do seu espaço (Mendonça et al. 2008), no presente trabalho, observou-se a formação desta estrutura a partir de dez dias após a semeadura (3ª amostragem), sob temperatura de 40 °C.

O endosperma homogêneo, composto por células de diferentes dimensões foi relatado por outros autores em outras espécies da família como: *Bactris gasipaes* Kunth (Nazario et al. 2013); *Oenocarpus minor* (Mendonça et al. 2008), *Euterpe precatoria* (Henderson et al. 1995; Aguiar e Mendonça 2003) e *Euterpe edulis* (Belin - Depoux e Queiroz 1988). A existência de paredes delgadas do endosperma também foi verificada para as sementes de *B. capitata* (Oliveira et al. 2013). Já, para sementes de *Attalea vitrivir* os autores observaram a presença de paredes espessas do endosperma dessas sementes (Neves et al. 2013), o que pode ser um fator relevante para as diferentes intensidades de dormência (Neves et al. 2013). Ademais, a espessura das células do endosperma poderia ser um estado de caráter observado para o gênero, mas estudos anatômicos são recentes para a família Arecaceae, o que dificulta confirmar tal relação.

A associação entre as diferentes regiões do endosperma contribui para que o embrião se desenvolva de forma intensa, ao mesmo tempo em que a lamela média das células perdem sua adesão na zona de fragilidade. Com isso, o embrião rompe a barreira opercular, por uma ação mecânica, possibilitando a germinação em condições ambientais favoráveis.

A existência do endosperma na região micropilar já havia sido relatada por outros autores (Oliveira et al. 2013, Fior et al. 2013), bem como a presença de paredes espessas, porém, esta região foi mencionada como parte do opérculo para a espécie *B. capitata* (Oliveira et al. 2013), sendo eliminada com esta estrutura no momento da emergência do hiperfilo. De outra forma, nossos resultados indicam que em *B. odorata* esta região foi sendo “consumida” no decorrer do desenvolvimento do embrião, restando somente as células do opérculo como barreira.

As linhas de fraqueza observadas, em secções longitudinais, do endosperma na região micropilar das sementes de *B. odorata* foram descritas também para outras espécies (Oliveira et al. 2013; Neves et al. 2013). No entanto, as células dessa região formam, na verdade, um círculo subjacente à região do poro germinativo da semente, logo abaixo do opérculo (Fior et al. 2013). Nossos resultados apontam que a elevada temperatura (pré-aquecimento) fragiliza a lamela média das células da região de fraqueza e concomitantemente o embrião, em crescimento, pressiona o opérculo fazendo com que este se desloque da semente. Através dos cortes anatômicos é possível constatar que a intensa

multiplicação celular na região proximal do embrião, associada ao descolamento da lamela média das células na linha de fraqueza, promovem o impulsionamento do embrião e o rompimento do opérculo na região constituída de poucas camadas e culminando com a germinação da semente.

Para Queiroz e Bianco (2009), após o rompimento do opérculo ocorre a emergência do pecíolo cotiledonar, chamada neste estudo de hiperfilo, em seguida descrevem a protrusão da radícula e da plúmula, sendo esta sequência de acontecimentos comuns para várias espécies de palmeiras (Belin- Depoux e Queiroz 1988; Aguiar e Mendonça 2001). Ao longo dos períodos de amostragem em *B. odorata* foi possível constatar tal sequência, onde parte do hiperfilo emerge e posteriormente o eixo embrionário, o qual constitui a radícula e a plúmula. A última amostragem realizada nesse estudo apresenta a plântula em estágio inicial de desenvolvimento, onde se evidenciou o catáfilo tubular e pontiagudo com abertura apical e uma pequena bainha cotiledonar. O catafilo tubular, aqui observado, foi definido em trabalhos desenvolvidos por Oliveira et al. (2013) como sendo o eófilo, primeira folha propriamente dita. No entanto, em nossos resultados o eófilo parece se desenvolver posteriormente e apresenta uma morfologia distinta ao catafilo. Corroborando nossos resultados, Herderson (2006) também definem o catafilo como sendo uma estrutura tubular e pontiaguda para três espécies de arecaceae e ainda, Tillich (2003, 2007) relata a presença de um hipofilo cotiledonar que se desenvolve em uma pequena bainha cotiledonar em certas espécies de Arecaceae.

