

Seleção de genótipos de *Dendrobium* (Orchidaceae) na fase de propagação *in vitro*

Genotypes selection of *Dendrobium* (Orchidaceae) *in vitro* propagation phase

Ricardo Tadeu de Faria^{1*}; Anileda Paula Rossi de Moura Vicente²;
Thais Martins Marques Costa²; Inês Cristina de Batista Fonseca³;
Geraldo Lopes da Silva⁴; Lúcia Sadayo Assari Takahashi⁵

Resumo

O processo de hibridação artificial em orquídeas é utilizado para obtenção de novas variedades. O trabalho teve como objetivo a seleção de genótipos de *Dendrobium* favoráveis à propagação *in vitro* em escala comercial através de cruzamentos e autofecundações de plantas matrizes selecionadas. Foram utilizadas 15 plantas com características contrastantes de coloração, tamanho das flores e altura da planta; as flores polinizadas artificialmente e as sementes germinadas *in vitro* em meio MS, com metade da concentração dos macronutrientes. Foram realizados os cruzamentos: D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D9 x D2; D16 x D15; D5 x D9; D14 x D7; D7 x D14; D4 x D9; D6 x D9; D3 x D8; e as autofecundações: Df22; D7; D5; D21; D2; D15; D8; D23; D3 e D6. As plantas resultantes do cultivo foram avaliadas para as características: altura da planta, número de raízes, peso das massas fresca e seca total. Os melhores resultados para as características analisadas foram observados nos cruzamentos D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D16 x D15 e D14 x D7, e nas autofecundações Df22 e D7.

Palavras-chave: *Dendrobium*, hibridação, propagação *in vitro*, cultura de tecidos.

Abstract

The process of artificial hybridization in orchids is used to obtain new varieties. The objective of the present paper was to select genotypes of *Dendrobium* favourable for *in vitro* propagation for commercial utilization through crossings and self polinization of selected matrice plants. Fifteen different plants with contrasting colors, flower sizes and plant heighs were used; the flowers were artificially polinated and the seeds germinated *in vitro* on MS medium, with half concentration of nutrients. The following crossings were made D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D9 x D2; D16 x D15; D5 x D9; D14 x D7; D7 x D14; D4 x D9; D6 x D9; D3 x D8; and the self polinizations: Df22; D7; D5; D21; D2; D15; D8; D23; D3 and D6. The obtained

¹ Professor Adjunto do Departamento de Agronomia na Universidade Estadual de Londrina. Fone/Fax: (43) 3371-4697. Email: faria@uel.br

² Acadêmica de Agronomia da UEL

³ Eng^a Agr^a, Dr^a, Professora Adjunta do Departamento de Agronomia da UEL

⁴ Técnico do Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Agronomia da UEL

⁵ Eng^a Agr^a, Doutoranda, Professora Adjunta do Departamento de Agronomia da UEL.

* Autor para correspondência

plants were evaluated for: plant height, number of roots, fresh and dry matter weight. The best results was observed in the following crosses D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D16 x D15 and D14 x D7 and for self pollinizations Df22 and D7.

Key words: *Dendrobium*, hybridization, *in vitro* propagation, tissue culture.

Introdução

A família Orchidaceae é uma das maiores entre as Angiospermas, constituída por cerca de 700 gêneros e 30.000 espécies diferentes. As orquídeas são encontradas em estado nativo em todos os continentes e nos mais variados climas, com exceção das regiões polares e de desertos extremamente secos. São abundantes nas regiões quentes e úmidas crescendo nos troncos das árvores, nas folhas em decomposição do chão das florestas, nas rochas das montanhas, nos cerrados e campos secos e quentes. Nos países de clima temperado predominam as terrestres e nos de clima quente as epífitas e as rupícolas (MILLER; WARREN, 1996).

As orquídeas do gênero *Dendrobium* são originárias da Índia, podendo ser encontradas na Ásia tropical e subtropical, prolongando-se para leste até as ilhas Fiji e sul da Austrália, com mais de 1500 espécies. O florescimento deste gênero ocorre geralmente na primavera, muitas delas necessitando de baixas temperaturas, no mínimo 10°C durante uma semana, para a indução do florescimento (SUTTLEWORTH et al., 1994).

