

## Types and concentrations of cytokinins in the micropropagation of *Anthurium maricense*

### *Tipos e concentrações de citocininas na micropropagação de Anthurium maricense*

Cecília Moreira Serafim<sup>1</sup>, Arlene Santisteban Campos<sup>2</sup>, Priscila Bezerra dos Santos Melo<sup>3</sup>, Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>4</sup>, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho<sup>4\*</sup>

**Abstract:** Faced with the demand for plants potted for their foliage, *Anthurium maricense* is seen as a viable option. However, most of the studies on obtaining micropropagated plantlets are for *A. andraeanum*, with nothing yet reported for *A. maricense*. The aim of this study therefore, was to evaluate the effect of four cytokinins in different concentrations, on the *in vitro* induction of shoots from nodal segments of *A. maricense*. The experimental design was completely randomised in a 4 x 4 factorial scheme, with four cytokinins (BAP, ZEA, CIN and 2iP) and 4 concentrations (0, 2.22, 4.44 and 6.66 µM), for a total of 16 treatments, with 6 replications of five test tubes, and using one nodal segment. Cultures were kept in a growth room at 25 ± 2°C, a photoperiod of 16 h and a light intensity of 30 µmolm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> for 60 days. After this period, the number of shoots formed per node was evaluated. The addition of a cytokinin to the culture medium was determinant for the *in vitro* regeneration of shoots in *A. maricense*. The greatest estimated number of shoot formations in *A. maricense* were obtained in the culture media containing ZEA (3.87) and BAP (3.30), both at concentration of 6.66 µM.

**Key words:** Anthurium. Araceae. Tissue culture. Floriculture. *In vitro* regeneration.

**Resumo:** Diante da demanda por plantas envasadas para folhagem, *Anthurium maricense* apresenta-se como uma opção viável para essa finalidade. No entanto, a maioria dos estudos sobre obtenção de mudas micropropagadas são para *A. andraeanum*, não havendo ainda relato para *A. maricense*. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de quatro citocininas, em diferentes concentrações, na indução *in vitro* de brotos, a partir de segmentos nodais de *A. maricense*. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com 4 citocininas (BAP, ZEA, CIN e 2iP) e 4 concentrações (0; 2,22; 4,44; e 6,66 µM), totalizando 16 tratamentos, com 6 repetições de cinco tubos de ensaio e empregando um segmento nodal. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de 30 µmolm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, por 60 dias. Após esse período foi avaliado o número de brotações formadas por nó. A adição de citocinina no meio de cultura foi determinante para regeneração *in vitro* de brotos de *A. maricense*. As maiores formações de brotos estimados no *A. maricense* foram obtidas nos meios de cultura contendo ZEA (3,87) e BAP (3,30), ambos na concentração de 6,66 µM.

**Palavras-chave:** Antúrio. Araceae. Cultura de tecidos. Floricultura. Regeneração *in vitro*.

\*Autor para correspondência

Enviado para publicação em 13/11/2017 e aprovado em 20/02/2018

<sup>1</sup>Enga. Agrônoma, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil; ceciliaserafim@gmail.com;

<sup>2</sup>Enga. Agrônoma, Doutoranda em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil; arlenesan@yahoo.com.br;

<sup>3</sup>Enga. Agrônoma, Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil; priscila.santos07@outlook.com;

<sup>4</sup>Bióloga, Doutora, Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 - Pici, 60511-110, Fortaleza, Ceará, Brasil; cecilia.castro@embrapa.br; cristina.carvalho@embrapa.br

## INTRODUCTION

The world market for flowers and ornamental plants, considering the total production and consumption of all countries, is valued at over BRL 226 billion (IBRAFLOR, 2017). In Brazil, floriculture is one of the newest, most dynamic and promising segments of Brazilian agribusiness (SEBRAE, 2015). The revenue from this sector was BRL 5.4 billion in 2014, BRL 6.2 billion in 2015, BRL 6.65 billion in 2016, and in 2017 the market expects to raise BRL 7.2 billion, which is equivalent to a growth of 9% (EDIÇÃO DO BRASIL, 2017).

