

II Jornadas do Lúpulo e da Cerveja

Estratégias de conservação e estabelecimento *in vitro* de *Humulus lupulus* L.



Isabel Gomes Silva, Tiago Machado, Filomena Rocha e Ana Maria Barata
INIAV, Banco Português de Germoplasma Vegetal

IPB, Centro de Investigação de Montanha
18 e 19 julho 2019



Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE BRAGANÇA



Centro de
Investigação
de Montanha

Bancos de germoplasma: Conservação *ex situ*

EX SITU

O material vegetal é conservado fora do seu habitat natural

Coleções em câmaras de frio

Coleções de campo

Coleções em vaso

Coleções em cultura *in vitro*

Coleções genómicas

Coleções em crio

Ativa (0 - 5°C, 45% de humidade relativa)

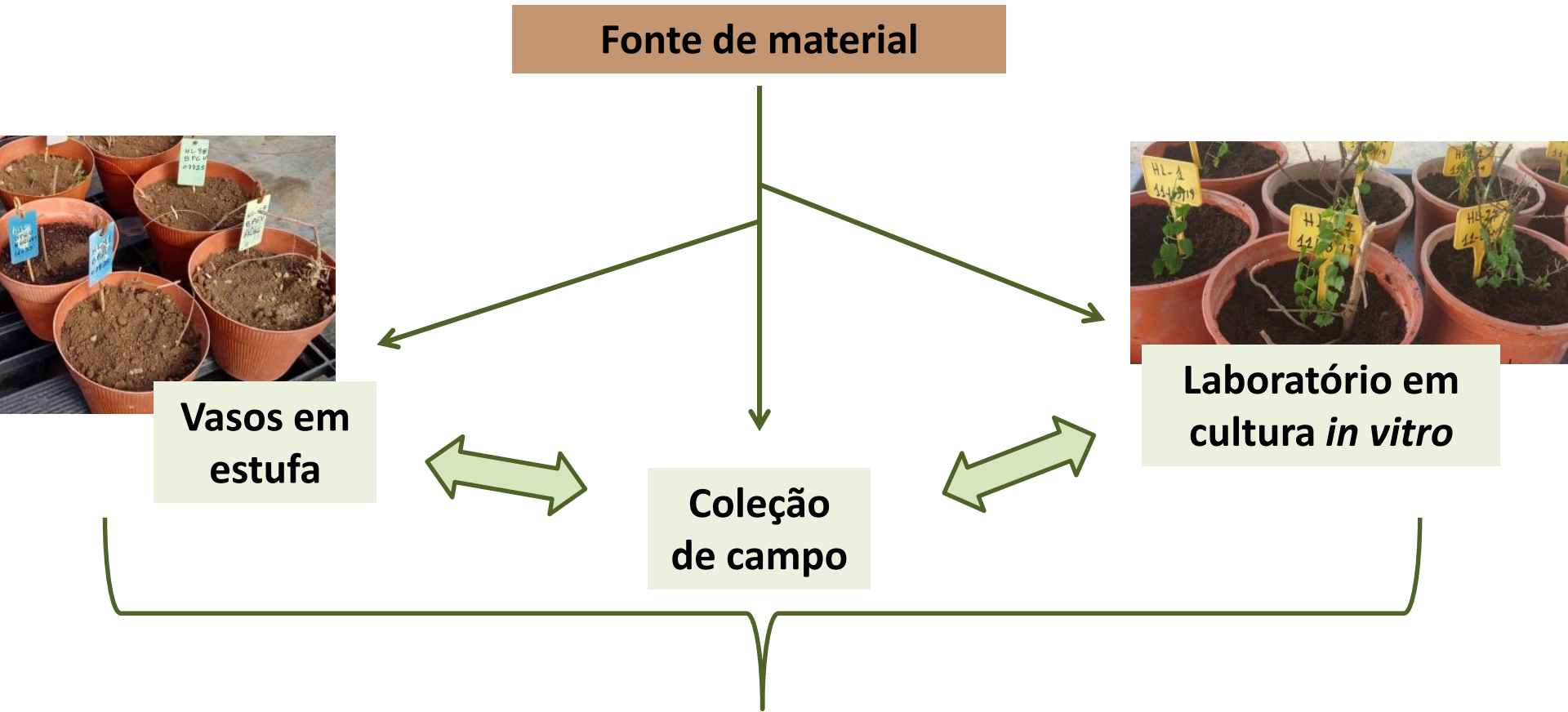
Base (- 18 °C)

