

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Tese

**Caracterização de Recursos Genéticos de *Butia*
odorata no Bioma Pampa**

Claudete Clarice Mistura

Pelotas, 2013

CLAUDETE CLARICE MISTURA

Caracterização de Recursos Genéticos de *Butia odorata* no Bioma Pampa

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fitomelhoramento).

Orientadora: Rosa Lía Barbieri

Coorientadora: Caroline Marques Castro

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

M678c Mistura, Claudete Clarice

Caracterização de recursos genéticos de *Butia odorata* no Bioma Pampa / Claudete Clarice Mistura ; orientador Rosa Lia Barbieri ; co-orientador Caroline Marques Castro - Pelotas, 2013.- 80f. ; il.- Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Arecaceae 2.Butiá 3.Microsatélites 4.Variabilidade genética 5.Descritores morfológicos 6.Conservação in situ I.Barbbieri, Rosa Lia(orientador) II .Título.

CDD 634.6

Banca examinadora:

Dr^a Rosa Lía Barbieri – Embrapa Clima Temperado (presidente)

Dr. Antonio Costa de Oliveira – Universidade Federal de Pelotas

Dr^a Elisane Schwartz – Instituto Federal Sul-Riograndense

Dr Claudimar Sidnei Fior – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr^a Miriam Valli Büttow - Embrapa Clima Temperado

A Deus

Aos meus pais

Dedico

Agradecimentos

A realização deste trabalho contou com inúmeras colaborações. Portanto, cabe aqui um agradecimento a todos que apoiaram e tornaram este projeto realidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – área de concentração em Fitomelhoramento pela oportunidade de realização do Doutorado.

À orientadora Rosa Lía Barbieri pela orientação, apoio, dedicação, ensinamentos, amizade, compreensão, profissionalismo e competência.

À coorientadora Caroline Marques Castro por todo o tempo despendido no auxílio com as análises moleculares, pelos ensinamentos e especialmente pelo apoio.

Ao professor Antonio Costa de Oliveira e demais professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia pelos conhecimentos transmitidos.

Às instituições financeiras que foram fundamentais para a realização deste trabalho: a CAPES pela concessão de bolsa, PROBIO II, FAPERGS e CNPq pelo financiamento do projeto.

Ao Bioversity International pela oportunidade, principalmente aos meus coorientadores Stefano Padulosi e Adriana Alercia.

Aos proprietários da Fazenda São Miguel, pela conservação da população natural de *Butia odorata* e parceria nas ações de pesquisa.

À Embrapa Clima Temperado pela estrutura e todo apoio disponibilizados, especialmente aos laboratórios de Biologia Molecular e Geoprocessamento, aos motoristas que auxiliaram nas saídas de campo e expedições de coleta.

Agradeço aos colegas da área de Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Clima Temperado Juliana, Daniela, Marene, Taise, Angela, Carla, Henrique, Marco, Marina e Isis pelo auxílio nas saídas de campo e pelos bons momentos de trabalho e convivência.

Aos colegas do laboratório de Biologia Molecular, Raquel, Roberta, Julia, Mariane, Joyce, Liane e em especial a Natércia por todo auxílio.

A todos os amigos e colegas do Fitomelhoramento em especial as minhas grandes amigas Adriana e Naciele.

À minha família, especialmente meus pais Angelo (*in memoriam*) e Angelina, aos meus irmãos. Em especial a Marga, Olímpio e Luiza pelo total apoio nesta longa jornada.

Agradeço ao companheiro de todos os momentos, a presença amorosa, incentivo e estímulo do meu querido Paulo Sérgio.

Agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho.

A Deus, por me dar forças e coragem para enfrentar as dificuldades surgidas durante a minha trajetória.

Muito obrigada!!

Resumo

MISTURA, Claudete Clarice. **Caracterização de recursos genéticos de *Butia odorata* no Bioma Pampa**. 2013. 80 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick é uma das 266 espécies de palmeiras que ocorrem no Brasil. Produz frutos que são utilizados na alimentação, tanto *in natura* como processados (na forma de geleias, sorvetes, sucos e licores). Apresentam elevado potencial energético, devido aos óleos existentes nas sementes. As folhas da planta, ricas em fibras, são usadas no artesanato para a confecção de objetos decorativos e utilitários. Contudo, as populações naturais sofrem intensa ação antrópica, principalmente em consequência do uso das terras para a agricultura e a expansão urbana. Além disso, mesmo em algumas áreas remanescentes, a pressão de pastoreio do gado restringe de modo expressivo a regeneração, restando somente indivíduos adultos. Com o objetivo geral de contribuir para o conhecimento relacionado aos recursos genéticos de *B. odorata* no Bioma Pampa, foram desenvolvidas atividades de campo na Fazenda São Miguel (Tapes, RS), análises morfológicas análises moleculares nos laboratórios de Recursos Genéticos e de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS), sistematização dos descritores morfológicos mínimos no Bioversity International (Roma/Maccarese, Itália). Os resultados são apresentados em quatro artigos. No primeiro artigo, com o objetivo de avaliar a transposição de marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco em butiá, foram testados 50 pares de *primers* desenvolvidos para coco em 30 indivíduos de butiá coletados em três áreas distintas em uma população natural. Dos 50 pares de *primers* avaliados, 28 amplificaram, sendo que oito deles apresentaram bandas inespecíficas e não foram considerados na análise estatística. A transferibilidade dos *primers* testados foi de 40%, indicando que esses marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco podem ser utilizados com sucesso para análises genéticas em butiá. No segundo artigo, com objetivo de avaliar a estrutura genética de uma população natural de *B. odorata*, foram avaliados 303 indivíduos, utilizando 20 pares de *primers* SSR. Foi constatada

grande variabilidade genética, com maior variação molecular entre os indivíduos dentro de cada área do que entre aqueles de áreas distintas. A heterozigosidade observada, menor do que a esperada, indica a ocorrência de endogamia. As plantas da terceira área avaliada apresentam estruturação genética, devido à ação de fluxo gênico e/ou de deriva genética. O terceiro artigo discute a variabilidade de *B. odorata* com base em comparações entre o conhecimento científico e o conhecimento popular. Foram elencados como descritores morfológicos importantes para a caracterização do germoplasma as seguintes características: hábito das folhas, circunferência do caule, cor da folha, cor das flores masculinas, número de cachos por planta, cor do fruto maduro, formato do fruto, presença de fibras na polpa, diâmetro do fruto, época de floração e frutificação. Por sua vez, os agricultores costumam usar um menor número de características para distinguir as plantas: tamanho do fruto, número de cachos por planta, presença de fibras na polpa, sabor e cor dos frutos. Os resultados obtidos no terceiro artigo foram utilizados para a elaboração do quarto artigo, que consiste na lista dos descritores morfológicos mínimos para a caracterização do germoplasma de *B. odorata*.

Palavras-chave: Arecaceae. Butiá. Microsatélites. Variabilidade Genética. Descritores Morfológicos. Conservação *in situ*.

Abstract

MISTURA, Claudete Clarice. Characterization of genetic resources of *Butia odorata* in Pampa Biome. 2013. 80 f. Thesis (Ph.D.) - Graduate Program in Agronomy. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick is one of 266 palm species that occur in Brazil. The plants produces fruits that are used for food, both fresh and processed (as jellies, ice creams, juices and liqueurs). It has high potential as energy source due to the oils contained in the seeds. The leaves are rich in fibers, and are used in the crafting of decorative and utilitarian objects. However, natural populations suffer intense human activity, mainly as a result of land use for agriculture and urban expansion. Moreover, even in certain areas remaining, pressure by grazing cattle has restricted the regeneration, leaving only adult plants. With the aim of contributing to the knowledge related to genetic resources of *B. odorata* in Pampa Biome, field activities were developed at São Miguel Farm (Tapes, RS), morphological and molecular analyzes were done in Genetic Resources and Molecular Biology labs of Embrapa Temperate Agriculture (Pelotas, RS), and a morphological descriptors minimum list was developed at Bioversity International (Rome / Maccarese, Italy). The results are presented in four articles. The first article aimed to evaluate the implementation of microsatellite markers developed for coconut in the butiá. A total of 50 primer pairs in 30 individuals of butiá collected in three separate areas were tested in a natural population. Among 50 primer pairs evaluated, 28 amplified, and eight of them showed unspecific bands and were not considered in the statistical analysis. The transferability of primers tested was 40%, indicating that these microsatellite markers developed for the coconut genome can be successfully used for genetic analysis in pindo palm. The objective of the second article was to evaluate the genetic structure of a natural population of *B. odorata*. We evaluated 303 plants using 20 pairs of SSR primers. High genetic variability was observed, with higher molecular variation among individuals within each area than among those from different areas. The observed heterozygosity was lower than expected, indicating the occurrence of inbreeding. The third area of plants have genetic structure due to the action of gene flow and / or genetic drift. The third article discusses the variability of

B. odorata based on comparisons between scientific and popular. As morphological descriptors important for the characterization of germplasm were the following characteristics: habit of the leaves, stem circumference, leaf color, color of male flowers, number of bunches per plant, mature fruit color, fruit shape, presence of fibers in the pulp, fruit diameter, flowering and fruiting time. In turn, farmers use usually a lower number of traits to distinguish different plants: fruit size, number of bunches per plant, presence of fibers in the pulp, flavor and color of the fruit. The results presented in the third article were used for the preparation of the fourth article, which is the minimum list of morphological descriptors for the characterization of germplasm of *B. odorata*.

Keywords: Arecaceae. Pindo Palm. Microsatellites. Genetic variability. Morphological descriptors. *In situ* conservation.

Lista de figuras

Artigo 1 - Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*)

Figura 1 - Dendrograma resultante da análise de 30 indivíduos de *Butia odorata* obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz de distância genética obtida por meio da distância de Rogers modificada, utilizando 20 marcadores SSR. Coeficiente de correlação cofenética (r) = 0,78. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012..... 32

Artigo 2 - Estrutura genética de uma população natural de butiá (*Butia odorata*) no Bioma Pampa

Figura 1 - Dendrograma de 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick amostrados em três áreas distintas (1 = indivíduos da área 1; 2 = indivíduos da área 2 e 3 = indivíduos da área 3), construído com base no método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância genética de Rogers modificada. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.....48

Figura 2 - Fezes de graxaim com sementes de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick (à direita, foto: Claudete Clarice Mistura), uma evidência de fluxo gênico realizado por este animal da fauna nativa (à esquerda, foto: Marco Castro). Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.....49

Artigo 4 - Minimum set of descriptors for *Butia odorata*

Figure 1- Crown growth habit. Left: erect, centre: intermediate, right: prostrate. Pictures: Claudete Clarice Mistura.....74

Figure 2- Fruit shape. From left to right: roundish, oblate, ovoid, oblong. Graphics: Rosa Lía Barbieri.....75

Lista de tabelas

Artigo 1 - Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*)

Tabela 1- Sequências dos 50 pares de *primers* de microssatélites desenhados para *Cocos nucifera* e testados para a transferibilidade em *Butia odorata*. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado 2012.....29

Tabela 2- Conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) de vinte *loci* SSR com base na caracterização de 30 indivíduos de *Butia odorata* e o respectivo número de alelos identificados por *locus*, tamanho dos alelos identificados e amplitude das frequências alélicas. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012.....30

Tabela 3- Análise da variância molecular (AMOVA) gerada por dados de marcadores moleculares microssatélites em 30 indivíduos de *Butia odorata* coletados no município de Tapes. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012.....31

Artigo 2 - Estrutura genética de uma população natural de butiá (*Butia odorata*) no Bioma Pampa

Tabela 1- Conjuntos de vinte *loci* SSR, *motif*, alelos mais frequentes (pb), amplitude alélicas observada (pb), frequência alélica (três áreas), temperatura de anelamento (°C) com base na caracterização de 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick considerando as três áreas avaliadas, Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.....46

Tabela 2- Parâmetros da diversidade genética estimados para 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick, em três áreas amostrais (A₁, A₂ e A₃) com vinte *loci* de marcadores microssatélites. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.....47

Tabela 3- Distribuição da variabilidade genética de indivíduos de <i>Butia odorata</i> (Barb. Rodr.) Noblick entre indivíduos de áreas distintas e entre indivíduos dentro de uma mesma área, com base na análise molecular da variância (AMOVA). Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.....	50
---	----

Artigo 3 - Descriptors for conservation and use of *Butia odorata*

Table 1- Nutritional properties of butiá [100g pulp].....	53
Table 2- Characteristics selected by the scientist to evaluate <i>Butia odorata</i>	55
Table 3- Descriptores for <i>Butia odorata</i> resulting from literature research and consultation with additional experts and farmers.....	57
Table 4- Discriminating characteristics for <i>Butia odorata</i> selected by farmers.....	58
Table 5- Best management practices for <i>Butia capitata</i> as indicated by farmers in the Brazilian Cerrado, Center-West of Brazil.....	59

Sumário

1 Introdução geral	15
1.1 Referências	18
2 Artigo 1 - Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (<i>Cocos nucifera</i>) para butiá (<i>Butia odorata</i>)	20
Resumo	21
Abstract	22
2.1 Introdução	22
2.2 Material e métodos	23
2.3 Resultados e discussão	24
2.4 Conclusão	26
2.5 Referências	26
3 Artigo 2 - Estrutura genética de uma população natural de butiá (<i>Butia odorata</i>) no Bioma Pampa	32
Resumo	33
Abstract	34
3.1 Introdução	34
3.2 Material e métodos	36
3.3 Resultados e discussão	38
3.4 Conclusão	42
3.5 Referências	42
4 Artigo 3 - Descriptors for conservation and use of <i>Butia odorata</i>	51
4.1 Introduction	52
4.2 Materials and Methods	54
4.3 Results and discusion	58
4.4 Conclusion and recommendations	61
4.5 References	63
4.6 Annex I	66
5 Artigo 4 - Minimum set of descriptors for <i>Butia odorata</i>	67
5.1 Plant Identification	68
5.2 Biological Status	69
5.3 Site	69
5.4 Relative Abundance of the Plant	70
5.5 Traditional knowledge about <i>Butia</i>	70
5.6 Distinguishing traits used by scientis	73
5.7 Collector's Notes	76
5.8 References	76
5.9 Contributors	76
6 Considerações finais	79

1- Introdução geral

A família Arecaceae reúne aproximadamente 183 gêneros e 2361 espécies de palmeiras (STEVENS, 2001). Apresentam extensa distribuição, ocorrendo especialmente nos trópicos e subtropicais, portanto são tipicamente pantropicais, ocorrem em habitats diversos e em diferentes altitudes (MOORE, 1973). Exibem hábitos variados, desde estipes subterrâneos e de pequeno porte até formas arborescentes e raramente trepadeiras, com ou sem espinhos no caule e folhas (ENDERSON, 1995, MARTINS, 2000).

As palmeiras estão entre as plantas vasculares mais abundantes nos trópicos e seus frutos são utilizados como recurso alimentar por um grande número de animais. Tais características, aliadas ao fato de muitas palmeiras frutificarem em épocas distintas em relação a outras espécies e/ou possuírem longos períodos de frutificação faz com que as palmeiras sejam consideradas recursos-chave para animais frugívoros (GALETTI et al., 2003). Esta família destaca-se do ponto de vista natural, econômico e ecológico. Entram rotineiramente na alimentação do homem na forma de frutos e palmito, produtos elaborados como doces, bebidas e óleos, além da elaboração de artesanatos que são frequentemente comercializados em feiras e mercados de muitas cidades do Brasil (PEREIRA, 1996).

O gênero *Butia* é uma palmeira subtropical com distribuição na América do Sul. No Brasil ocorre nas regiões sul, centro e nordeste, leste do Paraguai, nordeste da Argentina, noroeste e sudeste do Uruguai. Normalmente estas plantas ocorrem em áreas abertas, desde campos e cerrados até dunas e restingas (REITZ, 1974). É frequente neste gênero a distribuição espacial das plantas na forma de populações agregadas, por vezes densas e extensas, que recebem o nome de palmares ou de butiazais (MARCATO, 2004).

Em 2010 houve uma ampla revisão da taxonomia do gênero *Butia*. A espécie que ocorre no Bioma Pampa, que até então era citada como *Butia capitata* (Mart.) Becc., passou a ser designada de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick. A denominação *Butia capitata* (Mart.) Becc. ficou restrita para uma espécie que ocorre no Cerrado brasileiro (LORENZI et al., 2010; LEITMAN et al., 2010). *B. odorata* é uma das 266 espécies de palmeiras que ocorrem no Brasil (LEITMAN et al., 2010).

Os butiazeiros produzem frutos, conhecido como butiá, que são utilizados para consumo *in natura* e são bastante apreciados por animais silvestres. Além disto, servem de matéria-prima para indústrias alimentícias (fabricação de sucos e sorvetes, entre outros). São intensamente explorados pela população devido ao sabor, ao aroma intenso e peculiar. Apresentam elevado potencial energético, devido aos óleos que compõe as sementes, popularmente denominadas de amêndoas. Segundo Caetano (2006) as palmeiras brasileiras possuem elevado potencial para a produção de óleos de alta qualidade e rentabilidade. Seu potencial ornamental é reconhecido não só na região de ocorrência, mas é alvo do desejo de colecionadores ao redor do mundo. Até as folhas da planta, ricas em fibras, são de grande utilidade, de modo que podem ser utilizadas como cobertura de cabanas e demais instalações, assim como no artesanato para a confecção de cestas, chapéus, redes e bolsas, entre outros (MIRANDA et al., 2001).

Apesar de sua importância social e econômica, as populações naturais de butiazeiros vêm sofrendo constantemente as consequências da ação antrópica, especialmente devido a três fatores principais: a implantação de monoculturas, a pecuária extensiva e a urbanização, especialmente nas áreas litorâneas. Tal processo põe em risco a sobrevivência dos butiazais em longo prazo (RIVAS e BARILANI, 2004). Diante da grande erosão genética, é extremamente importante conhecer a variabilidade genética das populações naturais remanescentes. Informações relacionadas à caracterização molecular e morfológica podem auxiliar no conhecimento desta variabilidade e prover subsídios para o estabelecimento de estratégias de conservação, manejo sustentável e melhoramento genético de butiá.

Esta tese foi desenvolvida de 2010 a 2013 com o objetivo geral de contribuir para a caracterização de recursos genéticos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick no Bioma Pampa e objetivos específicos de testar a transposição de marcadores microsatélites desenvolvidos para o genoma de coco (*Cocos nucifera* L.) em butiá

(*B. odorata*); proceder a caracterização molecular e estrutura genética das populações naturais de *B. odorata* com marcadores de microssatélites; e sistematizar os descritores morfológicos para *B. odorata*.

As atividades de campo foram desenvolvidas na Fazenda São Miguel, localizada no município de Tapes (RS), que mantém um banco de germoplasma *in situ* de *Butia odorata* em uma área de 750 ha. As análises morfológicas de frutos e análises moleculares foram realizadas na Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS), nos laboratórios de Recursos Genéticos e de Biologia Molecular. A sistematização dos descritores morfológicos mínimos foi realizada no Bioversity International, que é um dos 15 centros internacionais de pesquisa agrícola, apoiados pelo Grupo Consultivo em Pesquisa Agrícola Internacional (CGIAR). O Bioversity International é uma organização de pesquisa e desenvolvimento, trabalhando com parceiros em todo o mundo visando à utilização e conservação da agrobiodiversidade para melhorar as condições de vida e a nutrição de pessoas em condições de extrema pobreza, além de buscar a sustentabilidade dos agroecossistemas. A organização possui 16 escritórios em todo o mundo, com sede em Maccarese, próxima a Roma, na Itália, e escritórios regionais localizados nas Américas, Ásia, Europa, África e Oceania.

