

# MICORRIZAÇÃO E ADUBAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE ANTÚRIO, CV. EIDIBEL: CRESCIMENTO E ACLIMATIZAÇÃO *EX VITRO* <sup>(1)</sup>

GIULIO CESARE STANCATO <sup>(2\*)</sup>; ADRIANA PARADA DIAS DA SILVEIRA <sup>(3,4)</sup>

## RESUMO

Para a formação de mudas, plântulas micropropagadas de antúrio são submetidas a uma das etapas mais críticas na cultura de tecidos de plantas que é da transferência *in vitro* para *ex vitro*. O emprego de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que possam promover maior crescimento e sobrevivência da plântula micropropagada pode ser promissor e viável para plantas produzidas em ambiente protegido. O objetivo foi monitorar as respostas fisiológicas das plântulas de antúrio cv. Eidibel sob influência de adubação N:P:K e/ou inoculação de *Glomus intraradices*. Em uma primeira fase, as plântulas *in vitro* foram transferidas para bandejas de polipropileno, contendo um substrato a base de casca de *Pinus*, realizando-se os tratamentos: controle, adubação (Osmocote 15:10:10), inoculação de FMA e adubação, e somente inoculação. As plântulas permaneceram durante 100 dias, quando foram transplantadas para vaso de 1 L, contendo o mesmo substrato. As plântulas do controle foram divididas nos tratamentos: controle/controle, controle/adubação, controle/adubação e inoculação e controle/inoculação, enquanto as plântulas dos demais tratamentos da primeira fase permaneceram da mesma forma. Nesta fase, permaneceram por 450 dias, determinando-se: matéria seca da parte aérea, da raiz, da folha e total, área foliar, relação parte aérea/raiz, relação matéria seca/matéria fresca total e colonização micorrízica. A micorrização das plântulas micropropagadas de antúrio, tanto na fase de aclimatização quanto de obtenção de mudas, não atingiu o mesmo efeito positivo da adubação N:P:K na promoção do crescimento.

**Palavras-chave:** *Anthurium andraeanum* Lindl, Araceae, micropropagação, FMA.

## ABSTRACT

MYCORRHIZATION AND FERTILIZATION OF MICROPROPAGATED ANTHURIUM PLANTLETS, CV. EIDIBEL: GROWTH AND ACCLIMATIZATION *EX VITRO*

Plantlets of micropropagated anthurium are subjected to one of the most critical steps in plant tissue culture, which is the transfer *in vitro* to *ex vitro*. The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) that would promote greater growth and survival of plantlets can be promising and viable for micropropagated plants grown in protected environment. The objective was to monitor the physiological responses of anthurium cv. Eidibel plantlets under the influence of fertilizer N: P: K and / or inoculation of *Glomus intraradices*. In a first stage, the plantlets *in vitro* were transferred to trays of polypropylene, with a pine bark substrate, with the treatments: control, fertilization (Osmocote 15:10:10), AMF inoculation and fertilization, and only inoculation. The plantlets remained for 100 days, when they were transplanted into one L pot plant, containing the same substrate. The control plantlets were divided in the treatments: control / control, control / fertilization, control / fertilization and inoculation and control / inoculation, while the plantlets of other treatments remained the same. At this stage, the plantlets were kept for 450 days, and analyses made were: shoot, root, leaf and total dry matter, leaf area, shoot / root ratio, total dry matter / total fresh matter ratio and mycorrhizal colonization. The mycorrhization of micropropagated anthurium, at the stage of acclimatization and plantlet production, did not show the same positive effect of N: P: K fertilization in promoting plant growth.

**Key words:** *Anthurium andraeanum* Lindl., Araceae, micropropagation, AMF.

<sup>(1)</sup> Recebido para publicação em 5 de outubro de 2009 e aceito em 18 de maio de 2010.

<sup>(2)</sup> Centro de Horticultura, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, 13012-970 Campinas (SP). E-mail: stancato@iac.sp.gov.br (\*) Autor correspondente.