As reservas armazenadas nas sementes, em sua maioria, apresentam carboidratos, proteínas e lipídios, e suas proporções variam para cada espécie (Buckeridge et al. 2004). Nas palmeiras *Acrocomia aculeata* (Moura et al. 2010) e *Euterpe edulis* (Panza et al. 2004) lipídios aparecem em grande abundância e são armazenados em corpos lipídicos (Buckeridge et al. 2004) como observados em *B. odorata*. Estas são reservas relacionadas à manutenção e desenvolvimento do embrião até a formação da plântula até que esta adquira a capacidade autotrófica (Buckeridge et al. 2004). A presença de lipídios nas amostragens deste trabalho corrobora com o citado acima, sendo estes observados nas regiões onde o embrião está em maior atividade de diferenciação e desenvolvimento. Ou seja, na região proximal, onde ocorre o desenvolvimento da plúmula e o alongamento do embrião; e na região distal, onde foi verificada a presença de lipídios somente na sétima amostragem, momento de surgimento do haustório. Nazário et al. (2013) descrevem a utilização dos corpos lipídicos como fonte de energia para a fase de germinação do embrião, o que

justifica sua mobilização para a região proximal na sétima amostragem pois, ocorre o rompimento do opérculo em seguida.

A ausência de fontes de amido nas amostragens a temperatura de 40 °C e presença nas amostragens a temperatura de 30 °C, observadas neste trabalho, podem ter relação à variação da temperatura a qual os pirênios foram submetidos. Buckeridge et al. (2004) salientam que as sementes possuem mecanismos sensores das condições ambientais vigentes, como temperatura. Dessa forma, é possível que, a variação de temperatura a qual os pirênios foram submetidos, permitiu que a sementes se tornassem capaz de efetuar uma transmissão de sinais para seu metabolismo, e assim, sintetizar o amido. Oliveira et al. (2013) também evidenciam a presença de amido em sementes de *B. capitata*, onde sugerem que tal composto pode contribuir com a hidratação do embrião. Tais dados vêm a complementar os resultados aqui obtidos, onde foi observada a presença do amido no embrião somente na amostragem que antecede a germinação. Ainda, é interessante ressaltar que a presença do amido se restringe a porção proximal do hiperfilo (zona “M”), onde ocorre intensa multiplicação celular. A ausência de amido do endosperma pode ter relação ao tipo de deposição para a espécie em questão. Em gramíneas, por exemplo, o endosperma apresenta amido, já em leguminosas essa deposição ocorre no embrião (Marcos-Filho 2005).

As proteínas são acumuladas nos vacúolos na forma de corpos proteicos (Buckeridge et al. 2004) e sua síntese e deposição estão sujeitas a uma regulação espacial e temporal, podendo em cada espécie aparecer em diferentes estágios do desenvolvimento (Herman e Larkins 1999). No caso de *B. odorata* a presença de proteínas foi verificada somente na primeira e sétima amostragem no endosperma. O mesmo resultado foi relatado para *Euterpe edullis* Mart. (Panza, et al. 2004), já em *Bactris gasipaes* Kunth a presença de proteínas foi apenas verificada no embrião (Nazario et al. 2013). Para Sert et al. (2009) durante o processo de germinação, as proteínas servem como fonte de energia para a respiração do eixo embrionário, etapa a qual foi evidenciada em nosso estudo a intensa atividade metabólica do embrião.

