



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ - UFC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

VANESSA PRISCILA CAMPOS TAVARES

**INDUÇÃO DE BROTOS DE ANTÚRIO 'CANANEIA' POR MEIO DE
ESTIOLAMENTO *IN VITRO***

FORTALEZA
2016

VANESSA PRISCILA CAMPOS TAVARES

**INDUÇÃO DE BROTOS DE ANTÚRIO‘CANANEIA’ POR MEIO DE
ESTIOLAMENTO *IN VITRO***

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheira-Agrônoma.

Orientadora pedagógica: Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.

Orientadora técnica: Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T233i Tavares, Vanessa Priscila Campos.
Indução de brotos de antúrio 'cananeia' por meio de estiolamento in vitro / Vanessa Priscila Campos
Tavares. – 2016.
50 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2016.

Orientação: Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.
Coorientação: Profa. Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho.

1. Anthuriumandraeanum. 2. Cultura de tecidos vegetais. 3. Floricultura. I. Título.

CDD 630

VANESSA PRISCILA CAMPOS TAVARES

INDUÇÃO DE BRODOS DE ANTÚRIO 'CANANEIA' POR MEIO DE
ESTIOLAMENTO *IN VITRO*

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheira-Agrônoma.

Aprovada em: 05/02/2016.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cândida Herminia Campos de Magalhães Bertini (Orientadora pedagógica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho (Orientadora técnica)
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Dra. Ana Cecília Ribeiro de Castro
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Arlene Santisteban Campos
Eng. Agr. Arlene Santisteban Campos (UFC)

A Deus todo poderoso, por me conceder
força de continuar e chegar até o fim.

Aos meus pais, Antônio e Sandra

Aos meus irmãos e irmãs.

Ao meu namorado, Antônio Jeovan.

AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso, por me conceder força de continuar e chegar até o fim.

Aos meus pais, Antônio Edivano e Sandra, pelo apoio, atenção, carinho, paciência e confiança recebidos em todos os momentos de minha vida.

Ao meu namorado. Melhor amigo e companheiro agradeço sua compreensão, em cada ausência ou momento de estresse que tive durante esta jornada. Por sua amizade, fornecendo-me apoio. Por sua confiança, acreditando em minha vitória mesmo quando eu julgava-me derrotada. As minhas irmãs Ederlândia, Daniele, Daiane e Sara pela amizade, apoio e grande incentivo.

A minha excelente orientadora técnica, Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, que com seus conhecimentos técnicos, competência, dedicação e carinho, orientou-me. Profissional por quem vou ter eterna admiração.

A minha orientadora pedagógica, Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini, pela dedicação, disponibilidade, ética e contribuições.

Aos meus amigos e amigas de curso Neurilan Costa, Eliete Reis, Ricardo Pereira, Gabriel Policarpo, Gabriele Costa e Roberta Rodrigues, pela amizade saudável e sincera, onde compartilhamos momentos felizes e alguns de angústias durante todo o período de graduação.

A todos os integrantes do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, que direta ou indiretamente colaboraram para realização de meu trabalho. Em especial, a Arlene Santisteban, Priscila Bezerra, Myrella Tabosa, Alexya Carvalho, muito obrigada por tudo.

A todos os integrantes do Laboratório de Entomologia da Embrapa Agroindústria Tropical, que direta ou indiretamente colaboraram para o meu crescimento profissional para realização de meu trabalho. Em especial, a Socorro Mota, Carlinhos, Dr. Raimundo Braga Sobrinho, Dr. Antonio Lindenberg Mesquita, muito obrigada por tudo.

A todos os professores que direto ou indiretamente contribuiu para a minha formação e aprendizagem.

A Embrapa, pela bolsa concedida e apoio com toda infraestrutura e financiamento à pesquisa que resultou em minha monografia.

A UFC pelo apoio fornecido ao curso de Agronomia.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando
nos mantemos fiéis a nós mesmos”.
(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

O antúrio (*Anthurium* sp.), originário das Américas do Sul e Central, é uma importante espécie tropical pertencente à família Araceae, sendo largamente utilizado na floricultura como flor de corte, folhagem, planta envasada e paisagismo. Sua forma de propagação pode ser tanto pelo método sexuado quanto assexuado. A propagação sexuada é um processo lento, que demanda geralmente anos para atingir o ápice da produção. Desta forma, a produção comercial se dá pela micropropagação, técnica de produção de mudas que se destaca devido à rápida propagação clonal e disponibilidade de mudas em grande quantidade e de alta qualidade fitossanitária. Objetivou-se com este trabalho, produzir brotos de antúrio ‘Cananeia’ por meio do estiolamento *in vitro*. O trabalho foi dividido em duas fases: estiolamento e regeneração de brotos estiolados, sendo realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical. Na fase de estiolamento segmentos nodais, com dois a três nós, foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10,0 mL de meio de cultura Pierik e mantidos em sala de crescimento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro por 60 dias. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos, meio de cultura sem adição de regulador de crescimento (T1); com adição de 10 μM das auxinas: AIA (ácido indolacético) (T2); AIB (ácido indolbutírico) (T3) e ANA (ácido naftalenoacético) (T4), com cinco repetições de oito tubos de ensaio cada e um explante por tubo. Aos 60 dias, os brotos estiolados foram avaliados quanto ao número de brotos estiolados/explante (NB/E), ao número de nós/broto estiolado (NN/B), ao comprimento do broto estiolado (CB), à distância entre os nós (DN), ao número total de nós/explante (NTN/E), à presença de raiz (PR) e de calo embriogênico (CE). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. De acordo com os resultados obtidos, os tratamentos utilizados não diferiram entre si para o NB/E, NN/B e DN. Para o NTN/E, os explantes mantidos no meio contendo AIB apresentaram o maior número total de nós (6,57), não diferindo estatisticamente entre si apenas daqueles estiolados no meio adicionado de ANA (6,53). Nos brotos estiolados, a adição de auxina estimulou a formação de calos embriogênicos (CE), e a maior formação de raízes (PR) foi constatada no meio suplementado com AIA. Tendo em vista o custo de produção, a adição de AIB é a mais recomendada para a primeira fase (estiolamento) no cultivo *in vitro* da ‘Cananeia’. Quanto a fase de regeneração, dentre as concentrações testadas de BAP, a concentração de 6,66 μM dessa citocinina é a mais indicada, pois foi constatado, que houve um aumento do número de brotos regenerados por

explante com o incremento das concentrações de BAP. Para a regeneração os tratamentos constaram do meio de cultura Pierik sem adição de citocinina (T1); e com adição de BAP nas concentrações de 2,22 μM (T2), 4,44 μM (T3) e 6,66 μM (T4). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos com cinco repetições de cinco tubos de ensaio. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Após 60 dias, contou-se o número de brotos regenerados por explante. Os dados foram submetidos à análise de regressão e de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey, as quais indicaram a tendência de que , a concentração de 6,66 μM dessa citocinina é a mais indicada para o maior incremento do número de brotos regenerados por explante para a cultivar de antúrio cv.Cananeia.

Palavras-chave: *Anthuriumandraeanum*, cultura de tecidos vegetais, floricultura.

ABSTRACT

Anthurium (*Anthurium andraeanum*) originating from South and Central America is an important tropical species of the Araceae family, widely used in floriculture as cut flower, foliage, potted plants and landscaping. Its way of propagation can be as much as by sexual asexual method. The sexual propagation is a slow process that usually requires years to reach the peak of production. Thus, commercial production is by micropropagation, seedling technique that stands out due to the rapid clonal propagation and availability of saplings in large quantity and high quality plant. The objective of this work was to produce buds of anthurium 'Cananeia' in vitro shading. The work was divided into two phases: shading and regeneration etiolated shoots, being held at the Plant Tissue Culture Laboratory of Embrapa. In the blanching stage nodal segments with two to three knots were inoculated into test tubes containing 10 mL of culture medium Pierik and kept in a growth chamber at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ in the dark for 60 days. The experimental design was completely randomized, with four treatments, the culture medium without growth regulator (T1) ; with the addition of 10 μM of auxin : AIA (indole acetic acid) (T2) ; IBA (IBA) (T3) and NAA (T4), with five replicates of eight vials each and one explant per tube. After 60 days, the etiolated shoots were evaluated on the number of etiolated shoots / explant (NB / E), the number of nodes / bud stunted (N / B), the length of the stunted shoot (CB), the distance between nodes (DN), the total number of nodes / explant (NTN / E) , the presence of root (PR) and embryogenic callus (EC). Data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test. The treatments did not differ for the NB / E, NN / B and DN. For the NTN / E, the explants kept in medium containing IBA showed the highest total number of nodes (6.57), not statistically different from each other only in the middle of those etiolated added ANA (6.53). In etiolated shoots auxin addition stimulated the formation of embryogenic callus (EC), and increased root formation (PR) was observed in medium supplemented with NAA. In view of the production cost, the addition of IBA is the most recommended for the first phase (shading) in vitro culture of 'Cananeia'. The regeneration phase, among the tested concentrations of BAP, the concentration of 6,66 μM BAP is the most suitable because it was found that there was an increase in the number of regenerated shoots per explant with the increase in BAP concentrations. For regeneration treatments were the means of Pierik culture without addition of cytokinin (T1); and addition of BAP in concentrations of 2,22 μM (T2), 4,44 μM (T3) and

6.66 μM (T4). The experimental design was completely randomized with four treatments with five replicates of five test tubes. The cultures were maintained in a growth chamber with temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 16 hours photoperiod and light intensity of $30 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 60 days, he counted the number of shoots regenerated per explant. Data were submitted to regression analysis and variance, with the averages compared by Tukey test, which indicated the tendency that the concentration of 6,66 μM BAP is the most suitable for the largest increase in the number of regenerated shoots by explant to grow anthurium cv. Cananea.

