



Propagation of Brazil nut (*Humb. y Bonpl*) seedlings using seeds in mini-greenhouses

Propagação de mudas de castanha-do-brasil (Humb. E Bonpl) por sementes em micro estufas

Edagar Cusi-Auca^{1*}, Luiz Fernandes Silva Dionisio², Ricardo Manuel Bardales-Lozano³, Gustavo Schwartz⁴

Abstract: The species *Bertholletia excelsa* H.B.K., the Brazil nut, is an Amazonian species belonging to the family Lecythidaceae. It has great economic value. One of the principle means of *B. excelsa* propagation is via sexual reproduction (seeds), but the presence of dormancy makes it difficult to produce seedlings, mainly due to the long germination period, and uncertainties regarding timing. The purpose of the current study was to describe a technology that allows the development, in mini-greenhouses, of all processes involved in Brazil nut seedling propagation. The study evaluated response of *B. excelsa* seedlings to different substrates in mini- greenhouses at the scarification, germination and growth stages. Germination counts were first was performed five days after sowing, and ended at 40 days, when no further germination was observed. Subsequently, germination percentages of normal and abnormal seedlings, dormant and dead seeds were calculated. Sawdust and forest soil substrates provided a shorter husk removal time, while forest soil substrate had the highest percentage of healthy seeds. Germination rates for *B. excelsa* seed in mini-greenhouses were not affected by substrate type. The substrates sand and sand+sawdust showed highest *B. excelsa* seedling development.

Key words: *Bertholletia excelsa* seed germination. Seed scarification. *Bertholletia excelsa* seedlings production.

Resumo: A espécie *Bertholletia excelsa* H.B.K., castanha-do-brasil, é uma espécie amazônica pertencente à família Lecythidaceae, com grande valor econômico. Uma das principais formas de propagação da *B. excelsa* é a sexual, porém, a presença de dormência dificulta a produção de mudas, principalmente, pela desigualdade e longo período de germinação. O propósito deste trabalho é descrever uma tecnologia que permita desenvolver, em micro estufas, todos os processos envolvidos na propagação de mudas de castanha-do-brasil. Nesse estudo, foi avaliada a resposta de diferentes substratos nas fases de escarificação, germinação e crescimento de plântulas de *B. excelsa*. A primeira contagem de germinação foi realizada cinco dias após a sementeira, terminando aos 40 dias, quando a germinação não era mais observada. Posteriormente, foram calculadas as porcentagens de germinação das plântulas normais e anormais, sementes dormentes e mortas. Os substratos de serragem e solo florestal proporcionaram menor tempo de remoção da casca, e o substrato solo de floresta apresentou maior porcentagem de sementes sadias. A germinação de sementes de *B. excelsa* em micro estufas não foi afetada pelos substratos. Os substratos areia e areia + serragem proporcionaram maior desenvolvimento de mudas de *B. excelsa*.

Palavras-chave: Germinação de sementes de *Bertholletia excelsa*. Escarificação de sementes. Produção de mudas de *Bertholletia excelsa*

*Corresponding author

Submitted for publication on 19/09/2018 and approved 03/12/2018

¹Researcher MSc. Forestry Engineer. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – IIAP, Jr. Ica 1662, Puerto Maldonado, Peru. ecusi@iiap.org.pe

²Researcher Dr. Forest Sciences, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, fernandesluiz03@gmail.com

³Researcher Dr. Agronomist. Empresa Palmas del Espino S.A, Madre de Dios, Peru. rbardaleslozano@gmail.com

⁴Researcher Dr. Biologist. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. gustavo.embrapa@gmail.com

INTRODUCTION

Bertholletia excelsa Humb and Bonpl (Lecythidaceae), the Brazil nut, is a species of great economic importance in Amazonia (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017). The nuts are one of the main non-timber forest products (NTFPs) in the region, and promote the food security of many families living in rural Bolivia, Brazil and Peru (CORVERA-GOMRINGER, AUCA, 2012; SALOMÃO, 2014; GUARIGUATA *et al.*, 2017).

As a result of exploitation pressure on *B. excelsa*, and habitat fragmentation due to deforestation of sites where the species occurs naturally (SUJII *et al.*, 2015), studies of seedling production to support reforestation, management and conservation programs have become extremely important.

Production of forest species seedlings is one of the most important activities in forest plantation installation, since low seedling quality can compromise the success of subsequent populations. Most projects involving degraded area recovery, commercial reforestation, conservation and exploitation of native forest species depend on the availability of high quality seedlings (DIONISIO *et al.*, 2017; MARQUES *et al.*, 2018).

Propagation of *B. excelsa* generally involves sexually-derived seeds. Germination in *B. excelsa* is slow, uneven and often at low percentages, even under favorable conditions. This is because seeds have a woody integument that covers them completely, and which often results in extended dormancy. The presence of dormancy in forest species can substantially reduce seedling production rates, mainly because their germination is non-uniform and can occur over extended periods (COELHO *et al.*, 2010). Consequently, under managed conditions, the integument is generally scarified to encourage germination.

Germination is a key stage that can be influenced by silvicultural propagation methods. When producing forest species seedlings for reforestation, it is essential to study techniques that enhance seed germination and produce quality seedlings at the lowest cost.

