

## Micropropagação de antúrio 'IAC Eidibel' por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plantas<sup>(1)</sup>

MARCOS VINÍCIUS MARQUES PINHEIRO<sup>(2)</sup>; GABRIELEN DE MARIA GOMES DIAS<sup>(2)</sup>; ANA CRISTINA PORTUGAL PINTO DE CARVALHO<sup>(3)</sup> e LEVI DE MOURA BARROS<sup>(3)</sup>

### RESUMO

Na micropropagação comercial de antúrio as mudas são produzidas via organogênese indireta, podendo gerar variantes somaclonais. Visando reduzir este problema, o objetivo do trabalho foi obter um protocolo de multiplicação *in vitro*, por meio da indução ao estiolamento e posteriormente regeneração de plantas, em *A. andraeanum* var. IAC Eidibel. No estiolamento, segmentos caulinares desfolhados, com 3 a 5 gemas, foram inoculados em tubos de ensaio contendo os meios MS e Pierik, sem auxinas ou acrescido de AIA, AIB ou ANA na concentração de 10  $\mu\text{M}$ . As culturas foram mantidas em câmara de crescimento, a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , no escuro, por 60 dias. Na regeneração de plantas, brotos estiolados seccionados em segmentos contendo dois nós, foram inoculados horizontalmente em tubos de ensaio, contendo os mesmos meios, com diferentes concentrações de BAP (0; 2,22; 4,44; 6,66  $\mu\text{M}$ ). As culturas foram mantidas em câmara de crescimento com intensidade luminosa de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , sob fotoperíodo de 16 horas, temperatura a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 60 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para o estiolamento, o meio Pierik foi superior para as características: comprimento do broto, número de nós/broto, número total de nós/explante e distância entre os nós. Os meios sem a adição de auxina diferiram daqueles contendo 10  $\mu\text{M}$  de ANA, para todas as variáveis. Na regeneração das mudas, as menores taxas de multiplicação foram registradas nos meios sem BAP. Recomenda-se meio Pierik sem auxina para o estiolamento; e, para regeneração das mudas, o mesmo meio acrescido de 2,22  $\mu\text{M}$  de BAP.

**Palavras-chave:** Araceae, floricultura, cultura de tecidos, variação somaclonal.

### ABSTRACT

#### *Anthurium* 'IAC Eidibel' micropropagation by etiolation induction and plantlets regeneration

The commercial micropropagation of *Anthurium* has been made by indirect organogenesis, which can generate somaclonal variations. Aiming to reduce this problem, the objective of this work was to develop a protocol for *in vitro* multiplication of *A. andraeanum* var. IAC Eidibel by etiolation and following plantlets regeneration. For etiolation, individual stem segments without leaves, with 3 to 5 buds, were inoculated in test tube with 10 mL of MS or Pierik media, without auxin or with IAA, IBA or NAA at 10  $\mu\text{M}$ . The cultures were kept for 60 days at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , in the dark. For plantlet regeneration, etiolated shoots were divided in segments of two buds and inoculated individually, in horizontal position, in test tubes with the same media, with BAP at 0; 2.22  $\mu\text{M}$ ; 4.44  $\mu\text{M}$  or 6.66  $\mu\text{M}$ . The cultures were kept in growth room under  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  of light intensity, photoperiod of 16 hours and temperature of  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , for 60 days. The ANOVA was made and the means were compared by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). For the etiolation, Pierik medium was better than the MS medium for the following parameters: shoot length, number of node/shoot, total number of node/explant and internode length. The media without auxin differed from the media with NAA at 10  $\mu\text{M}$  for all analyzed parameters. For plantlets regeneration, the media without BAP resulted in lower multiplication rates. It is recommended Pierik medium without auxin for etiolation, and the same medium added with BAP at 2.22  $\mu\text{M}$ , for plantlet regeneration.

**Keywords:** Araceae, floriculture, plant tissue culture, somaclonal variation.

### 1. INTRODUÇÃO

Embora ainda com pouca tradição no mercado internacional de flores e plantas ornamentais, o Brasil tem aumentado significativamente sua participação, nos últimos 5 anos, devido às crescentes exportações para os Estados Unidos da América e países da Europa e Ásia. Apesar da produção deste segmento ainda esteja muito concentrada no Estado de São Paulo (70%), ultrapassando 6,5 mil hectares de área plantada em 2006, vem se expandindo para outros estados brasileiros. Da produção

restante, 25%, ocorre nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná, enquanto que 5% é registrada nos pólos criados nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste (ROCHA, 2006). Particularmente no Ceará, as flores e plantas ornamentais produzidas no Estado são atualmente, exportadas para Holanda, Estados Unidos da América, Portugal e Alemanha, e começam a conquistar mercados de outros países, como Espanha, Rússia, Suíça e Nova Zelândia (CASTRO, 2007).

