

3. Referências Bibliográficas

- LEDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; MENEZES, I. C. de; OLIVEIRA, M. do S. P.; MEDEIROS FILHO, S. Somatic embryogenesis from zygotic embryos of *Euterpe oleracea* Mart. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 601-603, 2002.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÉDO, F. J. C.; MULLER, A. A. *Sistema de produção de açaí*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/autores.htm>. Acesso em: 28 fev. 2007.

Micropropagação de Antúrio

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho

Antonio Fernando Caetano Tombolato

Ana Cecília Ribeiro de Castro

1. Introdução

Entre as espécies ornamentais cultivadas, os antúrios (*Anthurium* spp.) merecem destaque. Pertencem à família Araceae, ao gênero *Anthurium* Schott., sendo ornamentais a maioria das suas 800 espécies. O *Anthurium andraeanum* Linden é a espécie deste gênero de maior importância econômica e a segunda flor tropical (Fig. 1A) mais comercializada no mundo, perdendo apenas para as orquídeas. É largamente utilizado na floricultura como flor de corte, folhagem ou planta envasada, e no paisagismo.

Embora sejam característicos de regiões tropicais, os antúrios são produzidos sob estufas em todo o mundo. Aproximadamente 90% de sua comercialização se dão na Europa, principalmente na Holanda. São cultivados em vários locais no Brasil, sendo a principal região produtora o Vale do

Ribeira, no Estado de São Paulo, onde são cultivados sob telados (Fig. 1B) (Tombolato & Castro, 2005).

Os antúrios são plantas semi-herbáceas, eretas e o que normalmente se conhece por flor é na verdade um conjunto formado por uma espádice e pela espata (Fig. 2A-H). A espádice é uma inflorescência constituída por flores minúsculas e dispostas em espiral (Fig. 2I), sendo protegida por uma folha modificada (bráctea colorida) denominada espata. Suas flores são hermafroditas e apresentam o fenômeno de protoginia, ou seja, os órgãos sexuais femininos atingem primeiramente a maturidade e tornam-se receptivos, enquanto as estruturas masculinas ainda encontram-se imaturas, dificultando a autofecundação e favorecendo o cruzamento natural entre plantas diferentes (Tombolato & Castro, 2005).

Seu cultivo é realizado em várias partes do mundo e, no Brasil, intensifica-se a cada década. Nos plantios são utilizadas variedades/cultivares de diferentes procedências, melhoradas no Brasil e na Europa, além de algumas seleções de coleções particulares (Castro et al., 2004). Leme (2004) relata que as cultivares nacionais, desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético do Instituto Agronômico (Campinas, SP), além de competirem com as variedades importadas, levam a vantagem de menor custo na aquisição das mudas e serem plantas rústicas e adaptadas às nossas condições climáticas.



Fig. 1. Inflorescência de antúrio tipo espiga (espádice) e folha modificada (espata), estruturas comumente chamadas de flor (A) e plantio comercial de antúrio, sob cultivo protegido, na região do Vale do Ribeira, em São Paulo (B).

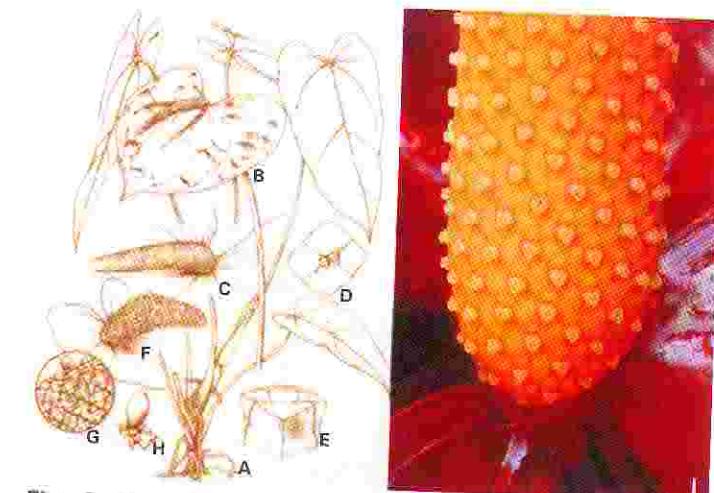


Fig. 2. Desenho esquemático das partes componentes do antúrio: raiz (A), inflorescência (espádice e espata) (B), espádice (C), flor (vista frontal) (D), flor (vista lateral) (E), infrutescência (F), fruto tipo baga (G), detalhe do fruto (H) (Fonte: Tombolato & Castro, 2005) e espádice de antúrio com flores femininas receptivas (I).

