

Doses of Osmocote® in the acclimatization of micropropagated plantlets of *Anthurium maricense*

Doses de Osmocote® na aclimatização de mudas micropropagadas de Anthurium maricense

Arlene Santisteban Campos¹, Guilherme Vieira do Bomfim², Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho^{3*}, Benito Moreira de Azevedo², Carlos Alberto Kenji Taniguchi³

Abstract: *Anthurium maricense* is a tropical ornamental species with great commercial potential in the areas of landscaping and potted foliage plants. One of the main obstacles in the production of micropropagated anthurium plantlets is its slow development and/or the low survival rate of the plantlets during the acclimatization stage. The use of slow-release fertilisers (SRF) can accelerate this process; however, there are no reports in the literature concerning this practice during acclimatization of micropropagated plantlets of this species. As such, in the present study, the effects of different doses of SRF on the development of micropropagated plantlets of *Anthurium maricense* were evaluated during the acclimatization stage in a greenhouse. The experiment was carried out in a completely randomised design, with five treatments and four replications of four plantlets per plot. The treatments comprised doses of 0.0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 kg m⁻³ of the SRF Osmocote® (NPK 15:9:12) added to the substrate. The variables under evaluation were the variation in plant height, in the number of leaves and in the area of the largest leaf, pot occupancy, net photosynthetic rate, internal carbon, and leaf temperature and moisture. The use of SRF promoted better development of the micropropagated plantlets of *A. maricense* during the acclimatization stage. Of the variables under analysis, the variation in the area of the largest leaf is the most important, since the commercial interest of the studied species is the foliage, which was at its maximum with an estimated dose of Osmocote® of 6.40 kg m⁻³.

Key words: Anthurium. Ornamental plants. Slow-release fertiliser.

Resumo: O *Anthurium maricense* é uma espécie ornamental tropical de grande potencial comercial nos segmentos de paisagismo e de folhagens para vaso. Um dos principais entraves na produção de mudas micropropagadas de antúrio é o lento desenvolvimento e/ou a baixa taxa de sobrevivência das mudas na fase de aclimatização. O uso de fertilizantes de liberação lenta (FLL) pode acelerar este processo. Contudo, não há relatos na literatura sobre esta prática na aclimatização de mudas micropropagadas desta espécie. Assim, no presente estudo, avaliou-se os efeitos de diferentes doses de FLL sobre o desenvolvimento de mudas micropropagadas de *Anthurium maricense* durante a fase de aclimatização em telado. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições de quatro mudas por parcela. Os tratamentos consistiram nas doses de 0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 kg m⁻³ do FLL Osmocote® (NPK 15:9:12) adicionadas ao substrato. As variáveis avaliadas foram: variação da altura da planta, do número de folhas e da área da maior folha, ocupação de vaso, taxa fotossintética líquida, carbono interno, temperatura e umidade da folha. O uso de FLL promoveu melhor desenvolvimento das mudas micropropagadas de *A. maricense* na fase de aclimatização. Das variáveis analisadas, a variação da área da maior folha é a mais importante, pois o interesse comercial da espécie estudada é a folhagem, a qual foi maximizada com a dose de Osmocote® estimada em 6,40 kg m⁻³.

Palavras-chave: Antúrio. Plantas ornamentais. Fertilizante de liberação lenta.

*Corresponding author

Submitted for publication on 19/12/2018 and approved 02/02/2019

¹Departamento de Ciência do Solo, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil; arlenesan@yahoo.com.br.

²Departamento de Engenharia Agrícola, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil; guile2007@gmail.com; benitoazevedo@hotmail.com.

³Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Doutora Sara Mesquita, 2270, Bairro Pici, 60511-110, Fortaleza, Ceará, Brasil; cristina.carvalho@embrapa.br; carlos.taniguchi@embrapa.br.

INTRODUCTION

The Brazilian market for flowers and ornamental plants has been booming, with a growth of 46.4% over the last five years and sales of 7.2 billion in 2017, with more than 350 species and around 3000 varieties being marketed (IBRAFLOR, 2017).

The agribusiness of floriculture often demands innovative, quality products, and as such, native plants appear as an alternative of great potential in supplying the domestic and international markets (MORAIS *et al.*, 2017).

Anthurium maricense, a plant native to the state of Rio de Janeiro, is seen as promising for use in ornamentation and landscaping, or even as a potted plant, with the high durability of its leaves being one of its most important characteristics (COELHO; MAYO, 2000).

Although anthuriums may be propagated both sexually and asexually (DESAI *et al.*, 2015), the majority of marketed plants are produced via micropropagation (MAIRA *et al.*, 2010), as this allows large-scale production (GANTAIT; MANDAL, 2010), with high phenotypic uniformity and excellent phytosanitary quality (PINHEIRO *et al.*, 2009).

Acclimatization, the adaptation of the plantlet from an *in vitro* environment to *ex vitro* conditions (GIRARDI; PESCADOR, 2010), is an important step in micropropagation (ROZALI; RASHID, 2015), as it can limit production (PELIZZA *et al.*, 2011). In many cases, when carried out without due care, it causes high rates of mortality (OLIVEIRA *et al.*, 2010), a low growth rate (ROCHA *et al.*, 2009), and a lack of uniformity of the micropropagated plantlets (LIMA-BRITO *et al.*, 2016).

There are no reports in the literature on nutritional requirements or the application of fertilisers when acclimatizing micropropagated plantlets of *Anthurium maricense*. However, for *Anthurium andraeanum*, the use of acid soils is recommended, and, depending on the soil analysis, the application of nutrients (NOMURA *et al.*, 2012).

Organic fertiliser has been adopted by most producers of anthurium (POLACK, 2006). However, this author makes no mention of the use of fertigation, foliar fertilization or slow-release fertilizer (SRF). Yet, the use of SRF can be an alternative; they allow nutrients to be continuously available throughout the cycle, reduce nutritional deficiency and dispense with applications from other sources, reducing the operational costs of seedling production (DINALLI *et al.*, 2012).