Com relação a presença de compostos polissacarídeos, Buckeridge et al. (2004), evidenciam que durante o final do processo de maturação das sementes ocorre a síntese e deposição desse composto na parede celular. Assim, esses dados justificam a presença dos polissacarídeos totais encontrados na primeira amostragem na semente de *B. odorata*,

entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos de controle desses processos de biossíntese (Buckeridge e Tiné 2001) para fundamentar a sua presença após 30 dias de semeadura.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a resposta da dormência ao tratamento de pré-aquecimento em sementes de *B. odorata* esta relacionada a mudanças morfoanatômicas, que promovem o alívio mecânico imposto pelo endosperma micropilar ao crescimento do embrião.

REFERÊNCIAS

- Aguiar MO, Mendonça MS (2001) Aspectos morfológicos da germinação e do desenvolvimento plantular em *Euterpe precatoria* Mart. (açai-do- Amazonas). *Acta Amazonica* 31(4): 687- 691
- Aguiar MO, Mendonça MS (2003) Morfo-anatomia da semente de *Euterpe precatoria* Mart. (Palmae). *Revista Brasileira de Sementes* 25:37-42
- Baskin CC, Baskin JM (1998) *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego, CA. Academic Press
- Baskin JM, Baskin CC (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14:1-16
- Baskin JM, Baskin CC. (2014) What kind of seed dormancy might palms have?. *Seed Science Research*, Wellington, 24:17-22
- Belin-Depoux M, Queiroz MH (1988) Contribuição ao Estudo Ontogenético das Palmeiras. Alguns Aspectos da Germinação de *Euterpe edulis*. Mart.. In: Encontro Nacional de Pesquisadores em palmito. Curitiba Anais Embrapa-CNPQ, 211-213
- Bewley JD (1997) Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9:1055-1066
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa/ACS 399
- Broschat TK (1998) Endocarp removal enhances *Butia capitata* (Mart.) Becc. (pindo palm) seed germination. *Hort Technology* 8: 586–587.
- Buckeridge MS, Tiné MAS (2001) Composição polissacarídica: estrutura da parede celular e fibra alimentar. In: Lajolo FM, Ssaura-Calixto F, Wittig de Penna E, Menezes EW . Fibra dietética em Iberoamérica: Tecnología Y salud. Obtención, caracterización efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Projeto CYTED XI.6. São Paulo, Varela 43-60
- Buckeridge MS., et al. (2004) Mobilização de reservas. In: Ferreira AG; Borguetti F. (Ed.). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 163-185
- Carpenter WJ (1988) Seed after-ripening and temperature influence in *Butia capitata* germination. *HortScience*, Alexandria, 23 (4): 702-703
- Cook OF. (1939). Bornoa an endemic palm of Haiti. *Nation Horticultural Magazine* 18: 254-280.
- Corner EJH (1966) *The Natural History of Palm*. Weidenfeld and Nicolson, London
- da Silva EAA, de Melo DLB, Davide AC, de Bod N, Abreu GB, Faria JMR, Hilhorst HWM. (2007) Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. *Ann. Bot.* 99. 823-30.