2. Propagação

O antúrio pode ser propagado tanto por meio sexuado quanto assexuado.

A propagação sexuada, isto é, por sementes (Fig. 3), é um processo lento, levando geralmente 5 anos para atingir o ápice da produção. Além disso, as progêneres obtidas são heterogêneas, resultando em plantas desuniformes, podendo estas variar em vigor, tamanho e produtividade, e as inflorescências nas cores, formas e tamanhos (Tombolato et al., 2004). Entretanto, em programas de melhoramento genético, o uso da propagação sexuada é a principal forma para a obtenção de novas variedades. Depois de selecionadas, as novas progêneres devem ser propagadas vegetativamente, para que as características desejadas sejam mantidas.



Fig. 3. Muda de antúrio 'Cananéia' obtida a partir da germinação de sementes, em tubete.

A propagação assexuada é feita convencionalmente por divisão de touceiras ou por estaquia. Esses métodos apresentam como desvantagens o baixo número de mudas

produzidas e a possibilidade de disseminação de pragas e doenças (Tombolato et al., 2004). Além desses dois métodos, mais recentemente vem sendo utilizada a micropropagação, uma modalidade da cultura de tecidos vegetais.

3. Micropropagação

Tendo em vista que um dos principais fatores limitantes para o cultivo do antúrio é a disponibilidade de mudas em quantidade e de qualidade, sua produção em laboratório se torna uma técnica alternativa para atingir este propósito.

A micropropagação vem sendo empregada para a rápida propagação clonal e alta produção de mudas de novas variedades de antúrios. A grande produção de mudas só ocorre mediante a cultura *in vitro*, uma vez que, pelo método tradicional de propagação, apenas algumas unidades de plantas podem ser obtidas anualmente (Tombolato et al., 2004).

Como muitas das variedades de antúrio são híbridos, a clonagem *in vitro* tem permitido a uniformização de características, tais como: época de floração, coloração, tamanho e forma das flores, entre outros aspectos (Fuzitani & Nomura, 2004).

A maioria dos trabalhos com a cultura de tecidos de antúrio tem sido desenvolvida na Holanda, Alemanha e Estados Unidos (Lightbourn & Prasad, 1990). No Brasil, o primeiro registro é o de Castro et al. (1986). Embora, atualmente, existam outros grupos conduzindo ensaios nesta área, a técnica mais empregada ainda é a desenvolvida pelo Instituto Agronômico (Tombolato & Quirino, 1996; Tombolato et al., 1998; Tombolato et al., 2002; Tombolato et al., 2004).

Tem-se observado que existe uma grande variação nas respostas das plantas, quanto às suas necessidades fisiológicas, nos diferentes genótipos estudados. Como os protocolos não se adaptam para uso geral, a maioria dos estudos busca desenvolver processos mais eficientes e/ou adaptar os métodos já existentes, de forma a aplicá-los às diferentes variedades de antúrio (Lightbourn & Prasad, 1990).

4. Protocolos para Micropropagação

Existem vários protocolos para a micropropagação do antúrio. Entretanto, é importante ressaltar que geralmente são necessários alguns ajustes para a obtenção de resultados satisfatórios em diferentes genótipos. De um modo geral, a metodologia empregada envolve as seguintes etapas: a) escolha do material vegetal, preparação e inoculação do explante no meio de cultura; b) indução de partes aéreas e/ou multiplicação dos propágulos, por meio de vários subcultivos; c) alongamento e enraizamento das brotações produzidas; e d) aclimatização (transplantio das mudas obtidas para substrato adequado).