<sup>(3)</sup> Centro de Solos e Recursos Ambientais, Instituto Agrônomo (IAC). E-mail: apdsil@iac.sp.gov.br

<sup>(4)</sup> Bolsista do CNPq.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido à ocorrência de protoginia no antúrio, que induz à polinização cruzada, a propagação em grande escala por sementes não é viável, e produtores têm buscado cultivares cujos propágulos são obtidos por métodos de micropropagação ou clonagem *in vitro*, que favorecem a uniformidade das plantas e das hastes florais (MATTHES e CASTRO, 1989). A obtenção de plântulas a partir da cultura de tecidos implica que no fim do período *in vitro* deve ocorrer uma fase, na qual as plântulas sejam cultivadas em condições especiais, com alta umidade relativa e baixa intensidade luminosa. Nessa etapa, conhecida como aclimatização, a transferência deverá ser realizada de forma gradativa ou um número significativo de plântulas não sobreviverá. Entre os fatores envolvidos nessa etapa estão os elementos do microclima, a nutrição mineral e a associação entre o sistema radicular e microrganismos.

Em geral, o controle do meio ambiente é como uma das estratégias empregadas na aclimatização, sendo de grande importância na promoção do crescimento, desenvolvimento e morfologia de plântulas *in vitro* (KOZAI et al., 1987; KOZAI, 1991). Uma das formas de se estimular à autotrofia seria pelo estabelecimento da associação de fungos micorrízicos e as raízes das plântulas de antúrio, porém existem poucos relatos dessa interação (STANCATO e SILVEIRA, 2006; BERMUDEZ e BENZING, 1989; MAFFIA et al., 1993; BRINK et al., 1998).

Durante as fases de aclimatização em bandejas e de formação de mudas em vasos ou sacos plásticos, verifica-se que na literatura não existem informações que norteiam o emprego dos fatores bióticos, e a produção de flores na planta adulta é dependente do desenvolvimento alcançado pelas plântulas nessas fases. Dessa maneira existem poucos estudos que tenham avaliado a influência dos fatores bióticos, principalmente os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), e a associação com esses microrganismos pode melhorar o desempenho das plântulas, além de se estender durante toda a sua vida (STANCATO e SILVEIRA, 2006).

Os efeitos benéficos da micorrização em plantas ornamentais já foram observados em *Anthurium andraeanum* (STANCATO e SILVEIRA, 2006), bem como em *Chrysanthemum moriflorum* (SOHN et al., 2003) *Euphorbia pulcherrima* (KAYE et al., 1984); *Dendranthema grandiflora* (JOHNSON et al., 1982); *Gerbera jamsonii* (SILVA et al., 1991); *Lilium longiflorum* (AMES e LINDERMAN, 1978); *Pelargonium hortorum* (SWEATT e DAVIES JR., 1984); *Petunia hybrida* (GAUR e ADHOLEYA, 1999); *Rosa multiflora* (PORTUGAL et al., 1987); *Tagetes* spp. (LINDERMAN e DAVIS, 2004). Os efeitos positivos da micorrização de plantas ornamentais, relacionados tanto à produção de mudas,

de flores de corte quanto de plantas comercializadas em vasos, são de grande interesse, principalmente pela redução do tempo na obtenção de mudas, aumento no índice de pegamento no transplante e na uniformidade das plântulas (BARROWS e RONCADORI, 1977; BIERMAN e LINDERMAN, 1983).

Em decorrência do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento das plântulas de *A. andraeanum* cv. Eidibel durante a fase *ex vitro*, sob influência de adubação N:P:K e/ou inoculação com *Glomus intraradices*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A espécie vegetal empregada neste trabalho foi *Anthurium andraeanum* cv. Eidibel (Araceae). As plântulas usadas neste ensaio foram obtidas segundo PIERIK (1976) e foram utilizadas quando estavam no fim do período de enraizamento *in vitro*. O substrato empregado foi um produto comercial composto por casca de *Pinus*, vermiculita e turfa. O ensaio foi realizado *ex vitro* sendo dividido em duas etapas. Na primeira etapa, as plântulas recém-saídas dos frascos de cultura foram colocadas em bandejas, sendo uma plântula por célula e divididas em quatro tratamentos: controle (sem inoculação de FMA e sem adubação), plântulas adubadas com Osmocote (15:10:10), na dosagem de um pellet por célula, plântulas com Osmocote mais cem esporos de *Glomus intraradices* por célula e plântulas com *Glomus intraradices* e sem adubação, adicionando-se também cem esporos por célula. Estas bandejas foram colocadas em sacos plásticos, dentro de uma casa de vegetação, simulando o microclima de uma estufa (UR= 90-95%, T °C= 25-35 e luminosidade= 60%) sendo mantidas nessa condição por cem dias. Testes realizados anteriormente (STANCATO e SILVEIRA, 2006) indicaram ser *Glomus intraradices* o fungo micorrízico mais adequado para o crescimento de *A. andraeanum* cv. Eidibel.