In view of the increase in the demand and commercialisation of plants potted for foliage, species of the genus *Anthurium* are an excellent choice (CASTRO *et al.*, 2010). The foliage of *Anthurium* is especially appreciated for its high durability, size, shape and design of the smooth or velvety veins, and colour of the leaf blade, which can range from light to dark green (MORAIS *et al.*, 2017). According to Castro *et al.* (2010), among the anthuriums with ornamental potential, not yet commercially produced, *Anthurium maricense* Nadruz & Mayo stands out; a native plant, characterised as a psammophilic species, having oblong or oblong-lanceolate leaves with a short and obtuse apex, a flat and adaxially grooved petiole, oblong-lanceolate spathe, sessile spadix and a berry that is orange to red at the apex and yellowish towards the base (COELHO; MAYO, 2000).

The commercial production of micropropagated anthurium plantlets is by indirect organogenesis, i.e. by callus induction, with the subsequent regeneration of adventitious shoots (ATAK; ÇELIK, 2009). However, the disadvantages of this method include callus formation and the regeneration of plantlets from the adventitious shoots, which may lead to the production of plants with somaclonal variation. Etiolation has been used as an alternative (CARVALHO *et al.*, 2011), with the advantage of avoiding lesions in the regeneration zone, preventing or reducing callus formation and consequently, affording low levels of phenotypic variability.

The choice of the type of growth regulator to be added to the culture medium is determinant in obtaining a response during the *in vitro* multiplication phase of species of the genus *Anthurium* (SILVA *et al.*, 2015). Among the most commonly used cytokinins are 6-benzylaminopurine (BAP), 1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) urea (TDZ), N<sup>6</sup>-(4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl) aminopurine (ZEA) and 6-furfurylamino purine (CIN), as well as isopentenyladenine (2iP) recommended for *A. andraeanum* (HARB *et al.*, 2010). However, the most suitable concentration of these substances, used singly or in combination, varies with the cultivar, type of explant and phase of *in vitro* culture.

With a view to the *in vitro* production of plantlets of *A. maricense*, the aim of this study was to evaluate the effect of four cytokinins at different concentrations on the *in vitro* induction of shoots from nodal segments.

## INTRODUÇÃO

O mercado mundial de flores e plantas ornamentais, considerando-se toda a produção e o consumo dos países, está avaliado em mais de R\$ 226 bilhões (IBRAFLOR, 2017). No Brasil, a floricultura constitui-se um dos mais novos, dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio brasileiro (SEBRAE, 2015). O faturamento desse setor foi de R\$ 5,4 bilhões em 2014, R\$ 6,2 bilhões em 2015, R\$ 6,65 bilhões em 2016 e para 2017, o mercado prevê arrecadar R\$ 7,2 bilhões, o que equivale a 9% de crescimento (EDIÇÃO DO BRASIL, 2017).

Tendo em vista o aumento da demanda e da comercialização de plantas envasadas para folhagem, as espécies do gênero *Anthurium* apresentam-se como uma excelente opção para essa finalidade (CASTRO *et al.*, 2010). A folhagem de *Anthurium* é apreciada principalmente pela alta durabilidade, pelo tamanho, formato e desenho das nervuras, lisas ou aveludadas, e a cor do limbo, que pode variar de verde-claro ao verde-escuro (MORAIS *et al.*, 2017). Segundo Castro *et al.* (2010), dentre os antúrios com potencial ornamental ainda não produzidos comercialmente, destaca-se o *Anthurium maricense* Nadruz & Mayo, planta nativa, caracterizada como uma espécie psamófila, de folhas oblongas ou oblongo-lanceoladas com o ápice curto e obtuso, pecíolo achatado a sulcado adaxialmente, espata oblongo-lanceolada, espádice sésil e baga de cor laranja a vermelha no ápice e amarelada em direção à base (COELHO; MAYO, 2000).