Na fase de estabelecimento, na qual se faz a seleção dos explantes, a desinfestação e a inoculação do material em meio nutritivo, sob condições assépticas, pode-se empregar vários tipos de explantes, tais como: sementes (Fig. 4A), meristemas (Fig. 4B), frutos com sementes (Fig. 4C), frutos sem sementes (Fig. 4D) e secções de folhas (Fig. 4E), sendo estes os mais utilizados.

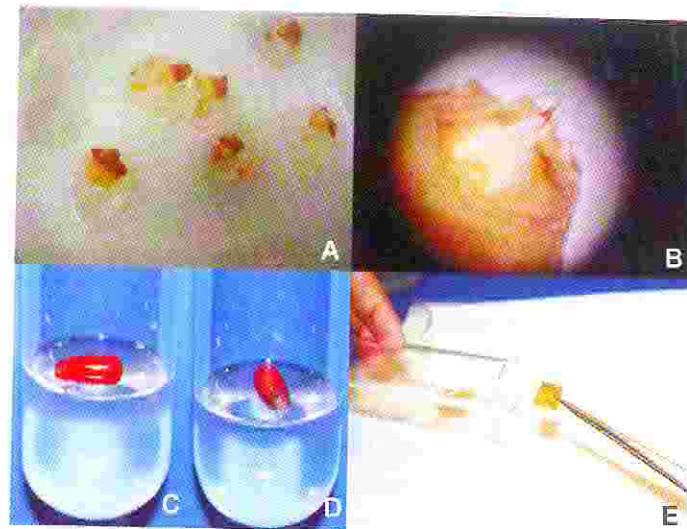


Fig. 4. Tipos de explantes empregados no estabelecimento in vitro do antúrio: sementes (A), meristema (B), fruto com sementes (C), fruto sem sementes (D) e secção foliar (E).

4.1. Organogênese Indireta por Explante Foliar

De acordo com metodologia desenvolvida por (Tombolato et al., 1998), os seguintes passos são necessários para induzir organogênese indireta em segmentos de folhas de antúrio:

4.1.1. Material Vegetal e Desinfestação

O material vegetal utilizado são folhas bem jovens que deverão ser lavadas em água corrente e detergente, com auxílio de uma esponja bem macia (Fig. 5A). As folhas são cortadas na região próxima à nervura central (Fig. 5B), em segmentos de aproximadamente 8 cm de comprimento e 3 cm de largura. O comprimento do segmento vai depender do tamanho da folha a ser utilizada.



Fig. 5. Lavagem da folha de antúrio com água corrente e detergente, com auxílio de uma esponja (A) e folha de antúrio sendo cortada na região próxima à nervura central (B).

Em capela de fluxo laminar, os segmentos foliares são colocados em recipiente esterilizado e mergulhados em álcool 70% por 5 segundos, deixando-os escorrer depois para retirar o excesso da solução. Em seguida, os segmentos foliares são transferidos para outro recipiente esterilizado contendo solução de hipoclorito de cálcio a 1,5% + 3-4 gotas de Tween 20° (para cada 100 mL de solução), sob agitação durante 10 minutos, deixando-os escorrer depois, e lavados três vezes sucessivamente, com água destilada esterilizada. Cada enxague deverá durar aproximadamente 1 minuto e ser efetuado, preferencialmente, em frascos separados.

4.1.2. Inoculação dos Explantes

- 1) Após a desinfestação superficial, colocar as secções foliares sobre papel de filtro estéril e cortar os segmentos, com auxílio de pinça e bisturi autoclavados, de forma que fiquem com 1 cm de largura e 7 cm de comprimento (Fig. 6A).
- 2) Cortar cada segmento em secções de 1 cm², de forma que a nervura central fique na região mediana do explante (Fig. 6B).
- 3) Inocular os explantes, preferencialmente um por tubo de ensaio, em meio de cultura P1 (Tabela 1), com 1/3 da região

mais apical submersa no meio.