Os resultados obtidos serão apresentados em quatro artigos, escritos de acordo com as normas das revistas para as quais foram ou serão submetidos:

1. **Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*)** – artigo já submetido à Magistra;
2. **Estrutura genética de uma população natural de butiá (*Butia odorata*) no Bioma Pampa** – será submetido à Revista Brasileira de Fruticultura;
3. **Descriptors for conservation and use of *Butia odorata*** – será submetido à Genetic Resources and Crop Evolution;
4. **Minimum set of descriptors for *Butia odorata*** – será publicado pelo Bioversity International

1.1- Referências

- CAETANO, M. O Desafio do Biodiesel. In: **Revista Globo Rural**, São Paulo, n. 253, p. 40-49, Nov. 2006.
- GALETTI, M.; PIZO, M. A.; MORELLATO P. C. **Fenologia, frugivoria e dispersão de sementes**. In: CULLEN, L.; R. RUDRAM, C.; PÁDUA C. Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Curitiba: Ed. da UFPR. 2003. p. 395 – 422.
- LEITMAN, P., HENDERSON, A., NOBLICK, L. 2010. Arecaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000053>>, Acesso em: 10 jun. 2012.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L.R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira – Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Plantarum, 2010. 384 p.
- MARCATO, A. C. **Revisão taxonômica do gênero *Butia* (Becc.) Becc. (Palmae) e filogenia da subtribo Buttiinae Saakov (Palmae)**. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- MARTINS, R.C. Arecaceae (Palmae) no Distrito Federal, Brasil. 2000. 104f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, 2000.
- MIRANDA, I. P. A.; RABELO, A.; BUENO, C. R.; BARBOSA, E. M.; RIBEIRO, M. N. S. **Frutos de palmeiras da Amazônia**. Manaus: Ministério de Ciência e Tecnologia, Instituto Nacional de pesquisa da Amazônia, 2001. 120p.
- MOORE, Jr., H.E. Palms in the tropical forest ecosystems of África and South America. In: MEGGERS, B. J.; AYENSER, E. S.; DUCKWORTH, W. D. (Ed.). **Tropical forest ecosystems in Africa and South America: a comparative review**. Washington, Smithsonian Institution. Press, 1973. p. 63-88.
- PEREIRA, B.A.S. 1996. Flora nativa. In: Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: conservação dos recursos naturais renováveis (B.F.S. Dias, coord.). Fundação Pró-Natureza, Brasília, p.53-57.
- REITZ, R. Palmeiras. In: R. REITZ (Ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974. 189p.

RIVAS, M. e BARILANI, A. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Uruguay. **Agrociencia**, México, v.8, n.1, p.11-21, 2004.

SODRÉ, J. B. **Morfologia das palmeiras como meio de identificação e uso paisagístico**. 2005. 62 f. Monografia (Especialização em Plantas Ornamentais e Paisagismo) Universidade Federal de Lavras, 2005.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 05 mai. 2013.

2 Artigo 1 - segundo as normas da revista Magistra

Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*)

Resumo: Os frutos de palmeiras do gênero *Butia* são utilizados na alimentação e as folhas são usadas em artesanato. O objetivo deste trabalho foi avaliar a transposição de marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco (*Cocos nucifera* L.) em butiá [*Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick], para aplicação em estudos de caracterização molecular. Foram testados 50 pares de *primers* desenvolvidos para coco em 30 acessos de butiá coletados em três áreas distintas em uma população natural desta palmeira ocorrente no município de Tapes (RS). Dos 50 pares de *primers* avaliados, 28 amplificaram, sendo que oito deles apresentaram bandas inespecíficas e não foram considerados na análise estatística. A transferibilidade dos *primers* de coco testados em butiá foi de 40%. Os 20 pares de *primers* utilizados permitiram identificar 136 alelos, sendo o número médio de alelos por *locus* igual a sete. O número de alelos por *locus* variou entre cinco e nove. Os *loci* CNZ10 e CNZ43 apresentaram a maior diversidade alélica, com nove alelos, e os *loci* CNZ23, CNZ29 e CNZ46 evidenciaram a menor, com cinco. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0,97 a 0,98, com média de 0,975. A análise realizada com os 20 pares de *primers* de microssatélites indica que a diferença entre os indivíduos é muito maior dentro de cada área avaliada do que entre áreas distintas. Os marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco podem ser utilizados com sucesso para análises genéticas em butiá.

Palavras-chave: Arecaceae, recursos genéticos, SSR, variabilidade genética, *primers*

Transferability of microsatellite markers developed for coconut (*Cocos nucifera*) to butiá (*Butia odorata*)

Abstract: The palm fruits of the genus *Butia* are used for food and the leaves are used in crafts. The aim of this study was to evaluate the transferability of microsatellite markers developed for the genome of coconut (*Cocos nucifera* L.) in butiá [*Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick], for application in molecular characterization. It were tested 50 coconut pairs of primers in 30 accessions of butiá collected in three separate areas in a natural population occurring in Tapes (RS). Among the 50 pairs of primers evaluated, 28 amplified, eight of them showed nonspecific bands and were not considered in the statistical analysis. The transferability of coconut primers tested in butiá was 40%. The 20 pairs of primers allowed the identification of 136 alleles, and the average number of alleles per locus was seven. The number of alleles per locus varied from five to nine. The *loci* and CNZ10 CNZ43 had the highest allelic diversity, with nine alleles and *loci* CNZ23, CNZ29 CNZ46 showed the smallest, with five alleles. The polymorphic information content (PIC) ranged from 0.97 to 0.98, with an average of 0.975. The analysis performed with 20 microsatellite pairs of primers shows that difference between individuals is much highest inside each evaluated area than between different areas. The microsatellite markers developed for the coconut genome can be used successfully for genetic analysis in butiá.

Key words: Arecaceae, genetic resources, SSR, genetic variability, primers

Introdução

Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick é uma das 266 espécies de palmeiras que ocorrem no Brasil (Leitman et al., 2010; Noblick, 2011). Seu fruto, conhecido como butiá, é apreciado para consumo *in natura*, sendo também utilizado no preparo de sucos, licores e geleias. Suas folhas são utilizadas no artesanato trançado e, no passado, foram usadas para estofaria (Lorenzi et al., 2010). Vastos butiazais desta espécie existiam no Bioma Pampa, estendendo-se desde o Rio Grande do Sul até o Uruguai. Porém, devido à ação antrópica, há poucos remanescentes (Rossato, 2007). Considerando o potencial de uso pouco explorado no Brasil, o butiá pode, a médio e longo prazo, se apresentar como alternativa para geração de renda, principalmente, em pequenas propriedades rurais.

Marcadores moleculares do tipo microssatélites (SSR - *Simple Sequence Repeats*) podem auxiliar na estimativa de parâmetros genéticos de populações, na compreensão de padrões de fluxo gênico e parentesco e em estudos de diversidade, gerando subsídios para a conservação de recursos genéticos. Estes marcadores podem ser desenvolvidos diretamente a partir de bibliotecas de DNA genômico ou de bibliotecas enriquecidas para microssatélites específicos. Também podem ser encontrados em bases de dados disponíveis *on line* ou, ainda, através de transferibilidade considerando diferentes espécies (Kalia et al., 2011). Uma alternativa para viabilizar as análises de microssatélites em espécies para as quais ainda não existam *primers* específicos é a transposição de

primers de espécies evolutivamente próximas. A transferibilidade dos marcadores SSR é maior entre espécies do mesmo gênero, ou de gêneros estreitamente relacionados, do que entre gêneros distante de uma mesma família (Mnejja et al., 2010).

Quando iniciou o desenvolvimento deste trabalho, ainda não havia *primers* específicos para o gênero *Butia*. Porém, recentemente foi publicado um artigo apresentando marcadores de microssatélites desenvolvidos para *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. por um grupo de pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), onde os autores ressaltam a importância dos marcadores moleculares para o estudo da diversidade nas populações remanescentes (Nazareno et al., 2011). Mesmo assim, justifica-se a importância do presente trabalho, uma vez que quanto mais informações forem geradas sobre as espécies ditas “órfãs” (com pouca ou nenhuma informação), como é o caso destas palmeiras, maior será o conhecimento e utilização destes recursos genéticos. Taxonomicamente, tanto o coco (*Cocos nucifera* L.) como o butiá fazem parte da mesma subfamília (Arecoideae), pertencem à mesma tribo (Cocoseae) e à mesma subtribo (Attaleinae). Baker et al. (2011) demonstraram que estas são espécies evolutivamente muito próximas. Assim, este trabalho teve como objetivo testar a transposição de marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco em butiá (*Butia odorata*).

Material e Métodos

Para o estudo de transferibilidade foram selecionados ao acaso 50 pares de *primers* de microssatélites (Tabela 1) desenvolvidos para *Cocos nucifera*, disponíveis na base de dados TropGENE Coconut Database (<http://tropgenedb.cirad.fr/en/coconut.html>). Os 50 pares de *primers* selecionados foram testados em amostras de 30 indivíduos adultos de *Butia odorata*, todos eles com mais de 150 anos de idade. Foram coletadas folhas de *B. odorata* em uma população natural existente na Fazenda São Miguel, localizada no município de Tapes (RS). Na Fazenda foram selecionadas três áreas distintas, sendo a primeira área (A1) distante cerca de 0,7km da segunda (A2) e 2,55km da terceira (A3); com 1,73km entre A2 e A3. Foram selecionadas e coletadas aleatoriamente 10 plantas de cada uma das três áreas distintas (A1-1 a A1-10, A2-1 a A2-10 e A3-1 a A3-10) dentro da mesma população. As coordenadas geográficas específicas de cada área são: A1: Longitude 51°21'35,23" W e Latitude 30°31'22,34" S, A2: Longitude 51°21'47,61" W e Latitude 30°31'46,11" S e A3: Longitude 51°22'6,35" W e Latitude 30°32'43,79" S.

Como as plantas tinham estatura elevada (de 4 a 10 metros), a coleta foi realizada com auxílio de uma tesoura de poda acoplada a uma haste extensível. De cada indivíduo foi cortada a parte terminal de uma folha. Em laboratório, vários folíolos de cada planta foram cortados em porções de cerca de 3cm, com auxílio de uma tesoura. A seguir, a amostra de cada indivíduo foi triturada em um moinho (moinho analítico de laboratório para trituração de amostras por impacto ou corte) com adição de nitrogênio líquido. Posteriormente, cada amostra foi colocada em tubos tipo Falcon (15 ml) e armazenada em ultra freezer (-80°C) até o momento da extração do DNA.

A extração do DNA foi realizada a partir das folhas das palmeiras marcadas nas três áreas de estudo, o protocolo de extração foi de acordo com o fabricante dos kits de extração de DNA utilizado (DNeasy Plant mini Kit Quiagen). Os testes de qualidade do DNA foram feitos em gel de agarose 1%, e a concentração foi verificada em fluorômetro. As reações de *SSR-PCR* seguiram o protocolo descrito por Teulat et al. (2000), com algumas modificações. A reação teve um volume final de 20 µl, composto por: 10,9 µl de H₂O, 2,0 µl de 10x PCR Buffer, 1,0 µl de MgCl (50m M), 1,6 µl de dNTPs (12,5 mM), 1,3 µl de BSA (10mg µl), 1,0 µl de *primer* (*Forward e Reverse*) 10 µM, 0,2 µl de Taq DNA Polimerase (5u/µl) e 1,0 µl de DNA (5ng/µl). As amplificações foram realizadas em termociclador Applied Bio Systems Gene Amp PCR System 9700, programado para uma etapa inicial de desnaturação do DNA a 94°C por cinco minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C por 15 segundos (desnaturação), 10 segundos a temperatura de anelamento (Ta), 72°C por 15 segundos e 72°C por cinco minutos, permanecendo a seguir a 4°C. As temperaturas de anelamento variaram de 55°C a 63°C, conforme a temperatura do *primer* utilizado (Tabela 1).

O produto da amplificação foi separado em gel de agarose a 2% e visualizado por meio de coloração com o corante Gel Red (*Biotium*). O marcador 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen) foi utilizado como referência para estimar o tamanho dos fragmentos amplificados. Em seguida o gel foi visualizado e documentado em luz ultravioleta (UV), em fotodocumentador (Kodak Gel Logic 212 Imaging System, Molecular Imaging System Carestream Health, Inc., Rochester, NY, EUA). Os alelos amplificados foram identificados de acordo com o peso molecular das bandas geradas. Foi construída uma matriz multialélica para cada loco analisado, a partir da qual foi estimado: i) o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) de cada marcador foi estimado por meio da equação: $PIC = 1 - \sum p_i^2$, onde p_i é a frequência ao quadrado do alelo i ; ii) a distância genética entre os indivíduos foi estimada, utilizando o software NTSYS-PC, versão 2.1 (Rohlf, 2000), com base na distância de Rogers Modificado (Wright, 1978) conforme a equação:

$$DW = \frac{1}{\sqrt{2m}} \sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_j} (p_{ij} - q_{ij})^2}$$

onde, p_{ij} e q_{ij} correspondem às frequências do alelo j no *locus* i nos dois genótipos em consideração, n_i é o número de alelos do *locus* i , e m se refere ao número de *loci*.

A partir da matriz original gerada com base na leitura dos géis de dados codominantes, foi estimada a distância euclidiana entre os indivíduos. Com base no quadrado da distância euclidiana foram calculadas as estimativas da variabilidade genética entre os indivíduos procedentes da mesma área, dentro de indivíduos e entre indivíduos procedentes de diferentes áreas, através da análise molecular da variância (AMOVA) utilizando o programa computacional Genes. O valor F_{st} , que representa a distância genética entre os indivíduos, foi utilizado para comparar a variação genética entre os indivíduos avaliados. Para testar a significância dos resultados da AMOVA foi utilizado o método não-paramétrico de permutações (Excoffier et al., 1992).

Com base na matriz de distância euclidiana foi construído um dendrograma, por meio do método de agrupamento da distância média UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average*). O ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma foi estimado pelo

coeficiente de correlação cofenética (r), conforme Sokal & Rohlf (1962), utilizando o programa computacional NTSYS-PC (Rohlf, 2000).

Resultados e Discussão

Foi constatado que, dentre os 50 pares de *primers* testados e desenvolvidos para coco, 28 amplificaram para butiá. Porém, dentre os que amplificaram, oito resultaram em ampliações em múltiplas regiões do genoma e não foram considerados (Tabela 2). Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que a porcentagem de transferibilidade efetiva dos *primers* de coco para butiá foi de 40%. Este percentual de transferibilidade pode ser altamente variável dependendo das espécies em estudo. Ritschel et al. (2004), ao avaliarem 67 *primers* desenvolvidos para melão (*Cucumis melo* L.) e testados em melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), ambas espécies da família Cucurbitaceae, obtiveram 23% de transferibilidade. Em outro artigo de transferibilidade com marcadores microssatélites desenvolvidos para o arroz (*Oryza sativa* L. cv. TNG67) e testados em 21 espécies de bambu, Chen et al. (2010) obtiveram 68,3% de transferibilidade. Mnejja et al. (2010) ao avaliar a transferibilidade de marcadores microssatélites de *Prunus* em outras espécies da família Rosaceae obtiveram 63,9% de transferibilidade. Nazareno et al. (2011), ao avaliarem 14 pares de *primers* desenvolvidos para *Butia eriospatha* e testados em *B. catarinensis*, obtiveram uma alta transferibilidade (86%). Este alto valor pode ser atribuído ao fato das espécies avaliadas pelos autores acima citados serem bastante próximas, uma vez que pertencem ao mesmo gênero. No presente estudo, pode-se observar que dos 20 *primers* utilizados, foi identificado um total de 136 alelos.

O número médio de alelos obtido por *locus* foi sete com amplitude variando entre cinco e nove. Os *loci* CNZ10 e CNZ43 apresentaram a maior diversidade alélica, com nove alelos. A menor diversidade alélica foi evidenciada para os *loci* CNZ23, CNZ29 e CNZ46, os quais apresentaram cinco alelos (Tabela 2). Quanto ao conteúdo de informação polimórfica (PIC), pode-se observar que este variou de 0,97 a 0,98, sendo a média igual a 0,975 (Tabela 2). De acordo com Xie et al. (2010), o polimorfismo dos *loci* pode ser considerado alto ($PIC > 0,5$), médio (PIC entre 0,5 e 0,25) ou baixo ($PIC < 0,25$). Assim sendo, o valor do PIC obtido no presente trabalho, em todos os *loci*, pode ser considerado alto. Segundo Weir (1996), o conhecimento do conteúdo de informação do polimorfismo é importante, pois fornece uma estimativa do poder discriminatório de um *locus*. Valores menores de PIC, entre 0,60 a 0,86, foram encontrados em açazeiros (*Euterpe oleracea* Mart.), outra espécie de palmeira, por Oliveira et al. (2010).

Pela AMOVA, 8,99 % da variação total encontra-se entre as áreas amostradas, enquanto que a maior porção da variação, 91,00%, encontra-se entre os indivíduos dentro de cada área (Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Büttow et al. (2010) que, em um estudo utilizando marcadores AFLP em butiá, obteve a maior parte da variação molecular (83,68%) dentro das populações e a menor parte atribuída à diferença entre as populações (13,67%). Ainda de acordo com os mesmos autores acima citados, a maior variabilidade dentro das populações é comum em espécies que apresentam mecanismos eficientes de dispersão de pólen e sementes, como é o caso de *Butia odorata*. Outro fator a ser considerado é a distância entre as três áreas

amostradas, o que favorece o fluxo gênico devido à proximidade entre as áreas avaliadas, de modo semelhante ao que foi relatado por Boyle et al. (1990). Com base nos 20 *loci* SSR analisados foi possível discriminar 22 dos 30 genótipos avaliados (Figura 1). A distância genética entre os 30 indivíduos variou 0,11 a 0,33, com média geral de 0,22. Os indivíduos mais divergentes foram A1-8 e A3-8, enquanto os indivíduos A1-9, A2-4, A2-5 e A2-7 foram os mais similares, apresentando o mesmo perfil molecular para os 20 *loci* analisados, assim como A2-9 e A2-10 e A1-2 e A3-4 (Figura 1). Esses resultados corroboram com os resultados da AMOVA, uma vez que indivíduos de áreas distintas apresentaram 100% de similaridade.

O coeficiente de correlação cofenética obtido entre o dendrograma e a matriz de distância genética foi igual a 0,78, índice considerado alto. Os vinte *loci* SSR transferidos de coco para 30 indivíduos adultos de *Butia* foram todos polimórficos. De acordo com Amorim et al. (2008), os marcadores SSR possibilitam classificar, de forma eficiente, os genótipos de acordo com sua origem, classificação e genealogia. O conhecimento do conteúdo de informação do polimorfismo é importante, pois fornece uma estimativa do poder discriminatório de um *locus*. Com relação a butiá os resultados obtidos comprovam a eficácia da metodologia de transferibilidade de locos SSR entre espécies evolutivamente próximas. Analisando os custos elevados e o tempo necessário para o desenvolvimento de marcadores SSR específicos para análise de microssatélites, os resultados obtidos permitem tornar mais eficiente o processo de caracterização molecular dos recursos genéticos dessa espécie, auxiliando na adoção de estratégias de conservação e melhoramento genético e manejo de populações naturais dessa palmeira no Sul do Brasil.