Com as plântulas oriundas da primeira etapa, na segunda etapa foi empregada uma plântula por vaso de 1,0 litro e a duração foi de 450 dias. Nesta etapa, foram compostos sete tratamentos, levando-se em consideração os quatro tratamentos da primeira etapa: controle/controle, controle/adubação (cinco pellets), controle/adubação mais (mil) esporos de *Glomus intraradices*, controle/*Glomus intraradices*, adubação/adubação, adubação mais *Glomus intraradices*/adubação mais *Glomus intraradices* e *Glomus intraradices*/*Glomus intraradices*. As mudas foram mantidas em casa de vegetação, sob umidade relativa na faixa de 60-90%, temperatura entre 20-30 °C e luminosidade de 70%. O substrato empregado foi um produto comercial à base de casca de *Pinus*, vermiculita e turfa, cuja análise química é

a seguinte: pH 4,4; P=1,8; K=110,0; Ca=166,2; Mg=103,1; B=0,4; Cu=0,10; Fe=0,2; Mn=2,0 e Zn=0,2 mg L<sup>-1</sup>.

Como o Osmocote é um adubo de liberação lenta dos nutrientes, com duração aproximada de três meses de liberação, após cada período, os pellets foram repostos.

Os parâmetros avaliados foram as massas da matéria seca total, da parte aérea e de raízes, sendo também avaliados a massa da matéria seca de folhas, a massa da matéria fresca da parte aérea e a área foliar.

Para a determinação da colonização micorrízica, as raízes foram coradas com trypan blue (PHILLIPS e HAYMAN, 1970) e a estimativa foi realizada pelo método da lâmina, com dez segmentos de raiz, examinados em microscópio com aumento de 10x40 (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

A análise estatística foi realizada de maneira independente entre as etapas e uma plântula foi considerada uma repetição, num total de cinco plântulas por tratamento e por amostragem, sendo empregado em cada etapa o teste F e o teste de Tukey a 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições de temperatura e umidade relativa fornecidas para a aclimatização das plântulas (1ª etapa), em bandejas, proporcionaram ambiente favorável para o acúmulo de matéria seca em todos os tratamentos (Tabela 1). A umidade relativa alta compensou a elevada perda de água das plântulas *ex vitro*, interagindo com a temperatura amena e luminosidade suficiente para permitir taxas fotossintéticas mais expressivas do que aquelas na condição *in vitro*, o que favoreceu o crescimento. Segundo QUATRINI et al. (2003), o FMA tem sido usado com sucesso para melhorar a aclimatização, sobrevivência e crescimento de muitas espécies de fruteiras micropropagadas.

Dessa maneira, as plântulas puderam passar da fase heterotrófica para a fase autotrófica/mixotrófica, uma vez que a brotação de novas folhas prosseguiu normalmente, ou seja, foram oferecidas condições para que as mudanças metabólicas, anatômicas e morfológicas se processassem contando com um mínimo de estresse ambiental. O tempo para aclimatização foi suficiente para a obtenção de plântulas prontas para a segunda etapa, em vasos. Na literatura, PREECE e SUTTER (1990) e ESTRADA-LUNA e DAVIES JR. (2003) verificaram que nas plântulas após a transferência para a condição *ex vitro*, havia baixo conteúdo de clorofila, reduzida fotossíntese líquida e alta transpiração e condutância estomática. Estas características fotomixotróficas têm sido observadas em plântulas micropropagadas não micorrizadas.