- 4) Colocar os frascos contendo os explantes em câmara escura, a 25°C, para induzir a formação de calo.
- 5) Após 2 a 3 meses, transferir os frascos para sala de crescimento, com 16 horas de fotoperíodo.

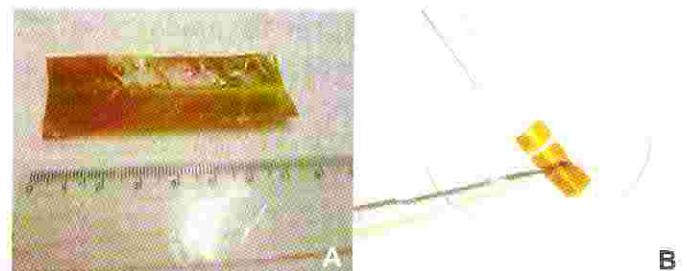


Fig. 6. Segmento de folha de antúrio com tamanho de 1 x 7 cm (A), cortado em secções de 1 cm² (B).

4.1.3. Multiplicação

- 1) Quando os calos apresentarem início de formação de clorofila, isto é, se tornarem verdes (Fig. 7A), aguardar de 10 a 15 dias, transferi-los para o meio de cultura P2.
- 2) Manter as culturas em sala de crescimento com regime de 16 horas de luz, temperatura de 251°C e intensidade luminosa de 30 µmol/m²/s.

4.1.4. Alongamento e Enraizamento

- 1) Passados 2 meses, quando os brotos atingirem aproximadamente 1 cm de altura (Fig. 7B), transferi-las para o meio P3, onde permanecerão por mais 2 a 3 meses. Nessas

condições, alguns brotos podem dar início à formação de raízes (Fig. 7C).

2) Posteriormente, transferir as plantas mais desenvolvidas para o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem regulador de crescimento, enquanto as plantas menores permanecem no meio P3.

3) Após 2 a 3 meses, aclimatizar as mudas (Fig. 7D) em substrato comercial, adicionado de vermiculita e fibra de coco (ou pó de coco seco), em casa de vegetação.

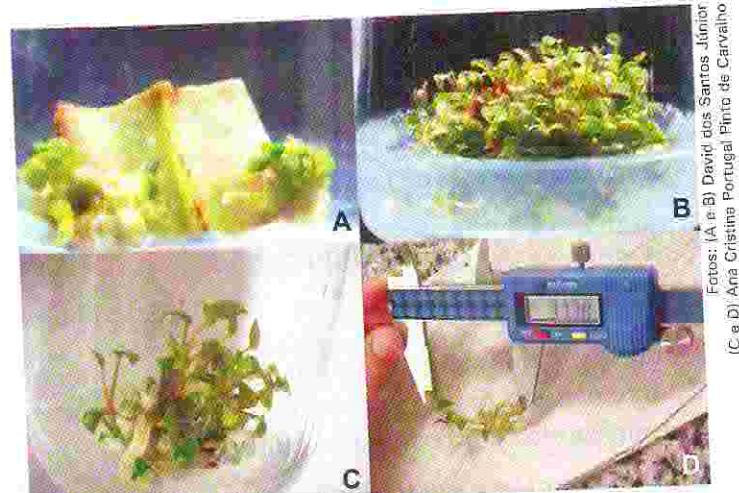


Fig. 7. Explante foliar de antúrio inoculado em meio de cultura P1, com detalhe da nervura central e a formação de calos nas extremidades que ficam em contato com o meio de cultura (A); brotações de antúrio regeneradas a partir de calos formados em explante foliar, em meio de cultura P2 (B); mudas de antúrio regeneradas em meio de cultura P3 (C); e muda regenerada de antúrio 'Eidibel', com desenvolvimento adequado para ser aclimatizada (D).

Tabela 1. Meios de cultura P1, P2 e P3 utilizados em diferentes etapas da micropopulação do antúrio (Pierik, 1976).