A produção comercial de mudas micropropagadas de antúrio é feita por organogênese indireta, ou seja, por meio da indução de calos com posterior regeneração de gemas adventícias (ATAK; ÇELIK, 2009). No entanto, esse método tem como desvantagens a formação de calos e a regeneração das mudas a partir de gemas adventícias, podendo acarretar a obtenção de plantas com variação somaclonal. Como alternativa, vem sendo utilizado o estiolamento (CARVALHO *et al.*, 2011), que tem a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo ou reduzindo a formação de calos e, conseqüentemente, proporcionando baixos níveis de variabilidade fenotípica.

A escolha do tipo de regulador de crescimento a ser adicionado ao meio de cultura é determinante na obtenção de resposta na fase de multiplicação *in vitro* de espécies do gênero *Anthurium* (SILVA *et al.*, 2015). Entre as citocininas mais utilizadas, estão: 6-benzilaminopurina (BAP), 1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il) ureia (TDZ), N<sup>6</sup>-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enil) aminopurina (ZEA) e 6-furfurilaminopurina (CIN), além de isopenteniladenina (2iP) recomendada para *A. andraeanum* (HARB *et al.*, 2010). Contudo, a concentração mais adequada dessas substâncias, usadas isoladamente ou em combinação, varia com a cultivar, tipo de explante e fase de cultivo *in vitro*.

Assim, visando à produção *in vitro* de mudas de *A. maricense*, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de quatro citocininas em diferentes concentrações na indução *in vitro* de brotações a partir de segmentos nodais.

## MATERIAL AND METHODS

The work was carried out at the Plant Tissue Culture Laboratory of Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), in Fortaleza, in the State of Ceará, Brazil, from August 2013 to March 2014.

Seedlings of *Anthurium maricense* were obtained from the *in vitro* germination of seeds collected from plants kept in the Tropical Flower Germplasm Collection at CNPAT. From these seedlings, maintained *in vitro*, nodal segments approximately 1.0 cm in size were extracted, containing one node, the leaves of which were removed. These nodal segments were inoculated in Pierik culture medium (PIERIK, 1976) with the addition of 10  $\mu\text{M}$  3-indoleacetic acid (IAA), 20 g L<sup>-1</sup> sucrose and 1.8 g L<sup>-1</sup> Gelzan®. The cultures were kept in a growth room at 25  $\pm$  2°C in the dark for 60 days. At the end of this period, the etiolated shoots were sectioned into explants containing only one node, which were placed horizontally, one per test tube (150 x 25 mm) containing 10 mL culture medium.

The experiment was set up in a completely randomised experimental design, in a 4 x 4 factorial scheme, with six replications of five test tubes. The first factor corresponded to four types of cytokinin added to the culture medium BAP (BAP-6-benzylaminopurine); ZEA (ZEA-N6-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl) aminopurine; KIN (KIN-6-furfurylamino purine); and 2iP (2iP-isopentenyladenine), with four concentrations: 0.0; 2.22; 4.44 and 6.66  $\mu\text{M}$ , as the second factor, for a total of 16 treatments. The cultures were kept in a growth room at 25  $\pm$  2°C, a photoperiod of 16 h and a light intensity of 30  $\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$  for 60 days. At the end of this period, the number of shoots formed per node was evaluated.

The data were submitted to analysis of variance by F-test at 5% significance. For significant effects, regression analysis was carried out at a level of 5%. For the analysis, the Sisvar statistical software was used (FERREIRA, 2011).

## RESULTS AND DISCUSSION

From the analysis of variance of the data, a significant effect was seen for both the type and concentration of cytokinin, as well as for the interaction between these two factors (Table 1).