The application of Osmocote® (NPK 15:10:10), with or without the addition of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), has shown that the exclusive use of SRF in the acclimatization of *A. andraeanum* 'Eidibel' promotes the best plantlet development (STANCATO; SILVEIRA, 2010). However, there is a lack of information in the literature concerning the use of these fertilisers in the acclimatization of micropropagated plantlets of *A. maricense*.

INTRODUÇÃO

O mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais está em franca expansão, com crescimento acumulado de 46,4% nos últimos cinco anos e faturamento de 7,2 bilhões em 2017, sendo comercializadas mais de 350 espécies e cerca de 3000 variedades (IBRAFLOR, 2017).

O agronegócio da floricultura demanda, frequentemente, produtos inovadores e de qualidade. Dessa forma, as plantas nativas aparecem como uma alternativa de grande potencial para suprir os mercados nacional e internacional (MORAIS *et al.*, 2017).

Assim, *Anthurium maricense*, planta nativa do estado do Rio de Janeiro, apresenta-se promissora para uso em ornamentações, paisagismo, ou mesmo como planta envasada, tendo a alta durabilidade das folhas uma de suas características mais importantes (COELHO; MAYO, 2000).

Embora os antúrios possam ser propagados sexualmente ou assexuadamente (DESAI *et al.*, 2015), a maioria das mudas comercializadas são produzidas via micropropagação (MAIRA *et al.*, 2010), em virtude de permitir a produção em larga escala (GANTAIT; MANDAL, 2010), com elevada uniformidade fenotípica e alta qualidade fitossanitária (PINHEIRO *et al.*, 2009).

A aclimatização, adaptação da muda oriunda de um ambiente *in vitro* para às condições *ex vitro* (GIRARDI; PESCADOR, 2010), é uma etapa importante da micropropagação (ROZALI; RASHID, 2015), já que pode limitar a produção (PELIZZA *et al.*, 2011). Em muitos casos, quando realizada sem os devidos cuidados, ocasiona altos índices de mortalidade (OLIVEIRA *et al.*, 2010), baixa taxa de crescimento (ROCHA *et al.*, 2009) e desuniformidade das mudas micropropagadas (LIMA-BRITO *et al.*, 2016).

Na literatura, não há relatos sobre a necessidade nutricional nem sobre a aplicação de fertilizantes na aclimatização de mudas micropropagadas de *Anthurium maricense*. Contudo, para o *Anthurium andraeanum*, recomenda-se o uso de solos ácidos, além da aplicação de nutrientes, conforme análise do solo (NOMURA *et al.*, 2012).

A adubação adotada pela maioria dos produtores de antúrios tem sido a orgânica (POLACK, 2006). Entretanto, esses autores não fazem menção ao uso de fertirrigação, adubação foliar e fertilização de liberação lenta (FLL). Todavia, o uso de adubos de FLL pode ser uma alternativa. Eles permitem disponibilidade contínua de nutrientes ao longo do ciclo, reduzem a deficiência nutricional e dispensam aplicações parceladas de outras fontes, diminuindo os custos operacionais na produção das mudas (DINALLI *et al.*, 2012).

A aplicação de Osmocote® (NPK 15:10:10), com ou sem a adição de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), mostrou que o uso apenas de fertilizante de liberação lenta (FLL) na aclimatização de *A. andraeanum* 'Eidibel' promoveu o melhor desenvolvimento das mudas (STANCATO; SILVEIRA, 2010). Entretanto, a literatura carece de informações sobre a utilização desses fertilizantes na aclimatização de mudas micropropagadas na espécie *A. maricense*.

As such, the present study evaluated the effects of doses of Osmocote® (NPK 15:9:12) on the development of micropropagated plantlets of *A. maricense* during the acclimatization stage.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried in a screenhouse of Embrapa Agroindústria Tropical, located in the city of Fortaleza, Ceará, Brazil (3°44' S, 38°33' W, at an altitude of 19.5 m). The screenhouse, in the form of an arch, in addition to an external covering of black screen offering 80% shade, had a transparent plastic cover in the top. Inside, were a set of metal benches, an automated irrigation system and an Opus 20 THI datalogger.

The four metal benches were arranged in a single row, of approximately 1.2 x 1.0 x 0.8 m in width, length and height respectively. The upper part was constructed of steel screens with a 15 x 15 mm mesh, to which the pots were fixed with nylon clamps.

A surface drip irrigation system was used, at an irrigation depth of 100% of the water retention capacity (WRC) split into two daily irrigations, one in the morning (07:30) and the other in the afternoon (14:00). Self-compensating drippers with a flow rate of 2 L h⁻¹ were employed, connected to manifolds with four exits, each feeding one pot. The distribution uniformity coefficient (DUC) of the system was measured as 92.34%. The WRC was calculated as per the procedure adopted by Embrapa Agroindústria Tropical, based on the saturated weight (48 h in an ascending water flow) and dry weight (48 h in an oven at 65 °C) of the substrate.

Throughout the experiment, climate data of the temperature and air humidity inside the screenhouse were recorded every 10 min, using an Opus 20 THI datalogger.

Micropropagated anthurium (*Anthurium maricense*) plantlets were used; these came from *in vitro* seed germination and were multiplied through direct organogenesis from nodal segments. The plantlets were transplanted to trays of 50 cells containing HS Flores® commercial substrate, and kept in a pre-acclimatization chamber at 25 °C (the same temperature used during the *in vitro* micropropagation). Table 1 shows the physical-hydrological and chemical analysis of the HS Flores® substrate used during the acclimatization stage of the micropropagated plantlets. After 30 days in the pre-acclimatization chamber, the plantlets were transplanted to pots containing a substrate composed of a mixture of Osmocote® with HS Flores®, with the proportion depending on the treatment.