Entre as espécies produzidas destacam-se os antúrios,

<sup>(1)</sup> Parte da Monografia do primeiro autor, apresentada no Departamento de Fitotecnia do Curso de Agronomia, UFC. Financiada pela Embrapa. Recebido para publicação em 25/06/2008 e aceito em 22/11/2010.

<sup>(2)</sup> Aluno do curso de Agronomia da UFC, Campus do Pici, 60455-760 Fortaleza-CE; E-mail: maevini@gmail.com; gabriellen@gmail.com.

<sup>(3)</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Bairro Pici, 60511-110 Fortaleza-CE. E-mail: cristina@cnpat.embrapa.br; levi@cnpat.embrapa.br.

pertencentes à família Araceae, gênero *Anthurium* no qual estão incluídas mais de 600 espécies, muitas delas herbáceas tropicais, originárias das regiões quentes e centrais da América do Sul (TOMBOLATO et al., 1998). Do ponto de vista comercial, a principal espécie do gênero, *Anthurium andraeanum* Linden, sobrepuja às demais pela preferência do consumidor como planta ornamental, devido ao tamanho, colorido e durabilidade pós-colheita de suas inflorescências (TOMBOLATO et al., 2004). LEME (2004) menciona que entre as variedades nacionais, 'IAC Eidibel' é altamente produtiva, possuindo inflorescências com formato, brilho e longevidade pós-colheita que favorecem a sua aceitação pelos consumidores. Além disso, suas inflorescências são de coloração vermelho forte, cor de maior demanda de mercado entre as flores de corte. Esses fatores possibilitaram que essa variedade se tornasse, atualmente, a mais cultivada em todo o Brasil.

A produção de antúrio concentra-se em regiões subtropicais, como no do Vale do Ribeira, Holambra e Atibaia, em São Paulo, e tropicais, como na região Nordeste. Dentre os estados do Nordeste destacam-se Pernambuco, Ceará e Bahia. Nos últimos anos, a produção de antúrio, no Brasil, tem apresentado crescente expansão e, apesar da maior parte ser absorvida pelo mercado interno, o restante vem sendo exportado para a Europa, Japão e Estados Unidos (PIZANO, 2008).

Um dos fatores de produção mais importantes em qualquer cultivo é a qualidade da muda, principalmente quando a comercialização do produto é dependente da apresentação, como no caso da floricultura. Mudanças produzidas em laboratório têm, normalmente, a qualidade requerida na floricultura. A obtenção dos propágulos é feita principalmente pelo método de proliferação de gemas axilares, podendo ocorrer simultaneamente formação de gemas adventícias. Entretanto, conforme GRATTAPAGLIA e MACHADO (1998), sob o aspecto da integridade clonal, as gemas adventícias são desejáveis como sistema de multiplicação, desde que a formação de calo seja mínima ou nula.

Por ser um processo assexuado, possibilitando a multiplicação rápida, em período curto de tempo e espaço reduzido, a micropropagação é a modalidade da cultura de tecidos que tem predominado na produção comercial de plantas, além disso, mantém a identidade genética do material propagado (FUZITANI e NOMURA, 2004) e as mudas obtidas apresentam alta qualidade fitossanitária, isto é, são livres de pragas e de doenças. Na micropropagação comercial de antúrio, as mudas são obtidas por organogênese indireta, isto é, a partir da indução de calos, utilizando-se como explante inicial, na maioria das vezes, folhas, com posterior regeneração de gemas adventícias, podendo assim, resultar na formação de mudas com variação somaclonal. NHUT et al. (2006) identificaram como sendo a etapa mais difícil neste processo de propagação, a indução de calos a partir do explante foliar, devido à pequena capacidade de desdiferenciação dos tecidos adultos, bem como a forte dependência do genótipo. Sendo assim, visando reduzir a formação de calos, utilizou-se a técnica do estiolamento *in vitro* como alternativa para a obtenção de mudas micropropagadas de antúrio.

O estiolamento é uma técnica em que se obtém o desenvolvimento de brotos, caules ou partes desses, na ausência de luz, o que causa crescimento, geralmente alongado e com coloração amarela ou branca em razão da ausência de clorofila (HARTMANN e KESTER, 1990). O estiolamento retarda a lignificação dos tecidos e essa redução das propriedades mecânicas dos tecidos é responsável pela facilidade de enraizamento provocada nas brotações estioladas (BASSUK e MAYNARD, 1987).

A micropropagação por meio de segmentos nodais estiolados *in vitro* foi proposta por KISS et al. (1995), sendo desenvolvida inicialmente para o abacaxizeiro comestível (*Ananas comosus* var. *comosus*). Este método tem a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo e/ou reduzindo a formação de calo e, conseqüentemente, proporcionando baixos níveis de variabilidade fenotípica. Embora, a produção de mudas *in vitro* por esta técnica já tenha sido relatada para algumas culturas ornamentais, tais como abacaxi ornamental (CARVALHO et al., 2005) e orquídeas (RAMOS e CARNEIRO, 2007), não se dispõe, na literatura, de informações em relação ao antúrio.