Regression analysis showed different behaviour for the cytokinins tested during the *in vitro* multiplication phase of *A. maricense*. For BAP and ZEA, the number of shoots obtained per explant increased with the increased concentration of these substances. Whereas for 2iP and KIN, there was an increase in the number of regenerated shoots per explant up to a concentration of 5.30 and 5.11  $\mu\text{M}$ , with a reduction at the concentration of 6.66  $\mu\text{M}$  (Figure 1).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará, Brasil, no período de agosto de 2013 a março de 2014.

As mudas de *Anthurium maricense* foram obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes coletadas de plantas mantidas na Coleção de Germoplasma de Flores Tropicais do CNPAT. Dessas mudas, mantidas *in vitro*, foram excisados segmentos nodais com aproximadamente 1,0 cm de tamanho, contendo um nó, cujas folhas foram retiradas. Esses segmentos nodais foram inoculados em meio de cultura Pierik (PIERIK, 1976) adicionado de 10  $\mu\text{M}$  de ácido 3-indoacético (AIA), 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 1,8 g L<sup>-1</sup> de Gelzan®. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 25  $\pm$  2 °C, no escuro por 60 dias. Ao final desse período, os brotos estiolados foram seccionados em explantes contendo apenas um nó, que foram colocados horizontalmente, um por tubo de ensaio (com dimensões de 150 x 25 mm), contendo 10 mL de meio de cultura.

O experimento foi implantado em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com 6 repetições de 5 tubos de ensaio. O primeiro fator correspondeu a 4 tipos de citocininas adicionadas ao meio de cultura, sendo: BAP (BAP-6-benzilaminopurina); ZEA (N6-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enil) aminopurina); CIN (CIN-6-furilaminopurina); e, 2iP (2iP-isopenteniladenina); e 4 concentrações: 0,0; 2,22; 4,44; e 6,66  $\mu\text{M}$ , como segundo fator, totalizando 16 tratamentos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 25 $\pm$ 2 °C, fotoperíodo de 16 h de luz e intensidade luminosa de 30  $\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , por 60 dias. Ao final desse período, foi avaliado o número de brotações formadas por nó.

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F a 5% de significância. Para os efeitos significativos, foi realizada a análise de regressão ao nível de 5% de significância. Para efetuar essa análise, utilizou-se o programa estatístico Sisvar – Sistema de análises de variância para dados balanceados (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise de variância dos dados verificou-se efeito significativo tanto para o tipo quanto para a concentração de citocinina, bem como para a interação entre esses dois fatores (Tabela 1).

As análises de regressão demonstraram comportamentos diferentes para as citocininas testadas na fase de multiplicação *in vitro* de *A. maricense*. Para BAP e ZEA, o número de brotos obtidos por explante aumentou com o acréscimo da concentração dessas substâncias. Já para 2iP e CIN houve aumento no número de brotos regenerados por

