

10  
2ej.



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

## TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS EN NOGAL DE CASTILLA (Juglans regia L.)

T E S I S

Que para obtener el título de:

INGENIERO AGRICOLA

P r e s e n t a :

**Jorge Cabadas Ayluardo**

Director de la Tesis:  
Ing. Francisco Cruz Pizarro

Cuautitlán, Izcalli, Estado de México

1986



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	Pag
INDICE DE CUADROS.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
I. RESUMEN.....	x
II. INTRODUCCION.....	1
2.1 Objetivos.....	2
III. REVISION DE LITERATURA.....	3
3.1 Características generales del nogal de Castilla.....	3
3.1.1 Importancia del cultivo del nogal.....	3
3.1.2 Descripción botánica.....	5
3.1.2.1 Clasificación taxonómica.....	5
3.1.2.2 Características generales de la planta....	6
3.1.2.3 Características del fruto y la semilla....	6
3.1.2.3.1 Características morfológicas y fisiológicas.....	6
3.1.2.3.2 Composición química.....	7
3.1.2.3.3 Composición nutritiva.....	8

	Pag
3.1.3 Principales variedades.....	9
3.2 Propagación por semilla.....	10
3.2.1 Características generales.....	10
3.3 Germinación.....	12
3.3.1 Características generales.....	12
3.3.2 Etapas de la germinación.....	12
3.3.2 Proceso de imbibición.....	13
3.3.4 Influencia de la posición de la semilla en la germinación del nogal de Castilla.....	15
3.3.5 Proceso de postmaduración en el nogal de Casti- lla.....	16
3.3.6 Tratamientos pregerminativos en el nogal de Cas- tilla.....	17
3.4 Latencia en semillas.....	18
3.4.1 Características generales.....	18
3.4.2 Tipos de latencia.....	21
3.4.3 Papel de los reguladores de crecimiento en la latencia.....	21

	Pag
3.4.3.1 Generalidades.....	21
3.4.3.2 Estudios relativos en el nogal de Casti- 11a.....	24
3.4.3.3 Estudios relativos en otras especies....	26
3.4.3.3.1 Promotores.....	26
3.4.3.3.2 Inhibidores.....	29
3.4.3.3.3 Interacción entre promotores e inhibidores.....	32
3.4.4 Utilización del bioensayo para detectar inhibi- dores.....	33
3.5 Conclusiones sobre la Revisión de Literatura.....	35
IV. MATERIALES Y METODOS.....	37
4.1 Prueba de Imbibición.....	37
4.1.1 Características y manejo de las nueces empleadas.	37
4.1.2 Realización de la prueba.....	38
4.1.3 Materiales.....	39
4.1.4 Toma de datos.....	39

	Pag
4.1.5 Análisis de datos.....	40
4.2 Tratamientos pregerminativos.....	40
4.2.1 Características y manejo de las nueces empleadas.	40
4.2.2 Diseño del experimento.....	41
4.2.3 Descripción de los tratamientos.....	42
4.2.3.1 Testigo.....	42
4.2.3.2 Remojos en agua (tratamientos 2 a 5).....	42
4.2.3.3 Remojos en ácido giberélico a 100 ppm (tratamientos 6 a 9).....	42
4.2.3.4 Remojos en agua a flujo constante (tratamientos 10 y 11).....	42
4.2.3.5 Remojo en ácido giberélico a 100 ppm y siembra inmediata (tratamiento 12).....	43
4.2.3.6 Estratificación (tratamientos 13 y 14).....	43
4.2.4 Siembra.....	43
4.2.4.1 Elaboración del sustrato de propagación....	43
4.2.4.2 Programación de la siembra.....	44
4.2.4.3 Desinfección de la semilla y fecha de siembra.....	44

	Pag
4.2.4.4 Posición de la semilla.....	44
4.2.5 Manejo del experimento.....	45
4.2.6 Materiales.....	45
4.2.7 Toma de datos.....	46
4.2.8 Análisis de los datos.....	47
4.2.8.1 Porcentaje de germinación.....	47
4.2.8.2 Precocidad de la germinación.....	47
4.2.8.3 Vigor de las plántulas.....	47
4.3 Bioensayo.....	47
4.3.1 Generalidades.....	47
4.3.2 Especies utilizadas.....	48
4.3.3 Diseño del experimento.....	48
4.3.4 Materiales.....	49
4.3.5 Toma de datos.....	50
4.3.6 Análisis de los datos.....	50
V. RESULTADOS Y DISCUSION.....	51

	Pag
5.1 Prueba de imbibición.....	51
5.2 Tratamientos pregerminativos.....	53
5.2.1 Porcentaje de germinación.....	53
5.2.2 Precocidad.....	63
5.2.3 Vigor de las plántulas.....	67
5.3 Bioensayo.....	70
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
APENDICE.....	75
BIBLIOGRAFIA.....	78



## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pag
1 Principales países productores de nuez de Castilla en 1983.....	3
2 Principales estados productores de nuez de Castilla en 1981.....	4
3 Clasificación taxonómica del nogal de Castilla.....	5
4 Composición nutritiva del nogal de Castilla.....	8
5 Principales variedades de nogal de Castilla en Estados Unidos.....	9
6 Especies frutales de clima templado que se propagan por semilla.....	11
7 Características de las nueces empleadas en la prueba de imbibición.....	38
8 Comparación de medias para la variable porcentaje de germinación a los 22 días de siembra, en 14 tratamientos <u>pre</u> germinativos en nogal de Castilla.....	57
9 Comparación de medias para la variable porcentaje de germinación a los 36 días de siembra, en 14 tratamientos <u>pre</u> germinativos en nogal de Castilla.....	60
10 Comparación de medias para la variable días a 75% de germinación, en 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	66

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Pag
1	Corte transversal de la nuez de Castilla.....	7
2	Germinación acumulativa en relación al porcentaje de plántulas de nogal de Castilla consideradas con desarrollo normal, después de una estratificación a 0°C.....	25
3	Relación entre el transcurso de la estratificación y los niveles de ácido abscísico en las semillas de nogal.....	26
4	Corte transversal de la charola de siembra.....	44
5	Curvas de imbibición de dos tamaños de semilla (chica y grande), de nogal de Castilla.....	52
6	Porcentajes de germinación a los 10 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	54
7	Porcentajes de germinación a los 22 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	55
8	Porcentajes de germinación a los 36 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	59
9	Número de días para alcanzar 75% de germinación, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	64
10	Porcentaje de plántulas poco desarrolladas a los 78 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.....	68

Cuadro		Pag
11	Prueba de Bioensayo. Porcentajes de germinación alcanzados a las 48 horas de siembra.....	71

#### APENDICE

Número		Pag
1	Análisis de Varianza para los porcentajes de germinación obtenidos a los 22 días de siembra, utilizando medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.....	76
2	Análisis de Varianza para los porcentajes de germinación obtenidos a los 36 días de siembra, utilizando medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.....	76
3	Análisis de Varianza para los días a 75% de germinación utilizando medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.....	77

## I. RESUMEN

Los objetivos del presente estudio fueron: obtener un modelo (curva), de imbibición para dos tamaños de nuez de Castilla (Juglans regia L.), determinar el comportamiento de los inhibidores de la germinación de la semilla mediante un bioensayo, y conocer cuál era el mejor tratamiento pregerminativo, de una serie de 14, que permitiera obtener buenos porcentajes de germinación y plántulas vigorosas. Los estudios se llevaron a cabo en Juchitepec, Edo. de México, en donde también se colectaron las nueces.

Las curvas de imbibición obtenidas muestran un rápido incremento inicial de la absorción de agua que después tiende a estabilizarse. Esto fue consecuencia de los cambios de potencial hídrico en las nueces y de su estructura. Las nueces grandes absorbieron más agua que las chicas en relación a su peso, debido a que presentan mayor rugosidad en su superficie, y por lo tanto, mayor área de contacto con el agua.

Los resultados de las pruebas de tratamientos pregerminativos permiten dividir a estos en tres grupos: a) aquellos que produjeron gran número de plántulas vigorosas (estratificación durante 30 días a 5°C, sola y previo remojo en ácido giberélico a 100 ppm, y remojo en flujo continuo de agua durante 24 y 48 horas), b) otros que produjeron un buen número de plántulas precoces pero poco desarrolladas (testigo, inmersión en ácido giberélico a 100 ppm durante 12, 24, 36 y 48 horas, e inmersión en á-

cido giberélico a 100 ppm y siembra inmediata), y c) un último grupo de plantas tardías y poco desarrolladas (remojo en agua en un recipiente durante 12, 24, 36 y 48 horas).

Se encontró que la causa del comportamiento anterior fue la presencia de un inhibidor de la germinación soluble en agua y que se concentró mayormente en la cubierta de la nuez. Este inhibidor se identificó en base a sus características como ácido abscísico.

Los resultados del bioensayo en las semillas de rabanito, frijol y avena reafirmaron los enunciados anteriores, aunque las semillas de frijol manifestaron la habilidad de desactivar parcialmente al inhibidor, lo que no sucedió con las otras.

Se concluyó, por lo tanto, que para obtener buenos porcentajes de germinación y plantas de nogal vigorosas, se recomienda utilizar la estratificación de las nueces a 5°C durante 30 días previo remojo en ácido giberélico a 100 ppm, o su lavado en flujo de agua corriente durante 48 horas, ya que fueron los tratamientos estadísticamente superiores a los demás en todos los aspectos.

## II. INTRODUCCION

El nogal de Castilla (Juglans regia L.), es un frutal muy reddituable, con producciones que alcanzan alto valor en el mercado. Por ello puede representar una alternativa para aquellos productores agrícolas con reducidas extensiones de tierra que tienen que intensificar su producción para obtener los mayores rendimientos posibles por unidad de área, alcanzando de esta forma ingresos superiores a los que podrían proporcionar los cultivos anuales como maíz y frijol.

Para la propagación del nogal de Castilla, el método que normalmente se ha empleado es la utilización de semillas, ya que es una especie que no responde al estacado. Sin embargo, la semilla presenta una sustancia inhibidora que impide su pronta germinación, y por ello la obtención de plantas se dificulta. Esta inhibición de la germinación es una estrategia adaptativa de la mayoría de los frutales de zonas templadas, que de esta forma se protegen internamente de las condiciones adversas a las que se enfrentarían si germinaran inmediatamente, como son las bajas temperaturas invernales.

Para acelerar la germinación de estas especies, a través de los años se han desarrollado, tanto empírica como científicamente, una serie de prácticas conocidas como tratamientos pregerminativos, las cuales han sido probadas en las diversas especies frutales. No obstante, en México no existe ningún estudio de este tipo sobre el nogal de Castilla, lo cual es una deficiencia que el presente trabajo pretende cubrir.

Por otro lado, la importancia de obtener plantas por semilla, además de ser el método regularmente empleado en el nogal de Castilla, radica en que esas plantas, cuando se obtienen de semillas criollas, sirven como buenos portainjertos de variedades con altos rendimientos de buena calidad, dadas su elevada rusticidad y gran variabilidad genética que les brindan resistencia a todo tipo de condiciones ambientales. Por ello el presente estudio se realizó con nueces colectadas en la localidad de Juchitepec, Edo. de México, lugar donde también se llevó a cabo la mayor parte del presente trabajo.

Por último, también se pretende conocer cómo se da el proceso de imbibición (absorción de agua por parte de la semilla), en esta especie frutal, pues este es el fenómeno que en última instancia desencadena la germinación.

## 2.1 Objetivos

- Conocer cuál es el tratamiento pregerminativo en nogal de Castilla (Juglans regia L.), que permite obtener, a través de semillas, el mayor número de plántulas vigorosas y sanas en el menor tiempo posible.
- Determinar el comportamiento de los inhibidores de la germinación en el nogal de Castilla, por medio de la realización de un bioensayo.
- Obtener un modelo del proceso de imbibición de la semilla de nogal de Castilla.

### III. REVISION DE LITERATURA

#### 3.1 Características generales del nogal de Castilla

##### 3.1.1 Importancia del cultivo del nogal.

De acuerdo a FAO (1983), a nivel mundial en ese año se produjeron 748 204 toneladas métricas de nuez de Castilla, siendo los principales países productores los siguientes.

Cuadro 1. Principales países productores de nuez de Castilla en 1983.

Pafs	Producción <u>1/</u>
Estados Unidos	172 360
Turquía	120 880
China	120 000
U.R.S.S.	57 000
Italia	48 500
Rumanía	40 000
Yugoslavia	37 400

1/ Producción en toneladas métricas.

FUENTE: FAO (1983).



S.A.R.H. (1981), reporta para México en ese último año una superficie cosechada de nogal de Castilla de 1 223 Has, con una producción total de 5 985 Ton., y un rendimiento promedio por Ha de 4.89 Ton. Los principales estados productores fueron los siguientes.

Cuadro 2. Principales estados productores de nuez de Castilla en 1981.

Estado	Superficie cosechada <u>1/</u>	Producción <u>2/</u>
México	400	2448
Hidalgo	438	1972
Morelos	80	629
Tamaulipas	128	512
Puebla	54	179
Veracruz	52	156
Michoacán	19	49

1/ Superficie cosechada en hectáreas.

2/ Producción en toneladas métricas.

FUENTE: S.A.R.H. (1981).

De acuerdo a la misma fuente, la superficie cosechada representó el 0.006% del total nacional, mientras que el valor de la producción repre-

sentó el 0.08%. Como se puede observar, el valor de la producción per cápita, proporcionalmente, en mucho mayor medida (más de 13 veces), que la superficie cosechada en el total nacional, lo cual es un indicador de la alta rentabilidad de este cultivo por unidad de superficie.

### 3.1.2 Descripción botánica.

#### 3.1.2.1 Clasificación taxonómica.

Lawrence (1963), indica la siguiente clasificación taxonómica para el nogal de Castilla.

Cuadro 3. Clasificación taxonómica del nogal de Castilla.

---

Reino	Vegetal
División	Embryophyta Siphonogama
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Orden	Juglandales
Familia	Jugladiaceae
Género	<u>Juglans</u>
Especie	<u>Juglans regia</u> L.

---

FUENTE: Lawrence (1963).

### 3.1.2.2 Características generales de la planta.

El nogal de Castilla, también llamado inglés o persa, es originario del Caúcaso y de la región situada al este de Manchuria y Corea (Westwood, 1982). Este mismo autor ofrece la siguiente descripción de la planta de nogal.

Son árboles de hoja caduca, con ramas que tienen la médula tabicada. El tronco es liso o con escamas y la corteza asurcada. Las yemas tienen pocas brácteas, son sésiles y rara vez presentan un peciolo corto. Las hojas son alternas, imparipinnadas, grandes y aromáticas, con estípulas y peciolos opuestos, aserradas o enteras. Las flores aparecen antes que las hojas y son monoicas; las flores estaminadas se encuentran en amentos péndulos que están en posición lateral sobre brotes del año anterior y cada uno de los cuales contiene una bráctea que lleva de 8 a 40 estambres, 2 bracteolas y un caliz con 1 a 4 lóbulos. Las flores pistiladas se presentan en cantidades variables en racimos terminales, y están formadas por un cáliz tetralobulado e involucre tribulado, constituido por una bráctea y dos bracteolas. El estilo está dividido en dos estigmas plumosos.

