

Protocolos de produção de material vegetal melhorado para aumento de produtividade e resiliência

Protocolo de micropropagação/conservação in vitro de espécies autóctones ameaçadas



PROJETO COLABORATIVO

1.1. Melhoramento genético e materiais florestais de reprodução



PROMOTORES

CBPBI | ALTRI | The Navigator Company | Viveiros Aliança | Viveiros do Furadouro | RAIZ



CONTACTOS

jcgoncalves@ipcb.pt; luis.fontes@altri.pt; carmen.correia@thenavigatorcompany.com



PRODUTO | PROCESSO | SERVIÇO

Serviços especializados para a gestão florestal

TRL

4 a 6

PALAVRAS-CHAVE

Hibridação · Estaca apical · Micropropagação · Enxertia · Restauro · Ecossistemas mediterrânicos · Genoma · VANT

PROPRIEDADE INTELECTUAL

Aplicável. Não existem mecanismos neste momento para exploração de direito nesta área.

SUMÁRIO

A - O carvalho-de-monchique (*Quercus canariensis*) é uma das árvores mais ameaçadas de Portugal Continental com o estatuto de Criticamente em Perigo (CR), segundo a Lista Vermelha da Flora de Portugal. As suas florestas estão gravemente ameaçadas por fatores essencialmente associados à alteração do uso do solo. Os bosquetes encontram-se muitas vezes restringidos a áreas de fundo de vale e frequentemente associadas à vegetação ripícola. A somar a estes fatores, a hibridação com o carvalho-português (*Quercus faginea*) apresenta-se como uma ameaça adicional, resultante também da dinâmica natural de transformação do clima para este elemento característico do período terciário.

Tendo em vista a conservação desta árvore, foram selecionadas sete áreas de carvalhal previamente diagnosticadas com a presença de indivíduos com morfologia afim de *Q. canariensis*, cinco em Portugal e duas em Espanha (Algeciras, Andaluzia), bem como dois carvalhais de carvalho-português, para servirem como referência para a análise molecular entre as duas espécies. Em cada população foram recolhidas amostras de 12-18 indivíduos, para estudo molecular e de análise orfométrica das folhas. Nos locais procedeu-se ainda à recolha oportunista de:

- 1) bolota para multiplicação por via seminal, que contribuiu para a obtenção de 1558 plantas, com uma taxa de germinação que variou entre 20,8% a 87,5%.
- 2) varas de indivíduos cuja morfologia sugeria elevado grau de pureza, para enxertia e micropropagação in vitro. O objetivo ulterior foi o de multiplicação de indivíduos puros para criação de pomares para produção de bolota. Por último, foi recolhida informação espectral e estrutural para analisar as manchas de carvalhais portugueses através do uso de um veículo aéreo não-tripulado (VANT) equipado com um sensor de imagem multiespectral e LiDAR. Os dados de imagem e nuvens de pontos foram posteriormente comparados com dados do terreno para avaliar o estado de conservação de cada mancha (incluindo informação da diversidade da flora, composição, estrutura, perturbações e micro-habitats).
- 3) Foram concluídos os processos de micropropagação de *Quercus canariensis* e de *Ilex aquifolium*. Estão a decorrer os ensaios de conservação por crescimento lento que preveem modalidades de conservação até um ano de conservação e dos quais foram já registados resultados aos três e seis meses.

Protocolos de produção de material vegetal melhorado para aumento de produtividade e resiliência

Protocolo de micropropagação/conservação in vitro de espécies autóctones ameaçadas

Os estudos moleculares recorreram à re-sequenciação total do genoma (WGS) de 80 indivíduos das nove populações, seguidos de análise bioinformática da estrutura das populações. Os resultados mostraram um padrão geográfico de hibridação em direção aos núcleos de Monchique com as populações periféricas dos vales do Mira e Ribeiras de Aljezur a apresentarem fortes graus de introgressão com carvalho-português. Contudo, foi notória a presença de indivíduos puros em Monchique e nos vales da ribeira do Seixe, mesmo quando em comparação com as populações do Sul de Espanha (Algeciras). Por sua vez, a recolha de bolota permitiu a germinação de plantas obtidas de *Q. canariensis*, *Q. faginea* e *Q. lusitanica*, de oito proveniências distintas. Estas irão servir para ações de restauro e de criação de meta-coleções em diferentes jardins botânicos e arboreta. Também desta produção, 91 plantas foram envasadas e conduzidas para pés mãe, das quais já foram produzidas 530 estacas apicais que deram origem a 128 plantas. Taxa de enraizamento registada entre 30% a 80%.

Adicionalmente o processo de enxertia obteve sucesso em porta-enxertos de carvalho-alvarinho (*Q. robur subsp. broteroana*) para que possa vir a ser usado a larga escala, bem como o processo de micropropagação que permitiu já obter resultados muito promissores.

Este trabalho surge como a primeira iniciativa nacional de conservação de plantas com recurso a ferramentas genómicas, combinadas com ferramentas de deteção remota e horticultura aplicados à conservação de uma espécie florestal gravemente ameaçada. Os genótipos de elevado grau de pureza, os métodos propagativos e os estudos de caracterização biogeográfica deverão agora ser direcionados, de forma integradora, para ações de criação de pomares produtores de bolota, ações de restauro e de criação de meta-coleções em diferentes jardins botânicos e arboreta. Esta visão multidisciplinar para o restauro de agrupamentos florestais raros pode ainda servir como modelo a ser usado para os ecossistemas mediterrânicos.

Protocolo de micropropagação de *Ilex aquifolium* a partir de exemplar adulto



B - Relativamente à produção de medronheiro (*Arbutus unedo*) por micropropagação, foram selecionados três clones, com base na qualidade superior dos seus frutos. No laboratório de micropropagação, foram testados dois meios de cultura, tendo o meio com o nome comercial *Woody Plant Medium* (WPM) demonstrado um desempenho superior tanto na sobrevivência como na taxa de multiplicação dos explantes. Paralelamente, têm sido avaliadas diferentes metodologias de multiplicação, incluindo o teste de distintos reguladores de crescimento (auxinas, citocininas e giberelinas), com o objetivo de maximizar a eficiência dos protocolos de propagação. Atualmente, a taxa de multiplicação global obtida é de 1,9. O protocolo de enraizamento também tem sido objeto de otimização contínua, tendo-se alcançado uma taxa de enraizamento global de 77%.