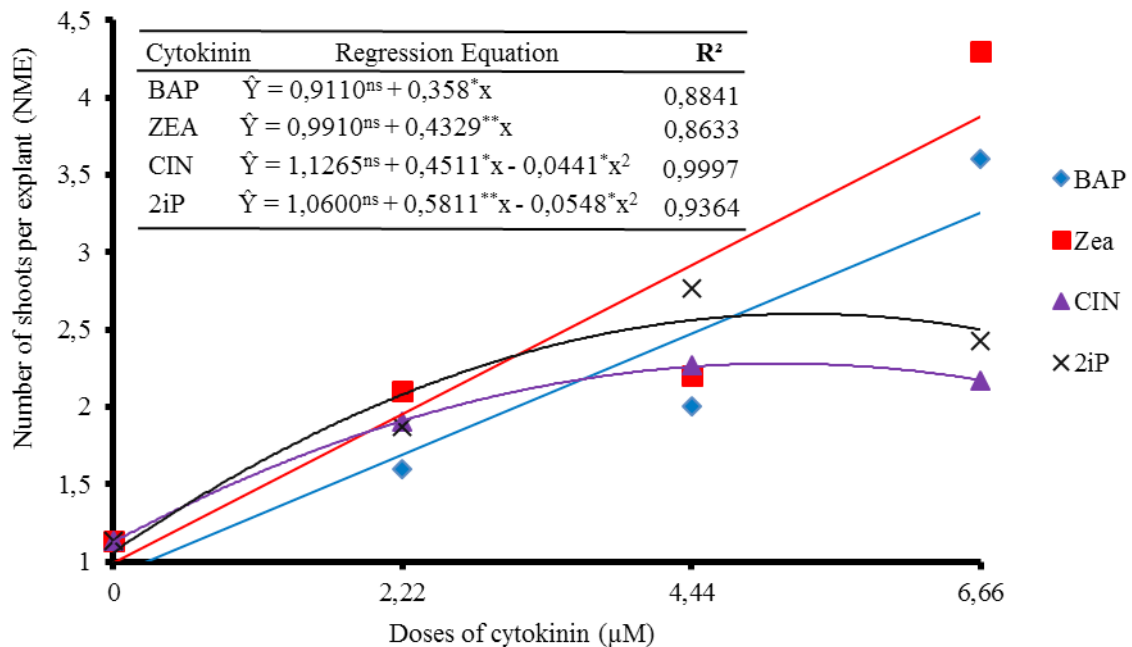
**Table 1** - Summary of the analysis of variance for the factors type and concentration of cytokinin, for shoot induction in *Anthurium maricense*

**Tabela 1** - Resumo da análise de variância para os fatores tipo e concentração de citocinina, na indução de brotações em *Anthurium maricense*

Factor of variation	Degrees of freedom	Square Root
		Number of shoots regenerated per explant
Cytokinin (Cy)	3	1.3394*
Concentration (Co)	3	16.6561*
Cy x Co	9	1.8280*
Residual	80	0.2223
Corrected total	95	-
CV (%)	-	22.32

\* 5% significance by F-test.

\* 5% de significância pelo teste F.



**Figure 1** - Number of regenerated shoots per explant of *Anthurium maricense* for cytokinin dose BAP, ZEA, KIN e 2iP, at 60 days of *in vitro* culture. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Ceará, 2013/2014.

ns – not significant, \* significant at 5 %, \*\* significant at 1% probability.

**Figura 1** - Número de brotações regeneradas por explante de *Anthurium maricense* em função de doses de citocininas BAP, ZEA, CIN e 2iP, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2013/2014.

ns – não significativo, \* significativo a 5 %, \*\*significativo a 1% de probabilidade.

The lowest number of regenerated shoots for *A. maricense* (1.13) was obtained in the Pierik culture medium without the addition of growth regulators. Low values for the number of shoots were also recorded by Islam *et al.* (2010) in *A. andraeanum* 'Nitta' (0.11). In both the *Anthurium x cultorum* clone, and the species *A. antioquiense*, Soczek and Hempel (1989) and Murillo-Gómez *et al.* (2014) respectively obtained 1.8 shoots in the culture medium without the addition of growth regulators.

It was found that the addition of a cytokinin to the culture medium is necessary for the formation of shoots in *A. maricense*. In addition, this morphogenetic response is influenced by both the type of cytokinin and the concentration used (Table 1). Soczek and Hempel (1989), studying the effect of the same cytokinins as used in the present study, BAP, ZEA, KIN and 2iP, concluded that these substances influenced both the growth and development of shoots in the *Anthurium x cultorum* clone.

Among the cytokinins used during the multiplication phase, BAP has been mentioned as the most efficient for regenerating shoots in the genus *Anthurium* (BEJOY *et al.*, 2008; LIENDO; MOGOLLÓN, 2009; RAAD *et al.*, 2012; CARDOSO; HARBERMANN, 2014; AJDARBIN *et al.*, 2015). In the literature, tested BAP concentrations vary from 0.44  $\mu\text{M}$  (BEJOY *et al.*, 2008) to 13.32  $\mu\text{M}$  (MURILLO-GÓMEZ *et al.*, 2014).