Morphological and physiological quality of plants prior to final planting depend on seed origin, production methods and substrates used, deployed management, environmental conditions of production, equipment and nursery structures (CARON *et al.*, 2010). A quality seedling should have characteristics that provide a high chance of survival and rapid initial growth in the field. The morphological parameters most used in determining indexes of seedling quality often rely on an intuitive understanding on the part of nurserymen involved. However, for such indices to attain the desired minimum values for each species, it is necessary to understand which methods and techniques favor development of a particular species in the field.

INTRODUÇÃO

Bertholletia excelsa Humb e Bonpl (Lecythidaceae), castanha-da-amazônia, é uma espécie de grande importância econômica na região amazônica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017). Suas amêndoas são um dos principais produtos florestais não-madeireiros (PFNM) da região, que promove a segurança alimentar das famílias rurais que vivem principalmente da exploração desta espécie na Bolívia, Brasil e Peru (CORVERA-GOMRINGER; AUCA, 2012; SALOMÃO, 2014; GUARIGUATA *et al.*, 2017).

Em consequência da pressão de exploração de *B. excelsa* e da fragmentação de habitats devido ao desmatamento onde a espécie ocorre naturalmente (SUJII *et al.*, 2015), estudos de produção de mudas para auxiliar programas de reflorestamento, manejo e conservação das espécies tornaram-se fundamentais.

A produção de mudas de espécies florestais é uma das atividades mais importantes no processo de instalação de plantios florestais, uma vez que a qualidade das mudas pode comprometer o sucesso das populações florestais. A maioria dos projetos de recuperação de áreas degradadas, reflorestamento comercial, conservação e exploração de espécies florestais nativas depende da formação de mudas de qualidade (DIONISIO *et al.*, 2017, MARQUES *et al.*, 2018).

Uma das principais formas de propagação de *B. excelsa* é via sexual. As sementes da espécie têm um tegumento lenhoso que as cobre, por isso precisam ser escarificadas. A germinação é lenta, desigual e frequentemente em baixa porcentagem, mesmo sob condições favoráveis, pelos tecidos que a rodeiam, exercendo assim um impedimento conhecido como dormência imposta pelo tegumento. A presença de dormência em espécies florestais dificulta a produção de mudas por viveiristas, principalmente por serem germinações desuniformes e de longa duração (COELHO *et al.*, 2010).

A germinação representa uma fase importante, que pode ser influenciada pelos métodos silviculturais de propagação. No processo de produção de plantas de espécies florestais é fundamental o estudo de técnicas que possibilitem a germinação de sementes e a formação de mudas de qualidade e baixos custos para o reflorestamento.

A qualidade morfológica e fisiológica das plantas antes do plantio final são características que dependem da origem das sementes, métodos utilizados na produção, substratos, manejo, condições ambientais de produção, equipamentos e estruturas de viveiros (CARON *et al.*, 2010). Uma muda de qualidade deve ter características que permitam a máxima taxa de sobrevivência e rápido crescimento inicial no campo. Os parâmetros morfológicos são os mais utilizados na determinação dos índices de qualidade das mudas, tendo um entendimento mais intuitivo por parte dos viveiristas. Para que esses índices atinjam os valores mínimos exigidos para cada espécie, é necessário conhecer os métodos e técnicas que favorecem o desenvolvimento de uma determinada espécie no campo.

In this study, different processes involved in *Bertholletia excelsa* seedling propagation were tested to find a low-cost and affordable technology for the species. The study objective was to describe an alternative technology for seed scarification, germination and for the initial growth of *B. excelsa* seedlings in mini-greenhouses.

MATERIALS AND METHODS

The study was developed in a forest seedling nursery belonging to the Peruvian Amazon Research Institute (IIAP), located at 2°49'11" N, 60°40'24" W, in the Department of Madre de Dios, Amazonian Peru.

The study involved three experiments (Table 1), all undertaken using a completely randomized experimental design, with treatments, number of replications and number of seeds per plot varying according to the experiment.

Neste estudo, avaliou-se diferentes processos envolvidos na propagação da espécie *Bertholletia excelsa* com o intuito de disponibilizar uma tecnologia de baixo custo e acessível aos produtores de muda dessa espécie. Assim, objetivou-se descrever uma tecnologia alternativa de escarificação, germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de *B. excelsa* em micro-estufas.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em viveiro de mudas florestais pertencente ao Instituto de Pesquisas da Amazônia Peruana – IIAP, nas coordenadas geográficas 2°49'11" N, 60°40'24" W, localizado no Departamento de Madre de Dios, Peru.

O estudo compreendeu três experimentos (Tabela 1), em delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo os tratamentos, número de repetições e número de sementes por parcela variando com o experimento.

Table 1 - Methods used in different production stages of *Bertholletia excelsa* seedlings involving scarification, seed germination and seedling growth

Tabela 1 - Métodos utilizados em diferentes etapas de produção de mudas de *Bertholletia excelsa* para escarificação, germinação de sementes e crescimento de plântulas

Experiments	Treatments/Substrate	#Repetitions/seeds
Scarification	T1 = Sawdust	3/30
	T2 = Palm swamp mud	3/30
	T3 = Well-rotted Brazil nut husks	3/30
Germination	T1 = Forest soil	4/50
	T2 = Sand	4/50
	T3 = Sawdust	4/50
	T4 = Sand+sawdust (1:1 v/v)	4/50
Growth	T1 = Sand	4/10 seedlings
	T2 = Sand+sawdust (1:1 v/v)	4/10 seedlings
	T3 = Well-rotted Brazil nut husks	4/10 seedlings
	T4 = Forest soil	4/10 seedlings

Mini-greenhouse preparation

Mini-greenhouses were constructed using 20 L buckets (Figure 1A), with a 4 mm hole bored 5 cm below the rim (Figure 1B), to allow the entry of moisture and oxygen. The mini-greenhouses were used for placing, scarifying and germinating the *B. excelsa* seeds.

