

Rooting of juvenile cuttings of Brazil nut trees using indolebutyric acid in sub-irrigation chamber

Enraizamento com ácido indolbutírico de estacas juvenis de castanheira-do-brasil em câmara de subirrigação

Ricardo Manuel Bardales-Lozano^{1*}, Edgar Cusi Auca², Luiz Fernandes Silva Dionisio³

Abstract: The sexual propagation of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) is limited by several factors, including slow and irregular germination, unevenness in root and shoot emergence, and a strategy to overcome these limitations is vegetative propagation. The objective of this study is to evaluate the rooting of Brazil nut cuttings using different concentrations of indolebutyric acid (IBA) in a subirrigation system. The study adopted a completely randomized block design with five concentrations of IBA (0, 1000, 2000, 3000, and 4000 mg L⁻¹). The donor plants of the vegetative material were obtained from seeds of trees selected as highly productive parent plants. Cuttings with approximately 6 cm were obtained from the basal and middle sections of the shoot and contained one pair of nodes and one fully developed leaf. The percentage of survival, callus formation, rooting, and sprouting was determined at 105 days after rooting. IBA improved the analyzed characteristics for the development of Brazil nut plants. The IBA concentration of 1000 mg L⁻¹ provided the highest percentage of survival, rooting, and callus formation. Juvenile cuttings showed a higher rate of survival (69.7%), rooting (49.1%), and callus formation (30.2%) at IBA concentrations between 1.9 and 2.3 g L⁻¹.

Key words: Exogenous auxin. *Bertholletia excelsa*. Cutting. Vegetative propagation. Peru.

Resumo: A propagação sexuada da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.) é limitada por vários fatores, tais como: germinação lenta e irregular, desuniformidade na protrusão radicular e na emissão da parte aérea. A estratégia para superar essas limitações é a propagação vegetativa. Assim, objetivou-se com este estudo avaliar o enraizamento de estacas de castanheira em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) em câmara de subirrigação. O estudo adotou o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 5 concentrações de AIB (0; 1000; 2000; 3000 e 4000 mg L⁻¹). As plantas doadoras do material vegetativo foram obtidas de sementes de árvores selecionadas como matrizes de alta produtividade. As estacas, com aproximadamente 6 cm, foram obtidas da seção basal e média dos brotos contendo um par de nós e uma folha completa. Aos 105 dias após a repicagem das estacas para sacolas, avaliou-se: porcentagem de sobrevivência, porcentagem de estacas com calos, porcentagem de enraizamento e porcentagem de brotação. O uso de AIB em diferentes concentrações influenciou positivamente nas características estudadas para a formação de plantas de castanheira. A concentração de 1000 mg L⁻¹ proporcionou maior porcentagem de sobrevivência, enraizamento e estacas com calos. As estacas juvenis mostraram maior porcentagem de sobrevivência (69,7%), enraizamento (49,1%) e calos (30,2%), na concentração entre 1,9 a 2,3 g L⁻¹ de AIB.

Palavras-chave: Auxina exógena. *Bertholletia excelsa*. Estaquia. Propagação vegetativa. Peru.

*Corresponding author

Submitted for publication on 16/07/2019 and approved 28/10/2019

¹Researcher Dr. Agronomist. Empresa Palma del Espino S.A, San Martín, Peru. rbardaleslozano@gmail.com

²Researcher MSc. Forestry Engineer. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – IIAP, Jr. Ica 1662, Puerto Maldonado, Peru. ecusi@iiap.org.pe

³Teacher Dr. Universidade do Estado do Pará - UEPA, Belém, PA, Brazil, fernandesluiz03@gmail.com

INTRODUCTION

Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. Bonpl.) (Lecythidaceae) is a tree species of high economic importance in the Amazon region (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017; NOGUEIRA *et al.*, 2018). The production of this species in the Amazon region generates employment and income for thousands of workers through the commercialization of nuts (TONINI, 2011), which have high commercial and nutritional value (CORVERA-GOMRINGER; AUCA, 2012; SALOMÃO, 2014; GUARIGUATA *et al.* (2017; WADT *et al.*, 2018).

Native plant populations have been affected by habitat degradation and fragmentation, leading to the increased demand for land and settlements, which in turn increase pressure on primary forests, endangering the genetic diversity of this nut species (SUJII *et al.*, 2015). Therefore, studies on the vegetative propagation of this species for seedling production to promote reforestation and restoration of anthropized areas are fundamental (DIONISIO *et al.*, 2019).

B. excelsa is a light-dependent climax species with good growth performance in open areas (SCOLES *et al.*, 2011; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). This species can reach a height of 40 to 60 m and a diameter of 1 to 4 m (SANTOS *et al.*, 2017). It tends to form aggregates with a high density of individuals and is considered a social species (MORI; PRANCE, 1990), i.e., forms moderately extensive groves (CAVALCANTE, 1996).

The nut trees can be propagated by sexual reproduction (seeds) and asexual reproduction (CORDEIRO *et al.*, 2016). Sexual propagation is limited by the rapid loss of viability because seeds are dormant, and germination is inconsistent and slow (up to 6 months) (AUCA *et al.*, 2018). Therefore, improvements in asexual propagation techniques are necessary to develop efficient and low-cost production technologies for this species. Vegetative propagation is recommended for fruit production and, in this case, the plants are smaller and develop earlier (CORVERA-GOMRINGER *et al.*, 2014). The use of subirrigation systems in the vegetative propagation of this species is promising for the large-scale multiplication of superior genotypes (CORDEIRO *et al.*, 2016) and has been successful in the production of more than 100 species from different ecosystems (LEAKEY *et al.*, 1982).