Propagação via seminal

Propagação via vegetativa

Independente da via de propagação

Conservação: coleções *ex situ* de lúpulo



Vasos em estufa



Laboratório em cultura *in vitro*

Coleção de campo

+ de 100 genótipos em coleção

Taxa de multiplicação



No campo



Réplicas/duplicados

Réplicas/duplicados

Na estufa



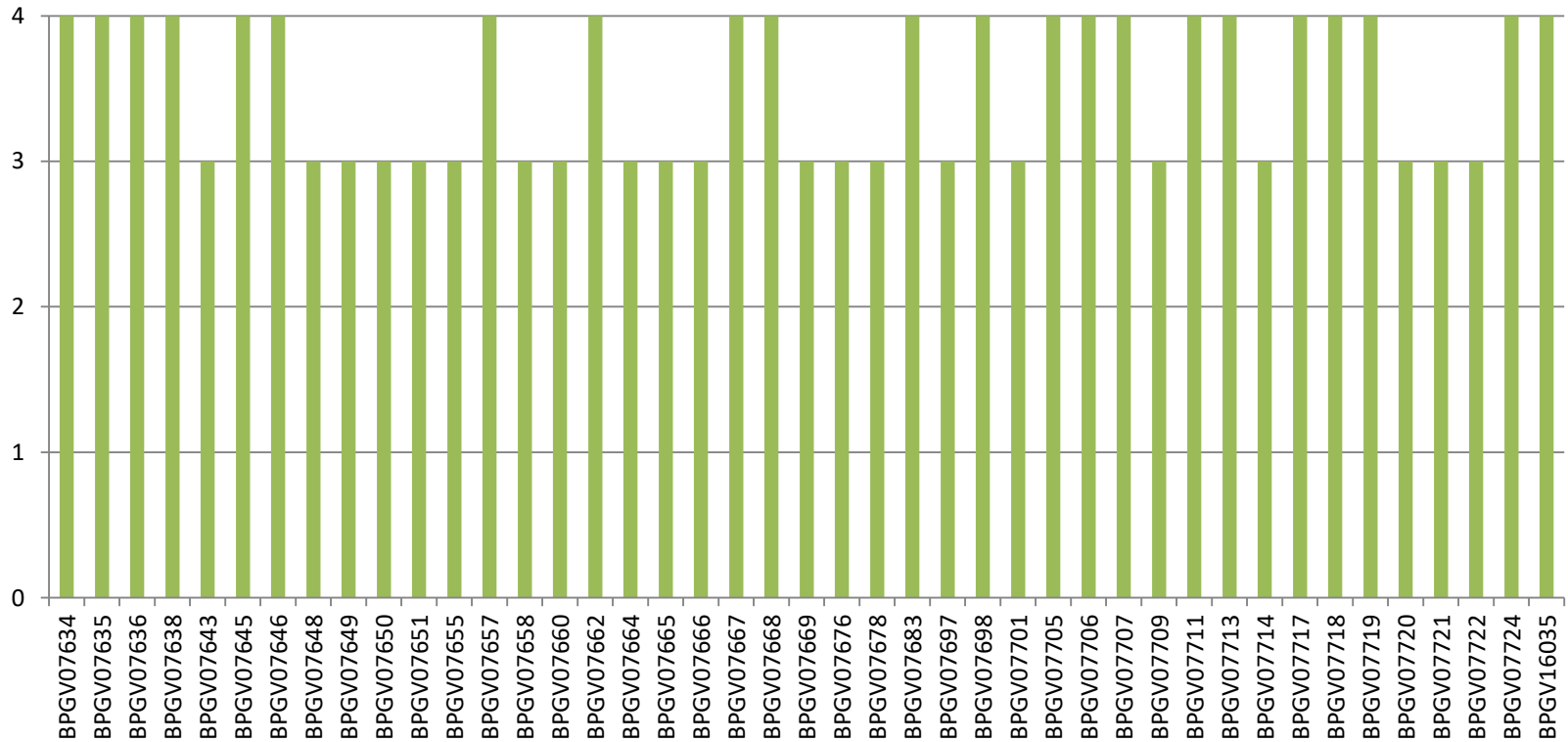
No laboratório



Caraterização: conhecer a coleção

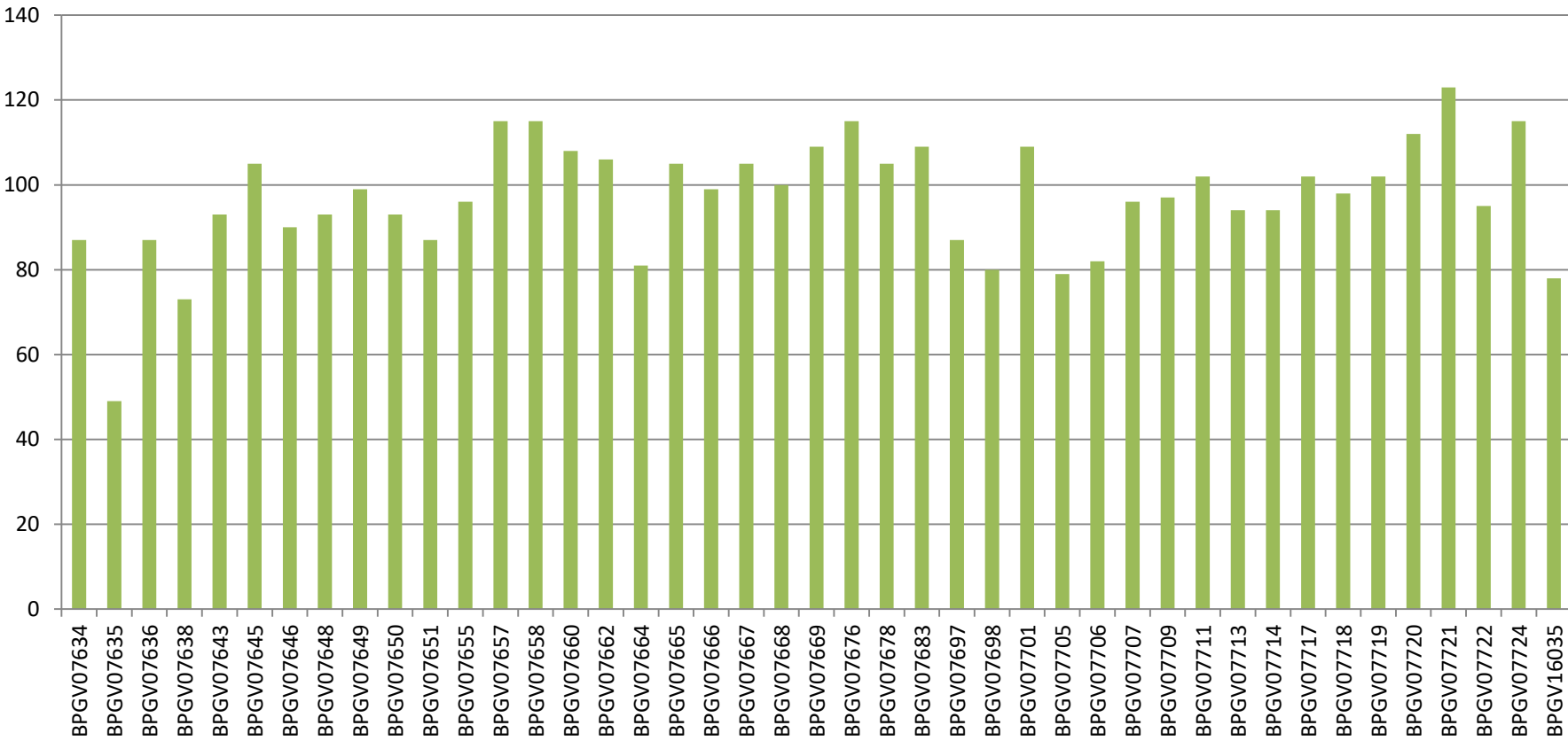
45% da coleção está caraterizada, tendo por base descritores morfológicos e agrónómicos.

Descritor qualitativo: Cor das folhas



Códigos: 3 – Verde; 4 – Verde escuro

Descritor quantitativo: Número de dias até à floração



Na coleção existem genótipos bastante precoces, assim como material mais tardio.