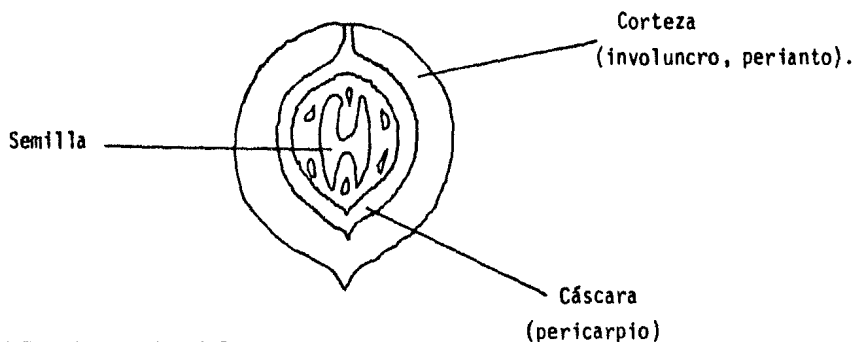
### 3.1.2.3 Características del fruto y la semilla.

#### 3.1.2.3.1 Características morfológicas y fisiológicas.

El fruto del nogal de Castilla (Westwood, 1982), es botánicamente conocido como núcula y deriva de la fusión del ovario con el perianto.

Es indehisciente, con gruesos tabiques y de 2 a 4 celdas incompletas, indehiscientes o finamente separadas en dos valvas (figura 1).

Figura 1. Corte transversal de la nuez de Castilla.



FUENTE: Westwood, 1982.

Las semillas, según el mismo autor, tienen de 2 a 4 lóbulos que permanecen dentro de la cáscara durante la germinación. Sus necesidades de frío (estratificación) para germinar son de 30 a 60 días a una temperatura óptima de 5°C. Una vez pasada la estratificación, germina en un periodo de 20 días. Si no pierde la humedad conserva su viabilidad de 1 a 3 años.

#### 3.1.2.3.2 Composición química.

De acuerdo a Furuuchi et al (1981), la composición química de la semilla de nogal es de 66.7% de aceite, 13.2% de proteína y 2.8% de hidratos de carbono, en el cultivar Shinano Gurumi.

### 3.1.2.3.3 Composición nutritiva.

Watt y Merrill, citados por Westwood (1982), señalan la siguiente composición nutritiva para el fruto del nogal de Castilla.

Cuadro 4. Composición nutritiva de la nuez de Castilla.

Nutriente	Cantidad <u>1/</u>
Agua	3.5 %
Calorías	651.0
Proteínas	14.8 g
Grasas	64.0 g
Carbohidratos	15.8 g
Vitamina A	30.0 U.I.
Tiamina B <sub>1</sub>	0.33 mg
Rivoflavina (B <sub>2</sub> )	0.13 mg
Niacina	0.9 mg
Acido Ascórbico	2.0 mg
Calcio	99.0 mg
Fósforo	380.0 mg
Hierro	3.1 mg
Potasio	450.0 mg

1/ Cantidades de nutrientes por 100 gr de porción comestible.

FUENTE: Watt y Merrill, citados por Westwood, (1982).

### 3.1.3 Principales variedades.

Westwood (1982), menciona que la mayoría de los nogales de Castilla comunes son autofértiles, pero muchos cultivares desprenden su polen antes de la apertura de las flores femeninas, lo que hace necesaria la presencia de cultivares polinizadores en la plantación, es decir, de varios cultivares por huerta. De ahí la importancia de conocer las variedades o cultivares.

Jaynes (1981), considera que las principales variedades de nogal de Castilla en Estados Unidos son las siguientes (en orden alfabético).

Cuadro 5. Principales variedades de nogal de Castilla en Estados Unidos.

---

Amigo	Fately S	Mayette
Ashley	Fickes	Mc Kinster
Asworth	Franquette	Merkel
Broadview	Hansen	Metcalf
Burtner	Harrison	Payne
Chico	Hartley	Sigler
Cobles Z	Helmle	Somers
Colby	Lake	Spurgeon
Eureka	Letsche	Vpi

---

FUENTE: Jaynes (1981).

CODAGEM (1979), reporta para el Estado de México las selecciones Soyatzingo y Amanalco, siendo el ejemplar típico de esta última un árbol vigoroso, muy fértil, de fácil adaptación, con resistencia a las granizadas y de fruto con gran valor comercial.

### 3.2 Propagación por semilla

#### 3.2.1 Características generales.

Westwood (1982), considera que los cultivares utilizados como patrones y variedades no se perpetúan fielmente por semilla, y debido a ello se propagan vegetativamente (por vía asexual). Sin embargo, la propagación sexual es una práctica común que se utiliza para obtener porta injertos francos sobre los que se pueden injertar las variedades deseadas.

Hartmann y Kester (1984), mencionan que la mayor parte de los árboles y arbustos son heterocigotos y de polinización cruzada, y tienen un potencial considerable de variabilidad genética. En consecuencia, pueden producir variabilidad en las plántulas que se obtengan de ellos y no transmitir fielmente a sus descendientes los caracteres paternos. El control de estos problemas y el mejoramiento de los cultivos pueden lograrse haciendo prácticas específicas de selección de semilla.

Westwood (1982), indica que se pueden propagar (y constituye la mayoría de las veces una práctica normal) por semilla las especies fruta-

les de clima templado que se señalan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Especies frutales de clima templado que se propagan por semilla.

Especie	Nombre científico
Almendro	<u>Prunus</u> <u>amigdalus</u> L.
Castaño	<u>Castanea</u> <u>vulgaris</u> Lum.
Cerezo	<u>Prunus</u> <u>avium</u> L.
Chabacano	<u>Prunus</u> <u>armenaica</u> L.
Durazno	<u>Prunus</u> <u>persica</u> L.
Manzano	<u>Malus</u> <u>communis</u> D. C.
Nogal de Castilla	<u>Juglans</u> <u>regia</u> L.
Peral	<u>Pyrus</u> <u>communis</u> L.
Pistacho	<u>Pistacia</u> <u>vera</u> L.

FUENTE: Westwood (1982).

De acuerdo a CODAGEM (1984), el nogal de Castilla tiene dificultades para la multiplicación vegetativa (ácodos, estacas), por lo que se requiere de la reproducción por semillas, teniendo en cuenta las de mejor tamaño, sanas y procedentes de una huerta lo menos afectada posible por plagas y enfermedades, y de rendimientos normales.



Según Hartmann y Kester (1984), los cultivares de nogal de Castilla se propagan por injerto de parche o inglés, sobre patrones procedentes de semilla de un año, o por injerto en árboles de 1 a 4 años de edad, establecidos por medio de semilla en su lugar definitivo.

### 3.3 Germinación

#### 3.3.1 Características generales.

Jann y Amen (1977), indican que, morfológicamente, la germinación es la transformación de un embrión en plántula. Fisiológicamente, la germinación es la reanudación del metabolismo y del crecimiento que fue anteriormente deprimido o suspendido, y el inicio de la transcripción del genoma. Bioquímicamente, la germinación es la diferenciación secuencial de vías oxidativas y sintéticas. Por consiguiente, la germinación es, esencialmente, la inducción del eje del embrión al crecimiento de un estado en que fue temporalmente suspendido, y la iniciación de programas genéticos nuevos.

#### 3.3.2 Etapas de la germinación.

Para Hartmann y Kester (1984), el proceso de la germinación consta de tres etapas básicas. En la primera o imbibición, la semilla seca absorbe agua, imbibándose los coloides y activándose los componentes del sistema sintetizador de proteínas de las células (esto es, diversas moléculas de ADN, ARNm y ARNt). Las ligaduras de gran energía del trifosfato

de adenosina o ATP, que se encuentra en las mitocondrias, se vuelve disponible para que sucedan esas síntesis. El segundo estado de la germinación significa digestión y traslocación. La absorción de agua y la respiración ahora continúan a un ritmo constante, ya que los sistemas celulares se han activado y los sistemas de síntesis de proteínas están funcionando para producir nuevas enzimas, materiales estructurales, ácidos nucleicos, etc., para efectuar las funciones celulares y sintetizar nuevos materiales. Las enzimas empiezan a digerir las materias de reserva contenidas en los tejidos de almacenamiento a compuestos químicos más sencillos, que luego serán trasladados a los puntos de crecimiento del eje embrionario para usarse en el crecimiento y la formación de nuevas partes de la planta. El tercer estado de la germinación consiste en la división celular en los puntos de crecimiento separados del eje embrionario, seguido de la expansión de las estructuras de la plántula. La respiración, medida por la absorción de oxígeno, aumenta en forma constante con el avance del crecimiento.

### 3.3.3 Proceso de imbibición.

Young et al (1983), señalan que un aspecto importante de las relaciones de humedad en la germinación de la semilla es la absorción de agua. Este proceso de imbibición es pasivo, es decir, el movimiento de agua hacia dentro de la semilla es debido enteramente a diferencias en el potencial hídrico entre la semilla y el medio que la rodea. En general, el potencial hídrico de las semillas desecadas es más bajo que el

del suelo húmedo, así que el agua se mueve en dirección del potencial hídrico menor, en otras palabras, del suelo a la semilla. Por ejemplo, en las etapas tempranas de absorción de agua, la diferencia entre el potencial hídrico de la semilla y el del suelo es de aproximadamente 1000 bares. Sin embargo, cuando la semilla absorbe más agua, suceden dos cosas. Primero, el potencial hídrico de la semilla se incrementa, por lo tanto, la diferencia de potenciales decrece; segundo, la conductividad hidráulica se incrementa y lentamente se aproxima a la del medio externo.

Jann y Amen (1977), mencionan que antes de la reanudación de actividades de crecimiento por una semilla germinable, la imbibición en agua es esencial debido a que las semillas, tanto latentes como quiescentes, están altamente desecadas.

Crocker y Barton (1957), indican que hay una gran irregularidad en el rango de absorción de humedad por el material vegetal. En una gran variedad de materiales que incluyeron cotiledones de chícharo, granos de maíz, semillas de Xanthium, Gossypium e Hibiscus, además de tejidos de Auricularia, determinaron que el rango de absorción es rápido al principio y gradualmente disminuye en cuanto más agua se absorbe, hasta que finalmente se aproxima a cero cuando los tejidos están saturados.

Para Hartmann y Kester (1984), una curva de absorción de agua por las semillas tiene tres partes: a) una absorción inicial rápida, en la

cual la mayor parte es de imbibición, b) un periodo de absorción lento y c) un segundo incremento al emerger la radícula y desarrollarse la plántula. Debido a su naturaleza coloidal, las semillas secas tienen un gran poder de absorción de agua, dependiendo de la naturaleza de la semilla, la disponibilidad de agua en el medio circundante y la temperatura.

De acuerdo a Mayer y Poljakoff (1975), el primer proceso que ocurre durante la germinación es la absorción de agua o imbibición, el cual es un fenómeno físico que está relacionado con las propiedades de los coloides hidrofílicos. Durante la imbibición, las moléculas de agua entran en la sustancia que las está absorbiendo, hinchándola y causando solvatación de las partículas. Por otro lado, el agua también ocupa los espacios capilares libres. El grado con que la imbibición ocurre está determinado por tres factores: la composición química de la semilla, la permeabilidad de la semilla o fruto al agua, y la disponibilidad de agua en el medio, en forma gaseosa o líquida.

#### 3.3.4 Influencia de la posición de la semilla en la germinación del nogal de Castilla.

Komanich (1977), aplicó 4 diferentes posiciones de semilla en el nogal de Castilla: a) verticalmente con el ápice o punta hacia abajo, b) verticalmente con la punta hacia arriba, c) horizontalmente, y d) sobre los lados. La posición de siembra tuvo poco efecto en la calidad de

las plántulas si la semilla era de buena calidad, mientras que la semilla de calidad pobre resultó en plántulas con el tallo y las raíces distorcionadas.

Gangwar y Kumar (1975), indican que semillas de nogal de Castilla de tamaño mediano (3 a 4 cm de longitud), dieron una germinación de 90% comparada con 71% para semillas más pequeñas y 85% para semillas de tamaño mayor. La germinación fue de 87.3% para semillas sembradas en posición vertical y de 76.77% en aquellas colocadas horizontalmente.

Tinko (1963), al efectuar repetidas pruebas con plántulas de nogal de Castilla plantadas en 4 diferentes posiciones, encontró que el mayor porcentaje de germinación y el mejor crecimiento de raíz y tallo, resultaron de nueces colocadas paradas, para que pudieran romperse verticalmente y la radícula y la plúmula emergieran derechas.

### 3.3.5 Proceso de postmaduración en el nogal de Castilla.

Vishanska et al (1980), señalan que fueron registrados cambios en los contenidos de los ácidos grasos en el aceite de muestras tomadas durante el periodo de postmaduración de la nuez de Castilla. El ácido linoleico en el aceite disminuyó de un máximo de 52.8% a un 47.2% en la cosecha, el ácido linolénico de un 21.4% a un 17.9% y el ácido palmítico de un 15.1% a un 8.7%. Los ácidos oleico y esteárico incrementaron de 9.7% a 22.0% y de 1.0% a 4.2%, respectivamente.

Kawecki y Kaworski (1975), llevaron a cabo un estudio entre octubre y febrero en nueces de Castilla estratificadas a 5°C. Durante el rompimiento de la latencia hubo un decremento en el peso de la materia seca y en el contenido de grasa cruda, y fue observado un incremento en el número de ácidos grasos.

Kawecki y Smoczynski (1976), encontraron, al examinar el aceite de la nuez de Castilla, que la grasa cruda y su fracción neutral contenían 7 ácidos saturados y 4 insaturados. También observaron un incremento de los ácidos insaturados conforme el rompimiento de la latencia progresaba, en tanto que la cantidad de ácidos saturados disminuía.

### 3.3.6 Tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla.

De acuerdo a Hartmann y Kester (1984), las semillas de nogal de Castilla germinan sin tratamiento de frío, aunque un periodo de estratificación a una temperatura de 2 a 4°C acelera su germinación.

Según Wooddroof (1979), bajo condiciones de invernadero las nueces de Castilla pueden ser estratificadas (colocándolas entre capas de arena o musgo), en el otoño, y plantadas a principios de la primavera. Si las semillas nunca pierden su humedad germinarán en el lapso de dos meses después de la siembra, o tan pronto como el suelo se caliente. Si se permite que se sequen, no germinarán por otro año, pudriéndose muchas en el intervalo.

Memmedov (1977), al probar diversos tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla, encontró que los dos mejores métodos fueron: a) estratificación durante 100-110 días y siembra a principios de abril, o b) remojado en agua corriente durante 7 días y siembra en la misma fecha. En a) y b) la germinación fue de 86-89% y 83%, respectivamente.

Gutenev y Bogorodiskii (1975), trabajando con imbibición forzada al vacío en varias especies frutales (nogal de Castilla, chabacano, cereza, manzana y pera), obtuvieron que para el nogal este método fue considerablemente más efectivo (20%), que la estratificación.