Componentes ⁽¹⁾	P1	P2	P3
	mg/L		
NH ₄ NO ₃	825	825	206
KNO ₃	950	950	950
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	185	185
KH ₂ PO ₄	85	85	85
CaCl ₂ .4H ₂ O	440	220	220
Sacarose	30.000	20.000	20.000
BAP	-	1	-
2,4-D	0,08	-	-
Zea (Zeatina)	1	-	-

⁽¹⁾Todos os meios são acrescidos dos micronutrientes, FeEDTA, mio-inositol e vitaminas do MS, solidificados com ágar, pH corrigido para 6,0 e autoclavados a 1 atm e 120°C, durante 20 minutos.

4.2. Organogênese Indireta por Explante de Fruto

É importante mencionar que esta metodologia, desenvolvida por Santos et al. (2005), deve ser ajustada para que possa ser utilizada na produção de mudas de antúrio em larga escala. Entretanto, os resultados preliminares indicam que é possível induzir a formação de calos em frutos de antúrio sem sementes, com a posterior regeneração de plantas completas. Dentre as vantagens deste método, pode-se citar a redução do tempo e dos custos na obtenção das mudas.

4.2.1. Material Vegetal e Desinfestação

Frutos maduros sem semente são empregados como material de partida.

As espádices contendo os frutos maduros (Fig. 8A) deverão ser lavadas com água corrente e sabão líquido

(recomenda-se digluconato de clorexidina a 2%) ou detergente comum, com auxílio de uma espoja bem macia.

4.2.1.1. Na Bancada do Laboratório

- 1) Colocar a espádice numa placa de Petri e pulverizar com uma solução de antibiótico (rifampicina de sódio a $12,10 \mu\text{M}$), deixando o material por 2 horas.
- 2) Em recipiente adequado, desinfestar a espádice com álcool 70% por 2 minutos.
- 3) A seguir, em outro recipiente, imergir a espádice numa solução de hipoclorito de cálcio a 2,5% por 10 minutos.
- 4) E, posteriormente, em outro recipiente, em solução de carbenzim a 50% (p/v) por 2 horas.
- 5) Retirar os frutos maduros da espádice.

4.2.2.2. Na Capela de Fluxo Laminar

- 1) Colocar os frutos maduros em recipiente esterilizado e imergi-los em álcool 70% por 2 minutos.
- 2) Transferir os frutos maduros para outro recipiente esterilizado contendo solução de hipoclorito de cálcio a 2,5%, deixando-os sob agitação durante 10 minutos.
- 3) Lavar os frutos maduros, três vezes sucessivamente, com água destilada esterilizada. Cada enxague deverá durar aproximadamente 1 minuto e ser efetuado, preferencialmente, em frascos separados.

4.2.3. Inoculação dos Explantes

- 1) Após a desinfestação superficial, colocar os frutos maduros numa placa de Petri esterilizada (Fig. 8B) e retirar a(s) semente(s) com auxílio de pinça e bisturi autoclavados.
- 2) Após a remoção da(s) semente(s), os frutos são inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS suplementado com $18,08 \mu\text{M}$ de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxyacético).
- 3) Colocar os frascos contendo os explantes em câmara de crescimento a 25°C e sob fotoperíodo de 16 horas.