- Esau K (1977) Anatomy of seed plants. 2ed. New York, 350
- Ferreira SAN, Castro AF, Gentil DFO (2010) Emergência de plântulas de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em função do prétratamento das sementes e da condição de semeadura. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32(4):1189-1195
- Fior CS, Rodrigues LR, Lonhardt C, Schwarz SF (2011) Superação de dormência em sementes de *Butia capitata*. *Ciencia Rural*, Santa Maria 41(7):1150-1153
- Fior CS, Souza PVD, Schwarz SF (2013) Emergência de plântulas de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick em casa de vegetação. *Revista Árvore*, Viçosa-MG 37(7): 503-510
- Geymonat G, Rocha N (2009) M'botiá. Ecosistema único en el mundo. Castillos: Casa Ambiental 405
- Henderson A, Galeano G, Bernal R (1995) Field Guide to the palms of the Americas. Princeton University Press, Princeton, New Jersey
- Henderson F.M. (2006). Morphology and Anatomy of Palm Seedling. *The Botanical Review* 72 (4): 237-329.
- Herman EM, Lrkins BA (1999) Protein storage bodies and vacuoles. *The Plant Cell*. 11: 601-613
- Hussey G. (1958) An analysis of the factors controlling the germination of the seed of the oil Palm, *Elaeis guineensis* (Jacq.). *Ann. Bot.* 22, 259-84.
- Jimenez VM, Guevara E, Herrera J, Alizaga R, Bangerth F (2008). Changes in hormone concentrations during dormency release of oil palm (*Elaeis guineenses*) seeds. *Seed Science and Tecnology*, 36, 575-587.
- Johansen DA (1940) Plant Microtechnique. New York: McGraw-Hill
- Leitman P. et al. (2012) Lista de Espécies da Flora do Brasil. [Rio de Janeiro]: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, [2016]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB120993>>. Acesso em: 22 Jan. 2016.
- Lillie RD (1965) Histopathologic technic and practical histochemistry. 3ª ed. New York: McGraw-Hill Co
- Lopes PSN et al (2011) Tratamentos físicos e químicos para superação de dormência em sementes de *Butia capitata* (Martius) Beccari. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, 41(1): 120-125
- Lorenzi H, Souza HM, Costa JTM, Cerqueira LSC, Ferreira E (2004) Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum
- Lorenzi H et al. (2010) (Ed). Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras). Nova Odessa: Instituto Plantarum

Magalhães HM. et al. (2013) Structure of the zygotic embryos and seedlings of *Butia capitata* (Arecaceae). *Trees*, Berlin, v. 27, 273–283.

Marcos-Filho J (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ, 12:495

McDowell EM, Trump BR (1976) Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology and Laboratory of Medicine* 1000: 405-414

Meerow AW, Broschat TK (1991) *Palm seed germination*. Gainesville, University of Florida-Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida Cooperative Extension Service Bulletin

Mendonça MS, Oliveira AB, Araujo MGP, Araujo LM (2008) Morfo-anatomia do fruto e semente de *Oenocarpus minor* Mart. (Arecaceae). *Rev. Bras. Sementes*, Londrina, 30(1)

Myint T, Chanprasert W, Srikul S. (2010) Germination of seed of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) as affected by different mechanical scarification methods. *Seed Science and Technology*, 38, 635-645.

Nazario P, Ferreira SA, Borges EEL, Genovese-Marcomini PR, Mendonça MS (2013) Anatomical and histochemical aspects of the peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) seed. *Journal of Seed Science* 35(2):171-178

Neves SC, Ribeiro LM, Cunha IRG, Pimenta MAS, Mercadante-Simões MO, Lopes PSN (2013) Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitivir*). *Flora*. 208: 68-78

Nonogaki H, Bassel GW, Bewley JD (2010) Germination – still a mystery. *Plant Science* (in press). doi:10.1016/j.plantsci.2010.02.010

O'brien TP, McCully ME (1981) *The study of plant structure: principles and selected methods*. Melbourne, Termacarphi Pty

Oliveira TGS, Rodrigues Junior AG, Souza PP, Ribeiro LM. (2013) Use of phytohormones in overcoming macaw palm seed dormancy. *Acta Scientiarum*, 35:505-511

Oliveira NCC, Lopes PSN, Ribeiro LM, Mercadante-Simões MO, Oliveira LAA, Silvério FO (2013) Seed structure, germination, and reserve mobilization in *Butia capitata* (Arecaceae). *Trees*, 27:1633–1645.

Panza V, Láinez VE, Maldonado S (2004) Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 145:445–453

Pearse AGE (1980) *Histochemistry theoretical and applied* 4.ed. Baltimore: Longman Group Limited 2: 1518

Perez, HE. (2009) Promoting germination in ornamental palm seeds through dormancy alleviation. *HortTechnology*, Alexandria, v. 19, n. 4, 682-685