En Asia Central, Rovskij y Samsiev (1956), estratificaron en arena nueces de Castilla a 5-10°C durante 54 días, obteniendo una germinación de 65%. También trataron otras nueces colocándolas 14 días en agua, obteniendo un 43% de germinación, en comparación con el testigo sin tratar que dió 38%. Cuando las nueces estratificadas fueron acolchadas con una capa de 3 cm de aserrín, inmediatamente después de la siembra, la germinación se incrementó a 71-79% y la emergencia de las plántulas fue anticipada.

### 3.4 Latencia en semillas.

#### 3.4.1 Características generales.

Koller et al (1962), señalan que la incapacidad para germinar, excepto bajo condiciones ambientales especiales, es comúnmente conocida como

latencia, aunque el significado de este término es vago y frecuentemente engañoso, a causa de su uso indiscriminado y la falta de un criterio establecido. En muchos casos, los tejidos que envuelven al embrión están involucrados en la latencia. La categoría mejor conocida es la de cubiertas impermeables al agua y a la difusión gaseosa (de  $O_2$  principalmente). En otros casos están involucrados inhibidores endógenos de la germinación.

Para Nikolaeva (1977), la habilidad de las semillas para mantener su viabilidad por periodos prolongados de tiempo sin germinar es una de las propiedades adaptativas más importantes de las plantas. Esto les permite sobrevivir durante las condiciones ambientales adversas, y por medio de esto las prepara para almacenarse en el suelo. Hay dos rutas para la manifestación de esta estrategia. Una es la quiescencia, por ejemplo, la no germinación de las semillas debido a la ausencia de condiciones ambientales adecuadas. La causa más usual de este tipo de comportamiento es el bajo contenido de humedad de la semilla madura. De manera diferente, y de mayor interés es, sin embargo, la segunda ruta: la latencia. Esto se refiere a las propiedades intrínsecas de la semilla, y los factores que la determinan son diversos.

De acuerdo a Jann y Amen (1977), la germinabilidad es la capacidad del embrión para reanudar las actividades de crecimiento que fueron suspendidas con anterioridad (por ejemplo, división celular). Es conveniente distinguir entre dos formas de suspensión de crecimiento por el em-



brión. La suspensión impuesta por condiciones ambientales no favorables, que se designa como quiescencia, y la suspensión del crecimiento por inhibición endógena activa, que se designa con el nombre de latencia. Una semilla quiescente germina rápidamente con suficiente humedad y temperatura favorable. Una semilla latente, sin embargo, no germinará aún bajo condiciones favorables, y requiere un estímulo específico que no es constante, pero que inicia la germinación. Los agentes iniciadores de la germinación son factores ambientales periódicos que se refieren a las condiciones inhibitorias. Los mecanismos comunes de inhibición en la latencia de las semillas incluyen: cubiertas de la semilla impermeables, requerimientos de postmaduración y sensibilidad a la luz. Algunos agentes iniciadores correspondientes incluyen ruptura mecánica de la cubierta de la semilla, estratificación, cambios repetidos de temperatura, tratamientos con oxidantes, y luz roja.

Hartmann y Kester (1984), reportan que las semillas de la mayoría de las plantas son incapaces de germinar cuando están encerradas dentro del fruto fijado a la planta madre, o por un periodo de tiempo después de la maduración del fruto y de la dispersión de la semilla. De las semillas cuya germinación está impedida por sus propios mecanismos internos se dice que son latentes. Si las semillas son capaces de germinar de inmediato cuando se les expone a las condiciones ambientales adecuadas se dice que presentan quiescencia. La diferencia entre las semillas latentes y quiescentes estriba en que en las primeras el control de la germinación se debe a mecanismos internos de la semilla, y en las segun

das a factores ambientales externos a las mismas.

Khan (1977), enumera una serie de factores relevantes en la latencia: 1) los efectos de barrera de las cubiertas de las semillas y cambios en su permeabilidad, 2) presencia y ausencia de inhibidores, 3) papeles selectivos de las hormonas, 4) formas activa e inactiva del fitocromo, y 5) cambios en las vías oxidativas y moleculares.

#### 3.4.2 Tipos de latencia.

Para Koller *et al* (1962), hay dos tipos de latencia: primaria, que describe la latencia en el momento de la maduración o cosecha, y secundaria o inducida, que aparece cuando se presenta la germinación bajo condiciones desfavorables. La latencia primaria es de valor para la supervivencia de las especies, tal como lo indica su permanencia entre las variedades silvestres de plantas cultivadas. Similarmente, la latencia inducida es importante para la sobrevivencia y longevidad de la semilla.

#### 3.4.3 Papel de los reguladores de crecimiento en la latencia.

##### 3.4.3.1 Generalidades.

Weaver (1976), indica que hay una teoría que sostiene que durante la latencia se presenta una interacción entre giberelinas y ácido abscísico. Según esta teoría, la inducción al reposo lleva consigo niveles

elevados de ácido abscísico y bajos niveles de giberelinas; no obstante, al terminar el reposo lo que ocurre es lo inverso. Por ello, remojar las semillas en giberelinas o recubrirlas con una lechada que contenga este regulador de crecimiento, hará que frecuentemente se acelere la germinación.

Existen inhibidores de la germinación tanto en la cubierta de la semilla como en el embrión. En ambos casos parece tratarse del ácido abscísico (ABA), que también se ha mostrado como un importante inhibidor durante el periodo de reposo de las yemas. Los inhibidores de la cubierta de la semilla son eliminados mediante repetidos lavados en agua, pero los del embrión parecen ser eliminados sólo por la acción fisiológica del frío.

Khan (1968), indica que la germinación de las semillas puede ser controlada por la aplicación de reguladores de crecimiento exógenos a concentraciones fisiológicas, y que por lo tanto es posible que el control natural de la germinación y de la dormancia involucre una interrelación de hormonas, tanto promotores como inhibidores, que pueden resultar en sinergismo, antagonismo o efectos aditivos.

Jann y Amen (1977), señalan que la germinación casi siempre puede ser inhibida por la aplicación de ácido abscísico exógeno y frecuentemente por auxinas o etileno. El ácido abscísico presumiblemente evita la germinación reprimiendo genes o evitando la acción de otras hormonas.

Hay evidencias (Walton, 1977), de que el ácido abscísico inhibe la síntesis de enzimas específicas necesarias para el inicio de la germinación, por medio de la inhibición de su traslocación a partir del ARN mensajero. No se ha concluido en que si el ácido abscísico regula la síntesis de esas enzimas, pero los resultados son muy alentadores porque sugieren los mecanismos por los cuales el ácido abscísico puede afectar los procesos fisiológicos a nivel bioquímico. Por otro lado, se ha demostrado, utilizando ácido abscísico marcado radioactivamente, que las semillas contienen una cantidad considerable de este inhibidor.

De acuerdo a Addicot y Lyon (1969), la fuerte estimulación de la síntesis de la  $\alpha$ amilasa que realiza el ácido giberélico en capas de aleurona aisladas de cereales, es impedida por cantidades muy pequeñas de ácido abscísico, el cual parece también influir en la síntesis de proteasas, ribonucleasas y probablemente todas las enzimas hidrolíticas cuya síntesis en las capas de aleurona es promovida por el ácido giberélico. El ácido abscísico mantiene la dormancia inhibiendo la producción de tipos específicos de ARN mensajero, y por lo tanto, la formación de proteínas específicas. Sin embargo, en términos generales los tejidos de las plantas están adaptados al ácido abscísico, y pueden responder a su aplicación exógena inactivándolo.

Para Khan (1977), los compuestos de origen fenólico en general inhiben la germinación y, a causa de su amplia ocurrencia y distribución, han sido señalados como inhibidores naturales de este fenómeno. El primer com

puesto que fue señalado como inhibidor de la germinación fue la cumarina. Por otro lado, el ácido abscísico se ha mostrado como un importante inhibidor de la germinación, ya que se han demostrado correlaciones positivas entre la concentración de ácido abscísico y la profundidad de la dormancia.

Addicot y Lyon (1964), mencionan que, como otras hormonas vegetales, el ácido abscísico se presenta en muy bajas concentraciones, así que grandes cantidades de material vegetal y grandes volúmenes de solventes deben ser empleados en su aislamiento y extracción, el cual, debido al manejo involucrado, indica generalmente cantidades mucho menores que las encontradas en las plantas. La ocurrencia común del ácido abscísico en la pulpa o jugo de frutas sugiere que este regulador de crecimiento puede ser uno de los factores que evitan la germinación de las semillas mientras todavía están dentro del fruto.

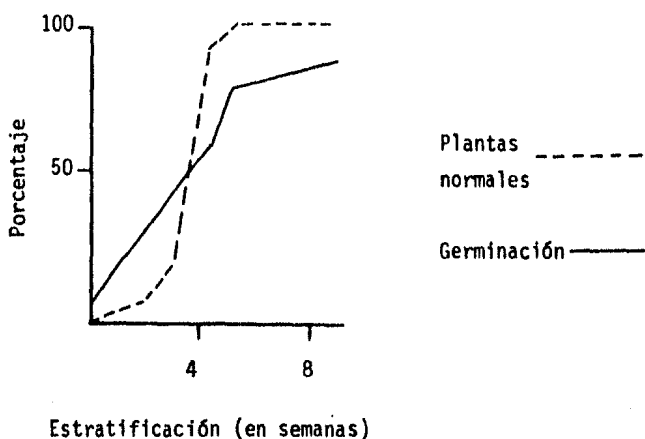
#### 3.4.3.2 Estudios relativos en el nogal de Castilla.

Martin *et al* (1969), realizaron un estudio en nogal de Castilla variedad Payne, en el cual semillas de esta especie sin corteza pero con cáscara (ver fig.1), fueron puestas a estratificar a 0°C. Semanalmente extrajeron dos muestras, una de las cuales era puesta a germinar y la otra era examinada con el fin de encontrar reguladores de crecimiento por medio de bioensayos.

Por un lado, la germinación aumentó significativamente, lo mismo

que las plantas con desarrollo normal, conforme transcurra la estratificación (figura 2), considerándose plantas poco desarrolladas aquellas con apariencia achaparrada, nula o muy baja presencia de hojas, y tallos muy delgados y frágiles.

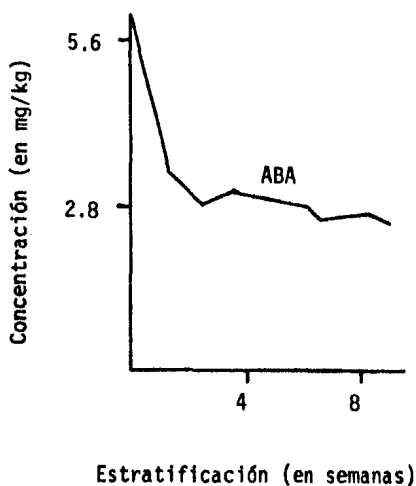
Figura 2. Germinación acumulativa en relación al porcentaje de plántulas de nogal de Castilla (*Juglans regia* L.), consideradas con desarrollo normal, después de una estratificación a 0°C.



FUENTE: Martín et al (1969).

Por otro lado, no se encontraron citocininas, auxinas ni giberelinas en ninguna de las muestra examinadas, sólo un inhibidor cuya concentración disminuyó al transcurrir la estratificación (figura 3), y que en base a su espectro de absorción fue identificado como ácido abscísico.

Figura 3. Relación entre el transcurso de la estratificación y los niveles de ácido abscísico en las semillas de nogal de Castilla (*Juglans regia* L.).



FUENTE: Martín et al (1969).

Los autores concluyen que existe una correlación elevada entre el incremento del porcentaje de germinación y de plantas desarrolladas normalmente, y la disminución de la concentración del inhibidor, conforme las nueces permanecían más tiempo en estratificación.

### 3.4.3.3 Estudios relativos a otras especies.

#### 3.4.3.3.1 Promotores.

Donoho y Walker, citados por Weaver (1976), efectuaron una investi

gación en semillas de durazno (Prunus persica L.), var. Elberta, las cuales habfan permanecido en estratificación a 5°C sólo 35 días de los 60 a 100 días considerados como necesarios para romper la latencia. Antes de sembrarlas, se remojaron las semillas durante 24 horas en soluciones de ácido giberélico a concentraciones de 0, 20, 100, 200, 500 y 1000 ppm, teniéndose, al cabo de 16 días, índices de germinación de 30, 50, 80, 70, 40 y 30%. Como indican los datos, las concentraciones de 100 ó 200 ppm incrementaron la germinación, pero las concentraciones superiores e inferiores produjeron una mala germinación. Por otro lado, se observó, en las plantas provenientes de semillas tratadas con ácido giberélico a 100 ppm, un sistema radicular 56% más largo y con un peso fresco 80% mayor que el de las plantas de semillas no tratadas (testigo), esto a los 20 días de siembra.

En otro estudio Burns y Coggins (1969), trabajaron con naranja dulce (Citrus sinensis L.), var. Osbeck, el cual es un portainjerto generalmente más lento para germinar que otros utilizados como tales. Sumergieron 200 semillas durante 24 horas en 0, 1, 10, 100, 1000, y 10 000 ppm de ácido giberélico. Encontraron que todas las dosis fueron superiores al testigo sin sumergir en producir una más rápida germinación, alcanzándose los más altos porcentajes con 1000 ppm. Atribuyeron el aumento de la tasa de germinación al sumergir las semillas en agua pura, a la posibilidad de que se hubiera dado una remoción de los inhibidores naturales de la germinación, de las cubiertas de la semilla.

Watkins et al (1983), efectuaron un estudio con pimiento dulce



(Capsicum annuum L.), cuyas semillas reducen grandemente sus tasas de germinación al disminuir la temperatura. El experimento consistió en medir el aumento de la respiración y del porcentaje de germinación de semillas de esta especie a temperaturas de 15 y 25°C, y variando la concentración de oxígeno en los rangos de 10, 21 (aire), 40, 60 y 100%.

Al añadir giberelinas  $A_4$ ,  $A_7$  a una concentración de 100 ppm encontraron que éstas incrementaron las tasas de germinación en ambos rangos de temperatura, con concentraciones de oxígeno de 21% (aire). A 25°C en 100% de oxígeno las tasas de germinación de las semillas tratadas y no tratadas con giberelinas fueron las mismas. A 15°C con 100% de oxígeno las tasas de germinación se incrementaron ligeramente con la aplicación de giberelinas. La adición de giberelinas incrementó la actividad respiratoria sólo después de que la emergencia de la radícula había ocurrido. Los autores concluyen que las giberelinas no parecen estimular las tasas de germinación por la vía de actividades metabólicas de control de la respiración antes de la emergencia de la radícula, sino que su acción debe ocurrir durante las etapas tempranas de la germinación induciendo la elongación de la radícula una vez que ha emergido.