Da tabela 1 é possível deduzir que a presença de FMA interferiu negativamente no acúmulo de matéria seca total, de folhas, de raízes e na área foliar. Em todos os parâmetros avaliados, nas plântulas micorrizadas, constataram-se valores inferiores aos das plântulas do tratamento-controle. AZCÓN-AGUILLAR e BAREA (1997) relatam que um manejo apropriado da simbiose FMA-plântulas micropropagadas permite um desenvolvimento adequado das plantas e posterior redução satisfatória de fertilizantes químicos e pesticidas. PADILLA e ENCINA (2005) observaram que a colonização micorrízica de *Annona cherimola* mudou a morfologia das raízes de plantas adultas e aumentou em três vezes o número total de raízes, dobrando o número de raízes laterais. SCHUBERT e LUBRACO (2000) constataram que a inoculação aumentou o crescimento e a absorção de fósforo em plantas micropropagadas de porta-enxertos de maçã, obtidos em diferentes substratos.

Na 1ª Etapa, apesar de aparentemente mais desenvolvidas, as plântulas no tratamento com adubo acumularam matéria seca total semelhante ao tratamento controle, porém, houve maior crescimento de folhas da

**Tabela 1.** Acúmulo de matéria seca total (MST), de folhas (MSF), de raízes (MSR), da parte aérea (MSPA), matéria fresca da parte aérea (MFPA) e área foliar (AF) em plântulas de antúrio cv. Eidibel, ao longo de cem dias de transplantio *ex vitro* em bandejas, sendo uma plântula por célula, no ensaio que avaliou o efeito da adubação com Osmocote (15:10:10) e/ou da micorrização com *Glomus intraradices*. (n=5)

Plântulas	MST	MSF	MSR	MSPA	MFPA	AF
	mg					cm <sup>2</sup>
	0 (dias)					
Médias	11,96	5,18	3,90	8,06	169,70	4,54
Desvio-padrão	0,87	0,60	0,84	0,55	34,76	0,64
	100 (dias)					
Tratamento	MST	MSF	MSR	MSPA	MFPA	AF
Controle	118,5a	49,8ab	46,1a	72,4ab	699,8ab	18,41b
Adubo	116,7a	54,6a	39,3ab	78,4a	795,30a	26,16a
Micorriza+adubo	79,6b	38,1bc	29,8bc	54,3bc	563,80b	14,86c
Micorriza	67,1b	33,6c	20,5c	46,6c	505,36b	9,57d

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

parte aérea e da matéria fresca da parte aérea, sendo significativamente superiores aos demais. Além disso, a relação parte aérea/raízes foi aproximadamente o dobro, ou seja, produziu duas vezes mais parte área que raízes.

Considerando-se que a última amostragem da 1.<sup>a</sup> etapa é a primeira amostragem da 2.<sup>a</sup> etapa, as curvas da Figura 1 mostram o acúmulo de matéria seca nas mudas em cada tratamento e na tabela 2 observa-se o acúmulo verificado no último dia de amostragem. Dessa maneira, na figura 1 é possível observar que as mudas em todos os tratamentos acumularam mais matéria seca na parte aérea do que nas raízes, com exceção para o tratamento controle, que acumulou igualmente matéria seca na parte aérea e nas raízes. Praticamente, foram necessários cerca de duzentos e oitenta dias de período experimental para que alguma diferença significativa pudesse ser verificada entre os tratamentos.

Nesta 2.<sup>a</sup> etapa, em condições de casa de vegetação, os tratamentos que acumularam mais matéria seca total foram aqueles que receberam adubação N:P:K, principalmente as mudas vindas da 1.<sup>a</sup> etapa e que já haviam recebido adubação na fase de aclimatização; em todos os parâmetros avaliados pode-se notar que as mudas adubadas em ambas as fases (adubação/adubação) acumularam mais matéria seca total do que mudas que receberam adubo somente na 2.<sup>a</sup> etapa (controle/adubação). Nestes dois tratamentos, as mudas também estavam com maior número de folhas e foram as primeiras que iniciaram o florescimento, verificado através de constatação visual. É plausível afirmar que uma oferta maior de nutrientes minerais (N:P:K) instigou um crescimento maior, isto é, aumentou a força dreno da muda, o que já foi verificado na fase de aclimatização (1.<sup>a</sup> etapa).

