Micropropagação de quatro espécies de Anthurium em meio MS sob diferentes

concentrações de macronutrientes

Wellington Marcos Soares da Silva¹, Fernanda Schneider², Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho³

¹Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. Redenção, CE, Brasil. E-mail: wellingtonmarcossoares@gmail.com;

Resumo

O Anthurium é uma importante planta ornamental muito consumida pelo mercado nacional e internacional. Devido a sua baixa produção por sementes tem-se a necessidade de realização da propagação *in vitro*, e o meio de cultura MS, é um dos mais utilizados para realização da micropropagação na cultura. O presente trabalho objetivou testar as melhores concentrações do meio MS nas fases de enraizamento e alongamento dos explantes de quatro espécies de Anthurium (A. maricense, A. plowmanii A. jemanii A. andraeanum), com três períodos (35, 50 e 65 dias). Para o trabalho foram utilizadas 4 concentrações de macronutrientes (25, 50, 75% e MS original). Os resultados obtidos mostram que a redução do meio a concentração de 25% estimulou mais o enraizamento, porém comprometeu o alongamento do sistema radicular. Além disso, foram comprovadas que concentrações abaixo de 100% de MS, mostram resultados iguais e até superiores ao meio original nas variáveis de desenvolvimento de parte aérea. Os dados obtidos mostram que pode haver redução dos custos de produção com a redução das concentrações.

Palavras-chave: propagação *in vitro*, enraizamento e alongamento, *Anthurium*, floricultura

Micropropagation of four Anthurium species in MS culture medium under

different macronutrient concentrations

Abstract

Anthurium is an important ornamental plant widely consumed by the Market national and international. Due to its low seed yield, in vitro propagation is required, and the MS culture medium is one of the most widely used for micropropagation in the culture. The present work aimed to test the best concentrations of MS medium in the rooting phases of the explants of four Anthurium species (A. maricense, A. plowmanii A. jemanii A. andraeanum), with three periods (35, 50 and 65 days). For the work were used 4 concentrations of macronutrients (25, 50, 75% and original MS). The results show that the reduction of the medium at 25% concentration stimulated the rooting more, but compromised the elongation of the root system. In addition, concentrations below 100% MS have been shown to show equal and even higher results than the original medium in the shoot development variables. The results obtained shows that can thus reducing production costs by reducing concentrations.

Key words: in vitro propagation, rooting, Anthurium species, floriculture

²Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. Redenção, CE, Brasil. E-mail: fernanda.schneider@unilab.edu.br.

³Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brasil. E-mail:cristina.carvalho@embrapa.br.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo e a comercialização dos produtos da floricultura estão presentes em todos os estados e vem se expandindo devido às condições favoráveis de desenvolvimento nesses locais (IBRAFLOR, 2015). A localização tropical do país favorece o cultivo de uma ampla diversidade de espécies de plantas ornamentais, devido as suas variações climáticas e diversidade de solos, sendo possível produzir ao longo de todo o ano a um custo reduzido (Brainer, 2018). Segundo dados da IBRAFLOR (2015), em 2014, no Brasil a quantidade de produtores era de 8.248 e com uma área de 14.992 hectares, sendo a maior parte concentrada no Sudeste. No Nordeste, o número total de produtores de flores e plantas ornamentais chega a 1.138, numa área cultivada de 2,0 mil hectares. No Ceará, essa produção encontra-se em diversas regiões do Estado, chegando à 730 propriedades rurais com cultivo de flores (Revista plasticultura, 2018).

O agronegócio de flores e plantas ornamentais do Brasil é segmentado na produção de espécies de plantas ornamentais para paisagismo e jardinagem, setor de flores e folhagens de corte, e de flores e plantas envasadas. Conta com uma grande diversificação de espécies cultivadas no país, sendo as flores de corte (rosas, crisântemos, gérbera, lírios e lisiantos, entre outras), folhagens de corte (*Acacia podalyriaefolia, Ami majus, Anthurium andraeanum* e muitas outras), plantas para paisagismo e jardinagem (Areca Bambú, Árvore da Felicidade, Ciclanto e outras) e às plantas em vasos (orquídeas, crisântemos e antúrios), sendo as rosas como flor de corte a espécie mais produzida e consumida no país (Brainer, 2018).

O antúrio pertence à Família Araceae e compreende mais de 3.200 espécies, em sua maioria nativas das regiões tropicais das Américas. São plantas ornamentais que se destacam principalmente pela beleza, tamanho, coloração tanto das folhagens e quanto a particularidade das inflorescências. A inflorescência é protegida por uma espata, que é uma folha modificada, que possui coloração marcante, e sua inflorescência conhecida como espádice, que possui um formato de espiga, nessa estrutura estão agregadas pequenas flores com distribuição espiralada (Tombolato, 2004; Nomura, et al., 2012).