Visando otimizar a propagação *in vitro*, o trabalho objetivou desenvolver um protocolo de estiolamento e regeneração de plantas para *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Genética Vegetal da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará, e desenvolvido de setembro de 2006 a janeiro de 2007.

### Estiolamento

Foram utilizadas mudas de *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel, estabelecidas *in vitro*, a partir da indução de calogênese em folhas jovens. Os explantes foram obtidos a partir dessas mudas, cortando-as em segmentos caulinares (microestacas) com tamanho aproximadamente de 5 cm, contendo, em média, de três a cinco nós, que foram totalmente desfolhados.

Os meios de cultura utilizados foram Pierik (PIERIK, 1976) e MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementados, respectivamente, com 20 e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificados com ágar a 5,5 g L<sup>-1</sup>, e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a 121°C, por 15 minutos.

Em capela de fluxo laminar, os explantes foram inoculados, perpendicularmente, um por tubo de ensaio (de dimensões de 150 mm x 25 mm), contendo 10 mL de meio de cultura. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento a 25 ± 1°C, permanecendo no escuro por 60 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4, onde foram avaliados dois meios de cultura (MS e Pierik) e três auxinas (AIA – ácido indolacético, AIB – ácido indolbutírico e ANA – ácido naftalenoacético a 10 µM) e o controle (sem auxina – regulador de crescimento), totalizando oito tratamentos, com seis repetições de cinco tubos de ensaio.

As avaliações foram efetuadas aos 60 dias após a inoculação

dos explantes, observando-se o número de brotos estiolados por explante (segmento caulinar), número de nós por broto; comprimento de brotos e distância entre os nós, obtida através da divisão do comprimento dos brotos pelo número de nós por broto estiolado. O número total de nós por explante foi obtido a partir da multiplicação do número de brotos estiolados/explante pelo número de nós/broto estiolado.

Os dados referentes ao número de brotos estiolados por explante e número de nós por broto foram transformados para a raiz quadrada de  $(x + 0,5)$ , submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

### Regeneração

Para a regeneração das mudas foram utilizados, como explantes, brotos estiolados *in vitro*, após 60 dias de cultivo no meio Pierik sem regulador de crescimento. A escolha desses brotos foi em função do maior número total de nós formados nesse tratamento. Os meios de cultura utilizados foram Pierik e MS, suplementados, respectivamente, com 20 e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificados com ágar a 5,5 g L<sup>-1</sup>, e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a 121°C, por 15 minutos.

Em capela de fluxo laminar, os brotos estiolados foram cortados em segmentos contendo apenas dois nós, sendo estes colocados horizontalmente, um por tubo de ensaio (com dimensões de 150 mm x 25 mm), contendo 10mL de meio de cultura. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 25 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4, no qual foram avaliados dois meios de cultura (MS e Pierik) e quatro concentrações de 6-benzilaminopurina – BAP (0; 2,22; 4,44 e 6,66 µM), constituído de oito tratamentos e cinco repetições, sendo cada unidade experimental constituída por dois tubos de ensaio contendo um segmento/tubo.

Aos 60 dias, contou-se o número de mudas formadas por nó. Os dados foram transformados para raiz de  $(x + 0,5)$ , submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estiolamento

Pela análise de variância para o número de brotos estiolados por explante de *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, observa-se que houve significância tanto para o fator regulador de crescimento, quanto para a interação meio de cultura x tipo de regulador de crescimento, a 5%, pelo teste F. Observa-se também que o comprimento dos brotos e a distância entre os nós apresentaram diferenças significativas para os fatores meio de cultura e tipo de regulador de crescimento. Já nos resumos das análises de variância para o número de nós por broto estiolado e número total de nós por explante, observa-se que houve diferença significativa, a 5% de probabilidade, para os fatores meio de cultura, tipo de regulador de crescimento e para a interação entre esses dois

fatores.

Observa-se, na tabela 1, que o meio Pierik proporcionou resultados estatisticamente superiores aos do MS para todas as características avaliadas, com exceção do número de brotos estiolados/explante. A principal diferença entre esses meios de cultura está na concentração dos macronutrientes. O meio de Pierik é formulado com concentrações inferiores às recomendadas pelo meio MS, para estes componentes.

Na maioria dos estudos com a cultura *in vitro* de *Anthurium* spp., os meios de cultura normalmente utilizados derivaram do meio MS. Muitos autores relatam o uso dos macronutrientes pela metade, ou em concentrações ainda mais reduzidas. Pierik e colaboradores (PIERIK, 1976; PIERIK et al., 1979) testaram várias modificações na composição do meio MS, alterando as concentrações desses componentes para os diferentes estágios da micropropagação: indução de calos, regeneração, multiplicação, alongamento e enraizamento de mudas de antúrio. Por esta razão, a metodologia proposta por TOMBOLATO et al. (1998) para propagação *in vitro* das variedades lançadas pelo Instituto Agrônomo (IAC), emprega o meio Pierik.