A hibridação de orquídeas realizada de forma artificial em casa de vegetação visa a produção de cultivares de interesse comercial que apresentem alto vigor, grande número de flores e variabilidade de cores (PRAKASH; GOH, 1996). Segundo Davidson (1994), a hibridação do gênero *Dendrobium* é realizada para propiciar a floração precoce, estender a época de floração, expandir o número de flores, cores e formas.

Para a obtenção de linhagens puras do gênero *Dendrobium* há necessidade de um longo período, assim, é comum no melhoramento genético o cruzamento e autofecundação entre híbridos selecionados, visando à obtenção de novos cultivares.

Através da hibridação é possível a obtenção de sementes viáveis, tanto de cruzamentos interespecíficos quanto de cruzamentos intergenéricos taxonomicamente afins (KERBAUY, 1995).

Muitos trabalhos de hibridação tem sido realizados, assim existem mais espécies híbridas do que naturais. Isso ocorre devido à dificuldade que a planta encontra para propagar no meio ambiente natural, devido à depredação do seu habitat e à especificidade de fecundação (LUDUVIG, 1993).

Para a propagação de orquídeas em larga escala é fundamental a seleção de genótipos e o estabelecimento de meios de cultura adequados para a sua germinação e crescimento em condições de laboratório (KERBAUY, 1995; ARDITTI; ERNEST, 1990).

A propagação *in vitro* de *Dendrobium nobile*, visando a otimização da multiplicação, foi realizada por vários pesquisadores, principalmente com o objetivo de selecionar os meios de cultura adequados (INTUWONG; SAGAWA, 1975; SAGAWA; SHOJ, 1967; KUKULCZANKA; WOJCIECHOWSKA, 1983). Santinder e Sarma (1997) observaram que o meio de cultura mais adequado para a propagação *in vitro* de *Dendrobium* foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) utilizando a metade da concentração dos macronutrientes e acrescido com 1g L⁻¹ de carvão mineral.

O presente trabalho teve por objetivo a seleção de genótipos de *Dendrobium* favoráveis para a propagação *in vitro*, resultantes de cruzamentos e autofecundações de plantas matrizes selecionadas.

Material e Métodos

As plantas matrizes de *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*) utilizadas nesse trabalho vieram de produtores da Holambra e selecionadas de acordo

com características comerciais como coloração, número de flores, porte da planta, época de florescimento e tamanho das flores. Foram utilizadas 14 plantas de *Dendrobium nobile* e uma planta de *Dendrobium fimbriatum* Hook (Df22) para a realização dos cruzamentos e autofecundações, identificadas como: D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D11, D14, D15, D16, D21, Df22 e D23.

As plantas foram polinizadas artificialmente, e, após nove meses, obtidas as cápsulas contendo as sementes dos cruzamentos e autofecundações (Tabela 1). As sementes foram germinadas em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com a metade da concentração dos macronutrientes.

Tabela 1. Cruzamentos e autofecundações realizadas com *Dendrobium*. Londrina, 2001.

Cruzamentos	Autofecundações
D9 x D7	D2
D11 x Df22	D3
D6 x D15	D5
D9 x D2	D6
D16 x D15	D7
D5 x D9	D8
D14 x D7	D15
D7 x D14	D21
D4 x D9	Df22
D6 x D9	D23
D3 x D8	

As plântulas obtidas no processo de germinação foram transferidas para o meio de cultura, descrito para *Dendrobium* (MURASHIGE; SKOOG 1962) com a metade da concentração dos macronutrientes e acrescido de 1g/L de carvão (SANTINDER; SARMA, 1997), e colocadas em 50 mL de meio de cultura em cada frasco de vidro de 250 mL. Em seguida, inoculadas cinco plântulas por frasco com

cinco repetições para cada genótipo, totalizando 25 plântulas por tratamento. A inoculação das plântulas foi realizada em câmara de fluxo laminar. Os frascos foram etiquetados e vedados com filme de PVC e mantidos em ambiente com fotoperíodo de 16 horas de luz (lâmpada fluorescente) e temperatura de 22°C durante cinco meses.