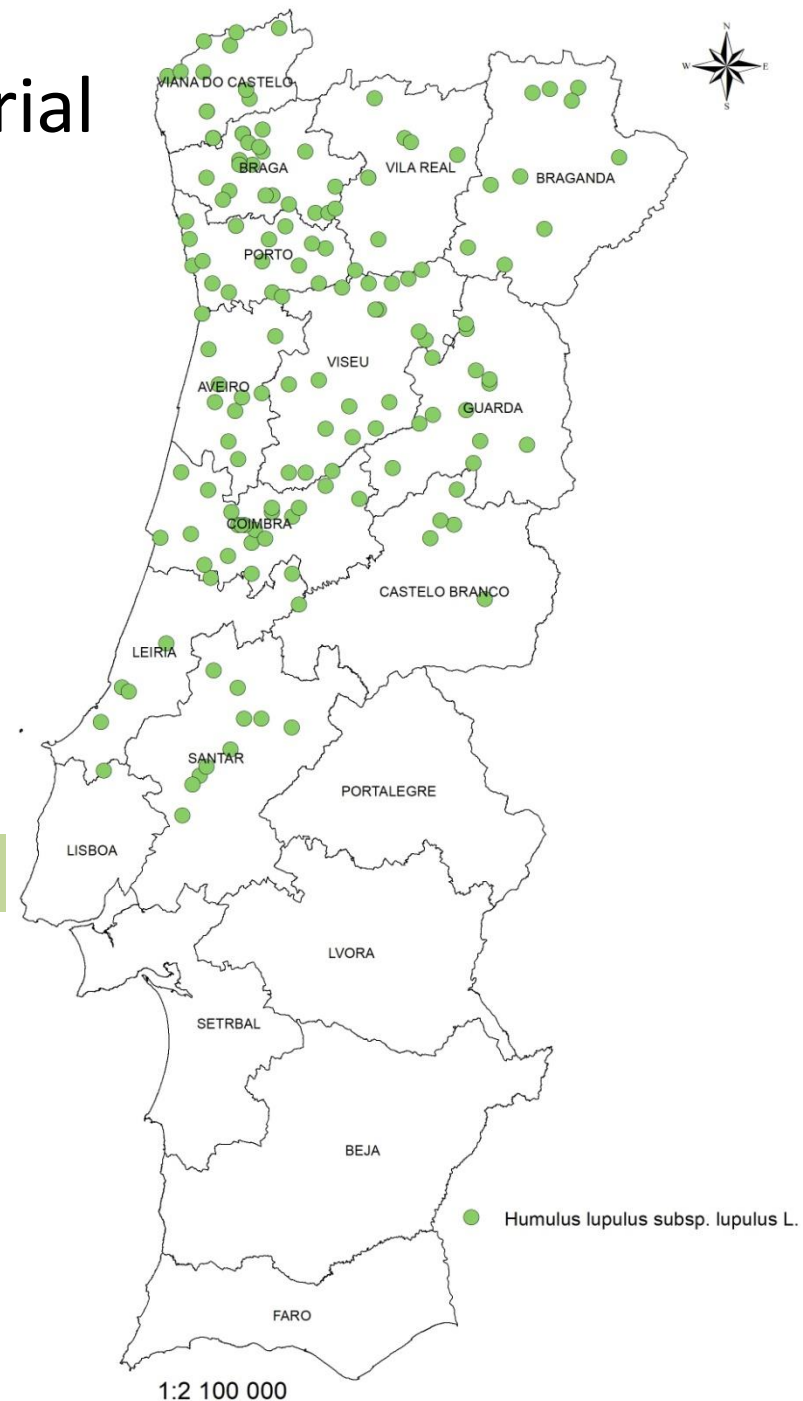
Distribuição: origem do material conservado

Tal como em todas as coleções do BPGV, é feito um esforço para que estas sejam representativas de uma ampla distribuição geográfica nacional.