For BAP concentration, the regression analysis indicated with the trend line that increases in the concentration of this cytokinin was directly proportional to increasing shoot regeneration (Figure 1). In this study, it is estimated that the concentration of 6.66  $\mu\text{M}$  BAP promotes the formation of 3.30 regenerated shoots. Ajarbin *et al.* (2006) and Budiarto (2008) also found that the number of regenerated shoots was proportional to the increase in BAP concentration, in the 'Clisto' cultivar and in several *Anthurium* accessions respectively.

Raad *et al.* (2012) found that shoots were formed (1 to 3 shoots per explant) in *A. andraeanum* 'Casino' and 'Antadra', in a culture medium containing KIN. Soczek and Hempel (1989) found that at a concentration of 4.92  $\mu\text{M}$  only two shoots were formed in the *Anthurium x cultorum* clone. Similar results were recorded for *A. maricense*, with an average of close to two shoots per explant when this cytokinin was added to the medium. At a concentration of 6.66  $\mu\text{M}$ , KIN was less effective than BAP in *A. maricense*, with an estimated production of 2.17 shoots, 1.4 less than BAP (Figure 1), corroborating the results obtained by Bejoy *et al.* (2008) for *A. andraeanum* 'Agnihotri'.

Among the cytokinins employed in the multiplication of *Anthurium*, the least used is 2iP. Jahan *et al.* (2009) recorded 10 shoots per explant in a medium containing 0.98  $\mu\text{M}$  2iP. In the present study, the highest number of shoots estimated with this cytokinin (2.60) was at a concentration of 5.30  $\mu\text{M}$ .

explante até concentração de 5,30 e 5,11  $\mu\text{M}$ , apresentando redução na concentração de 6,66  $\mu\text{M}$  (Figura 1).

O menor número de brotações regeneradas para *A. maricense* (1,13) foi obtido no meio de cultura Pierik sem a adição de reguladores de crescimento. Baixos valores para número de brotação também foram registrados por Islam *et al.* (2010) em *A. andraeanum* 'Nitta' (0,11). Tanto no clone *Anthurium x cultorum* quanto na espécie *A. antioquiense*, Soczek e Hempel (1989) e Murillo-Gómez *et al.* (2014), respectivamente, obtiveram 1,8 brotos, no meio de cultura sem a adição de reguladores de crescimento.

Constatou-se que para a formação de brotações, em *A. maricense*, é necessária a adição de uma citocinina ao meio de cultura. Além disso, essa resposta morfogenética é influenciada tanto pelo tipo da citocinina quanto pela concentração utilizada (Tabela 1). Soczek e Hempel (1989), estudando o efeito das mesmas citocininas utilizadas no presente estudo, BAP, ZEA, CIN e 2-iP, concluíram que essas substâncias influenciaram tanto o crescimento quanto o desenvolvimento de brotos no clone *Anthurium x cultorum*.

Entre as citocininas utilizadas na fase de multiplicação, BAP tem sido mencionada como a mais eficiente na regeneração de brotos no gênero *Anthurium* (BEJOY *et al.*, 2008; LIENDO; MOGOLLÓN, 2009; RAAD *et al.*, 2012; CARDOSO; HARBERMANN, 2014; AJDARBIN *et al.*, 2015). Na literatura, as concentrações testadas de BAP variam desde 0,44  $\mu\text{M}$  (BEJOY *et al.*, 2008) até 13,32  $\mu\text{M}$  (MURILLO-GÓMEZ *et al.*, 2014).

A análise de regressão, para as concentrações de BAP, indicou, por meio da linha de tendência, que o aumento da concentração dessa citocinina foi diretamente proporcional à crescente regeneração de brotos (Figura 1). Neste estudo, estima-se que a concentração de 6,66  $\mu\text{M}$  de BAP promova a formação de 3,30 brotos regenerados. Ajarbin *et al.* (2015) e Budiarto (2008) também constataram que o número de brotos regenerados foi proporcional ao aumento da concentração de BAP, para a cultivar 'Clisto' e vários acessos de *Anthurium*, respectivamente.