As características avaliadas foram: altura da planta, número de raízes, peso das massas fresca e seca.

Os dados obtidos para altura das plantas, número de raízes, peso das massas fresca e seca foram submetidos à análise de variância e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A partir dos dados obtidos foi possível verificar que os melhores resultados para as características altura da planta, número de raízes, peso da matéria fresca e peso da matéria seca durante a propagação *in vitro* ocorreram nos cruzamentos: D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D16 x D15 e D14 x D7 com médias de crescimento em altura de $5,33 \pm 0,62$ cm e autofecundações: Df22 e D7 com médias de crescimento de $4,51 \pm 0,09$ cm (Tabela 2).

Para a variável altura, os maior valores foram observados nos cruzamentos D9 x D7 ($6,10 \pm 2,79$ cm) e D11 x Df22 ($6,00 \pm 1,67$ cm), embora não tenham diferido estatisticamente dos cruzamentos D6 x D15, D9 x D2, D16 x D 15, D5 x D9, D14 x D7 e D7 x D14, e o menor no cruzamento D3 x D8 com $3,53 \pm 1,26$ cm. Nas autofecundações, as maiores alturas ocorreram nas plantas D7 ($4,42 \pm 1,52$ cm) e Df22 ($4,60 \pm 1,29$ cm) e a menor na planta D6 ($2,38 \pm 0,55$ cm) (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de altura da planta, número de raízes, peso da matéria fresca e peso da matéria seca das progênies dos cruzamentos e autofecundações de plântulas de *Dendrobium* após cinco meses do início do experimento. Londrina, 2001.

Genótipos	Características			
	Altura (cm)	Número de raízes	Peso da matéria fresca (g)	Peso da matéria seca(g)
D9 x D7	6,10 a	5,20 abc	1,09 abcd	0,08 abc
D11 x Df22	6,00 a	8,45 a	1,95 a	0,12 a
D6 x D15	5,25 ab	8,10 ab	1,73 ab	0,11 ab
D9 x D2	5,00 abc	6,05 abc	0,95 bcd	0,07 abc
D16 x D15	4,69 abcd	7,25 abc	1,88 a	0,12 a
D5 x D9	4,66 abcd	4,85 abc	0,84 bcd	0,08 abc
D14 x D7	4,61 abcd	5,40 abc	1,37 abc	0,09 abc
Df22	4,60 abcd	8,50 a	1,08 abcd	0,07 abc
D7 x D14	4,44 abcd	3,15 bc	1,33 abc	0,09 abc
D7	4,42 abcd	8,65 a	1,27 abcd	0,09 abc
D5	4,08 bcde	8,70 a	1,07 abcd	0,07 abc
D21	3,91 bcde	3,87 abc	0,78 cd	0,05 abc
D4 x D9	3,90 bcde	5,30 abc	0,89 bcd	0,06 abc
D6 x D9	3,79 bcde	4,25 abc	0,85 bcd	0,06 abc
D2	3,74 bcde	4,30 abc	1,35 abc	0,09 abc
D15	3,68 bcde	8,30 ab	1,33 abc	0,08 abc
D3 x D8	3,53 bcde	5,93 abc	1,25 abcd	0,07 abc
D8	3,41 bcde	7,55 abc	0,79 cd	0,05 abc
D23	3,12 cde	4,25 abc	0,82 bcd	0,06 abc
D3	2,90 de	2,80 c	0,75 cd	0,04 bc
D6	2,38 e	4,25 abc	0,41 d	0,03 c
DMS=1,89		DMS=0,15	DMS=0,92	DMS=0,07
CV=16%		CV=32%	CV=30%	CV=35%

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O crescimento em altura do cruzamento D9 x D7 ($6,10 \pm 2,79$ cm) comparativamente a autofecundação D6 ($2,38 \pm 0,55$ cm), mostrou uma grande diferença para essa característica (Tabela 2).

O cruzamento interespecífico D11 x Df22 apresentou os melhores resultados para todas as características analisadas. Ghoshal (1997), também, obteve sementes viáveis nos cruzamentos interespecíficos entre *Dendrobium crepidatum*, *Dendrobium transparens* e *Dendrobium pierardii*.