Preparação da micro-estufa

As micros-estufas foram construídas com baldes de 20 L (Figura 1A). Posteriormente, um orifício de 4 mm foi feito 5 cm abaixo da tampa (Figura 1B). Esse orifício permite a entrada de umidade e oxigênio. As micros-estufas são utilizadas nos processos de estratificação, escarificação e germinação de sementes de *B. excelsa*.



Figure 1 – 20 L Mini-greenhouse (A) with a 4 mm used to germinate *Bertholletia excelsa* seeds (B), Puerto Maldonado, Peru.

Figura 1 - Micro estufa de 20 L (A) e furo de 4 mm usado para a germinação de sementes de *Bertholletia excelsa* (B), Puerto Maldonado, Peru.

Production environment

The mini-greenhouses were placed under 50% shade (Figures 2A and 2B).

Ambiente de produção

As micros-estufas foram colocadas em um ambiente com 50% de sombra (Figuras 2A e 2B).



Figure 2 – 20 L mini-greenhouses ready to receive *Bertholletia excelsa* seeds, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 2 – Micro estufas de 20 L prontas para semear sementes de *Bertholletia excelsa*, Puerto Maldonado, Peru.

Experiment I: Installation of mini-greenhouses for seed scarification

For scarification, different moistened substrates were used: sawdust, palm swamp mud and well-rotted Brazil nut husks. Each substrate was evaluated separately. In the mini-greenhouses, the substrate (Figure 3A) and seeds were interlayered (sandwich form), with a per layer depth of approximately 7 cm. Ten kg of seeds were used per mini-greenhouse (Figures 3B and 3C). Subsequently, mini-greenhouses were hermetically sealed and placed in 50% shade (Figure 3D).

Experimento I: Instalação de micro-estufas para escarificação de sementes

Para a escarificação, foram utilizados diferentes substratos úmidos: serragem, barro de buritizal e casca de castanha decomposta. Cada substrato foi avaliado separadamente. Nas micro-estufas foi colocado o substrato (Figura 3A) e as sementes intercaladas (tipo sanduiche) com uma altura aproximada de 7 cm por camada. Foram utilizados 10 kg de sementes por micro-estufa (Figuras 3B e 3C). Posteriormente, as micro-estufas foram hermeticamente fechadas e colocadas à sombra (50%) (Figura 3D).



Figure 3 – Stratification method (A and B), and scarification of *Bertholletia excelsa* seeds in mini-greenhouses, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 3 – Método de estratificação (A e B) e escarificação de sementes de *Bertholletia excelsa* em micro estufas, Puerto Maldonado, Peru.

Removing the woody integument and treating the seeds

Once the stratification process was carried out and scarification achieved (five months), the woody husk was removed from the seeds using a knife and a vise (Figures 4A and 4B). Following husk removal, seeds were treated with the fungicide Vitavax®-300 (carboxy 200 g kg⁻¹ + captain 200 g kg⁻¹), and shade dried for 2 h (Figure 4C).

Remoção do tegumento lenhoso e tratamentos de sementes

Uma vez que o processo de estratificação foi realizado e a escarificação foi alcançada (cinco meses), o tegumento lenhoso das sementes foi removido usando um canivete e um torno (Figuras 4A e 4B). Após a remoção do tegumento, as sementes foram previamente tratadas com o fungicida Vitavax®-300 (carboxina 200 g kg⁻¹ + capitán 200 g kg⁻¹) e secas à sombra por 2 h (Figura 4C).



Figure 4 – Method of husk removal using a vise (A and B) and seed fungicide treatment of *Bertholletia excelsa* (C), Puerto Maldonado, Peru.

Figura 4 – Método para a remoção do tegumento com torno (A e B) e tratamento fungicida de sementes de *Bertholletia excelsa* (C), Puerto Maldonado, Peru.

Experiment II: Location in mini-greenhouses for germination

For germination studies, the following substrates were used: forest soil, sand, sawdust and sand+sawdust. Moistened substrate was placed in the mini-greenhouses up to a height of 15 cm, with care taken to avoid compaction. Subsequently, for each bucket 50 seeds were placed 1 cm deep in the substrate (Figure 5A) until germination (Figure 5B).

After seeds were sown, each mini-greenhouse was hermetically sealed (taking care to avoid obstructing the open hole beneath the rim). No water was added during the production process, because the moisture retained in the substrate was sufficient for seed germination. The mini-greenhouses, once sown with seeds, were placed in a nursery under approximately 60% shading.

Experimento II: Instalação das micro-estufas para germinação

Para germinação foram utilizados os substratos: solo de floresta, areia, serragem e areia + serragem. O substrato úmido foi colocado nas micro-estufas até uma altura de 15 cm, tendo o cuidado de não ser compactado. Posteriormente foi colocado 50 sementes por balde no interior do substrato com 1 cm de profundidade (Figura 5A) até à germinação (Figura 5B).

Após a sementeira das sementes, a micro-estufa foi hermeticamente fechada, evitando a obstrução do orifício aberto na altura da tampa. Não foi adicionada água durante o processo de produção, pois a umidade retida no substrato foi suficiente para alcançar a germinação das sementes. As micro-estufas, uma vez preparadas com as sementes, foram colocadas em viveiro com uma porcentagem de sombreamento de aproximadamente 60%.