A propagação do *Anthurium* pode ser realizada por três formas, sendo a propagação sexuada (seminífera), com utilização de sementes, sendo que esse método apresenta muitas desvantagens, devido ao longo tempo para a propagação, além de plantas sem uniformidades, variam em vigor, produtividade e tamanho; e a reprodução

assexuada (propagação vegetativa) divisão de touceiras ou estaquia, que possui a vantagem de se ter plantas idênticas à planta matriz. Porém, uma desvantagem deste processo é baixa quantidade de mudas produzidas, e mais recente a micropropagação (propagação clonal), que apresenta uma grande produtividade de plantas pelo cultivo *in vitro* e uniformidade entre as plantas (Tombolato, 2004; Atak & Çelik, 2012).

Rocha (2016) observou a micropropagação de *Anthurium andraeanum Linden ex André* espécies eidibel e astral, tendo por objetivo estudar a taxa de multiplicação in vitro por meio da organogênese direta, isto é, pelo desenvolvimento das gemas axilares dos segmentos nodais, o resultado do trabalho foi o desenvolvimento de um protocolo de multiplicação dessas cultivares. Tavares (2016) testando a indução de brotos de antúrio cananeia por meio de estiolamento *in vitro*, desenvolvido em, em duas etapas (estiolamento e regeneração de brotos estiolados), comprovaram que o método de estiolamento e regeneração de brotos para a cultura estudada são viáveis para a propagação *in vitro*.

Na literatura ainda se tem poucos trabalhos com outras espécies de *Anthurium*, como é o caso do *A. plowmanii* e *A. jemanii*, tendo-se com isso uma dificuldade de se obter conteúdo de qualidade e com embasamento científico. Contudo, há vários relatos na literatura com a utilização do meio MS para o cultivo *in vitro* de *Anthurium* spp., e com a utilização de macronutrientes pela metade, ou em concentrações ainda mais reduzidas, Cardoso (2009) foi um dos que testaram essas concentrações reduzidas do meio MS (Murashige e Skoog 1962). Pierik (1976) e Pierik et al. (1979) realizaram experimentos para testar diferentes composição do meio MS, em diferentes estágios da micropropagação: indução de calos, regeneração, multiplicação, alongamento e enraizamento de mudas de antúrio. Com base nesse estudo, Tombolato et al. (1998) propuseram uma metodologia para propagação *in vitro* das variedades lançadas pelo Instituto Agronômico (IAC), empregando o meio Pierik (Pinheiro, 2009).

Para o desenvolvimento deste experimento utilizou-se quatro espécies de *Anthurium*, a espécie *A. plowmanii* é uma espécie nativa com grande potencial de ornamentação, tanto para folhagem de corte como planta envasada, possui uma coloração verde escuro, assim como *A. maricense* que apresenta porte pequeno, possuindo caule curtamente ereto, arranjo de raiz pouco denso, limbo inteiro elíptico, com tamanho de 15 cm de comprimento e 7 cm de largura (Silva et al, 2019). *A. jemanii* é uma espécie que possui grande beleza e coloração verde e é normalmente utilizada para folhagem assim como as outras duas primeiras espécies. O *A. andraeanum* é uma espécie cultivada nacionalmente como flor de corte, possui alta

produtividade e seu formato e brilho são bastantes aceitos pelo mercado, possuindo um vermelho forte (Leme, 2004). As quatro espécies podem ser utilizadas no paisagismo e na jardinagem.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de macronutrientes do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), nas fases de enraizamento e alongamento dos explantes de quatro espécies de *Anthurium* em diferentes períodos de avaliação.

METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará, e desenvolvido de fevereiro a abril de 2019. As mudas para a obtenção dos explantes foram oriundas do BAG (Banco Ativo de Germoplasma) de *Anthurium* desta instituição.

Para o experimento, foram utilizados materiais vegetais oriundos de seleção de mudas *in vitro* de *Anthurium* de quatro espécies (*A. plowmanii*, *A. maricense*, *A. jemanii* e *A. andraeanum*). Utilizou-se, como explante, segmento nodal contendo um nó com par de folhas, tendo a parte radicular excluída, quando presente. Esses explantes foram estabelecidos *in vitro* em tubos de ensaio (de 150 mm x 25 mm) contendo 10 mL de meio nutritivo MS, sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar.