Em relação às mudas colonizadas com FMA, ou seja, tratamentos controle/micorrização+adubação e micorrização/micorrização, não houve o efeito esperado. Nesses tratamentos, os parâmetros avaliados estiveram abaixo ou iguais aos observados nas mudas

do tratamento-controle, correspondendo em média a 70% do acúmulo dos tratamentos que mais acumularam matéria seca, isto é, tratamentos com adubação. Mesmo levando-se em conta que o substrato era pobre em nutrientes, o acúmulo de matéria seca das raízes foi inferior ao das mudas-controle, desde a 1.<sup>a</sup> etapa, quem sabe, favorecendo o estabelecimento do FMA. De acordo com MORAES et al. (2004), plântulas micropropagadas de *Podophyllum peltatum* L. foram mais bem aclimatizadas em substrato contendo micorriza e exibiram maior taxa de sobrevivência do que plântulas aclimatizadas em substrato sem FMA. Segundo AZCÓN-AGUILLAR et al. (1997), o emprego de FMA tem exercido papel decisivo na aclimatização de plântulas micropropagadas. KRISHINA et al. (2005) mostraram que plântulas micorrizadas possuem maior conteúdo de água quando comparadas às plântulas-controle. Outros dados conflitantes são aqueles apresentados por RODRIGUEZ-ROMERO (2005), cujos resultados demonstraram que a combinação da aplicação de FMA nos estádios de aclimatização de plântulas micropropagadas de bananeira, renderam benefícios como a maior absorção de N:P:K.

Os tratamentos que receberam adubação N:P:K e FMA juntos proporcionaram valores intermediários, ou seja, as mudas nos tratamentos-controle/micorrização + adubação e micorrização + adubação/micorrização + adubação acumularam mais matéria seca do que as mudas somente micorrizadas e menos do que as que receberam somente adubação N:P:K. Parece ter havido uma interação entre FMA e adubação N:P:K a qual permitiu a absorção de nutrientes minerais em relação à muda somente micorrizada, não expressando, contudo, o mesmo efeito positivo da adubação N:P:K. De acordo com SCHWAMBACH et al. (2005), trabalhando com mudas micropropagadas de *Eucalyptus globulus* e micorrizadas, o número de raízes e o comprimento foram significativamente aumentados pela nutrição mineral, enquanto a raiz principal e porcentagem de enraizamento pareceram estar relacionados com a disponibilidade de auxina. Conforme esses autores, o número de raízes foi aumentado por cálcio,

**Tabela 2.** Acúmulo de matéria seca total (MST), de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA), área foliar (AF) e colonização micorrízica (CM), 550 dias após transplântio *ex vitro*, de plântulas de antúrio cv. Eidibel, adubadas com Osmocote (15:10:10) e/ou sob influência de micorriza (*Glomus intraradices*). (n=5)

Tratamento	MST	MSR	MSPA	AF	CM
Controle-bandeja/controle-vaso	10,37d	4,99ab	5,39c	521,23c	0d
Controle-bandeja/adubação-vaso	13,16b	5,64a	7,52ab	718,44ab	0d
Controle-bandeja/micorriza+adubação-vaso	12,86b	4,32bc	8,53a	866,30a	73,2b
Controle-bandeja/micorriza-vaso	8,51e	3,49c	5,01c	543,77bc	89,6a
Adubação-bandeja/adubação-vaso	14,28a	5,87a	8,41a	776,10a	0d
Micorriza+adubação-bandeja/micorriza+adubação-vaso	11,48c	3,64c	7,83a	818,82a	35,2c
Micorriza-bandeja/micorriza-vaso	9,83d	3,31c	6,52b	698,70abc	80,9a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