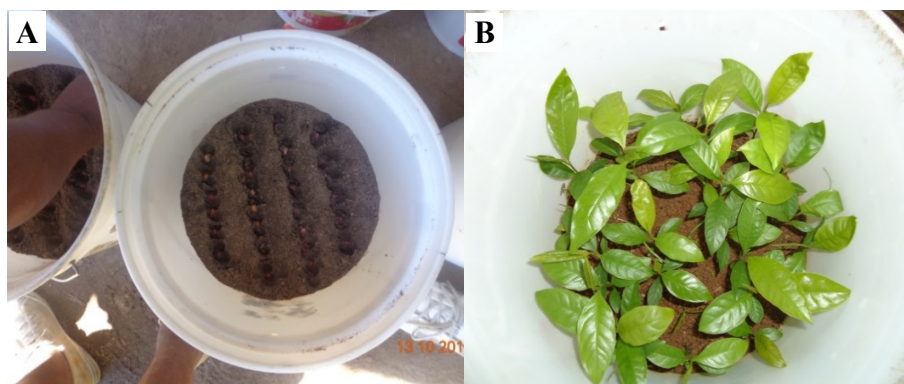


Figure 5 – Planting method for seed germination of *Bertholletia excelsa* in mini-greenhouses, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 5 – Método de sementeira em micro estufas para a germinação de sementes de *Bertholletia excelsa*, Puerto Maldonado, Peru.

Experiment III - Mini-greenhouse installation for seedlings growth monitoring

After germination (Figure 6A, B and C), 10 seedlings were removed from each mini- greenhouse for growth evaluation (Figure 6D). Substrates used at this stage were: forest soil, sand, sand+sawdust and well-rotted Brazil nut husks. Once seedlings were pruned, they were replanted in small plastic tubes and replaced in the substrate inside their mini-greenhouse of origin (Figure 6D). At this stage, the previous opaque plastic covers were replaced by transparent plastic sheets glued-in by rubber solution. This fulfilled the same function as the former cover, but the transparency of the material allowed the light to enter (Figure 6E).

Experimento III - Instalação das micro-estufas e repique para o crescimento das mudas

Após a germinação (Figura 6A, B e C), foram repicadas 10 plântulas por micro-estufa para avaliação do crescimento (Figura 6D). Os substratos utilizados nessa etapa foram: solo de floresta, areia, areia + serragem e casca de castanha descomposta. Uma vez que as plântulas foram repicadas, os tubetes foram introduzidos no substrato dentro da micro-estufa (Figura 6D). Nessa etapa, a tampa de plástico foi trocada por um plástico transparente aderido por uma borracha para que cumprisse a mesma função da tampa, mas neste caso, a transparência do material permitiu a entrada de luz (Figura 6E).



Figure 6 - *Bertholletia excelsa* seedlings 40 days after germination, and after transplanting to plastic tubes, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 6 - Plântulas de *Bertholletia excelsa* aos 40 dias de emergência após o repique para tubetes, Puerto Maldonado, Peru.

Mini-greenhouse management

To allow for greater plant development, the transparent plastic cap was removed, and an extension mounted with flexible material, 30 cm above the top of each bucket. Subsequently, transparent plastic was put in place again and the bucket completely covered, adjusting the cover with rubber so that the bucket was resealed (Figure 7).

Manejo das micro-estufas

Para alcançar maior desenvolvimento das plantas, o plástico foi removido e uma extensão foi colocada nos baldes, que foi montada com material flexível 30 cm acima do topo do balde. Posteriormente, foi colocado plástico transparente e novamente completamente recoberto, ajustando-o ao balde com borracha de tal forma que o hermetismo do balde fosse atingido novamente (Figura 7).



Figure 7 – Mini-greenhouse with extension to increase the area for growth of *Bertholletia excelsa* seedlings, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 7 - Micro estufa com extensão para aumentar a área de desenvolvimento de plântulas de *Bertholletia excelsa*, Puerto Maldonado, Peru.

Evaluated variables

Experiment 1 (seed scarification):

During scarification, the following variables were analyzed: seed removal time in minutes, percentage of rotted seeds, and percentage of healthy seeds as a function of substrate type.

Experiment 2 (seed germination):

Analyzed variables were: germination percentage (normal seedlings), abnormal seedlings, dormant and dead seeds. The first germination count was performed after 5 days and ended at 40 days, when no further germination was observed.

Variáveis avaliadas

Experimento 1 (escarificação de sementes):

No processo de escarificação, foram analisadas as seguintes variáveis: tempo de pelado em minutos, porcentagem de sementes podres e porcentagem de sementes saudáveis em função do tipo de substrato.

Experimento 2 (germinação de sementes):

As variáveis analisadas foram: porcentagem de germinação (plântulas normais), plântulas anormais, sementes dormentes e mortas. A primeira contagem de germinação foi realizada após cinco dias e terminou aos 40 dias, quando já não foi observado germinação.

Experiment 3 (seedling growth):

Growth was evaluated with the following variables: shoot length, root length, stem diameter, shoot dry matter, dry root mass and total dry mass.

Diameters were measured with precision digital calipers (0.01 mm). Shoot height and root length were measured with a graduated ruler (cm). To determine dry mass, seedlings were divided into roots and aerial parts. Both parts were placed separately in marked Kraft paper bags, then oven dried at 65°C for 48 h until a constant mass was obtained. After this, sample masses were evaluated with an analytical balance (0.001g).