INTRODUÇÃO

Bertholletia excelsa Humb. Bonpl. (Lecythidaceae), conhecida popularmente como castanheira-do-brasil, é uma espécie arbórea de grande importância econômica na região amazônica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2017; NOGUEIRA *et al.*, 2018). O extrativismo dessa espécie na Amazônia gera emprego e renda para milhares de trabalhadores por meio da comercialização de suas amêndoas (TONINI, 2011), que apresentam alto valor comercial e nutricional (CORVERA-GOMRINGER; AUCA, 2012; SALOMÃO, 2014; GUARIGUATA *et al.*, 2017; WADT *et al.*, 2018).

As populações nativas desse importante recurso vêm sofrendo pressão devido à exploração e fragmentação do habitat, o que dá lugar ao processo de demanda por terras e assentamentos, que por sua vez eleva a pressão sobre as florestas primárias, colocando em risco a diversidade genética da espécie excelsa (SUJII *et al.*, 2015). Assim, os estudos sobre propagação vegetativa para produção de mudas dessa espécie, visando o reflorestamento e conservação em áreas degradadas pela antropização, são fundamentais (DIONISIO *et al.*, 2019).

A *B. excelsa* é uma espécie clímax, dependente de luz, que apresenta bom desempenho de crescimento em áreas abertas (SCOLES *et al.*, 2011; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). É uma espécie de grande porte, podendo atingir entre 40 a 60 m de altura e diâmetro de 1 a 4 m (SANTOS *et al.*, 2006). Apresenta como característica ecológica a tendência à formação de aglomerações com alta densidade de indivíduos, sendo considerada uma espécie social (MORI; PRANCE, 1990), ou seja, encontrando-se em agrupamentos mais ou menos extensos, conhecidos como “castanhais” (CAVALCANTE, 1996).

A castanheira pode ser propagada por sementes e por métodos assexuados (CORDEIRO *et al.*, 2016). A propagação por sementes é limitada pela perda rápida de sua viabilidade, causada pelo seu comportamento recalcitrante, germinação lenta e irregular de até seis meses (AUCA *et al.*, 2018). Assim, técnicas de propagação assexuadas devem ser aprimoradas na tentativa de desenvolver uma tecnologia eficiente e de baixo custo para essa espécie. A propagação vegetativa tem sido recomendada quando o objetivo é a produção de frutos e, nesse caso, as plantas apresentam porte mais baixo e precocidade na produção (CORVERA-GOMRINGER *et al.*, 2014). O uso de câmara de subirrigação na propagação vegetativa tem se mostrado promissor na multiplicação em grande escala de genótipos superiores da espécie (CORDEIRO *et al.*, 2016), obtendo êxito em mais de 100 espécies de diferentes ecossistemas (LEAKEY *et al.*, 1982).

In most species cultivated in breeding programs, the use of growth regulators, especially the synthetic auxin indolebutyric acid (IBA), has been effective (HARTMANN *et al.*, 2011). However, the appropriate concentration of this product should be determined for each species (RUIZ-GARCÍA *et al.*, 2005). Muñoz and Molina (2016) have shown that the percentage of rooting and the doses used for most forest species depend on the age and type of cutting and that woody and juvenile cuttings respond to an IBA concentration of 1 to 2 g L⁻¹ and ≤ 6 g L⁻¹, respectively.

The objective of this study is to evaluate the rooting capacity of juvenile cuttings of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) using different concentrations of IBA in a subirrigation system.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The experiment was conducted from September 2016 to January 2017 at the Roger Beuzeville Zumaeta Agroforestry Nursery of the Peruvian Amazon Research Institute (Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana–IIAP) (latitude, 12°39'06.26" S; longitude, 60°19'12.17" W; altitude, 230 m), located 19 km from the city of Puerto Maldonado, province of Tambopata, region of Madre de Dios, Peru. The forest typology is classified as subtropical rainforest. This region has an average annual rainfall of 1986 mm, average annual temperature of 25 °C, and relative humidity of 80% (CORVERA-GOMRINGER; CUSI, 2012).

Experimental design

This study used a completely randomized block design with four repetitions and 10 cuttings per experimental unit. The treatments consisted of five IBA (indolebutyric acid) concentrations: 0, 1, 2, 3, and 4 mg L⁻¹. The IBA concentrations were based on the recommendations of Cordeiro *et al.* (2016). The terminal end of the cuttings was immersed in an IBA solution for 5 seconds, except for the control, which was immersed in distilled water.

Na maioria das espécies trabalhadas em programas de melhoramento genético, o uso de reguladores de crescimento, em especial do ácido indolbutírico (AIB), auxina sintética, tem sido eficaz (HARTMANN *et al.*, 2011). Um dos aspectos importantes ao utilizar este produto é determinar a concentração adequada de aplicação para cada espécie (RUIZ-GARCÍA *et al.*, 2005). Segundo Muñoz e Molina (2016), o enraizamento e as doses usadas na maioria das espécies florestais dependem da idade e tipo da estaca, podendo responder na faixa de 1 a 2 g L⁻¹ de AIB em estacas lenhosas e até 6 g L⁻¹ de AIB para estacas juvenis.