O experimento foi composto por 4 concentrações diferentes de macronutrientes do meio de cultivo MS: 100%, 75%, 50% e 25%. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4 x 4 x 3 (quatro espécies, quatro concentrações de macronutrientes do meio MS e três tempos de avaliação). Cada tratamento foi constituído de 8 explantes, divididos em 3 épocas de avaliação (35, 50 e 65 dias, após a inoculação in vitro), totalizando 24 plantas avaliadas/tratamento, sendo 8 delas avaliadas a cada época. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Anova, p<0,05) e as médias comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974) a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa SISVAR 4.6. (Ferreira; 2000)

As características avaliadas ao final de cada uma das épocas de avaliação foram: altura da parte aérea (cm), medida tomada da base do colo até a inserção da última folha; número de folhas; número de raízes; comprimento da maior raiz (cm); número de brotos; número de nós; massas fresca e seca (mg), determinadas por pesagem

em balança digital analítica, antes e após secagem, em estufa, com circulação forçada de ar, a 70°C e com régua graduada para medições.

Os meios de cultivo foram preparados com água destilada e o pH ajustado para 5.8 ± 0.1 e antes da autoclavagem houve a adição do ágar. A autoclavagem do meio de cultivo foi realizada à temperatura de 121° C e pressão de aproximadamente 1 kgf cm⁻², durante 15 minutos. Os tubos de ensaio contendo os explantes foram selados e incubados em câmara de crescimento a $24 \pm 1^{\circ}$ C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 30μ mol m⁻²s⁻¹, fornecidas por lâmpadas fluorescentes de luz branca-fria.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da análise de variância para as variáveis altura do broto (AB), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR) em cm, número de brotos (NB), número de folhas (NF), número de nós (NN), massa fresca (MF) e massa seca (MS). Verificou-se que para a altura das mudas *in vitro* houve interação significativa entre os fatores meio de cultivo MS versus espécie e época de avaliação versus espécie, não sendo verificada interação significativa para a interação época de avaliação versus meio de cultivo MS.

Tabela 1 - Análise de variância para altura do broto (AB), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR) em cm, número de brotos (NB), número de folhas (NF), número de nós (NN), massa fresca (MF) e massa seca (MS) de mudas micropropagadas de antúrio na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de *Anthurium* avaliadas em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias)

Quadrados Médios

FV GLΑB NR CR NB NF NN MF MS Espécie 61,24 ** 59,81 ** 455,25 ** 4,65 ** 24,80 ** 46,68 ** 2025086,77 ** 14305,31 ** MS 3 0,48 ns 14,48 ** 0,05 ns 36719,85 * 105,54 ns 23,40 ** 0,96 ns 2,61 ns EA 2 34,16 ** 54,88 ** 147,92 ** 0,80 ** 23,20 ** 52,79 ** 616920,75 ** 2728,94 ** MS*Espécie 16.07 * 0,43 ns 13513,35 ns 101.75 ns 5.27 ns 2.30 ns 0.96 ns 1,86 ns EA*MS 4,45 ns 5,30 ns 12.71 ** 0.93 ** 0,74 ns 3,08 ns 18524,88 ns 136,89 ns EA*Espécie 16,02 ** 21,38 ** 1,57 ** 0,78 ns 233450,24 ** 361,13 ** 4.81 ns 2,46 ns EA*MS*Espécie 170,82 * 18 14,68 ns 1.80 ns 6.98 * 0,38 ns 1.12 ns 2,50 ns 13457,81 ns CV1 (%) = 27,76 56.07 43.01 282,43 37.08 55,55 46,60 53,60 CV2 (%) = 26,80 48,80 42,99 235,61 29,94 45,47 42,67 31,61 CV3 (%) = 26,63 48.50 44,31 227.04 29.32 35,44 45,42 40,70

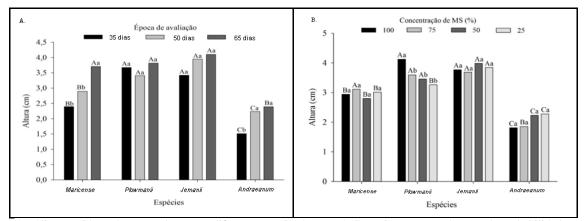
A avaliação da altura do broto em cm (Figura 1.A) apresentou interação de período de avaliação tempo de indução (35, 50 e 65 dias) com a espécie. Aos 35 dias