Keywords: *Anthurium andraeanum*, plant tissue culture and flowers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1. BRASIL. EVOLUÇÃO DAS EXPORTAÇÕES DOS PRODUTOS DA FLORICULTURA, EM US\$ FOB, 2000-2013.21
- FIGURA 2. INFLORESCÊNCIA DE ANTÚRIO (*ANTHURIUM ANDRAEANUM*) CV. CANANEIA.....25
- FIGURA 3. FORMAÇÃO DE CALO EMBRIOGÊNICO.....30
- FIGURA 4. BROTO DE ANTÚRIO (*ANTHURIUM ANDRAEANUM*) CV. CANANEIA ESTIOLADO.31
- FIGURA 5. MUDA DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM*, CV. IAC CANANEIA, ESTABELECIDADA *IN VITRO* CONFORME METODOLOGIA PROPOSTA POR TOMBOLATO, QUIRINO E COSTA (1998).....33
- FIGURA 6. PROCEDIMENTO DE PREPARO E MANIPULAÇÃO DO SEGMENTO NODAL DE MUDA DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM*, CV. CANANEIA, EM CÂMARA DE FLUXO LAMINAR. A) PREPARAÇÃO DA CAPELA DE FLUXO: MATERIAL NECESSÁRIO PARA MANIPULAÇÃO *IN VITRO*, INSTRUMENTOS (BISTURI E PINÇA), PAPEL (JORNAL) E TUBOS DE ENSAIO CONTENDO MEIO DE CULTURA B) RETIRADA DAS FOLHAS DA MUDA.....34
- FIGURA 7. A-)CORTE DO SEGMENTO NODAL B) SEGMENTO NODAL COM APROXIMADAMENTE 5 CM CONTENDO DE 2 A 3 NÓS, UTILIZADO COMO EXPLANTE NA PRIMEIRA FASE (FASE DE ESTIOLAMENTO).34
- FIGURA 8. INOCULAÇÃO NA POSIÇÃO VERTICAL, SOB CONDIÇÕES DE CAPELA DE FLUXO LAMINAR, DO EXPLANTE DE SEGMENTO NODAL (MICROESTACA) NO TUBO DE ENSAIO CONTENDO 10,0 mL DE MEIO DE CULTURA PIERIK (PIERIK, 1976), ADICIONADO DE 20,0 G L⁻¹ DE SACAROSE, SOLIDIFICADO COM GELRITE® A 1,8 G L⁻¹, E PH AJUSTADO PARA 5,8...35
- FIGURA 9. VEDAÇÃO DOS TUBOS DE ENSAIO COM TAMPA PLÁSTICA E PELÍCULA TRANSPARENTE (A) E (B) CÂMARA DE CRESCIMENTO ESCURA CONFECCIONADA POR PLÁSTICO PRETO, CONTENDO OS EXPLANTES EM TUBOS DE ENSAIO FORAM MANTIDOS POR 60 DIAS.35
- FIGURA 10. SEGMENTO NODAL CONTENDO APENAS UM NÓ DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM* CV. CANANEIA EM TUBOS DE ENSAIO (A), MANTIDAS EM SALA DE CRESCIMENTO COM CONDIÇÕES DE TEMPERATURA, FOTOPERÍODO E INTENSIDADE LUMINOSA CONTROLADA...37
- FIGURA 11. SEGMENTO NODAL CONTENDO APENAS UM NÓ DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM* “CANANEIA”37

FIGURA 12. CULTURA DE ANTHURIUM ANDRAEANUM CANANEIA EM TUBOS DE ENSAIO (A),MANTIDAS EM SALA DE CRESCIMENTO COM CONDIÇÕES DE TEMPERATURA, FOTOPERÍODO E INTENSIDADE LUMINOSA CONTROLADAS(B).....	38
FIGURA 13. BROTOS REGENERADOS POR NÓ, AOS 60 DIAS APÓS INOCULAÇÃO EM MEIO DE CULTURA PIERIK. .	38
FIGURA 14. BROTOS DE ANTÚRIO (<i>ANTHURIUM ANDRAEANUM</i>)CV. CANANEIA REGENERADOS EM MEIO PIERIK(1976) SEM REGULADOR DE CRESCIMENTO (A), PIERIK COM 2,22 mM DE BAP (B), PIERIK COM 4,44 mM DE BAP (C), PIERIK COM 6,66 mM DE BAP (D), AOS 60 DIAS DE CULTIVO <i>IN VITRO</i>	43
FIGURA 15. ANÁLISE DE REGRESSÃO DO EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DO REGULADOR DE CRESCIMENTO BAP SOBRE O NÚMERO DE BROTOS REGENERADOS POR EXPLANTE DE <i>ANTHURIUM ANDRAEANUM</i> CULTIVAR CANANEIA, AOS 60 DIAS DE CULTIVO <i>IN VITRO</i> . EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. FORTALEZA-CE, 2015.	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DOS MACRONUTRIENTES E DA SACAROSE NOS MEIOS DE CULTURA MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) E PIERIK (PIERIK, 1976) PARA OS DIFERENTES ESTÁGIOS DA MICROPROPAGAÇÃO DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM*. ...28

TABELA 2. NÚMERO MÉDIO DE BROTO ESTIOLADOS/EXPLANTE (NB/E), NÚMERO DE NÓS/BROTO ESTIOLADO (NN/B), COMPRIMENTO DO BROTO ESTIOLADO (CB), DISTÂNCIA ENTRE OS NÓS (DN), NÚMERO TOTAL DE NÓS/EXPLANTE (NTN/E), PRESENÇA DE CALO EMBRIOGÊNICO (CE) E PRESENÇA DE RAIZ (RAIZ) DE *ANTHURIUM ANDRAEANUM* CV. CANANEIA, EM FUNÇÃO DO REGULADOR DE CRESCIMENTO, AOS 60 DIAS DE CULTIVO *IN VITRO*, NO ESCURO. EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. FORTALEZA-CE, 2015.....40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 FLORICULTURA.....	20
2.1.1 A FLORICULTURA NO BRASIL.....	20
2.1.2 A FLORICULTURA NO NORDESTE	22
2.2 O ANTÚRIO	23
2.2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	23
2.2.2 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE	23
2.2.3 CULTIVAR ESTUDADA	24
2.2.3.1 CANANEIA-IAC 16772	25
2.3 PROPAGAÇÃO DO ANTÚRIO	25
2.3.1 MÉTODOS DE PROPAGAÇÃO	25
2.3.2 MICROPROPAGAÇÃO.....	26
2.3.4 MEIO DE CULTURA.....	27
2.3.5 REGULADORES DE CRESCIMENTO	28
2.3.6 ESTIOLAMENTO	30
2.3.7 REGENERAÇÃO	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 FASE DE ESTIOLAMENTO	33
3.2 FASE DE REGENERAÇÃO	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 FASE DE ESTIOLAMENTO	40
4.2 FASE DE REGENERAÇÃO.....	42
5. CONCLUSÕES.....	46
6. REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Floricultura é uma indústria marcada por tendências de moda e novidades, permitindo o fluxo constante de novos produtos. O Brasil e os outros países da América do Sul, que possuem espécies únicas em suas floras nativas, são favorecidos, pois elas podem ser utilizadas para fins comerciais (CASTRO, 2012).

A floricultura brasileira se expandiu consideravelmente devido ao aumento apreciável da demanda por plantas ornamentais tanto no mercado nacional quanto internacional. Além disso, este agronegócio envolve numerosas espécies botânicas, selecionadas para obtenção de diferentes produtos com alto valor agregado, tais como flores e folhagens para corte e plantas de vaso para o paisagismo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013).

O mercado de flores no Brasil conta atualmente com cerca de 14.992 hectares de área cultivada, propriedades de tamanho médio de 1,8 hectares, 8 mil produtores de flores e plantas, mão de obra contratada 81,3%, mais de 3000 variedades e de 350 espécies produzidas. O mercado de flores brasileiro é muito importante para a economia, sendo responsável por 215.818 Empregos Diretos, 78.485 (36,37%) relativos à produção, 8.410 (3,9%) relacionados à distribuição, 120.574 (55,87%) no varejo, 8.349 (3,8%) em outras funções, em maior parte como apoio. (IBRAFLOR, 2015).

O Brasil em virtude das condições climáticas destaca-se pelas espécies tropicais com grande potencial para o cultivo de flores e plantas ornamentais. Desta forma, a floricultura tropical expande-se como uma alternativa viável, lucrativa e geradora de empregos nas pequenas propriedades rurais. Assim, os antúrios surgem no mercado brasileiro como uma das principais espécies de flores tropicais de interesse econômico, sendo ainda, o segundo gênero de maior expressão no mercado mundial, ficando atrás apenas das orquídeas (CARVALHO *et al.*, 2012; RIKKEN, 2010).

Segundo dados da Agência Brasil, São Paulo é o mais importante estado produtor, apresentando faturamento de R\$ 1,8 bilhão em 2013. Em seguida, aparece o Rio de Janeiro, que movimentou R\$ 576 milhões, com aumento de 23% em relação ao ano anterior (AGÊNCIA BRASIL, 2014).

No Estado de São Paulo, particularmente nas regiões dos municípios de Atibaia e Holambra, a floricultura brasileira. Com notável crescimento de pólos florícolas no Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Distrito Federal,

Ceará e na maioria dos Estados do Norte e do Nordeste (IBRAFLOR, 2015). A região Nordeste destaca-se como a maior produtora de flores tropicais no Brasil, entretanto essas culturas vêm se expandindo em vários estados, inclusive em Minas Gerais, onde as principais espécies cultivadas são: antúrios, alpínias, bastões-do-imperador, helicônias e gengibres-ornamentais (LUZ, 2013).

Pertencentes à família Araceae, os antúrios destacam-se entre as espécies cultivadas. No gênero *Anthurium* 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 desse gênero é o *Anthurium andraeanum* Linden, utilizado como flor de corte e como planta de vaso (CASTRO, 2012).

Sua forma de propagação pode ser tanto pelo método sexuado (sementes) quanto assexuado. A propagação sexuada é um processo lento, que demanda geralmente anos para atingir o ápice da produção. Desta forma, a produção comercial se dá pela micropropagação, técnica de produção de mudas que se destaca devido à rápida propagação clonal e disponibilidade de mudas em grande quantidade e de alta qualidade fitossanitária, entretanto pode gerar plantas com variação somaclonal (TOMBOLATO *et al.*, 2004).

Por outro lado, a propagação convencional por estaquias ou por divisão de touceiras limita a quantidade de mudas e possibilita a disseminação de pragas e doenças. Assim, os métodos de propagação mencionados comprometem a comercialização e a produção de mudas em grande escala (TOMBOLATO *et al.*, 2004; PINHEIRO, 2010).

Desta forma, para favorecer a uniformização das plantas e das hastes florais, vem sendo utilizada, uma modalidade da cultura de tecidos denominada micropropagação (MATTHES; CASTRO, 1989).

Na micropropagação comercial do antúrio, as mudas são obtidas por organogênese indireta, utilizando-se explantes diversos. Entretanto, os explantes foliares têm apresentado melhores resultados, no entanto esse método pode apresentar como desvantagem a ocorrência de altas taxas de variação somaclonal (ATAK; ÇELIK, 2009; DIAS, 2013). A micropropagação por meio de segmentos nodais estiolados *in vitro* apresenta 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 (CARVALHO *et al.* 2011).

O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, na ausência de luz, causando crescimento alongado do caule, geralmente com coloração amarela ou branca em razão da ausência de clorofila, sendo uma forma de micropropagação utilizada para diminuir a variação somaclonal (HARTMANN; KESTER, 1990).