Conclusão

Os marcadores microssatélites desenvolvidos para o genoma de coco podem ser utilizados com sucesso para análises genéticas em butiá.

Agradecimentos

Agradecemos a CAPES, PROBIO II, FAPERGS e CNPq pela concessão de bolsas de estudo e financiamento ao projeto; e aos proprietários da Fazenda São Miguel, pela conservação da população natural de *Butia odorata* e parceria nas ações de pesquisa.

Referências Bibliográficas

AMORIM, E. P.; REIS, R.V.; SEREJO, J. A. S.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.8, p.1045-1052, 2008.

- BAKER, W. J.; NORUP, M.V.; CLARKSON, J. J.; COUVREUR, T. L. P.; DOWE, J.L.; LEWIS, C. E.; PINTAUD, J.C.; SAVOLAINEN, V.; WILMONT, T.; CHASE, M.W. Phylogenetic relationships among arecoid palms (Arecaceae: Arecoideae). **Annals of Botany**, Oxford, v.108, n.8. p.1417-1432, 2011.
- BOYLE, T.; LIENGSI, C.; PIEWLUANG, C. Genetic structure of black spruce on two contrasting sites. **Heredity**, Oxford, v.65, n. 3, p.393-399, 1990.
- BÜTTOW, M.V.; CASTRO, C.M.; SCHWARTZ, E.; TONIETTO, A.; BARBIERI, R.L. Caracterização molecular de populações de *Butia capitata* (Arecaceae) do sul do Brasil através de marcadores AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.230-239, 2010.
- CHEN, S.Y.; LIN, Y.Y.; LIN, C.W.; CHEN, W.Y.; YANG, C.H.; KU, H.M. Transferability of rice SSR markers to bamboo. **Euphytica**, Wageningen, v.175, p.23-33, 2010.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, Pittsburgh, v.131, n.2, p.479-491, 1992.
- KALIA, R.K., RAI, M.K., KALIA, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, Wageningen, v. 177, p. 309–334, 2011.
- LEITMAN, P., HENDERSON, A., NOBLICK, L. Arecaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000053>>, Acesso em: 10 jun. 2012.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L.R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira – Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Plantarum, 2010. 384 p.
- MNEJJA, M.; GARCIA-MAS, J.; AUDERGON J-M.; ARUS, P. *Prunus* microsatellite marker transferability across rosaceous crops. **Tree Genetics & Genomes**, v.6, n.5, p.689-700, 2010.
- NAZARENO, A.G.; ZUCCHI, M.I.; REIS, M.S. Microsatellite markers for *Butia eriospatha* (Arecaceae), a vulnerable palm species from the Atlantic Rainforest of Brasil. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v.98, n.7, p.198-200, 2011.
- NOBLICK, L. R. Validation of the name *Butia odorata*. **Palms**, v. 55(1), p. 48-49, 2011.
- OLIVEIRA, M.S.P.; SANTOS, J.B.; PERITO, E.A.; FERREIRA, D. R. Variabilidade genética entre acessos de açaizeiro utilizando marcadores microsatélites. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.5, p.1253-1260, 2010.
- RITSCHER, P.S.; LINS, T.C.L. ; TRISTAN, R.L.; BUSO, G.S.C.; BUSO, J.A.; FERREIRA, M.E. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library of genetic analysis of melon. **BMC Plant Biology**, London, v.4, n.9, p.1-14, 2004.
- ROSSATO, M.; BARBIERI, R. L.; SCHÄFER, A.; ZACARIA, J. Caracterização molecular de populações de palmeiras do gênero *Butia* do Rio Grande do Sul através de marcadores ISSR. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 4, p. 311-318, 2007.
- ROHLF, J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. New York: Exeter, 2000. Software.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J.; The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Utrecht, 11: 33-40, 1962.

TEULAT, B.; ALDAM, C.; TREHIN, R.; LEBRUN, P.; BARKER, J.H.A.; ARNOLD, G.M.; KARP, A.; BAUDOUIN, L.; ROGNON, F. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p. 764–771. 2000.

Trop GENE Coconut Data base. Disponível em: < <http://tropgenedb.cirad.fr/en/coconut.html> > Acesso em: 4 fev. 2010

XIE, W.G.; ZHANG, X.Q.; CAI, H.W.; LIU, W.; PENG, Y. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylus glomerata* L.), **Biochemical Systematics and Ecology**, New York, v.38, p.740-749, 2010.

WRIGHT, S. **Evolution and genetics of populations** - variability within and among natural populations. Chicago: The University of Chicago Press, v.4, 1978.590p.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II** - Methods for discrete population genetic data. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 445p.

Tabela 1 - Sequências dos 50 pares de *primers* de microssatélites desenhados para *Cocos nucifera* e testados para a transferibilidade em *Butia odorata*. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012.

Nome	Forward	Reverse	pb	Ta
CnCir 171	ACGTACATTGGTATGAGGA	TGAAGAGAGAAGCAAACC	NP*	51
CnCir 194	TCGTTTCATCTCCATCTGT	CCAACCTCAAGGTGATCTCT	NP	51
CnCir 219	CCTTGTGCTAAGAGATTCA	AAGTTAGGGCATCCTTCT	NP	51
CnCir 238	AAATCCCAAACCTTCTTCTC	CGCTACGTTGGACATT	NP	51
CnCir H7	GAGATGGCATAACACCTA	TGCTGAAGCAAAAAGAGTA	NP	51
CnCir A3	TACGAAAGCAAGAAAACATA	AATAATGTGAAAAAGCAAAG	NP	51
CnCir E10	TTGGGTTCCATTTCTTCTCTCATC	GCTCTTTAGGGTTTCGCTTTCTTAG	NP	51
CnCir S10	CAGAAACAGCCAATCAAGCAATA	ATCCATAATAGCCACTCAACAAAAA	NP	51
CnCir G11	AATATCTCCAAAAATCATCGAAAG	TCATCCACACCCCTCCTCT	NP	51
CnCir F2	GGTCTCCTCTCCCTCCTTATCTA	CGACGACCCAAAACCTGAACAC	NP	51
CnCir E11	CAGAAACAGCCAATCAAGCAATA	ATCCATAATAGCCACTCAACAAAAA	NP	51
CNZ01	ATGATGATCTCTGGTTAGGCT	AAATGAGGGTTTGGAAGGATT	122	55
CNZ02	CTCTTCCCATCATATACCAGC	ACTGGGGGGGATCTTATCTCTG	138	53
CNZ03	CATCTTTCATCATTTAGCTCT	AAACCAAAAAGCAAGGAGAAGT	91	51
CNZ04	TATATGGGATGCTTTAGTGGA	CAAATCGACAGACATCCTAAA	162	53
CNZ05	CTTATCCAAATCGTCACAGAG	AGGAGAAGCCAGGAAAGATTT	163	53
CNZ06	ATACTCATCATCATACGACGC	CTCCACAAAATCATGTTATT	85	53
CNZ09	ATCTACCAGTGTGGTCCTCTC	ACCAGGAAAAAGAGCGGAGAA	137	53
CNZ10	CCTATTGCACCTAAGCAATTA	AATGATTTTCGAAGAGAGGTC	148	53
CNZ12	TAGCTTCCTGAGATAAGATGC	GATCATGGAACGAAAACATTA	214	53
CNZ13	TATGCTATTCACTCATTTTTTCG	ACTCTGTTTCACGATCAAAAA	138	50
CNZ16	TAAACTGAAAATAGCATGGGA	CTGACGGAATCTGTAAATTTG	186	55
CNZ17	ATGTAAAGAAAAGTAGGGAGGC	CATAGGTTATCATGCAGAGCT	107	55
CNZ18	ATGGTTTCAGCCCTTAATAAAC	GAACCTTTGAAGCTCCCATCAT	102	55
CNZ19	GAAGAAGGTGCTGGTTCTGTC	GGAGAAGAGAAGGAACAGAGA	181	55
CNZ20	GTGGGACACATTTATCATTTA	CAATTTTGCTGAAGAGGTAAA	94	55
CNZ21	ATGTTTTAGCTTCACCATGAA	TCAAGTTCAAGAAGACCTTTG	255	55
CNZ22	ACAAAGTCAAAGTTGATCAGC	ATTACACACACACACACACCA	240	55
CNZ23	ATCAAAACATGACACCGTAAC	CTGATAGATGACAAGGTGTGG	163	53
CNZ24	TCCTAAGCTCAATACTCACCA	CGCATTGATAAATACAAGCTT	257	53
CNZ26	CTAGGCTCCCCATGTGTTTTT	CACTGCTGTTGTACACCTCCA	232	53
CNZ29	TAAATGGGTAAGTGTTGTGC	CTGTCCTATTTCCCTTTTCATT	135	51
CNZ31	GAAAGAATGTGGTGTTGACAT	TAGTGCTAAGTCGATGGAAAT	189	51
CNZ32	TTGATCCCTAAGAGAAGGATC	GAAGAACACCAATGAGGTAAA	148	55
CNZ33	TTGCCCTATGACATTAAGA	GAGGTCAAAGTTATTTCCGAT	164	51
CNZ34	CATGTCGATTAATTATCCCAA	TGCAAATATGAATGCAAACAC	140	51
CNZ37	GTGGATAACTCATTTCAAGTG	TTCAAGAAGGTTCCGAAGGA	232	53
CNZ40	CTTGATTGCTATCTCAAATGG	CTGAGACCAATAACCATGTGT	151	53
CNZ42	TGATACTCCTCTGTGATGCTT	GTAGATTGTGGGAGAGGAATG	161	55
CNZ43	TCTTCATTTGATGAGAATGCT	ACCGTATTCACCATTTCTAACA	197	51
CNZ44	CATCAGTTCCACTCTCATTTT	CAACAAAAGACATAGGTGGTC	165	53
CNZ46	TTGGTTAGTATAGCCATGCAT	AACCATTTGTAGTATACCCCC	116	51
CN11E6	TACTTAGGCAACGTTCCATTC	TAACCAGAAAAGCAAAAAGATT	NP	52
CN1C6	AGTATGTGAGTAGGATTATGG	TTCCCTGGACCCTTATCTCTT	NP	52
CN2A4	CAGGATGGTTCAAGCCCTTAA	GGTGGAAGAGGGAGAGATTGA	88	52
CN2A5	AAGGTGAAATCTATGAACACA	GGCAGTAACACATTACACATG	NP	52
CN11E10	AGAGAGAGTAAATGGGTAAGT	CCCTTTTCATTTTCTTATTC	137	52
CN11A10	GTTGGAGATTTAATTTCTTG	CCCAATAATATTTTATAACAG	111	52
CN1G4	GTCGTCCTATACTCATCATCA	GATGCGTATGAGATGTGAGAG	NP	52
CN1H2	TTGATAGGAGAGCTTCATAAC	ATCTTCTTTAATGCTCGGAGT	NP	52

TropGENE Coconut Database, pb = pares de base, Ta = temperatura de anelamento, *NP= não publicado

Tabela 2 - Conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) de vinte *loci* SSR com base na caracterização de 30 indivíduos de *Butia odorata* e o respectivo número de alelos identificados por *locus*, tamanho dos alelos identificados e amplitude das frequências alélicas. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado 2012.

<i>Locus</i>	PIC	<i>Motif</i>	Nº de alelos	Alelo mais Frequente	Tamanhos alelos observados (pb)	Frequências alélicas	Ta (°C)
CNZ01	0,97	(CT) ₁₅ (CA) ₉	8	122	85 - 136	0,005 - 0,110	54
CNZ04	0,98	(CT) ₂₉ TT(CA) ₁₀	8	225	175 - 225	0,010 - 0,075	54
CNZ05	0,98	(CT) ₁₇ (GT) ₇	8	210	170 - 230	0,0001 - 0,002	54
CNZ09	0,97	(CT) ₁₃ (CA) ₆ (CT) ₁₉ (CA) ₈	6	122	80 - 126	0,0001 - 0,0081	54
CNZ10	0,98	(CT) ₁₈ (GT) ₁₇	9	235	195 - 265	0,0001 - 0,0056	54
CNZ12	0,97	(CT) ₁₅	7	293	202 - 300	0,0001 - 0,01	53
CNZ16	0,98	(GTT) ₆ (GCT) ₂ (CTT) ₈ TTTGTGC(GT) ₈ CT(GT) ₇ CT(GT) ₆	7	168	146 - 182	0,0001 - 0,012	55
CNZ17	0,97	(CA) ₁₂ (GA) ₁₁	6	55	50 - 122	0,0001 - 0,012	55
CNZ23	0,98	(GA) ₁₈	5	164	130 - 164	0,0009 - 0,0049	53
CNZ29	0,97	(GT) ₂₂ (GA) ₂ CA(GA) ₁₁	5	120	115-147	0,004 - 0,012	55
CNZ42	0,98	(CT) ₁₆	6	169	145 - 182	0,001 - 0,0064	52
CNZ43	0,98	(GA) ₂₁	9	247	220 - 284	0,0001 - 0,0049	53
CNZ44	0,97	(GA) ₁₅	6	149	135 - 164	0,0001 - 0,01	54
CNZ46	0,96	(CT) ₂₄	5	95	90 - 115	0,0006 - 0,025	52
CN2A4	0,97	(CT) ₁₅ TT(CT) ₃	7	170	140 - 200	0,0001 - 0,016	53
CnCir194	0,98	NP*	8	399	379 - 427	0,0004 - 0,0036	52
CnCir219	0,97	NP*	5	223	216 - 247	0,0004 - 0,0081	60
CnCirE10	0,97	(CA) ₈ (GA) ₁₁	6	235	198 - 240	0,0001 - 0,016	52
CnCirF2	0,98	(TG) ₁₁ (AG) ₁₂	7	220	178 - 234	0,0001 - 0,013	60
CnCir E11	0,98	NP*	8	218	202 - 260	0,0004 - 0,0064	60

PIC= conteúdo de informação do polimorfismo, pb = pares de base, Ta (°C) = temperatura de anelamento, *NP= não publicado

Tabela 3 – Análise da variância molecular (AMOVA) gerada por dados de marcadores moleculares microssatélites em 30 indivíduos de *Butia odorata* coletados no município de Tapes. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012.

Fonte de Variação	GL ¹	SQ	VC	%VT
Entre áreas	2	5,13	0,12	8,99 ^{ns}
Dentro de áreas	27	34,87	1,29	91,00**
Total	29	40,00	1,41	100

¹ Graus de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), componentes de variância (VC), percentagem da variação total (%VT), ** significativo ao nível de 1% de probabilidade do erro, ^{ns} não significativo

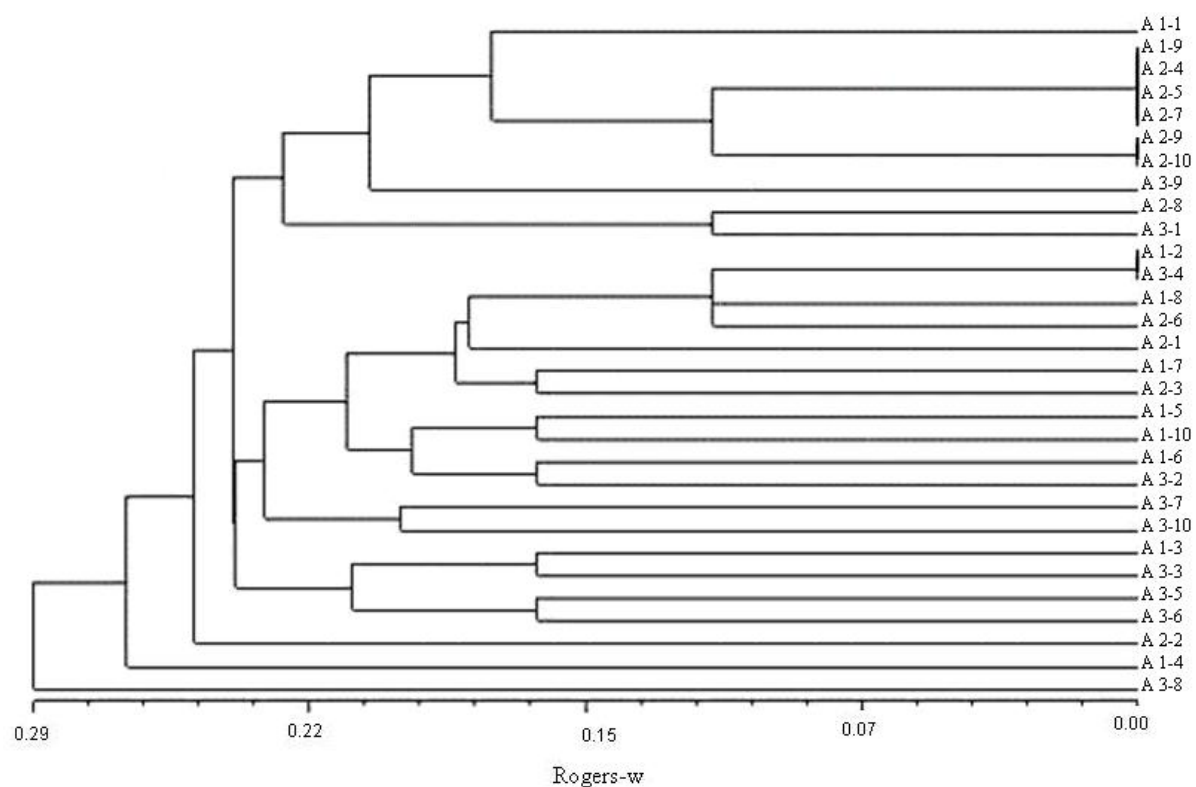


Figura 1 - Dendrograma resultante da análise de 30 indivíduos de *Butia odorata* obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz de distância genética obtida por meio da distância de Rogers modificada, utilizando 20 marcadores SSR. Coeficiente de correlação cofenética (r) = 0,78. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2012.

3 Artigo 2 - segundo as normas da Revista Brasileira de Fruticultura

Estrutura genética de uma população natural de butiá (*Butia odorata*) no Bioma Pampa

Resumo

Popularmente conhecido como butiá, *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick é uma das espécies de palmeiras nativas no Bioma Pampa. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a estrutura genética de uma população natural desta espécie. Foram avaliados 303 indivíduos de uma população ocorrente no município de Tapes (RS), utilizando 20 pares de *primers* SSR heterólogos. Todos os *primers* foram polimórficos, 279 alelos foram amplificados, com variação de dois a sete alelos e média de 4,6 alelos por *primer*. Foi constatada grande variabilidade genética na população de *B. odorata* avaliada com marcadores microssatélites. Na população avaliada, a variação molecular é maior entre os indivíduos de cada área do que entre aqueles de áreas distintas. Nesta população, a heterozigosidade observada é menor do que a esperada, indicando ocorrência de endogamia. As plantas da terceira área avaliada apresentam estruturação genética, devido à ação de fluxo gênico e/ou de deriva genética.