Neste contexto, objetivou-se com este trabalho avaliar a capacidade de enraizamento de estacas juvenis de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) com a aplicação de diferentes concentrações de AIB em câmara de subirrigação.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O experimento foi conduzido no período de setembro de 2016 a janeiro de 2017, no viveiro agroflorestal “Roger Beuzeville Zumaeta” do Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IIAP, localizado a 19 km da cidade de Puerto Maldonado, Província de Tambopata, Região Madre de Dios, situado nas coordenadas 12°39' 06.26" de latitude Sul e 60°19'12.17" de longitude Oeste e altitude de 230 m. A tipologia florestal é classificada como Floresta Úmida Subtropical. A região possui precipitação média anual de 1986 mm, temperatura média anual de 25 °C e Umidade relativa do ar de 80% (CORVERA-GOMRINGER; CUSI, 2012).

Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e 10 estacas por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de cinco concentrações de ácido indolbutírico (AIB), sendo: 0; 1; 2; 3 e 4 mg L⁻¹. As concentrações de AIB foram baseadas nas recomendações de Cordeiro *et al.* (2016). Durante a montagem do experimento, as estacas foram colocadas em contato com o AIB por 5 segundos, na parte terminal das estacas, exceto a testemunha, que foi submersa pelo mesmo tempo em água destilada.

Donor plants

The donor plants of the vegetative material (cuttings) were produced from seeds of highly productive parent plants from the IIAP. The seeds were immersed in running water for 10 days to soften the integument and facilitate the removal of the coat. After that, the seeds were treated with Vitavax[®]-300 fungicide (carboxin 200 g kg⁻¹ and captan 200 g kg⁻¹) and sown in a nursery containing washed and sterilized river sand (AUCA *et al.*, 2018; DIONISIO *et al.*, 2019).

After 30 days of sowing, seedlings were subcultured in 20 kg capacity polypropylene bags containing forest soil as substrate. The seedlings were transferred to a nursery with a raschel mesh with 70% shading and a height of 1.8 m. Two daily irrigations (morning and afternoon) were performed manually for 30 minutes by micro-sprinkling. The plants were nursed for 12 months until they reached a mean basal diameter of 22 mm.

Collection and transplanting of cuttings

To obtain juvenile cuttings, pruning was done at the basal section of the shoots at 20 cm from the base. Subsequently, 10 g of NPK (30-12-12) fertilizer was applied to the substrate of each polypropylene bag. The product was applied weekly for 4 months.

Cuttings were collected from the basal and medium sections of the shoots (average length of 40 cm and diameter of 6 mm) and contained an average of 11 nodes. The shoots with a length of approximately 6 cm were utilized to produce cuttings containing one pair of nodes and at least one fully developed leaf.

The cuttings were washed in running water and disinfected with an aqueous solution of 5% Mancozeb fungicide 80% wp for 5 minutes. Subsequently, the base of each cutting was sectioned longitudinally using a scalpel, and the cuttings of each treatment were immersed in an IBA solution for 5 seconds.

A subirrigation system was used for rooting (LEAKEY *et al.*, 1990), and the cuttings were spaced 8 cm apart. The percentage of survival, callus formation, rooting, and sprouting in cuttings was determined at 105 days after rooting. The results were expressed as percentages.

Statistical analysis

Data were transformed by arcsine $\sqrt{(x/\%)}_0$ and subjected to analysis of variance and regression. Data were analyzed using R software version 3.5.2, and the point of maximum technical efficiency ($X=b_1/2b_2$) was calculated in cases in which the quadratic model was adjusted ($\hat{Y}=bo+b_1X+b_2X^2$).

Produção de plantas doadoras de estacas

As plantas doadoras do material vegetativo (estacas) foram produzidas a partir de sementes de árvores matrizes de alta produtividade do IIAP. As sementes foram imersas em água corrente durante 10 dias para amolecimento do tegumento a fim de facilitar a retirada da casca. Após serem descascadas, as sementes foram imediatamente tratadas com fungicida Vitavax[®]-300 composto por carboxina 200 g kg⁻¹ e captan 200 g kg⁻¹ e semeadas em sementeiras contendo areia de rio lavada e esterilizada (AUCA *et al.*, 2018; DIONISIO *et al.*, 2019).

Após 30 dias de semeadura, realizou-se a repicagem das plântulas para sacos de polipropileno com capacidade de 20 kg contendo como substrato terra de floresta. As plântulas foram colocadas em viveiro coberto com malha raschel com 70% de sombreamento e 1,8 m de altura. Realizaram-se duas irrigações diárias (manhã e tarde) com microaspersão por 30 minutos, controladas manualmente. As plantas foram manejadas em viveiro por 12 meses até alcançarem diâmetro basal médio de 22 mm.

Obtenção e instalação das estacas

Para a obtenção das estacas juvenis, fez-se podas na seção basal das plantas a 20 cm da base. Posteriormente, aplicaram-se 10 g de adubo NPK (30-12-12) no substrato de cada saco de polipropileno. As aplicações foram semanais durante 4 meses.

As estacas foram obtidas da seção basal e média dos brotos, com comprimento médio de 40 cm, 6 mm de diâmetro e contendo em média 11 nós. Os brotos foram segmentados em estacas, contendo um par de nós e comprimento aproximado de 6 cm, com pelo menos uma folha completa.

O material foi lavado com água corrente e desinfestado com solução aquosa de 5% do fungicida Mancozeb e 80% WP, durante 5 minutos. Posteriormente, realizou-se um corte longitudinal com bisturi na base de cada estaca e colocou-se as estacas de cada tratamento por 5 segundos nas soluções com suas respectivas concentrações de AIB.