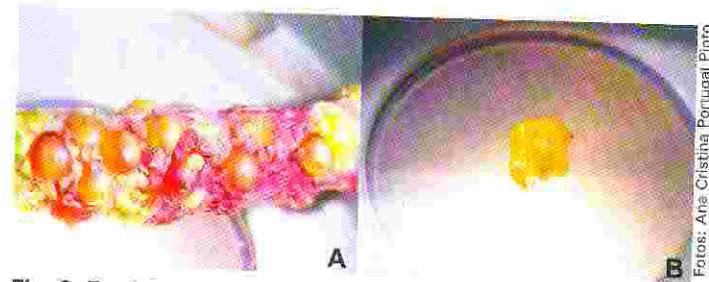


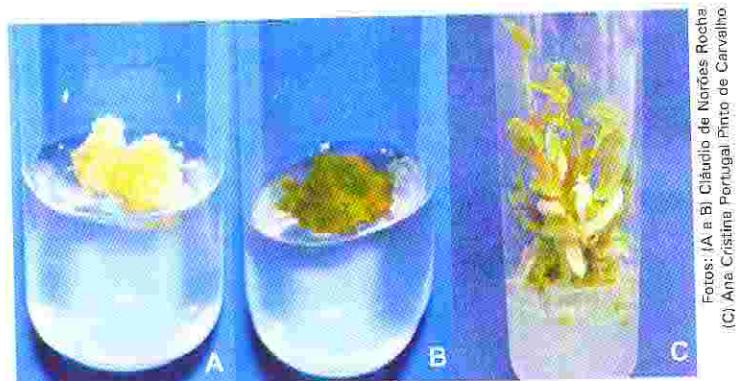
Fig. 8. Espádice de antúrio, cultivar Cananéia, contendo vários frutos maduros para excisão (A) e o seu fruto maduro sem semente (B).

4.2.4. Multiplicação

- 1) Após 30 dias, quando os calos apresentarem uma coloração branca a bege (Fig. 9A) e parecerem ser organogênicos, transferi-los para meio de cultura MS adicionado de $0,89 \mu\text{M}$ de BAP (benzilaminopurina).
- 2) Depois 30 dias, os calos apresentarão início de formação de clorofila (Fig. 9B), isto é, se tornarão verdes, e após mais 30 dias ocorrerá a formação de plantas (Fig. 9C).

3) Durante todo o processo, manter as culturas em sala de crescimento com regime de 16 horas de luz, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$.

As brotações obtidas podem ser multiplicadas através de sucessivos subcultivos mediante os segmentos nodais, diretamente, a partir do seccionamento das mudas, ou indiretamente, via brotos estiolados.



Fotos: (A e B) Cláudio de Norões Rocha
(C) Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho

Fig. 9. Calo de antúrio 'Cananéia', de coloração bege, formado a partir de explantes de fruto sem semente, em meio de cultura contendo 2,4-D (A); de coloração verde após transferência para o meio de cultura com BAP (B); e plantas regeneradas a partir desses calos em meio de cultura contendo BAP (C).

4.3. Micropopulação por Segmento Nodal

Este protocolo, desenvolvido por (Pinheiro, 2007), consta das seguintes etapas:

4.3.1. Material Vegetal

Como explantes, são empregados segmentos caulinares contendo dois nós, obtidos por meio do seccionamento de mudas estabelecidas in vitro (Fig. 10A).

4.3.2. Inoculação dos Explantes em Capela de Fluxo Laminar

1) Inocular quatro explantes por frasco de vidro transparente com capacidade de 220 mL (Fig. 10B), contendo 30 mL do meio de cultura de Pierik (1976), adicionado de 2,22 μM de BAP.

2) Manter as culturas em sala de crescimento, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ e fotoperíodo de 12 horas.

4.3.3. Subcultivos

Realizar os subcultivos em intervalos de 30 dias.

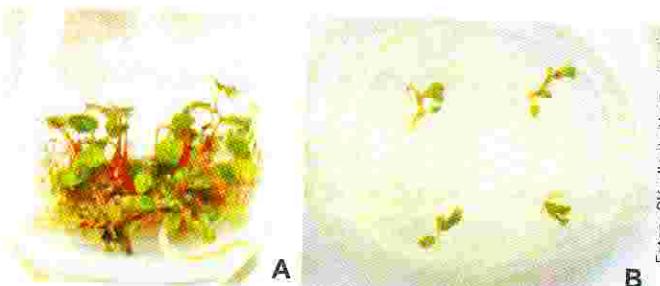


Fig. 10. Mudas de antúrio, cultivar Eidibel, estabelecidas in vitro (A) e explantes provenientes dessas mudas inoculados em meio de cultura Pierik, contendo BAP (B).