Presente em grande escala na flora a Norte do Tejo

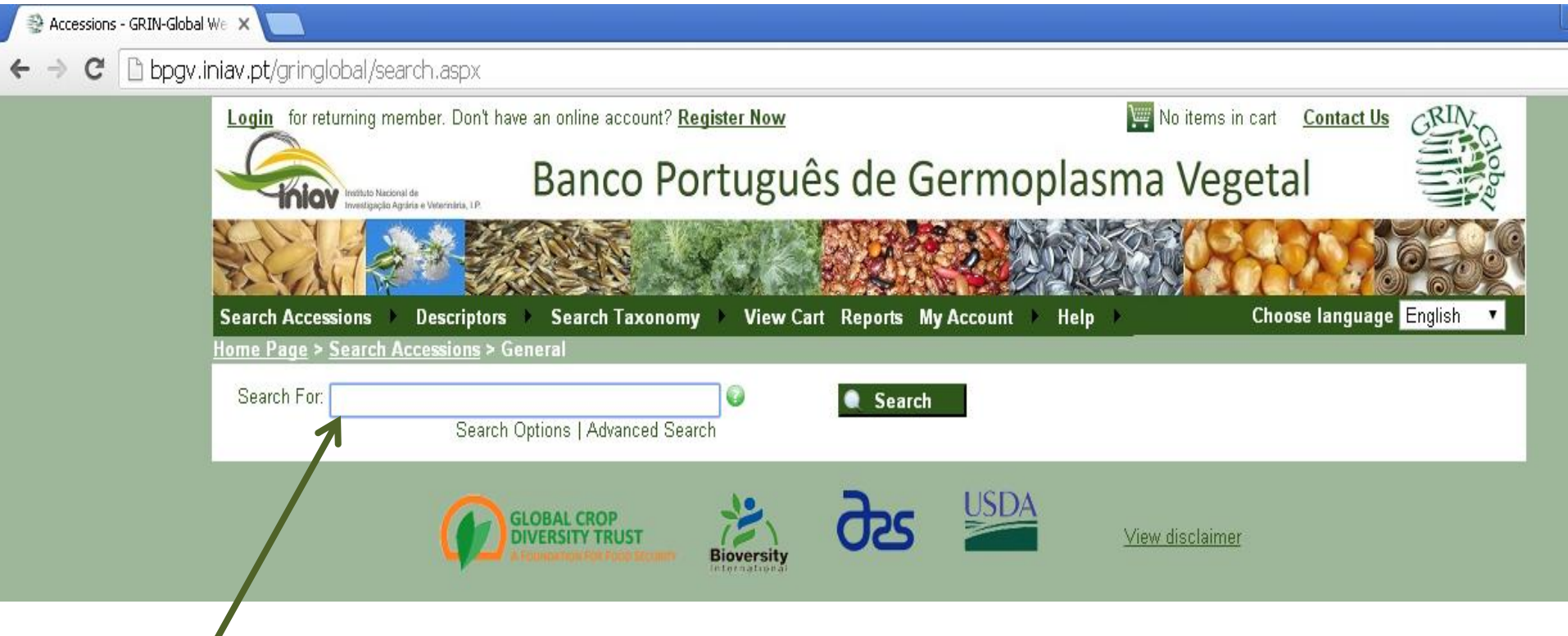


Condições Climatéricas



Plataforma: partilha de conhecimento

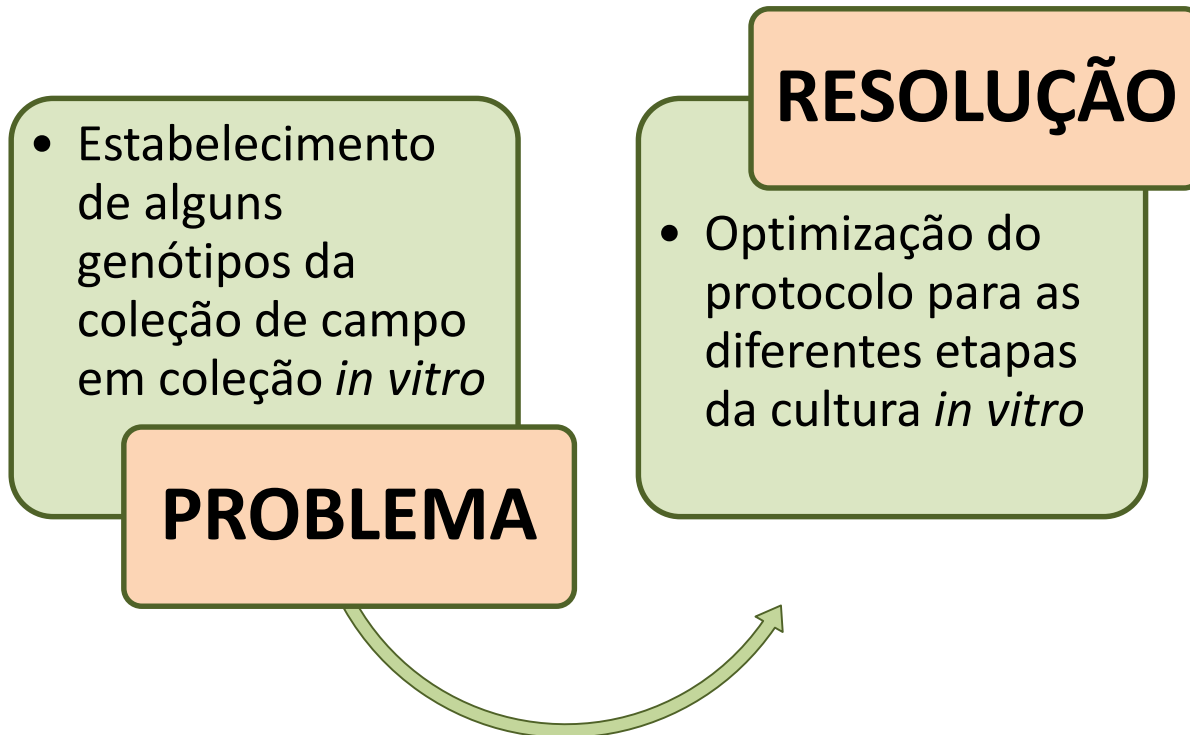
A informação relativa à identificação dos acessos/amostras, quantidade existente dos mesmos, a sua localização, os acessos caracterizados, assim como outra informação relevante encontra-se na plataforma **GRIN-Global**.



The screenshot shows a web browser window with the URL bpgv.iniav.pt/gringlobal/search.aspx. The page header includes a navigation menu with links for [Login](#), [Register Now](#), [No items in cart](#), and [Contact Us](#). The main title is "Banco Português de Germoplasma Vegetal" (Portuguese Plant Germplasm Bank). Below the title is a banner with images of various plant samples. The navigation menu includes [Search Accessions](#), [Descriptors](#), [Search Taxonomy](#), [View Cart](#), [Reports](#), [My Account](#), [Help](#), and a language selector set to [English](#). The breadcrumb trail shows [Home Page](#) > [Search Accessions](#) > [General](#). A search bar is present with the text "Search For:" and a "Search" button. Below the search bar are links for [Search Options](#) and [Advanced Search](#). The footer contains logos for the [GLOBAL CROP DIVERSITY TRUST](#), [Bioversity International](#), [daz](#), and [USDA](#), along with a [View disclaimer](#) link. A green arrow points from the bottom text to the search bar.

Alguma informação já está disponível ao público e pode ser consultada através do seguinte link: <http://bpgv.iniav.pt/gringlobal/search.aspx>

Conservação *in vitro* de lúpulo



ETAPAS

Desinfecção

- Hipoclorito de sódio (NaClO)
- Cloreto de mercúrio (HgCl₂)

Estabelecimento

- Meio de cultura sem reguladores
- Meio de cultura com reguladores (BAP e IAA)

Multiplicação

- MS sem Tidiazurão (TDZ)
- MS com Tidiazurão (TDZ)

TRATAMENTOS

10 GENÓTIPOS

- TT
- TR
- RR
- RT

ESTABELECIMENTO

DESINFECÇÃO

Hipoclorito de sódio (T)

Meio de cultura (T)

10 (TT)

Meio de cultura + Reguladores de crescimento (R)

10 (TR)

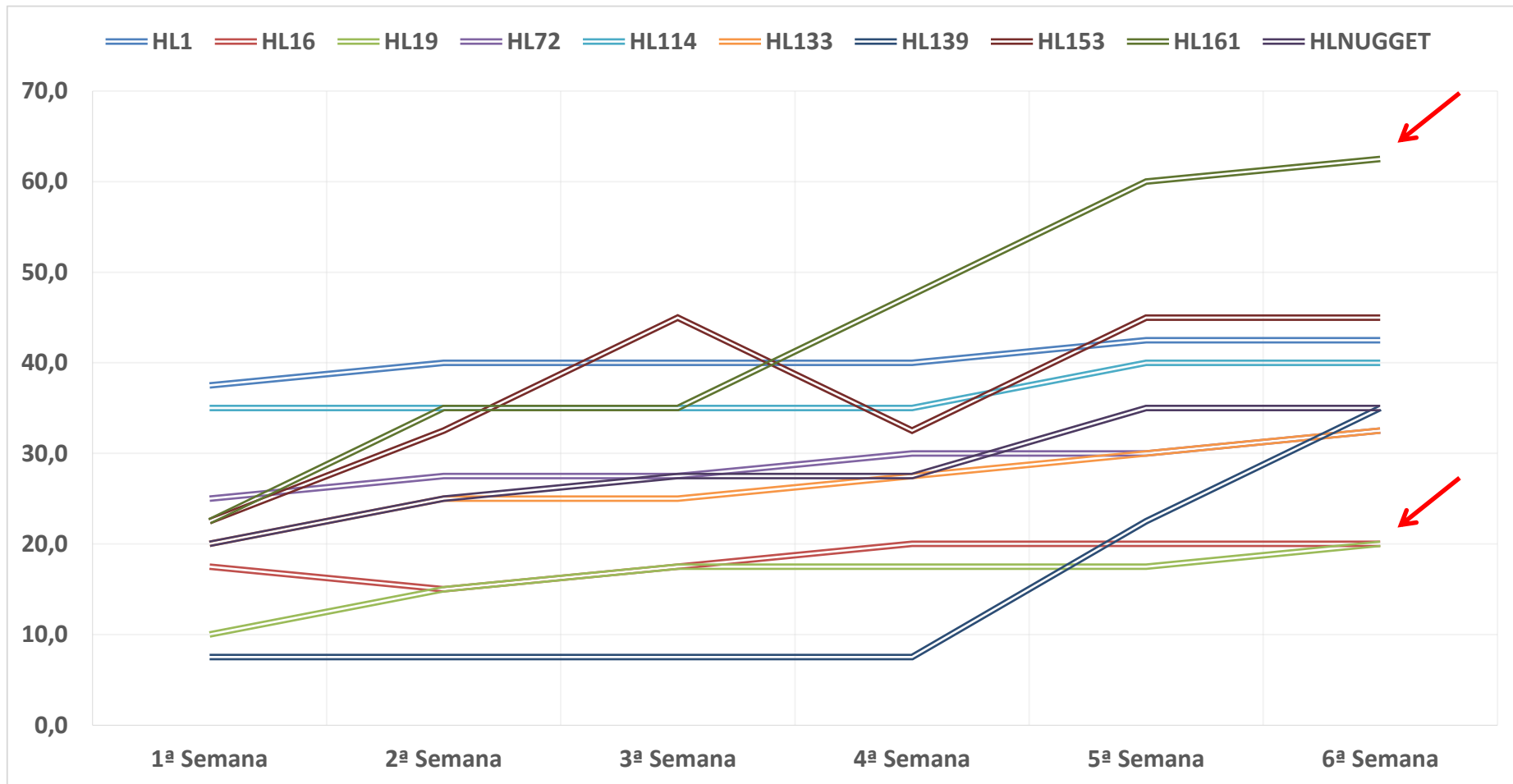
Cloreto de mercúrio (R)

