

## PREPARO DE LÂMINAS FOLIARES DE ARÁCEAS ORNAMENTAIS: DESINFESTAÇÃO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

**L.P. Donini, I. Ferreira-Moura, A.P. Guisso, J.A. de Souza, J. Viégas**

Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética, Laboratório de Biologia Celular, CP 354, CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil. E-mail: lorenadonini@yahoo.com.br

### RESUMO

Objetivando otimizar o processo de produção de mudas de qualidade, via cultura de tecidos, realizou-se avaliação de várias concentrações de cloro ativo para a desinfestação de lâminas foliares de 14 espécies de aráceas ornamentais. Lâminas foliares foram excisadas das plantas-mãe, lavadas em água corrente/5' e em água destilada/3x. Na câmara de fluxo laminar, as folhas foram mergulhadas em álcool 70%/30', lavadas em água destilada estéril/3x e imersas em soluções de hipoclorito de sódio comercial (0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% de cloro ativo)/20'. Os explantes (1cm<sup>2</sup>) foram colocados em tubos de ensaio com meio MS, com a face adaxial em contato com o meio. A unidade experimental foi composta por 5 tubos/repetição. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 4 repetições/tratamento. Os explantes foram incubados em câmara de crescimento/escuro/25 ± 2° C/14 dias e avaliados quanto à contaminação. Os resultados obtidos mostraram diferenças significativas entre as espécies de aráceas quanto a resposta às diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, justificando assim a otimização de protocolo individual para cada uma delas. Recomenda-se, no entanto, que seja sempre utilizada uma solução de NaOCl com a menor concentração possível de cloro ativo, a fim de evitar danos ao tecido do explante.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aráceas, ornamentais, desinfestação, hipoclorito de sódio.

### ABSTRACT

PREPARATION OF LEAF BLADES TO MAKE EXPLANTS OF ORNAMENTAL ARACEAS: DESINFECTATION WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS OF SODIUM HYPOCHLORIDE. The objective for this study was to determine the most efficient chlorine concentration in order to protect explants in tissue culture from contamination. Leaf blade explants of 1 cm<sup>2</sup> were used. The leaves were washed with tap water for 5 minutes and then washed 3 times with distilled water. The explants were placed in a laminar air flow chamber followed by immersion in 70% alcohol for 30 minutes and then washed 3 times with sterile distilled water, followed by 20 minutes immersion in a sodium hypochloride commercial solutions with active chlorine concentrations of: 0.0%, 0.5%, 1.0%, 1.5% and 2.0%. Still inside the laminar air flow chamber, the explants were placed in test tubes (containing MS medium) with the adaxial face in contact with the medium. The experimental design was completely randomized with 5 replications of 5 test tubes per plot, each containing one inoculated explant. The explants in the test tubes were kept in the dark in a growth chamber at 25 ± 2° C during a 14-day period, then evaluated for contamination. There were observed significant differences between species of araceas with regard to their responsiveness to the different concentrations of sodium hypochloride, which supports the difference in concentration to be used specifically for each one. It is advisable to always use a NaOCl solution having the lowest effective concentration of active chlorine to avoid damage to the explants.

**KEY WORDS:** Araceas, ornamental plants, disinfection, sodium hypochloride.

### INTRODUÇÃO

A floricultura, em sentido amplo, abrange o cultivo de plantas ornamentais, desde flores de corte e plantas envasadas, floríferas ou não, até a produção de sementes, bulbos e mudas de árvores de grande porte. A produção de flores e plantas ornamentais é

um setor altamente competitivo, que exige a utilização de tecnologias avançadas, um profundo conhecimento técnico por parte do produtor, assim como um sistema eficiente de distribuição e comercialização (ROCHA, 1999).

O mercado de plantas ornamentais está em crescimento, no Brasil e no mundo, o que traz a necessidade

da melhoria da qualidade de mudas. Este incremento de qualidade pode ser obtido através da micropropagação, que gera mudas isentas de fitopatógenos e com genótipo e fenótipo homogêneos (SEGEREN *et al.*, 2003). Apesar da propagação *in vitro* ter iniciado a ser desenvolvida e utilizada no início do século passado, sua implantação no Brasil, na área de floricultura e plantas ornamentais, ocorreu somente no final dos anos 70. As técnicas de cultivo *in vitro* são muito importantes para espécies que têm alto valor comercial para o país, como é o caso das ornamentais consideradas exóticas como antúrios, bromélias e orquídeas (TORRES *et al.*, 1998; DONINI, 2004).