Dessa forma, o presente estudo avaliou o efeito de doses de Osmocote® (NPK 15:9:12) sobre o desenvolvimento de mudas micropropagadas de *A. maricense* na fase de aclimatização.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em telado da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada no município de Fortaleza, Ceará, Brasil (3° 44' S, 38° 33' W e 19,5 m). O telado, em formato de arco, além de ser externamente revestido por uma tela preta com 80% de sombreamento, possuía uma cobertura plástica transparente na parte superior. Internamente, apresentava um conjunto de bancadas metálicas, sistema de irrigação automatizado e um datalogger Opus 20 THI.

As bancadas, no total de quatro, eram metálicas e foram dispostas em fileira única com dimensões aproximadas de 1,2 x 1,0 x 0,8 m, para largura, comprimento e altura, respectivamente. A parte de cima era construída em telas de aço com malha de 15 x 15 mm, onde os vasos foram fixados com abraçadeiras de nylon.

O sistema de irrigação adotado foi do tipo gotejamento superficial, com lâmina de irrigação correspondente a 100% da capacidade de retenção de água (CRA), aplicada de forma dividida em duas regas diárias, uma pela manhã (7:30 h) e outra pela tarde (14:00 h). Os gotejadores utilizados eram autocompensantes com vazão de 2 L h⁻¹ conectados a *manifolds* de quatro saídas, cada um alimentava um vaso. Foi mensurado o coeficiente de uniformidade de distribuição (CUD) do sistema, sendo de 92,34%. O cálculo da CRA foi realizado conforme procedimento adotado pela Embrapa Agroindústria Tropical, com base na massa saturada (em fluxo de água ascendente por 48 h) e seca (em estufa a 65 °C por 48 h) do substrato.

Durante todo o experimento, dados climáticos de temperatura e umidade do ar dentro do telado foram registrados, a cada 10 min, utilizando o datalogger Opus 20 THI.

Foram utilizadas mudas micropropagadas de antúrio (*Anthurium maricense*), oriundas da germinação *in vitro* de sementes e multiplicadas a partir de segmentos nodais, por meio da organogênese direta. Essas mudas foram transplantadas para bandejas de 50 células, contendo substrato comercial HS Flores® e mantidas em sala de pré-aclimatização, na temperatura de 25 °C (mesma temperatura utilizada durante a micropropagação *in vitro*). Na Tabela 1, são apresentadas as análises físico-hídrica e química do substrato HS Flores®, utilizado na fase de aclimatização de mudas micropropagadas. Aos 30 dias na sala de pré-aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos que continham substrato composto da mistura de Osmocote® com o HS Flores®, em proporções conforme os tratamentos utilizados.

Table 1 - Physical-hydrological and chemical analysis of the HS Flores® substrate used during the acclimatization stage of the micropropagated plantlets of *Anthurium maricense***Tabela 1** - Análises físico-hídrica e química do substrato HS Flores® utilizado na fase de aclimatização de mudas micropropagadas de *Anthurium maricense*

Physical-hydrological analysis	Granulometric fraction									TI	M	WRC	MD	DD
	> 16	8-16	4-8	2-4	1-2	0.5-1	0.25-0.5	0.125-0.25	<0.125					
	----- % -----													---- kg m ⁻³ ----
	0.0	11.8	15.6	13.7	12.3	13.8	16.8	10.8	5.2	53.5	39.2	72.1	775.7	471.7
Chemical analysis	pH	EC	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	P	S-SO ₄ ²⁻	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃	Cl ⁻	CEC	Org. C	Total-N
		dS m ⁻¹	----- mg L ⁻¹ -----										mmol _c kg ⁻¹	----- g kg ⁻¹ ----
	6.3	2.8	1872.7	615.3	199.0	236.3	12.7	522.7	6.0	570.3	939.3	309.3	426.7	6.6

Granulometric fractions (gravimetric method); TI – soil thickness index; M - real humidity; WRC - water retention capacity; MD - moist density; DD - dry density; EC - electrical conductivity, CEC - cation exchange capacity, Org.C - organic carbon.

Frações granulométricas (método gravimétrico); IG - índice de grossura; U - umidade atual; CRA - capacidade de retenção de água; DU - densidade úmida; DS - densidade seca; CE - condutividade elétrica, CTC - capacidade de troca catiônica, C. org - carbono orgânico.

The experimental design was completely randomised, comprising five treatments and four replications of four plants per plot. The treatments consisted of doses of 0.0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 kg cm⁻³ of Osmocote® mixed with HS Flores® commercial substrate, and were applied before the plantlets were transplanted to the pots.

The pots had a capacity of 415 mL and were black in colour, with a height and upper and lower diameters of 7.8 x 10.2 x 7.8 cm respectively.

The slow-release fertiliser (SRF) used was Osmocote® (NPK 15: 9: 12), manufactured by Everris NA Inc, which lasts from 3 to 4 months due to the use of a thermosensitive membrane to coat the granules.

The screenhouse was cleaned every two weeks and the pots every three days, so as to reduce interference from weeds growing both below the benches and in the pots. In addition, the presence of dead leaves was checked daily, and they were removed if found. During the experiment, it was not necessary to apply any herbicides, fungicides or nutrient solutions.

After planting the plantlets in the pots, the following variables were evaluated every 15 days for three months: variation in plant height, variation in number of leaves, variation in the area of the largest leaf, pot occupancy, net photosynthetic rate, internal carbon, and leaf temperature and moisture.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e quatro repetições de quatro plantas por parcela. Os tratamentos consistiram nas doses de 0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 kg cm⁻³ de Osmocote®, em mistura com substrato comercial HS Flores®, aplicadas antes do transplante das mudas para os vasos de cultivo.

Os vasos tinham capacidade de 415 mL (NP 11) e eram de cor preta com dimensões de 7,8 x 10,2 x 7,8 cm, de altura e diâmetros superior e inferior, respectivamente.

O fertilizante de liberação lenta (FLL) utilizado foi o Osmocote® (NPK 15:9:12), do fabricante Everris NA Inc, com liberação lenta de 3 a 4 meses, em razão do emprego de membrana termossensível para revestimento dos grânulos.