Palavras-chave: Arecaceae, recursos genéticos, microssatélites, variabilidade genética

Genetic structure of a natural population of butiá (*Butia odorata*) in Pampa Biome

Abstract

Popularly known as pindo palm, *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick is a species of palm native in Pampa Biome. This study was conducted to evaluate the genetic structure of a natural population of this specie. We evaluated 303 individuals from a natural population of butiá occurring in Tapes (RS), using 20 SSR primer pairs. All primers were polymorphic. 279 aleles were amplified, with variation from 2 to 7 aleles and 4.6 aleles per primer in average. Genetic variability was found in the population of *B. odorata* assessed with microsatellite markers. The molecular variation is greater among individuals within each area than among those from different areas. Observed heterozygosity in this population is lower than expected, indicating the occurrence of inbreeding. The plants of the third area evaluated present genetic structure, due to the action of gene flow and / or genetic drift.

Keywords: Arecaceae, genetic resources, microsatellite, genetic variability

Introdução

Na América do Sul, o pampa se estende por uma área de aproximadamente 750 mil km², compartilhada por Brasil, Uruguai e Argentina. No Brasil, o Bioma Pampa está situado no Rio Grande do Sul, onde ocupa 63% do território estadual, o que equivale a 2,07% do território nacional. Este bioma apresenta uma enorme riqueza cultural associada à biodiversidade. Em sua paisagem predominam os campos nativos, mas há também a presença de matas ciliares, capões de mata, butiazais, banhados e formações arbustivas. Trata-se de um patrimônio natural, genético e cultural de enorme importância. A constante introdução e o progressivo aumento de monoculturas e de pastagens com espécies exóticas têm acelerado a degradação e descaracterização das paisagens naturais do Bioma Pampa (MMA, 2013).

Uma das espécies de palmeiras nativas deste bioma, popularmente conhecido como butiá, é *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick. É uma espécie monoica, com flores masculinas e femininas na mesma inflorescência. É uma planta alógama, que

apresenta mecanismos de protandria (comunicação verbal)¹. O estipe pode atingir 10 m de altura e 40 a 60 cm de diâmetro, com cicatrizes de restos de pecíolos. O fruto é uma drupa, com mesocarpo carnoso, fibroso e sabor doce-acidulado, endocarpo duro e denso, contendo de uma a três sementes (amêndoas) e apresentando três poros de germinação (CHEBATAROFF, 1974; LORENZI et al., 2010). É muito apreciado para consumo *in natura*, sendo ainda empregado como ingrediente no preparo de doces e bebidas. A planta apresenta folhas pinadas de coloração verde-acinzentada, no passado eram usadas para estofaria (crina vegetal) e atualmente são utilizadas no artesanato. Além disso, as plantas são usadas no paisagismo rural e urbano devido ao aspecto ornamental e a tolerância a baixas temperaturas (BÜTTOW et al., 2009).

No Brasil pode ser encontrada uma vasta diversidade de espécies frutíferas nativas, muitas ainda subutilizadas e em alguns casos praticamente desconhecidas. O conceito de espécies subutilizadas ou negligenciadas vem sendo adotado pela comunidade científica na área de recursos genéticos para se referir às culturas que não tem grande valor de mercado, que são parte da biodiversidade local, que já foram mais populares e atualmente são negligenciadas pelos grupos de usuários devido a um conjunto de fatores agronômicos, genéticos, econômicos, sociais e culturais (PADULOSI & HOESCHLE-ZELEDON, 2004; PADULOSI et al., 2012). Neste contexto, para que uma espécie seja considerada subutilizada ou negligenciada, deve preencher as seguintes condições: necessidade de poucos insumos externos para sua produção; adaptação à produção orgânica; ser cultivável em áreas marginais; contribuir para a estabilidade de ecossistemas frágeis; ser integrável ao sistema produtivo dos agricultores familiares; ter importância tradicional local ou regional; facilidade de armazenar e processar; aptidão de mercado; apresentar alto valor nutritivo e/ou medicinal; e ter múltiplos usos (GFUS, 2013). O butiá preenche todas essas condições sendo, portanto, considerado uma destas espécies subutilizadas. Apesar de apresentar um grande potencial ainda é muito pouco explorado.

¹ (¹ = Informação fornecida por Marina de Magalhães da Fonseca, Pelotas, maio de 2013.)

Uma melhor compreensão das características demográficas, dinâmica populacional (MATOS & WATKINSON, 1999) e padrões de diversidade genética (REIS et al., 1997; CIAMPI et al., 2000) é um componente chave para estabelecer programas de conservação e manejo sustentáveis de populações naturais. A disponibilidade de informações a respeito da estrutura genética da população pode ajudar na adequada definição de estratégias de manejo para cada espécie, que por sua vez pode permitir uma melhor combinação de práticas de uso e conservação (AZEVEDO et al., 2007).

Nesse contexto, a geração de informações relacionadas à diversidade genética, estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo gênico em populações naturais de butiá remanescentes no Bioma Pampa pode auxiliar na proposição de estratégias para conservação *in situ* e *ex situ* associadas ao manejo sustentável da espécie. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a estrutura genética de uma população natural de *B. odorata* no Bioma Pampa.

Material e Métodos

Foi avaliada uma população natural de *B. odorata* ocorrente na Fazenda São Miguel, localizada no município de Tapes (RS). Nesta fazenda existem aproximadamente 70 mil palmeiras adultas distribuídas em 770 ha.

Foram selecionadas três áreas distintas (considerando diferentes densidades de indivíduos adultos de *B. odorata* e butiazeiros com diferenças na estatura e arquitetura de planta) com base em informações obtidas com os proprietários e por observações das diferenças morfológicas entre os indivíduos. As áreas são distintas entre si quanto às características dos butiazeiros, sendo a primeira área (A1 - longitude 51°21'35,23"W e latitude 30°31'22,34"S) distante cerca de 0,7km da segunda (A2 - longitude 51°21'47,61"W e latitude 30°31'46,11"S) e 2,55km da terceira (A3 - longitude 51°22'6,35"W e latitude 30°32'43,79"S); com 1,73km entre A2 e A3. Foram coletadas amostras de folhas de 101 plantas escolhidas aleatoriamente em cada uma das três áreas distintas, totalizando 303 indivíduos adultos, todos com mais de 150 anos de idade. A idade das plantas foi estimada com base na contagem das marcas de inserção do pecíolo no estipe, seguindo metodologia de Geymonat e Rocha (2009).

De cada indivíduo foi coletada a parte terminal de uma das folhas. Como as plantas tinham estatura elevada (de 4 a 10 metros), a coleta foi realizada com auxílio de uma tesoura de poda acoplada a uma haste extensível. Em laboratório, vários folíolos de cada planta foram cortados em porções de cerca de três cm, com auxílio de uma tesoura. A seguir, a amostra de cada indivíduo foi triturada em um moinho (moinho analítico de laboratório para trituração de amostras por impacto ou corte) com adição de nitrogênio líquido. Posteriormente, cada amostra foi colocada em tubos tipo Falcon (15 ml) e armazenada à -80°C até o momento da extração do DNA.

A extração do DNA foi realizada com o kit de extração de DNA DNeasy Plant mini Kit Quiagen®. A qualidade do DNA foi avaliada em gel de agarose 1%, e a quantificação foi realizada utilizando-se Qubit™ fluorometer (Invitrogen®). As reações de *SSR-PCR* seguiram o protocolo descrito por Teulat et al. (2000), com algumas modificações. A reação teve um volume final de 20 µl, composto por: 10,9 µl de H₂O, 2,0 µl de 10x PCR Buffer, 1,0 µl de MgCl (50m M), 1,6 µl de dNTPs (12,5 mM), 1,3 µl de BSA (10mg µl), 1,0 µl de primer (*Forward* e *Reverse*) 10 µM, 0,2 µl de Taq DNA Polimerase (5u/µl) e 1,0 µl de DNA (5ng µl⁻¹).

Cada planta foi caracterizada com 20 pares de *primers* de microssatélites pré-selecionados (Tabela 1), desenvolvidos para *Cocos nucifera*, disponíveis na base de dados TropGENE Coconut Database (<http://tropgenedb.cirad.fr/en/coconut.html>). As amplificações foram realizadas em termociclador Applied Bio Systems Gene Amp PCR System 9700, programado para uma etapa inicial de desnaturação do DNA a 94°C por cinco minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C por 15 segundos (desnaturação), 10 segundos a temperatura de anelamento (Ta), 72°C por 15 segundos e 72°C por cinco minutos, permanecendo a seguir a 4°C. As temperaturas de anelamento variaram de 52°C a 60°C, conforme a temperatura do *primer* utilizado (Tabela 2). O produto da amplificação foi separado em gel de agarose a 2% e visualizado por meio de coloração com o corante GelRed (Biotium®). O marcador 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen®) foi utilizado como referência para estimar o tamanho dos fragmentos amplificados. Em seguida o gel foi visualizado e documentado em luz ultravioleta (UV), em fotodocumentador (Kodak Gel Logic 212 Imaging System, Molecular

Imaging System Carestream Health, Inc., Rochester, NY, EUA). Os alelos amplificados foram identificados de acordo com o peso molecular das bandas geradas.

Foi construída uma matriz multialélica para cada *locus* analisado, a partir da qual foi estimado: i) o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) de cada *locus* foi estimado por meio da equação: $PIC = 1 - \sum p_i^2$, onde p_i é a frequência ao quadrado do alelo i ; ii) a distância genética entre os indivíduos foi estimada, utilizando o software NTSYS-PC, versão 2.1 (ROHLF, 2001), com base na distância de Rogers (1972) modificada por Wright (1978). A partir da matriz de distância gerada foi construído um dendrograma, com o uso do software DARwin v. 5.0.158 (PERRIER & JACQUEMOUD-COLLET, 2006), por meio do método de agrupamento da distância média UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average*). O ajuste entre a matriz de distância genética e o dendrograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (r), conforme Sokal & Rohlf (1962), utilizando o programa computacional NTSYS-PC. Foram calculadas as estimativas da variabilidade genética entre os indivíduos procedentes da mesma área e entre indivíduos procedentes de diferentes áreas, através da análise molecular da variância (AMOVA), Excoffier et al. (1992), utilizando o programa computacional Genes (CRUZ, 2006). Para testar a significância dos resultados da AMOVA foi utilizado o método não-paramétrico de permutações.

Resultados e Discussão

Os vinte pares de *primers* SSR utilizados nos 303 indivíduos de *B. odorata* foram todos polimórficos (Tabela 1). Estes *primers* foram responsáveis pela amplificação de 279 alelos, com variação de dois a sete alelos e média de 4,6 alelos por *primer*. O maior número de alelos foi registrado nos *loci* CNZ10 (A_2), CNZ43 (A_2), CnCir219 (A_1) e CnCirE10 (A_2), que amplificaram 7 alelos, enquanto o menor número ocorreu no loco CNZ09 (A_1), com apenas dois alelos. A média para o conteúdo da informação de polimorfismo (PIC), nas plantas avaliadas nas três áreas, foi de alta magnitude: 0,61(A_1), 0,57(A_2) e 0,56 (A_3), variando de 0,12 (CNZ09 – A_1) a 0,80 (CNZ05 – A_1). Segundo Xie et al. (2010) o polimorfismo dos *loci* pode ser considerado alto ($PIC > 0,5$), médio (PIC entre 0,5 e 0,25) ou baixo ($PIC < 0,25$). Assim sendo, para os *loci* analisados, as médias do PIC determinado é considerado

alto. Pode ser observado na Tabela 1 que existe uma relação direta entre número de alelos e o PIC, ou seja, há uma tendência de que quanto maior o número de alelos maior será o valor do PIC. Segundo Weir (1996), espera-se que os valores do PIC sejam similares ao da heterozigosidade esperada, sendo ambos sinônimos de diversidade genética. Assim, pode-se considerar que os genótipos avaliados neste trabalho sejam detentores de alta variabilidade nos locos testados, fato também observado no presente trabalho (Tabela 2).

Para a heterozigosidade esperada ($He=0,12$ a $0,82$) foram constatados altos valores em praticamente todos os locos, com médias de $0,65$ (A_1), $0,62$ (A_2) e $0,61$ (A_3). Para a heterozigosidade observada os valores variaram de $0,0$ até $1,0$, com médias de $0,20$ (A_1), $0,19$ (A_2) e $0,18$ (A_3). Resultados similares foram obtidos por Nazareno et al. (2011) em *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. Estes autores também utilizaram marcadores microssatélites e obtiveram valores que variaram de $0,12$ - $0,69$ para heterozigosidade esperada e de $0,00$ - $1,00$ para heterozigosidade observada. No presente trabalho, percebe-se que, considerando cada área, as médias da heterozigosidade observada são menores do que as da heterozigosidade esperada, o que pode ser um indicativo que estejam ocorrendo autofecundações ou cruzamentos entre indivíduos com alto grau de parentesco, aumentando a endogamia e reduzindo, conseqüentemente, os níveis de heterozigosidade. Em uma população natural de outra palmeira, o açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), sem ação antrópica, apesar de ter sido encontrado alta riqueza alélica (número de alelos por loco igual a 14) e diversidade gênica ($He=0,84$), com análise de marcadores microssatélites, também foi detectada a presença de um excesso de homozigotos na população, indicando a existência de endogamia, em consequência de cruzamentos não aleatórios e de autofecundação (SOUZA, 2002).

Com base na matriz de distância genética entre os pares de indivíduos foi construído um dendrograma (Figura 1). O coeficiente de correlação cofenética entre o dendrograma e a matriz de distância genética foi elevado, $r= 0,97$. A análise do agrupamento sugeriu a formação de três grupos distintos. Um grande grupo reuniu indivíduos das três áreas avaliadas, enquanto que dois dos grupos foram constituídos apenas por indivíduos da terceira área. Isso indica que as plantas avaliadas na terceira

área apresentam certo grau de estruturação genética, provavelmente devido à endogamia, o que poderia ser explicado devido a uma barreira no fluxo gênico ou à ação de deriva genética.

O fluxo gênico nesta população ocorre pela dispersão das sementes pela fauna silvestre e pela dispersão do pólen por insetos polinizadores. Na Fazenda São Miguel foi observado a presença de graxains, os quais se alimentam dos frutos de butiá e percorrem longas distâncias dispersando as sementes com as fezes (Figura 2). Os principais polinizadores de *Butia odorata* são espécies de himenópteros, dípteros e coleópteros (comunicação verbal)². Sabe-se que os polinizadores podem causar endogamia quando polinizam percorrendo apenas curtas distâncias, realizando cruzamentos preferenciais. Assim, uma interrupção no fluxo gênico pode ter ocorrido em função da grande disponibilidade de recursos, o que pode ter restringido os polinizadores a permanecerem apenas em determinada região, uma vez que, com abundância de pólen, não havia necessidade de percorrer distâncias maiores em busca de alimento. Outro fenômeno que pode ter ocorrido seria a preferência de alguns polinizadores por um determinado tipo de planta.

No que se refere à deriva genética, não há registro de acontecimentos impactantes na área, como tornados ou incêndios, os quais poderiam atuar alterando as frequências alélicas pelo efeito gargalo de garrafa. Porém, deve ser considerado que todas as plantas avaliadas têm mais de 150 anos de idade, e não se sabe com detalhes o que aconteceu na região há mais de 90 anos. Este era um local de passagem de tropeiros, os quais conduziam tropas de gado do extremo Sul do país para os mercados de São Paulo, entre o século XVII e o início do século XX. Pode-se inferir que a passagem dos tropeiros favorecia uma concentração de pessoas comendo butiá e jogando os "coquinhos" na volta, o que pode interferir na estrutura genética da população. Além disso, os indígenas que habitavam essa região há milhares de anos também devem ter tido influência sobre esta população, uma vez que atuavam como consumidores/dispersores de butiá.

² (¹ = Informação fornecida por Marina de Magalhães da Fonseca, Pelotas, maio de 2013.)

Os valores da variância molecular entre os 303 indivíduos de *B. odorata*, de acordo com a AMOVA, apresentaram efeito significativo ($P < 0.01$) tanto entre como dentro das três áreas avaliadas (Tabela 3). Foi observado que a maior porção da variação molecular (77,00%) ocorre entre os indivíduos dentro de cada área. No entanto, uma quantidade significativa (23,00%) também foi atribuída a diferenças entre indivíduos de áreas distintas. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira & Silva (2008), que avaliaram a diferenciação genética entre acessos de *Euterpe oleracea* Mart. da coleção da Embrapa Amazônia Oriental, provenientes de regiões geográficas diferentes, utilizando dois tipos de marcadores moleculares (RAPD e SSR). Para os dois marcadores a variação ficou retida dentro dos locais de coletas, RAPD 75,85% e SSR 69,88%. Do mesmo modo, Estevão et al. (2012), utilizando marcadores RAPD para avaliar quatro populações de *Butia purpurascens* Glassman, no cerrado brasileiro, observaram uma maior diversidade genética dentro de populações, com 64,48%, sendo de 35,52% entre as populações. Resultados similares também foram obtidos por Büttow et al. (2010), que ao caracterizarem oito populações de *B. odorata* com marcadores moleculares do tipo AFLP, verificaram que 83,68% da variabilidade genética é atribuída à variação dentro das populações e 13,67% é atribuída a diferenças entre populações dentro da mesma região.

Diferentes fatores podem influenciar o grau de diversidade genética em espécies arbóreas, bem como a biologia reprodutiva que origina os padrões de cruzamento e dispersão de genes. Estas espécies, comparadas com outras, apresentam alta variabilidade intraespecífica e, na maioria das vezes, revelam uma menor variação entre populações, principalmente em espécies alógamas, amplamente distribuídas e com sementes disseminadas por animais (HAMRICK et al., 1992), como é o caso de *B. odorata*.

Conclusões

Existe grande variabilidade genética na população de *B. odorata* avaliada. A variação molecular é maior entre os indivíduos dentro de cada área do que entre aqueles de áreas distintas. Nesta população a heterozigosidade observada é menor do que a esperada, indicando ocorrência de endogamia.

Referências

- AZEVEDO, V.C.R.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; GRATTAPAGLIA, D. Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. a heavily logged Amazonian timber species. **Journal of Heredity**, Washington, v.98, p.646-654, 2007.
- BÜTTOW, M.V.; CASTRO, C.M.; SCHWARTZ, E.; TONIETTO, A.; BARBIERI, R.L. Caracterização molecular de populações de *Butia capitata* (Arecaceae) do sul do Brasil através de marcadores AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.230-239, 2010.
- BÜTTOW, M. V.; BARBIERI, R. L.; ROSSATO, M.; Neitzke, R.S.; HEIDEN, G. Conhecimento tradicional associado ao uso de butiás (*Butia* spp., Arecaceae) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1069-1075, 2009.
- CIAMPI, A.Y., BRONDANI, R.P.V.; GRATTAPAGLIA, D. Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba) Leguminosae – Caesalpinoideae e otimização de sistemas fluorescentes de genotipagem multiloco. **Boletim de Pesquisa**. v.16 Brasília (Distrito Federal), Embrapa Cenargen. 2000.
- CHEBATAROFF, J. (). **Palmares del Uruguay**. Montevideo: Facultad de Humanidades y Ciencias, 1974. 31p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Biometria**. Editora UFV. Viçosa. 2006. 382p.
- ESTEVIÃO, C. I. M.; COSTA, D. A. M.; SALES, T. D.; GUILHERME, F. A. G.; FREITAS, D. V. de. Polimorfismo genético de *Butia purpurascens* Glassman (Arecaceae): espécie endêmica ameaçada de extinção. In 4º CONGRESSO FLORESTAL PARANAENSE, 2012, Curitiba – PR. 2012. Disponível em: <<http://malinovski.com.br/CongressoFlorestal/Trabalhos/01-Conservacao/CN-Artigo-18.pdf>> Acesso em: 10 fev. 2013.
- EXCOFFIER L; SMOUSE PE; QUATTRO JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, Austin, v. 131, p. 479-491, 1992.
- GEYMONAT, G; ROCHA, N. **M'botiá. Ecosistema único en el mundo**. Castillos: Casa Ambiental, 2009. 405p.