Burns et al (1966), trabajaron con semillas de aguacate (Persea americana Mill.), variedad Duke, el cual presenta una considerable resistencia a las heladas, vientos fuertes y al hongo de la raíz Phytophthora cinnamomi, lo que lo haría un portainjerto sobresaliente de no ser su germinación bastante más lenta y menos uniforme que la de otros por-

tainjertos. Trabajando con 20 semillas por tratamiento, probaron las siguientes dosis de ácido giberélico: 0, 1, 100, 1 000 y 10 000 ppm. Las semillas fueron sumergidas totalmente en las soluciones correspondientes durante 24 horas. Encontraron que la germinación se aceleró conforme aumentaba la concentración de ácido giberélico, hasta un máximo a 1 000 y 10 000 ppm. Sin embargo, las plántulas de estos 2 últimos tratamientos mostraron un patrón anormal de crecimiento, con tallos retorcidos o en zig-zag, y márgenes de las hojas de apariencia ondulada.

Furuta, citado por Weaver (1976), efectuó una investigación sobre los efectos de las giberelinas en la germinación de las semillas de diferentes variedades de camelia (Camellia japonica). Se descubrió que, generalmente, la solución de giberelinas concentradas a 100 ppm resultó ser la más adecuada para acelerar la germinación. Por ejemplo, semillas de la variedad Sasanque Texas Star, remojadas durante 24 horas en giberelinas a concentraciones de 0, 50, 100 y 500 ppm, antes de la siembra, obtuvieron índices de germinación de 3, 44, 60 y 53%, respectivamente, a los 50 días después de la siembra. El crecimiento del epicótilo en las semillas tratadas fue mucho más rápido, mientras que las giberelinas en polvo no tuvieron ningún efecto en acelerar la germinación.

#### 3.4.3.3.2 Inhibidores.

Lipe y Crane (1966), efectuaron el aislamiento de un inhibidor de la germinación en semilla de durazno (Prunus persica L.), var. Lovell.

Por medio de análisis cromatográficos y de absorción de luz ultravioleta se encontró que el espectro de absorción de la sustancia inhibidora era idéntico al del ácido abscísico (ABA), o dormina. La sustancia aislada en solución acuosa estuvo localizada principalmente en los tegumentos de la semilla e inhibió la elongación de coleóptilos de trigo y la germinación de semillas de esta especie y de durazno. Asimismo, al aplicarla a hojas de plántulas de 8 semanas de durazno, causó características típicas de iniciación del reposo invernal, como inhibición de la elongación internodal y presencia de capas de abscisión en el peciolo.

Por otra parte, según estos mismos autores, al colocar las semillas de durazno en estratificación a 5°C durante 6 semanas, se encontró que el inhibidor desaparecía al final de ese periodo de tiempo, coincidiendo su desaparición con la habilidad de las semillas para germinar. En otra prueba, al sembrar semillas intactas y semillas sin tegumento, se encontró que las semillas intactas producían plántulas con crecimiento más lento y achaparrado que aquellas que no tenían tegumentos. Este último grupo tuvo un comportamiento similar al de las plantas con retraso fisiológico al aplicarles, tanto la sustancia aislada de las semillas, como dormina a 10 ppm. Estos últimos resultados sugieren que la enanquiz fisiológica en plantas de durazno es causada por una cierta concentración del inhibidor que, no obstante, no es lo suficientemente alta como para impedir la germinación de la semilla.

Sondheimer et al (1968), realizaron un estudio con dos especies de

fresno: Fraxinus ornus (no dormante), y F. americana (dormante). Encontraron que la concentración de ácido abscsísico (ABA), en las semillas de F. americana, medida por espectografía de luz ultravioleta, se reduce, durante el transcurso de la estratificación a 5°C a que fueron sometidas, a aproximadamente lo encontrado en las semillas de la especie no dormante, sugiriendo por ello la metabolización enzimática del ABA durante este proceso. Aunque los niveles de ABA en el pericarpio sufrieron el mismo fenómeno, para ambas especies fueron muy elevados, mucho mayores que los encontrados en el embrión, por lo que concluyen que su significancia en la germinación es muy pequeña, y solamente contribuiría a la dormancia en caso que ese ABA del pericarpio pudiera difundirse dentro de la semilla. Por último, al aplicar ABA exógeno a embriones de F. americana que habfan superado la dormancia por medio de la estratificación, se evitó su desarrollo, lo mismo que al aplicar esa sustancia a embriones de F. ornus (no dormante).

Irving (1968), encontró que la germinación de Acer negundo, una especie de arce, se incrementó en forma lineal en respuesta a la estratificación a 0°C durante un periodo de 0 a 15 días. La remoción de las cubiertas de las semillas permitió una germinación del 100% sin necesidad de estratificación. Las plántulas obtenidas de semillas con la cubierta removida aparentemente se desarrollaron normalmente. Estos resultados indican que la dormancia de esta especie se debe a un inhibidor presente en la cubierta seminal, al que se identificó como dormina o ABA por medio de su espectro de absorción de luz ultravioleta. Por otro lado,

el ABA exógeno, aplicado a las semillas, tanto estratificadas como no, redujo su germinación a cero.

Walton (1977), señala que el ácido abscísico inhibe la germinación de semillas de Chenopodium album, pero que la inhibición es revertida cuando las semillas son transferidas al agua. También señala que la inhibición de la germinación por el ABA puede ser, por lo menos parcialmente, revertida por las giberelinas.

#### 3.4.3.3 Interacción entre promotores e inhibidores.

Khan (1968), trabajando con semillas de lechuga (Lactuca sativa), var. Grand Rapids, a las que indujo a germinar en la oscuridad con ácido giberélico a una concentración de 5.0 mM en una temperatura de 5°C, encontró que al añadirles ácido abscísico a una concentración de 0.04 mM, se inhibió completamente la germinación. Al añadir de nuevo ácido giberélico no se pudo estimular otra vez la germinación, aún a altas concentraciones. Sin embargo, con el uso de kinetina sí fue posible revertir las semillas a la germinación. Como la kinetina sola no es capaz de inducir este proceso en las semillas de lechuga en la oscuridad, se concluye que la acción de este regulador de crecimiento esté quizá limitada al sitio de la inhibición de la germinación.

Sonheimer y Galson (1966), realizaron otro estudio con Fraxinus ornus, una especie de fresno no dormante, al que trataron con ABA o dormi

na. Con las concentraciones de 10, 1 y 0.1 mM de ABA, la germinación fue inhibida 100, 30 y 0%, respectivamente. Con el objeto de conocer si las giberelinas podían revertir el efecto del ácido abscísico, se trataron los embriones inhibidos con este promotor. A una concentración de 10 mM de giberelinas y de 10 mM de ABA los embriones germinaron en casi el mismo tiempo que el testigo sin tratar. Concentraciones de giberelinas menores fueron menos efectivas, pero incluso con 0.01 mM de concentración se notó algún efecto reversivo.

Este efecto de las giberelinas, según estos autores, se centró sólo en la promoción de la germinación (considerándose esta como la emisión de la radícula por la semilla), ya que las plántulas de semillas tratadas con ABA a las que se revirtió la capacidad de germinar con giberelinas, presentaron una restricción muy grande en el desarrollo de las hojas y en la síntesis de clorofila. Por último, al añadir kinetina a estas plántulas se pudo revertir parcialmente este fenómeno, pues en ningún caso se obtuvieron plantas que se pudieran considerar normales o semejantes al testigo, aunque al aplicarla a semillas con o sin ABA se inhibió la germinación ligeramente.

#### 3.4.4 Utilización del bioensayo para detectar inhibidores.

Addicot y Lyon (1969), indican que para el aislamiento o separación de sustancias activas fisiológicamente, de propiedades químicas desconocidas es necesario tener un bioensayo apropiado. La elección de un

bioensayo determinado estará dictada por el tipo de proceso en que se cree influye la substancia. También señalan que para detectar inhibidores de la germinación han resultado satisfactorias las semillas del pasto Lepidium, sin embargo, como son difíciles de obtener, se hace necesario el empleo de semillas de otras especies alternativas.

Weaver (1976), menciona que no hay ningún bioanálisis específico del ácido abscísico. Debe utilizarse uno que se ajuste al proceso biológico que parece estar afectando este regulador de crecimiento.

Walton y Sondheimer (1972), realizaron un estudio con ejes embrionarios extirpados de frijol (Phaseolus vulgaris L.), a los que sumergieron en una solución concentrada de ácido abscísico marcado radioactivamente, y posteriormente los transfirieron a una solución amortiguadora. Encontraron que esos ejes son capaces de catabolizar el ácido abscísico rápidamente en dos compuestos desconocidos (M-1 y M-2), el primero de los cuales parece ser precursor del segundo. Como ninguno de los dos compuestos formados inhibe significativamente el desarrollo, su formación parece ser un mecanismo de desactivación. Concluyen que la gran rapidez con que el ácido abscísico es catabolizado a compuestos menos activos explica, finalmente, la velocidad con que los ejes reasumen las tasas de crecimiento después de que son transferidos de las soluciones que contienen ácido abscísico a las soluciones amortiguadoras.

### 3.5 Conclusiones sobre la Revisión de Literatura

El nogal de Castilla se propaga normalmente a través de semilla, pues es una especie que no responde a la propagación vegetativa. Sin embargo, la reproducción sexual o por semilla no es la más idónea, pues debido a la recombinación genética que se presenta, las plantas así obtenidas pueden tener características muy diferentes a las de sus progenitores. Por ello esas plantas tienen un mejor aprovechamiento cuando se utilizan como portainjertos de variedades sobresalientes.

No se reporta ningún trabajo sobre imbibición en nogal de Castilla, pero los trabajos examinados indican que las semillas tienen un patrón común de imbibición, el cual se debe enteramente a las diferencias de potenciales hídricos entre las semillas y el medio, y en el que hay una rápida absorción de agua en los periodos iniciales, la cual tiende a disminuir hasta hacerse nula al equilibrarse los potenciales hídricos.

Fueron muy pocos los estudios encontrados sobre tratamientos pregerminativos efectuados en el nogal de Castilla, y en ellos no se obtuvieron los mismos resultados. No obstante, la mayoría de ellos recomienda la estratificación, aunque también se mencionan los remojos en agua.

La latencia, como resultante de un balance entre promotores e inhibidores, es señalada ampliamente. También se indica que el promotor comúnmente utilizado para estimular la germinación es el ácido giberélico.



co, siendo la concentración de 100 ppm aquella con la que se obtienen mejores resultados.

No se conoce una prueba de bioensayo específica para detectar los inhibidores de la germinación presentes en la semilla de nogal, aunque en la literatura se recomienda utilizar pruebas que involucren este proceso.

#### IV. MATERIALES Y METODOS

Este estudio fue llevado a cabo en el periodo comprendido por los meses de julio a noviembre de 1985, en el Vivero Municipal de Juchitepec, Edo. de México.

El experimento consistió en una serie de pruebas que tuvieron como finalidad conocer cuál era el mejor tratamiento pregerminativo, de una serie de 14, que incidía en una mayor germinación y mayor vigor de las plántulas obtenidas, utilizando para ello semillas de nogal de Castilla (Juglans regia L.). Como apoyo a esa prueba se realizó un bioensayo con el objeto de conocer la existencia de inhibidores de la germinación dentro de la semilla de nogal y, paralelamente, un estudio sobre las características de la imbibición de la nuez.

##### 4.1 Prueba de imbibición.

##### 4.1.1 Características y manejo de las nueces empleadas.

Para la realización de esta prueba, se utilizaron 100 nueces de Castilla de dos diferentes tamaños, chico y grande (50 nueces por tamaño), las cuales fueron colectadas a finales del mes de julio. Cabe mencionar que se trató de que todas las nueces estuvieran maduras, considerándose que presentaban este estado fisiológico cuando el pericarpio comenzaba a agrietarse y se hacía visible la corteza. Se consideraron de tamaño

chico o grande de acuerdo a los datos del cuadro 7, en donde se indican los valores promedio.

Cuadro 7. Características de las nueces empleadas en la prueba de imbibición. 1/

Tamaño	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (gr)	Rugosidad
Chicas	3.32	2.92	9.4	Baja
Grandes	3.83	3.3	12.7	Elevada

1/ Datos obtenidos en el Vivero Municipal de Juchitepec, Edo de México, utilizando promedios obtenidos de 25 nueces por tamaño.

El lugar de colecta fue la localidad antes señalada.

Antes de proceder a la prueba, cada nuez fue limpiada con un capillo de alambre para eliminar cualquier rastro de pulpa. Posteriormente fueron numeradas, marcándose en su superficie un número del 1 al 50 con un pirógrafo. Una vez marcadas las nueces fueron pesadas individualmente, considerándose este valor como peso seco inicial.

#### 4.1.2 Realización de la prueba.

Para efectuar la imbibición de las semillas, los grupos de 50 nue-

ces fueron sumergidos totalmente en recipientes separados de plástico de aproximadamente 2.5 l de capacidad. Con el objeto de impedir que las nueces flotaran, sobre cada conjunto fue colocada una pesa de hierro de forma circular de 1.25 kg, envuelta completamente en plástico. Esto se realizó el 8 de agosto de 1985.

#### 4.1.3 Materiales.

- Envase de plástico de 2.5 l de capacidad.
- Pesas de hierro de 1.25 kg.
- Balanza granitaria.
- Pirógrafo.
- Bolsas de plástico.
- Cepillo de alambre.

#### 4.1.4 Toma de datos.

Se observaron los siguientes intervalos de tiempo para ir extrayendo y pesando las nueces.

- 20 minutos.
- 1:30 horas.
- 2 horas.
- 4 horas.
- 8 horas.
- 16 horas.

24 horas.

36 horas.

48 horas.

Cabe mencionar que se tomaban 5 nueces a cada intervalo de tiempo, y que su peso era tomado individualmente (peso húmedo final). En el muestreo realizado, cada grupo de nueces, una vez extraído del agua y pesado, era eliminado, es decir, no se volvía a sumergir en ella.

#### 4.1.5 Análisis de los datos.

Para cada nuez fue obtenida la diferencia entre el peso húmedo final y el peso seco inicial. Esta diferencia en gramos fue transformada a porcentaje en relación al peso seco inicial, y se calculó un promedio de variación por cada intervalo de tiempo. Estos promedios fueron graficados para cada tamaño de nuez, obteniéndose así las Curvas de Imbibición.

### 4.2 Tratamientos pregerminativos

#### 4.2.1 Características y manejo de las nueces empleadas.

En esta prueba se utilizaron nueces colectadas en Juchitepec, Edo. de México, de un largo promedio de 3.8 cm, un ancho de 3.3 cm y un peso de 12.9 gr. Como en la prueba de bioensayo, cada nuez fue limpiada cuidadosamente con un cepillo de alambre y sin utilizar agua, después de

haberle eliminado la corteza con un cuchillo.

#### 4.2.2 Diseño del experimento.

Se consideraron los siguientes tratamientos.