Como tratamentos culturais, quinzenalmente, as áreas do telado e, a cada três dias, as dos vasos eram limpas a fim de mitigar a interferência das plantas daninhas que cresciam tanto abaixo das bancadas quanto nos vasos. Além disso, diariamente, era verificada a presença de folhas mortas e, havendo, elas eram retiradas. Durante a condução do experimento, não foram necessárias aplicações de herbicidas, fungicidas ou de soluções nutritivas.

Após o plantio das mudas nos vasos, a cada 15 dias, durante três meses, foram avaliadas as seguintes variáveis: variação da altura da planta, variação do número de folhas, variação da área da maior folha, ocupação de vaso, taxa fotossintética líquida, carbono interno, temperatura e umidade da folha.

Plant height was measured in mm by means of a graduated ruler. The number of leaves was obtained by counting manually. The area of the largest leaf was estimated in cm² by measuring the width and length of the leaf using a graduated rule, as per the methodology of Dufour and Guérin (2003). The variations in plant height, number of leaves and area of the largest leaf were estimated from the difference between the values recorded at the start (2 August 2016) and end (30 October 2016) of the acclimatization period of the micropropagated plantlets in the pots.

Pot occupancy was calculated as a percentage by means of the Artificial Neural Network Segmentation (ANNS) software, using photographic records from the beginning and end of the acclimatization period of the micropropagated plantlets in the pots.

The net photosynthetic rate, internal carbon, and leaf temperature and moisture, measured in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $\mu\text{mol mol}^{-1}$, °C and % respectively, were recorded every 30 days and, differently to the morphological characteristics, which were carried out during daytime (08:00 to 17:00), the physiological analysis was always performed in the morning (from 08:00 to 11:00) using an ADC LCPro+ photosynthesis meter (IRGA) from ADC BioScientific Ltd. A clamp with a circular analysis area of 0.5 cm² was used with the meter, as well as the model PLU-PSU-002 external light source, again from ADC BioScientific Ltd.

The data of all the variables were submitted to analysis of variance by F-test at 5% significance and, when significant, regression analysis was carried out in the case of a significant effect from the dose. The choice of model selected for each variable was based on the significance of the parameters and on the values for R². The F-test was used to test the regression coefficients at the same level of probability.

The SISVAR v. 5.3 statistical software was used to analyse the data (FERREIRA, 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

During acclimatization, the data for mean temperature (28.8 °C) and relative humidity (66.4%) were within the range recommended for the production stage of micropropagated anthurium plantlets (13 °C to 30 °C and 50% to 90%) by Nomura *et al.* (2012).

The doses of Osmocote® had a significant influence on the following variables only: variation in plant height (VPH), variation in number of leaves (VNL), variation in the area of the largest leaf (VALL), and pot occupancy (PO), which showed a quadratic response (Figure 1). The photosynthetic rate (A), internal carbon content (C_i), leaf temperature (T_l) and leaf moisture (M_l) had mean values of 0.51 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 353.80 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, 33.58 °C and 68.41% respectively, showing no significant difference between the doses of SRF used.

A altura da planta foi mensurada em mm por meio de uma régua graduada. O número de folhas foi obtido pela contagem manual das folhas. A área da maior folha foi estimada em cm², via medição da largura e comprimento da folha por régua graduada, conforme a metodologia de Dufour e Guérin (2003). As variações da altura da planta, do número de folhas e da área da maior folha foram estimadas pela diferença entre os valores registrados no início (02 de agosto de 2016) e no fim (30 de outubro de 2016) da aclimatização das mudas micropropagadas nos vasos.

A ocupação do vaso foi calculada em porcentagem, por meio do programa de Segmentação Via Rede Neural Artificial (SVRNA), através de registros fotográficos realizados no início e no fim da aclimatização das mudas micropropagadas nos vasos.

A taxa fotossintética líquida, o carbono interno e a temperatura e umidade da folha, mensurados em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $\mu\text{mol mol}^{-1}$, °C e %, respectivamente, foram registradas a cada 30 dias, e diferente das características morfológicas, que foram realizadas no período diurno (08h00min as 17h00min), as análises fisiológicas foram efetuadas sempre pela manhã (das 08h00min às 11h00min), empregando medidor de fotossíntese (IRGA) da ADC BioScientific Ltd., modelo ADC LCPro+. Nesse medidor, foi utilizada uma pinça com área de análise circular de 0,5 cm², além de uma unidade para fonte externa de radiação luminosa da ADC BioScientific Ltd., modelo PLU-PSU-002.

Os dados das variáveis foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de significância e, quando significativos, realizou-se a análise de regressão nos casos de efeito significativo das doses. A escolha do modelo selecionado para cada variável baseou-se na significância dos parâmetros e nos valores do R². O teste “F” foi utilizado para testar os coeficientes da regressão no mesmo nível de probabilidade.

Empregou-se para análise dos dados o programa estatístico SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a aclimatização, os dados médios de temperatura (28,8 °C) e umidade relativa do ar (66,4%) estavam dentro do intervalo recomendado para fase da produção de mudas micropropagadas de antúrio (13 °C a 30 °C e 50% a 90%), segundo Nomura *et al.* (2012).

As doses de Osmocote® influenciaram significativamente apenas as seguintes variáveis: variação da altura da planta (VAP), variação do número de folhas (VNF), variação da área da maior folha (VAMF), e ocupação de vaso (OV), as quais apresentaram resposta quadrática (Figura 1). A taxa fotossintética (A), o teor de carbono interno (C_i), a temperatura foliar (T_f) e a umidade da folha (U_f) apresentaram médias de 0,51 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 353,80 $\mu\text{mol mol}^{-1}$; 33,58 °C e 68,41%, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre as doses do FLL utilizadas.