4.4. Micropopulação por Estiolamento

Protocolo também desenvolvido por (Pinheiro, 2007), que tem como base o estiolamento das brotações. 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 & Kester, 1990). O estiolamento retarda a lignificação e reduz as propriedades mecânicas dos tecidos, induzindo o enraizamento nas brotações estioladas (Biasi, 1996).

A micropopulação 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, consequentemente, proporcionando baixos níveis de variabilidade fenotípica. Embora a produção de mudas in vitro por esta técnica já tenha sido relatada para algumas culturas, este é o primeiro registro para o antúrio e segue este procedimento:

4.4.1. Material Vegetal

Os explantes são obtidos a partir de mudas estabelecidas in vitro (Fig. 10A), que são seccionadas em segmentos caulinares (microestacas) com tamanho médio de 5 cm, contendo em torno de três a cinco nós, que devem ser totalmente desfolhados.

4.4.2. Etapa 1: Indução ao Estiolamento

1) Inocular os explantes, em capela de fluxo laminar, perpendicularmente, um por tubo de ensaio (150 x 25 mm) contendo 10 mL do meio de cultura de Pierik (1976), sem a adição de fitorreguladores.

- 2) Manter as culturas sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e em ausência de luz, por 60 dias.
- 3) Verificar se o estiolamento in vitro ocorre apenas nos brotos que se desenvolvem a partir das gemas axilares, presentes nos nós (Fig. 11A).

4.4.3. Etapa 2: Obtenção das Mudas

Esta etapa, empregando-se os brotos estiolados in vitro da Etapa 1, constará dos seguintes passos, também executados em capela de fluxo laminar:

- 1) Seccionar os brotos estiolados em segmentos contendo apenas dois nós.
- 2) Colocar os explantes horizontalmente, um por tubo de ensaio (150 x 25 mm) contendo 10 mL do meio de cultura de Pierik (1976), suplementado com 2,22 μM de BAP.
- 3) Manter as culturas (Fig. 11B) em câmara de crescimento com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$.

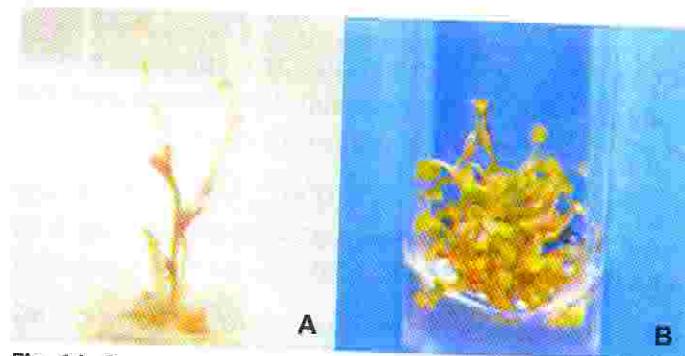


Fig. 11. Segmento caulinar de antúrio 'Eidibel' contendo de 3 a 5 nós, totalmente desfoliado, sob estiolamento in vitro (A); e em crescimento após a exposição à luz (B).

Fotos: (A) Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho (B) Cláudio de Noronha Rocha

4.4.4. Alongamento e Enraizamento das Mudas

Após 60 dias, transferir as mudas para o meio de cultura de Pierik (1976), sem regulador de crescimento, deixando-as nesse meio por 2 meses.

4.5. Aclimatização

Seguindo protocolo produzido por Tombolato et al. (1998), a aclimatização das mudas micropopagadas de antúrio obedecerá a seguinte sequência:

- 1) Retirar, do meio de cultura, mudas bem desenvolvidas e apresentando um bom sistema radicular (Fig. 7C).
- 2) Lavar as raízes em água corrente para eliminar resíduos do meio de cultura.
- 3) Plantar as mudas em bandejas plásticas ou de isopor, contendo como substrato fibra de coco curtida e umedecida com solução nutritiva composta pela metade da concentração dos macronutrientes do MS.
- 4) Cobrir as bandejas com plástico transparente e mantê-las em câmara de cultivo com intensidade luminosa de 1.500 lux, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C.
- 5) Remover as caixas após 30-40 dias para temperatura ambiente e eliminar a cobertura gradualmente para a perfeita adaptação das mudas (Fig. 12A-B).
- 6) Transferir as plantas individualmente, decorridos mais 15 dias, para recipientes contendo como substrato terra argilosa + areia + matéria orgânica na proporção 1:1:1 e mantê-las em casa de vegetação com 70% de sombreamento (Fig. 12C-D).