Para o enraizamento, utilizaram-se câmaras de subirrigação (LEAKEY *et al.*, 1990) e estacas espaçadas 8 x 8 cm. Após 105 dias, efetuou-se a contagem do número de estacas vivas, estacas calejadas, estacas enraizadas e estacas com brotos. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem.

Análise de dados

Os dados foram transformadas mediante $\text{arcoseno } \sqrt{(x/\%)}_0$ e submetidos à análise de variância e de regressão. Empregou-se o programa R versão 3.5.2, e, quando houve ajuste ao modelo quadrático ($\hat{Y}=bo+b_1X+b_2X^2$), foi calculado o ponto de máxima eficiência técnica – MET ($X=b_1/2b_2$).

RESULTS

Increasing concentrations of IBA significantly increased the percentage of live cuttings ($p \leq 0.01$) and callused cuttings ($p \leq 0.05$) of Brazil nut trees. However, the evaluated IBA concentrations did not significantly affect the percentage of rooted cuttings and sprouted cuttings (Table 1).

Table 1 - Analysis of variance for the number of live, rooted, callused, and sprouted cuttings of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) at different concentrations of indolebutyric acid (IBA)

Tabela 1 - Análise da variância para percentagem de estacas vivas, enraizadas, calejadas e brotação de estacas juvenis de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) em função de concentrações crescentes de ácido indolbutírico (AIB)

SV	DF	Mean square effect			
		Live cuttings	Rooted cuttings	Callused cuttings	Sprouted cuttings
		----- (%) -----			
IBA	4	996.99 **	259.40 ^{ns}	335.3*	353.13 ^{ns}
Residual	15	158.18	92.85	92.25	132.99
Total	19	-	-	-	-
CV (%)	-	25	24	44	47

** and * Significant of 1% and 5% using the F test, respectively; CV, coefficient of variation; ^{ns}, not significant.

** e * Significativo ao 1% e 5% pelo teste de F, respectivamente; CV, coeficiente de variação; ^{ns}, não significativo.

The coefficient of variation for the four analyzed variables ranged from 24 to 47% (Table 1), which is typical for this type of assay. This range can serve as the basis for future studies, and this coefficient can be used to improve the techniques for propagating Brazil nut plants (ABANTO *et al.*, 2014).

IBA improved the analyzed characteristics for the development of Brazil nut plants. In this respect, the mean values at increasing concentrations of IBA were adjusted in the quadratic and linear models (Figure 1).

The increase in IBA concentration increased the survival of juvenile cuttings. The increase was maximum (70%) at a dose of 1.9 mg L⁻¹, at which the rate of seedling survival tended to decrease (Figure 1A).

The percentage of rooted cuttings was also affected by IBA, and the mean values were adjusted in the quadratic model. The increase was maximum (49%) at an IBA concentration of 1.9 g L⁻¹ (Figure 1B). Similarly, the percentage of callused cuttings was maximum (30%) at an IBA dose of 2.4 g L⁻¹.

The percentage of sprouted cuttings was adjusted in the linear model. The increase in IBA doses resulted in increments of 5.1%, and the percentage was maximum (19%) at a dose of 4.0 g L⁻¹.

RESULTADOS

As concentrações crescentes de AIB ocasionaram efeito significativo sobre a porcentagem de estacas vivas ($p \leq 0,01$) e calejadas ($p \leq 0,05$). Entretanto, não se evidenciaram efeitos estatísticos significativos para estacas enraizadas e na brotação de estacas juvenis de castanheira-do-brasil (Tabela 1).

O coeficiente de variação esteve entre 24 e 47% para as quatro variáveis avaliadas (Tabela 1), sendo característico deste tipo de ensaio, que são considerados de predição preliminar para outras pesquisas e afinamento da técnica de propagação para castanheira-do-brasil (ABANTO *et al.*, 2014).

O uso de AIB nas diferentes concentrações influenciou positivamente nas características estudadas para a formação de plantas de castanheira-do-brasil. Nesse sentido, observou-se ajustes ao modelo quadrático e linear entre os valores médios nas concentrações crescentes de AIB (Figura 1).

O aumento da concentração de AIB, na estaquia, resultou em aumento na sobrevivência das estacas juvenis. O incremento máximo (70%) foi estimado na dose de 1,9 mg L⁻¹ de AIB, a partir da qual existiu tendência à redução na porcentagem de sobrevivência das mudas (Figura 1A).

A porcentagem de enraizamento também foi influenciada pelas doses de AIB, cujo ajuste dos valores médios foi quadrático. Houve incremento máximo de 49% na dose estimada de 1,9 g L⁻¹ de AIB (Figura 1B). A mesma tendência apresentou a porcentagem de estacas calejadas, em que ocorreu incremento máximo de 30% de estacas com calo para dose estimada de 2,4 g L⁻¹ de AIB.

A porcentagem de estacas com brotos teve ajuste linear positivo. O aumento das doses de AIB ocasionou incrementos na razão de 5,1%, que atingiram o valor de 19% de estacas com brotos na dose de 4,0 g L⁻¹ de AIB.