Os antúrios pertencem à família Araceae, sendo que no Brasil, as espécies desta família são utilizadas especialmente como ornamentais, destacando-se, além dos antúrios, os lírios-da-paz, os filodendros e os copos-de-leite. A família Araceae apresenta cerca de 105 gêneros e, aproximadamente, 3.850 espécies monocotiledôneas herbáceas e trepadeiras. Se Lemnaceae for incluída, serão 109 gêneros e aproximadamente 4.000 espécies. Mesmo ocorrendo naturalmente em todos os continentes, exceto na Antártida, a maioria dos gêneros é encontrada nas áreas tropicais do Novo Mundo (GRAYUM, 1990; VIANNA *et al.*, 2001; COELHO, 2004).

As contaminações são um problema constante, os vegetais cultivados a campo apresentam intenso contato com microorganismos que podem comprometer o desenvolvimento dos cultivos *in vitro*. Para tanto, é essencial que o tecido que dará origem ao explante esteja livre de contaminantes, sendo necessária a realização de um tratamento de desinfestação deste tecido, a fim de eliminar microorganismos exógenos, para a obtenção de um bom resultado no final do processo de estabelecimento *in vitro*. (GAMBORG & PHILLIPS, 1995; ROCHA, 1999; SOUZA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003). Estas contaminações causadas por bactérias, fungos e insetos tornam-se sério problema devido à competição pelos nutrientes, liberação de toxinas, modificação do meio de cultura e predação, resultando na morte do tecido vegetal. É necessário remover as contaminações com desinfetantes antes do estabelecimento *in vitro* para que não haja perda de material, principalmente quando as contaminações não são detectadas precocemente. Após a escolha do melhor explante, este deve ser desinfetado superficialmente, porque os microorganismos que crescerem no meio de cultivo irão competir vantajosamente com o explante pelos nutrientes (MROGINSKI & ROCA, 1993; SMITH, 2000).

Segundo HIRATA & MANCINI FILHO (2002), no Brasil, o etanol é o desinfestante mais empregado. Além da ação germicida, o etanol tem ação surfactante e facilita a ação de outros produtos. É utilizado em concentrações em torno de 70 a 80%, pois concentrações maiores podem causar desidratação dos tecidos. De acordo

com GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998), dentre as várias substâncias germicidas à base de cloro, utilizadas para desinfestação dos explantes, as mais comuns são o hipoclorito de sódio, encontrado em formulações comerciais de água sanitária, ou o hipoclorito de cálcio, encontrado na forma de pó em lojas de material para piscina. HIRATA & MANCINI FILHO (2002), ressaltam que, além do álcool etílico, são utilizados vários produtos liberadores de cloro, sendo mais utilizados os inorgânicos, como os hipocloritos de sódio, cálcio e lítio, e os orgânicos, como o ácido dicloroisocianídrico e seus sais sódicos e potássicos e o ácido tricloroisocianídrico. O mecanismo de ação do cloro ativo não é bem conhecido, embora algumas hipóteses sugiram que há uma combinação com proteínas da membrana celular dos microrganismos, assim formando compostos tóxicos e levando à inibição das enzimas essenciais.

Além do etanol e hipoclorito de sódio e de cálcio, vários esterilizantes podem ser utilizados como peróxido de hidrogênio, nitrato de prata e cloreto de mercúrio, sendo que o sucesso da desinfestação vai depender de tipo e idade do explante, concentração do agente esterilizante e do tempo de exposição. A super-exposição do tecido aos agentes esterilizantes, geralmente, danifica o explante e leva à morte celular (MROGINSKI & ROCA, 1993; SMITH, 2000). Os autores recém citados salientam que não é exequível recomendar um procedimento padrão, sendo é necessário investigar efetivamente os procedimentos de desinfestação para diferentes tipos de espécies e tecidos para que a instalação *in vitro* inicie com explantes saudáveis e o cultivo desenvolva-se com sucesso.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os explantes iniciais foram retirados de lâminas foliares de *Anthurium gaudichaudianum*, *Dieffenbachia* sp., *Monstera deliciosa*, *Philodendron undulatum*, *Philodendron* sp., *Scindapsus aureus*, *Scindapsus pictus*, *Spathiphyllum wallisii*, *Syngonium podophyllum*, *Syngonium* sp., *Zantedeschia aethiopica* (variedade flor branca), *Zantedeschia aethiopica* (variedade flor verde), *Zantedeschia eliottiana* (variedade 1) e *Zantedeschia eliottiana* (variedade 2) obtidas de floriculturas e jardins.

