

<https://doi.org/10.23913/ciba.v11i22.114>

Artículos científicos

Estratificación e incubación: ¿imprescindibles para la germinación de la nuez pecán?

Stratification and Incubation: Essential for Pecan Germination?

Estratificação e incubação: essenciais para a germinação de noz-pecã?

Valeria Gándara Ledezma

Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Obregón, México

valeria.gandara@potros.itson.edu.mx

<https://orcid.org/0000-0002-7913-1139>

Jesus Edrel Perla Valenzuela

Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Obregón, México

jesus.perla@potros.itson.edu.mx

<https://orcid.org/0000-0003-4872-6161>

Marco Antonio Gutiérrez Coronado

Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Obregón, México

marco.gutierrez@itson.edu.mx

<https://orcid.org/0000-0001-5956-9945>

Resumen

Las nueces de pecán (*Carya illinoensis* L.) germinan de manera heterogénea y en bajos porcentajes pero, al aplicar tratamientos pregerminativos, como la imbibición, la estratificación, la incubación y la aplicación de hormonas, se puede homogeneizar el ritmo de germinación e incrementar el porcentaje de semillas germinadas. Tomando en cuenta los resultados de investigaciones previas, se requiere comparar el efecto de la estratificación desnuda contra el efecto de la estratificación húmeda en nueces de nogal pecanero para determinar un tratamiento pregerminativo óptimo. El objetivo de esta investigación fue evaluar la germinación inducida mediante estratificación desnuda y húmeda en pacanas maduras. Se aplicaron tres tratamientos pregerminativos a semillas de los cultivares Wichita



y Western Schley, a saber: estratificación desnuda (estratificación a 4 °C por un mes, seguida por incubación a 30 °C durante 17 días), estratificación húmeda (estratificación a 4 °C con suministro de riego, por un mes, sucedida por incubación a 30 °C durante 17 días) y un control (estratificación desnuda a 4 °C por un mes, seguida por siembra en invernadero). Aquí mostramos que la estratificación desnuda, seguida por incubación a 30 °C, puede tener un efecto benéfico significativo sobre el porcentaje de germinación, longitud de brote y raíz, así como la disminución de la incidencia de infecciones microbianas en nueces de nogal pecanero. El efecto positivo de la incubación sobre la germinación de la nuez pecán observado en esta investigación concuerda con los resultados de trabajos previos. Se observó que el porcentaje de germinación de las nueces del cv. Wichita fue significativamente superior al aplicar la estratificación desnuda en comparación con lo obtenido al emplear la estratificación húmeda. Los resultados implican que muchas semillas de pecanero pueden prescindir de la incubación para completar el proceso de germinación, sin embargo, el porcentaje de nueces del cv. Wichita que germinaron fue seis veces superior al incluir una etapa de incubación en el tratamiento pregerminativo. En el caso de las nueces del cv. Western Schley, el porcentaje de germinación fue 28 veces más elevado en las nueces incubadas que en las nueces que no fueron incubadas. Por otra parte, el presente estudio fue incapaz de probar la prescindencia de la estratificación para inducir la germinación de las nueces de pecán, ya que todas las nueces utilizadas en este experimento fueron almacenadas en refrigeración antes de ser sometidas a los diferentes tratamientos.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, semilla, Western Schley, Wichita.

Abstract

Pecans (*Carya illinoensis* L.) germinate heterogeneously and in low percentages, but by applying pre-germination treatments, such as imbibition, stratification, incubation and the application of hormones, the rate of germination can be homogenized and the percentage of germinated seeds can be increased. Taking into account the results of previous investigations, it is necessary to compare the effect of stratification without media against the effect of wet stratification in pecans to determine an optimal pre-germination treatment. The objective of this investigation was to evaluate germination induced by bare and wet stratification in mature pecans. Three pre-germination treatments were applied to seeds of cultivars Wichita and Western Schley, namely: stratification without media (stratification at 4 °C for one month, followed by incubation at 30 °C for 17 days), wet stratification (stratification at 4 °C with irrigation supply, for one month, followed by incubation at 30 °C for 17 days) and a control (naked stratification at 4 °C for one month, followed by greenhouse seeding). Here we show that stratification without media, followed by incubation at 30°C, can have a significant beneficial effect on germination percentage, shoot and root length, as well as decreasing the incidence of microbial infections in pecans. The positive effect of incubation on pecan germination observed in this research agrees with the results of previous works. It was observed that the germination percentage of the pecans of cv. Wichita was significantly superior to bare stratification compared to wet stratification. The results imply that many pecan seeds can prescind from incubation to complete the germination process, however, the percentage of pecans of cv. Wichita that germinated was six times superior when including an incubation stage in the pre-germination treatment. In the case of pecans of cv. Western Schley, the percentage of germination was 28 times higher in the incubated seeds, in comparison with pecans that were not incubated. On the other hand, the present study was unable to prove the need of stratification in inducing germination of pecans, since all the pecans used in this experiment were stored in refrigeration before being subjected to the different treatments.