O potencial regenerativo de uma espécie poderá ser influenciado por diversos fatores como o genótipo utilizado, os tipos e dosagens dos reguladores de crescimento, as fontes e tamanhos dos explantes, os meios de cultura usados e as condições de cultivo. Portanto, destacam-se os reguladores de crescimento como os principais controladores da morfogênese *in vitro* (SANTOS, 2013). Segundo a literatura, na multiplicação *in vitro* de antúrio, as principais auxinas utilizadas são o AIA, o AIB e o ANA (PINHEIRO *et al.*, 2009; PINHEIRO, 2010; SANTOS *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2009 e SANTOS, 2013). Objetivou-se com este trabalho, a produção de brotos e caracterização do desenvolvimento de segmentos nodais do antúrio ‘Cananea’ sob estiolamento e adição de fitorreguladores *in vitro*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Floricultura

Um dos setores da economia agrícola que vem se expandindo é a floricultura em razão de uma crescente demanda por seus variados produtos, constituídos pelo todo ou pelas partes de flores, folhas, caules, bulbos, frutos e sementes, os quais ainda poderão estar na forma fresca ou seca (ALONSO; SILVA, 2012).

A floricultura, considerada uma atividade econômica relevante vem se consolidando. O agronegócio de flores e plantas ornamentais é uma atividade dominada por pequenos produtores rurais, geradora de empregos e colabora para uma melhor distribuição de renda.

Um dos aspectos que contribui para a expansão do agronegócio de flores e plantas ornamentais no país são as condições climáticas do Brasil. Em função dessa diversidade climática é possível produzir internamente flores, folhagens e outros derivados, todos os dias do ano a um custo reduzido (FRANÇA, 2008).

2.1.1 A floricultura no Brasil

Devido ao grande potencial de expansão no mercado de flores do Brasil, para o ano de 2015 ocorreu um crescimento na ordem de 8%, já que desde 2006 a floricultura brasileira vem mostrando crescimento entre 8 a 15% ao ano (IBRAFLOR, 2015; CAMPOS, 2014).

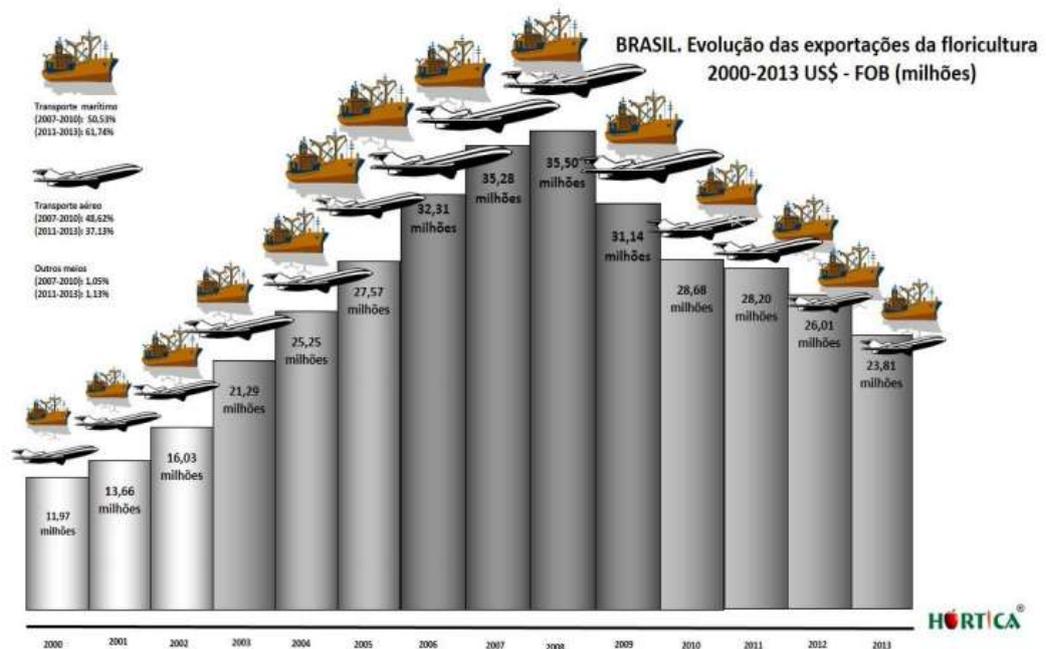
Segundo dados do Instituto Brasileiro de Floricultura – IBRAFLOR, no mercado de flores brasileiro estima que este movimentado anualmente cerca de US\$ 5,7 bilhões, em uma área cultivada de aproximadamente 13.800 ha a céu aberto, em telados de sombreamento e estufas. Sendo uma atividade geradora de 206 mil empregos diretos, destes 102.000 (49,5%) compreende à produção, 6.400 (3,1%) está relacionado à distribuição, 82.000 (39,7%) ao varejo e 15.600 (7,7%) é de outras funções, principalmente de apoio. Entretanto, o consumo per capita de flores no Brasil é de R\$ 26,00 por habitante/ano, sendo considerado baixo. (IBRAFLOR, 2013; CAMPOS, 2014).

Em virtude das condições climáticas e da diversidade de solos, o Brasil apresenta como vantagem, grande potencial para o cultivo de flores e plantas ornamentais, seja de clima temperado ou tropical.

Atualmente, apesar das potencialidades do país no setor da floricultura, os desafios em termos de tecnologia, qualidade fitossanitária e material genético sadio, mão de obra qualificada e especializada na produção, no comércio e na logística, nas tecnologias de colheita e embalagem, entre outras, ainda são verdadeiros entraves do mercado brasileiro de flores e plantas (SANTOS, 2013).

Quanto às exportações brasileiras de flores, no ano de 2013 houve uma redução de 8,43 % quando comparado ao total vendido em 2012, resultados da crise econômica e financeira ocorrida em 2008 que continua refletindo o contexto econômico (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Figura 1. BRASIL. Evolução das exportações dos produtos da floricultura, em US\$ FOB, 2000-2013.



De acordo com a figura 1, pode-se salientar que mesmo em 2008 o mercado de exportação da floricultura brasileira, correspondia apenas 2,7% da produção nacional. Esse fato mostra que a maior parte da produção de flores no Brasil destina-se ao mercado interno e que o crescimento do mercado interno sinaliza as potencialidades de desenvolvimento e crescimento da atividade econômica (SANTOS, 2013; CAMPOS, 2014).

2.1.2 A floricultura no Nordeste

A floricultura no Nordeste Brasileiro vem apresentando um expressivo crescimento e desenvolvimento na última década do século XX, pois convém salientar que antes o mercado consumidor regional, era quase que totalmente abastecido pela produção proveniente de outras regiões produtoras de flores de clima temperado, e que posteriormente passou a ser abastecido, em maior proporção, com a produção local e a introdução de maior quantidade de espécies de clima tropical (BRAINER; OLIVEIRA, 2006).

Os principais estados em que se concentram as maiores produções de flores e plantas ornamentais na região Nordeste são: Pernambuco, Bahia, Ceará e Alagoas (IBRAFLOR, 2015).

O Ceará é o estado que mais se destaca na floricultura nordestina, pois é o estado que explora tanto a floricultura tropical, quanto a temperada de corte, tendo se especializado na produção de rosas (*Rosa* sp) e abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) para exportação para os EUA e Europa, além do cultivo de bulbos, como os de amarílis e caladium (*Caladium* sp.), para o mercado internacional. Sua produção concentra-se em regiões com elevado potencial de desenvolvimento, tais como: Maciço de Baturité, Chapada de Ibiapaba, Cariri, Baixo Jaguaribe e Região Metropolitana de Fortaleza (SEBRAE, 2015). No Estado, dentre as flores tropicais, os antúrios merecem destaque, sendo cultivados, principalmente, no Maciço de Baturité (PINHEIRO *et al.*, 2010).

No Ceará, as condições climáticas, mão de obra e a existência de instituições de apoio tecnológico e gerencial são as vantagens que favorecem a rápida evolução e crescimento da floricultura (SANTOS, 2013).

2.2 O antúrio

2.2.1 Importância econômica

O antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden), dentre as espécies de flores tropicais cultivadas, destaca--se pelo grande potencial comercial, rusticidade, manuseio, e excelente opção de plantio para o pequeno produtor apresentando boa aceitação, tanto no mercado interno como no externo (CARVALHO *et al.*, 2011).

Sendo largamente utilizado na floricultura e no paisagismo e entre as plantas de clima tropical, o antúrio é a segunda planta mais consumida no mundo, superada apenas pelas orquídeas (NOMURA, 2013).

No Brasil, por apresentar condições favoráveis ao cultivo de antúrio, essa espécie, é cultivada em estufas em vários locais, sendo a principal região produtora o Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo, onde são plantados sob telados (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008; TOMBOLATO; CASTRO, 2005).

2.2.2 Aspectos gerais da espécie

A família Araceae, possui aproximadamente 115 gêneros (NOMURA, 2012). No final dos anos cinquenta, o gênero *Anthurium* já era conhecido por compreender mais de 600 espécies (Souza, 1958). E dentre elas destaca-se a *Anthurium andraeanum* Lindl., devido ao tamanho, a coloração e a longevidade de suas inflorescências, durabilidade e diversidade de cores, o antúrio tornou-se uma importante fonte de renda. É cultivado em vários países do mundo, com as finalidades de flor de corte, flor envasada ou para decoração de jardim (AGUIAR *et al.*, 2014).

A origem do antúrio segundo o botânico francês Eduardo André (1840 - 1911), é na Colômbia, mais precisamente na província de Choco, e que posteriormente, os antúrios foram levados à Europa, passando por intenso melhoramento genético (CASTRO *et al.*, 2012). Os mesmos são encontrados no interior das matas, onde há uma pequena incidência de raios solares, portanto, necessitam de proteção do aparato fotossintético por meio de sombreamento (SANTANA *et al.*, 2013).

Suas plantas são eretas, semi-herbáceas e o que normalmente se conhece por flor é na verdade um conjunto formado por uma espádice e pela espata, em que a espádice pode ser denominada como sendo uma inflorescência constituída por flores minúsculas dispostas em espiral, protegida por uma folha modificada (bráctea colorida) denominada espata (CARVALHO, 2011).

A propagação dos antúrios pode ser realizada de duas maneiras: sexuada por meio de sementes e assexuada. No entanto, a produção de mudas via sementes além de ser um processo lento, induz a polinização cruzada devido à protoginia, aumentando a variabilidade genética e gerando plantas desuniformes. De outro modo, a propagação convencional por estaquias ou por divisão de touceiras limita a quantidade de mudas produzidas e possibilita a disseminação de pragas e doenças (PINHEIRO, 2010).