GLOBAL FACILITATION UNIT FOR UNDERUTILIZED Species (GFUS). Unidad de Facilitación Global para Especies Subutilizadas, IPGRI. Disponível em: <<http://www.underutilizedspecies.org/documents/PUBLICATIONS/gfuspanish.pdf>>. Acesso em 10 de Mar. de 2013.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W.; SHERMANBROYLES, S.L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests**, Dordrecht, v.6, n.1-4. p.95-124, 1992.

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

MATOS, D.M.S., WATKINSON, A.R. The fecundity, seed, seedling ecology of edible palm *Euterpe edulis* in southeastern Brazil. *Biotropica*. Saint Louis, v.30, n.4, p.595–603, 1999.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Disponível em:

< <http://www.mma.gov.br/biomas/pampa>>. Acesso em 09 de Mar. de 2013.

NAZARENO, A.G.; ZUCCHI, M.I.; REIS, M.S. Microsatellite markers for *Butia eriospatha* (Araceae), a vulnerable palm species from the Atlantic Rainforest of Brazil. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v.98, n.7, p.198-200, 2011.

OLIVEIRA, M.S.P.; SILVA, K. J.D. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p. 438-443, 2008. Disponível em:

< <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v30n2/a29v30n2.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2013.

PADULOSI, S; HOESCHLE-ZELEDON, I. 2004. Underutilized plant species: what are they? **LEISA Magazine**, 20(1), march. Disponível em:

<<http://www.agriculturesnetwork.org/magazines/global/valuing-crop-diversity/underutilized-plant-species-what-are-they>> Acesso em 10 de mai. 2013.

PADULOSI, S., N. BERGAMINI and T. LAWRENCE, editors. 2012. On farm conservation of neglected and underutilized species: status, trends and novel approaches to cope with climate change: Proceedings of an International Conference, Frankfurt, 14-16 June, 2011. Bioversity International, Rome.

PERRIER, X.; JACQUEMOUD-COLLET, J.P. DARwin software. Disponível em: <<http://darwin.cirad.fr/darwin>>. 2006.

- REIS, M.S.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Management of natural populations and maintenance of genetic diversity of *Euterpe edulis*, the heart-of-palm tree. In: BRUNS, S.; MANTELL, S.; TRAGARDH, C.; VIANA, A. M. editors. Recent Advances in Biotechnology for Tree Conservation and Management. Stockholm (Sweden): International Foundation for Science, 1997. p. 145–156.
- ROGERS, J. S. **Measures of genetic similarity and genetic distance**. Austin: University of Texas Publication, 1972. (Studies in genetics, 7).
- ROHLF, J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. New York: Exeter, 2001. Software.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J.; The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Austria, 11: 33-40, 1962.
- SOUZA, P.C.A. de. Aspectos ecológicos e genéticos de uma população natural de *Euterpe oleracea* Mart. no estuário amazônico. 2002. 60 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Univesidade de São Paulo, 2002.
- TEULAT, B.; ALDAM, C.; TREHIN, R.; LEBRUN, P.; BARKER, J.H.A.; ARNOLD, G.M.; KARP, A.; BAUDOUIN, L.; ROGNON, F. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsaellites (SSRs) and AFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p. 764–771. 2000.
- TropGENE Coconut Database. Disponível em:
< <http://tropgenedb.cirad.fr/en/coconut.html> > Acesso em: 4 fev. 2010.
- XIE, W.G.; ZHANG, X.Q.; CAI, H.W.; LIU, W.; PENG, Y. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylus glomerata* L.), **Biochemical Systematics and Ecology**, New York, v.38, p.740-749, 2010.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis**: methods for discretetion genetic data. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 377 p.
- WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**: variability within and among natural populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978. v. 4.

Tabela 1 - Conjuntos de vinte *loci* SSR, *motif*, alelos mais frequentes (pb), amplitude alélica observada (pb), frequência alélica (três áreas), temperatura de anelamento (°C) com base na caracterização de 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick considerando as três áreas avaliadas. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.

<i>Locus</i>	<i>Motif</i>	Alelo mais frequente (pb)	Amplitude alélica observada (pb)	Frequências alélicas (três áreas)	Ta(°C)
CNZ01	(CT) ₁₅ (CA) ₉	95	85 - 136	0,005 - 0,4208	54
CNZ04	(CT) ₂₉ TT(CA) ₁₀	185	175 - 225	0,010 - 0,495	54
CNZ05	(CT) ₁₇ (GT) ₇	210	170 - 230	0,0001 - 0,6139	54
CNZ09	(CT) ₁₃ (CA) ₆ (CT) ₁₉ (CA) ₈	122	80 - 126	0,0001 - 0,9307	54
CNZ10	(CT) ₁₈ (GT) ₁₇	215	195 - 265	0,0001 - 0,3564	54
CNZ12	(CT) ₁₅	293	202 - 300	0,0001 - 0,6733	53
CNZ16	(GTT) ₆ (GCT) ₂ (CTT) ₈ TTTGTGC(GT) ₈ CT(GT) ₇ CT(GT) ₆	168	146 - 182	0,0001 - 0,4851	55
CNZ17	(CA) ₁₂ (GA) ₁₁	55	50 - 122	0,0001 - 0,8119	55
CNZ23	(GA) ₁₈	142	130 - 164	0,0009 - 0,7723	53
CNZ29	(GT) ₂₂ (GA) ₂ CA(GA) ₁₁	120	115-147	0,004 - 0,4752	55
CNZ42	(CT) ₁₆	168	145 - 182	0,001 - 0,4752	52
CNZ43	(GA) ₂₁	247	220 - 284	0,0001 - 0,7327	53
CNZ44	(GA) ₁₅	149	135 - 164	0,0001 - 0,5941	54
CNZ46	(CT) ₂₄	95	90 - 115	0,0006 - 0,6881	52
CN2A4	(CT) ₁₅ TT(CT) ₃	170	140 - 200	0,0001 - 0,6337	53
CnCir194	NP*	415	379 - 427	0,0004 - 0,5248	52
CnCir219	NP*	235	216 - 247	0,0004 - 0,6337	60
CnCirE10	(CA) ₈ (GA) ₁₁	235	198 - 240	0,0001 - 0,3614	52
CnCirF2	(TG) ₁₁ (AG) ₁₂	220	178 - 234	0,0001 - 0,7723	60
CnCir E11	NP*	218	202 - 260	0,0004 - 0,6634	60

pb = pares de base, Ta(°C) = temperatura de anelamento, *NP= não publicado

Tabela 2 - Diversidade genética estimada para 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick, em três áreas amostrais (A₁, A₂ e A₃) com vinte *loci* de marcadores microssatélites. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.

<i>Locus</i>	Nº de Alelos			PIC			F			Ho			He		
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃
CNZ01	6	6	6	0,57	0,59	0,77	-0,56	-0,51	-0,23	1,0	1,0	0,99	0,63	0,66	0,80
CNZ04	5	5	5	0,67	0,64	0,67	0,72	0,36	0,07	0,19	0,43	0,65	0,72	0,68	0,70
CNZ05	6	4	6	0,80	0,52	0,61	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,82	0,56	0,65
CNZ09	2	3	4	0,12	0,42	0,47	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,12	0,52	0,51
CNZ10	5	7	6	0,68	0,80	0,73	0,04	0,36	0,83	0,70	0,52	0,12	0,73	0,82	0,77
CNZ12	3	5	4	0,45	0,45	0,58	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,51	0,49	0,63
CNZ16	4	6	4	0,62	0,64	0,64	1,0	0,92	1,0	0,0	0,04	0,0	0,67	0,68	0,70
CNZ17	5	3	4	0,67	0,36	0,67	0,80	1,0	1,0	0,13	0,0	0,0	0,71	0,42	0,72
CNZ23	5	4	3	0,61	0,60	0,29	0,90	-0,05	0,41	0,05	0,71	0,18	0,65	0,67	0,32
CNZ29	4	3	3	0,67	0,32	0,36	0,67	1,0	1,0	0,23	0,0	0,0	0,72	0,36	0,45
CNZ42	5	5	5	0,68	0,76	0,60	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,73	0,79	0,66
CNZ43	6	7	4	0,75	0,74	0,37	0,64	0,94	1,0	0,27	0,03	0,0	0,78	0,77	0,42
CNZ44	3	4	4	0,75	0,55	0,49	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,57	0,61	0,56
CNZ46	4	5	5	0,48	0,44	0,62	0,54	0,48	0,53	0,23	0,24	0,31	0,52	0,48	0,68
CN2A4	5	4	3	0,70	0,70	0,45	0,49	0,32	0,58	0,37	0,50	0,21	0,74	0,74	0,51
CnCir194	6	6	6	0,67	0,69	0,61	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,71	0,73	0,65
CnCir219	7	4	5	0,77	0,49	0,71	0,05	0,94	0,26	0,76	0,02	0,55	0,80	0,54	0,75
CnCirE10	6	7	6	0,75	0,73	0,73	0,79	0,45	0,31	0,15	0,41	0,52	0,78	0,76	0,77
CnCirF2	4	3	4	0,36	0,58	0,57	1,0	1,0	0,79	0,0	0,0	0,12	0,38	0,66	0,63
CnCir E11	4	3	3	0,67	0,37	0,31	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,72	0,45	0,33
MÉDIA	4,75	4,70	4,50	0,61	0,57	0,56	0,68	0,68	0,69	0,20	0,19	0,18	0,65	0,62	0,61

Nº de Alelos – número de alelos, PIC - conteúdo de informação do polimorfismo, F- coeficiente de endogamia, Ho - heterozigosidade observada, He - heterozigosidade esperada.

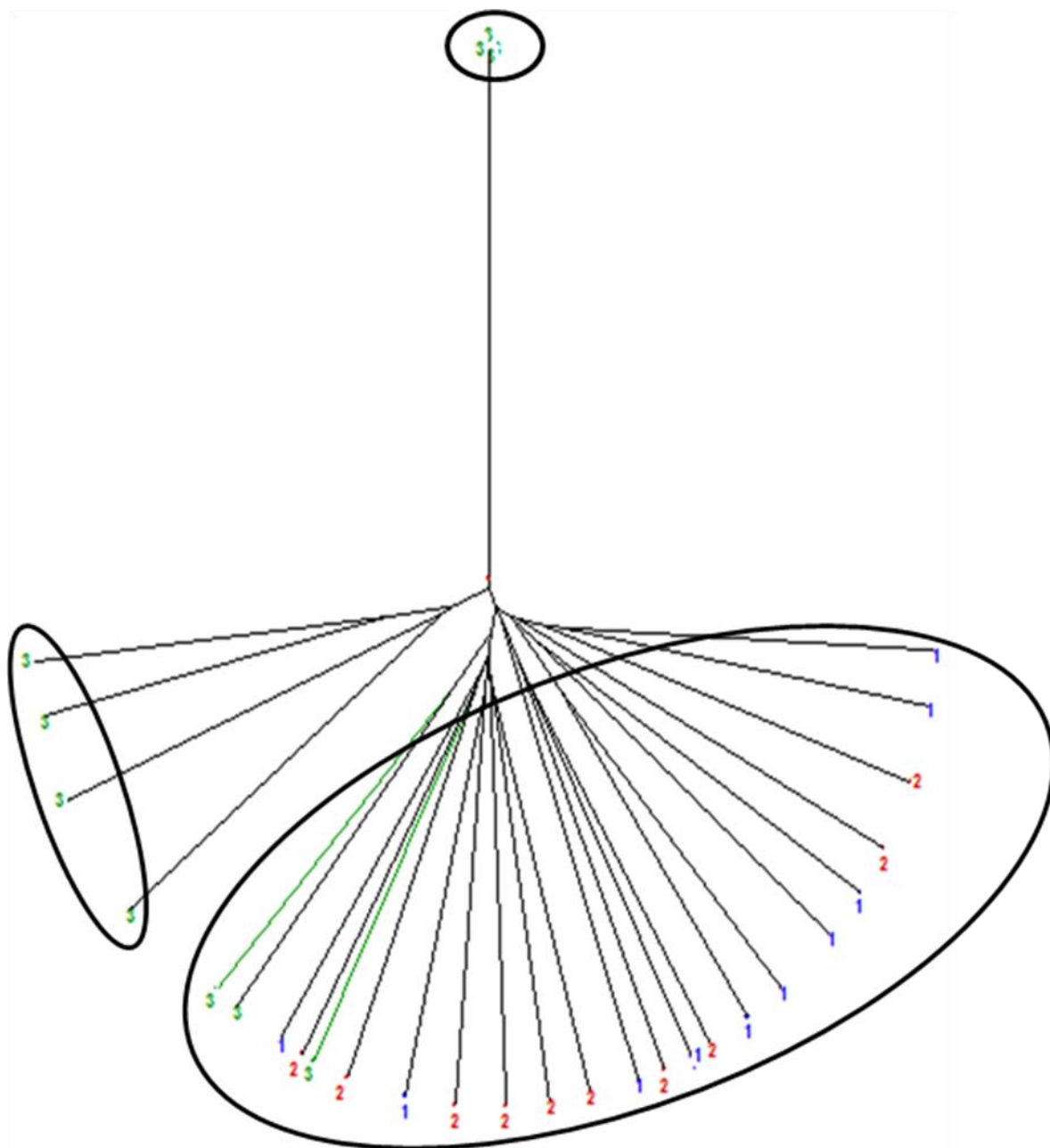


Figura 1 – Dendrograma de 303 indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick amostrados em três áreas distintas (1 = indivíduos da área 1; 2 = indivíduos da área 2 e 3 = indivíduos da área 3), construído com base no método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância genética de Rogers modificada. Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.



Figura 2- Fezes de graxaim com sementes de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick (à direita, foto: Claudete Clarice Mistura), uma evidência de fluxo gênico realizado por este animal da fauna nativa (à esquerda, foto: Marco Castro). Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.

Tabela 3 - Distribuição da variabilidade genética de indivíduos de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick entre indivíduos de áreas distintas e entre indivíduos dentro de uma mesma área, com base na análise molecular da variância (AMOVA). Pelotas RS, Embrapa Clima Temperado, 2013.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Componente da variância	Porcentagem da variação total
Entre indivíduos de áreas distintas	2	886,45	443,22	4,24	23,00%**
Entre indivíduos dentro de uma mesma área	300	4265,26	14,21	14,21	77,00%**
Total	302	5151,72	17,05	18,46	100

**Valores significativos ao nível de 1% de probabilidade; GL= grau de liberdade; SQ=soma de quadrados; QM= quadrado médio.

4 Artigo 3 – Segundo as normas da revista Genetic Resources and Crop Evolution

Descriptors for conservation and use of *Butia odorata*

INTRODUCTION

This paper describes the diversity of natural populations of the pindo palm, *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick, in the Pampa Biome of Brazil using scientific and farmer knowledge documentation methods. This species is largely neglected by research and development and both its genetic diversity and associated knowledge are under severe erosion. The work aims to promote promoting the conservation-through-use of these palms as high quality food source and alternative income opportunity to farmers. Reflections on the great biodiversity present in the Brazilian Pampa where *Butia odorata* populations are still to be found are also provided.

Butia and its uses

The horticulture sector is in a continuous growth across all the regions of the world (ISHS 2012). Increasing demand for new aromas, flavours and textures especially in fruits is recorded in both developed and developing economies (USAID 2005). In terms of production, the fruit sector in Brazil is among the leading at the global level, producing 29 million tonnes in 2009 (FAOSTAT 2009) and in such a context, the country with its unique biodiversity, has enormous potentials for further growth (Schwartz et al. 2010).

Among the Brazilian fruit genetic resources that can support the expansion of Brazil's fruit market potentials, *Butia odorata*, the pindo palm, native of southern Brazil and Uruguay, deserves to be particularly highlighted. Its fruit, known as "butiá", is a drupe with fleshy and fibrous mesocarp, hard and dense endocarp, containing one to three seeds and showing three germination pores (Chebataroff, 1974; Lorenzi *et al.*, 1996). It is appreciated for fresh consumption and used as an ingredient in the preparation of sweets and drinks. The use of pindo palm fruits as food dates back to the earliest inhabitants of southern Brazil who consumed both the fresh fruit pulp and the seeds. The leaves of the palm, made of strong fibres, have been used for filling mattresses and upholstery, hand manufacture of baskets, hats, bags, nets, and traps for hunting animals or nets for fishing purposes. After drying, the leaves were used as cover huts (Provides, 1995; Rossato, 2007; Lorenzi *et al.*, 2010).

Nomadic Indians, who inhabited during the summer the Regions of Misiones and Central Plateau of Rio Grande do Sul state in Brazil, during winter are reported to have been carrying fruits of *Butia* as food with them in their travels to Paraná. As they were eating the fruits, seeds were discarded along the way, and since the route was used so frequently by Indians this habit resulted into the establishment of many populations of *Butia*, randomly originating from this process, which formed eventually the so called "path of butiás" (Azambuja, 2001).

At the beginning of the 20th century, plant leaves were used in the production of vegetable hair, a type of fibre that was used in the filling of mattresses and stuffed furniture. This material was produced in places where there were large *Butia* populations, such as the municipalities of Tapes, Quaraí, Barra do Ribeiro and Santa Vitória do Palmar in southern Brazil. The peak production of vegetable hair from butiá occurred in 1953 where production was sold successfully throughout the country. The activity employed large amount of hand labour, and went into decline with the advent of the petrochemical industry in the mid 1960s (Bondar, 1964).

It is only recently that the scientific community has been directing some attention on the rescuing of the popular knowledge related to butiá in southern Brazil, gathering data on the

various uses of the plant, as well as its origin, history, cultivation and plant management (Rossato *et al.* 2007; Büttow *et al.* 2009). These studies showed that the interaction of people with the diversity of butiá and its uses was established since childhood. These findings were further confirmed during recent visit to local communities in southern Brazil by some of the authors of this paper, who observed that the relationship of affection and respect for this plant is important still today, albeit under risk of being lost due to changes affecting traditional food culture and knowledge transfer from older to younger generations.

Both Rossato and Büttow' investigations, carried out in 2007 and 2009 respectively, recorded the use of butiá for the production of various types of food and beverages (fruit jellies, ice creams, chocolates, mousses, juices and liqueurs) and handicrafts (recycled paper made out of the pulp of the fruit, domestic tools made with the leaves and other parts of the plant). But besides the direct utilization of the plant, respondents provided also very interesting accounts on cultivation management practices, such as germination, pruning, transplanting and other traditional methods deployed by farmers to increase fruit yield of the plant. The production of juices and liquors from the butiá pulp is an alternative source of income in some places that can be expanded with the development of new products from the fruits, almonds and fibres of the palm leaves. The plants are also used in rural and urban landscaping. Furthermore, the production of good quality oils from its seeds, -used in different industry sectors, such as food, pharmaceutical or cosmetic-, shows just other quite attractive income generating opportunity regarding this multi-purpose indigenous plant (Rossato, 2007).