10 (RT)

10 (RR)

DESINFEÇÃO

TAXA DE INFEÇÃO POR ACESSO (%)

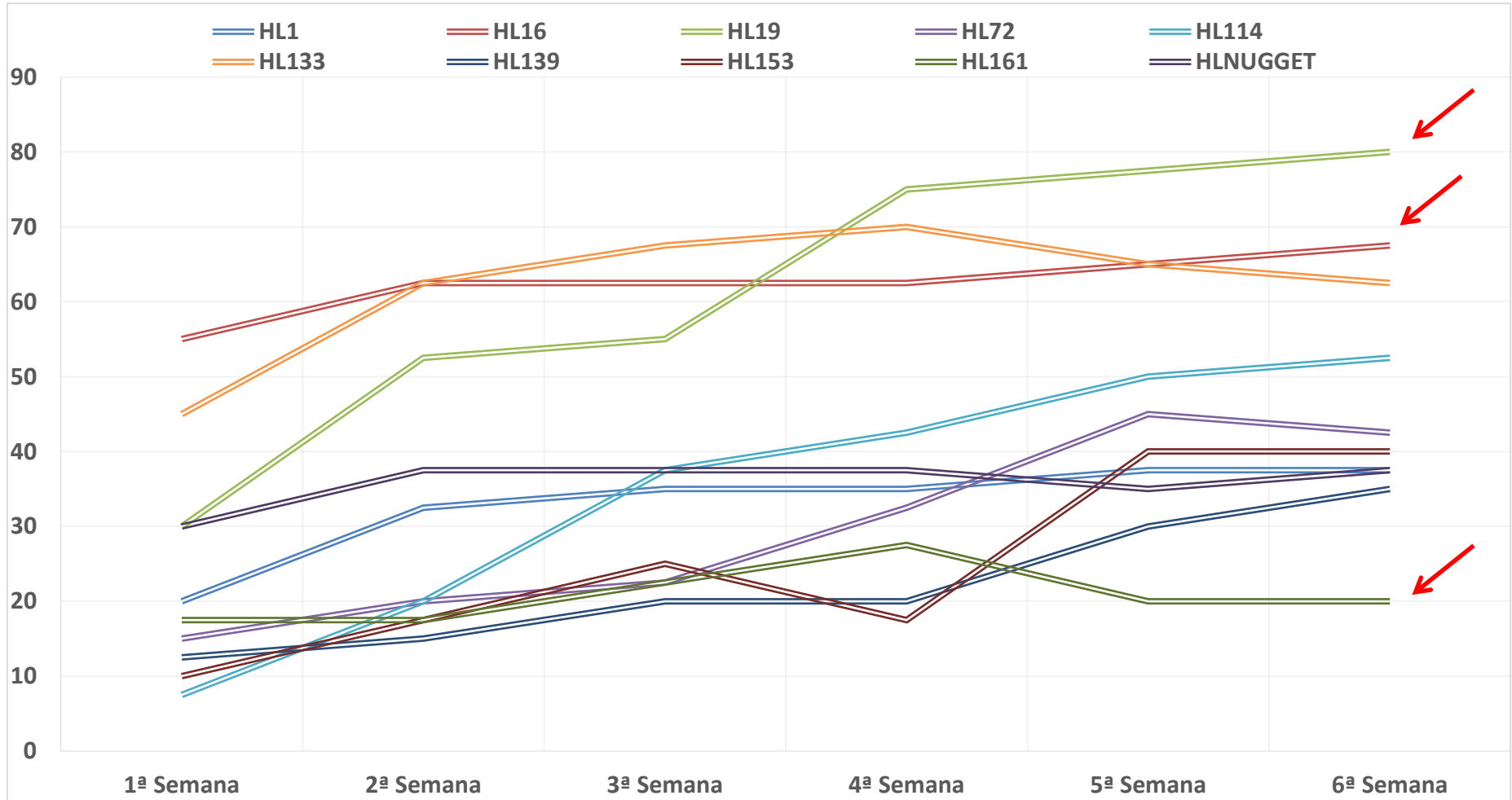


- **HL16 e HL19** com **MENOR** taxa de infecção ($\approx 20\%$)

- **HL161** com **MAIOR** taxa de infecção ($\approx 63\%$)