^{**, *}Significativo a 1% e 5% respectivamente, ns=não significativo, pelo Teste Scott-Knott (1974). Época de avaliação (EP) altura do broto (AB), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR) em cm, número de brotos (NB), número de folhas (NF), número de nós (NN), massa fresca (MF) e massa seca (MS)

pode-se observar diferenças estatisticamente significativas entre as espécies. A. plowmanii e A. jemanii apresentaram valores maiores de brotos (3,7 cm e 3,4 cm, respectivamente), não diferindo estatisticamente entre elas. A. maricense e A. andraeanum apresentaram brotos significativamente menores (2,4 cm e 1,5 cm, respectivamente). Aos 50 dias, após a inoculação in vitro, houve a mesma tendência estatística dos resultados entre as espécies avaliada aos 35 dias, com alturas (3,4 cm e 3,9 cm, para A. plowmanii e A. jemanii e respectivamente 2,9 cm e 2,2 cm, para A. maricense e A. andraeanum. Porém aos 65 dias verificou-se que mudas de A. jemanii obtiveram maior crescimento, mas não se observou variação estatística quanto às espécies A. maricense e A. plowmanii, sendo que a A. andraeanum apresentou o menor desenvolvimento em relação às demais. Entre os períodos de avaliação, observou-se que esse fator não foi significativo para A. plowmanii e A. jemanii, sendo que para A. maricense observaram-se as maiores alturas aos 65 dias, e para A. andraeanum aos 50 e 65 dias. No trabalho de Pinho et al. (2012) foi observado que a cultura do antúrio necessita tanto de macro como de micronutrientes, sendo estes essenciais para seu desenvolvimento. Lone et al., (2010), observaram, que a maior média para a o comprimento da parte aérea se dá em um tempo maior de exposição ao meio, onde em um intervalo de tempo menor se obtém plantas com tamanho inferior. Mostrando que os dados obtidos estão de acordo com a interação das espécies com o meio e o tempo de exposição no meio de cultivo.

Para a altura de broto x concentração de MS (figura 1.B) observa-se que as espécies A. plowmanii e A. jemanii apresentaram uma maior altura de broto quando comparada com as espécies A. maricense e A. andraeanum, a espécie de A. andraeanum apresentou o menor tamanho de broto em relação às demais espécies. Para as concentrações de MS dentro de cada espécie é possível observar que para as espécies A. maricense, A. jemanii e A. andraeanum as diferentes concentrações do meio não apresentaram diferença significativa, mas podem diminuir os gastos com macronutrientes, já para à espécie A. plowmanii a concentração original do meio MS induziu um maior tamanho de broto, e as demais concentrações (25, 50 e 75%) não apresentaram diferença estatística. Costa et al. (2008) trabalhando com diferentes cultivares de bananeira relatam que as respostas são diferenciadas para cada espécie em relação ao tempo de duração na fase de alongamento/enraizamento in vitro quando cultivadas em meio MS, ressaltam que as plantas que permaneceram por maiores períodos de tempo apresentam as maiores desenvolvimento da aérea in vitro. Uma

possível explicação para o caso, é que existem genótipos dependentes, onde cada genótipo dependente do meio e expressa apenas as características de determinada maneira, a depender da espécie podendo descrever resultados isolados, sendo estes influenciados também pelo meio de cultivo e pelo tempo de exposição ao meio. (Woodhead & Bird; 1998).



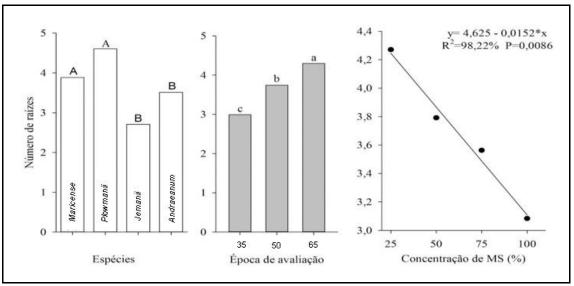
*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade *Letras maiúsculas referem-se à espécie e minúsculas à época de avaliação (1.A) e Letras maiúsculas referem-se à espécie e minúsculas à concentração de MS (1.B)

Figura 01: Média de altura (cm) de brotos micropropagadas na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio (*A. maricense, A. plowmanii, A. jemanii* e *A. andraeanum*) avaliadas em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias)

Para a variável número de raízes (Figura 02) não foi observada interação significativa, apenas o efeito principal em relação à espécie, época de avaliação a concentração de macronutrientes do meio de cultivo MS. A espécie influenciou significativamente no desenvolvimento das raízes, onde *A. maricense* e *A. plowmanii* registraram maior número de raízes, não apresentando diferenças estatísticas entre elas. Os menores números de raízes foram constatados em *A. jemanii* e *A. andraeanum*, não apresentando diferença estatística entre si.