Research carried out by Faria *et al* (2008) on nutritional properties of *Butia* reports the presence of nutraceutical and pro-health compounds (Table 1) which add to the other medicinal and cosmetic properties of this plant. In a recent study the stability of bioactive compounds and antioxidant activity of *Butia*, high levels of minerals in the fruit, especially iron, manganese and potassium have been reported along with a confirmation of bioactive compounds, such as high concentrations of total phenolics, vitamin C and carotenoids (Fonseca 2012).

Table 1. Nutritional properties of butiá (*Butia capitata*)³ [100g pulp]

Protein (%)	0.3
Ether Extract (%)	2.6
Fibres (%)	10.1
Carbohydrate (%)	10.8
Phosphorus (mg)	19.9
Calcium (mg)	16.8
Potassium (mg)	462.4
Magnesium (mg)	12.5
Sulphur (mg)	7.3

This article provides latest data on the conservation status of butiá in southern Brazil along with a methodological approach for documenting its genetic diversity using both scientific and traditional farmer-based descriptors. The paper is an attempt to promote the development of new approaches in documenting crop genetic resources using a blend of these two sources of

³ Source: Faria *et al.*, 2008

knowledge, seen too often in opposition to one another. Standard descriptor lists developed by *ex situ* conservationists (such as those produced by Bioversity International) are widely used by breeders but rarely reach out to farmers and other user groups, a fact that limits the full use of germplasm collections around the world (FAO 1996). On the other end, farmer-based descriptors which are expression of deep knowledge of perception of diversity and its deployment by traditional communities are scarcely considered by breeders who develop varieties based on criteria too often far from the needs of final users. In this paper we support the idea that a blend of these two methods would be highly strategic to promote an effective *in situ* conservation through-use approach. This is very much the case especially for neglected and underutilized species (NUS) which butiá is a typical representative. Challenges and opportunities in pursuing such a goal are provided along with specific suggestions on how to promote the pursuing of such an approach by national plant genetic resources (PGR) programs.

Materials and Methods

Plant genetic resources can be conserved through a portfolio of methods which are grouped under two main domains, *ex situ* and *in situ* conservation (Gepts 2006). Within the *in situ* domain, distinction is made between those methods that conserve species in their natural environment (e.g. wild species in national parks) and those that conserve species in the place they are being cultivated (the so called *in situ/on farm* conservation or simply on farm conservation). *Ex situ* and *in situ* methods need to be seen highly complementary to one another because they both have advantages and disadvantages related to the biology of the species (some species have recalcitrant seeds and cannot be maintained in cold conservation room of *ex situ* genebanks), access to material (*ex situ* collections provide far greater access to genetic diversity than on farm), safety aspects (*ex situ* collections can be safely maintained and safeguarded by biotic and abiotic attacks that may affect material maintained in the farms) or evolutionary considerations (highly dynamic conservation *in situ* versus static conservation in *ex situ*) (Dulloo *et al.* 2010; Padulosi *et al.* 2012). Since its onset, the so called ‘PGR Conservation Movement’ has been focusing on *ex situ* conservation, paying much less attention to *in situ/on farm* conservation (Pistorius 1997; FAO 1996, 2010).

In reality, over the last 5 to 10 years, greater awareness on the need to focus more attention on *in situ/on farm* conservation has been emerging in view of the realization that by and large agricultural biodiversity is maintained not in *ex situ* genebanks but in the field by farming communities (Padulosi *et al.* 2002 and Padulosi and Dulloo 2012). This awareness building is supported also by considerations regarding climate change and the need to allow conservation methods that favour a more dynamic adaptation process of plant genetic resources to changing environments. Other element of the critique to *ex situ* genebanks is related to their poor linkages with the user communities which is fundamental if we are to promote effectively the use of material conserved in those collections and contribute to livelihood improvement through agrobiodiversity (FAO 2010).

The *Butia* genus comprises 18 species distributed across several South American countries: populations can be found over a wide area of Brazil, Uruguay, Paraguay and Argentina (Marcato 2004; Lorenzi *et al.* 2010). Eight species are reported from southern Brazil (*Butia odorata*, *B. eriospatha*, *B. paraguayensis*, *B. yatay*, *B. lallemantii*, *B. microspadix*, *B. catarinensis* and *Butia witeckii*). One species, *B. odorata* occurs specifically in the grasslands of southern Brazil (within the State of Rio Grande do Sul) and Uruguay. Today the natural distribution of *Butia odorata* is estimated to occur over 70,000 hectares in Uruguay, but there is no good estimative about the

remaining area with its natural populations in southern Brazil. Its current conservation is carried out mainly through the conservation of its natural populations in private land and livestock farms.

With regard to its formal government-led conservation, four genebanks are involved in the conservation of *B. odorata* germplasm in Brazil. Three are concerned with *ex situ* conservation, and one with *in situ*. The one being addressed in this study was established to specifically safeguard the natural populations of *Butia odorata* species. This was established in 2010 and occupies an area of 750 ha in a private property in the area of Tapes, Rio Grande do Sul. The flora of the area is composed predominantly by *B. odorata* and native species of grasses, leguminous and other taxa typically found to occur in the pampas ecosystem. Most of *B. odorata* plants found here have an estimated age of at least 150 years. There are few young individuals, since the area is occupied by cattle, and the young plants are much affected by the grazing and trampling by the animals. The only young individuals who can develop and reach reproductive age are those born in the midst of massive cacti populations or protected by other palms.

In view of the lack of data available on the genetic diversity of *Butia*, Embrapa decided to carry out a study to document its agro-morphological diversity in this *in situ* genebank that had been just established. The data collection was conducted in three distinct areas (A1, A2 and A3), approximately 1 km distant from each other, within the same population, composed by nearly 70,000 adult plants. 101 individual plants were evaluated in each of these areas for a total of 303 individuals. The geographical coordinates of the three surveyed areas are: A1: 51°21'35.23"W and 30°31'22.34"S; A2: 51°21'47.61"W and 30°31'46.11"S; and A3: 51°22'6.35"W and 30°32'43.79"S. For carrying out this agro-morphological evaluation, researchers have chosen 11 traits on the basis of their great variation observed as well as for their easy visual observation and are shown in Table 2.

Table 2. Characteristics selected by the scientist to evaluate *Butia odorata*.

1. Leaf habit
2. Stem circumference
3. Leaf colour
4. Inflorescence colour
5. Number of bunches per plant
6. Fruit mature colour
7. Fruit shape
8. Presence of fibre in the fruit pulp
9. Fruit diameter
10. Flowering time
11. Fruiting time

Adult plants were randomly selected for the data gathering. After their marking a number of basic data were gathered such as circumference of stem measured at breast height (1.5 m), growth habit and leaf colour. Later, when the flowering started (inflorescence spathe becoming visible), evaluation on inflorescence traits were carried out every 15 days. During fruiting period these evaluations were carried out weekly so as to better monitor the ripening of fruits. To assess height and circumference of the fruit, 20 ripe fruits were collected from each plant, the measurements

were taken with a digital calliper, then the averages were calculated. All these agro-morphological assessments started in June 2010 and continued until August 2012.

Development of descriptor lists blending *ex situ* with *in situ* approaches

The concept of crop descriptors has evolved over the years in response to changes in users' needs. Initially, descriptor lists (DLs) provided a minimum set of characteristics to describe particular crops (e.g. cultivated potato, 1977). This left many known characteristics without an internationally acknowledged standard description. The idea of minimum lists was revisited in 1990 and a new approach was developed in order to produce comprehensive DLs, which included all characterization and evaluation descriptors (e.g. sweet potato, 1991). These early lists proved to be very extensive and time consuming for workers besides failing to provide internationally acknowledged standard descriptions for many known characteristics. The DL format was further revised in 1994 in order to provide users with an extensive set of characteristics which included a minimum set of highly discriminating descriptors to describe particular crops and allow breeders to use comparable data (e.g. Descriptors for barley, 1994). Since 1995, DLs incorporate also additional standardized sections—including *in vitro* conservation, cryopreservation, soil and environment—which are common across different crops and provide a range of options tailored to users' needs).

It was only in 1999 that descriptors to document in standardized fashion ethno-botanical information were included in DLs (e.g. Descriptors for taro, 1999). Such a move opened up new opportunities to better capture the use dimension of plant genetic resources, reasons behind people's appreciation, how they are being used and celebrated in everyday's life. Following this trend and as a further step to combine a documentation system traditionally used in controlled environments (gene banks, crop improvement institutes) with an approach that involves people and their knowledge 'in the field', Bioversity and The Christiansen Fund developed the Descriptors for farmers' knowledge about people and plants (2010).

These descriptors represented an important tool for guiding experts in moving towards an integrated concept of classical biology-based descriptors prepared by scientists with those based on traditional knowledge and hence geared more towards direct use by people.

Following is a list of both *ex situ* and *in situ* descriptors developed for *Butia*, followed by farmers' knowledge regarding best practices.

***Ex situ* descriptors**

The scientific standards developed by Bioversity International (formerly IPGRI) for the production of Descriptor Lists have been published since 1976. They provide the plant genetic resources community with internationally recognized guidelines for the standardized description of different crops. The purpose of this standardization is to enhance the information exchange among germplasm users, increase the efficiency of communication among them through a better management of these resources, which in turn, will increase the use of plant genetic resources.

Descriptors contribute to increasing knowledge and facilitate research on crops that have received limited attention by the research community, but which are often favoured by poor people. They have been published for more than 100 crops in different languages over the years. Descriptors Series includes more than 40 neglected and underutilized species in addition to CGIAR mandate crops as well as Annex I crops (see Annex 1). This series of

descriptor lists has had a major impact in the global plant genetic resources community and in the management of plant genetic resources, and constitute the basis for regional and global standardized information systems as provides an internationally agreed format and universally understood ‘language’ for plant genetic resources data. Evidence of this impact has been the development of the GENESYS Global Portal and the European Catalogue of accessions (EURISCO).

Each conventional Descriptor List includes characteristics relevant to target crop, with indication of highly discriminating characteristics along with standardized sections to describe site and environment where the crop is grown out for the characterization and management practices. They also include collecting forms and colour charts whenever this is relevant. Information contained in the DLs is classified into five main categories to facilitate the maintenance, retrieval and updating of passport, management, environment and site, characterization and evaluation information (e.g. Descriptors for Cherimoya, 2008).

Table 3. Descriptores for *Butia odorata* resulting from literature research and consultation with additional experts and farmers.

1	Stem circumference at 1.3 m height [cm]
*2	Crown growth habit
*3	Leaflet colour
*4	Colour of male flowers
*5	Colour of rachillae
6	Bunch habit
**7	Number of bunches
8	Bunch length [cm]
9	Bunch weight [g]
*10	Average weight of 20 mature fruits [g]
11	Average weight of fruit endocarp [g]
12	Fruit number per bunch
**13	Fruit maximum diameter (mm)
**14	Fruit length [mm]
15	Fruit diaspore diameter
*16	Fruit shape
**17	Fibres in the fruit pulp (texture)
*18	Average weight of 20 seeds [g]
19.1	Start of the period of fruit ripening [YYYYMMDD]
19.2	End of the period of fruit ripening [YYYYMMDD]
**20	Fruit mature colour

*Scientists’ highly discriminating descriptors are indicated by an asterisk

** Farmers’ and scientists (both) highly discriminating descriptors are indicated by two asterisks

During the field characterization of butiá palms, 11 characteristics were assessed and harmonized with Bioversity International format and terminology (see Table 2). Subsequently, literature research was carried out to compare those traits with published Descriptors that have been used in the past for similar species and validity of selected traits was then confirmed through consultation with a pool of experts who validated the 11 characteristics and added additional ones important for utilization. See Table 3 below.

In situ/on farm descriptors

During the study, Embrapa staff discussed with farmers which were in their opinion those traits that were perceived as most useful to capture *Butia* diversity. A key fact emerging from these discussions was that for farmers, the fruit is central in describing the variability encountered in *Butia*. Colour and size attributes in fruits are widely used by farmers to discriminate *Butia* trees along with number of bunches, and so are also their flavour and texture. With regard to fruit colour, farmers have identified the following: yellow, orange and purple. This last one is named ‘red’ by farmers. Almost all farmers prefer yellow fruits because of attractiveness of this colour. However, fruit colour is not directly related to characteristics such as texture, taste nor size. In this regard farmers prefer bigger fruits than small ones. In regards of fruit texture, they prefer fruits with few or no fibres in the pulp, but it is unlikely to find fruits without fibres and sweet (see Table 4). Besides these characteristics, other traits such as general appearance of the plant, yield, and resistance to biotic and abiotic stresses are also important for farmers.

Table 4. Discriminating characteristics for *Butia odorata* selected by farmers

1	Number of bunches
2	Fruit size (diameter and length)
3	Fibres in the fruit pulp (texture)
4	Fruit mature colour ‡
5	Fruit flavour

However, the successful use of *Butia* depends ultimately also on the adoption of suitable practices that maintain the capacity to produce year after year sustainable yields. Table 5 lists indications made by farmers on best management practices for *Butia capitata* in the Brazilian Cerrado, Center-West of Brazil, as defined by Lima et al (2010).

Results and discussion

The 303 palms of *butiá* were successfully characterized in the target area of 750 ha during two consecutive years. The results of these assessments indicate that eleven characteristics are useful for discriminating amongst individuals. Traits such as fruit colour and size were found to be most discriminatory by both Embrapa experts and farmers.

Regarding results obtained through the characterization made by scientists, leaf growth habit show that in the three areas evaluated most plants assessed have leaves with intermediate state (A1 - 88.11%, A2 - 99.01% and A3 - 96.04%), followed by erect habit (A1 - 2.97%, A2 - 0.99% and A3 - 3.96%). The prostrate habit was shown by a few individuals (A1 - 8.92%, A2 and A3 - 0%), but it is a striking feature in the landscape.

Stem diameter measured at 1.5 m from ground level presented between 99.8 cm and 107.5 cm. These data are in accordance with the characteristics of the species, reported as being below to 150 cm (Geymonat and Rocha, 2009; Lorenzi et al., 2010). Rossato (2007), evaluating the reproductive potential after morphological characterization of five different species of *Butia* in Rio Grande do Sul state, had an average of 146 cm for this feature and suggests that stem diameter at breast height is a distinct character in all species.

Leaf colour variation was also observed across the surveyed sites. Most individuals presented in A1 had predominantly gray leaves (90.10%); in A2 there was almost a balance between gray (56.44%) and light green (42.57%), and in A3 all the plants were characterized by gray leaves (100%). This is consistent with the findings of Geymonat and Rocha (2009), who indicated that greyish leaves are typical feature of this species.

Table 5. Best management practices for *Butia capitata* as indicated by farmers in the Brazilian Cerrado, Center-West of Brazil

Recommended Practice	Explanation
1. Remove dry leaves from the plant and clear the vegetation around the palm	Practice recommended because it facilitates the collection of fruit bunches, growth of new seedlings and reduction of competition with other plants. According to farmers such a practice increases also the production of fruits in the following harvest.
2. Monitor cattle in sites where fruit is being produced	The monitoring of cattle reduces the negative impact on the development of seedlings as well as prevents the eating of flowers and fruits by them.
3. Collect the whole bunch, when most of the fruits are ripe	Practice that reduces losses during fruit collection operations.
4. Do not collect all bunches of all plants	Practice that supports the regeneration of the species and provides supply of fruits to wild fauna.
5. When collecting the bunch, do not hurt the plant	According to farmers, injuries to the plant may compromise next harvests.
6. Separate the good fruits from those damaged	Damaged fruits must be separated from the others so that no contamination occurs among them.
7. Use damaged fruit to regenerate the palm	Damaged fruits are recommended by farmers to be used in the production of seedlings for increasing the populations of <i>Butia</i> .

Inflorescence colour did not show great variability in the three sites, the predominant colour was yellow, followed by pink and purple, with a few individuals showing orange. This specific characteristic of *Butia* was not found in literature. According to Lorenzi et al. (2010), the inflorescence colour in *B. catarinensis* can be yellow, purple, yellow pigmented with purple, or entirely purple.

The average production on the number of bunches ranged from 1.85 to 3.3 clusters per plant, and varying from zero to seven clusters per plant. During the 2010/2011 season, population of site 3 was more productive than the other two, with the highest average of bunches produced (3.3 clusters per plant). In the following season (2011/2012), the production of clusters decreased in the three areas (average of 2.2 clusters per plant), and this may be associated with drought that happened in early 2012 in the region. Schwartz et al. (2010) reported that populations of *Butia* in Santa Vitória do Palmar (Rio Grande do Sul) obtained an average of 5.67 and 2.85 clusters per plant per season, during two subsequent seasons. Rosa et al. (1998) also observed in two different seasons a yield of 2.24 and 3.08 bunches. Of particular note is the advanced age of the individuals characterized (>150 years).

Colour of mature fruits showed variation from yellow to orange-red, some fruits in bright red and others greenish. The predominant fruit mature colour in all areas was yellow, followed by orange and reddish-orange. In work done in the palm of Castillos, Uruguay, freshly fallen fruits were classified in three groups: yellow fruit with yellow flesh, orange fruit with yellow flesh and red fruits with orange pulp (PROBIDES, 2001). Other phenotypic studies on characteristics of two *Butia odorata* populations in Uruguay [Rivas (2005) and Rivas and Barilani (2004)], found that there are high levels of differences between and within populations. Fruit colour showed no significant differences between populations regarding distribution of frequencies. Thus, they were classified into six classes: from pale yellow to dark red.

Fruit shape was mostly depressed-globose, and few ovoid and oblong shapes. Research on the biology and ecology of *Butia* held in Wetland Biosphere Reserve East, Uruguay (PROBIDES, 2001), reported that fruits showed ovoid-subglobose shapes, slightly compressed at the insertion point; regarding fruit colours, the apex and base showed lighter colour in some fruits. Many of the fruits showed small amount of fibre, some showed much of it, but there were no fruits without it. According to De Paula et al. (2006), genetic variation in *Butia capitata* was also found in the Brazilian Cerrado (Minas Gerais) identifying two major variations in *Butia capitata*, one displaying fruit rounded, smooth and with sweet pulp, and another with elongated fruit, bark wrinkled and sour pulp.

Variation was also observed on fruit size in all sites, with an average of 17.89 mm in length and 26.84 mm in circumference. Larger fruit sizes were found in area 3. The smallest size was found in areas 1 and 2, with no significant difference between these averages. Schwartz (2008) studied three populations of *Butia* from Santa Vitória do Palmar (southern Brazil), reporting an average of 27 mm of diameter. Nunes et al. (2010), reported fruit diameter average of 25.42 mm, which are similar to those presented in this work.

Büttow *et al.* (2009) reported that in an ethnobotanical survey conducted in southern Brazil, farmers recognize great variability in butiá fruits regarding size, taste, colour, dehiscence and acidity.

Flowering and fruiting patterns were similar in the two reproductive cycles observed. Flowering begins in late winter, with a peak in late spring and early summer. This behaviour is similar to those plants occurring in dunes of southern and south-eastern Brazilian coast, where the peak of flowering occurs in spring and summer (Hueck, 1955; Pereira *et al.*, 1992). According to Cordazzo & Seeliger (1988), the greatest flowering in spring and summer is usually related to conditions of higher temperature and longest photoperiod. However, biological factors can favour a greater blooming on synchronized activity with pollinators.

Regarding results obtained related to descriptors, a further comparison was made amongst the selected characteristics identified in Rio Grande do Sul state and the traits resulting from the literature review. The result was further compared and analyzed with those traits important for farmers (Table 3).