- Queiroz MSM, Bianco R (2009) Morfologia e desenvolvimento germinativo de *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) da Amazonia ocidental. *Revista Arvore*, Viçosa-MG 33(6):1037-1042
- Ramos MBP, Varela VP (2003) Efeito da temperatura e do substrato sobre a germinação de sementes de visgueiro do igapó (*Parkia discolor* Benth) *Leguminosae, Mimosoideae*. *Revista de Ciências Agrárias* (39):135-143
- Rees, AR. (1962) High-temperature pre-treatment and the germination of seed of the oil palm, *Elaeis guineensis*. *Annals of Botany*, Oxford, 26: 569–581
- Ribeiro, LM. et al. (2011) Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 58, n. 2, 133-139
- Rivas M, Barbieri RL (2014) Boas práticas em manejo para o extrativismo sustentável do Butiá- Brasil, DF: Embrapa 50
- Sass JE (1951) *Botanical Microtechnique*. Iowa: State University Press
- Schindwein G. Implicações ecológicas da dormência de sementes de *Butia odorata* (Arecaceae) (2012). 132 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- Schindwein G, et al (2013) Alleviation of seed dormancy in *Butia odorata* palm tree using drying and moist-warm stratification. *Seed Sci. & Technol* 41, 1-11
- Sert MA, Bonato CM, Souza LA (2009) Germinação da semente. In: Souza LA, Sementes e plântula: Germinação, estrutura e adaptação.
- Tillich RH-J (2007) Seedling Diversity and the Homologies of Seedling Organs in the Order Poales (Monocotyledons) *Annals of Botany* 100: 1413–1429.
- Tillich RH-J (2003) Seedling diversity in Araceae and its systematic implications. *Feddes Repertorium* 114, 7–8, 454–487.
- Tomlinson, (1961) *Anatomy of monocotyledons, vol2 Palmae*. Clarendon Press, Oxford, UK, 453
- Tomlinson PB (1990) *The structural biology of palms*. Clarendon Press, Oxford, 477
- Vandelook F, Van de Moer D, Van Assche JA. (2008) Environmental signals for seed germination reflect habitat adaptation in four temperate Caryophyllaceae. *Func. Ecol.*, 22, 470-478
- Werker E (1997) *Seed anatomy*. Berlin: Stuttgart, Borntraeger, 424

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho possibilitaram acrescentar dados que contribuem com a ampliação do conhecimento a respeito da biologia da semente de *B. odorata* bem como seu processo germinativo. Contribuindo na busca de um protocolo adequado para a propagação da espécie e colaborando com os dados para a superação da dormência.

A presença do endocarpo não foi responsável pela dormência das sementes de *B. odorata*. Houve o crescimento do embrião e a formação de plântula mesmo com a presença dessa estrutura.

Já a existência do endosperma com células de parede espessa na região micropilar pode ser um fator limitante no tempo de germinação, mas uma adaptação que esta espécie adquiriu como forma adaptativa.

Diante deste estudo sugere-se que a dormência não está relacionada ao embrião, e sim, as regiões do endosperma da região micropilar e o opérculo. Indicando uma barreira física a ser superada.

A redução da resistência das células do endosperma na região micropilar em razão do descolamento da lamela média na zona de fragilidade pode ter relação com a elevada temperatura. Contudo, diante da metodologia utilizada e literatura consultada, não houve indícios de ação enzimática que estejam relacionadas em tal processo.

As reservas do endosperma foram mobilizadas para regiões com intensa multiplicação celular, ou seja, região proximal e distal do embrião. Contribuindo como fonte de carbono para que o embrião desenvolva o haustório na região distal e na região proximal consiga romper o opérculo.

Estudos futuros podem ser ampliados, abordando um maior número amostral para uma análise mais ampla, bem como ampliar as observações anatômicas e histoquímicas após a formação da plântula. Ainda, fazer uma análise anatômica comparativa estrutural entre as sementes que germinaram e as que não germinaram no período estabelecido.

Também, um estudo aprofundado sobre a mobilização de reservas na semente. Especialmente sobre os locais que determinados compostos são mobilizados em diferentes períodos de crescimento do embrião. Ademais, a relação da mobilização lipídica para a região proximal do embrião antes do rompimento do opérculo, bem como a sua composição química.