ESTABELECIMENTO

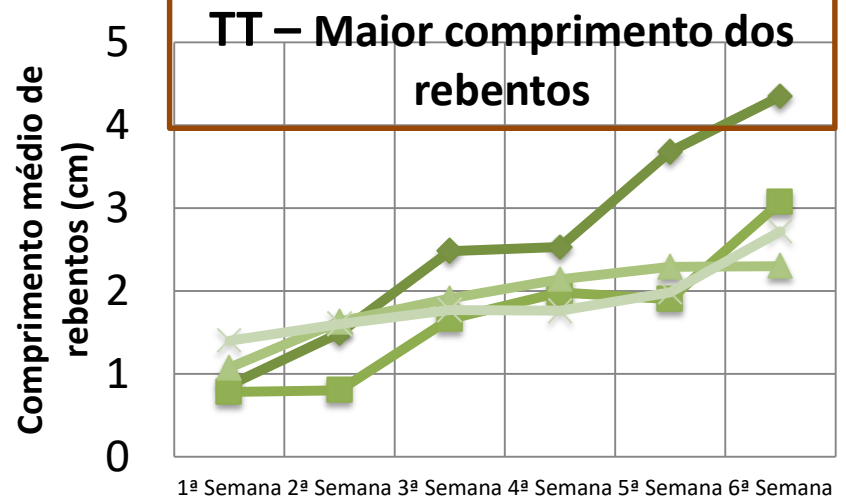
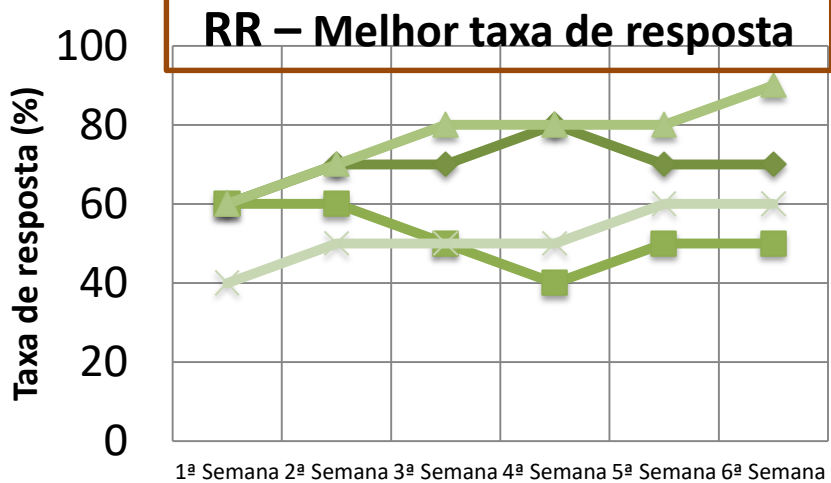
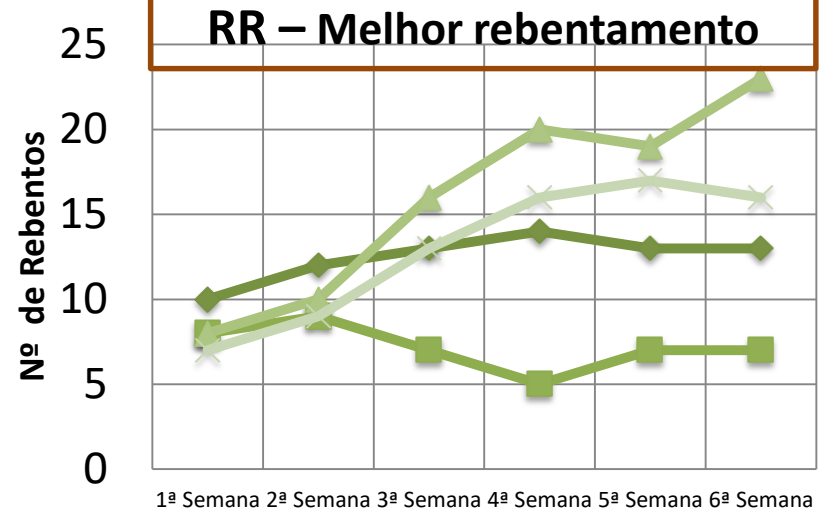
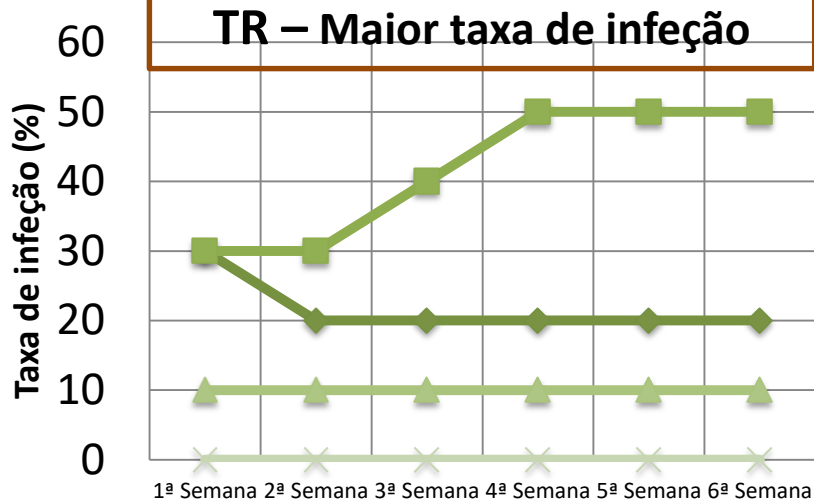
TAXA DE RESPOSTA POR ACESSO (%)



- **HL161** com **MENOR** taxa de resposta ($\approx 20\%$)
- **HL19** com **MAIOR** taxa de resposta ($\approx 80\%$)

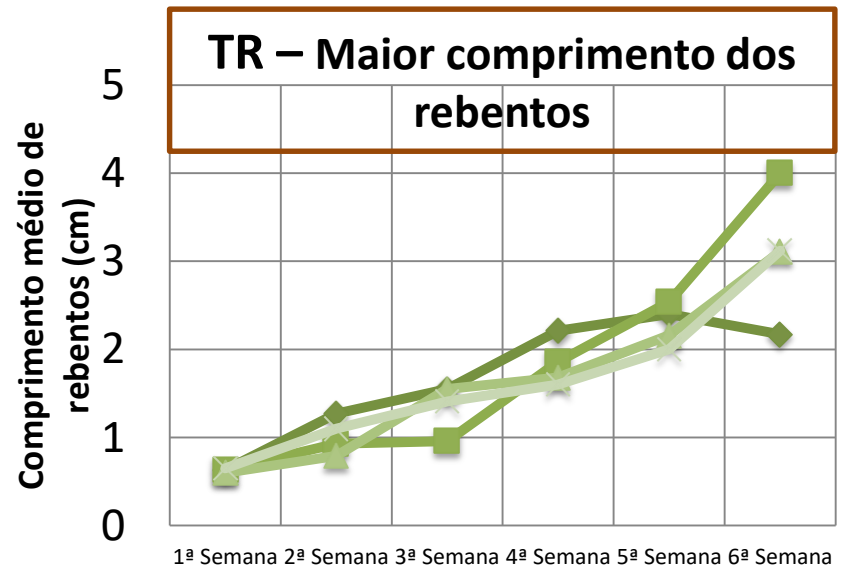
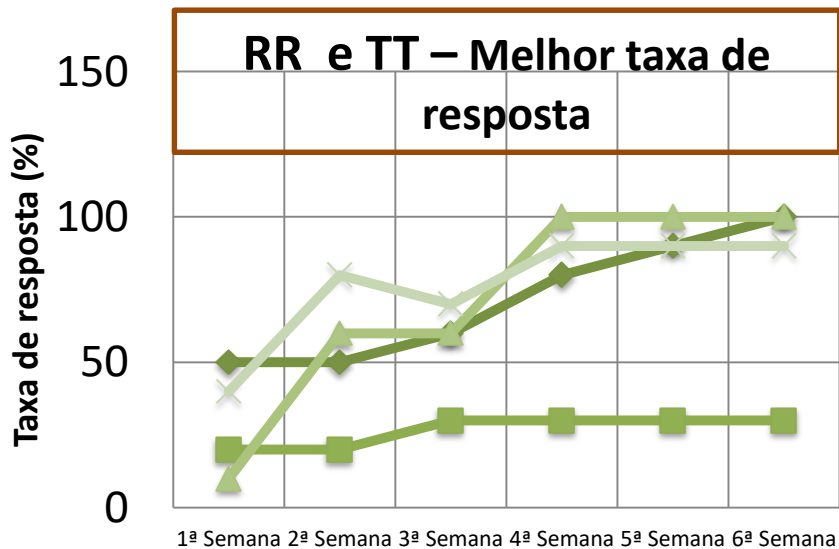
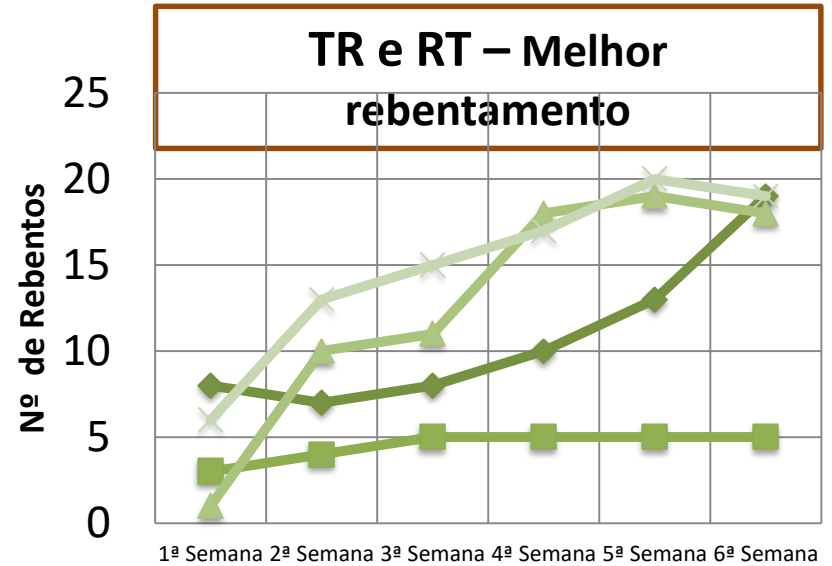
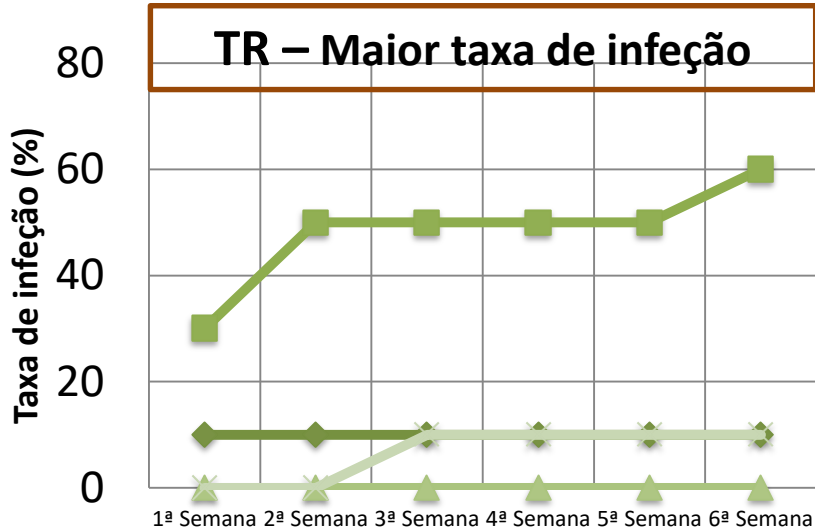
HL16 – MENOR taxa de infecção e BOA taxa de resposta