The active participation of farmers in data gathering was an important strategy adopted in the study. During this process, farmers were stimulated in offering their views regarding plant diversity and ways to detect it most effectively. It was significant that only five morphological characteristics, mature fruit colour, fruit size, number of bunches per plant, fibers in the pulp and fruit flavour, are used by farmers to distinguish butiá plants. This is quite amazing if we reflect that more than nine traits are instead used by researchers as minimum discriminating traits. This indicates that *Butia* farmers seem to have simpler and more rapid ways to differentiate diversity than scientists for their use-oriented purposes. Seen from the farmers' perspective, descriptors are in fact important tools to manage crop diversity to meet every day needs but in order to be efficient these descriptors have to be simple and at the reach of all the members of the community. From an anthropological point of view, it is interesting to also note that since describing crop diversity is embedded deeply in the rural culture and because of the predominant oral transmission of knowledge among farmers/across generations, farmers' descriptors can represent also an important instrument to keep alive local cultures under risk of being lost.

According to UNESCO⁴, if nothing is done, half of the 6000 plus languages spoken today will disappear by the end of this century (Moseley, 2010) and along with them also a unique richness in knowledge accumulated by farmers in recognizing, appreciating, cultivating, using and celebrating agrobiodiversity will be lost. To this end, the work done by Mr Slimane Bekkay,

⁴ <http://www.unesco.org/new/en/culture/themes/endangered-languages>

date palm champion custodian farmer⁵ from the oasis of Ghardaia, Algeria, is very illuminating. Mr Bekkay after participating with several scientists and other farmers from north Africa in the development of a standard descriptors list for Date Palm, volunteered to develop a separate descriptor list booklet based on farmers' knowledge so as to document the precious wisdom on how to describe date palm diversity in his own culture that he has received from his forefathers and wishing to pass onto the next generations. Conscious of the dramatic reduction in the rate of knowledge transmission to younger generations, Mr Bekkay wanted to contribute to keep alive such a knowledge and in doing so help promoting a more efficient use of date palm diversity in his country.

Based on these reflections, we should build upon tools such as DLs which are meant to support the use enhancement of agrobiodiversity by primary users, to make them real instruments of local development. Today, we believe this is not the case as DLs are used almost exclusively by genebank managers in characterizing ex situ germplasm collections and data generated from these characterizations very rarely reach out farmers. The need to build upon successful experience on ex situ descriptors into more user-friendly manuals is thus very much needed. The change of paradigm is also necessary if we reflect on the work done by community genebanks aimed at promoting greater use of crops by farmers. This is the case for instance of the community seed bank on Kachorwa, Nepal, which is using farmers' descriptors in PVS activities with local farmers meant to select varieties more resilient to climate change³.

In such a discourse aiming at refining tools to describe crop diversity for *effective* use, it is also important to spend a word on the intimate relationship that exists between farmers and the surrounding environment they work within. Every farmer is linked through tight bonds with their agroecosystems and the social system and their view of reality results out of this relationship and is by nature most diverse. Defining descriptors that would cater for such a diversity of visions is thus a challenge that needs to be also properly addressed. Along the same lines is the well studied diversity in the perceptions of the importance of biodiversity conserving across different cultures or socioeconomic groups (UNESCO, 1973).

Farmers have managed, conserved and domesticated components of biodiversity for millennia in a co-evolutionary process. However, the intense transformation of the environment in the last century has also caused an intense genetic erosion and loss of traditional knowledge associated with it (Donazzolo 2012). To understand the process of domestication of a species and to promote its conservation through its use it is necessary to understand adequately its biology and its diversity. Farmers have their traditional ways to grasp plants and their uses, but these have been perceived as 'inferior' by scientists. Traditional knowledge systems should not be seen as inferior but just different. For instance, it is very impressive that farmers in the oases of North Africa are able to identify a specific wild male of date palm as source of pollen to be used for pollinating a specific female variety: the result of this process- entirely based on traditional knowledge- will determine fruits of larger size, the xenia and metaxenia phenomena, whose biological process is still not clear to scientists (Osman 1974).

Such a vision of the supremacy of science over traditional knowledge needs to be revisited and the development of DL through a blended knowledge approach would represent a strategic step towards that direction. Positive signals to this end are emerging as in the case of the increasing recognition of farmers' wisdom with regard to climate change effective ways to mobilize biodiversity in their copying strategies. With regard to climate change, it is worth reporting that farmers have indicated butiá as resilient species to drought and low temperatures, elements that warrant follow up investigations by scientists.

⁵ http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/1351_Geneflow_2009.pdf

Conclusion and recommendations

In order to characterize *Butia odorata* germplasm and contribute to the development of strategies for conservation and sustainable use of this species this study has identified the following highly discriminating descriptors: leaf habit, stem circumference, leaf colour, male flowers colour, number of bunches per plant, fruit mature colour, fruit shape, presence of fibre in the fruit pulp, fruit diameter, flowering and fruiting times. At the same time, the interactions with farmers led to the identification of only five descriptors, fruit size (taking into account the length and diameter), number of bunches per plant, fibers in the pulp, fruit flavour and fruit colour.

Despite *Butia* fruits are traditionally consumed by the population that inhabits the Pampa biome, there are few studies aiming at adding value and at a sustainable management of this resource. For example, investigating new ways of processing and conserving fruits; characterizing the antioxidant content, and assessing regeneration of the remaining natural populations. The high social and economic potential that the exploitation and utilization of these palms offer to local communities needs to be preserved, therefore, is necessary to monitor activities threatening the survival of the species, so that the plants can be maintained and used in a sustainable fashion.

In order to make these descriptors more valuable instruments for farmers and expand *Butia*'s use, it is necessary to build upon conventional descriptors and integrate them with traditional knowledge. This can be only achieved through a participatory process that would bring together farmers, value chain users and scientists working on the genetic resources of this species. The study presented in this paper proposes a preliminary list that could be used as a basis for a more comprehensive approach aiming at integrating biological considerations with traditional knowledge for a more use-oriented description of agricultural biodiversity.

Through this paper we have also advocated for the development of a new type of descriptors list to describe plant genetic resources that would combine both experts' and farmers' knowledge. A change to this direction is necessary if we are to consistently pursue the main objective of descriptors list which is to promote use of crop diversity by users, particularly farmers. Today, descriptors lists are used mainly by genebank curators and breeders and the result of this situation is that germplasm conserved in ex situ genebanks is poorly used. The raising attention of the scientific community towards *in situ*/ on farm conservation (FAO 2010, Padulosi *et al.* 2012) is opening up new opportunities for the development of innovative information and documentation systems capable to describe the reality on the farmers' fields. The new concept of descriptors lists proposed here would be an important contribution towards this wider goal.

Acknowledgements

To the farmers that maintain butiá palms and also the knowledge associated, by sharing information with us. To Probio II, CNPq, CAPES and Fapergs by support this research.

References

- Azambuja, P. Tahim – a última divisa: geografia e história de uma região. Santa Vitória do Palmar: Ed. Polygraph Serigrafia & Stillus Artes Gráficas, 2001. 251p.
- Bioversity and The Christensen Fund, 2009. Descriptors for farmers' knowledge of plants. Bioversity International, Rome, Italy and The Christensen Fund, Palo Alto, California, USA.
- Bioversity International and Cherla. 2008. Descriptors for Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). Bioversity International, Rome, Italy; Cherla Project, Malaga, Spain.
- Bondar, G. Palmeiras do Brasil. Boletim nº2. São Paulo: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, 1964. 159p.
- Büttow, M. V.; Barbieri, R. L.; Rossato, M.; Neitzke, R.S.; Heiden, G. Conhecimento tradicional associado ao uso de butiás (*Butia* spp., Arecaceae) no sul do Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1069-1075, 2009.
- Cordazzo, C.V. & Seeliger, U. Phenological and biogeographical aspects of coastal dune plant communities in southern Brazil. Journal Vegetatio, v 75, n 3, p 169-173, 1988.
- Chebataroff, J. Palmares del Uruguay. Facultad de Humanidades y Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 31p. 1974
- De Paula, T. O. M.; Santos, A. M.; Guilherme, D. O.; Caldeira Junior, C. F.; Araújo, C. B.; Gonçalves, W. S; Martins, E. R.; Lopes, P. S. N. Ecogeografia e etnobotânica do coquinho-azedo no norte de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, 2006, Cabo Frio. Palestras e resumos do... Cabo Frio: SBF/UENF/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006. p. 271.
- Donazzolo, J. Conservação pelo uso e domesticação da feijoa na serra gaúcha - RS. 2012. 312 p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2012.
- Dulloo, E.M, D, Hunter and T. Biorelli. 2010. Ex Situ and In Situ Conservation of Agricultural Biodiversity: Major Advances and Research Needs. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 38(2), 123 – 135
- FAO 1996. Global Plan of Action for the Conservation and Sustainable Utilization of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture and the Leipzig Declaration adopted by the International Technical Conference on Plant Genetic Resources, Leipzig, Germany 17-23 June 1996. FAO, Rome, Italy
- FAO 2010. Second report on the state of the world's plantgenetic resources for food and agriculture. Commission on genetic Resources and Agriculture. FAO, Rome, Italy.
- FAOSTAT.2009.Statistics of World Horticultural Production. FAO, Rome, Italy.
- Faria, J. P., Arellano, D. B., Grinaldi, R., Silva, L. C. R., Vieira, R. F., Silva, D. B. e Agostini-Costa, T.S. 2008. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). Revista Brasileira de Fruticultura. 30 (3): 827-829.
- Fonseca, L.X.; Caracterização de frutos de butiazeiro (*Butia odorata* Barb.Rodr.) Noblick & Lorenzi e estabilidade de seus compostos bioativos na elaboração e armazenamento de geleias. 2012. 68f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2012.
- Gepts, P. 2006. Plant Genetic Resources Conservation and Utilization Crop Science 2006 46: 2278–2292.
- Geymonat, G.; Rocha, N. M'botiá. Ecosistema único en el mundo. Castillos: Casa Ambiental. 2009. 405 p.
- Hueck, K. 1955. Plantas e formação organogênica das dunas no litoral paulista - Parte 1. Instituto de Botânica, São Paulo.

- IBPGR. 1992. Descriptors for coconut. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 61p.
- International Plant Genetic Resources Institute. Descriptors for banana (*Musa spp.*). Roma: IPGRI, 1996, 55 p.
- IPGRI, INRAA, INRAM, INRAT, FEM, PNUD. 2005. Descripteurs du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Institut international des ressources phytogénétiques, Rome, Italie, Fonds pour l'Environnement Mondial, Washington, Etats-Unis, Programme des Nations Unies pour le Développement, New York, Etats-Unis, Institut National de la Recherche Agronomique, d'Algérie, du Maroc et de Tunisie.
- ISHS 2012. Harvesting the Sun: A Profile of World Horticulture. Scripta Horticulturae 14. 76 pages.
- Lima, V. V F. de. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do coquinho-azedo / Lima, V. V F. de., Priscila Albertasse Dutra da Silva, P. A. D. da, Scariot, A. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 60 p.
- Lorenzi, H.; Souza, H. M.; Medeiros-Costa, J. T.; Cerqueira, L. S. C.; Behr, N. Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 303 p.
- Lorenzi, H.; Noblick, L.R.; Kahn, F.; Ferreira, E. Flora brasileira – Arecaceae (palmeiras). Nova Odessa: Plantarum, 2010. 384 p.
- Marcato, A.C. Revisão taxonômica do gênero *Butia* (Becc.) Becc. (Palmae) e filogenia da subtribo buttiinae saakov (Palmae). 2004. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- Moseley, C. (ed.). 2010. Atlas of the World's Languages in Danger, 3rd edn. Paris, UNESCO Publishing. Online version: <http://www.unesco.org/culture/en/endangeredlanguages/atlas>
- Noblick, L. R. Validation of the name *Butia odorata*. Palms, v. 55(1), p. 48-49, 2011.
- Nunes, A. M.; Fachinello, J. C.; Radmann, E. B.; Bianchi, V. J.; Schwartz, E. Caracteres morfológicos e físico-químicos de butiazeiros (*Butia capitata*) na região de Pelotas, Brasil. Interciencia, v.35, n. 7, p. 500-505, 2010.
- Osman, A.M.A. 1974. Xenia and Metaxenia Studies in the Date Palm, *Phoenix Dactylifera* L. University of California, Riverside, 298 pages.
- Padulosi S. and Dulloo M.E. (2012). Towards a viable system for monitoring agrobiodiversity on farm: a proposed new approach for red listing of cultivated plant species. IN Padulosi S., Bergamini N and Lawrence T (Eds). On farm conservation of neglected and underutilized species: status, trends and novel approaches to cope with climate change. Proceedings of an International Conference, Frankfurt 14-16 June 2011. Bioversity International, Rome. Pp 171-197. (Conference proceedings)
- Padulosi, S.; Hodgkin, T.; Williams, J.T.; Hag, N. 2002. Underutilized crops: trends, challenges and opportunities in the 21st century. In: Engels, J.M.M.; Ramanatha Rao, V.; Brown, A.H.D.; Jackson, M.T. (eds.). Managing plant genetic diversity. Wallingford and Rome, CAB International and IPGRI. p.323-338.
- Padulosi, S, N. Bergamini and T. Lawrence editors. 2012. On farm conservation of neglected and underutilized species: trends and novel approaches to cope with climate change. Proceedings of an international Conference, Frankfurt, 14-16 June 2011. Bioversity International, Rome.
- Pereira, O. J.; Thomaz, L. D.; Araújo, D. S. D. Fitossociologia da vegetação ante dunas da restinga de Setiba/ Guarapari e em Interlagos/Vila Velha, ES. Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, Santa Teresa, v. 1. p. 65-75, 1992.
- Pistorius R. 1997. Plants, scientists and politics - A history of the plant genetic resources movement. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- PROBIDES. El Palmar, la Palma y el Butiá. Productora Editorial. Montevideo. Ficha Didáctica 4. 23 p. 1995.
- PROBIDES. Biología y conservación del palmar de butiá (*Butia capitata*) en la Reserva de Biosfera Bañados del Este. Avances de investigación. Rocha, UY : Documentos de Trabajo n°34, 33 p. 2001.
- Reitz, R. Palmeiras. In: Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues: Itajaí, 1974, 189p.
- Rivas, M. Desafios y alternativas para la conservación *in situ* de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. Agrociencia, Montevideo, v. 9, n.2, p.161-168, 2005.
- Rivas, M, & Barilani, A. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. De Uruguay. Agrociencia 8: 11-20.2004.
- Rodrigues, L.C.; Morales, M.R.; Fernandes, A.J.B.; Ortiz, J.M. Morphological characterization of sweet and sour cherry cultivars in a germplasm bank at Portugal. Genetic Resources and Crop Evolution, v.55, p.593-601, 2008.
- Rosa, L.; Castellani, T. T.; Reis, A. Biología reproductiva de *Butia capitata* (Martius) Beccari var. *odorata* (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 281-287, 1998.
- Rossato, M. Recursos genéticos de palmeiras nativas do gênero *Butia* do Rio Grande do Sul. 2007. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2007.
- Rossato, M.; Barbieri, R. L. Estudo etnobotânico de palmeiras do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Agroecologia, Porto Alegre, v. 2, n. 1, p.997-1000, 2007.
- Schwartz, E. Produção, Fenologia e Qualidade dos Frutos de *Butia capitata* em Populações de Santa Vitória do Palmar. 2008. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2008.
- Schwartz, E.; Fachinello, J. C.; Barbieri, R. L.; Silva, J.B. Avaliação de populações de *Butia capitata* de Santa Vitória do Palmar. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 32, p. 736-745, 2010.
- UNESCO. Rapport final du group d'experts sur le project 13: la perception de la qualité du milieu dans le Proramme sur l'homme et la biosphère (MAB). UNESCO, Paris (Série des rapports du MAB 9). 1973.
- USAID 2005. Global Horticulture Assessment. University of California Davies, USA. 144 pages.

ANNEX I

Lists of Bioversity Crop descriptors published

Allium (E, S) 2000
 Almond (revised)* (E) 1985
 Apple* (E) 1982
 Apricot* (E) 1984
 Avocado (E, S) 1995
 Bambara groundnut (E, F) 2000
 Banana (E, S, F) 1996
 Barley (E) 1994
Beta (E) 1991
 Black pepper (E, S) 1995
Brassica and *Raphanus* (E) 1990
Brassica campestris L. (E) 1987
 Buckwheat (E) 1994
*Capsicum** (E, S) 1995
 Cardamom (E) 1994
 Carrot (E, S, F) 1999
 Cashew* (E) 1986
Chenopodium pallidicaule (S) 2005
 Cherimoya (E, S) 2008
 Cherry* (E) 1985
 Chickpea (E) 1993
Citrus (E,F,S) 1999
 Coconut (E) 1992
 Coffee (E, S, F) 1996
 Cotton (Revised)* (E) 1985
 Cowpea* (E) 1983
 Cultivated potato* (E) 1977
 Date palm (F) 2005
 Durian (E) 2007
Echinochloa Millet* (E) 1983
 Eggplant (E, F) 1990
 Faba bean* (E) 1985
 Fig (E) 2003
 Finger millet* (E) 1985
 Forage grass* (E) 1985
 Forage legumes* (E) 1984
 Grapevine (E, S, F) 1997
 Groundnut (E, S, F) 1992
 Hazelnut (E) 2008
 Jackfruit (E) 2000
 Kodo millet* (E) 1983
Lathyrus spp. (E) 2000
 Lentil* (E) 1985
 Lima bean* (E) 1982
 Litchi (E) 2002
 Lupin* (E, S) 1981
 Maize (E, S, F, P) 1991
 Mango (Revised) (E) 2006
 Mangosteen (E) 2003
Medicago (Annual)* (E, F) 1991
 Melon (E) 2003
 Mung bean* (E) 1980
 Oat* (E) 1985
 Oca* (S) 2001
 Oil palm (E) 1989

Palmier dattier (F) 2005

Panicum miliaceum and *P. sumatrense* (E) 1985
 Papaya (E) 1988
 Peach* (E) 1985
 Pear* (E) 1983
 Pearl millet (E, F) 1993
 Pepino (E) 2004
Phaseolus acutifolius (E) 1985
*Phaseolus coccineus** (E) 1983
Phaseolus lunatus (P) 2001
*Phaseolus vulgaris** (E, P) 1982
 Pigeonpea (E) 1993
 Pineapple (E) 1991
Pistacia (excluding *P. vera*) (E) 1998
 Pistachio (E, F, A, R) 1997
 Plum* (E) 1985
 Potato varieties* (E) 1985
 Quinoa* (S) 1981
 Rambutan (E) 2003
 Rice* (E, P) 2007
 Rocket (E,I) 1999
 Rye and Triticale* (E) 1985
 Safflower* (E) 1983
 Sesame* (E) 2004
Setaria italica and *S. pumila* (E) 1985
 Shea tree (E) 2006
Sorghum (E, F) 1993
 Soyabean* (E, C) 1984
 Strawberry (E) 1986
 Sunflower* (E) 1985
 Sweet potato (E, S, F) 1991
 Taro (E, F, S) 1999
 Tea (E, S, F) 1997
 Tomato (E, S, F) 1996
 Tree tomato (E) 2013
 Tropical fruit* (E) 1980
 Ulluco (S) 2003
Vigna aconitifolia and *V. trilobata* (E) 1985
Vigna mungo and *V. radiata* (Rev.)* (E) 1985
 Walnut (E) 1994
 Wheat (Revised)* (E) 1985
 Wheat and *Aegilops** (E) 1978
 White Clover (E) 1992
 Winged Bean* (E) 1979
*Xanthosoma** (E) 1989
 Yam (E, S, F) 1997

E, F, S, C, P, I, R and A indicate English, French, Spanish, Chinese, Portuguese, Italian, Russian and Arabic, respectively. Titles marked with an asterisk are out of print, but are available as PDF format on request at: bioversity-publications@cgiar.org

5 Artigo 4 – Segundo as normas de publicação do Bioversity International

Minimum set of descriptors for *Butia odorata*

The ‘Descriptors for *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick` were developed by Claudete C. Mistura, Rosa Lia Barbieri and Caroline Marques Castro. They have been produced as an output of the PhD research work of Characterization of natural populations of *Butia odorata* in Pampa Biome, Brazil (2013) and subsequent investigations on the diversity of butiá by the authors. Information on characteristics of wild species for the elaboration of the descriptors has been mostly based on the personal experience of the authors and the research findings from literature. The draft document was enriched with valuable research inputs from other experts with substantial contribution from Dr Charles Clement (see Contributors List). The scientific overview of this document was provided by Dr. Stefano Padulosi, and the technical advice and management of the development process by Adriana Alercia from Bioversity International.