Raad *et al.* (2012) constataram que houve formação de brotos (1 a 3 brotos por explante) em *A. andraeanum* 'Casino' e 'Antadra', no meio de cultura contendo CIN. Soczek e Hempel (1989) verificaram que na concentração de 4,92  $\mu\text{M}$  foram formados apenas dois brotos, no clone *Anthurium x cultorum*. Resultados semelhantes foram registrados para *A. maricense*, obtendo-se, em média, próximo de duas brotações por explante, quando ao meio foi adicionado dessa citocinina. Em *A. maricense*, CIN foi menos efetiva do que BAP, na concentração de 6,66  $\mu\text{M}$ , estimando-se uma produção de 2,17 brotos, 1,4 a menos que BAP (Figura 1), corroborando com os resultados obtidos por Bejoy *et al.* (2008) para *A. andraeanum* 'Agnihotri'.

Entre as citocininas empregadas na multiplicação de antúrio, a menos usada é o 2iP. Jahan *et al.* (2009) registraram 10 brotos por explante no meio contendo 0,98  $\mu\text{M}$  de 2iP.



With the addition of ZEA to the culture medium, the greatest mean estimated regeneration rate (3.87) was achieved at the highest concentration tested (6.66  $\mu\text{M}$ ). Regression analysis for concentrations of this cytokinin indicated, by means of the trend line, that the increase in ZEA concentration was directly proportional to the increase in shoot regeneration.

## CONCLUSIONS

For the formation of shoots in *A. maricense*, it is necessary to add a cytokinin to the culture medium;

Of the four cytokinins tested, the highest rates of multiplication were estimated for the media with added ZEA (3.87) and BAP (3.30);

Regression analysis revealed an increase in the number of regenerated shoots with an increase in dose for both ZEA and BAP.

No presente estudo, o maior número de brotações estimado com esta citocinina (2,60) foi na concentração de 5,30  $\mu\text{M}$ .

Com a adição de ZEA ao meio de cultura, a maior média estimada da taxa de regeneração (3,87) foi alcançada na maior concentração testada (6,66  $\mu\text{M}$ ). A análise de regressão para as concentrações dessa citocinina indicou por meio da linha de tendência que o aumento da concentração do ZEA foi diretamente proporcional à crescente regeneração de brotos.

## CONCLUSÕES

Para a formação de brotações, em *A. maricense*, é necessária a adição de uma citocinina ao meio de cultura;

Das quatro citocininas testadas, as maiores taxas de multiplicação foram estimadas nos meios adicionados de ZEA (3,87) e BAP (3,30);

A análise de regressão revelou aumento do número de mudas regeneradas com o incremento das doses, tanto para ZEA quanto para BAP.

## CITED SCIENTIFIC LITERATURE

AJDARBIN, M.; KAFI, M.; MIRMASOUMI, M.; AZADI, P. Indirect shoot regeneration in *Anthurium andraeanum* 'Clisto' from leaf explant. **Journal of Ornamental Plants**, v. 5, n. 3, p. 159-166, 2015.

ATAK, Ç.; ÇELIK, Ö. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from leaf explants. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 3, p. 1155-1161, 2009.

BEJOY, M.; SUMITHA, V. R.; ANISH, N. P. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort. Cv. Agnihothri. **Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 134-138, 2008.

BUDIARTO, K. Micro propagation of several potted *Anthurium* accessions using spathe explants. **Journal Natur Indonesia**, v. 11, n. 1, p. 59-632, 2008.

CARDOSO, J. C.; HABERMANN, G. Adventitious shoot induction from leaf segments in *Anthurium andraeanum* is affected by age of explant, leaf orientation and plant growth regulator. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, v. 55, n. 1, p. 56-62, 2014.