Independentemente do meio de cultura, a adição de 10 µM de ANA resultou em valores inferiores para todas as características avaliadas, exceto para o número de brotos/explante, no qual este tratamento não diferiu estatisticamente daquele adicionado de 10 µM de AIB. O número de brotos estiolados/explante variou de 1,20 a 2,28 (tabela 2), sendo identificadas diferenças significativas entre os tratamentos sem regulador de crescimento (controle) e com a adição de AIA, do tratamento com ANA. Para esta mesma característica, CARVALHO et al. (2005) e BARBOZA e CALDAS (2001) não identificaram diferenças estatísticas, empregando os mesmos tratamentos na produção de mudas em abacaxizeiro ornamental e comestível, aos 30 dias de incubação no escuro, sendo os maiores valores registrados, 1,40 e 1,96, respectivamente.

O comprimento dos brotos foi inferior no meio de cultura contendo 10 µM de ANA (0,22 cm) em relação aos outros tratamentos, cujos valores foram equivalentes estatisticamente e variaram de 0,46 a 0,54 cm. Resultados semelhantes foram observados por CARVALHO et al. (2005), para o abacaxizeiro ornamental, no qual o meio MS, também acrescido da mesma concentração de ANA, registrou os menores valores para o comprimento dos brotos (1,78 cm). Entretanto, KISS et al. (1995), utilizando a mesma concentração de ANA, para abacaxi comestível, registraram brotos que atingiram, em média 7,74 cm de comprimento, após apenas, 30 dias de incubação *in vitro*.

Como se pode observar na figura 1, nos explantes de segmentos caulinares de antúrio, o estiolamento *in vitro* ocorre apenas nos brotos que se desenvolvem a partir das gemas axilares, presentes nos nós, enquanto que no abacaxizeiro, o estiolamento ocorre no próprio explante, isto é, nos talos desfolhados, alcançando, conseqüentemente, comprimentos maiores.

No escuro, as plantas se tornam estioladas, isto é, investem energia no alongamento rápido da parte aérea, não ocorrendo a expansão foliar nem a formação do sistema fotossintético

funcional (GEORGE, 1993). Os brotos estiolados obtidos apresentaram coloração branca, indicando ausência ou reduzida atividade fotossintética dos explantes, além disso, as folhas formadas apresentavam coloração branca, sem a expansão dos limbos.

O número de nós por broto estiolado também apresentou os menores valores no meio de cultura acrescido de 10  $\mu\text{M}$  de ANA (0,92), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Nos meios adicionados das auxinas AIA e AIB e no controle, o número de nós/broto apresentou o mesmo valor 1,46. CARVALHO et al. (2005) também registraram no meio contendo ANA, os menores números de nós formados por broto. Entretanto, contrariando esses resultados, BARBOSA e CALDAS (2001) obtiveram o maior número de nós por broto estiolado no meio suplementado com esta auxina.

Os meios de cultura, adicionados com ANA, apresentaram os menores valores para o número total de nós por explante (1,22) e para a distância entre os nós (0,23 cm). CARVALHO et al. (2005) também registraram as menores distâncias entre os nós no meio contendo esta auxina, para o abacaxizeiro ornamental.

BARBOZA e CALDAS (2001) relatam que, no escuro, os entrenós do talo da muda do abacaxizeiro comestível se alongaram, separando os nós que, normalmente, em presença de luz, permanecem próximos uns aos outros. GEORGE (1993) acrescenta que, além da maior separação entre os nós, o estiolamento também pode aumentar, nas gemas, a sensibilidade às auxinas, conseqüentemente, a freqüência com que elas podem ser enraizadas. BARBOZA e CALDAS (2001) ressaltam que há muito tempo esse comportamento tem sido observado em plantas crescendo no escuro e que para fins de micropropagação, a maior distância entre os nós facilita o desenvolvimento de gemas axilares e a manipulação de plântulas regeneradas. O mesmo comportamento foi observado para a variedade de antúrio estudada, ocorrendo alongamento dos entrenós nos brotos, separando os nós, facilitando, conseqüentemente o desenvolvimento das gemas axilares e a manipulação dos explantes obtidos.

O número de brotos estiolados (tabela 3) e o número total de nó/explante (tabela 4) foram superiores no meio Pieirk, apenas na ausência de fitorregulador. Enquanto que para a característica número de nós/broto estiolado (tabela 5), os maiores valores foram registrados no meio Pierik, tanto na ausência de fitorregulador, como na presença de ANA. Verifica-se que para essas três características, os menores valores numéricos foram registrados na presença de ANA, independentemente do meio utilizado.

### Regeneração

Na análise de variância para o número de brotações regeneradas por nó, de *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, observa-se que houve significância apenas para o fator concentração de BAP, a 5% pelo teste F.

Embora, entre os meios de cultura testados, não ter sido registrada diferença significativa, o maior número de brotações obtidas por nó foi verificado no meio Pierik (4,16) em comparação com o MS (3,36).