Em relação a nutrientes, o antúrio nos primeiros anos de cultivo é bastante exigente, onde os macronutrientes mais requisitados são: nitrogênio, potássio e cálcio. Em termos de micronutrientes, o ferro é o mais requerido, seguido pelo manganês, zinco e cobre (CASTRO *et al.*, 2012). Quanto à irrigação, o antúrio necessita ser irrigado com frequência, podendo o sistema ser por aspersão ou gotejamento. O importante é que o solo seja mantido sempre úmido, sem, contudo causar excessos (TOMBOLATO *et al.*, 2004).

2.2.3 Cultivar estudada

Com o objetivo de desenvolver plantas bem adaptadas às condições climáticas do país e que permita o seu cultivo e a exploração comercial para flor de corte, o programa de melhoramento do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), selecionou as primeiras variedades brasileiras de antúrio a partir das características de interesse agrônomo, tais como cor da espata e da espádice e durabilidade pós-colheita da inflorescência e folhagem, selecionou determinadas cultivares brasileiras (TOMBOLATO *et al.*, 2006; SANTOS, 2013).

Desta forma, como resultado de mais de 20 anos de trabalho de pesquisa, em 1998 o Instituto Agrônomo (IAC), apresentou doze seleções de antúrio. Sendo elas, a IAC Astral (coral), IAC Cananéia (branca rosada), IAC Eidibel (vermelho forte), IAC Ômega (coral), IAC Iguape (vinho escuro), IAC Isla (bicolor branca e verde), IAC Luau (branca), IAC Juréia (coral), Júpiter (branca creme), Juquiá (coral), Netuno (vinho-escuro) e Rubi (vermelho escuro) (TOMBOLATO, 2000; NOMURA, 2012).

2.2.3.1 Cananeia-IAC 16772

O antúrio ‘Cananéia’ (Figura 2), apresenta espata de textura delicada e de tamanho grande, mesmo em plantas jovens, de coloração branca, esverdeada nos bordos em plantas muito vigorosas; nervuras pouco proeminentes; espádice longa cor de rosa; planta vigorosa apresentando alta produtividade, rápido crescimento, flor de corte de longa durabilidade pós-colheita (TOMBOLATO, 2000).

Figura 2. Inflorescência de antúrio (*Anthurium andraeanum*) cv. Cananeia.



Fonte: David dos Santos Júnior

2.3 Propagação do antúrio

2.3.1 Métodos de propagação

Para a cultura do antúrio, a propagação é feita através de sementes (sexuada), rebentos (brotações enraizadas da porção basilar da planta) e de estacas uma vez que, o antúrio é uma planta de fecundação cruzada. A produção através de sementes é demorada, levando de 4 a 6 anos para atingir a idade de florescimento. Com exceção a propagação *in*

in vitro, os métodos de propagação assexuada apresentam como desvantagens um baixo número de mudas produzidas, ciclo reprodutivo longo (MARTIN *et al.*, 2003) e a possibilidade de disseminação de pragas e doenças, existentes nas plantas matrizes para as mudas propagadas (PINHEIRO, 2010). Desse modo a micropropagação, por meio da cultura de tecidos, surge como uma alternativa que viabiliza a alta produção, bem como a uniformização de características como época de floração, coloração, tamanho e forma das flores (CARVALHO *et al.*, 2011).

2.3.2 Micropropagação

Dentro da cultura de tecidos a modalidade que mais se tem difundido e encontrado aplicações práticas e comprovadas é a micropropagação, pois trata-se de um método de propagação vegetativa amplamente estudado em diversas espécies vegetais. Essa modalidade tem se destacado por se obter a partir de um único explante inicial, várias mudas, com ótimas condições fitossanitárias (CARVALHO, 2006).

Em antúrio, uma grande produção de mudas só ocorrerá através da cultura *in vitro*, pois pelo método tradicional se tornaria inviável, uma vez que, apenas algumas unidades de plantas podem ser obtidas anualmente (TOMBOLATO *et al.*, 2004).

A uniformização de características tais como: floração, coloração, tamanho e forma das flores têm sido permitidas para o antúrio através da clonagem *in vitro*, pois muitas de suas variedades são híbridas (FUZITANI; NOMURA, 2004).

O processo de propagação *in vitro* é estabelecido em quatro estágios: (I) seleção dos explantes, desinfestação e cultivo em meio apropriado, (II) multiplicação dos propágulos, (III) transferência das partes aéreas para o meio de enraizamento e (IV) transplantio para o substrato ou solo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Para a desinfestação prévia dos explantes à inoculação no meio de cultura do material vegetal coletado no campo, tendo em vista o tipo e a origem dos mesmos, são inúmeros os procedimentos e produtos utilizados, entre os quais os mais empregados são o etanol, normalmente na concentração de 70% e o hipoclorito de sódio, em diversas concentrações (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

No Brasil, o primeiro registro com a cultura de tecidos de antúrio é o de Castro *et al.* (1982). Embora, atualmente, existam outros grupos conduzindo ensaios nesta área, a

técnica mais empregada ainda é a desenvolvida pelo IAC, isto é, produção de mudas micropropagadas via organogênese indireta (TOMBOLATO *et al.*, 2004).

A maioria dos trabalhos de pesquisa com a cultura de tecidos de antúrio tem sido desenvolvida na Holanda, Alemanha e Estados Unidos da América (LIGHTBOURN; PRASAD, 1990), sendo que o primeiro foi relatado por Pierik *et al.* (1974).

A cultura de tecidos vegetais vem sendo empregada compreendendo ao conjunto de técnicas de cultivo *in vitro* de células ou outras estruturas vegetais, em meio nutritivo sintético, sob condições apropriadas de nutrição, assepsia e fatores ambientais, para gerar uma planta (QUISEN; ANGELO, 2008). O princípio desta técnica se baseia, no aproveitamento da totipotência das células vegetais, ou seja, na capacidade de produzir órgãos, como brotos e/ou raízes ou embriões somáticos que regeneram uma planta completa num meio de cultivo favorável (CARVALHO; VIDAL, 2003).

Essa técnica, apesar do alto custo, está sendo aplicada para a multiplicação clonal de variedades melhoradas de plantas, apresentando como vantagens: além de disponibilizar maior quantidade de mudas em curto tempo, permite o controle total das condições ambientais durante a propagação e a preservação das plantas matrizes (QUIRINO *et al.*, 2009).

O pioneiro em trabalho de pesquisa com cultura de tecidos para antúrio foi Pierik *et al.* (1974), onde em seus estudos obtiveram sucesso na regeneração de plantas, por meio da germinação de sementes *in vitro*, mas para antúrio esse método não demonstrou êxito por apresentar grande variabilidade genética (SANTOS, 2013).

2.3.4 Meio de cultura

O meio de cultura deve suprir tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com nutrientes, visando a atender a etapa de estabelecimento *in vitro* dos explantes, fornecendo condições favoráveis de crescimento deles (QUISEN; ANGELO, 2008).

De forma balanceada, o meio de cultura deve possuir água (destilada), macronutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio), micronutrientes essenciais (manganês, zinco, boro, cobre, cloro, ferro e molibdênio), fontes de carbono (sacarose, frutose ou glicose, em função da deficiência energética luminosa e da baixa concentração de CO₂), vitaminas (ácido nicotínico, piridoxina e tiamina), reguladores de

crescimento (auxina, citocinina, ácido giberélico), compostos orgânicos opcionais (hidrolizado de caseína e extrato de levedura) e agentes gelatinosos opcionais (ágar ou phytigel) (MANTELL *et al.*, 1994).

Para o cultivo *in vitro* de *Anthurium* spp., o meio mais utilizado é o o Pierik (PIERIK, 1976), que é derivado do meio do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), vale ressaltar que, deve ser levado em consideração a redução pela metade de macronutrientes (Tabela 1) e os estágios de micropropagação de mudas de antúrio, tais como P1 (etapa 1: indução de calo), P2 (etapa 2: regeneração de brotos) e P3 (etapa 3: alongamento e enraizamento dos brotos) utilizadas (CARVALHO, 2011).

Tabela 1. Comparação das concentrações em (mg) dos macronutrientes e da sacarose nos meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e Pierik (PIERIK, 1976) para os diferentes estágios da micropropagação de *Anthurium andraeanum*.

Componentes		MS	P1*	P2*	P3*
NH ₄ NO ₃	Nitrato de amônio	1650	825	825	206
KNO ₃	Nitrato de potássio	1900	950	950	950
MgSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de magnésio	370	370	185	185
KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potássio	170	85	85	85
CaCL ₂ .4H ₂ O	Cloreto de cálcio	440	440	220	220
Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30000	30000	20000	20000

*Formulação do meio Pierik para indução de calo (P1), multiplicação (P2) e alongamento e enraizamento (P3) das mudas. Fonte: Tombolato (2004).

2.3.5 Reguladores de crescimento

Na técnica da cultura de tecidos, uns dos fatores determinantes para o crescimento e desenvolvimento dos explantes são os reguladores de crescimento. Sendo as auxinas citocininas e as giberelinas os reguladores mais freqüentemente utilizados (QUISEN; ANGELO, 2008). A formação de calo, parte aérea e raízes são reguladas pela disponibilidade e interação dessas duas primeiras classes de reguladores de crescimento (SKOOG & MILLER, 1957).

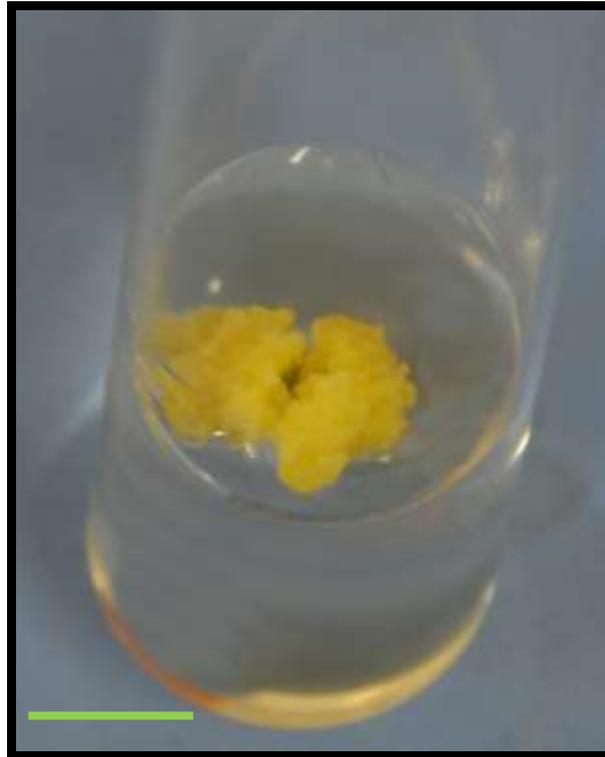
O tipo de fitorregulador a ser utilizado na cultura *in vitro* dependerá: do tipo de morfogênese desejada; nível endógeno no explante no momento da excisão e da capacidade do tecido sintetizar o regulador durante o cultivo *in vitro* e da possível interação entre os fitohormônios endógenos e aqueles adicionados ao meio (SANTOS,2003).