As lâminas foliares excisadas da planta-mãe, foram lavadas em água corrente por 5 minutos e, em água destilada esterilizada, por 3 vezes. Em ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, as folhas foram mergulhadas em álcool 70%, por 30seg; lavadas em água destilada estéril, por 3 vezes; imersas nas soluções de hipoclorito de sódio comercial (água sanitária) com diferentes concentrações de cloro ativo (0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%), por 20min, e novamente lavadas em água destilada esterilizada. Cada explante,

com área aproximada de 1 cm<sup>2</sup>, foi inoculado em tubo de ensaio contendo 10 mL de meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), com a face adaxial em contato com o meio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições por tratamento, sendo a unidade experimental composta por 5 tubos com 1 explante por tubo. O material foi incubado em câmara de crescimento, no escuro, a 25 ± 2° C, por 14 dias, quando então foi avaliado quanto à contaminação. Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do pacote estatístico Sanest.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme verificado na Tabela 1, as médias de contaminação dos explantes foliares, das 14 espécies de aráceas analisadas, variaram de 1,34% a 100,00%. A contaminação total dos explantes (100%) ocorreu apenas naqueles tratados com a solução controle (sem hipoclorito de sódio) e o máximo de assepsia (zero contaminação) foi obtido em números variáveis de espécies para as quatro concentrações de hipoclorito de sódio: duas espécies em 0,5%; quatro em 1,0%; oito em 1,5% e quatro em 2,0%. Considerando-se contaminação de até 10% dos explantes como uma frequência que ainda permite a obtenção de um bom resultado em termos de micropropagação vegetal, observa-se que além das espécies que não apresentaram contaminação, outras situam-se nesta faixa de segurança: cinco espécies tratadas em 0,5% de cloro ativo; quatro em

1,0%; uma em 1,5% e 8 em 2,0%. Os dados obtidos para cada concentração de cloro ativo mostraram, também, que dentro de cada concentração, não houve diferenças significativas entre as citadas anteriormente.

Também, na Tabela 1, verifica-se qual a melhor concentração deste desinfestante para cada espécie, o que nos mostra que, para 6 das 14 espécies estudadas, obteve-se o máximo de desinfestação em mais de uma concentração de cloro ativo, destacando-se a espécie *Syngonium* sp., com nível de infestação mínimo inclusive na solução controle, a qual não diferiu estatisticamente das demais concentrações. Isto permite uma melhor chance de escolha da concentração de cloro ativo a ser utilizada como desinfestante, no sentido da utilização da menor concentração possível para evitar ao máximo os efeitos tóxicos do desinfestante sobre o material utilizado.

A incidência de índices de contaminação na concentração de 2,0% de cloro ativo, que foi a maior concentração utilizada neste trabalho, maiores do que os encontrados na concentração de 1,5% pode ser devido ao fato de que o aumento da concentração de cloro ativo faz com que ocorra o aumento de pH da solução desinfestante. Segundo Hirata & Mancini Filho (2002), a faixa ideal de pH para a solução de hipoclorito de sódio a ser utilizada como desinfestante fica entre 5 e 8, pois o aumento de pH propicia o desenvolvimento de mecanismos de defesa das bactérias, permitindo que se desenvolvam mesmo em concentrações altas de cloro ativo, assim dificultando a ação do produto.

Tabela 1 - Porcentagem de explantes contaminados, de 14 espécies e variedades da família Araceae, após tratamento de desinfestação das lâminas foliares com 0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% de cloro ativo e incubação por 14 dias