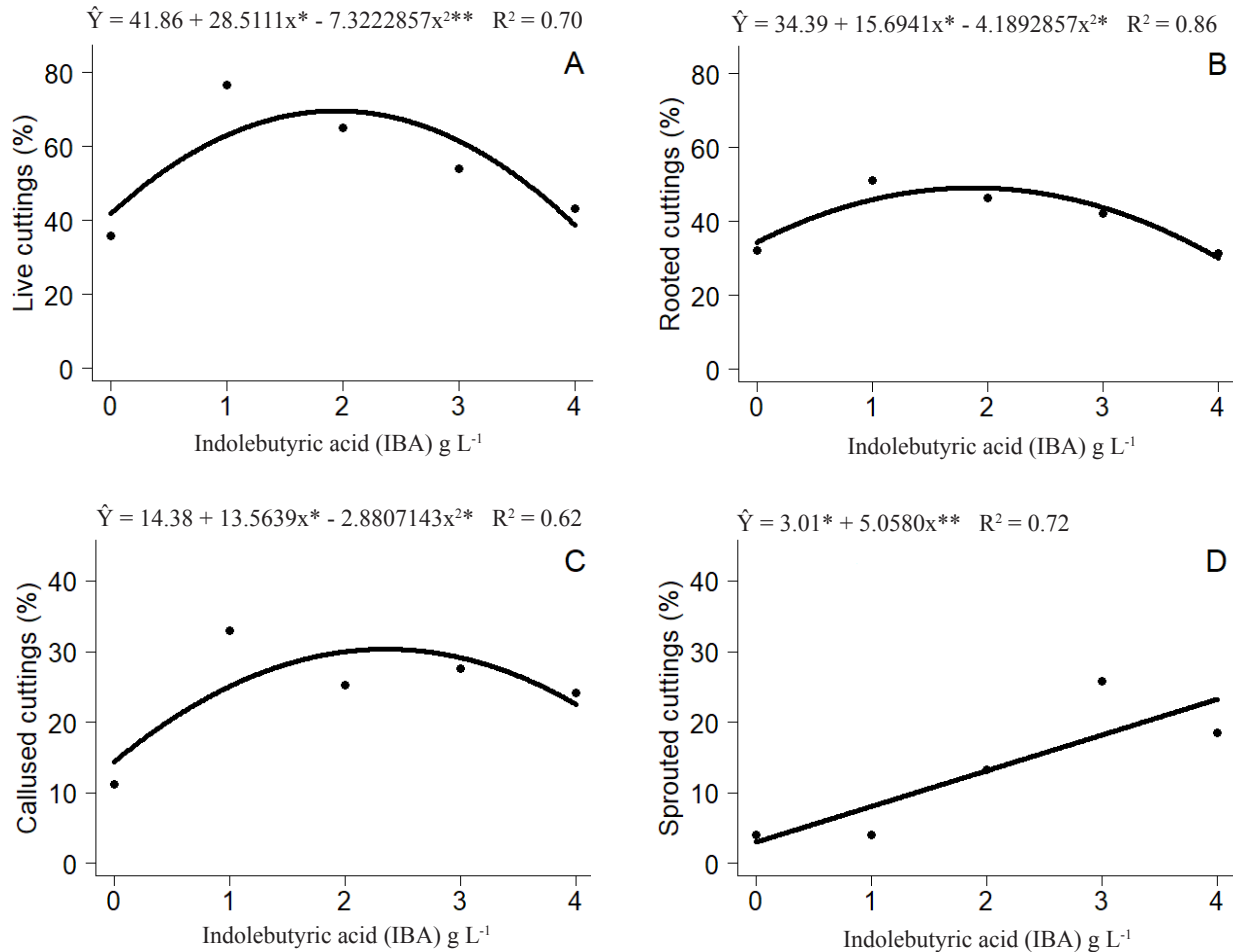


Figure 1 - Percentage of live cuttings (A), rooted cuttings (B), callused cuttings (C), and sprouted cuttings (D) using different concentrations of indolebutyric acid (IBA) for developing juvenile cuttings of Brazil nut trees.

Figura 1 - Percentagens de estacas vivas (A), com raízes (B), calos (C) e brotos (D), em função de concentrações crescentes de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de estacas juvenis de castanheira-do-brasil.

DISCUSSION

Cordeiro *et al.* (2016) reported that, in a subirrigation system, the survival of cuttings of Brazil nut trees ranged from 67 to 75% for untreated cuttings obtained from the basal and middle sections of the shoots, respectively. However, survival was 83 and 92% for cuttings obtained from the middle section and treated with 1.0 and 3.0 g L⁻¹ IBA for 1 seconds, respectively. The survival of cuttings treated with these two concentrations for 60 seconds was 83%.

Cordeiro *et al.* (2016) found that the survival of cuttings obtained from the basal section of shoots and treated with 1.0 and 3.0 g L⁻¹ IBA for 1 s was 75 and 17%, respectively, whereas the survival of cuttings treated with these two concentrations for 60 seconds was 83 and 92%, respectively.

DISCUSSÃO

Em estudo realizado por Cordeiro *et al.* (2016) em câmara de subirrigação, a sobrevivência das estacas de castanheira-do-brasil oscilou de 67 a 75% para estacas médias e basais sem tratamento, respectivamente. No entanto, a sobrevivência foi de 83 a 92% para estacas médias quando foram expostas por 1 segundo nas doses de 1,0 e 3,0 g L⁻¹ de AIB, respectivamente. É constante (83%) quando expostas por 60 segundos nessas duas concentrações.

Cordeiro *et al.* (2016) também constataram que a sobrevivência das estacas basais foi de 75 e 17% quando estiveram expostas por 1,0 segundo, a ambas concentrações de AIB (1,0 e 3,0 g L⁻¹, respectivamente). Entretanto, ao serem expostas a 60 segundos, nessas mesmas concentrações, a sobrevivência foi de 83 e 92%, respectivamente.