O período de avaliação apresentou resultados esperados, sendo que aos 35 dias o número de raízes foi significativamente menor do que aos 50 dias. Aos 60 dias as plantas apresentaram as maiores quantidades de raízes. A concentração de macronutrientes do meio de cultivo MS teve efeito significativo, no desenvolvimento radicular, onde a menor concentração de macronutrientes do meio de cultivo, 25⁻⁻%, proporcionou o melhor desenvolvimento, decrescendo com o aumento da concentração. O coeficiente de determinação (R²) próximo de 1,00, indica que o modelo gerado foi significativo no intervalo testado. Segundo Grattapaglia & Machado (1998) o uso de meios com concentrações reduzidas de macronutrientes pode estimular a formação e o crescimento das raízes, sendo de grande importância para o contato com o substrato. Ressalta-se que o sistema radicular contribui com maior sobrevivência das mudas

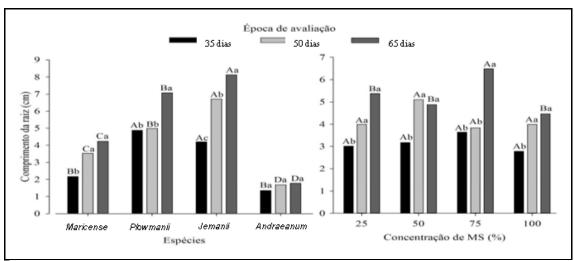
durante a fase de aclimatização *ex vitro* (Besson *et al.* 2010). A concentração de 25% provavelmente deve ter contribuído no investimento do sistema radicular, pelas mudas, por o meio do cultivo ter uma menor concentração de macronutrientes, a muda buscou desenvolver mais raízes para abranger uma superfície maior do meio de cultivo para absorver esses nutrientes.



*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade **Figura 02:** Média de número de raízes de mudas micropropagadas na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias) em 4 concentrações de MS (25%, 50%, 75% e MS original)

Para o comprimento da maior raiz (Figura 3) constatou-se interação do período de avaliação (Tabela 1) com a espécie. Analisando A. maricense, esta apresentou as raízes com menor comprimento, aos 35 dias, quando comparado aos 50 e 65 dias. Na espécie A. plowmanii observou-se que aos 35 dias o desenvolvimento das raízes foi menor do que aos 50 e 65. Na espécie A. jemanii pode-se observar um crescimento linear, onde aos 35 dias teve-se o menor tamanho da raiz e 65 dias apresentou maior tamanho. Na espécie A. andraeanum, não houve diferença significativa entre os períodos de avaliação de 35, 50 e 65 dias, demonstrando que nesta espécie não ocorreu desenvolvimento do sistema radicular em comprimento, mesmo tendo permanecido in vitro mais tempo no meio de cultivo. Entre as espécies, observou-se que A. maricense e A. andraeanum não apresentaram diferenças, quanto ao comprimento das raízes, aos 35 dias, mas sim aos 50 e 65 dias, onde o desenvolvimento A. andraeanum foi menor. Comparando espécies A. plowmanii e A. jemanii também não observou-se diferenças significativas entre elas aos 35 dias, aos 50 dias o A. jemanii mostrou maior tamanho de raiz comparada com a de A. plowmanii e aos 65 a espécie A. jemanii também foi melhor, sendo nessa época registrado o maior tamanho entre as duas espécies avaliadas. Woodhead & Bird (1998), afirmam que o processo de enraizamento in vitro é constituído basicamente por três fases: indução, iniciação e alongamento, onde cada espécie tem uma duração de fase diferente, dependendo também das condições de cultivo, com isso pode observar que cada espécie pode descrever resultados isolados, sendo estes influenciados também pelo meio de cultivo.

Foi observada também interação entre a concentração do meio de cultivo MS e a época de avaliação (Tabela 1), sendo que para as espécies não foi constatada significância. Quanto à concentração de macronutrientes do MS nos diferentes períodos, houve diferença apenas na avaliação efetuada aos 65 dias a 75%, sendo o maior tamanho de raiz registrado nesta concentração. Com relação à época de avaliação nas concentrações de 25 %, 50 % e 100 % observou-se que aos 50 e 65 dias não houve diferenças significativas entre elas e foram superiores ao período de 35 dias. Já na concentração de 75% aos 35 e 50 dias obteve-se o menor tamanho de raiz comparado aos 65 dias, que se mostrou melhor para o tamanho da raiz. A formação do sistema radicular em concentrações de macronutrientes menores do que o padrão do meio MS foram benéficas. Sorace et al., (2008) trabalhando com *Oncidium baueri* observaram em seu trabalho que a concentração original de MS mostrou resultados inferiores a solução com metade da concentração de MS, onde se obteve maior crescimento, discordando dos dados obtidos neste experimento, onde apenas a concentração de 75% do meio MS aos 65 dias mostrou resultados superiores aos demais.