Espécies estudadas	Concentrações de cloro ativo (%)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
<i>A. gaudichaudianum</i>	1,34 c B	1,34 d B	0,00cd B	100,00 a A	0,00 aB
<i>Dieffenbachia</i> sp.	100,00 a A	11,61 cd B	1,34 bcd B	0,00 c B	8,02 a B
<i>Monstera deliciosa</i>	5,28 c A	5,28 cd A	0,00 cd A	0,00 c A	0,00 a A
<i>P. undulatum</i>	11,61 c A	5,28 cd A	0,00 cd A	0,00 c A	1,34 a A
<i>Philodendron</i> sp.	97,10 ab A	38,51 bc B	23,71 bcd B	14,65 bc B	14,65 a B
<i>S. aureus</i>	100,00 a A	89,03 a A	33,21 b B	23,71 bc BC	1,34 a C
<i>S. pictus</i>	100,00 a A	1,34 d B	4,83 bcd B	0,00 c B	1,34 a B
<i>S. wallisii</i>	100,00 a A	0,00 d B	4,83 bcd B	14,64 bc B	2,90 a B
<i>S. podophyllum</i>	100,00 a A	19,57 cd B	24,13 bc B	0,00 c C	0,00 a C
<i>Syngonium</i> sp.	1,34 c A	0,00 d A	0,00 cd A	0,00 c A	0,00 a A
<i>Z. aethiopica</i> (v B)	100,00 a A	65,10 ab B	15,38 bcd C	1,34 c C	4,82 a C
<i>Z. aethiopica</i> (v V)	100,00 a A	94,72 a AB	97,10 a AB	44,48 b C	71,43 b BC
<i>Z. eliottiana</i> (v 1)	24,13 c A	5,28 cd AB	0,00 cd B	0,00 c B	1,34 a AB
<i>Z. eliottiana</i> (v 2)	71,43 b A	34,66 bc AB	5,28 bcd BC	0,00 c C	1,34 a C

As médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e de mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

vB = variedade flor branca; vV = variedade flor verde; v 1 = variedade 1; v 2 = variedade 2.

As concentrações recomendadas, na literatura revisada, concordam com as encontradas no presente trabalho. Para DODDS & ROBERTS (1999), os melhores resultados para desinfestação dos explantes são obtidos quando se utilizam concentrações menores de hipoclorito de sódio, devido à diminuição da eficiência do produto em maior concentração em função do aumento do pH da solução desinfestante, como já citado anteriormente.

ROCHA (1999) recomendou a concentração de cloro ativo de 1,5% para explantes foliares do gênero *Caladium*. Segundo esta autora, menores concentrações de hipoclorito de sódio também proporcionaram menor número de explantes foliares contaminados, como foi o caso do *Anthurium andraeanum*, para o qual 1,43% de cloro ativo seria a concentração ideal.

No protocolo descrito por FERREIRA (2003), para explantes foliares de crisântemo 'Funny Pynk' (*Dendranthema grandiflorum*), são recomendadas as concentrações de 0,5 e 1,5 % de cloro ativo. TAVARES et al. (1999) obtiveram o melhor nível de desinfestação para explantes de *Griffinia hyacinthina* com a concentração de 1,0 % de cloro ativo.

Para camomila romana (*Anthemis nobilis*), THIES (2000) também obteve menor média de contaminação quando o material foi desinfestado nas concentrações de NaOCl com 1,0 e 1,5% de cloro ativo. BIASIO (1997) utilizou solução de hipoclorito de sódio a 1,0% de cloro ativo e detergente para desinfestação de diferentes explantes de camomila romana. SILVA et al. (2003) utilizaram solução comercial de hipoclorito de sódio, nas concentrações de 0,4%, 0,6% e 0,8% de cloro ativo, em segmentos caulinares de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*) e concluíram que estes tratamentos não foram eficientes, havendo contaminação por fungos e bactérias em taxas que variaram de 66,7% a 100,0%. Apesar de salientar que a maioria dos procedimentos de desinfestação utilizam hipoclorito de sódio ou de cálcio na proporção de 0,5% a 1%, SMITH (2000) descreve o caso de explantes foliares de plantas de café cultivadas a campo, em que SONDHAL et al. (citados por SMITH, 2000) indicam que seja utilizado 2,6% de hipoclorito de sódio no dia do estabelecimento *in vitro* e novamente no dia seguinte.

O protocolo de micropropagação de antúrios da UPLB (2001) preconiza a assepsia da folhas jovens e pecíolo em água sanitária 20% (0,4% de cloro ativo) adicionada de 1% de hipoclorito de cálcio. Também, LI et al. (2002) utilizaram hipoclorito de cálcio para desinfestação de gemas do caule subterrâneo de *Colocasia esculenta*, só que em solução saturada.