Aos 60 dias, houve diferença no número de mudas regeneradas por nó entre os tratamentos testados (tabela 6). O BAP promoveu maior número de mudas regeneradas por nó, com uma média de 6,11, no meio contendo 2,2  $\mu\text{M}$ , que diferiu estatisticamente do meio sem a adição dessa citocinina (figura 2).

Taxas semelhantes de multiplicação têm sido registradas para produção de mudas *in vitro* de antúrio. Na micropropagação, via organogênese indireta, LIGHTBOURN e PRASAD (1990) alcançaram os melhores índices de multiplicação, 3 a 5 brotos/calor, no meio de cultura NITSCH (1969) adicionado de 0,9 a 3,6  $\mu\text{M}$  de BAP, enquanto que, VARGAS et al. (2004) obtiveram em média 3,6 brotações/explante, quando as culturas foram mantidas em meio MS contendo 4,4  $\mu\text{M}$  desta citocinina. E por organogênese direta, MARTIN et al. (2003) em meio MS (contendo metade da concentração dos macronutrientes) acrescido de 0,44  $\mu\text{M}$ , também, deste fitorregulador, o número de brotos regenerados/explante variou de 12,2 a 5,4, em função da cultivar estudada.

## 4. CONCLUSÕES

O método de estiolamento de segmentos caulinares e regeneração dos brotos é viável para a multiplicação *in vitro* de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel.

A redução da concentração dos macronutrientes no meio de cultura é adequada para a indução ao estiolamento *in vitro* de segmentos caulinares de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel.

A não adição das auxinas AIA, AIB e ANA ao meio de cultura, é adequada para a indução ao estiolamento *in vitro* de segmentos caulinares de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel.

A adição de BAP, ao meio de cultura, é necessária para a regeneração *in vitro* de mudas de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, a partir de segmentos caulinares estiolados.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Agrônômico (IAC) por cederem as mudas *in vitro* para a realização desse trabalho e a Embrapa Agroindústria Tropical pela concessão das bolsas e pelo auxílio à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- BARBOZA, S. B. S. C., CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 417-423, 2001.
- BASSUK, N.; MAYNARD, B. Stock plant etiolation. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 5, . 749-750, 1987.
- CARVALHO, A. C. P. P. de, BRAGA, E. P., SANTOS, M.

- R. A. dos, MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plântulas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, p. 121-126, 2005.
- CASTRO, S. de. Sertão está virando um jardim. Disponível: <<http://diariodonordeste.globo.com/materia.asp?codigo=468732>>. Acesso em: 13 nov. 2007.
- FUZITANI, E. J., NOMURA, E. S. Produção de mudas *in vitro*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 10, n. 1/2, p. 14-17, 2004.
- GEORGE, E.F. Plant Tissue Culture Techniques. In: GEORGE, E.F. (ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics Limited, 1993. p. 576-638.
- GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- HARTMANN, H.T., KESTER, D. E. **Propagación de plantas: principios y practicas**. México: Continental, 1990, 760 p.
- KISS, E., KISS, J., GYULAI, G., HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 127-129, 1995.
- LEME, J. M. **Resfriamento e conservação de antúrio 'IAC Eidibel'**. Campinas: Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 2004. 119 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)
- LIGHTBOURN, G. L., PRASAD, P. V. D. *In vitro* Techniques for rapid multiplication of varieties of *Anthurium andraeanum* in Jamaica. **Proceedings Interamerican Society Tropical Horticulturæ**. Flórida v. 34, p. 3-5, 1990.
- MARTIN K.P., DOMINIC, J., MADASSERY, J., PHILIP V.J. Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. **In Vitro Cellular Development Biology Plant**, Columbia. v. 39, p. 500-504, 2003.
- MURASHIGE, T. SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 25, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NITSCH, J. P. Experimental androgenesis in *Nicotiana*. **Phytomorphology**, Jodhpur, v. 19, p. 389-404, 1969.
- NHUT, D.T. et al. Impact of *Anthurium* spp. genotype on callus induction derived from leaf explants, and shoot and root regeneration capacity from callus. **Journal of Applied Horticulture**, Lucknow, v. 8, n. 2, p. 135-137, 2006.
- PIERIK, R. L. M. *Anthurium andraeanum* Lind. plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 37, p. 80-82, 1976.
- PIERIK, R. L. M., LEEUWEN, P. V., RIGTER, G. C. M. Regeneration of leaf explants of *Anthurium andraeanum* Lind. *in vitro*. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 27, p. 221-226, 1979.
- PIZANO, M. Anthurium. **FloraCulture International**, Holanda, v. 18, n. 1, p. 14-19, 2008.
- RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquitate* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. **Pesquisa Agropecuária Para Brasileira**. Brasília, v. 37, n. 1, p. 10-15. 2007.
- ROCHA, L. B. **A produção de flores no estado do Ceará em Baturité, Redenção e São Benedito**. Fortaleza: Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, 2006. 143p. Dissertação (Mestrado em Geografia).
- TOMBOLATO, A. F. C., QUIRINO, E.A., COSTA, A. M. M. Antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.). In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (eds.). **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998. p. 18-21. (Boletim Técnico 174)
- TOMBOLATO, A. F. C., MATTHES, L. A. F., UZZO, R. P., CASTRO, A. C., SAKAI, M., SAES, L. A. Recursos genéticos e melhoramento do antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden) no IAC – APTA. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.10, n.1/2, p.1-5, 2004.
- VARGAS, T. E., MEJÍAS, A., OROPEZA, M. GARCÍA, E. da. Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* cv. Rubrun. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 7, n. 3, p. 282-286, 2004.