TT TR RR RT



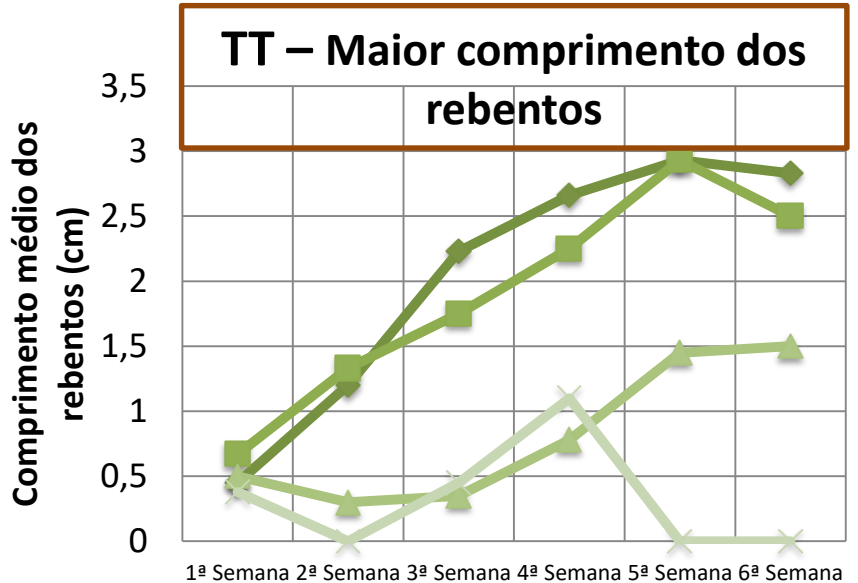
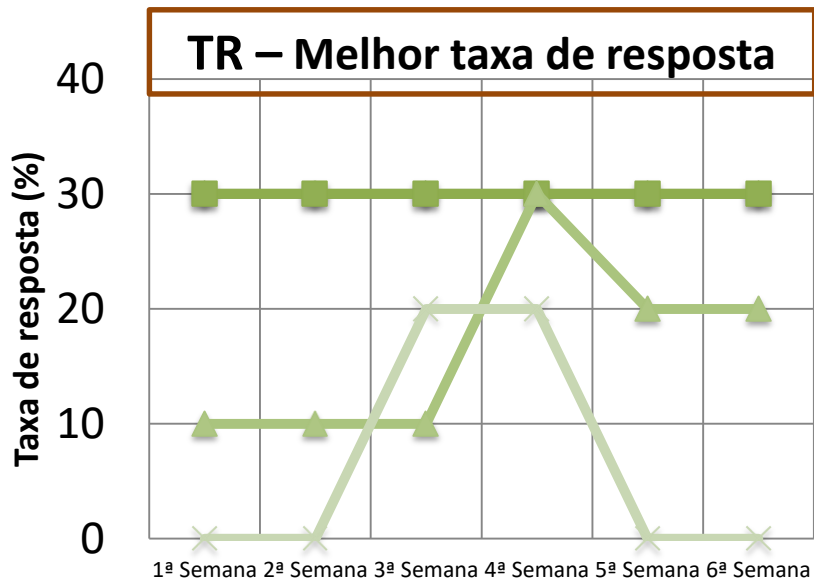
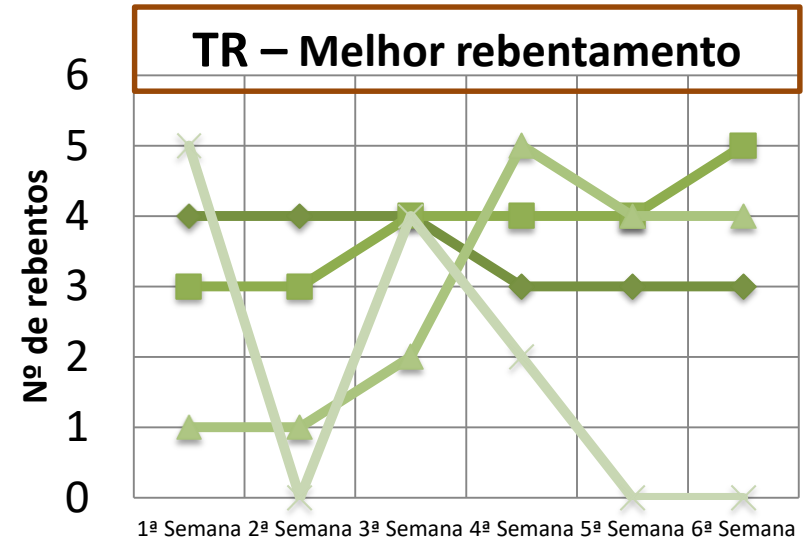
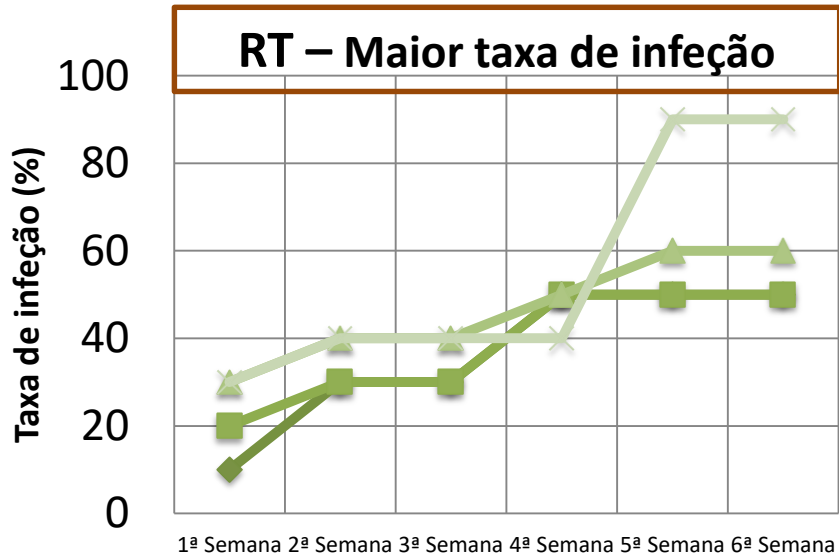
HL19 - MENOR taxa de infecção e MAIOR taxa de resposta