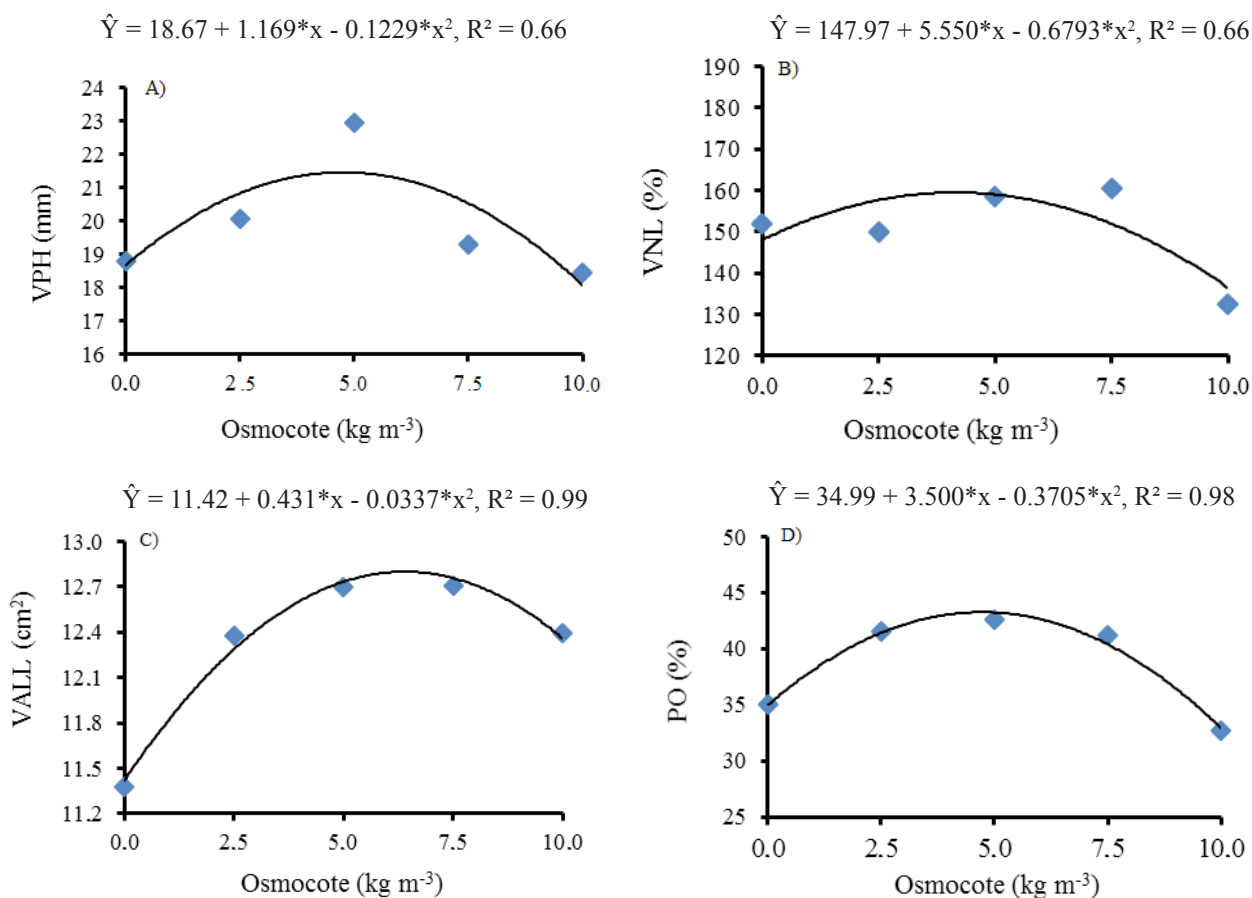


Figure 1 - Doses of Osmocote® on the variation in plant height - VPH (A), variation in the number of leaves - VNL (B), variation in the area of the largest leaf - VALL (C), and pot occupancy - PO (D) in micropropagated plantlets of *Anthurium maricense*, during the acclimatization stage.

*5% significance by Student's t-test.

Figura 1 - Doses de Osmocote® na variação da altura da planta - VAP (A); variação da área da maior folha - VAMF (B); variação do número de folhas - VNF (C) e ocupação de vaso - OV (D), de mudas micropropagadas de *Anthurium maricense*, durante a fase de aclimação.

* 5% de significância pelo teste t de Student.

The similarity of the physiological variables (A, C_p, T_L and M_L) demonstrated that the nutrients, as well as the abiotic factors (i.e. light, CO₂, temperature and moisture), were not limiting to crop development, possibly indicating that the species under study is well adapted to such environmental conditions. This is because, despite the morphological characteristics (VPH, VNL, VALL and PO) showing significant variation for the doses of Osmocote®, the stress of low or excess fertilisation, under the conditions being analysed, did not impair development, but resulted in less growth, which is of no interest in commercial production.

The greatest variation in plant height (21.45 mm) was estimated at the inflection point for the 4.76 kg m⁻³ dose of Osmocote®, exceeding by 13% and 19% the estimated maximum values for the lowest and highest doses of Osmocote® application respectively (Figure 1A). Therefore, both higher and lower doses than that for maximum technical efficiency had a lower effect on this response variable.

A similaridade das variáveis fisiológicas (A, C_p, T_L e U_p) elucidada que os nutrientes, bem como os fatores abióticos (i.e. luz, CO₂, temperatura e umidade), não foram limitantes para o desenvolvimento da cultura, indicando, possivelmente, que a espécie estudada é bem adaptada a tais condições do ambiente. Isto porque, embora as características morfológicas (VAP, VNF, VAMF e OV) tenham apresentado variações significativas com as doses Osmocote®, as situações de estresse, baixa ou excedente adubação, nas condições analisadas, não inviabilizaram o desenvolvimento, apenas promoveram menor crescimento, o que não é de interesse para produção comercial.

A maior variação da altura da planta (21,45 mm) foi estimada no ponto de inflexão com a dose de Osmocote® de 4,76 kg m⁻³, superando em 13% e 19% os valores estimados como máximos para a menor dose e a maior dose de aplicação de Osmocote®, respectivamente (Figura 1A). Portanto, doses maiores e menores que a de máxima eficiência técnica produziram efeito inferior sobre essa variável resposta.