**Tabela 1.** Número médio de brotos estiolados/explante, número de nós/broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós/explante de *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel, em meio de cultura MS e Pierik, após 60 dias de cultivo *in vitro*, no escuro. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

**Table 1.** Average number of etiolated shoot/explant and node/shoot, internode and shoot length and total number of node/shoot and shoot node/explant of *anthurium* (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, cultivated in MS and Pierik in media culture after 60 days of *in vitro* culture under darkness. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Meio de cultura	Características avaliadas				
	Nº de brotos/explante	Nº de nós/broto	Comprimento de brotos (cm)	Distância entre os nós (cm)	Nº total de nós/explante
MS	1,76 a	1,16 b	0,33 b	0,27 b	2,25 b
Pierik	1,98 a	1,49 a	0,51 a	0,33 a	3,13 a
CV %	11,83	8,88	36,67	18,85	18,69

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Means followed by the same letter in the column don't differ by the Tukey test at 5%.

**Tabela 2.** Número médio de brotos estiolados/explante, número de nós/broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós/explante de *Anthurium andraeanum* var. IAC Eidibel, em função do regulador de crescimento, após 60 dias de cultivo *in vitro*, no escuro. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2007.

**Table 2.** Average number of etiolated shoot/explant, internode and shoot length and total number of node/shoot and shoot node/explant of *anthurium* (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, as a result of the growth regulator after 60 days of *in vitro* culture under darkness. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Regulador de crescimento	Características avaliadas				
	Nº de brotos/explante	Nº de nós/broto	Comprimento de brotos (cm)	Distância entre os nós (cm)	Nº total de nós/explante
Sem regulador	2,20 a	1,46 a	0,46 a	0,30 a	3,40 a
AIA a 10 µM	2,28 a	1,46 a	0,46 a	0,30 a	3,41 a
AIB a 10 µM	1,82 ab	1,46 a	0,54 a	0,36 a	2,73 a
ANA a 10 µM	1,20 b	0,92 b	0,22 b	0,23 b	1,22 b
CV %	11,83	8,88	36,67	18,85	18,69

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Means followed by the same letter in the column don't differ by the Tukey test at 5%.

**Tabela 3.** Número médio de brotos estiolados/explante de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, em função do meio de cultura e da presença do regulador de crescimento, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, no escuro. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

**Table 3.** Average number of etiolated shoot/explant, of anthurium (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, as a result of the medium culture and the growth regulator, at the 60<sup>th</sup> day of *in vitro* culture under darkness. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Regulador de crescimento	Meio de cultura		
	MS	Pierik	Média
Sem regulador	1,77 ab B	2,63 a A	2,20 A
AIA a 10 µM	2,55 a A	2,00 ab A	2,28 A
AIB a 10 µM	1,83 ab A	1,80 ab A	1,82 AB
ANA a 10 µM	0,90 b A	1,50 b A	1,20 B
Média	1,76 a	1,98 a	

\*Médias seguidas de letras iguais minúsculas, nas colunas, e maiúsculas, nas linhas, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Means followed by the same capital letter in the column and small letter in the line did not differ by the Tukey at 5%.

**Tabela 4.** Número médio de nós/broto estiolado de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, em função do meio de cultura e da presença do regulador de crescimento, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

**Table 4.** Average number of node/etiolated shoot of anthurium (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, as a result of the culture medium and the grow regulator presence, at the 60<sup>th</sup> day of *in vitro* culture under darkness. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Regulador de crescimento	Meio de cultura		
	MS	Pierik	Média
Sem regulador	1,19 a B	1,73 a A	1,46 A
AIA a 10 µM	1,50 a A	1,41 a A	1,46 A
AIB a 10 µM	1,40 a A	1,53 a A	1,46 A
ANA a 10 µM	0,54 b B	1,30 a A	0,92 B
Média	1,16 b	1,49 a	

**Tabela 5.** Número total de nós/explante estiolado de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, em função do meio de cultura e da presença do regulador de crescimento, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

**Table 5.** Total number of nodes/etiolated shoot of anthurium (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, as a result of the culture medium and the growth regulator presence, at the 60<sup>th</sup> day of *in vitro* culture under darkness. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Regulador de crescimento	Meio de cultura		
	MS	Pierik	Média
Sem regulador	2,15 ab B	4,65 a A	3,40 A
AIA a 10 µM	3,74 a A	3,07 ab A	3,41 A
AIB a 10 µM	2,62 a A	2,83 ab A	2,73 A
ANA a 10 µM	0,48 b A	0,97 b A	1,22 B
Média	2,25 b	3,13 a	

\*Médias seguidas de letras iguais minúsculas, nas colunas, e maiúsculas, nas linhas, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Means followed by the same capital letter in the column and small letter in the line did not differ by the Tukey at 5%.