The percentage of rooting (50%) (Figure 1B) was similar to that found by Cordeiro *et al.* (2016) (58%) in juvenile cuttings obtained from the intermediate section of shoots treated with 1.0 g L⁻¹ IBA for 1 s but was higher than that for *Ficus carica* (DAHALL *et al.*, 2018). Santos *et al.* (2011) evaluated 20 forest species and observed that the percentage of rooting depended on the characteristics of each species.

In the present study, the percentage of rooting was 49% at a concentration of 1.9 g L⁻¹ IBA. Cordeiro *et al.* (2016) did not succeed in rooting Brazil nut trees cultivated in the absence of IBA, suggesting that intrinsic factors of the collected plant material determined this response. Tate and Page (2018) studied the species *Santalum austrocaledonicum* and found that that leaf retention was positively associated with the percentage of cuttings with adventitious roots. These results are relevant and promising because they show that Brazil nut cuttings can be rooted (albeit in low proportion) in the absence of IBA. However, further studies are necessary to assess the potential of plants that produce higher concentrations of auxins.

The rooting capacity of woody species and the potential of cuttings to form roots depend on the species and type of cultivation because of interactions between factors such as manipulation of the parent plant, nutritional status, harvesting period, age of the parent plant, cutting length and width, presence of leaves and buds, hormonal treatment, and reproductive phenology (SANTOS *et al.*, 2011).

Em relação ao enraizamento (Figura 1B), os resultados obtidos neste estudo (50%) são próximos (58%) aos encontrados por Cordeiro *et al.* (2016) em estacas juvenis de castanheira-do-brasil extraídas da seção média das plantas tratadas com a concentração de 1,0 g L⁻¹ de AIB por 1,0 segundo, sendo ainda superior aos resultados obtidos com a espécie *Ficus carica* (DAHALL *et al.*, 2018). Santos *et al.* (2011) mencionam que as características próprias de cada espécie também afetam o enraizamento das estacas, como verificado em seu estudo com 20 espécies florestais.

No presente estudo, foi obtida percentagem de enraizamento de 49% na concentração de 1,9 g L⁻¹ de AIB. Cordeiro *et al.* (2016) não obtiveram êxito para o enraizamento de castanheira-do-brasil quando cultivada na ausência de AIB. Isso sugere que fatores intrínsecos do material vegetal coletado determinaram esta resposta. Tate e Page (2018), estudando a espécie *Santalum austrocaledonicum*, reportaram que a retenção foliar está associada positivamente à percentagem de estacas com raízes adventícias. Esses resultados são importantes e promissores por evidenciarem que as estacas de castanheira-do-brasil apresentam enraizamento (ainda que em baixa proporção) na ausência de AIB, o que permitirá realizar novos testes para explorar o potencial dos brotos que apresentam maior produção de auxinas endógenas.

A capacidade de enraizamento de espécies lenhosas e o potencial de uma estaca em formar raízes variam com a espécie e o tipo de cultivo devido à interação de fatores como manipulação da planta matriz, bom estado nutricional, período de coleta e idade da planta matriz, comprimento e largura das estacas, presença de folhas e gemas, tratamento hormonal e fenologia reprodutiva (SANTOS *et al.*, 2011).

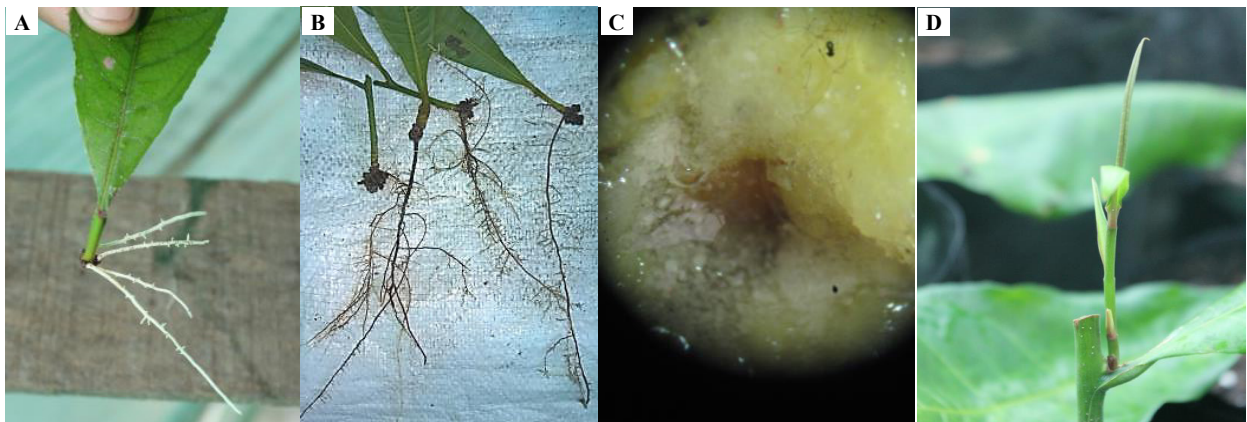


Figure 2 - Cuttings treated with different concentrations of indolebutyric acid at 105 days after rooting. (A and B) Cuttings treated with 1.0 g L⁻¹ at 105 days after rooting (B); (C) Callus formation, which precedes root formation; (D) Sprouting of cuttings of *Bertholletia excelsa* (D).

Figura 2 - Detalhes das estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico aos 105 dias.

(A e B) Estaca enraizada na concentração de 1,0 g L⁻¹ aos 105 dias (B); (C) vista da calogênese, processo prévio a rizogênese; (D) detalhe da brotação de estacas de *Bertholletia excelsa* (D).