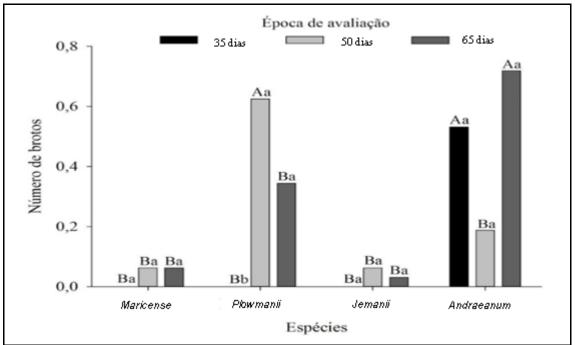


*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade *Letras maiúsculas refere-se a espécie e minúscula a época de avaliação, bem como à concentração de MS% e a época de avaliação

Figura 03: Média de comprimento da maior raiz (cm) de mudas micropropagadas na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias) (esquerda) e em 4 concentrações de MS (25%, 50%, 75% e MS original) (direita)

Para a variável número de brotos (Figura 4) constatou-se interação do período de avaliação (Tabela 1) com a espécie. Com relação à espécie o *A. andraeanum* e o *A. plowmanii* apresentaram o maior número de brotos em relação às outras duas espécies

A. maricense, A. jemanii onde estas não apresentaram diferença significativa entre elas. Com relação à época de avaliação, não se observou variação para as espécies A. maricense, A. jemanii e A. andraeanum, onde apenas na espécie A. plowmanii apresentou menor número de brotos aos 35 dias, onde não se pode observar desenvolvimento significativo, em relação aos períodos de 50 e 65 dias. Os resultados são semelhantes aos de Radmann (2009), onde a mesma afirma que não se observa diferença significativa com relação ao meio de cultivo MS, em Prunus persica L, deixando claro que para o número de brotações no meio de cultivo MS não tem influência significativa. Ressalta-se que o meio MS não interferiu no número de brotações, registrando apenas interação das espécies pelo tempo de avaliação.

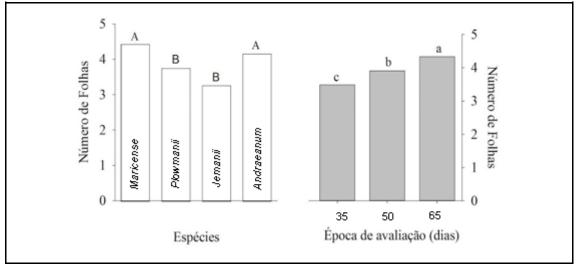


*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade *Letras maiúsculas refere-se a espécie e minúscula a época de avaliação

Figura 04: Média de número de brotos por muda micropropagada na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias)

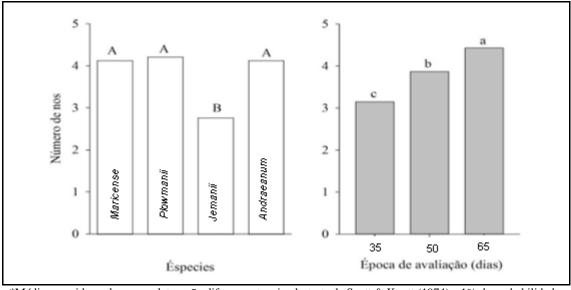
O número de folhas por muda (Figura 05) apresentou uma diferença significativa das espécies. O *A. maricense* e o *A. andraeanum* não diferiram entre si, mas houve uma diferença significativa com as espécies *A. plowmanii* e *A. jemanii* que também não mostraram diferenças entre elas. As duas espécies *A. maricense* e o *A. andraeanum* apresentaram maior número de folhas com relação às outras duas. Já em relação à época de avaliação, o maior número de folhas foi alcançado aos 65 dias como já era esperado, quanto mais tempo a cultura *in vitro* maior o desenvolvimento da folhagem. Sasamori, Júnior & Droste (2016) trabalhando com *Vriesea incurvata* (Bromeliaceae) perceberam que o número de folhas produzidas por plântula mostrou-se

semelhante com diferentes concentrações, mesmo com a redução de macronutrientes, não se observou diferenças significativas entre si. Corroborando com os dados obtidos neste trabalho, onde não houve efeito de diferentes concentrações de macronutrientes no número de folhas.



*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade **Figura 05:** Média de número de folhas por broto na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias)

Avaliando a variável número de nós (Figura 06) não foi observada interação significativa entre os fatores, apenas o efeito principal em relação à espécie e época de avaliação (Tabela 1). O número de nós com relação à espécie teve diferença significativa apenas em *A. jemanii*, que apresentou o menor número em comparação com as espécies *A. maricense*, *A. plowmanii* e *A. andraeanum* que não diferiram entre si. Analisando essa característica em relação à época de avaliação foi maior aos 65 dias, como já era esperado, pois quanto mais tempo de cultivo *in vitro* maior o desenvolvimento.