DATA ANALYSIS

Collected data were submitted to analysis of variance using R version 3.5.1; and, when significant differences between the data were found, means were compared with a Tukey post-hoc test ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Seeds scarification

Significant differences were observed between substrates for husk removal times ($p \leq 0.001$). Scarification time was lower with sawdust and forest soil substrates, with averages of 14.9 and 12.6 minutes, respectively (Figure 8A). Forest soil substrate also showed a higher percentage of healthy seeds ($72 \pm 13.7\%$) (Figure 8B).

Post-scarification husk removal time for *Bertholletia excelsa* seeds should be influenced by decomposing microorganisms that are found in, or that develop in, the substrate. These agents act in the process of scarifying the seeds when feeding on the shells.

Experimento 3 (crescimento de plântulas):

O crescimento foi avaliado pelos seguintes parâmetros: comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total.

O diâmetro do coleto foi medido com um paquímetro digital de precisão de 0,01 mm e a altura da parte aérea e o comprimento da raiz foram medidos com uma régua graduada em centímetros. Para a determinação da massa seca, as plântulas foram divididas em raízes e parte aérea, cortando-se a altura do caule da muda. Ambas as partes foram colocadas separadamente em sacos de papel Kraft identificados e levados para secagem em estufa a 65 °C por 48 horas até obtenção de massa constante. Após esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g.

ANÁLISE DOS DADOS

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância por meio do programa R versão 3.5.1 e, havendo diferenças significativas entre os dados, as médias foram comparadas pelo teste post-hoc de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Escarificação das sementes

Foi observada diferença significativa entre os substratos para o tempo de remoção da casca ($p \leq 0,001$). Os substratos serragem e solo de floresta proporcionaram menor tempo de escarificação, com médias de 14,9 e 12,6 minutos, respectivamente (Figura 8A). No entanto, o substrato solo da floresta apresentou maior percentagem de sementes sadias ($72 \pm 13,7\%$) (Figura 8B).

O tempo de remoção da casca das sementes de *Bertholletia excelsa* após a escarificação deve ser influenciado por microrganismos decompositores que são encontrados ou que se desenvolvem no substrato. Esses agentes atuam no processo de escarificação das sementes ao se alimentar das cascas das castanhas.

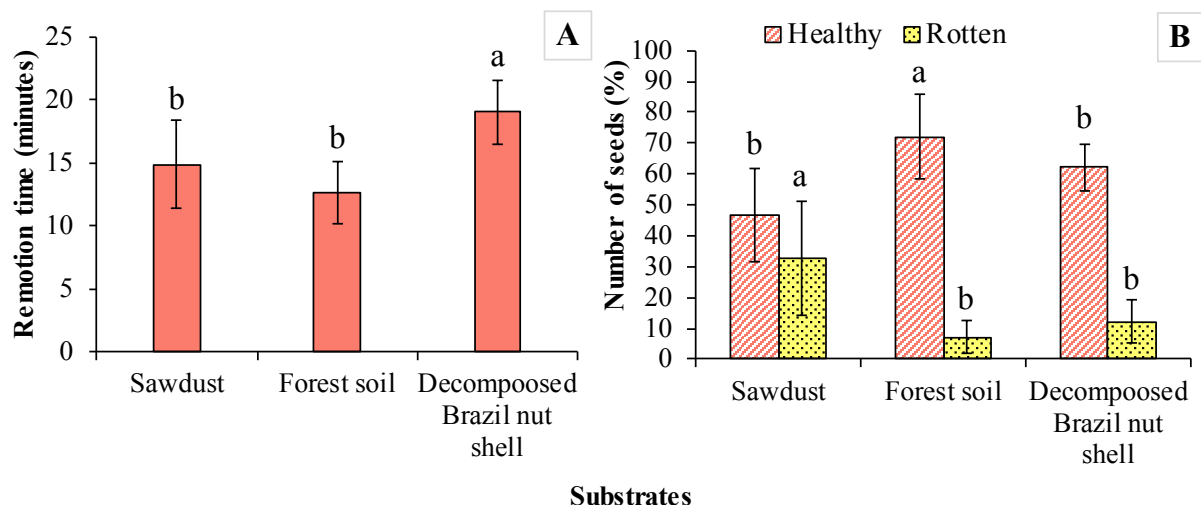


Figure 8 – Mean (\pm SD) of husk remotion time (A) and percentage of healthy and rotten *Bertholletia excelsa* seeds on different substrates, Puerto Maldonado, Peru.

Different letters indicate significant differences with a Tukey test ($p \leq 0.05$).

Figura 8 – Média (\pm DP) do tempo de remoção da casca (A) e porcentagem de sementes saudáveis e podres de *Bertholletia excelsa* em diferentes substratos, Puerto Maldonado, Peru.

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Seed germination

Germination began five days after sowing, with an average percentage of 5% on all substrates. After 15 days, 40% germination had occurred. Stabilization occurred at 30 days (81% germination) (Figure 9).

Complete germination means (normal seedlings) was 81.1; 77.8; 71.1 and 75.6% for forest, sand, sawdust and sand+sawdust, respectively. There was no significant difference between treatments ($p = 0.176$). There were no rotten seeds in any of the substrates, which indicates that there was seeds were well-selected and the fungicidal treatment was effective (Figure 10).

In general, *B. excelsa* germination can occur up to 5 months after sowing, and germination percentage generally exceeds 70% (MÜLLER, 1982; SILVA *et al.*, 2009; PEDROZO *et al.*, 2017).