- 1.- Testigo.
- 2.- Remojo en agua durante 12 horas.
- 3.- Remojo en agua durante 24 horas.
- 4.- Remojo en agua durante 36 horas.
- 5.- Remojo en agua durante 48 horas.
- 6.- Remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 12 horas.
- 7.- Remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 24 horas.
- 8.- Remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 36 horas.
- 9.- Remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 48 horas.
- 10.- Remojo en agua a flujo constante durante 24 horas.
- 11.- Remojo en agua a flujo constante durante 48 horas.
- 12.- Remojo en ácido giberélico a 100 ppm y siembra inmediata.
- 13.- Estratificación a 5°C durante 30 días.
- 14.- Estratificación a 5°C durante 30 días, previo remojo en ácido giberélico a 100 ppm.

En cada tratamiento se emplearon 50 nueces, dado que la unidad experimental comprendía 10 nueces, y se consideraron 5 repeticiones por tratamiento (700 nueces en total). El diseño estadístico utilizado fue el de distribución completamente al azar, pues se trabajó en invernade-

ro y la homogeneidad del material fue muy grande (de acuerdo a lo recomendado por Reyes, 1978).

#### 4.2.3 Descripción de los tratamientos.

4.2.3.1 Testigo. Este tratamiento consistió en sembrar las nueces limpias sin ningún manejo adicional que favoreciera una germinación más rápida.

4.2.3.2 Remojos en agua (tratamientos 2 a 5). Cada grupo de nueces fue colocado en recipientes plásticos de 2.5 l de capacidad, con su número respectivo señalado, y sumergidos totalmente en agua pura el intervalo de tiempo correspondiente, con el fin de eliminar posibles inhibidores de la germinación solubles en agua.

4.2.3.3 Remojos en ácido giberélico a 100 ppm (tratamientos 6 a 9). El manejo de estos tratamientos fue semejante al del grupo anterior, solo que en lugar de agua se empleó para los remojos una solución de ácido giberélico a 100 ppm, que se preparó disolviendo en 10 litros de agua 10 gr del producto comercial Activo1 (que contienen 1 gr de ácido giberélico puro). Estos tratamientos tuvieron el objeto de conocer la influencia de las giberelinas en la germinación del nogal.

4.2.3.4 Remojos en agua a flujo constante (tratamientos 10 y 11). Los grupos de nueces correspondientes a estos tratamientos fueron colo-

cados en bolsas de plástico de tipo mosquitero (totalmente permeable), en el flujo de agua constante durante el periodo de tiempo correspondiente. El objetivo de esto fue acelerar el lavado de los posibles inhibidores contenidos en las nueces.

4.2.3.5 Remojo en ácido giberélico y siembra inmediata (tratamiento 12). Este grupo de nueces fue sumergido en una solución de giberelinas preparada como ya se mencionó, y sembrado inmediatamente, es decir, sin dejar las nueces remojando por un lapso grande de tiempo, con el fin de conocer la eficacia de este tipo de tratamiento.

4.2.3.6 Estratificación (tratamientos 13 y 14). Las nueces fueron colocadas en los recipientes plásticos ya mencionados, marcados con el número correspondiente, entre capas de arena de río de aproximadamente 2 cm de espesor, y colocadas en un refrigerador a 5°C durante un periodo de 30 días, con el objeto de llenar las horas frío requeridas, según Westwood (1982), para romper la dormancia. El tratamiento 14 recibió además un remojo previo en una solución de ácido giberélico a 100 ppm, a fin de acelerar la germinación.

#### 4.2.4 Siembra.

4.2.4.1 Elaboración del sustrato de propagación. El sustrato en que se sembraron las nueces fue obtenido de una mezcla de 2 partes de tierra de monte, 1 parte de arena de río y 1 parte de agrolita. La tierra

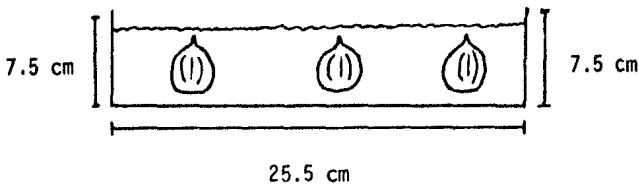


y la arena de río fueron colectadas en los alrededores de Juchitepec, Edo. de Méx., y desinfectadas con bromuro de metilo.

4.2.4.2 Programación de la siembra. Los tratamientos se programaron de tal forma que su siembra estuviera contenida en un intervalo de tiempo de aproximadamente 4 horas, con el fin de eliminar ajustes posteriores en el tratamiento estadístico de los datos debido a diferencias de tiempo considerables en el momento de siembra.

4.2.4.3 Desinfección de la semilla y fecha de siembra. Conforme cada grupo de nueces terminaba su tratamiento, era ligeramente espolvoreado con Thiram 75% P.H., y sembrado. Esta labor se realizó el 15 de agosto de 1985. Las nueces se sembraron en charolas de plástico perforadas en el fondo (para facilitar el drenaje), de 38 cm de largo, 25.5 cm de ancho y 7.5 cm de profundidad. Estas charolas tenían una capa de grava de 1 cm de espesor en el fondo, y fueron rellenas con el sustrato de propagación, (figura 4).

Figura 4. Corte transversal de la charola de siembra.



4.2.4.4 Posición de la semilla. Las semillas fueron colocadas con

el ápice hacia arriba, tal como lo reportan en la literatura Gangwar y Kumar (1978). La profundidad de siembra permitió que sobre las nueces quedara una capa de tierra de 2 cm aproximadamente.

#### 4.2.5 Manejo del experimento.

Una vez sembradas las nueces, las charolas fueron trasladadas al Vivero Municipal de Juchitepec, Edo. de México, en donde fueron colocadas en el invernadero, el cual presentó una temperatura aproximada de  $27\pm 5^{\circ}\text{C}$ . En este sitio el sustrato fue regado periódicamente para mantenerlo a capacidad de campo. Se utilizó una regadera de plástico.

Con el objeto de evitar ataques de patógenos y mantener sanas a las plantas, una vez a la semana el riego consistió en una solución de Captán al 2%, alternada con una mezcla de sulfato de cobre, azufre y Zineb, también al 2%.

Conforme las semillas germinaban, eran transplantadas a bolsas de plástico frutícolas en donde podían continuar normalmente su desarrollo. Para el llenado de las bolsas se empleó el sustrato ya mencionado.

#### 4.2.6 Materiales.

- Cepillo de alambre.
- Envases de plástico de 2.5 l de capacidad.

- Bolsas de plástico (tipo mosquitero).
- Refrigerador.
- Termómetro.
- Invernadero.
- Activo1.
- Thiram 75% P.H.
- Regadera de plástico.
- Bolsas de plástico frutícolas.
- Charolas de plástico.
- Captán.

#### 4.2.7 Toma de datos.

A partir de la fecha de siembra, los tratamientos fueron examinados cada tercer día para detectar las semillas germinadas. Se consideró una semilla germinada cuando la plúmula había emergido del sustrato y era observable a simple vista. De esta forma se llevaba el registro continuo del porcentaje de germinación de cada tratamiento, desde el inicio de la germinación. Además, en periodos quincenales se llevaba el registro de las plantas con poco desarrollo, considerándose con este problema aquellas que presentaban uno o más de los siguientes síntomas (según Martín et al., 1969): apariencia achaparrada, presencia de hojas muy limitada o nula, y tallos delgados y frágiles. Periódicamente también fueron evaluados los problemas fitosanitarios, pero debido a la aplicación preventiva de fungicidas, estos fueron casi nulos y no significativos

#### 4.2.8 Análisis de los datos.

4.2.8.1 Porcentaje de germinación. Para este apartado se graficaron los resultados de los porcentajes de germinación de los diferentes tratamientos a los 10, 22 y 36 días de siembra, por considerarse los más significativos. Además se analizaron estadísticamente los resultados obtenidos a los 22 y 36 días de siembra, pues se considera un periodo promedio de 20 días para que el nogal germine normalmente (Westwood, 1982). Como se dijo anteriormente, se utilizó el diseño estadístico completamente al azar, mientras que para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey.

4.2.8.2 Precocidad en la germinación. Se consideraron los días por tratamiento transcurridos para alcanzar una germinación del 75%. Estos datos fueron graficados, además de aplicárseles el tratamiento estadístico ya mencionado.

4.2.8.3 Vigor de las plántulas. Con el objeto de hacer más exacto y de valor más práctico el experimento, se consideró necesario evaluar el porcentaje de plantas con poco desarrollo, en base a la última evaluación, la cual fue realizada a los 78 días de siembra. Estos datos se graficaron.

### 4.3 Bioensayo.

#### 4.3.1 Generalidades.

Esta prueba tuvo el objetivo de comprobar la presencia de inhibido

res en el agua en que previamente se habían mantenido las nueces durante diversos intervalos de tiempo (tratamientos 2 a 5), examinándose así la existencia y el grado de solubilidad de los posibles inhibidores.

#### 4.3.2 Especies utilizadas.

Se emplearon semillas de frijol (Phaseolus vulgaris L.), variedad Cacahuete, avena (Avena sativa L.), variedad Opalo y rabanito (Raphanus raphanistrum L.), variedad Early Scarlet Globe.

#### 4.3.3 Diseño del experimento.

Las semillas de las especies antes mencionadas fueron colocadas, en número de 25, entre hojas dobles de papel de estraza en cajas de Petri, y regadas con pipeta con la solución correspondiente, teniéndose por lo tanto los siguientes tratamientos.

- 1.- Rabanito regado con agua pura (testigo).
- 2.- Avena regada con agua pura (testigo).
- 3.- Frijol regado con agua pura (testigo).
- 4.- Rabanito regado con agua procedente del remojo de 12 horas.
- 5.- Avena regada con agua procedente del remojo de 12 horas.
- 6.- Frijol regado con agua procedente del remojo de 12 horas.
- 7.- Rabanito regado con agua procedente del remojo de 24 horas.
- 8.- Avena regada con agua procedente del remojo de 24 horas.

- 9.- Frijol regado con agua procedente del remojo de 24 horas.
- 10.- Rabanito regado con agua procedente del remojo de 36 horas.
- 11.- Avena regada con agua procedente del remojo de 36 horas.
- 12.- Frijol regado con agua procedente del remojo de 36 horas.
- 13.- Rabanito regado con agua procedente del remojo de 48 horas.
- 14.- Avena regada con agua procedente del remojo de 48 horas.
- 15.- Frijol regado con agua procedente del remojo de 48 horas.

Las hojas de papel de estraza siempre se mantuvieron a una humedad elevada empleándose exclusivamente la solución correspondiente, una vez que las cajas de Petri fueron puestas a 20°C para permitir la germinación de las semillas. No se pudo utilizar una temperatura mayor ya que no se contaba con germinadora.

Esta prueba se empezó a realizar el 15 de agosto, en cuanto estuvieron disponibles las soluciones empleadas, y con el fin de impedir posibles oxidaciones de los presuntos inhibidores al transcurrir el tiempo.

#### 4.3.4 Materiales.

- Cajas de Petri.
- Hojas de papel de estraza.
- Pipeta.
- Soluciones correspondientes.

#### 4.3.5 Toma de datos.

Al cabo de 48 horas después de la siembra, las semillas de frijol y rabanito de los tratamientos testigo habfan alcanzado porcentajes de germinación mayores de 80, por lo que en ese momento se determinó ese porcentaje para todos los tratamientos de esas especies. Se consideró a una semilla germinada cuando la radícula habfa roto las cubiertas seminales. Para el caso de las semillas de avena, al cabo de 6 días se hizo la evaluación, aunque el porcentaje de germinación del testigo no fuera elevado. Se realizaron además observaciones cualitativas sobre la germinación de los tratamientos después de la evaluación mencionada.

#### 4.3.6 Análisis de los datos.

Los porcentajes de germinación de los diferentes tratamientos fueron graficados.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 Prueba de Imbibición

Las curvas de imbibición obtenidas (fig. 5), muestran, para ambos tamaños de nuez, un comportamiento similar. Existe una rápida absorción de agua durante las primeras horas, para después tornarse más lenta y luego tender a estabilizarse, es decir, a no absorber más agua las nueces. Estos resultados concuerdan ampliamente con los señalados por Hartmann y Kester (1984), y Crocker y Barton (1977).

Young et al (1983), explican que la razón de este comportamiento se debe a que, al encontrarse las semillas altamente desecadas, su potencial hídrico es muy bajo. Como las nueces fueron sumergidas totalmente en agua pura, esta tiene un potencial hídrico muy alto, lo que motiva a que haya un rápido movimiento de agua del medio que rodea a las se millas hacia el interior de estas. Sin embargo, al absorber agua las se millas su potencial hídrico aumenta, por lo que el movimiento se hace cada vez más lento hasta ser casi nulo cuando los potenciales hídricos se equilibran, y por lo tanto, la absorción disminuye a un mínimo. Al seguir la semilla su metabolismo hay una nueva absorción de agua en la germinación, pues el potencial hídrico de la semilla vuelve a disminuir. Esto no fue cuantificado por razones prácticas, pues en el nogal de Castilla este intervalo es muy largo, mayor a 2 semanas.

En el caso específico de la nuez de Castilla, otro factor que in-



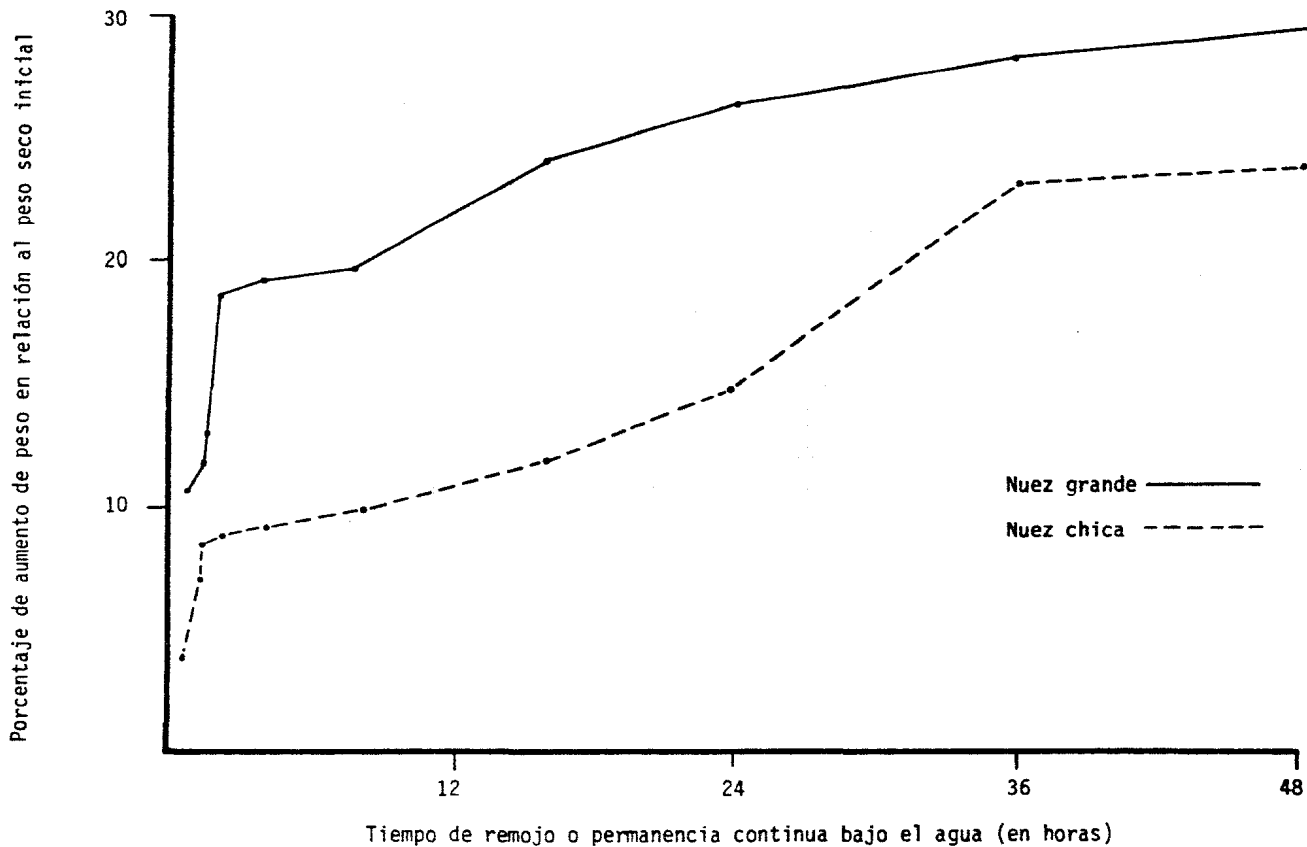


Figura 5. Curvas de imbibición de dos tamaños de semilla (chica y grande), de nogal de Castilla (*Juglans regia* L.).

fluyó en la rápida absorción inicial de agua es el tejido de consistencia corchosa contrario al embrión, el cual es muy poroso y, por lo tanto, absorbió cantidades de agua relativamente grandes en las etapas tempranas de la absorción.