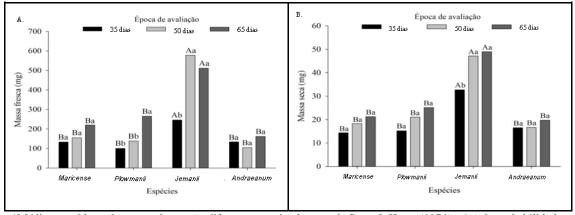
*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade

Figura 06: Média do número de nós por broto na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 509 e 65 dias)

Com relação ao acúmulo de massa fresca e seca os resultados foram muito semelhantes (Figuras 07. A e B) das mudas, onde foi possível observar que as espécies A. maricense, A. plowmanii e A. andraeanum não apresentaram diferença significativa, onde apenas a espécie A. jemanii apresentou melhor desenvolvimento em relação às outras espécies, em todos os períodos de avaliação. Para época de avaliação das espécies A. maricense e A. andraeanum não houve variação significativa, não influenciando no acúmulo de massa fresca e seca. Para a espécie A. jemanii o tempo de 50 e 65 dias mostraram resultados superiores se comparado a 35 dias, apresentando melhores resultados para cultura. Na espécie Jermani pode-se observar que mesmo não apresentando um grande número de folhas (Figura 5), sua biomassa foi elevada (Figura 7), isso se deve à altura das mudas que foi à maior em relação às demais espécies (Figura 1). Para a espécie A. plowmanii o melhor tempo para desenvolvimento foi de 65 dias para a variável matéria fresca, mostrando resultados superiores aos de 35 e 50 dias. Para a variável matéria seca desta espécie, 50 e 65 dias foram significativamente superior ao período de 35 dias.

Ferrari et al. (2016) verificaram que a massa seca da parte aérea de cúrcuma está diretamente relacionada com a concentração do meio de cultivo, indicando que quanto maior a concentração maior os ganhos para essa característica. No presente trabalho não foi observada interação significativa da concentração de MS para massa fresca e massa seca, em relação às épocas de avaliação,

É importante ressaltar que o meio MS possui alta concentração de sais e nutrientes em sua composição, comparado a outros meios de cultura, necessitando muitas vezes de modificações para suprir as necessidades ideais de cada espécie (Santos-Serejo et al., 2006).



*Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 1% de probabilidade *Letras maiúsculas refere-se a espécie e minúscula a época de avaliação

Figura 07: Média de massa fresca (mg) e massa seca (mg) dos brotos micropropagados na fase de enraizamento e alongamento *in vitro* de quatro espécies de antúrio avaliados em 3 épocas (aos 35, 50 e 65 dias)

CONCLUSÕES

Para as espécies *A. maricense*, *A. jemanii e A. Andraeanum* o tempo de 65 dias é ideal para o desenvolvimento de mudas micropropagadas em todos os parâmetros avaliados. Na espécie *A. plowmanii* o tempo de 50 dias é ideal para o maior número de brotos, mesmo não mostrando diferença estatística com 65 dias. Sendo que o tempo de 65 dias foi adequado para o desenvolvimento de mudas micropropagadas nos demais parâmetros avaliados. Na fase de alongamento e enraizamento utilizando concentração de 25% de MS maior foi o número de raízes e concentração de 75% maior foi o comprimento.

As concentrações de 25 % do meio de cultura MS podem ser usadas nas espécies A. maricense, A. jemanii e A. andraeanum, já que nos parâmetros de altura de plantas, número de brotos, número de folhas, número de nós, matéria seca não apresentaram significância quando se aumentou a concentração dos macronutrientes, podendo haver assim redução dos custos de produção na fase de alongamento e enraizamento de mudas micropropagadas destas espécies. Para as plântulas da espécie A. plowmanii a concentração de 100% de meio MS mostrou-se superior no parâmetro de altura de broto, nos demais parâmetros a concentração de 25% foi superior.

REFERÊNCIAS

Atak and Çelik, 2012. licensee InTech. This is an open access chapter distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/3.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Besson, J.C.F.; Oliveira, L.K.; Bonett, L.P. & Stefanello, S. 2010. Fontes e concentração de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. Revista Brasileira de Biociências 8: 9-13.

BRAINER, M. S. C. P. QUANDO NEM TUDO SÃO FLORES, A FLORICULTURA PODE SER UMA ALTERNATIVA. SET. 2018.