Para folhas jovens, pontas de meristemas e gemas de tubérculos de *Caladium bicolor*, AHMED et al. (2002) utilizaram solução de hipoclorito de sódio com 0,5% de sódio ativo e para pontas de raiz, uma concentra-

ção de 0,2%. Inflorescências jovens de *Spathiphyllum* sp. foram desinfestadas por imersão em uma solução de hipoclorito de sódio comercial, em uma concentração final de 1,0%, conforme protocolo de VARGAS & GARCIA (1995). Já EECKHAUT et al. (2001, 2004) utilizaram NaOCl a 10,0% para a assepsia da espádice de *Spathiphyllum wallisii*.

VARGAS et al. (2004) utilizaram NaOCl a 3,0% para esterilizar frutos de *Anthurium andraeanum* e, posteriormente, a 1% para fazer a assepsia das sementes coletadas destes frutos. Já outros pesquisadores preferem realizar a assepsia de lâminas foliares jovens de *A. andraeanum* com solução de cloreto de mercúrio a 0,1%. (MARTIN et al., 2003, JOSEPH et al., 2003). BLANCO & VALVERDE (2004) utilizaram tratamento bem intenso para assepsia de *Philodendron* sp., os ápices caulinares e gemas laterais foram tratados com NaOCl 3,5% somente após imersão em solução de Benlate e Agrimicina, seguido de nova imersão em hipoclorito de sódio 1%.

As espécies *Monstera deliciosa*, *Philodendron undulatum* e *Syngonium* sp., ao contrário das demais, não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações de cloro ativo (Tabela 1). Provavelmente, estas 3 espécies possuem menor índice de contaminação, tanto exógena como endógena.

Poder-se-iam justificar os maiores níveis de material contaminado pelo fato de alguns explantes terem sido extraídos de plantas-matriz cultivadas em jardins, como é o caso da *Zantedeschia aethiopica* (variedade verde). No entanto, *Philodendron* sp., que estava sendo mantido em vaso, no ambiente de laboratório, há muito tempo, apresentou graus de contaminação médios a altos. Já a espécie *Monstera deliciosa*, que estava no entorno de um jardim público, local com constante movimento de carros e pedestres, apresentou baixíssima porcentagem de contaminação. Ainda mais, segundo *Anthurium* culture (1998), citado por ROCHA (1999), a cultura de tecidos de plantas da família Araceae apresenta problemas na desinfestação, porque os explantes apresentam contaminação por bactérias latentes, podendo desenvolver os sintomas até quatro meses após a instalação *in vitro*.

## CONCLUSÕES

Verificou-se que a concentração ideal de NaOCl, para a desinfestação de explantes de espécies ornamentais da família Araceae, é variável e dependente do genótipo. No entanto, a variação das concentrações situa-se em uma pequena faixa, entre 0,5% a 2,0% de cloro ativo. Recomenda-se que seja sempre utilizada uma solução de NaOCl com a menor concentração possível de cloro ativo, a fim de evitar danos ao tecido

do explante. Caso não haja disponibilidade de material, espaço e/ou tempo para avaliar qual a menor concentração efetiva, sugere-se a utilização da solução com 1,5% de cloro ativo.