Similar results were obtained by Pias *et al.* (2013), when analysing doses of Osmocote® in the production of seedlings of *Apuleia leiocarpa*. The authors found a point of maximum technical efficiency for height increase at 60 and 90 days after the seedlings were transplanted, with a dose of 7.94 and 7.73 kg m⁻³ respectively. Whereas, Dutra *et al.* (2016), evaluating the growth and quality of seedlings of *Peltophorum dubium*, in response to the application of different doses (0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 g cm⁻³) and formulations of Osmocote® (NPK 15:9:12 and 19:6:10), found that doses between 5.4 and 8.2 g dm⁻³ gave the best results. However, Ferrari *et al.* (2016), analysing the influence of different doses (0, 3, 6, 9 and 12 kg m⁻³) of SRF (Osmocote®) on seedlings of *Tabernaemontana catharinensis*, found they adjusted to the cubic regression model, with a positive effect on increases in plant height between concentrations of from 3 to 6 kg m⁻³.

The reduction in plant height after a given dose of fertiliser may be related to an excess of nutrients and increased salinity (SILVA, 2014). According to Mahajan and Tuteja (2005), one of the most common effects of salinity on plants is a reduction in growth, since the increase in salt concentration in the substrate reduces the water potential, resulting in less water availability in the root zone and compromising the absorption of nutrients. In addition, excess salinity may cause morphological, physiological and biochemical changes due to the ionic effect, resulting in the accumulation of toxic ions in the protoplasm, promoting ionic imbalance, metabolic and nutritional disorders, and causing a reduction in plant growth (CONCEIÇÃO, 2015).

Freitas *et al.* (2011), evaluated substrates (1 - surface soil, 2 - a compost of sugarcane bagasse and filter cake, and 3 - a substrate composed of soil + sand + Plantmax®) and Osmocote® (NPK 14:14:14) on the development of micropropagated plantlets of the pineapple 'Vitória'. These authors also found that the addition of Osmocote®, at a dose of 13.0 g per plant, gave an increase in plant height, and that higher doses can lead to chemical changes in the substrate and impair plant development.

The maximum variation in number of leaves (159.5%) was estimated at the inflection point for the 4.15 kg m⁻³ dose of Osmocote®, exceeding by 7% and 14% the estimated maximum values for the lowest and the highest doses of Osmocote® application respectively (Figure 1B).

Several authors, studying the initial stage of development in other crops, also found a quadratic pattern of variation for this variable, when they tested increasing doses of the same fertiliser (FREITAS *et al.*, 2011). This pattern of variation suggests that low doses of Osmocote® do not provide nutrients in sufficient quantity for optimal plant development, whereas at higher doses the crop shows signs of sensitivity to the excess of nutrients.

Resultados semelhantes foram obtidos por Pias *et al.* (2013), analisando doses de Osmocote® na produção de mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa*), cultivadas via sementes. Os autores observaram ponto de máxima eficiência técnica para o incremento em altura, aos 60 e 90 dias após o transplantio das mudas, com a dose de 7,94 e 7,73 kg m⁻³, respectivamente. Já Dutra *et al.* (2016), avaliando o crescimento e a qualidade de mudas de canafistula (*Peltophorum dubium*), cultivadas a partir de sementes, em resposta à aplicação de diferentes doses (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 g cm³) e formulações (NPK 15:9:12 e 19:6:10) de Osmocote®, observaram que doses entre 5,4 a 8,2 g dm⁻³ promoveram os melhores resultados. Todavia, Ferrari *et al.* (2016), analisando a influência de doses (0; 3; 6; 9 e 12 kg m⁻³) de FLL (Osmocote®) em mudas de jasmim-catavento (*Tabernaemontana catharinensis*), cultivadas via sementes, verificaram adequação ao modelo cúbico de regressão, com efeito positivo no incremento da altura da planta entre as concentrações de 3 a 6 kg m⁻³.

A redução da altura da planta após determinada dose de fertilizante pode estar relacionada ao excesso de nutrientes e aumento da salinidade (SILVA, 2014). Segundo Mahajan e Tuteja (2005), um dos efeitos mais comuns da salinidade nas plantas é a diminuição no crescimento, visto que o aumento da concentração de sais no substrato reduz o potencial hídrico, acarretando menor disponibilidade de água na zona radicular e comprometendo a absorção de nutrientes. Além disso, o excesso salino pode ocasionar alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas em virtude do efeito iônico, resultando no acúmulo de íons tóxicos no protoplasma, promovendo desbalanço iônico, desordens metabólicas e nutricionais e ocasionando redução no crescimento vegetal (CONCEIÇÃO, 2015).

Freitas *et al.* (2011), avaliaram substratos (1 - solo de superfície; 2 - compostagem de bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro, 3 - substrato composto de solo + areia + Plantmax®) e Osmocote® (NPK 14:14:14) no desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Vitória. Esses autores, também constataram que a adição de Osmocote®, na dose de 13,0 g por planta, proporcionou acréscimos na altura da planta, e que doses superiores podem acarretar mudanças químicas nos substratos e prejudicar o desenvolvimento das plantas.

A maximização da variação do número de folhas (159,5%) foi estimada no ponto de inflexão com a dose de 4,15 kg m⁻³ de Osmocote®, superando em 7% e 14% os valores estimados como máximos para a menor dose e a maior dose de aplicação de Osmocote®, respectivamente (Figura 1B).

Diversos autores, estudando o estágio inicial de desenvolvimento, em outras culturas, também constataram o padrão de variação quadrático dessa variável, quando testaram doses crescentes do mesmo adubo (FREITAS *et al.*, 2011). Esse padrão de variação sugere que doses baixas de Osmocote não fornecem nutrientes em quantidades suficientes para o desenvolvimento ótimo da planta, porém, em doses mais elevadas, a cultura apresenta indício de sensibilidade ao excesso de nutrientes.