Germinação de sementes

A germinação iniciou cinco dias após a sementeira, com uma porcentagem média de 5% em todos os substratos. Após 15 dias foi alcançada 40% de germinação e estabilizada aos 30 dias (81% de germinação) (Figura 9).

A média para germinação completa (plântulas normais) foi de 81,1; 77,8; 71,1 e 75,6% para solo de floresta, areia, serragem e areia + serragem, respectivamente. No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,176$). Não houve sementes podres em nenhum dos substratos, o que permite afirmar que houve boa seleção e desinfecção das sementes (Figura 10).

Em geral, a germinação de *B. excelsa* se prolonga até cinco meses após a sementeira, atingindo um percentual de germinação superior a 70% (MÜLLER, 1982, SILVA *et al.*, 2009, PEDROZO *et al.*, 2017).

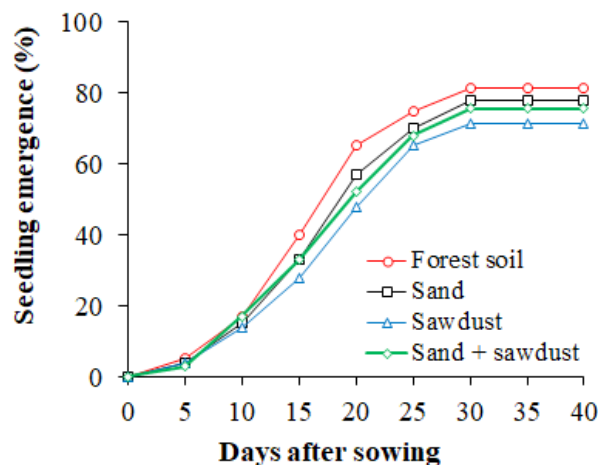


Figure 9 - Cumulative emergence curves for *Bertholletia excelsa* seedlings on different substrates, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 9 - Curvas de emergência acumulada de plântulas de *Bertholletia excelsa* em diferentes substratos, Puerto Maldonado, Peru.

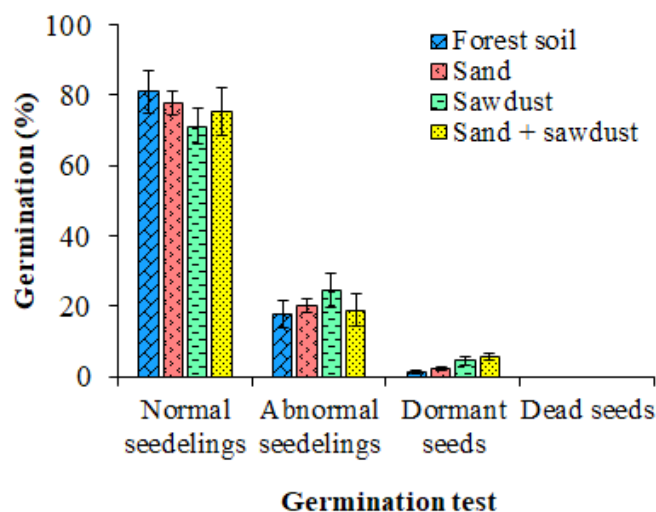


Figure 10 - Mean (\pm SD) of the seedling emergence percentages for *Bertholletia excelsa* on different substrates, Puerto Maldonado, Peru.

Figura 10 - Média (\pm DP) da porcentagem de emergência de plântulas de *Bertholletia excelsa* em diferentes substratos, Puerto Maldonado, Peru.

Seedling growth

Sand (T3) and sand+sawdust substrates (T4) showed a significant difference in shoot (Figure 11A) and root length (Figure 11B). There were no significant differences between the other treatments, dry shoot mass (Figure 11D), root (Figure 11D) and total dry mass (Figure 11E).

Crescimento de plantas

Os substratos areia (T3) e areia + serragem (T4) apresentaram diferença significativa em relação aos demais tratamentos para comprimento da parte aérea (Figura 11A) e raiz (Figura 11B), massa seca da parte aérea (Figura 11C), massa seca de raiz (Figura 11D) e massa seca total, entretanto, não houve diferenças significativas entre si (Figura 11E).