CARVALHO, A. C. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; GOMES, G. M. G.; BARROS, L. M. Estiolamento in vitro: uma alternativa para a produção de mudas micropropagadas de antúrio. Embrapa Agroindústria Tropical/Circular Técnica, 36. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical. 8 f. 2011.

CASTRO, A. C. R.; MORAIS, E. B.; MOURÃO, I. C. S.; LOGES, V. Carvalho, A. C. P. P. Ornamental foliage potential of *Anthurium* accessions. **Acta Horticulturae**, v. 855, p. 61-86, 2010.

COELHO, M. A. N.; MAYO, S. J. *Anthurium maricense* Nadruz & Mayo – a new species of *anthurium* Schott (Araceae: Tribe *Anthurieae*) for Brazil. **Aroideana**, v. 23, p. 82-88, 2000.

EDIÇÃO DO BRASIL. Mercado de floricultura prevê faturamento de R\$ 7,2 bilhões. Disponível em <http://edicaodobrasil.com.br/2017/09/06/mercado-de-floricultura-preve-faturamento-de-r-72-bilhoes/>. Acessado em 10/10/2107.

FERREIRA D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

HARB, E. M.; TALAAT, N. B.; WEHEEDA, B. M.; EL-SHAMY, M. A.; OMIRA, G. A. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from shoot tip explants. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 6, n. 8, p.927-931, 2010.

IBRAFLOR. Dados do setor: O mercado internacional. Informativo IBRAFLOR, v. 81, dez-2017. Disponível em <http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/12/Boletim-Ibraflor-12-2017.pdf>. Acessado em 20/02/2018.

- ISLAM, S. A.; DEWAN, M. M. R.; MUKUL, M. H. R.; HOSSENI, M. A.; KHATUN, F. *In vitro* regeneration of *Anthurium andreanum* cv. Nitta. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 35, n. 2, p. 217-226, 2010.
- JAHAN, M. T.; ISLAM, M. R.; KHAN, R.; MAMUN, A. N. K.; AHMED, G.; HAKIM, L. *In vitro* clonal propagation of anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) using callus culture. **Plant Tissue Culture & Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 61-69, 2009.
- LIENDO, M.; MONGOLLÓN, N. Multiplicación clonal *in vitro* del antúrio (*Anthurium vandreanum* Lind. Cv. Nicoya). **Bioagro**, v. 21, n. 3, p. 179-182, 2009.
- MORAIS E. B.; CASTRO, A. C. R.; SILVA, T. F.; SILVA, J. P. Evaluation of potential use of native anthurium foliage. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 07-14, 2017.
- MURILLO-GÓMEZ, P. A.; NARANJO, E.; CALLEJAS, R.; ATEHORTÚA, L.; URREA, A. Micropropagation of the native species *Anthurium antioquiense* Engl. for conservation purposes. **Agronomía Colombiana**, v. 32, n. 3, p. 334-340, 2014.
- PIERIK, R. L. M. *Anthurium andraeanum* Lindl. plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v. 37, p. 80-82, 1976.
- SOCZEK, U., HEMPEL, M. Effect of cytokinins on growth and development of *Anthurium × cultorum* Birdsey shoot explants *in vitro*. **Acta Horticulturae**, v. 251, p. 249–254, 1989.
- SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas). (2015) - Flores e Plantas ornamentais do Brasil: série estudos mercadológicos. Brasília, DF, 42 p.**
- SILVA, J. A. T.; DOBRÁNSZKIB, J.; WINARTOC, B.; ZENG, S. (2015) - *Anthurium in vitro*: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 266–298, 2015.
- RAAD, M. K.; ZANJANIL, S. B.; SHOOR, M.; HAMIDOGHLI, Y.; SAYYAD, A. R.; KHARABIAN-MASOULEH, A.; KAVIANI, B. Callus induction and organogenesis capacity from lamina and petiole explants of *Anthurium andreanum* Linden (Casino and Antadra). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 5, p. 928-937, 2012.