**Tabela 6.** Número médio de mudas regeneradas por nó, em diferentes concentrações de BAP, a partir de segmento caulinar estiolado, de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

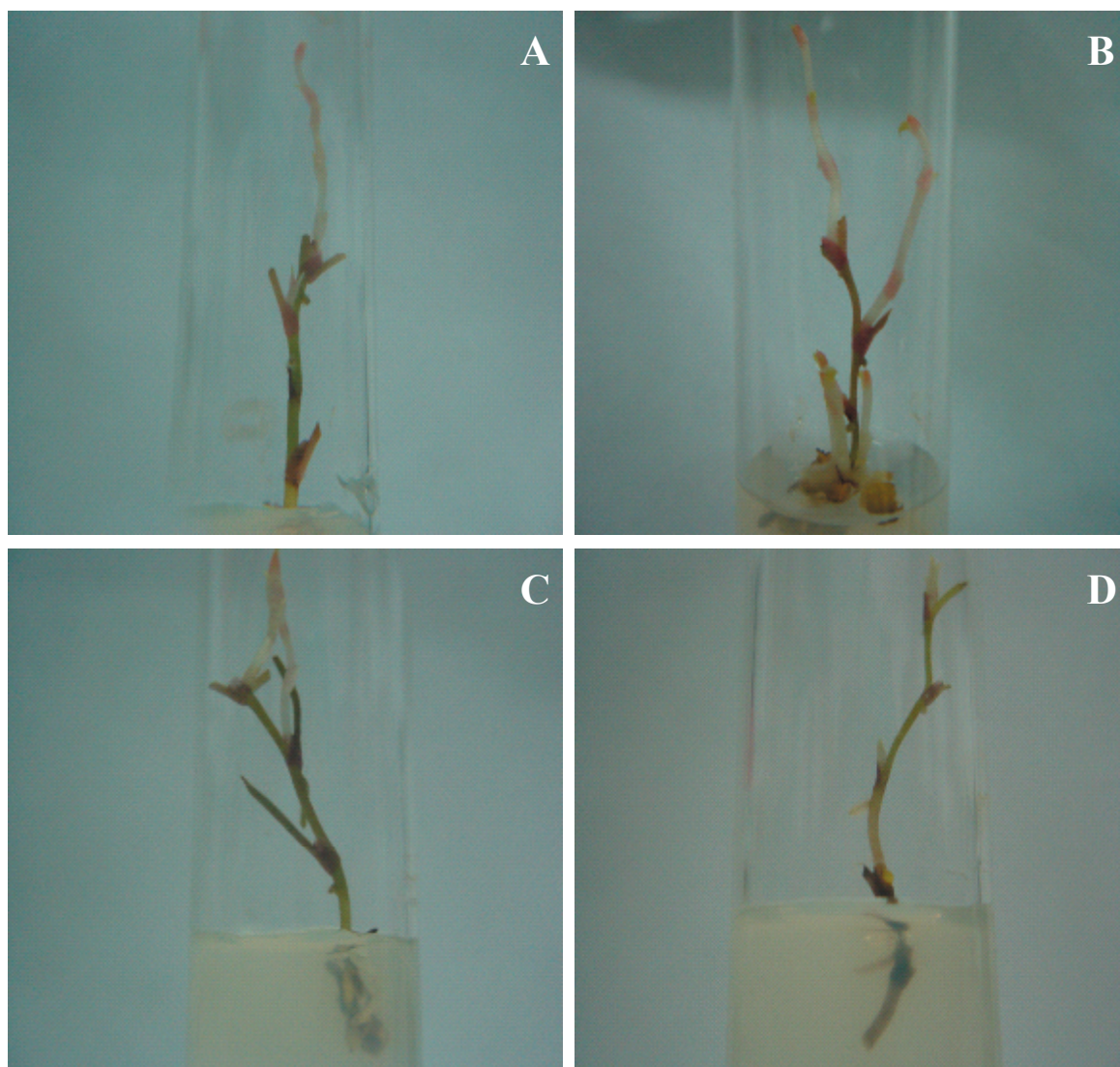
**Table 6.** Average number of regenerated plantlets/node at different BAP concentrations of etiolated shoot of anthurium (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel, at the 60<sup>th</sup> days of *in vitro* culture. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2007.