As citocininas são um grupo de reguladores de crescimento que apresentam como principal função a divisão celular, sobretudo associado elevadas concentrações de uma auxina, promovem à formação de brotos adventícios e inibição de raízes; tornando-se assim, responsáveis pela eliminação da dormência apical e promovendo o desenvolvimento das gemas axilares (CARVALHO; VIDAL, 2003). No entanto, o BAP (6-benzilaminopurina), juntamente com a CIN (6-furfurilaminopurina) têm sido as citocininas mais utilizadas para promover a multiplicação *in vitro* em diversas espécies, Além do BAP e da CIN, as citocininas 2iP (isopenteniladenina) e a zeatina [6-(4-hidroxi-3metilbut-2-enilamino) purina], podem ser usadas, porém com menos frequência (GRATTAPAGLIA, MACHADO, 1998).

Portanto, neste contexto o BAP (6-benzilaminopurina), é uma das fontes de citocininas mais utilizadas na micropropagação de plantas (PASQUAL, 2004), pois trata-se de um fitorregulador associado ao crescimento e desenvolvimento das plantas, participando no controle da divisão celular (ASMAR *et al.*, 2011). Essa citocinina quando utilizada em excesso se torna tóxica provocando diminuição no tamanho das folhas, encurtamento de entrenós, brotação excessiva, entre outros efeitos (ALBERT, 2004).

As auxinas são substâncias quimicamente relacionadas com o ácido indol-3-acético (AIA), que é a auxina principal de várias plantas (KRIKORIAN, 1991). Essas substâncias podem ser utilizadas isoladas ou em combinação, sendo que seu principal papel é: a) induzir a formação de calos (Figura 3) b) desenvolvimento de nós e c) desenvolvimento de raízes adventícias; as mais empregadas no cultivo *in vitro*, são: ácido indol-3-acético (AIA), ácido indol-3-butírico (AIB), ácido a-naftalenoacético (ANA) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D) (CARVALHO, 1999; ROSS, 1992). As auxinas sintéticas 2,4- D e ANA possuem efeitos semelhantes às auxinas naturais, sendo mais estáveis à degradação (AMMIRATO, 1983).

Figura 3. Formação de calo Embriogênico.



Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Tanto as giberelinas como o ácido abscísico constituem outro grupo de substâncias reguladoras vegetais conhecidas e utilizadas na cultura de tecidos, porém em menor quantidade (ASSIS; TEIXEIRA, 1998; PEREIRA, 2012).

2.3.6 Estiolamento

O estiolamento trata-se de uma técnica que se obtêm brotos, caules ou partes destes, na ausência de luz, o que causa crescimento, geralmente alongado, e com coloração amarela ou branca (Figura 4) em razão da ausência de clorofila aumento da suculência, conseqüentemente provocando decréscimo na barreira mecânica dos tecidos do caule (HARTMANN; KESTER, 1990; MAYNARD; BASSUK, 1996).

Desenvolvida primeiramente para o abacaxizeiro comestível (*Ananas comosus* var. *comosus*), a micropropagação por meio de segmentos nodais estiolados *in vitro* foi proposta por KISS *et al.* (1995). Neste contexto, tem-se como vantagem de evitar lesões na

zona de regeneração, impedindo e/ou reduzindo a formação de calo e, conseqüentemente, proporcionando baixos níveis de variabilidade fenotípica (PINHEIRO *et al.*, 2009).

Figura 4. Broto de antúrio (*Anthurium andraeanum*) cv. Cananéia estiolada.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

2.3.7 Regeneração

A regeneração de plantas por meio da cultura de tecidos é um fundamental passo para o sucesso no estabelecimento de programas de melhoramento que empregam a transformação de plantas. Sendo assim, esta regeneração vegetal pode ser obtida basicamente, por meio da organogênese ou embriogênese (VIDAL; CARVALHO, 2002). Essa regeneração é essencial para a capacidade de proliferação das células vegetais se organizarem em tecidos e conseqüentemente em plantas completas (KERBAUY, 1997; MANTELL *et al.*, 1994).

Quando a regeneração é realizada via organogênese, a técnica é dividida em duas categorias: direta e indireta. A direta é gerada pela formação de gemas aéreas axilares diretamente do explante, Por outro lado, na organogênese indireta, os calos formados

diretamente dos explantes, promovem a formação de meristemas e embriões somáticos. Nestes casos, as gemas axilares são desejáveis de forma a minimizar a variação somaclonal quando a formação de calo é mínima ou nula (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Assim, a regeneração via embriogênese somática é caracterizada pela formação de embriões a partir de células somáticas, podendo as categorias como na organogênese ser de forma direta e indireta, sendo que o desenvolvimento de embriões somáticos a partir da proliferação de calos é a mais comum na embriogênese somática de forma indireta (ANDRADE, 2002).

Da mesma forma que os explantes foliares, o pecíolo, espata, espádice, gemas axilares e sementes, também poderão ser utilizadas na fase de regeneração, mas os resultados não serão tão satisfatórios (SANTOS, 2013). Na micropropagação comercial de antúrio, o processo regenerativo se dá por meio de organogênese indireta, utilizando-se, na maioria das vezes, folhas como explante inicial (ATAK; ÇELIK, 2009).

Por último, a regeneração *in vitro* poderá ser afetada por alguns fatores, tais como (ANDRADE, 2002):

- a) Genótipo;
- b) Espécie/cultivar utilizada
- c) Fonte dos explantes utilizados;
- d) Condições da cultura (meio, luz, temperatura).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará e consistiu na obtenção de mudas micropropagadas de antúrio *Anthurium andraeanum* da cultivar Cananeia, por meio do estiolamento *in vitro*. O trabalho foi dividido em duas fases: onde a primeira fase, consistiu na indução ao estiolamento de segmentos nodais e a segunda fase, regeneração das mudas, a partir dos brotos estiolados na primeira fase.

3.1 Fase de estiolamento

Na realização dessa fase do experimento, foram utilizadas mudas estabelecidas de *Anthurium andraeanum* da cultivar Cananeia (figura 5), *in vitro* de acordo com a metodologia proposta por Tombolato, Quirino e Costa (1998).

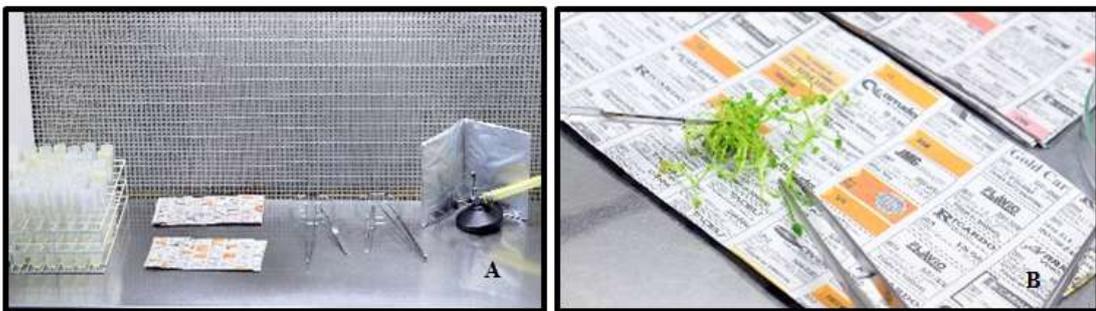
Figura 5. Mudanças de *Anthurium andraeanum*, cv. IAC Cananeia, estabelecida *in vitro*.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

A manipulação das mudas foi realizada em câmara de fluxo laminar horizontal (Figura 6a) elas foram totalmente desfolhadas (Figura 6b) e cortadas em segmentos nodais (microestacas), utilizando-se de material previamente esterilizado, de forma a obter microestacas com tamanho aproximado de 2 cm e contendo, em média, de dois a três nós e (Figura 7b) .

Figura 6. Procedimento de preparo e manipulação do segmento nodal de muda de *Anthurium andraeanum*, cv. Cananeia, em câmara de fluxo laminar. a) Preparação da capela de fluxo: material necessário para manipulação *in vitro*, instrumentos (bisturi e pinça), papel (jornal) e tubos de ensaio contendo meio de cultura b) Desfolhamento da muda.



Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Figura 7. a) Corte do segmento nodal b) Segmento nodal com aproximadamente 2cm contendo de 2 a 3 nós, utilizado como explante na primeira fase (fase de estiolamento).

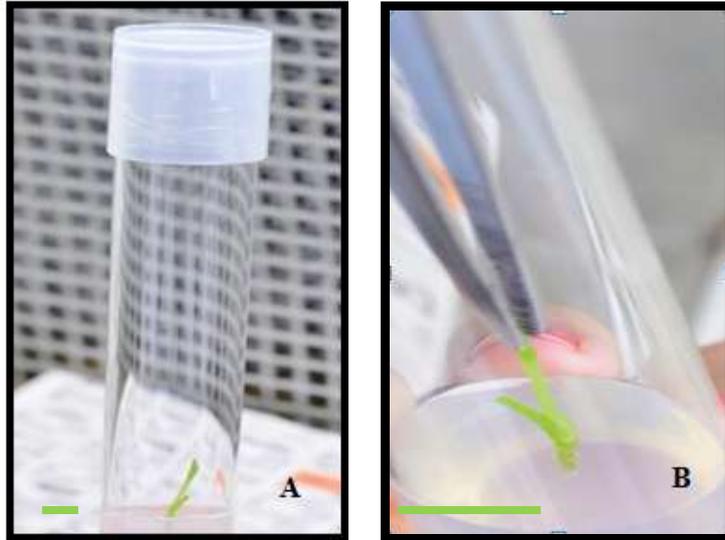


Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Os segmentos nodais com aproximadamente 2 cm de tamanho (Figura 6A) contendo de dois a três nós(Figura 6B),foram totalmente desfolhados e inoculados sob condições de capela de fluxo laminar, na posição vertical em tubos de ensaios de dimensões 150 mm x 25 mm (Figura 8 A) contendo 10 mL de meio de cultura Pierik(Figura 8B)

(PIERIK, 1976), com 20 g L^{-1} de sacarose, solidificado com Gelrite® a $1,8 \text{ g L}^{-1}$, e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada a $121,0^\circ\text{C}$, em 1 atm e por 15 minutos.