Em *Dendrobium* é comum a esterilidade em cruzamentos interespecíficos e autofecundações. Johansen (1990) observou que 72% das 1700 polinizações realizadas foram incompatíveis. No melhoramento genético de orquídeas, além dos

cruzamentos interespecíficos e intraespecífico, também foram realizados com sucesso hibridizações intergenéricas do gênero *Vanda* com o gênero *Arachis* (LEE et al., 1995).

No cruzamento recíproco das plantas D14 e D7, não houve diferenças significativas para as variáveis analisadas, não tendo sido constatada herança citoplasmática (Tabela 2).

As progênies derivadas dos cruzamentos e autofecundações apresentaram homogeneidade para as variáveis analisadas dentro de cada repetição. Os genótipos que apresentaram os melhores resultados para todas as variáveis analisadas são os mais indicados, nas condições estabelecidas, para a propagação *in vitro* em escala comercial.

Conclusão

Os cruzamentos D9 x D7; D11 x Df22; D6 x D15; D16 x D15 e D14 x D7 e as autofecundações Df22 e D7 foram os mais favoráveis para a propagação *in vitro* de *Dendrobium*.

Referências

- ARDITTI, J.; ERNEST, R. *Micropropagation of orchids*. New York: John Wiley & Sons, 1990.
- DAVIDSON, B. *Dendrobium* breeding trends. *American Orchid Society Bulletin*, West Palm Beach, v.63, p.638-645, 1994.
- GOSHAL, K. K. Genetic improvement of ornamental plants. *Journal of Interacademia*, Cambridge, v.1, p.1-6, 1997.
- INTUWONG, O.; SAGAWA, Y. Clonal propagation of *Dendrobium golden wave* and other *nobile* types. *American Orchid Society Bulletin*, West Palm Beach, v.28, p.319-322, 1975.
- JOHANSEN, B. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, London, v.103, p.165-196, 1990.
- KERBAUY, G. B. Biofábrica de orquídeas. In: GERALD, L. T. S. (Ed.). *Biofábrica produção industrial de plantas "in vitro"*. Araras: UFSCar, 1995. p.22-24.
- KUKULCZANKA, K.; WOJCIECHOWSKA, U. Propagation of two *Dendrobium* species by "in vitro" culture. *Acta Horticulture*, The Hague, n.131, p.105-111, 1983.
- LEE, Y. H.; VAINSTEIN, A.; WEISS, D. Intergeneric hybridization in vandaceous orchid breeding. Ornamental plant improvement: classical and molecular approaches. In: EUCARPIA SYMPOSIUM, SECTION ORNAMENTALS, 17., Tel Aviv, Israel, 5-9 March. *Acta Horticulture*, The Hague, n.420, p.129-131, 1995.
- LUDUVIG, M. M. Orquídeas: belas, valiosas e fáceis de cultivar. *A Granja*, Porto Alegre, n.538, p.58-62, 1993.
- MILLER, D.; WARREN, R. *Orquídeas do alto da serra da Mata Atlântica pluvial do sudeste do Brasil*. São Paulo: Salamandra, 1996.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium of rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, n.15, p.473-479, 1962.
- PRAKASH, L. C. L.; GOH, C. J. In vitro propagation of commercial orchids: an assessment of current methodologies and development of a novel approach thin section culture. *Journal of the Orchid Society of India*, Bangalore, v.10, p.31-41, 1996.
- SAGAWA, Y.; SHOJ, T. Clonal propagation of *Dendrobium* through shoot meristem culture. *American Orchid Society Bulletin*, West Palm Beach, v.36, p.856-859, 1967.
- SANTINDER, K.; SARMA, C. M. Selection of best medium for in vitro propagation of *Dendrobium lindleyi* Steud. *Advancing Frontiers of Plant Sciences*, New Delhi, v.10, p.1-5, 1997.
- SUTTLEWORTH, F. S.; HEBERT, S. Z.; GORDON, W. D. *Orquídeas: guia dos orquidófilos*. 5.ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1994.