CARDOSO, Jean Carlos. Esterilização química de meio de cultura no cultivo in vitro de antúrio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44, n. 7, p. 785-788, 2009.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; PEREIRA, J. E. S.; RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento in vitro e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. Revista Brasileira de Fruticultura, v.30, n.1, p.31-37, 2008.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In...45<u>a</u> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

FERRARI, M. P. de S. et al. Evaluation of new protocols to Curcuma longa micropropagation: A medicinal and ornamental specie. Journal of Medicinal Plants Research, 10(25):367-376, 2016.

Grattapaglia, D. & Machado, M.A. 1998. Micropropagação. *In*: Torres, A.C.; Caldas, L.S. & Buso, J.A. (eds.). 1998. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. 2nd ed. Embrapa, Brasília. Pp. 183-260.

IBRAFLOR - Instituto Brasileiro de Floricultura. Números do Setor - Mercado Interno - 2015. Disponível em: ht-tps://www.ibraflor.com/ns_mer_interno.php. Acesso em:30 nov. 2019.

LEME, J. M.; HONÓRIO, S. L. Padronização e qualidade de antúrio. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, v. 10, n.1/2, p. 48-50, 2004.

LONE; A. B. et al. 2010, Desenvolvimento vegetativo de orquídeas submetidas a diferentes formulações de macronutrientes e freqüências de adubação durante a fase de aclimatização.

MURASHIGE, T, SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NOMURA, E. S., et al. Cultivo de antúrio. Pesquisa & Tecnologia, vol. 9, n. 1, Jan-Jun 2012.>http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2012/janeiro-junho-2/1082-cultivo-do-anturio/file.html?force_download=1<

PIERIK, R. L. M. Anthurium andraeanum Lind. plantlets produced from callus tissues cultivated in vitro. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 37, p. 80-82, 1976.

PIERIK, R. L. M., LEEUWEN, P. V., RIGTER, G. C. M. Regeneration of leaf explants of Anthurium andraeanum Lind. in vitro. Netherlands Journal of Agricultural Science, Wageningen, v. 27, p. 221-226, 1979.

PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; CARVALHO, A. C. P. P. e BARROS L. M. Micropropagação de antúrio 'IAC Eidibel' por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. 2009.

PINHO et al., 2012. Sintomas visuais de deficiências simples e múltiplas de micronutrientes em Antúrio.

RADMANN; E. B.; et al., MULTIPLICAÇÃO IN VITRO E ALONGAMENTO DAS BROTAÇÕES MICROPROPAGADAS DO PORTA-ENXERTO 'TSUKUBA 1'(Prunus persica L.). Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 31, n. 3, p. 656-663, Setembro 2009.

REVISTA PLASTICULTURA. Veja os números do Mercado Mundial de Flores e Plantas Ornamentais. Disponível em:https://revistaplasticultura.com.br/veja-os-numeros-do-mercado-mundial-de-flores-e-olantas-ornamen-tais/. Acesso em: 27 ago. 2018.

ROCHA, R. R. Micropropagação de anthurium andraeanum cvs. eidibel e astral / Roberta Rodrigues Rocha. – 2016. 38 f. : il. color.

SANTOS-SEREJO, J. A.; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L. SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para a micropropagação de plantas. in: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (org.). Introdução à micropropagação de plantas. Embrapa, 2006.

SASAMORI; M. H., JUNIOR; D. E., DROSTE; A. Baixas concentrações de macronutrientes beneficiam a propagação in vitro de Vriesea incurvata (Bromeliaceae), uma espécie endêmica da Floresta Atlântica, Brasil. Rodriguésia vol.67 no.4 Rio de Janeiro Oct./Dec. 2016.

SCOTT, A. J., and M. Knott. "A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance." Biometrics (1974): 507-512.

SILVA; C. F. B., et al. Produção de Antúrio para Folhagem em Vaso. CIRCULAR TÉCNICA 48. Fortaleza, CE Maio, 2019.

SORACE; M., FARIA; R. T., DAMASCENO; C. V. J., GOMES; P. Crescimento in vitro de Oncidium baueri (Orchidaceae) em diferentes concentrações de macronutrientes e sacarose. August 2008.

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.

TOMBOLATO, A. F. C.; Cultivo comercial de plantas ornamentais. Instituto Agronômico, Campinas, 2004.

TOMBOLATO, A. F. C., QUIRINO, E.A., COSTA, A. M. M. Antúrio (Anthurium andraeanum Lind.). In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (eds.). Micropropagação de plantas ornamentais. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. p. 18-21. (Boletim Técnico 174).

WOODHEAD, J. L.; BIRD, K. T. Efficient rooting and acclimation of micropropagated *Ruppia maritima* Loisel. Journal of Marine Biotechnology, New York, v. 6, n. 3, p. 152-156, 1998.