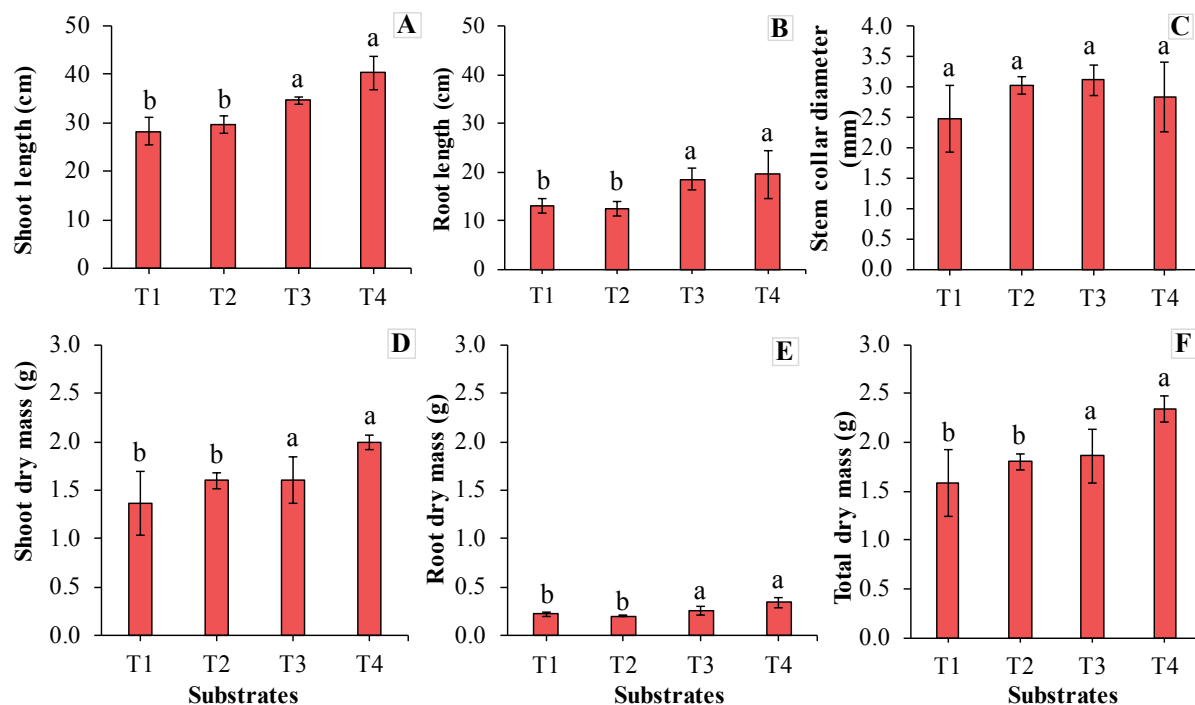


Figura 11 - Mean (\pm SD) for aerial part length (11A), root length (11B) and shoot diameter (11C), dry shoot mass (11D), root dry mass (11E) and total dry mass (11F) of *Bertholletia excelsa* seedlings produced on different substrates. Puerto Maldonado - Peru. T1 – well-rotted Brazil nut husks; T2 - forest soil; T3 - sand and T4 - sand+sawdust.

Different letters indicate significant differences with a Tukey test ($p \leq 0.05$).

Figura 11 - Média (\pm DP) para comprimento da parte aérea (11A), comprimento da raiz (11B) e diâmetro do coleto (11C), massa seca da parte aérea (11D), massa seca da raiz (11E) e massa seca total (11F) de mudas de *Bertholletia excelsa* produzidas em diferentes substratos. Puerto Maldonado - Peru. T1 - casca de castanha decomposta; T2 - solo de floresta; T3 - areia e T4 - areia + serragem. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Sand has been reported as an excellent substrate on which to maintain stored *B. excelsa* seed viability (SILVA *et al.*, 2009), and on which to germinate a variety of forest species (DIONISIO *et al.*, 2017; MARQUES *et al.*, 2018). It has excellent drainage, as well as being useful in mixtures as a physical conditioner, it also has lower cost, and is easy to acquire when compared to other substrates (BRITO *et al.*, 2009). Another advantage in using sand as a substrate is the possibility of reuse, provided it is autoclaved. Seedling of *B. excelsa* will develop on sand used as na unsupplemented substrate (SOUSA *et al.*, 2014). This reinforces the hypothesis that seedlings in this species retain and use their endosperm reserves in the first few months of development, requiring only a substrate with high porosity for good initial growth.

A areia tem sido relatada como um excelente substrato para manter a viabilidade das sementes armazenadas de *B. excelsa* (SILVA *et al.*, 2009) e germinação de várias espécies florestais (DIONISIO *et al.*, 2017, MARQUES *et al.*, 2018), por apresentar excelente drenagem, útil em misturas como condicionador físico, menor custo e por ser de fácil aquisição quando comparado a outros substratos (BRITO *et al.*, 2009). Outra vantagem do uso da areia como substrato é a possibilidade de reutilização, desde que seja esterilizada em autoclave. Entretanto, areia como substrato isolado pode não favorecer o desenvolvimento de plântulas (SOUSA *et al.*, 2014). Isso reforça a hipótese de que as mudas de *B. excelsa* mantêm suas reservas (endosperma) nos primeiros meses de desenvolvimento, necessitando apenas de um substrato com alta porosidade para um bom crescimento inicial.

To improve the root system, it is necessary the substrate should have physical and chemical characteristics that can provide adequate aeration, and retention of water, nutrients and oxygen, so that seedling quality is maintained (DUTRA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017; SIQUEIRA *et al.*, 2018), and pathogens minimized to avoid damaging seed germination capacity. The current study found substrate moisture to be important factor for maintaining seedling health. During the evaluation phase, seedlings were irrigated only during the installation of the experiment, because the buckets created an suitable internal microclimate, reducing evapotranspiration and increasing water retention inside the buckets.

CONCLUSIONS

Sawdust and forest soil substrates had the shortest husk removal time, and forest soil substrate had the highest percentage of healthy seeds;

Germination of *Bertholletia excelsa* seeds in mini-greenhouses was not affected by substrates used;

Greatest growth of *B. excelsa* seedlings occurred on sand and sand+sawdust substrates.

O substrato adequado deve favorecer o desenvolvimento do sistema radicular, possuir características físico-químicas capazes de proporcionar aeração adequada, retenção de água e nutrientes, oxigênio, qualidade das mudas (DUTRA *et al.*, 2014, SANTOS *et al.*, 2014, SILVA *et al.*, 2017, SIQUEIRA *et al.*, 2018) e estar livre de patógenos para não prejudicar a germinação das sementes. Um fator importante observado no presente estudo foi a umidade do substrato. Durante a fase de avaliação as mudas foram irrigadas somente durante a instalação do experimento, pois os baldes criaram um microclima interno, diminuindo a evapotranspiração e aumentando retenção de água no interior dos baldes.