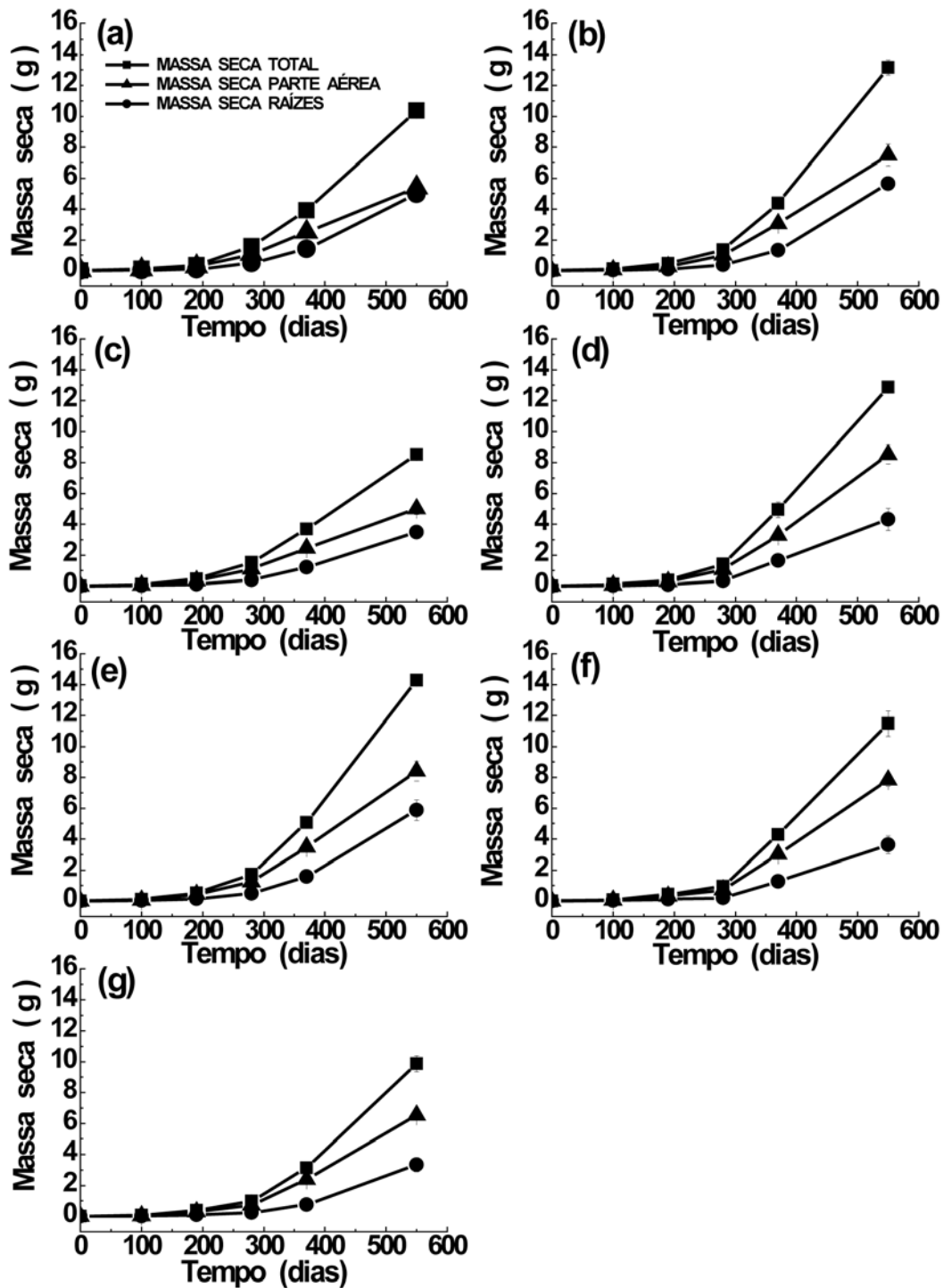


Figura 1. Acúmulo médio de massa seca no ensaio que avaliou o efeito da inoculação de *Glomus intraradices* (FMA) e/ou da adubação com Osmocote (15:10:10), durante 550 dias após transplante *ex vitro*, de plântulas de antúrio cv. Eidibel, sendo os 100 dias iniciais em bandejas e 450 dias posteriores em vasos. (a) controle-bandeja/controle-vaso; (b) controle-bandeja/adubação-vaso; (c) controle-bandeja/micorrização+adubação-vaso; (d) controle-bandeja/micorrização-vaso; (e) adubação-bandeja/adubação-vaso; (f) micorrização+adubação-bandeja/micorrização+adubação-vaso; (g) micorrização-bandeja/micorrização-vaso.

nitrogênio e zinco enquanto o comprimento da raiz foi influenciado pela concentração de fósforo, ferro, manganês e nitrogênio. Segundo ESTRADA-LUNA e DAVIES JR. (2003), durante a pós-aclimatização quando o estresse nutricional torna-se o fator limitante de crescimento, plântulas micropropagadas e micorrizadas de pimenta mantiveram altos níveis de nitrogênio, fósforo e potássio.