The greatest variation in the area of the largest leaf (12.8 cm²) was estimated at the maximum point for the 6.4 kg m⁻³ dose of Osmocote®, exceeding by 11% and 3% the estimated maximum values for the lowest and highest doses of Osmocote® application respectively (Figure 1C). The variation in the area of the largest leaf is an important parameter for plant development (SCHMILDT *et al.*, 2016), and as such, was considered the variable having the greatest impact at the end of the experiment.

The lowest values for variation in leaf area, obtained at the highest doses of SRF, are possibly related to an increase in electrical conductivity (EC), since the leaves are the most sensitive organs to these variations. Melo Júnior *et al.* (2015), analysing the influence of doses of the SRF, Osmocote® (NPK 15:9:12), on electrical conductivity, verified that EC was greatest at the highest doses of SRF. Probably, therefore, the higher doses of Osmocote® may have caused an excess of salinity in the substrate, reducing this variable in the anthurium plantlets.

Furthermore, excess fertiliser can cause changes in soil pH, interfering with the availability of zinc, copper, manganese, iron and boron, leading to nutritional deficiency in the crop (SCHLOSSER *et al.*, 2012), or even favouring the excessive solubilisation of such elements as aluminium, and turning the substrate toxic to plantlets development (FREITAS *et al.*, 2011).

Plants used in gardens, landscaping and potting should have a high capacity for ground cover (SOUZA *et al.*, 2013). The highest variation in pot occupancy (43.3%) was estimated at the maximum point with the dose of 4.72 kg m⁻³ of Osmocote®, exceeding by 19% and 24% the estimated maximum values for the lowest and highest doses of Osmocote® application respectively (Figure 1D). Pot occupancy is not a commonly evaluated feature in research with ornamental plants. However, it can be a practice of great aesthetic importance for these crops.

Elli *et al.* (2013), analysing the influence of Osmocote® on the development and physiological behaviour of seedlings of the pitanga, concluded that the level of fertilisation may compromise their quality and initial development. However, in the acclimatization of *Anthurium maricense*, the dose of SRF showed no statistical differences for any of the physiological characteristics under analysis.

CONCLUSIONS

The use of SRF resulted in better development of the micropropagated plantlets of *A. maricense* during the acclimatization stage;

Considering that the commercial interest of the species under study is the foliage, the variation in the area of the largest leaf is the most important of the analysed variables, and was at its maximum value with an estimated dose of 6.40 kg m⁻³ of Osmocote®, which should be used when acclimatizing the micropropagated plantlets of this ornamental species.

A maior variação da área da maior folha (12,8 cm²) foi estimada no ponto de máximo com a dose de 6,4 kg m⁻³ de Osmocote®, superando em 11 e 3% os valores estimados como máximos para a menor dose e a maior dose de aplicação de Osmocote®, respectivamente (Figura 1C). A variação da área da maior folha é um parâmetro importante para o desenvolvimento vegetal (SCHMILDT *et al.*, 2016), sendo assim, foi considerada a variável de maior impacto na conclusão do experimento.

Os menores valores da variação da área foliar, obtidos com as doses mais elevadas do FLL, estão, possivelmente, relacionados ao aumento da condutividade elétrica (CE), já que as folhas são os órgãos mais sensíveis a essas variações. Melo Júnior *et al.* (2015), analisando a influência das doses de FLL Osmocote® (NPK 15:9:12) na condutividade elétrica, constataram que a CE foi maior nas maiores doses de FLL. Assim, provavelmente, as doses mais elevadas de Osmocote® podem ter causado excesso salino no substrato, reduzindo essa variável nas mudas de antúrio.

Além disso, o excesso de fertilizantes pode causar alterações no pH do solo, interferindo na disponibilidade de zinco, cobre, manganês, ferro e boro, e acarretando deficiência nutricional na cultura (SCHLOSSER *et al.*, 2012), ou mesmo favorecendo a solubilização excessiva de elementos, tais como o alumínio, e tornando o substrato tóxico ao desenvolvimento das mudas (FREITAS *et al.*, 2011).

Plantas utilizadas em jardins, paisagismo e em vaso devem possuir elevada capacidade de cobertura do solo (SOUZA *et al.*, 2013). A maior ocupação do vaso (43,3%) foi estimada no ponto de máximo com a dose de Osmocote® de 4,72 kg m⁻³, superando em 19% e 24% os valores estimados como máximos para a menor dose e a maior dose de aplicação de Osmocote®, respectivamente (Figura 1D). A ocupação de vaso não é uma característica comumente avaliada em trabalhos de pesquisa com plantas ornamentais. Contudo, pode ser uma prática de grande importância estética para tais culturas.

Elli *et al.* (2013), analisando a influência do Osmocote® no desenvolvimento e comportamento fisiológico de mudas de pitangueira, cultivadas a partir de sementes, concluíram que o nível de adubação pode comprometer a qualidade e o desenvolvimento inicial delas. Contudo, para a aclimatização de *Anthurium maricense*, as doses de FLL não apresentaram diferenças estatísticas em nenhuma das características fisiológicas analisadas.

CONCLUSÕES

O uso de FLL promoveu melhor desenvolvimento das mudas micropropagadas de *A. maricense* na fase de aclimatização;

Considerando que o interesse comercial da espécie estudada é a folhagem, dessa forma, entre as variáveis analisadas, a variação da área da maior folha é a mais importante, sendo maximizada com a dose de Osmocote® estimada em 6,40 kg m⁻³, que deve ser utilizada na aclimatização das mudas micropropagadas dessa espécie ornamental.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Embrapa Agroindústria Tropical for the infrastructure and financial support. Thanks also go to CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) for the grant of a research scholarship.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Agroindústria Tropical, pela infraestrutura e apoio financeiro, e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de pesquisa.