Foto: David dos Santos Júnior

Fig. 12. Mudas micropopagadas de antúrio, cv. Eidibel, plantadas em bandejas plásticas, aproximadamente aos 30 (A) e 60 dias (B) de aclimatização; em sacos plásticos, aproximadamente aos 90 dias de aclimatização (C) e em destaque (D).

5. Referências Bibliográficas

- BIASI, L. A. Emprego do estiolamento na propagação de plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 309-314, 1996.
- CASTRO, A. C. R.; RESENDE, L. V.; GUIMARÃES, W. N. R.; LOGES, V. Uso de técnicas moleculares em estudo de diversidade genética em antúrio. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v. 10, n. 1/2, p. 6-9, 2004.
- CASTRO, C. E. F.; FONSECA, M. S.; SONDAHL, M. R.; MATTHES, L. A. F. 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.
- 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.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. *Propagación de plantas: principios y prácticas*. México, DF: 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'. 2004. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- 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.
- MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Oxford, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PIERIK, R. L. M. *Anthurium andraeanum* Lindl. plantlets produced from callus tissues cultivated in vitro. *Physiologia Plantarum*, Oxford, v. 37, p. 80-82, 1976.
- PINHEIRO, M. V. M. *Estiolamento e multiplicação in vitro de antúrio cv. Eidibel*. 2007. 84 f. Monografia (Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- SANTOS, M. R. A. dos; TIMBÓ, A. L. de O.; CARVALHO, A. C. P. P. de; MORAIS, J. P. S. Callus induction and plant regeneration from *Anthurium andraeanum* Lindl. fruits. *Plant Cell Culture & Micropagation*, Lavras, v. 1, n. 2, p. 77-79, 2005.
- TOMBOLATO, A. F. C.; CASTRO, A. C. R. de. Araceae. In: TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P. P. de; BARROSO, T. C. da S. F. (Ed.). *Flores Tropicais*. Brasília, DF: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. p. 42-57.
- TOMBOLATO, A. F. C.; FURLANI, P. R.; CASTRÔ, C. E. F.; MATHES, L. A.; F.; TAGLIACOZZO, G. M. D.; SAES, L. A.; RIVAS, E. B.; COUTINHO, L. N.; F.; BERGAMANN, E. C.; LEME, J. M. Antúrio: *Anthurium andraeanum* Lindl. In: TOMBOLATO, A. F. C. (Ed.). *Cultivo comercial de plantas ornamentais*. Campinas: Instituto Agronômico, 2004. p. 61-94.
- TOMBOLATO, A. F. C.; QUIRINO, E. A. Multiplicação in vitro de novas seleções de *Anthurium andraeanum* Lindl. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v. 2, n. 1, p. 37-46, 1996.
- TOMBOLATO, A. F. C.; QUIRINO, E. A.; COSTA, A. M. M. Antúrio (*Anthurium andraeanum* Lindl.). In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. *Micropropagação de plantas ornamentais*. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. p. 18-21. (Instituto Agronômico. Boletim Técnico, 174).

- TOMBOLATO, A. F. C.; RIVAS, E. B.; BERGMANN, L. C.; IMENES, S. de L.; FURLANI, P. R.; CASTRO, C. E. F. de; MATTHES, L. A. F.; SAES, L. A.; COSTA, A. M. M.; TAGLIACOZZO, G. M. D.; LEME, J. M. *Cultivo de antúrio: produção comercial*. Campinas: Instituto Agronômico, 2002. 47 p. (Instituto Agronômico. Boletim Técnico, 194).