Neste trabalho, FMA também deve ter influenciado o particionamento do carbono, pois aumentou a superfície e a massa foliar, quando comparado ao controle não adubado (Tabela 2). Esse fato indiretamente pode estar relacionado ao maior teor de clorofila, fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração, parâmetros fisiológicos que devem ser avaliados em estudos futuros.

No fim da primeira etapa (100 dias após transplante para bandeja), as plântulas dos tratamentos que somente receberam inoculação de FMA tiveram 32% de colonização micorrízica e aquelas com adubação conjunta, 25%. As plantas do controle (sem inoculação de FMA) mostraram-se isentas de colonização. No fim do experimento (450 dias após transplante para vaso), as mudas micorrizadas que não receberam adubação tiveram maior porcentagem de colonização que as adubadas (Tabela 2). Esse fato evidencia o efeito inibidor do fósforo sobre o estabelecimento da associação micorrízica. Entretanto, essa diminuição na colonização não causou efeito negativo no crescimento das mudas, pois as micorrizadas e adubadas tiveram maior acúmulo de matéria seca que as somente micorrizadas. Esse acúmulo, provavelmente, deve-se ao fato de que as mudas micorrizadas foram capazes de absorver maior quantidade de nutrientes fornecidos pela adubação, o que sugere maior eficiência no uso dos nutrientes adicionados. Entretanto, a inoculação não superou o efeito da adubação, evidenciando que a simbiose não foi eficiente.

#### 4. CONCLUSÃO

A micorrização das plântulas micropropagadas de antúrio, tanto na fase de aclimatização quanto de obtenção de mudas, não proporcionou o mesmo efeito positivo da adubação N:P:K na promoção do crescimento.

#### REFERÊNCIAS

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, v.68, p.1-24, 1997.

AZCÓN-AGUILAR, C.; CANTOS, M.; TRONCOSO, A.; BAREA, J.M. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. *Scientia Horticulturae*, v.72, p.63-71, 1997.

AMES, R.N.; LINDERMAN, R.G. The growth of East lily (*Lilium longiflorum*) as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhizas fungi, *Fusarium oxysporum*, and fertility level. *Canadian Journal of Botany*, v.56, p.2773-2780, 1978.

BARROWS, J.B.; RONCADORI, R.W. Endomycorrhizal synthesis by *Gigaspora margarita* in poinsettia. *Mycologia*, v.69, p.1173-1184, 1977.

BIERMAN, B.J.; LINDERMAN, R.G. Increased geranium growth using pretransplant inoculation with a mycorrhizal fungus. *Journal American Society of Horticultural Science*, v.108, p.972-976, 1983.

BERMUDES, D.; BENZING, D.H. Fungi in neotropical epiphyte roots. *Biosystems*, v.23, p.65-73, 1989.

BRINK, J.A.; WOODWARD, B.R.; DA SILVA, E.J. Plant biotechnology: a tool for development in Africa. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.1, p.101-105, 1998.

ESTRADA-LUNA, A.A.; DAVIES, JR., F.T. Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (*Capsicum annuum*) plantlets during acclimatization and post-acclimatization. *Journal of Plant Physiology*, v.160, p.1073-1083, 2003.

GAUR, A.; ADHOLEYA, A. Mycorrhizal effects on the acclimatization, survival, growth and chlorophyll of micropropagated *Syngonium* and *Dracena* inoculated at weaning and hardening stages. *Mycorrhiza*, v.9, p.215-219, 1999.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, v.84, p.489-500, 1980.

JOHNSON, C.R.; GRAHAM, J.H.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Effect of flower bud development in chrysanthemum on vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *The New Phytologist*, v.85, p.671-675, 1982.

KAYE, J.W.; PFLEGER, F.L.; STEWART, E.L. Interaction of *Glomus fasciculatum* and *Pythium ultimum* on greenhouse-grown poinsettia. *Canadian Journal of Botany*, v.62, p.1575-1579, 1984.