CITED SCIENTIFIC LITERATURE

- 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.
- CONCEIÇÃO, S. S. **Aclimação de plantas de girassol à salinidade induzida por silício**. 2015. 83 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- DESAI, C.; INGHALIHALLI, R.; KRISHNAMURTHY, R. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* - an important tool in floriculture. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 4, n. 3, p. 112-117, 2015.
- DINALLI, R. P.; CASTILHO, R. M. M.; GAZOLA, R. N. Utilização de adubos de liberação lenta na produção de mudas de *Vigna radiata* L. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 21, n. 1, p. 10-15, 2012.
- DUFOUR, L.; GUÉRIN, V. Growth, developmental features and flower production of *Anthurium andreanum* Lind. in tropical conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 98, p. 25-35, 2003.
- DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; SARMENTO, M. F. Q. Fertilizante de liberação lenta no crescimento e qualidade de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium*). **Floresta**, v. 46, n. 4, p. 491-498, 2016.
- ELLI, E. F.; CANTARELLI, E. B.; CARON, B. O.; MONTEIRO, G. C.; PAVAN, M. A.; PEDRASSANI, M.; ELOY, E. Osmocote® no desenvolvimento e comportamento fisiológico de mudas de pitangueira. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 4, p. 377-384, 2013.
- FERRARI, M.; CANTARELLI, E. B.; SOUZA, V. Q.; NARDINO, M.; CARVALHO, I. R.; PELEGRIN, A. J.; SZARESKI, V. J.; PELISSARI, G. Influência de fertilizante de liberação controlada em mudas de *Tabernaemontana catharinensis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 35, n. 88, p. 543-547, 2016.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FREITAS, S. J.; CARVALHO, A. J. C.; BERILLI, S. S.; SANTOS, P. C.; MARINHO, C. S. Substrato e osmocote na nutrição e desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Vitória. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. E, p. 672-679, 2011.
- GANTAIT, S.; MANDAL, N. Tissue culture of *Anthurium andreanum*: a significant review and future prospective. **International Journal of Botany**, v. 6, n. 3, p. 207-219, 2010.
- GIRARDI, C. G.; PESCADOR, R. Aclimatização de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a relação com carboidratos endógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, p. 62-72, 2010.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLOR. O mercado de flores no Brasil. Informativo Ibraflor, 2017. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/site/wp-content/uploads/2017/11/release-imprensa-ibraflor-10-2017.pdf>>, Acesso em: 05 de fevereiro de 2018.
- LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; RESENDE, S. V.; CARNEIRO, C. E.; SANTANA, J. R. F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização de microplantas de *Comanthera mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 152-161, 2016.
- MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 444, p. 139-158, 2005.
- MAIRA, O.; ALEXANDER, M.; VARGAS, T. E. Micropropagation and organogenesis of *Anthurium andreanum* Lind cv Rubrun. In: JAIN, S.M.; OCHATT, S.J. (Ed.). **Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants, Methods in Molecular Biology**. Totowa, New Jersey: Humana Press Edition, 2010. p. 3-14.

- MORAIS, E. B.; CASTRO, A. C. R.; ARAGÃO, F. A. S.; SILVA, T. F.; SOARES, N. S.; SILVA, J. P. Evaluation of potential use of native anthurium foliage. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 07-14, 2017.
- NOMURA, E. S.; FUZITANI, E. J.; DAMATTO JÚNIOR, E. R. Cultivo do antúrio. **Revista Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 9, 2012.
- OLIVEIRA, Y.; ANSELMINI, J. I.; CUQUEL, F. L.; PINTO, F.; QUOIRIN, M. Pré-aclimatização in vitro de abacaxi ornamental. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, Edição especial, p. 1647-1653, 2010.
- PELIZZA, T. R.; DAMIANI, C. R.; RUFATO, A. R.; AFFONSO, L. B.; HAWERROTH, F. J.; SCHUCH, M. W. Acclimatização e crescimento de plântulas de mirtilheiro 'Climax' micropropagadas em função do substrato e da cobertura plástica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 898-905, 2011.
- PIAS, O. H. C.; CANTARELLI, E. B.; BERGHETTI, J. MESCHEWITZ, R.; KLUGE, E. R.; SOMAVILLA, L. Doses de fertilizantes de liberação controlada no índice de clorofila e na produção de mudas de grábia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 73, p. 19-26, 2013.
- PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; CARVALHO, A. C. P. P. de; BARROS, L. de M. Micropropagação de antúrio 'IAC Eidibel' por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 133-142, 2009.
- POLACK, S. W. **Produção em diferentes adubações e substratos e pós-colheita de antúrio de corte**. 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 97 p.
- ROCHA, E. L. J.; AZEVEDO, B. M.; MARINHO, A. B.; CARVALHO, A. C. P. P.; VASCONCELOS, D. V.; VIANA, T. V. A. Acclimatização de mudas de helicônia em ambientes protegido em função do tipo de recipiente e do volume do substrato. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 15, n. 2, p. 159-163, 2009.
- ROZALI, S. E.; RASHID, K. A. Evaluation of efficient method for acclimatization of an important ornamental rhizomatic plant, *Calathea crotalifera*. **Malaysia Applied Biology Journal**, v. 44, n. 3, p. 17-24, 2015.
- SCHMILDT, E. R.; OLIARI, L. S.; SCHMILDT, O.; ALEXANDRE, R. S.; BRUMATTI, J. A.; VIANA, D. G. Determinação da área foliar de macadâmia a partir de dimensões lineares do limbo foliar. **Agro@ambiente On-line**, v. 10, n. 3, p. 209-216, 2016.
- SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAUILINO, A. C. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1563-1578, 2012.
- SILVA, A. O. A fertirrigação e o processo de salinização de solos em ambiente protegido. **Nativa**, v. 2, n. 3, p. 180-186, 2014.
- SOUZA, G. R. B.; CASTRO, A. C. R.; ALBUQUERQUE, A. C.; CASTRO, C. E. F.; LOGES, V. Multiple ornamental uses of *Costus stenophyllus* Standl. & LO Williams. **Acta Horticulturae**, v. 1002, p. 427-430, 2013.
- STANCATO, G. E.; SILVEIRA, A. P. D. Micorrização e adubação de mudas micropropagadas de antúrio, cv. Eidibel: crescimento e acclimatização ex vitro. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 957-963, 2010.