También se observa en la fig. 5 que las nueces grandes absorbieron más agua que las chicas, en proporción a su tamaño. Esto es lógico, pues al tener mayor rugosidad en su superficie (cuadro 7), ofrecen mayor área de contacto al agua, y por lo tanto, mayor área por donde penetra ésta hacia dentro de la semilla.

## 5.2 Tratamientos pregerminativos

### 5.2.1 Porcentaje de germinación.

Como se observa en las figuras 6, 7 y 8, los porcentajes de germinación para los diferentes tratamientos tuvieron un comportamiento diferente entre sí, pero existen tendencias para cada tratamiento a través de las diferentes fechas susceptibles de explicar.

A los 10 días de siembra (fig. 6), sólo habían germinado los tratamientos de estratificación (13 y 14), lo que coincide con lo reportado por Hartmann y Kester (1984), quienes indican que un periodo de estratificación acelera la germinación de las nueces de Castilla.

Los porcentajes de germinación a los 22 días de siembra (fig. 7),

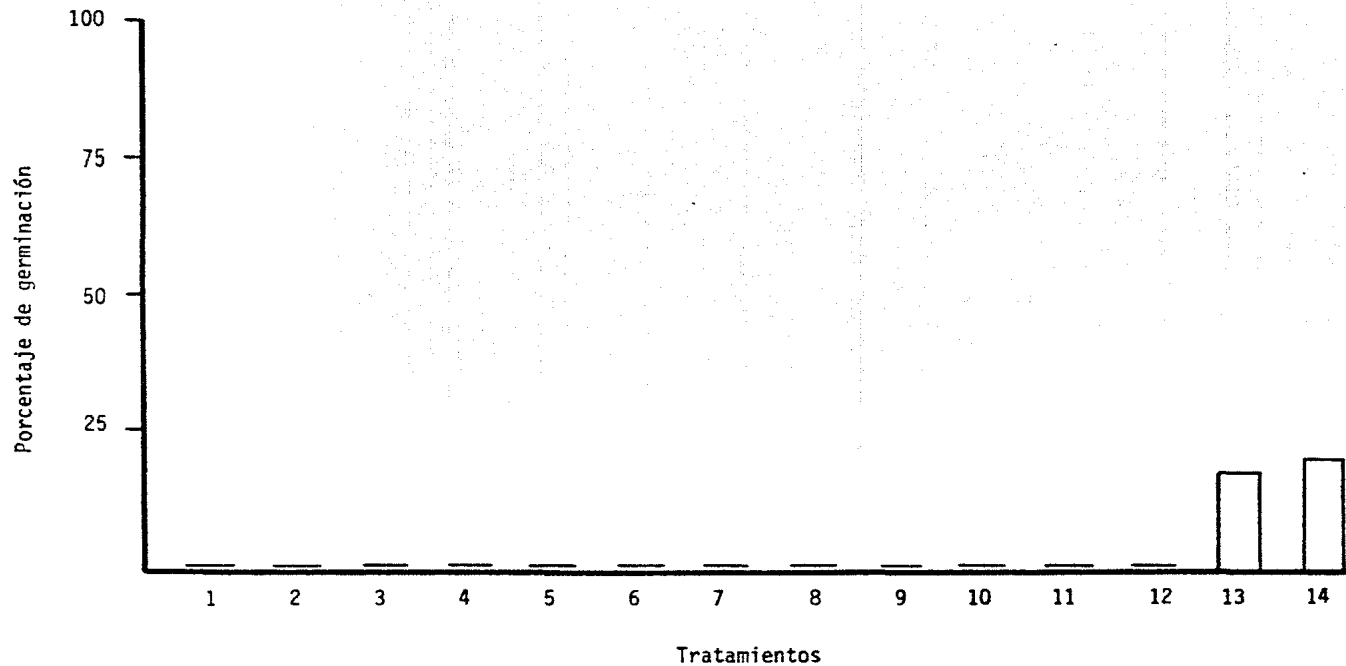


Figura 6. Porcentajes de germinación a los 10 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

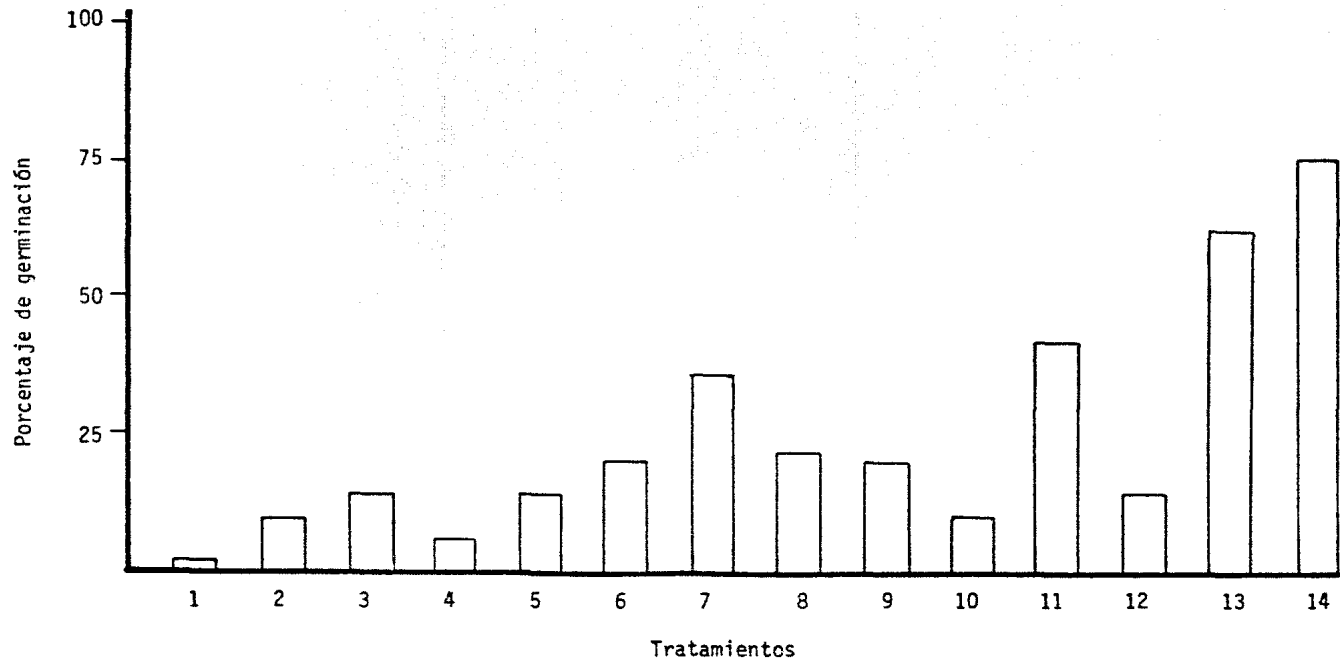


Figura 7 Porcentajes de germinación a los 22 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

fueron analizados estadísticamente (ver cuadro de Análisis de Varianza en el Apéndice 1), y se encontró que la diferencia entre los datos medios era altamente significativa. Al realizar la separación de medias por medio de la prueba de Tukey (cuadro 8), se encontró que los tratamientos de estratificación (13 y 14), fueron estadísticamente superiores a los demás. Los tratamientos de remojo en flujo continuo de agua durante 48 horas (11), y remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 36 horas (7), fueron estadísticamente iguales, aunque este último tratamiento tuvo semejanzas con el de remojo en gibberelinas a 100 ppm durante 48 horas. El resto de los tratamientos fue estadísticamente inferior, destacando el testigo (tratamiento 1), que fue el que tuvo menor porcentaje de germinación.

Estos resultados, junto con los obtenidos a los 10 días de siembra, sugieren que la estratificación es el método superior para lograr buenos porcentajes de germinación en el nogal de Castilla, en el intervalo de tiempo observado, tal como fue encontrado por Memmedov (1977), y Rovski y Samsiev (1956).

Esto es consecuencia, según Martín et al (1969), de que las nueces de Castilla contienen ácido abscísico (ABA), el cual es catabolizado al transcurrir la estratificación (fig. 3), con lo que las semillas, al finalizar ésta y carecer de ABA en concentraciones elevadas, pueden llevar a cabo la germinación.

Cuadro 8. Comparación de medias para la variable porcentaje de germinación a los 22 días de siembra, en 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (*Juglans regia* L.).

Tratamiento	Media <u>1/</u>
14	76 a*
13	62 a
11	42 b
7	36 b c
8	22 c d
6	20 d e
9	20 d e
3	14 d e f
5	14 d e f
12	14 d e f
10	10 d e f
2	10 d e f
4	6 e f
1	2 f

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P \geq 0.01$ ) de acuerdo a la prueba de Tukey.

1/ Medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

Se observa también que el tratamiento 11 (remojo en flujo continuo de agua durante 48 horas), tuvo un buen comportamiento. Esto parece indicar que parte del ABA se encuentra en la cubierta de la semilla, pues Westwood (1982), señala que es posible eliminar a los inhibidores de la cubierta seminal mediante repetidos lavados en agua. No obstante, mediante este método no se elimina el inhibidor en la misma proporción que con la estratificación, pues permanece el que está presente en el embrión, lo que ocasiona que el porcentaje de germinación obtenido con este método sea estadísticamente inferior al de los tratamientos 13 y 14, que lo involucran.

Los tratamientos 7 y 8, que involucraron ácido giberélico a 100 ppm de concentración, en remojos de 24 y 36 horas, respectivamente, obtuvieron porcentajes de germinación relativamente buenos, y muy superiores al testigo sin tratar (tratamiento 1), y al resto de los tratamientos. Resultados semejantes, y con la misma concentración de giberelinas fueron encontrados en durazno por Donoho y Walker, citados por Weaver (1976), en camelia por Furuta (citado por el anterior autor), en pimienta dulce por Watkins et al (1983), y en aguacate por Burns et al (1966).

Para cuando habían transcurrido 36 días de siembra, las tendencias que se comenzaban a perfilar anteriormente ya se habían concretado (figura 8). Estos datos también se analizaron estadísticamente (ver Apéndice 2), y la comparación de medias se muestra en el cuadro 9. Los resul-

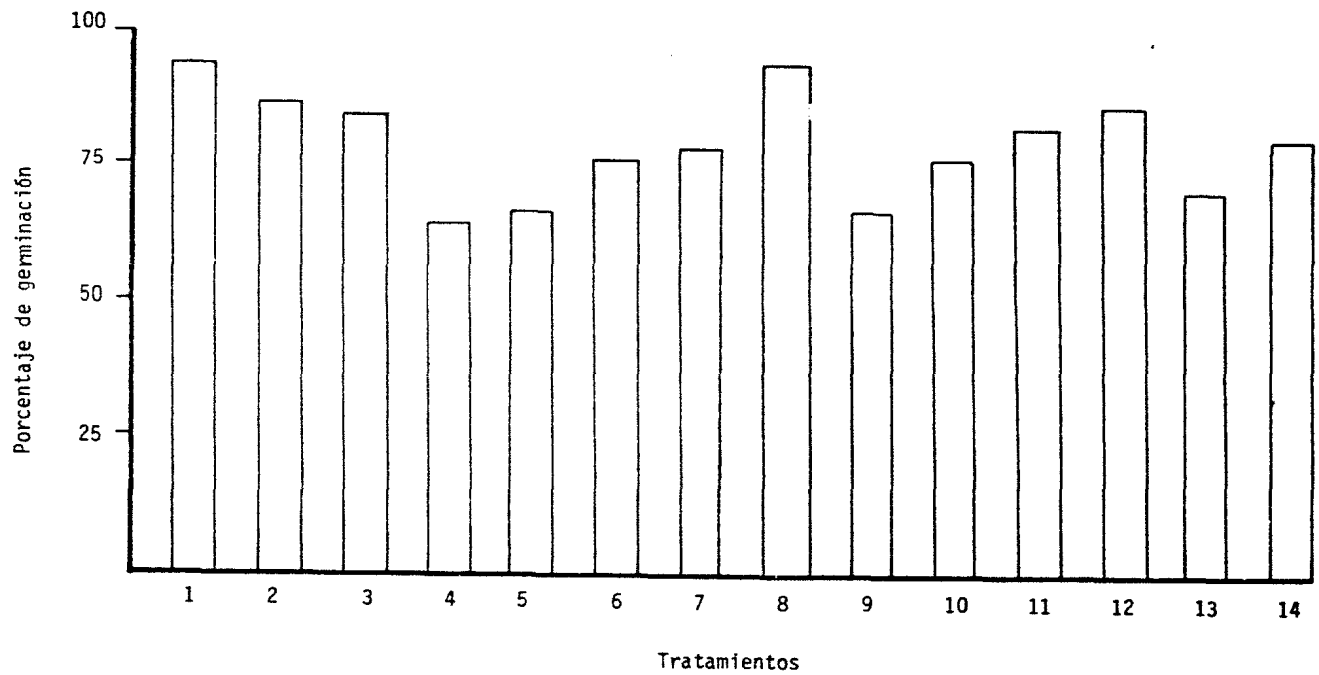


Figura 8. Porcentajes de germinación a los 36 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).