TT TR RR RT



HL161- MAIOR taxa de infecção e MENOR taxa de resposta

TT TR RR RT



MEIO DE CULTURA

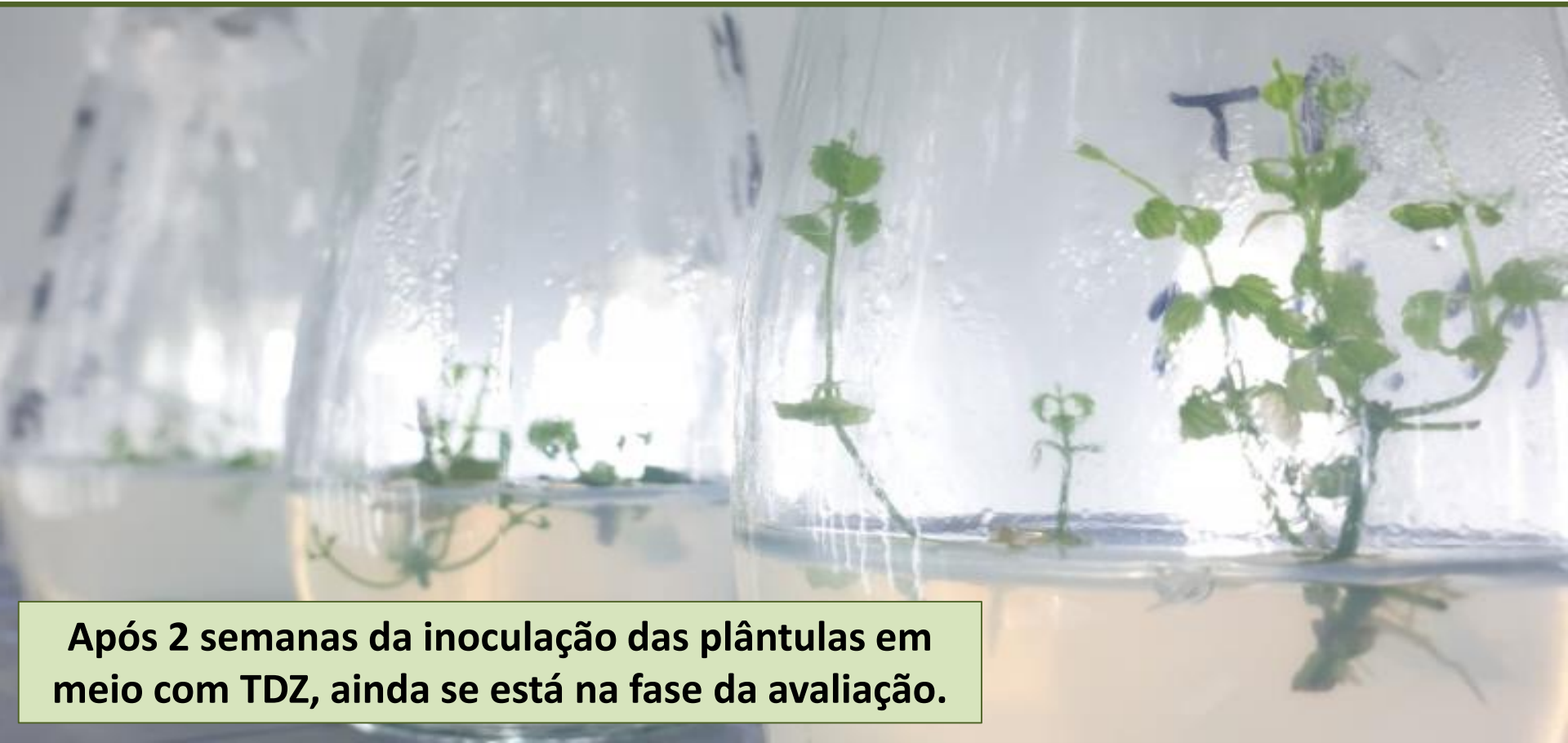


**MEIO DE CULTURA COM
REGULADORES DE CRESCIMENTO**



MULTIPLICAÇÃO

Suplementação do meio de cultura com a auxina TDZ com o objetivo de estimular o rebentamento axilar.



Após 2 semanas da inoculação das plântulas em meio com TDZ, ainda se está na fase da avaliação.

IDEIAS A RETER E CONCLUSÕES

CONSERVAÇÃO

- ❖ A estratégia de conservação a estabelecer depende da espécie a conservar e da sua via de propagação.

CONSERVAÇÃO EM CULTURA *IN VITRO*

- ❖ Cada genótipo tem a sua identidade, respondendo de maneira diferente aos tratamentos a que são submetidos.

DESINFEÇÃO

- ❖ Para a **desinfecção** dos explantes de lúpulo, o cloreto de mercúrio mostrou ser o agente desinfetante mais eficaz.

ESTABELECIMENTO

- ❖ Para o **estabelecimento**, não se verificam diferenças significativas com a suplementação do meio de cultura com os reguladores de crescimento.
- ❖ Com a suplementação do meio com os **reguladores de crescimento**, verifica-se um **maior número de rebentos e raízes** mais fortes.
- ❖ Para o **estabelecimento** da cultura, a suplementação do meio não foi indicativo de otimizações, mas para a **multiplicação** de material vegetal, é um protocolo a utilizar.

MULTIPLICAÇÃO

- ❖ Espera-se aumento na **taxa de multiplicação** com a ação do **TDZ**, mas essa ação ainda está em avaliação.



OBRIGADA!