Figura 8. Inoculação na posição vertical, sob condições de capela de fluxo laminar, do explantede segmento nodal (microestaca) no tubo de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura Pierik (PIERIK, 1976), adicionado de 20 g L^{-1} de sacarose, solidificado com Gelrite® a $1,8 \text{ g L}^{-1}$, e pH ajustado para 5,8.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Em seguida, os tubos de ensaios foram vedados, com tampa plástica e película transparente (PVC) (Figura 9A) e mantidos em câmara de crescimento, permanecendo por 60 dias em condições de escuro e a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 9B).

Figura 9. Vedação dos tubos de ensaio com tampa plástica e película transparente (A) e (B) câmara de crescimento escura confeccionada por plástico preto, contendo os explantes em tubos de ensaio foram mantidos por 60 dias.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Aos 60 dias, os segmentos nodais foram avaliados quanto ao número de brotos estiolados/explante (NB/E), ao número de nós/broto estiolado (NN/B), ao comprimento do broto estiolado (CB) obtido com auxílio de régua; à distância entre os nós (DN) foi obtida por meio da divisão do comprimento do broto pelo número de nós por broto estiolado; ao número total de nós/explante (NTN/E) o qual foi obtido a partir da multiplicação do número de brotos estiolados/explante pelo número de nós/broto estiolado, à presença de raiz (PR) e de calo embriogênico (CE).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos, que constaram do meio de cultura básico Pierik (PIERIK, 1976) sem adição de regulador de crescimento (T1); com adição de 10 μ M das auxinas: AIA (ácido indolacético) (T2); AIB (ácido indolbutírico) (T3) e ANA (ácido naftalenoacético) (T4), com cinco repetições de oito tubos de ensaio cada e um explante por tubo.

Os dados coletados foram tabulados e submetidos às análises de variância das variáveis pelo teste F ($p < 0,05$), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se do programa computacional para análises estatísticas Sisvar.

3.2 Fase de Regeneração

Na realização dessa segunda fase do experimento, foram utilizados como explantes, brotos estiolados *in vitro* de *Anthurium andraeanum* cultivar Cananeia, que foram mantidos por 60 dias de cultivo em condições de escuro no meio Pierik com adição de 10 μM do regulador de crescimento AIB (T3) por 60 dias. A realização da escolha dos brotos estiolados, desenvolvidos nesse meio de cultura, foi feita em função do maior número total de nós formados nesse tratamento conforme avaliação realizada na fase de estiolamento.

Foi novamente utilizado na fase de regeneração de brotos o meio de cultura Pierik (PIERIK, 1976), contendo 20 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com Gelrite® a 1,8 g L⁻¹, e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem realizada a 121°C, em 1 atm e por 15 minutos.

Foram seccionados em segmentos contendo apenas um nó (Figura 10) em câmara de fluxo laminar, os brotos estiolados, sendo estes colocados horizontalmente, um por tubo de ensaio (Figura 11),(com dimensões de 150 mm x 25 mm), contendo 10 mL de meio de cultura.

Figura 10. Segmento nodal contendo apenas um nó de *Anthurium andraeanum* “Cananeia”.



Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Figura 11. Segmento nodal contendo apenas um nó de *Anthurium andraeanum* “Cananea”, colocados horizontalmente, um por tubo de ensaio.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Os tubos de ensaio contendo apenas um nó foram vedados com tampa de plástico envolta por película transparente (PVC) e mantidos por 60 dias em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Figura 12. Culturas de *Anthurium andraeanum* Cananea em tubos de ensaio (A), mantidas em sala de crescimento com condições de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa controladas (B).



Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Aos 60 dias após a inoculação dos explantes, as culturas que foram mantidas na sala de crescimento Figura 12 (A) e Figura 12 (B), foram retiradas para a contagem do número de brotações regeneradas por nó (Figura 13).

Figura 13. Brotos regenerados por nó, aos 60 dias após inoculação em meio de cultura Pierik.



Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos, com cinco repetições de 5 tubos de ensaio. A unidade experimental foi constituída de um tubo de ensaio contendo um segmento de broto estiolado com um nó. Foram utilizados os seguintes tratamentos: meio Pierik sem a adição de regulador de crescimento (T1); meio Pierik + 2,22 μM de 6-benzilaminopurina (BAP) (T2); meio Pierik + 4,44 μM de BAP (T3) e meio Pierik + 6,66 μM de BAP (T4).

Os dados coletados foram tabulados e submetidos às análises de variâncias, utilizando-se do programa computacional para análises estatísticas Sisvar. Por motivo do número de concentrações utilizadas e da natureza quantitativa destas, as relações entre as concentrações de BAP utilizadas e o número de mudas regeneradas por explantes foram analisadas através de regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fase de estiolamento

Aos 60 dias de cultivo *in vitro* do *Anthurium andraeanum* cultivar IAC Cananeia, no escuro para a fase de estiolamento, observou-se que para o fator regulador de crescimento, houve efeito significativo.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 2), observou-se que o número de brotos estiolados por explante (NB/E), número de nós por broto estiolado (NN/B) e distância entre os nós (DN) não diferiram entre si. Para o NTN /E o meio adicionado com regulador de crescimento AIB e ANA apresentaram os maiores NTN /E com médias de 6,57 e 6,53 respectivamente, diferindo de AIA e meio sem fitorregulador.

Tabela 2. Número médio de brotos estiolados/explante (NB/E), número de nós/broto estiolado (NN/B), comprimento do broto estiolado (CB), distância entre os nós (DN), número total denós/explante (NTN/E), presença de calo embriogênico (CE) e presença de raiz (RAIZ) de *Anthurium andraeanum* “Cananeia”, em função do regulador de crescimento, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, no escuro. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015.

Regulador de crescimento	Características avaliadas						
	NB/E	NN/B	CB (cm)	DN (cm)	NTN/E	CE (%)	RAIZ (%)
Sem regulador	1,95 a	2,27 a	1,12 b	0,70 a	4,42 b	2,50 b	0,00 c
AIA	1,95 a	2,36 a	1,57 a	1,04 a	4,32 b	75,00 a	82,50 a
AIB	2,53 a	2,740 a	1,89 a	0,92 a	6,57 a	65,55 a	15,00 bc
ANA	2,58 a	2,59 a	1,54 ab	0,37 a	6,53 a	70,00 a	30,00 b
CV(%)	16,89	16,01	15,81	27,18	20,69	24,33	51,13

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando o valor nominal de 5% de significância.

Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

A característica de maior importância para este trabalho é o número total de nós obtido por explante.

Contudo, para “Cananeia” a maior média de NTN/E observada foi de 6,57 na concentração 10 µM de AIB, divergindo dos resultados obtidos nos estudos de Santos (2013),

para as cvs. Jureia e Luau, e Pinheiro *et al.* (2009), para a cv. Eidibel. Nesses trabalhos, com as mesmas concentrações das três auxinas ao meio de cultura, o tratamento mais indicado, por questões econômicas, foi sem adição de auxinas, já que as médias foram semelhantes estatisticamente às com adição de AIA.

Para o NTB/E o tratamento com AIB é semelhante ao ANA, sendo os mais viáveis para o estiolamento *in vitro* da cultivar IAC Cananéia. Entretanto, tendo em vista o custo de produção, a adição de AIB é a mais recomendada para a primeira fase (estiolamento) no cultivo *in vitro* da 'Cananeia'.

Para a característica distância entre os nós (DN), não houve diferença com relação à adição ou não de auxinas, variando entre 0,37 cm a 1,04 cm, sendo a maior média registrada com adição de AIA. Com a cultivar Rubi, ocorreu a mesma tendência e as maiores médias foram com a adição de 10 μ M de AIA 0,44 cm (CAMPOS, 2014). Portanto, os nós se distanciam mais na cultivar Cananeia.

O comprimento dos brotos estiolados desempenha um papel de suma importância, pois quando eles são colocados em condições de luz, essa característica está relacionada de modo direto ao número de nós que serão recuperados em novas brotações (ARAÚJO; LEDO 2012). Nesta característica o tratamento realizado com o meio Pierik adicionado de 10 μ M de AIB apresentou maior média (1,89 cm), embora não diferindo quando comparada aos tratamentos com 10 μ M de AIA (1,57cm). A menor média foi verificada no meio sem regulador de crescimento com (1,12 cm). No estudo realizado por Santos (2013), para a cv. Luau, para a mesma característica estudada foi registrado resultado semelhante onde a maior média obtida foi para o tratamento com 10 μ M de AIB (2,29cm).

Com relação ao número de brotos estiolados por explante (NB/E), as médias variaram de 1,95 a 2,58 não havendo diferença com relação à adição ou não de auxinas. É possível que essa fonte de explante já apresente uma concentração interna de auxinas que faça com que ele apresente mesma resposta morfogênica ao quando não se adiciona auxina ao meio de cultura. Todavia, é necessária condução experimental científica, para que se possa obter conclusão mais fidedigna a respeito. Santos (2013) com a cultivar Luau, também obteve resultados semelhantes onde suas médias variaram de 2,38 a 2,80.

Não houve diferença com relação à adição do tipo de fitorregulador auxinas, tratando-se da presença de calo embriogênico (CE), onde verificou-se que o tratamento com 10 μ M de AIA obteve a maior média de 75%, e o sem regulador apresentou a menor média de 2,5 %.

Segundo Soares *et al.*(2012), quando o principal objetivo é obter uma grande quantidade de mudas, o mais desejável é uma menor média relativa quanto à presença de calos, pois com a formação de calos embriogênicos a estabilidade genética pode não ser mantida, devido às variações somaclonais. Analisando apenas esta característica, os tratamentos com AIB e sem regulador seriam mais adequados para a micropropagação dessa cultivar. Das três auxinas testadas, a mais indicada para a indução de calos embriogênicos é o AIA, que apresentou esta estrutura em 75 % dos explantes de brotos estiolados.

Analisando a presença de raízes, observou-se que houve diferença estatística para os resultados onde a adição de AIA favoreceu a formação de raízes. Uma vez que, o controle do desenvolvimento de raízes adventícias é influenciado por substâncias reguladoras de crescimento.