Cuadro 9. Comparación de medias para la variable porcentaje de germinación a los 36 días de siembra, en 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

Tratamiento	Media <u>1/</u>
8	94 a*
1	94 a
12	86 a b
2	86 a b
3	84 a b
11	82 a b c
14	80 b c
7	78 b c d
6	76 b c d e
10	76 b c d e
13	70 c d e
5	66 d e
9	66 d e
4	64 e

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P \geq 0.01$ ) de acuerdo a la prueba de Tukey.

1/ Medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

tados se discutirán por grupos de tratamientos semejantes.

El testigo (tratamiento 1), de ser el que tenía el porcentaje más bajo de germinación (fig. 7), alcanzó a ser uno de los seis que fueron estadísticamente superiores (cuadro 9). Como se observa, las semillas fueron capaces de superar la inhibición causada por el ABA. Sin embargo, las plantas resultantes no tuvieron un desarrollo óptimo. (fig. 10). Esto se analizará con más detalle posteriormente, al hablar del vigor de las plántulas.

Por otro lado, existe la tendencia en los tratamientos 2, 3, 4 y 5 (remojos en agua en un recipiente durante 12, 24, 36 y 48 horas, respectivamente), de que entre más tiempo permanecieron bajo el agua menor porcentaje de germinación existió. Esto podría resultar contradictorio, sin embargo, de acuerdo a Walton (1977), las cubiertas de las semillas contienen gran cantidad de ABA, tal como han demostrado Lipe y Crane (1966), en durazno, Irving (1968), en arce y Sondheimer et al (1968), en fresno. Este último autor indica que el ABA de las cubiertas de las semillas al parecer no tiene significancia en la germinación, y sólo contribuiría a la dormancia en caso de que pudiera difundirse dentro de las semillas, lo que seguramente sucedió en esos tratamientos, pues el ABA es soluble en agua (Lipe y Crane, 1966), y entre más tiempo estuvieron las semillas en el agua, más ABA se disolvió de las cubiertas, y por lo tanto, penetró más ABA dentro de ellas, a favor del gradiente de

concentración. De esta forma, cantidades progresivamente mayores de ABA inhibieron cada vez más la germinación (fig. 8), como observaron Sondheimer y Galson (1966), en fresno.

En los tratamientos 6, 7, 8 y 9 (remojo en ácido giberélico a 100 ppm durante 12, 24, 36 y 48 horas, respectivamente), se observa que la germinación aumenta de los tratamientos 6 a 8 hasta que disminuye en el 9. Esto se debe a que las giberelinas, entre más tiempo estuvieron en contacto con las semillas, mejor lograron contrarrestar el efecto del ABA que logró penetrar dentro de ellas. La disminución de la germinación en el tratamiento 9 pudo deberse a dos causas: a) las giberelinas resultaron tóxicas pues el intervalo de inmersión fue muy largo o b) la cantidad de ABA dispersa dentro de la semilla fue tan grande que las giberelinas no la pudieron contrarrestar. Este patrón de comportamiento de la germinación en respuesta a las giberelinas al aumentar las concentraciones, primero ascendente y después descendente, fue observado en durazno por Donoho y Walker, y por Furuta en camelia, citados por Weaver (1976).

Los tratamientos 10 y 11 (remojo en flujo continuo de agua durante 24 y 48 horas, respectivamente), reafirman la suposición de que el ABA estaba presente principalmente en la cubierta de la semilla, pues al parecer pudo ser, por lo menos parcialmente, removido por el agua, y debido a que el tratamiento 11 tuvo mejor porcentaje de germinación

que el 10, entre más tiempo pasaron las nueces bajo el flujo continuo del agua, mayores cantidades de ABA se removieron y eliminaron, alcanzándose mejores porcentajes de germinación. Por estar las nueces bajo una corriente de agua que se renovaba constantemente, el ABA no se pudo acumular en el agua y de esta forma no penetró de la cubierta de las semillas al interior de ellas, como sucedió con los tratamientos en que el remojo se hizo en un recipiente y el agua nunca se renovó.

El tratamiento 12 (remojo en ácido giberélico a 100 ppm y siembra inmediata), tuvo una buena respuesta a la germinación debido a la aplicación de giberelinas, tal como se ha discutido anteriormente.

En esta fecha el tratamiento 13 no figura entre los tratamientos sobresalientes. El motivo de lo anterior es que, si bien en la estratificación se metaboliza el ABA (Martin et al, 1969), acelerándose la germinación (fig. 6 y 7), esta estratificación no fue lo suficiente como para eliminar ese ABA totalmente. Esto se reafirma al observar el comportamiento del tratamiento 14, pues con la adición de ácido giberélico previo a la estratificación, se mejoró bastante la germinación (fig. 8).

#### 5.2.2 Precocidad.

Para este parámetro se consideró el número de días necesarios para alcanzar 75% de germinación, lo cual fue graficado (fig. 9). Al analizar los datos estadísticamente (Apéndice 3), se encontró que la diferen

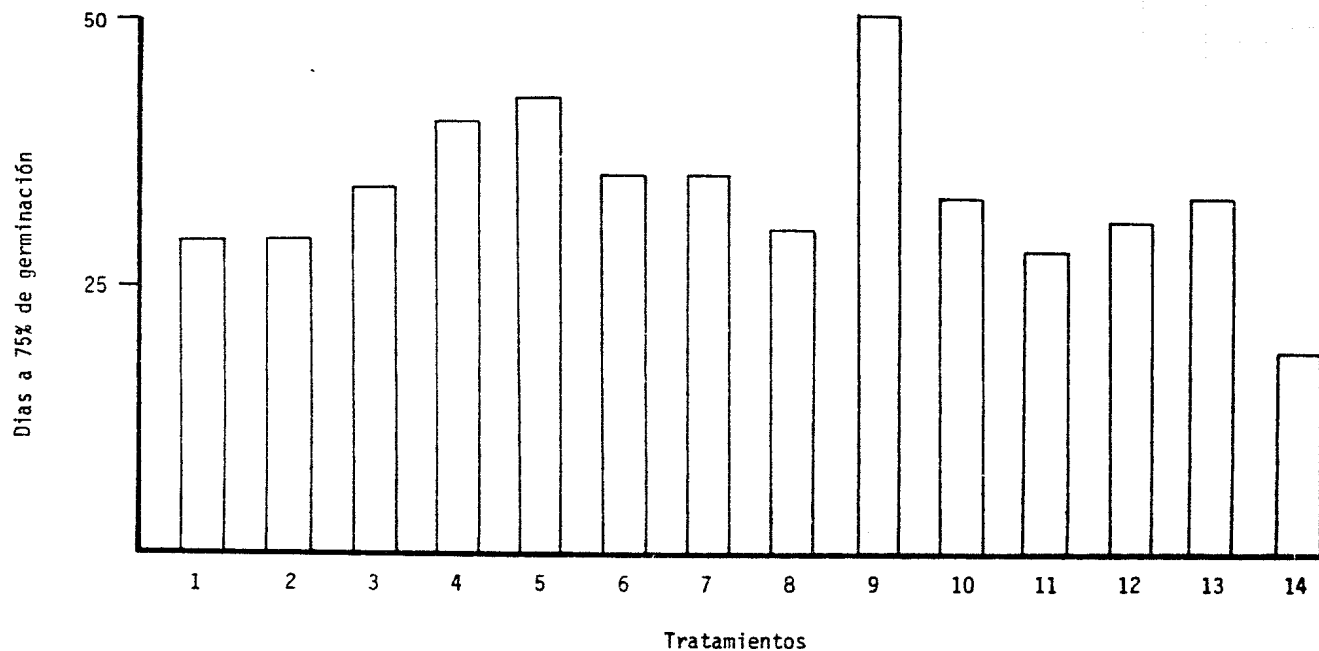


Figura 9. Número de días para alcanzar 75% de germinación, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

cia entre ellos fue altamente significativa, por lo que se utilizó la prueba de Tukey para la separación de medias (cuadro 10). En este cuadro se puede observar que el mejor tratamiento fue el 14 (estratificación previo remojo en giberelinas a 100 ppm). Además, fue de los primeros en germinar (fig. 6). Como ya se explicó, se encuentran referencias en la literatura que señalan este fenómeno, entre ellas la de Sondheimer et al (1968), en fresno, y la de Lipe y Crane (1966), en durazno. Aquí se confirma la suposición de que la estratificación por sí sola, si bien permitió una mejora con respecto a los otros tratamientos, no fue la adecuada para superar completamente la dormancia, pues el tratamiento 13, que sólo involucró estratificación, es estadísticamente inferior al 14, que además incluyó el empleo de giberelinas. Cabe mencionar que el periodo de estratificación antes de la siembra fue de 30 días a 5°C para ambos tratamientos.

Estadísticamente igual al anterior (14), fue el tratamiento 11, lo cual es otra prueba de que gran cantidad de ABA pudo ser lavado y eliminado de la cubierta de la semilla, pero en flujo continuo de agua, para que no se acumule y penetre en ella.

El resto de los tratamientos siguió la tendencia ya mencionada en los puntos anteriores. Cabe señalar que los tratamientos con mayor número de días para alcanzar 75% de germinación fueron los que más tiempo estuvieron en un recipiente bajo el agua, y presumiblemente mayor cantid

Cuadro 10. Comparación de medias para la variable días a 75% de germinación, en 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

Tratamiento	Media <u>1/</u>
9	50 a*
5	42 b
4	40 b c
6	35 b c d
7	35 b c d
3	34 c d
10	33 c d
13	33 c d
12	31 d
8	30 d
1	29 d
2	29 d
11	28 d
14	19 e

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P \geq 0.01$ ) de acuerdo a la prueba de Tukey.

1/ Medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

dad de ABA absorvieron,

### 5.2.3 Vigor de las plántulas.

Este es el parámetro que en última instancia podría indicar la preferencia por uno u otro tratamiento. Se hizo la última observación a los 78 días de siembra, con lo que los datos obtenidos se pueden considerar válidos.

En esta figura se puede observar que el menor porcentaje de plantulas poco desarrolladas lo obtuvo el tratamiento 14. Al parecer, hubo un efecto de sinergismo entre la estratificación y la aplicación de giberelinas, pues ninguno de los dos métodos aplicados aisladamente logró buenos resultados.

Los tratamientos 10 y 11, que involucraban remojos bajo el flujo continuo de agua, también resultaron tener bajos porcentajes de plantas poco desarrolladas.

Sin embargo, el resto de los tratamientos obtuvo porcentajes de plantas poco desarrolladas muy elevados. La causa de lo anterior es, según Lipe y Crane (1966), que el ABA presente, si bien no tuvo una concentración lo suficientemente alta como para evitar la germinación, si pudo causar daños al desarrollo normal de las plantas. Los tratamientos que obtuvieron los mayores porcentajes de plántulas poco desarrolladas



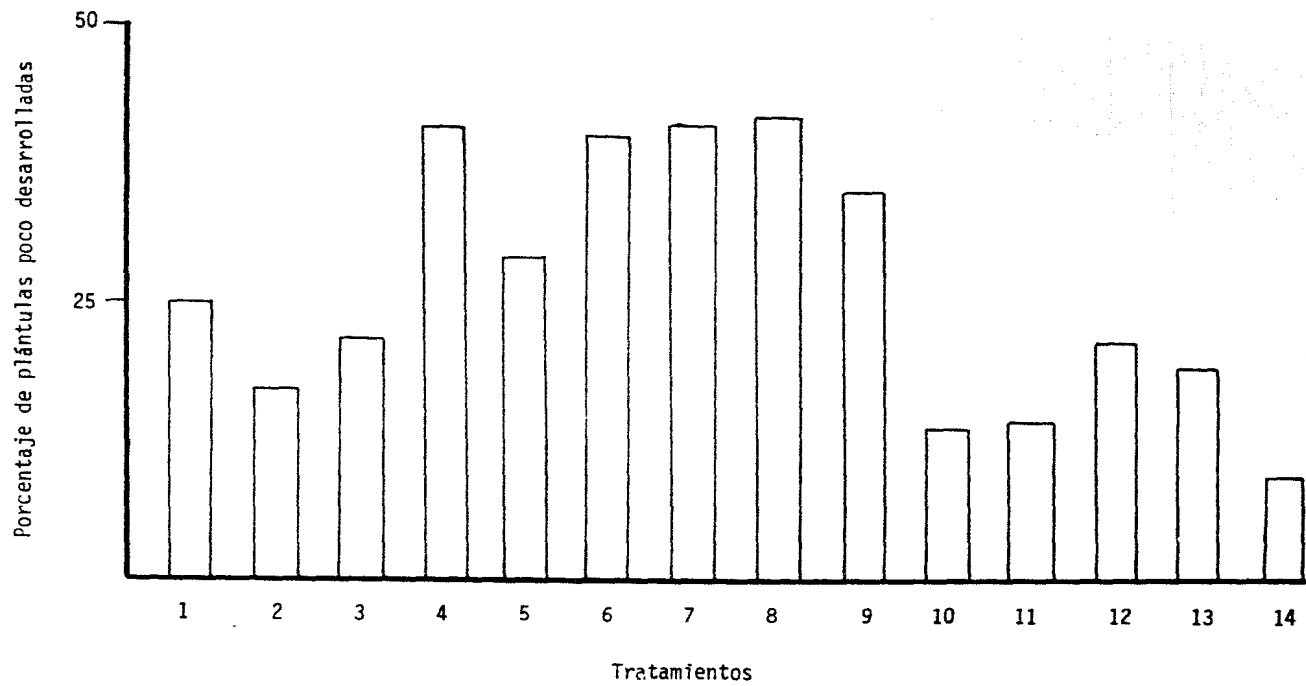


Figura 10. Porcentaje de plántulas poco desarrolladas a los 78 días de siembra, de 14 tratamientos pregerminativos en nogal de Castilla (Juglans regia L.).

fueron los que involucraron remojos en un recipiente (tratamientos 2 a 5, remojos en agua, y tratamientos 6 a 9, remojos en giberelinas, ambos grupos durante diversos intervalos de tiempo), y que presuntamente contenían mayores cantidades de ácido abscísico disperso dentro de las semillas. Con la aplicación de giberelinas podrían haberse esperado mejores resultados, sin embargo, de acuerdo a Lipe y Crane (1966), las plantas que contienen elevadas concentraciones de ABA y que son forzadas a germinar mediante la aplicación de giberelinas, presentan una restricción muy grande en su desarrollo.

Por otro lado, el testigo (tratamiento 1), también presentó un porcentaje muy elevado de plántulas anormales, lo que indica que contenía también elevadas concentraciones de ABA. El tratamiento 12 (remojo en giberelinas y siembra inmediata), tuvo un comportamiento similar, por las razones expuestas en el párrafo anterior.

El tratamiento 13 (estratificación a 5°C durante 30 días), si bien tuvo un porcentaje bajo de plántulas poco desarrolladas, no fue tan bajo como el de los tratamientos 10, 11 ó 14, lo que comprueba la idea de que la estratificación a que fue sometido no permitió la metabolización de la mayoría del ABA presente, lo que se hubiera reflejado en muy bajos porcentajes de plantas poco desarrolladas.