Concentração de BAP (µM)	Número de mudas regeneradas/nó
Sem regulador	0,59 b
2,2	6,11 a
4,4	4,40 a
6,6	3,95 a
CV (%)	24,72

\*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

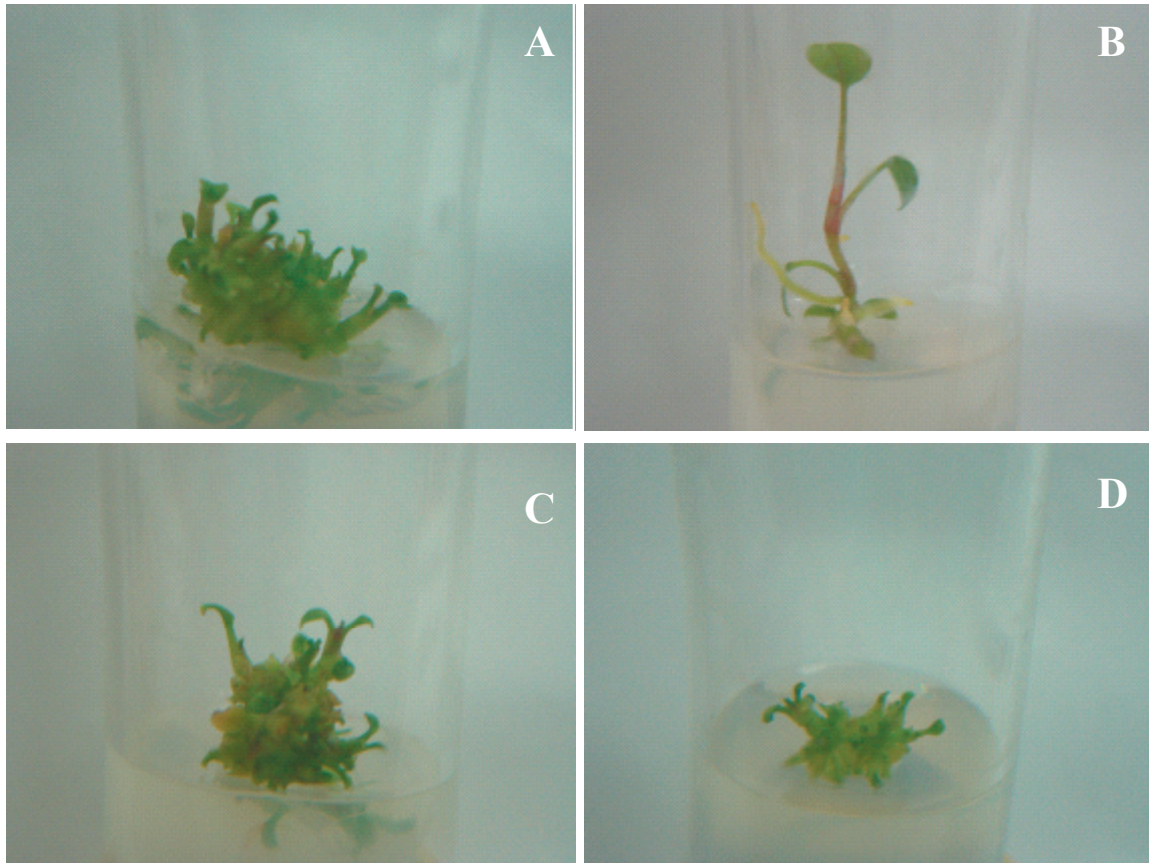
\*Means followed by the same capital letter in the column and small letter in the line did not differ by the Tukey at 5%.





**Figura 1.** Brotos de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel estiolados no meio Pierik (1976): sem regulador de crescimento (A), com 10  $\mu$ M de AIA (B), com 10  $\mu$ M de AIB (C), com 10  $\mu$ M de ANA (D), aos 60 dias de cultivo *in vitro*, no escuro. Barra: 2,5 cm.

**Figure 1.** *Anthurium* (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel etiolated shoots in media: MS without growth regulator (A), MS with IAA at 10  $\mu$ M (B), MS with IBA at 10  $\mu$ M (C), MS with NAA at 10  $\mu$ M (D), at the 60<sup>th</sup> day in *in vitro* culture under darkness. Bar: 2,5 cm



**Figura 2.** Mudas de antúrio (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel regeneradas em meio Pierik (1976) sem regulador de crescimento (A), Pierik com 2,22  $\mu\text{M}$  de BAP (B), Pierik com 4,44 $\mu\text{M}$  de BAP (C), Pierik com 6,66  $\mu\text{M}$  de BAP (D), aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Barra: 2,5 cm.

**Figure 2.** *Anthurium* (*Anthurium andraeanum*) var. IAC Eidibel plantlets regenerated in Pierik (1976) medium without growth regulator (A), Pierik with BAP at 2,22  $\mu\text{M}$  (B), Pierik with BAP at 4,44 $\mu\text{M}$  (C), Pierik with BAP at 6,66  $\mu\text{M}$  (D), at the 60<sup>th</sup> days of *in vitro* culture. Bar: 2,5 cm.