The concept of crop descriptors has evolved over the years in response to changes in users’ needs. This is a first attempt to combine a documentation system traditionally used in controlled environments (genebanks, breeding institutes) with an approach that involves people and their knowledge ‘in the field’.

This descriptor may become an important tool for integrating biology and traditional knowledge and has been used for the development of *Butia* preliminary list of descriptors.

Although the list is primarily targeted at the plant genetic resources community, to increase the range of knowledge of *Butia* recorded during plant collection, its widespread use by others, including communities, is encouraged to further the utilization of this Brazilian native palm. The *Butia* genus comprises 18 species distributed in South American countries. One of them, *Butia odorata* occurs specifically in grasslands of southern Brazil and Uruguay.

Highly discriminating descriptors are highlighted in the text and are indicated by an asterisk(*).

Butia has different common names, depending on the language and the species. The most common are the following:

- Butiá
- Butiazeiro
- Butiá-da-praia
- Butiá-branco
- Butiá-roxo
- Butiá-miúdo
- Butiá-pequeno
- Butiá-azedo
- Butiá-vinagre
- Coco amargoso
- Beach jelly palm
- Bitter coconut
- Southern jelly palm
- Jelly palm
- Pindo palm

1. Plant identification

1.1 Collecting date [YYYYMMDD]

Date when the sample/specimen was collected, where YYYY is the year, MM is the month and DD is the day. Missing data (MM or DD) should be indicated with hyphens or '00' [double zero].

1.2 Collecting institute

FAO code or name of the institute collecting the sample/specimen in the field.

1.3 Collecting number

Original identifier assigned by the collector(s) of the sample/specimen normally composed of the name or initials of the collector(s) followed by a number (e.g. 'FM9909'). This identifier is essential for identifying duplicates held in different collections. It should be unique and always accompany subsamples wherever they are sent.

1.4 Genus

Genus name of the taxon (e.g. *Butia*).

1.4.1 Species

Specific epithet of the scientific name (e.g. *odorata*).

1.4.1.1 Species authority

Provide the authority for the species name

1.5 Common name

Name of the species in colloquial language (e.g. Butiá).

2. Biological status

- 1 Wild
- 2 Weedy
- 3 Traditional cultivar/landrace
- 4 Breeding/research material
- 5 Advanced/improved cultivar
- 99 Other (specify in the Collector's notes)

3. Site

3.1 Country

Three-letter ISO 3166-1 code of the country in which the collecting mission/monitoring event took place.

3.2 Location of site

Location information below the country level that describes the site, preferably in English. This might include the distance in kilometres and direction from the nearest town, village or map grid reference point, (e.g. 7 km south of Curitiba in the state of Parana)

Geographical coordinates

3.3 Latitude

Two alternative formats are proposed for latitude, but the one reported by the collecting mission should be used:

- Latitude of the site expressed in decimal degrees. Positive values are North of the Equator; negative values are South of the Equator (e.g. -44.6975) for Western hemisphere
- Degrees (2 digits) minutes (2 digits), and seconds (2 digits) followed by N (North) or S (South) (e.g. 103020S; 011530N; 4531--S).

3.4 Longitude

Two alternative formats are proposed for longitude, but the one reported by the collecting mission should be used:

- Longitude expressed in decimal degrees. Positive values are East of the Greenwich Meridian; negative values are West of the Greenwich Meridian (e.g. +120.9123).
- Degrees (3 digits), minutes (2 digits), and seconds (2 digits) followed by E (East) or W (West) (e.g. 0762510W).

3.5 Elevation

Elevation of collecting/observation site expressed in metres above sea level.

4. Relative abundance of the plant [palm/ha]

If describing a wild population, indicate the approximate number of palms per hectare in the entire collecting zone

- 1 Rare (<50)
- 2 Common (50 - 250)
- 3 Abundant (>250)

4.1 Population area [km²]

Indicate approximate area occupied by the population in square kilometres

4.2 Total number of individuals in the population

Estimate the total number of individuals in the population

4.3 Estimated age of most palms in the population

Estimated by counting rows of leaf debris surrounding the stipe (Geymonat & Rocha, 2009).

4.4 Occurrence of seedlings and juveniles in the area

- 1 Rare
- 2 Common
- 3 Abundant

4.5 Photograph

- 0 No
- 1 Yes

5. Traditional knowledge about *Butia*

This section includes descriptors for local/traditional knowledge about key characteristics of *Butia*, as seen by farmers. Please select the most important ones and list them in order of importance.

5.1 Main reasons for using butiá

Indicate important advantages and/or disadvantages that determine why the plant is used, from a local point of view:

- 1 Cultural/religious characteristics
- 2 Food security/scarcity
- 3 Nutritional properties
- 4 Agronomical characteristics
- 5 Resistance to abiotic stresses
- 6 Resistance to biotic stresses
- 7 Quality traits
- 8 Market demand

5.2 Parts of the plant used

- 1 Fruit/infructescence
- 2 Leaf
- 3 Seedling
- 4 Entire plant
- 5 Stem/trunk
- 6 Crown full set of leaves)
- 7 Flower/inflorescence
- 8 Seed
- 99 Other (specify in descriptor Collector's notes)

5.3 Plant uses

- 1 Food (fresh, processed, cooked, etc.)
- 2 Food additive (e.g. vinegar)
- 3 Material (fibres, oils, dyes, timber, handicraft, green manure etc.)
- 4 Fodder or fodder additive (for animals)
- 5 Environmental uses (windbreaker, firebreak, boundary, shade)
- 6 Ornamental (landscaping and floral art)
- 7 Medicinal
- 99 Other (specify in descriptor Collector's notes)

5.4 Distinguishing traits used by farmers

Describe the traits or characteristics that the farmer uses to distinguish one wild form of the same species or closely related species from another. For descriptors 5.4.1 and 5.4.2 indicate the name they refer to and relevant attribute as follows: Plant part:2 (leaf);Trait:1(colour)

5.4.1 Part(s) of the plant

- 1 Fruit
- 2 Leaf
- 3 Tree
- 4 Flower
- 5 Crown
- 6 Stem/trunk/stipe

- 7 Seed
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.4.2 Trait attribute

- 1 Colour of fruits
- 2 Shape of fruits
- 3 Size of fruits
- 4 Width of fruit
- 5 Length of fruit
- 6 Height of plant
- 7 Texture of fruits
- 8 Habit of leaves
- 9 Taste of fruits
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.5 Abiotic stresses

Indicate any susceptibility/resistance that the farmer claims for this particular plant.

- 1 Drought
- 2 High temperature
- 3 Frost
- 4 Wind
- 5 Water logging
- 6 Soil salinity
- 99 Other (i.e. elevation, light intensity, very dry soil, specify in Collector's notes)

5.6 Biotic stresses

Indicate any susceptibility that the farmer claims for this particular plant.

Causal organism	Common name
<i>Pachymerus nucleorum</i>	Bicho-de-coco, Coró-do-butiá, Bicho-do-butiá
<i>Schistocerca cancellata</i>	Gafanhoto/Saltamontes

5.7 Quality traits related to food uses

5.7.1 Organoleptic qualities

Describe particular organoleptic qualities of the fruit. Multiple values are allowed, separated by a semicolon (;).

- 1 Eating quality
- 2 Taste, flavour (pungent, sweet, acid, bitter, etc.)
- 3 Fragrance intensity
- 4 Flesh texture (firm, juicy, fibrous, etc.)
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.7.2 Nutritional qualities

Indicate any nutritional quality of the plant as described by the farmer (e.g. makes people grow stronger, source of water, proteins, vitamins, etc.). Record the farmer's exact wording to the extent possible, using Collector's notes).

- 1 Source of beta-carotene
- 2 Source of vitamin C
- 3 Source of fibres
- 4 Animal fodder

- 5 Source of energy
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.7.3 Market traits

- 1 Marketability
- 2 Transportability (Perishability)
- 3 Shelf life/storage ability
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.8 Socio-economic characteristics

5.8.1 Seed supply system

- 1 Formal sector
- 2 Self harvested
- 3 Exchanges with relatives, neighbours
- 4 Exchanges between close villages
- 5 Local /regional market
- 6 Wild/naturally occurring

5.8.2 Main use of plant by farmers

Multiple values are allowed separated by a semicolon (;).

- 1 Home consumption (sweets and drinks, animal fodder)
- 2 For direct sale
- 3 For sale through intermediary
- 4 Exchange, neighbour, friends, family
- 5 Nutraceutical use
- 6 Handicrafts
- 99 Other (specify in Collector's notes)

5.8.3 Main form of market outlet

- 1 Local
- 2 State
- 3 National
- 4 Regional
- 5 International

6. Distinguishing traits used by scientist

Indicate characteristics that the scientist uses to distinguish one wild form of the same species or closely related species from each other

6.1 Stem girth at 1.3 m height [cm]

*6.2 Crown growth habit

Observed when palm is producing green leaves. See Fig. 1.

- 1 Erect
- 2 Intermediate
- 3 Prostrate



Figure 1. Crown growth habit. Left: erect, centre: intermediate, right: prostrate.
Pictures: Claudete Clarice Mistura

***6.3 Leaflet colour**

- 1 Greyish
- 2 Light Green
- 3 Dark Green
- 99 Other (specify in Collector's notes)

***6.4 Colour of male flowers observed soon after the opening of the spathe**

- 1 Yellow
- 2 Purple
- 3 Orange
- 3 Pink
- 99 Other (specify in Collector's notes)

*** 6.5 Colour of rachillae observed soon after the opening of the spathe**

- 1 Cream
- 2 Yellow
- 3 Green
- 4 Pink
- 5 Purple
- 99 Other (specify in Collector's notes)

Bunch

6.6 Bunch habit

- 1 Erect
- 3 Intermediate
- 5 Prostrate

***6.7 Number of bunches ‡**

Count the number of bunches on the palm when you collect it for characterization

6.8 Bunch length at the harvesting point [cm]

Observed at least three bunches

6.9 Bunch weight [g]

Fruit

***6.10 Average weight of 20 mature fruits [g]**

6.11 Average weight of fruit endocarp [g]

6.12 Fruit number per bunch

6.13 Fruit diameter [mm]

6.14 Fruit length [mm]

6.15 Fruit diaspore diameter

***6.16 Fruit shape**

See Fig. 2.

- 1 Roundish
- 2 Oblate
- 3 Ovoid
- 4 Oblong
- 99 Other (specify in Collector's notes)

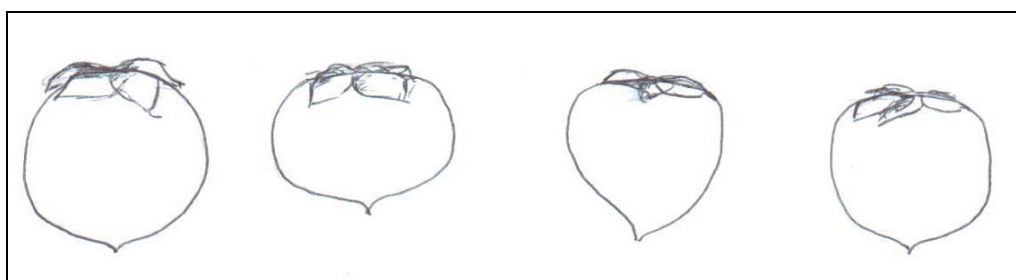


Figure 2. Fruit shape. From left to right: roundish, oblate, ovoid, oblong. Graphics: Rosa Lía Barbieri

***6.17 Fibres in the fruit pulp†**

- 3 Few
- 6 Intermediate
- 7 Many

***6.18 Average weight of 20 seeds [g]**

Cut the fruits, extract the seeds, remove large pieces of adhered pulp, and weigh the seeds.

6.19 Period of fruit ripening

6.19.1 Start of the period of fruit ripening [YYYYMMDD]

6.19.2 End of the period of fruit ripening [YYYYMMDD]

***6.20 Fruit mature colour ‡**

- 1 Cream
- 2 Yellow
- 3 Orange
- 4 Reddish-orange
- 4 Red
- 6 Purple

99 Other (specify in Collector's notes)

***6.21 Fruit maximum diameter [mm]**

7. Collector's Notes

Specify here any additional information.

References

- Bioversity International y The Christensen Fund, 2010. Descriptores del conocimiento que los agricultores tienen de las plantas. Bioversity International, Roma, Italia y The Christensen Fund, Palo Alto, California, USA.
- Bioversity International and Cherla. 2008. Descriptors for Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). Bioversity International, Rome, Italy; Cherla Project, Malaga, Spain.
- Geymonat, G.; Rocha, N. M'botiá. Ecosistema único en el mundo. Castillos: Casa Ambiental. 2009. 405 p.
- IBPGR. 1992. Descriptors for coconut. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 61p.
- IPGRI, INRAA, INRAM, INRAT, FEM, PNUD. 2005. Descripteurs du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Institut international des ressources phytogénétiques, Rome, Italie, Fonds pour l'Environnement Mondial, Washington, Etats-Unis, Programme des Nations Unies pour le Développement, New York, Etats-Unis, Institut National de la Recherche Agronomique, d'Algérie, du Maroc et de Tunisie.
- Rivas, M.; Barilani, A. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Uruguay. **Agrociência**, Montevideo, (3): 11-21, 2004.

Contributors

Authors

Mrs Claudete Clarice Mistura
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS
Brazil
c.mistura@uol.com.br

Dr Rosa Lia Barbieri
Embrapa Temperate Agriculture
Pelotas, RS
Brazil
lia.barbieri@embrapa.br

Dr Caroline Marques Castro
Embrapa Temperate Agriculture
Pelotas, RS
Brazil
caroline.castro@cpact.embrapa.br

Dr Stefano Padulosi
Bioversity International
Rome, Italy
s.padulosi@cgiar.org

Mrs Adriana Alercia
Bioversity International
Rome, Italy
a.alercia@cgiar.org

Reviewers

Dr. Charles Roland Clement
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Manaus, AM
Brazil
cclement@inpa.gov.br

Dr. Claudimar Sidnei Fior
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS
Porto Alegre, RS
Brazil
csfior@ufrgs.br

Dr Semiramis Rabelo Ramalho Ramos
Embrapa Tabuleiros Costeiros
Aracaju, SE,
Brazil
semiramis.ramos@embrapa.br

Mrs. Mercedes Rivas
Universidad de La República - Udelar
Montevideo,
Uruguay
mechirivas@gmail.com

Dr. Elisane Schwartz
Instituto Federal Sul-Rio-Grandense - IF-Sul
Pelotas, RS,
Brazil
elisane.schwartz@gmail.com

Dr. Miriam Valli Büttow
Embrapa Temperate Agriculture
Pelotas, RS
Brazil
miriamvb@gmail.com

Mrs. Carmen Heller de Barros
Butiazal - Essências para a cura da alma
Porto Alegre, RS
Brazil
carmen@butiazal.com.br

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta tese se configuram em importantes avanços para o conhecimento científico associado à *Butia odorata*.

O primeiro artigo evidenciou a possibilidade de se utilizar com eficiência em *B. odorata* os marcadores microssatélites desenvolvidos para *Cocos nucifera*, uma espécie evolutivamente próxima.

No segundo artigo foi caracterizada a estrutura genética de uma grande população natural de *B. odorata* no Bioma Pampa, utilizando os marcadores avaliados no capítulo um. Foi detectada grande variabilidade genética e a presença de maior variação entre indivíduos dentro de uma mesma área desta população do que indivíduos de áreas distintas.

O terceiro artigo foi construído após dois anos de avaliação de 303 indivíduos adultos de *B. odorata* na mesma população natural avaliada no capítulo dois. Com base nos dados obtidos foi possível sistematizar os descritores morfológicos de importância para a caracterização desta espécie. Este capítulo apresenta também uma discussão a respeito de utilizar o conhecimento dos agricultores como base para a elaboração dos descritores.

O quarto artigo, por sua vez apresenta a lista detalhada dos descritores mínimos para *B. odorata*, redigida na forma padrão oficial das listas de descritores publicadas pelo Bioversity International (antigo IPGRI). Este artigo, assim como o terceiro, foi redigido com a orientação da equipe do Bioversity International, durante o período de doutorado-sanduíche realizado em Roma, na Itália.

Estudos complementares são evidentemente necessários, pois a área de ocorrência da espécie é grande e a variabilidade em outros locais pode ser distinta daquela encontrada na população avaliada.

Parece claro que o butiá tem acompanhado o homem ao longo do tempo. Neste sentido, as populações consideradas silvestres podem ter sofrido, em tempo mais remoto, seleção pelas populações indígenas que aqui viviam e sobre as quais se têm escassos registros. Seguramente, estudos de filogenia e filogenética aliados a etnobotânica, à arqueologia, ajudariam a esclarecer as dúvidas sobre esta espécie. Além disso, mais estudos da relação atual e passada entre o homem e o butiá são necessários para ampliar o conhecimento atual e registrar o conhecimento tradicional. Assim, os trabalhos realizados com esta espécie devem ser ampliados

na região de estudo e expandidos para outras áreas de ocorrência no Pampa brasileiro e uruguaio.

Durante o período de execução deste trabalho pode ser observado que, se cessarem os processos de manejo associado à presença de gado nas áreas de butiazais remanescentes, o butiá perde espaço para outras espécies arbóreas com maior porte e crescimento mais rápido, como a capororoca (*Myrsine* spp.). Há ainda que se avançar muito no conhecimento do processo de manejo para promover a regeneração dos butiazais remanescentes.

Grande importância deve ser dada para estudos de multiplicação, buscando técnicas para uma eficiente clonagem das plantas, fundamental para que se possa no futuro desenvolver cultivares de butiá de alta produtividade e com frutos de maior qualidade. Pelo fato de *B. odorata* ser uma planta alógama e seu tempo intergeneracional ser muito longo (de 4 a 15 anos), a única alternativa a curto prazo para o lançamento de cultivares de butiá atendendo a uma crescente demanda do mercado é a clonagem de plantas identificadas como superiores no que se refere a produtividade e qualidade de frutos.