Se puede concluir para esta evaluación que las plántulas con meno-

res retrasos en su desarrollo, fueron las que procedían de semillas con las más bajas cantidades de ABA, disminuída su concentración, ya sea por medio de su metabolización orgánica durante la estratificación (tratamientos 13 y 14), o mediante su eliminación por medio del lavado en flujo continuo de agua (tratamientos 10 y 11).

Por último, cabe señalar que los recipientes utilizados para sembrar las nueces (fig. 4), no contaban con la profundidad suficiente, lo que motivó que las nueces, en cuanto germinaban, eran inmediatamente transplantadas a las bolsas de plástico para evitar deformaciones en el desarrollo radicular.

### 5.3 Bioensayo

Esta prueba tuvo por objetivo detectar inhibidores de la germinación, por lo que forzosamente involucró este tipo de proceso (Addicot y Lyon, 1969).

Como se observa en la figura 11, entre más tiempo estuvo el agua en contacto con las nueces, más inhibió la germinación en las semillas de las tres especies utilizadas, y por lo tanto se puede inferir que mayor contenido de inhibidores tenía. Estos resultados reafirman lo señalado en puntos anteriores, de que el inhibidor de la germinación, identificado como ácido abscísico, se removió de la cubierta de las nueces y pasó diluyéndose al agua de remojo, siendo mayor la disolución cuando hubo ma

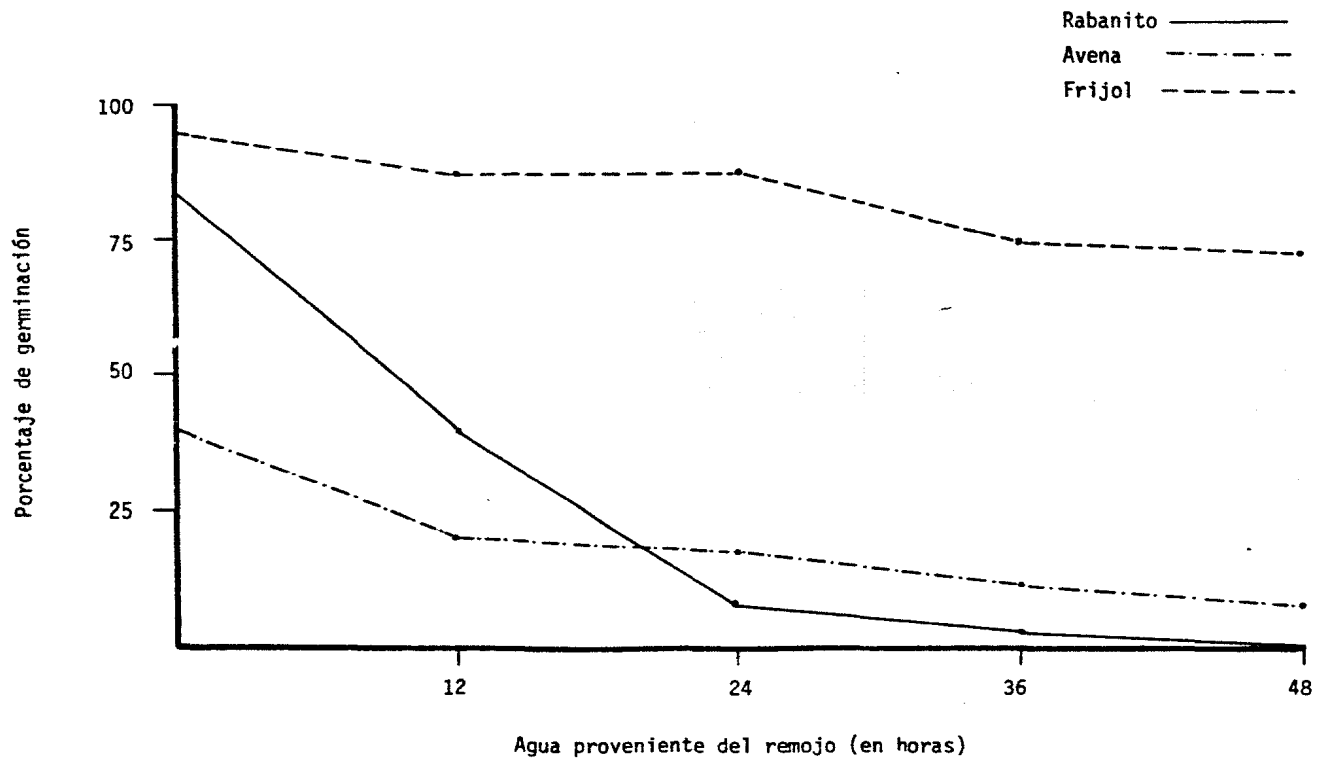


Figura 11. Prueba de Bioensayo. Porcentajes de germinación alcanzados a las 48 horas de siembra.

por permanencia de las nueces bajo el agua. No se tuvo una inhibición total de la germinación, pues como señalan Addicot y Lyon (1969), la cantidad extraída de las semillas sufre pérdidas durante y debido al proceso de extracción, por lo que no refleja fielmente las concentraciones presentes en ellas.

Si bien la avena y el rabanito tuvieron un comportamiento similar, con porcentajes de germinación marcadamente descendentes conforme el agua con que se regaron tenía mayor tiempo de exposición a las nueces, (incluso la última lectura del porcentaje de germinación del rabanito fue cero), el frijol al parecer no fue tan sensible al ácido abscísico.

Esta característica de las semillas de frijol coincide con lo reportado por Walton y Sondheimer (1966), quienes, al aplicar ácido abscísico exógeno a las semillas de esta especie, encontraron que al parecer tienen la capacidad de metabolizar el ABA rápidamente hacia compuestos no inhibidores de la germinación, es decir, tienen la capacidad de inactivar este regulador de crecimiento, por lo que su respuesta en el bioensayo no fue tan pronunciada como la de las otras semillas.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Las curvas de imbibición obtenidas, tanto para las nueces chicas como para las grandes, muestran una rápida absorción de agua durante las primeras horas, que tiende a estabilizarse posteriormente, debido a las diferencias de potenciales hídricos entre las nueces y el medio, y a la estructura de la nuez.
2. Las nueces grandes absorvieron más agua que las chicas, en relación a su peso, debido a que presentan mayor rugosidad, y por lo tanto, mayor superficie de contacto con el agua.
3. Existe una fuerte evidencia de que el inhibidor presente en las nueces es ácido abscísico, tanto por la inhibición de la germinación que realizó en las semillas empleadas, como por el menor desarrollo que produjo en las plántulas procedentes de semillas que germinaron cuando no fue eliminado.
4. Tanto la estratificación como los remojos en flujo continuo de agua redujeron grandemente la cantidad de inhibidores en las nueces, lo que se reflejó en los altos porcentajes de germinación y bajos porcentajes de plántulas poco desarrolladas que tuvieron estos tratamientos.
5. Los tratamientos de remojo en un recipiente muestran que posi-

blemente la mayor parte del inhibidor de la germinación se encuentra concentrado en la cubierta de las semillas, y al solubilizarse, penetró dentro de ellas, alcanzando el embrión e impidiendo su desarrollo normal.

6. Los tratamientos con ácido giberélico, a pesar de que indujeron a las nueces a germinar precozmente, al no eliminar el inhibidor de ellas obtuvieron porcentajes elevados de plantas con menor desarrollo.
7. Los resultados del bioensayo corroboran la evidencia de que el inhibidor presente en las nueces es ácido abscísico, y de que se encuentra en mayor proporción en la cubierta de las semillas.
8. Las semillas de frijol, si bien tuvieron respuesta al inhibidor, esta no fue tan pronunciada debido a que tienen un mecanismo para desactivarlo.
9. Con base en todo lo anterior, se recomienda estratificar las nueces o su lavado en flujo constante de agua durante periodos prolongados de tiempo, para obtener buenos porcentajes de germinación, y plantas de nogal de Castilla vigorosas, con un buen desarrollo en sus etapas tempranas de crecimiento.

## APENDICE



1. Análisis de Varianza para los porcentajes de germinación obtenidos a los 22 días de siembra, utilizando medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

---

Fuentes de Variación	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T	
					0.05	0.01
Tratamientos	13	30709	2362	63.84**	1.91	2.48
Error	56	2084	37			
Total	69	32793				

---

\*\* Diferencia altamente significativa ( $F.C \geq F.T$  0.01)

2. Análisis de Varianza para los porcentajes de germinación obtenidos a los 36 días de siembra, utilizando medias obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

---

Fuentes de Variación	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T	
					0.05	0.01
Tratamientos	13	6224	479	20.83**	1.91	2.48
Error	56	1288	23			
Total	69	7512				

---

\*\* Diferencia altamente significativa ( $F.C \geq F.T$  0.01)

3. Análisis de Varianza para los días a 75% de germinación, utilizando me días obtenidas a partir de 5 repeticiones de 10 nueces cada una.

---

Fuentes de Variación	G.L	S.C	C.M	F.C	F.T	
					0.05	0.01
Tratamientos	13	3457	266	28.63**	1.91	2.48
Error	56	520	9.29			
Total	69	3977				

---

\*\* Diferencia altamente significativa ( $F.C \geq F.T 0.01$ )

## VII. BIBLIOGRAFIA

- Adicott, F. T. and J. L. Lyon. 1969. Physiology of abscisic acid and related substances. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 20: 139-164.
- Burns, R. M., S. M. Mircetich, C. W. Coggins and G. A. Zentmyer. 1966. Gibberellin increases growth of Duke avocado seedlings. *Calif. Agric.* 20 (10): 6-7.
- \_\_\_\_\_ and C. W. Coggins. 1969. Sweet orange germination and growth aided by water and gibberellin seed soak. *Calif. Agric.* 23. (12): 18-19.
- CODAGEM. 1979. Folleto informativo. 89: 14.
- \_\_\_\_\_. 1984. El cultivo del nogal de Castilla. Méx. p. 2.
- Crocker, E. and L. Barton. 1957. Physiology of seeds. *Chronica Bot. Comp. Mass.* p. 58.
- FAO. 1983. Anuario FAO de producción. Vol. 37. p. 197.
- Furuuchi, Y., M. Asano and K. Shibasaki. 1981. Extraction of the protein from walnut (*Juglans regia* L.) cv. Shinano-Gurumi, and its properties. *J. Jap. Soc. Food Sci. and Tech.* 28; 548-553.
- Gangwar, R. P. and H. Kumar. 1975. Studies on germination capacity of walnut (*Juglans regia* L.) seeds in relation to their size and position in the soil. *J. Hort. Sci.* 4: 142-144.
- Gutenev, V. I. and I. I. Bogorodiski. 1975. An effective new method for germination of walnut. *Sadovodstvo.* 12: 13-14.

- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1984. Propagación de plantas. Principios y prácticas. C.E.C.S.A. Méx. p. 145-190.
- Irving, R. M. 1968. Study of dormancy, germination and growth of seeds and buds of Acer negundo. Plant Physiol. Suppl. 43: 5-49.
- Jann, R. C. and R. D. Amen. 1977. What is germination. En Khan, A. A. The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p. 7-28.
- Jaynes, R. A. 1981. Nut tree culture in North America. Northern Nut Growers Assoc. Inc. Conn. p. 77-84.
- Khan, A. A. 1968. Inhibition of gibberellic acid induced germination by abscisic acid and reversal by cytokinins. Plant Physiol. 43: 1463-1465.
- \_\_\_\_\_. 1977. Seed dormancy: changing concepts and theories. En Khan, A. A. The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p. 29-50.
- Lawrence, G. M. 1963. Taxonomy of vascular plants. MacMillan Comp. New York. p. 334-455.
- Kawecki, Z. and S. Smoczynski. 1976. Lipids of stratified walnuts. I. Fatty acids of crude fat and its neutral fraction. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie. 18: 81-90.
- \_\_\_\_\_ and J. Kaworski. 1975. Fatty acids of crude fat in stratified walnut seeds. Fruit Sci. Rep. 2: 17-23.
- Koller, D., A. M. Mayer, A. Poljakoff-Mayber and S. Klein. 1962. Seed germination. Ann. Rev. Plant Physiol. 13: 437-469.

- Komanich, I. G. 1977. The reason for distorted walnut seedlings. Sado-  
vodstvo, Vinogradarstvo i Vinodelie. 3: 20-23.
- Lipe, W. N. and J. C. Crane. 1966. Dormancy regulation in peach seeds.  
Science. 153: 541-542.
- Martin, G., M. I. Mason and H. Forde. 1969. Changes in endogenous growth  
substances in the embryos of Juglans regia L. during stratifica-  
tion. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94: 13-17.
- Mayer, A. M. and A. Poljakoff-Mayber. 1975. The germination of seeds.  
Pergamon Press. London. p. 43-48.
- Menmedov, B. A. 1976. Preparation of walnut seeds for sowing. Subtrop.  
Kultur. 9: 23-28.
- Nikolaeva, M. G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern.  
En Khan, A. A. The physiology and biochemistry of seed dormancy  
and germination. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p.  
51-73.
- Rovskij, V. M. and K. S. Samsiev. 1956. The effect of stratification on  
walnut germination. Sadi Ogorod. 11: 51.
- S.A.R.H. 1981. Anuario estadístico. Producción agrícola nacional. p.  
212-215.
- Sondheimer, E. and E. C. Galson. 1966. Efeccts of abscisin II and other  
plant growth substances on germination of seeds with stratifica-  
tion requeriments. Plant Physiol. 41: 1397-1398.
- \_\_\_\_\_, D. S. Tzou and E. C. Galson. 1968. Abscisic acid levels and  
seed dormancy. Plant. Physiol. 43: 1443-1447.

- Tinko, M. M. 1963. The effect of seed position in the soil on the formation of the root system and stem in walnut seedlings. *Bot. Zhurnal*. 48: 1121-1130.
- Vishanska, Y., I. Nedyalkov and V. M. Petrova. 1980. Cytochemical and biochemical studies on the process of oil formation in walnut fruits. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*. 33: 405-408.
- Walton, D. C. and E. Sondheimer. 1972. Metabolism of  $2^{-14}$  ( $\pm$ )-abscisic acid in excised bean axes. *Plant Physiol*. 49: 285-289.
- \_\_\_\_\_. 1977. Abscisic acid and seed germination. En Khan, A. A. *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p. 145-156.
- Watkins, J. T., D. J. Cantliffe and M. Sachs. 1983. Temperature and gibberellin-induced respiratory changes in Capsicum annuum during germination at varying oxygen concentrations. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108 (3): 356-359.
- Weaver, R. J. 1976. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Ed. Trillas. Méx. p. 89, 174-204.
- Westwood, M. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Traducción de L. Rallo, F. Pérez, J. Caballero, R. Fernández y D. Barranco. Ed. Mundi Prensa. Madrid. p. 65, 84, 85.
- Woodroof, J. G. 1979. Tree nuts. Production, processing and products. *Avi Pub. Comp. Conn.* p. 605, 606, 647.
- Young, J. A., R. Evans, B. Roundy and G. Cluff. 1983. Moisture stress and seed germination. *U. S. Dep. Agric. Agric. Rev.* 36: 1-2.