CONCLUSÕES

Os substratos serragem e solo da floresta proporcionaram menor tempo de remoção da casca e o substrato solo da floresta apresentou maior porcentagem de sementes sadias.

A germinação de sementes de *Bertholletia excelsa* em micro-estufas não foi afetada pelos substratos nesse estudo.

Os substratos areia e areia + serragem proporcionaram maior desenvolvimento das mudas de *B. excelsa*.

CITED SCIENTIFIC LITERATURE

ALBUQUERQUE, T. C. S.; EVANGELISTA, T. C.; ALBUQUERQUE NETO, A. A. R. Níveis de sombreamento no crescimento de mudas de castanheira do Brasil. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 9, n. 4, p. 440-445, 2015.

BRITO, A. L.; CAMPOS, V. C. A.; BRITO, K. L. M.; SANTANA, J. R. F.; DORNELLES, A. L. C. Germination of three species of *Annona* on different substrates. **Magistra**, v. 21, n. 2, p. 91-95, 2009.

COELHO, M. D. F.; MAIA, S. S.; OLIVEIRA, A. K. D.; DIÓGENES, F. E. Superação da dormência tegumentar em sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart exTul. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 74-79, 2010.

CORVERA-GOMRINGER, R.; AUCA, E. C. Respuesta de las plantas de castaña amazónica *Bertholletia excelsa* a cuatro niveles de fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio en la Amazonia peruana. **Folia Amazónica**, v. 21, n. 1-2, p. 101-108, 2012.

DIONISIO, L. F. S.; SMIDERLE, O. J.; MONTENEGRO, R. A.; MARTINS, W. B. R., SIMÕES, P. H. O.; ARAÚJO, D. G. Emergência e crescimento inicial de plântulas de *Swietenia macrophylla* (King) em função da posição da semente e presença do endocarpo. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 2, p. 125-130, 2017.

DUTRA, T. R.; SANTANA, R. C.; MASSAD, M. D.; TITON, M. Tecnologia para produção de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por meio de miniestaqueia seminal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, 2014.

GUARIGUATA, M. R.; CRONKLETON, P.; DUCHELLE, A. E.; ZUIDEMA, P. A. Revisiting the “cornerstone of Amazonian conservation”: a socioecological assessment of Brazil nut exploitation. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, n. 9, p. 2007–2027, 2017.

- MARQUES, A. R. F.; OLIVEIRA, V. S.; BOLIGON, A. A.; VESTENA, S. Produção e qualidade de mudas de *Psidium cattleianum* var. *cattleianum* Sabine (Myrtaceae) em diferentes substratos. **Acta Biológica Catarinense**, v. 5, n. 1, p. 5-13, 2018.
- MÜLLER, C. H. Castanha-do-brasil: estudos agronômicos. Belém, PA: Embrapa-CPATU, 1981. 25 p. (Embrapa-CPATU. **Documentos**, 1).
- MÜLLER, C. H. Quebra da dormência da semente e enxertia em castanha-do-brasil. Belém, PA: Embrapa-CPATU, 1982. 40 p. (Embrapa-CPATU. **Documentos**, 16).
- PEDROZO, C. COSTA, E. K. L.; OLIVEIRA, V. X. A.; BATISTA, K. D.; SMIDERLE, O. J.; ALBUQUERQUE, T. C. S. Emergência de plântulas e desenvolvimento de mudas de matrizes selecionadas de castanha-do-Brasil. Embrapa Roraima, 2017. 21p. (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 44).
- SALOMÃO, R. P. A castanha: história natural e importância socioeconômica. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Ciências Naturais**, v. 9, n. 2, p. 259-266, 2014.
- SANTOS, L. W.; COELHO, M. D. F.; DOMBROSKI, J. L.; AZEVEDO, R. A. Propagação vegetativa de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.–Fabaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, 2014.
- SANTOS, R.; CAMPOS, T. D.; MARTINS, K.; WADT, L. D. O. Estrutura genética de duas populações naturais de *Bertholletia excelsa* Bonpl. sob exploração no Vale do Rio Acre. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 37-40, 2017.
- SILVA, A. D. C. D.; SMIDERLE, O. J.; OLIVEIRA, J. M. F.; SILVA, T. J. Tamanho da semente e substratos na produção de mudas de açaí. **Advances in Forestry Science**, v. 4, n. 4, p. 151-156, 2017.
- SILVA, A. N.; COELHO, M. F. B.; GUIMARÃES, S. C.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Germinação de sementes de castanha-do-pará armazenadas em areia úmida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1431-1436, 2009.
- SIQUEIRA, D. P.; CARVALHO, G. C. M. W.; BARROSO, D. G.; MARCIANO, C. R. Lodo de esgoto tratado na composição de substrato para produção de mudas de *Lafoensia glyptocarpa*. **Floresta**, v. 48, n. 2, p. 277-284, 2018.
- SOUSA, N. A.; SILVA, K. B.; OLIVEIRA, A. N. P.; AGUIAR, V. A.; PINTO, M. S. C. Emergência e crescimento inicial de plântulas de *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz sob diferentes substratos. **Agropecuária Técnica**, v. 35, n. 1, p. 106-112, 2014.
- SUJII, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation genetics**, v. 16, n. 4, p. 955-964, 2015.