KOZAI, T.; HAYASHI, M.; HIROSAWA, Y.; KODAMA, T.; WATANABE, I. 1987. Environmental control for acclimatization of *in vitro* cultured plantlets. *Journal of Agricultural Meteorology*, v.42, p.349-358, 1987.

KOZAI, T. Controlled environments in conventional and automated micropropagation. In: VASIL, I. (Ed.). *Cell culture and somatic cell genetics of plants*. New York: Academic Press, 1991. v.8, p.213-230.

- KRISHNA, H.; SING, S.K.; SHARMA, R.R.; KHAWALE, R.N.; GLOVER, M.; PATEL, V.B. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during *ex vitro* acclimatization. **Scientia Horticulturae**, v.106, p.554-567, 2005.
- LINDERMAN, R.G.; DAVIS, E.A. Varied response of marigold (*Tagetes spp*) genotypes to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Horticulturae**, v.99, p.67-78, 2004.
- MAFFIA, B.; NADKARNI, N.M.; JANOS, D.P. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of epiphytic and terrestrial Piperaceae under field and greenhouse conditions. **Mycorriza**, v.4, p.5-9, 1993.
- MATTHES, L.A.F.; CASTRO, C.E.F. **O cultivo de antúrio: produção comercial**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1989. 22p. (Boletim Técnico, 126)
- MORAES, R.M.; ANDRADE, Z.; BEDIR, E.; DAYAN, F.E.; LATA, H.; KHAN, I.; PEREIRA, A.M.S. Arbuscular mycorrhiza improves acclimatization and increases lignan content of micropropagated mayapple (*Podophyllum peltatum* L.) **Plant Science**, v.166, p.23-29, 2004.
- PADILLA, I.M.G.; ENCINA, C.L. Changes in root morphology accompanying mycorrhizal alleviation of phosphorus deficiency in micropropagated *Annona cherimola* Mill. plants. **Scientia Horticulturae**, v.106, p.360-369, 2005.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing root and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transaction of the British Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.
- PIERIK, R.L.M. *Anthurium andraeanum* plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v.37, p.80-82, 1976.
- PORTUGAL, E.P.; ALMEIDA, J.A.S.; CASTRO, C.E.F.; LOPES, E.S. Seleção de fungos MVA para roseira. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., 1987, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Instituto de Botânica, 1987. p.32.
- PREECE, J.E.; SUTTER, E. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: PREECE, J.E.; SUTTER, E. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990. p.71-94.
- QUATRINI, P.; GENTILE, M.; CARINI, F.; DE PASQUALE, F.; PUGLIA, A.M. Effect of nature MVA and *Glomus mosseae* on acclimatization and development of micropropagated *Citrus limon* (L) Burm. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.78, p.39-45, 2003.
- RODRIGUEZ-ROMERO, A.S.; GUERRA, M.S.P.; JAIZME-VEJA, M.D. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on banana growth and nutrition. **Agronomy for Sustainable Development**, v.25, p.395-399, 2005.
- SCHUBERT, A.; LUBRACO, G. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple rootstocks during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.113-118, 2000.
- SCHWAMBACH, J.; FADANELLI, C.; FETT-NETO, A.G. Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globules*. **Tree Physiology**, v.25, p.487-494, 2005.
- SILVA, L.R.C.; ARELLO, E.F.; SILVA, M.A. Efeito de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares sobre o desenvolvimento de mudas micropropagadas de *Gerbera jamensonii*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 4., Mendes, 1991. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1991. p.151.
- SOHN, B.K.; KIM, K.Y.; CHUNG, S.J.; KIM, W.S.; PARK, S.M.; KANG, J.G.; RIM, Y.S.; CHO, J.S.; KIM, T.H.; LEE, J.H. Effect of the different timing of AMF inoculation on plant growth and flower quality of chrysanthemum. **Scientia Horticulturae**, v.98, p.173-183, 2003.
- STANCATO, G.C.; SILVEIRA, A.P.D. Associação de fungos micorrízicos arbusculares e cultivares micropropagadas de antúrio. **Bragantia**, v.65, p.513-518, 2006.