The percentage of sprouting was lower than 20% at IBA concentrations higher than 2.0 g L⁻¹ (Figures 1D and 2D). Kala *et al.* (2017) showed that the percentage of sprouting (52%) in *Simarouba glauca* cuttings treated with 4.0 g L⁻¹ IBA was higher than the percentage of rooting (45%). Thakur *et al.* (2018) found that the percentage of sprouting (52%) was higher than the percentage of rooting (37%) in *Toona ciliata*. However, *Acacia catechu* cuttings treated with 8.0 g L⁻¹ of IBA did not produce roots, and the rate of sprouting was 78%. In our study, hormonal imbalance occurred at 1.0 g L⁻¹, which was the inflection point at which the number of primary leaves in cuttings decreased, and the average root length increased.

Callus development occurred at each evaluated IBA concentration. The percentage of callus formation was maximum (30%) at an IBA concentration of 2.4 mg L⁻¹, and this process ensures root formation (LEAKEY *et al.*, 1982). Hartmann *et al.* (2011) found that root formation (Figure 2C) in most plants did not depend on callus formation, and these two processes occurred simultaneously in conditions in which the internal and environmental conditions were similar. However, in some species, callus formation may precede the formation of adventitious roots. Therefore, callus formation and the development of adventitious roots in cuttings are independent and antagonistic. In *Prunus serrulata*, roots are formed without the development of calluses and their subsequent differentiation into roots (FRAGOSO *et al.*, 2017).

The results showed that the production of Brazil nut plants by vegetative propagation by cuttings using a subirrigation system was feasible. However, cutting development was slow. Further studies are necessary to validate this technique and make it available to producers. Moreover, it is crucial to evaluate other concentrations of IBA to increase rooting percentage and decrease the time of seedling production using cuttings.

IBA improved the development of seedlings of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). The percentage of survival, rooting, and callus formation in juvenile cuttings was higher at an IBA concentration of 1 g L⁻¹.

CONCLUSIONS

Indolebutyric acid (IBA) improved the analyzed characteristics for the development of seedlings of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*);

Juvenile cuttings presented higher rates of survival (70%), rooting (49%), and callus formation (30%) at IBA concentrations between 1.9 and 2.4 mg L⁻¹.

Em relação à percentagem de estacas com brotos nas doses superiores a 2,0 g L⁻¹ de AIB, foi evidenciada um percentual estimado de estacas com brotos inferior a 20% de brotação (Figuras 1D e 2D). Kala *et al.* (2017) mostraram que estacas de *Simarouba glauca* tratadas com 4,0 g L⁻¹ de AIB produziram mais brotação (52%) que enraizamento (45%). Thakur *et al.* (2018) alcançaram percentagem de brotação (52%) maior que a percentagem de enraizamento (37%) em *Toona ciliata*. No entanto, para estacas de *Acacia catechu*, tratadas com 8,0 g L⁻¹ de AIB, não conseguiram enraizamento, mas 78% de brotação. O desequilíbrio hormonal se apresenta na dose de 1,0 g L⁻¹ com o ponto de inflexão a partir do qual diminui o número de folhas primárias nas estacas e aumenta o comprimento médio das raízes.

Ainda assim, em cada concentração de AIB, evidenciou-se formação de calos, mas o máximo foi obtido na concentração de 2,4 mg L⁻¹ de AIB (30%), que é um processo que assegura a rizogênese (LEAKEY *et al.*, 1982). Segundo Hartmann *et al.* (2011), o processo de rizogênese (processo de formação de raízes) (Figura 2C) é independente na maioria das plantas, sendo que a ocorrência simultânea se deve à dependência de condições internas e ambientais similares. No entanto, em algumas espécies, a formação de calo pode ser precursora da formação de raízes adventícias. Nesse sentido, corresponde a um fenômeno independente e antagônico a presença de calo e a formação de raízes adventícias em estacas. Em *Prunus serrulata*, a formação de raízes ocorre diretamente sem requerimento da formação de calo e sua subsequente desdiferenciação e rediferenciação em raízes (FRAGOSO *et al.*, 2017).

Os resultados mostraram que a produção de plantas de castanheira-do-brasil, mediante propagação por estacas com o uso da câmara de subirrigação, é uma técnica viável, porém de desenvolvimento incipiente. Essa técnica requer novos ensaios para ser validada e disponibilizada aos produtores. Assim, é importante testar outras concentrações de AIB visando aumentar a percentagem de enraizamento e diminuir o tempo de produção de mudas por estacas.

O uso de AIB em diferentes concentrações influencia positivamente na formação de mudas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). As estacas juvenis apresentaram maior percentagem de sobrevivência, enraizamento e calos na concentração de 1 g L⁻¹ de AIB.

CONCLUSÕES

O uso de ácido indolbutírico (AIB) em diferentes concentrações influencia nas características estudadas para a formação de plântulas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa*);

As estacas juvenis de castanha-do-brasil mostraram maior percentagem de sobrevivência (70%), enraizamento (49%) e calos (30%) na concentração de 1,9 a 2,4 mg L⁻¹ de AIB.