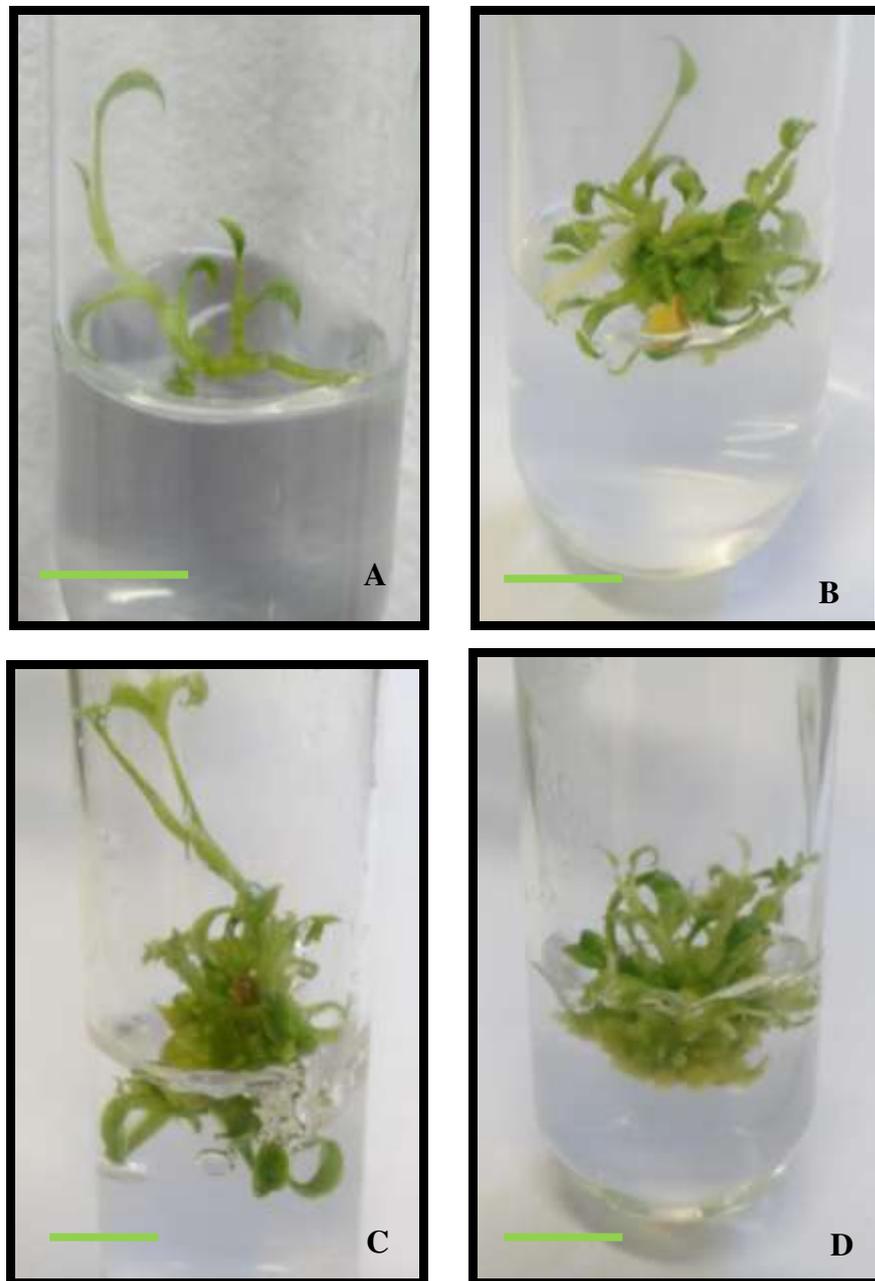
Para esta análise, o tratamento com AIA apresentou média mais elevada de porcentagem de formação de raiz (82,5), seguidos por ANA e AIB (30 e 15) respectivamente. No entanto, a menor formação de raízes foi registrada no meio de cultura Pierik, sem a adição de regulador de crescimento, indicando que a adição de auxinas (AIA, AIB ou ANA) favoreceu a formação de raiz. Contudo, ao relacionar o NTN/E com a formação de raízes, a adição de 10 μM de AIB (6,57), do ponto de vista econômico, é a auxina mais indicada para a formação de raízes, diminuindo os custos, pois não seria necessária a transferência dos brotos para a etapa de enraizamento.

Plantas cultivadas no escuro apresentam fenótipos de plantas estioladas, entrenós mais distanciados, caules esbranquiçados, com aspecto translúcido, apresentando as folhas pequenas (RAMOS, 2007). Torres *et al.* (1998) e Taiz & Zeiger (1998) citam a ocorrência destas características em plantas mantidas no escuro por determinado tempo, sendo que Taiz & Zeiger (1998) afirmam, ainda, que nestes casos há a inibição do desenvolvimento de cloroplastos e a diminuição nos conteúdos de pigmentos fotossintéticos.

4.2 Fase de regeneração

Aos 60 dias de cultivo *in vitro*, a Figura 14 representa mudas de antúrio (*Anthurium andraeanum*) 'Cananeia' regeneradas no meio Pierik(1976): sem adição do regulador BAP, com adição de 2,22 μM de BAP, com adição de 4,44 μM de BAP e com adição de 6,66 μM de BAP.

Figura 14. Brotos de antúrio (*Anthurium andraeanum*)cv. Cananeia regenerados em meio Pierik(1976) sem regulador de crescimento (A), Pierik com 2,22 μ M de BAP (B), Pierik com 4,44 μ M de BAP (C), Pierik com 6,66 μ M de BAP (D), aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

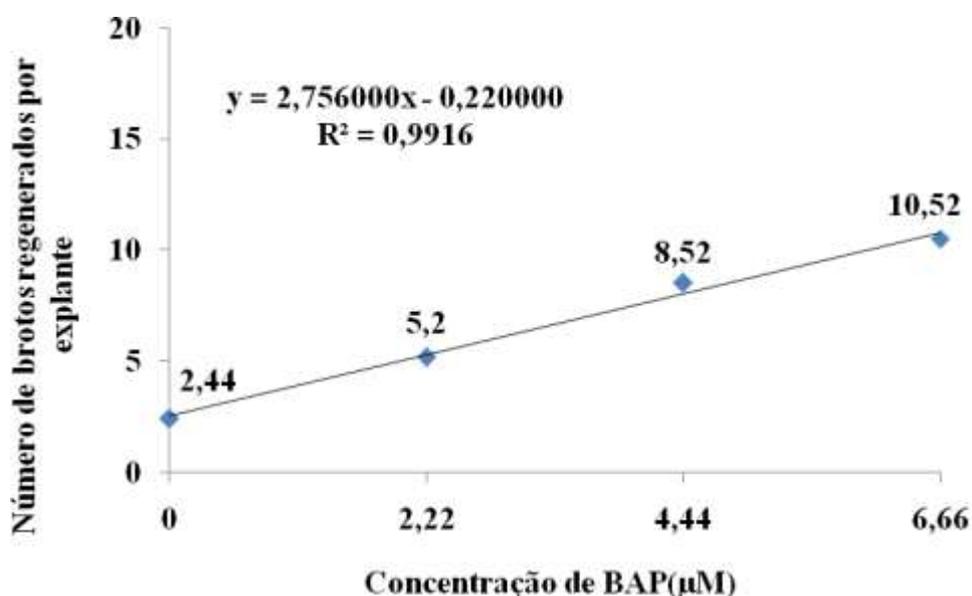


Barra: 1 cm. Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Nessa fase de regeneração, observou-se que houve diferenças significativas para o número de brotos regenerados por explante, em função da elevação da concentração de BAP no meio de cultivo.

Na análise de regressão (Figura 15) observa-se a linha de tendência, do número de brotos regenerados por explante, em função das concentrações do regulador de crescimento BAP adicionado ao meio de cultura Pierik (PIERIK, 1976), aos 60 dias de cultivo *in vitro* do Antúrio. A análise de regressão dos dados demonstra que o modelo estatístico se ajustou aos dados observados em regressão linear, com um coeficiente de determinação de R^2 0,9916, ou seja, o modelo da curva explica os valores observados em 99,16%.

Figura 15. Análise de regressão do efeito das concentrações do regulador de crescimento BAP sobre o número de brotos regenerados por explante de *Anthurium andraeanum* cultivar Cananeia, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015.



Fonte: Vanessa Priscila Campos Tavares.

Para a cultivar em estudo, a linha de tendência indica que quanto maior a dose de BAP, maior será a taxa de regeneração de brotos até a concentração de 6,66 µM, com uma média de 10,52 brotos regenerados por explante. Assim, provavelmente quando forem testadas maiores doses de BAP, serão atingidas maiores taxas de multiplicação.

No entanto, é bom lembrar que, Segundo Huetteman e Preece (1993) e Pattnaik, Sahoo e Chand (1996) apud. Flores *et al.* (2009), concentrações inferiores a 5 µM de BAP são eficientes para a indução da regeneração e do crescimento de brotos *in vitro*, no entanto, quantidades superiores reduzem o comprimento dos brotos, o tamanho das folhas e inibem o

enraizamento, o que demonstra que altas concentrações a esta podem causar toxidez aos explantes.

Ainda assim, é necessária nova verificação experimental científica, testando-se concentrações maiores de BAP, para obter-se conclusão mais fidedigna a respeito do aumento continuado das concentrações da citocinina usada, a partir da concentração de 6,66 μM , para saber se realmente essa concentração é a máxima alcançada.

Resultados semelhantes foram encontrados no experimento conduzido por Pinheiro *et al.* (2010), esses autores estudaram o efeito do meio de cultura, da concentração de BAP e do fotoperíodo na micropropagação de antúrio ‘Eidibel’ por segmentos caulinares aos 45 e 60 dias de cultivo *in vitro* quando foram adicionadas concentrações de 2,22 μM , 4,44 μM e 6,66 de BAP ao meio Pierik, onde os índices variaram de (3,02 a 3,49) e (3,42 a 3,96) respectivamente ou seja, a utilização de concentrações maiores de BAP não reduziu a formação de brotos.

Com relação à concentração mais indicada de BAP, enquanto que para a cv. IAC Cananea o presente estudo apresentou, para esta característica analisada, uma tendência da maior formação de mudas regeneradas por explantes em concentração de BAP por volta do 6,66 μM os estudos de Campos (2014) para a cv. IAC Rubi encontrou uma tendência da maior formação de mudas por explantes em concentração de BAP por volta do 4,44 μM e Santos (2013), para as cvs. Jureia e Luau, e Pinheiro *et al.* (2009), para a cv. Eidibel mostraram uma tendência da concentração ótima de BAP em torno de 2,22 μM .

Portanto, a taxa de multiplicação é genótipo dependente, isto é, cada cultivar (de uma mesma espécie) pode apresentar desenvolvimento *in vitro* diferente, sob as mesmas condições de cultivo.

De acordo com a Figura 15(B, C e D) foi observado que com a adição de BAP nas concentrações de 2,22 μM , 4,44 μM e 6,66 μM , ao meio de cultura, favoreceu a maximização do número de brotos regenerados por explante para a cultivar de antúrio “Cananea”.

5. CONCLUSÕES

De acordo com o estudo realizado para o *Anthurium andraeanum* “Cananeia”, o método do estiolamento de segmentos nodais e regeneração dos brotos são viáveis para a multiplicação *in vitro* para a referida cultivar estudada.

A adição de auxinas (AIA, AIB E ANA) ao meio de cultura para estiolamento de segmentos nodais, favoreceu a formação de calo.