## REFERÊNCIAS

- AHMED, E.U.; HAYASHI, T.; ZHU, Y.; HOSOKAWA, M.; YAZAWA, S. Lower incidence of variants in *Caladium bicolor* Ait. plants propagated by culture of explants from younger tissue. *Scientia Horticulturae*, v.96, p.187-194, 2002.
- BIASIO, S. *Cultura de Tecidos e Micropropagação de Anthemis nobilis* L. 1997. 92p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 1997.
- BLANCO, M. & VALVERDE, R. Micropropagación de *Philodendron* sp. (posiblemente *P. corcovadense*). *Agronomía Costarricense*, v.28, n.1, p.39-46, 2004.
- COELHO, M.A.N. Taxonomia e biogeografia de *Anthurium* Schott. (Araceae) seção Urospadix subseção Flavescentiviridia. 2004. 320p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- DODDS, J.H. & ROBERTS, L.W. *Experiments in plant tissue culture*. 3.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 230p.
- DONINI, L.P. *Preparo de lâminas foliares de Aráceas ornamentais: desinfestação e tratamento antioxidante*. 2004. 54p. Monografia de conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.
- ECKHAUT, T.; WERBROUCK, S.; DENDAUV, J.; VAN BOCKSTAELE, E.; DEBERGH, P. Induction of homozygous *Spathiphyllum wallisii* genotypes through gynogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.67, p.181-189, 2001.
- ECKHAUT, T.G.R.; WERBROUCK, S.P.O.; LEUS, L.W.H.; VAN DOCKSTAELE, E.J.; DEBERGH, P.C. Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.78, p.241-246, 2004.
- FERREIRA, I.T. *Propagação in vitro de crisântemo 'Funny Pynk'*. 2003. 39p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.
- GAMBORG, O.L. & PHILLIPS, G.C. *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Germany: Springer, 1995. 359p.
- GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa SPI/Embrapa - CNPH, 1998. p.183-260.
- GRAYUM, M.H. Evolution and phylogeny of the Araceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.77, p.629-697, 1990.
- HIRATA, M.H. & MANCINI FILHO, J. *Manual de biossegurança*. Barueri: Ed. Manole, 2002. 496p.
- JOSEPH, D.; MARTIN, K.P.; MADASSERY, J.; PHILIP, V.J. *In vitro* propagation of three cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *Indian Journal of Experimental Biology*, v.41, p.154-159, 2003.
- LI, Y.; XU, C.; CHEN, J. Establishment of virus-free taro (*Colocasia esculenta* cv. Fenghuayunaitou) by meristem-tip culture combined with thermotherapy. *Pakistan Journal of Plant Pathology*, v.1, p.40-43, 2002.
- MARTIN, K.P.; JOSEPH, D.; MADASSERY, J.; PHILIP, V.J. Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *In Vitro Cellular Developmental Biology Plant*, v.39, p.500-504, 2003.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.
- ROCHA, M.T.R. *Cultura de tecidos: uma alternativa para a multiplicação dos gêneros Anthurium e Caladium*. 1999. 81p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1999.
- SEGEREN, M.I.; CAMPOS, K.J.P.; CORRÊA, M.G.S.; DIAS, J.C.S. Avaliações de fitossanidade de clones de orquídeas no laboratório Proclone. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. *Resumos*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.423.
- SILVA, R.M. DOS S.; BLANK, M. DE F.A.; ÂNGELO, P.C. DA S. Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*, Poir) coletados no campo para micropropagação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. *Resumos*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.329.
- SMITH, J. *Micro-propagation of the Gynea Lily: a report for the Rural Industries Research and Development Corporation*. Kingston: RIRDC, 2000. 59p.
- SOUZA, T.V.; ABREU, M.F.; TARAZI, R.; DANTAS, A.C.M.; OLIVEIRA, V.L.; PEDROTTI, E.L. Controle de contaminantes na cultura de tecidos em macieira (*Mallus* spp). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. *Resumos*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.346.
- TAVARES, A.R.; BETANZOS, R.A.; FRANCISCO, A.A.; PEREIRA, I.T.M.; SILVEIRA, R.B.A.; AGUIAR, F.F.A. Micropropagação de *Griffinia hyacinthina* (Ker-Gaw.) Ker-Gaw. Amaryllidaceae nativa da Mata Atlântica. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, v.5, n.1, p.87-92, 1999.
- THIES, S.F. *Camomila Romana (Anthemis nobilis): Cultura de tecidos e citogenética*. 2000. 48p. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2000.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.) *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa, 1998. v.1, 864p.
- UPLB (University of the Philippines Los Baños) *Anthurium* micropropagation: Technology and dissemination. 2001. Disponível em: <<http://www.uplb.edu.ph/academics/schools/ca/agandg/2001>>. Acesso em: 12 set. 2004.
- VARGAS, T.E. & GARCÍA, E. Propagación in vitro de cala blanca *Spathiphyllum* sp. *Agronomía Tropical*, v.47, n.2, p.171-183, 1995.

VARGAS, T.E., MEJÍAS, A., OROPEZA, M., GARCÍA, E. Plant regeneration of *Anthurium andreanum* cv Rubrun. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.7, n.3, 2004. Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol7/issue3/full/11/>>. Acesso em: 28 mar. 2005.

VIANNA, W.O.; SOARES, M.K.M.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.A. Anatomia da raiz escora de *Philodendronbipinnatifidum*

Scott (Araceae). *Acta Botânica Brasilica*, v.15, n.3, p.313-320, 2001.

Recebido em 24/8/05

Aceito em 23/11/05