CITED SCIENTIFIC LITERATURE

- ABANTO, R. C.; CHAGAS, E. A.; SANCHEZ-CHOY, J.; SANTOS, V. A. DOS; BARDALES-LOZANO, R. M.; SALDAÑA, R. G. Capacidad de enraizamiento de plantas matrices promisorias de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh en cámaras de subirrigación. **Revista Ceres**, v. 61, n. 1, p. 134-140, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2014000100018>
- 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v9i4.3025>
- AUCA, E. C.; DIONISIO, L. F. S.; BARDALES-LOZANO, R. M.; SCHWARTZ, G. Propagation of Brazil nut (Humb. y Bonpl.) seedlings using seeds in mini-greenhouses. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 12, n. 4, p. 300-313, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v12i4.5222>
- CAVALCANTE, P. B. 1996. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 6. ed. Belém: CNPq, Museu Paraense Emílio Goeldi. 279 p. (Coleção Adolpho Ducke).
- CORDEIRO, I. M.; LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA, F. D. A.; WENDLING, I. Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido indol-butírico. **Agrociência**, v. 50, n. 2, p. 227-238, 2016.
- CORVERA-GOMRINGER, R.; AUCA, E. C. Respuesta de las plantas de castaña amazónica *Bertholletia excelsa* a cuatro niveles de fertilización con nitrógeno, fosforo y potasio en la Amazonia peruana. **Folia Amazónica**, v. 21, n. 1-2, p. 101-108, 2012.
- DAHALE, M.; NINGOT, E. P.; DEEPA, N. M. Effect of Plant Growth Regulators on Rooting and Survival of Hard Wood Cuttings in Fig. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, p. 2386-2391, 2018.
- DIONISIO, L. F. S.; AUCA, E. C.; SCHWARTZ, G.; BARDALES-LOZANO, R. M.; AGURTO, J. J. M.; CORVERA-GOMRINGER, R. Seedling production of *Bertholletia excelsa* in response to seed origin and position inside fruit. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 3, e5662, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v14i3a5662>
- FRAGOSO, R. DE O.; STUEPP, C. A.; RICKLI, H. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; FRAGOSO, R. DE O.; KOEHLER, H. S. Maximum efficiency concentration of indole butyric acid in promoting the rooting of Japanese Flowering Cherry. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150894>
- 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-017-1355-3>
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. 8th Ed. New Jersey: Prentice Hall. 2011, 915pp.
- KALA, S.; REEJA, S.; KUMARAN, K. First Report on Success of Stem Cuttings on *Simarouba glauca*, Dc – An Easy Method for Mass Multiplication of Superior Mother Trees. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 2646-2653, 2017. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.308>
- LEAKEY, R.; CHAPMAN, V.; LONGMAN, K. Physiological studies for tropical tree improvement and conservation. Factors affecting root initiation in cuttings of *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. **Forest Ecology and Management**, v.4, n.1, p.53-66, 1982.
- MORI, S. A.; PRANCE, G. T. Taxonomy, ecology, and economy botany of the Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. and Bonpl.: Lecythidaceae). **Advances in Economic Botany**, v. 8, p. 130-150, 1990.
- MUÑOZ, M.; MOLIN, R. Effect of indole butyric acid (IBA) and cutting age on rooting in *Myrceugenia exsucca*. **BOSQUE**, v. 37, n.3, p. 637-641, 2016.
- NOGUEIRA, I. M. S.; LAHR, F. A. R.; GIACON, V. M. Desenvolvimento e caracterização de painéis de partículas aglomeradas utilizando o resíduo do ouriço da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) e resina poliuretana derivada do óleo da mamona. **Revista Matéria**, v. 23, n.1, p. e-11985, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620170001.0321>

- RUIZ-GARCÍA, R.; VARGAS-HERNANDEZ, J. J.; CETINA-ALCALA, V. M.; VILLEGAS-MONTER, A. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 28, n. 4, p. 319-326, 2005.
- SALOMÃO, R. P. A castanheira: história natural e importância socioeconômica. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Ciências Naturais**, v. 9, n. 2, p. 259-266, 2014.
- SANTOS, J. P.; DAVIDE, A. C.; TEIXEIRA, L. A. F.; MELO, A. J. S.; MELO, L. A. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. **Revista Cerne**, v. 17, n. 1, p. 293-301, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-77602011000300002>
- 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p37-40>
- SCOLES, R; GRIBEL, R. Population structure of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) stands in two areas with different occupation histories in the Brazilian Amazon. **Human Ecology**, v. 39, n. 4, p. 455-464, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10745-011-9412-0>
- SUJII, P. S.; MARTNS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populatons from the Amazon at diferent spatial scales. **Conservaton Genetcs**, v. 16, n. 4, p. 955-964, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10592-015-0714-4>
- TATE, H. T.; PAGE, T. Cutting propagation of *Santalum austrocaledonicum*: the effect of genotype, cutting source, cutting size, propagation medium, IBA and irradiance. **New forests**, v. 49, n. 4, p. 551-570, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11056-018-9638-4>
- THAKUR, L.; PARMAR, Y. S.; GUPTA, T.; KUMAR. Effect of growth regulators on sprouting and rooting behaviour in cuttings of *Acacia catechu* Willd. and *Toona ciliata* M. Roem. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 109, n. 1, p. 109–114, 2018.
- TONINI, H. Fenologia da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl., Lecythidaceae) no sul do estado de Roraima. **Cerne**, v. 17, n. 1, p. 123-131, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-77602011000100015>
- WADT, L. H. O.; FAUSTNO, C. L.; STAUDHAMMER, C. L.; KAINER, K. A.; EVANGELISTA, J. S. Primary and secondary dispersal of *Bertholletia excelsa*: Implicatons for sustainable harvests. **Forest Ecology and Management**, v. 415-416, p. 98-105, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2018.02.014>