A menor formação de raízes foi registrada no meio de cultura Pierik, sem a adição de regulador de crescimento, indicando que a adição de auxinas (AIA, AIB ou ANA) favoreceu a formação de raiz diminuindo os custos, pois não seria necessária a transferência dos brotos para a etapa de enraizamento.

Tendo em vista o custo de produção, a adição de AIB é a mais recomendada para a primeira fase (estiolamento) no cultivo *in vitro* de segmentos nodais da ‘Cananeia’.

Para a regeneração *in vitro* de brotos de antúrio cv. Cananeia, a partir de segmentos nodais estiolados a adição de BAP, ao meio de cultura, é necessária, uma vez que os resultados encontrados no presente estudo constataram que houve um aumento do número de brotos regenerados por explante com o incremento das concentrações de BAP,

Dentre as concentrações testadas de BAP, observou-se que com o aumento do incremento de BAP, maior o número de brotos regenerados por explante para a cultivar em estudo.

6. REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA BRASIL. **Floricultura Brasileira faturou R\$ 5,2 bilhões no ano passado**. 2014. Disponível em: <<http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2014-01-19/floricultura-brasileira-faturou-r-52-bilhoes-no-ano-passado>>. Acesso em: 28 set. 2015.
- AGUIAR, Adriano Tosoni da Eira et al. Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. **Instituto Agrônomo**: Boletim, Campinas, v. 7, n. 200, p. 1-460, jun. 2014.
- ALBERT, L. H. B. **Aspectos morfo-anatomicos de mudas de abacaxizeiro ‘Smoothcayenne’ micropropagadas**. 2004. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ALBUQUERQUE, A. C. et al. Durability of *Anthurium plowmanii* leaves in different harvest stages. **Acta Horticulturae**, v. 1000, p. 189-193, 2013.
- ALONSO, A. M.; SILVA, S. J. C. **A floricultura no Distrito Federal**: perspectivas para o setor. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012.
- AMMIRATO, P. G. V. Embryogenesis. In: EVANS, D. A. et al. **Handbook of plant cell culture**. New York: Mac Milam, 1993.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. (Documentos, 58)
- ARAÚJO, Aparecida Gomes de; LÉDO, Ana da S.. Propagação *in vitro* de abacaxizeiro ‘Vitória’ a partir de brotos estiolados. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS, 3., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. p. 1-158.
- ASMAR, S. A. et al. Citocininas na multiplicação *in vitro* de hortelã-pimenta (*Mentha Piperita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, número especial, p. 533-538, 2011.
- ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v. 1, p. 261-296.
- ATAK, Ç.; ÇELIK, Ö. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from leaf explants. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 3, p. 1155-1161, 2009.
- BRAINER, M. S. C. P.; OLIVEIRA, A. A. P. Perfil da floricultura no nordeste brasileiro. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 44., 2006, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sober, 2006.
- CAMPOS, Arlene Santisteban. **Micropropagação por meio da indução ao estiolamento de antúrio (*Anthurium andraeanum*) CVS. Rubi e Ianomami**. 2014. 75 f. Monografia

(Especialização) – Curso de Agronomia, Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

CARVALHO, A. C. P. P. et al. **Estiolamento in vitro**: uma alternativa para a produção de mudas micropropagadas de antúrio. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. (Circular Técnica, 36).

CARVALHO, A. C. P. P. et al. **Produção de mudas micropropagadas de antúrio (*Anthurium andraeanum*) cv. Eidibel por embriogênese somática**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. (Circular Técnica, 41).

CARVALHO, J. M. F. C. **Técnicas de micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. (Documentos, 64).

CARVALHO, Julita Maria Frota Chagas. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa, 2006. (Documentos, 148).

CARVALHO, Julita Maria Frota Chagas; VIDAL, Márcia Soares. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. (Documentos, 116).

CASTRO, A. C. R. et al. **Antúrio**. Brasília, 2012. 163p.

CASTRO, C. E. F. et al. Propagação vegetativa do antúrio *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 3., 1982, Salvador. **Anais...** Campinas: Instituto de Botânica, 1986. p. 13-25.

CASTRO, Mario Felipe Arruda de et al. Nutrição. In: CASTRO, Ana Cecília Ribeiro de. **Antúrio**. Brasília: Embrapa, 2012. Cap. 6, p. 1-164.

DIAS, Márcia Maria et al. Concentrações de reguladores vegetais no estiolamento *in vitro* de ananás do campo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 513-520, abr. 2011.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de Eucalipto. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 49-59, 2009.

FRANÇA, Carlos Alberto Machado de. Panorama do Agronegócio de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: Sober, 2008. p. 1-10.

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.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v.1, p. 183-260.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagación de plantas: principios y prácticas**. México: Continental, 1990.

HUETTEMAN, C. A.; PREECE, J. E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 33, n. 2, p. 105-19, 1993.

IBRAFLORES (São Paulo). **Instituto Brasileiro de Floricultura**: release imprensa. 2015. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=213>>. Acesso em: 25 set. 2015.

IBRAFLORES (São Paulo). **Plano Safra para a Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil**. 2015. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=199>>. Acesso em: 28 set. 2015.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Balço do comércio exterior da floricultura brasileira: 2013**. [S. l.]: Hórtica Consultoria e Treinamento, 2014.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Cultivares de Anthurium en el mercado brasileño. **Horticultura Internacional**, p. 38-41, 2008.

KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 30-33, maio 1997.

KISS, E. et al. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 127-129, 1995.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. M.; MROGINSKY, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991. p.41-77.

LIGHTBOURN, G. J.; PRASAD, P. V. D. *In vitro* techniques for rapid multiplication of four varieties of *Anthurium andraeanum*. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Kingston, v. 34, p. 3-5, 1990.

LUZ, Petterson Baptista da. **Cultivo de flores tropicais**. 2013. 22 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.

MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A.; MCKEE, R. A. **Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. p. 101-181.

MARTIN K. P. et al. Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. **In Vitro Cellular Development Biology Plant**, v. 39, p. 500-504, 2003.

MATTHES, L. A. F.; CASTRO, C. E. F. **O cultivo de antúrio: produção comercial**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1989. (Boletim Técnico, 126).

MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Effects of stock plantletiolation, shading, banding, and shoot development on histology and cutting propagation of *Carpinus betulus* L. *fastigiata*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 121, n. 5, p. 853-860, 1996.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 25, n. 3, p. 473-497, 1962.

NOMURA, E. S.; FUZITANI, E. J.; DAMATTO JÚNIOR, E. R. Cultivo do antúrio. **Revista Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 9, 2012.

NOMURA, Edson Shigueaki. Soluções de condicionamento em pós-colheita de inflorescências de antúrio. **Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 219-225, jul. 2013.

PASQUAL, M. **Propagação de plantas ornamentais**. Lavras: UFLA, 2004.

PATTNAIK, S. K.; SAHOO, Y.; CHAND, P. K. Micropropagation of a fruit tree, *Morus australis* Poir. syn. *M. acidosa* Griff. **Plant Cell Report**, v. 15, p. 841-845, 1996.

PEREIRA, G. A. **Protocolo para micropropagação de bananeira ‘ThapMaeo’**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

PIERIK, R. L. M.; STEEGMANS, H. H. M.; VAN DER MEYS, J. A. J. Plantlet formation in callus tissues of *Anthuriumandraeanum* Lindl. **Scientia Horticulturae**, v. 2, p. 193-198, 1974.

PINHEIRO, M. V. M. et al. Meio de cultura, concentração de BAP e fotoperíodo na micropropagação de antúrio ‘Eidibel’ por segmentos caulinares. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 6, n. 1, p. 10-17, 2010.

PINHEIRO, M. V. M. et al. Micropropagação de antúrio ‘IAC Eidibel’ por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 15, n. 2, p. 91-170, 2009.

PINHEIRO, M. V. M. **Propagação in vitro de antúrio (*Anthuriumandraeanum* cv. Eidibel) via embriogênese somática**. 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

QUIRINO, Z. B. R. et al. Multiplicação *in vitro* do Abacaxizeiro Ornamental var. *Ananas comosus erectifolius*, em meio líquido e gelificado. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Aracaju, v. 40, 2009.

QUISEN, Regina Caetano; ANGELO, Paula Cristina da Silva. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. (Documentos, 61).

RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação *in vitro* de *Cattleyaxmesquita* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Goiânia, v. 37, n. 1, p. 10-15, 2007.

RIKKEN, M. **The European Market for fair and sustainable flowers and plants**. [S.l.]: Belgian Development Agency, 2010. .

SANTANA, Marthony Dornelas et al. Uso do silício na qualidade floral da cultivar de antúrio. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 13., 2013, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2013. p. 1-3.

SANTOS, E. K. Totipotência celular e cultura de tecidos vegetais. In: FREITAS, L. B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 415-444.

SANTOS, E. M. et al. Enraizamento *in vitro* de antúrio sob diferentes concentrações de sais e tipos de auxinas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA VEGETAL VI, 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2009

SANTOS, M. R. A. et al. Indução de calos e regeneração de plantas a partir de frutos de *Anthurium andraeanum* Lindl. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 1, n. 2, p. 77-79, 2005.

SANTOS, P. B. **Micropropagação de duas cultivares de antúrio por meio da indução ao estiolamento**. 2013. 59 f. Monografia (Graduação Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

SEBRAE. **Flores e plantas ornamentais do Brasil**. Brasília/DF, 2015.

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. **Symposia of the Society For Experimental Biology**, Cambridge, v. 11, p. 118-131, 1957.

SOARES, W. S. et al. Estabelecimento *in vitro* e micropropagação de maracujá silvestre (*Passiflora foetida* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 138-142, 2012.

SOUZA, H. M. Instruções práticas: o cultivo de antúrios. **O Agrônomo**, v. 10, n. 1/2, p. 9-19, 1958.

TAIZ, L.; Zeiger, E. **Plant physiology**. 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998.

TOMBOLATO, A. F. C. **Cultivo comercial de plantas ornamentais**. Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2004a.

TOMBOLATO, A. F. C.; QUIRINO, E. A.; COSTA, A. M. M. Antúrio (*Anthurium andraeanum* Lindl.). In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. (Ed.). **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 18-21.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, v. 52, n. 1, p 26-27, 2000.

TOMBOLATO, A. F. C. et al. 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.

TOMBOLATO, A. F. C.; CASTRO, A. C. R. Araceae. In: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. **Flores tropicais: tropical flowers**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. p. 42-57.

TOMBOLATO, A. F. C. et al. IAC Astral: nova cultivar de antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden) coral para flor de corte e vaso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 1, p. 52-54, 2006.

TORRES, A. C.; TEIXEIRA, S. R.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. p. 133-145. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998.

VIDAL, Márcia Soares; CARVALHO, Julita M. Frota Chagas. **Regeneração e transformação genética de plantas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2002. (Circular Técnica, 64).