Keywords: *Carya illinoensis*, seed, Western Schley, Wichita.



Resumo

A noz-pecã (*Carya illinoensis* L.) germina de forma heterogênea e em baixas porcentagens, mas com a aplicação de tratamentos pré-germinativos, como embebição, estratificação, incubação e aplicação de hormônios, a taxa de germinação pode ser homogeneizada e a taxa de germinação aumentada. porcentagem de sementes germinadas. Levando em conta os resultados de investigações anteriores, é necessário comparar o efeito da estratificação nua com o efeito da estratificação úmida em nozes pecan para determinar um tratamento ideal de pré-germinação. O objetivo desta investigação foi avaliar a germinação induzida por estratificação nua e úmida em nozes maduras. Três tratamentos de pré-germinação foram aplicados às sementes das cultivares Wichita e Western Schley, a saber: estratificação nua (estratificação a 4°C por um mês, seguida de incubação a 30°C por 17 dias), estratificação úmida (estratificação a 4°C com irrigação, por um mês, seguida de incubação a 30°C por 17 dias) e uma testemunha (estratificação nua a 4°C por um mês, seguida de sementeira em casa de vegetação). Aqui mostramos que a estratificação nua, seguida de incubação a 30 ° C, pode ter um efeito benéfico significativo na porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, bem como na diminuição da incidência de infecções microbianas em nozes-pecã. O efeito positivo da incubação na germinação da noz-pecã observada nesta pesquisa está de acordo com os resultados de trabalhos anteriores. Observou-se que a porcentagem de germinação das castanhas da cv. Wichita foi significativamente superior ao aplicar estratificação nua em comparação com o obtido ao usar estratificação úmida. Os resultados sugerem que muitas sementes de noz-pecã podem dispensar a incubação para completar o processo de germinação, entretanto, a porcentagem de castanhas da cv. Wichita que germinou foi seis vezes maior ao incluir uma fase de incubação no tratamento de pré-germinação. No caso das nozes da cv. Western Schley, a porcentagem de germinação foi 28 vezes maior nas castanhas incubadas do que nas não incubadas. Por outro lado, o presente estudo não conseguiu comprovar a ausência de estratificação para induzir a germinação de nozes pecan, uma vez que todas as nozes utilizadas neste experimento foram armazenadas em refrigeração antes de serem submetidas aos diferentes tratamentos.

Palavras-chave: *Carya illinoensis*, semente, Western Schley, Wichita.

Fecha recepción: Enero 2022

Fecha aceptación: Julio 2022



Introducción

Los nogales pecaneros son producidos industrialmente mediante injertos (Dalkiliç, 2013). Todo comienza con la polinización cruzada (Sanderlin, 2015), en la cual los granos de polen de un árbol de nogal entran en contacto con pistilos de otro nogal (Ku-Mahamud, 2015; Zheng, Lin, Liang, Wang y Chen, 2018). Una vez realizada la fertilización del gametofito femenino por el masculino, es cuestión de tiempo para que empiece a desarrollarse la nuez de pecán (An, Althiab Almasaud, Bouzayen, Zuine y Chervin, 2020). Luego, las nueces maduras son recolectadas por los productores, quienes les proporcionan a estas semillas las condiciones adecuadas para que germinen y, con ello, den origen a nuevos árboles pequeños o plántulas (Verma y Chandel, 2017). Posteriormente, el tronco de estas plántulas es cortado para ser usado como patrón, de manera que solamente se conserva la base del tronco y sus raíces. Justo después de realizar dicho corte, se injerta un pequeño vástago con yema procedente de un nogal pecanero en edad productiva (Casales, Van der Watt y Coetzer, 2018). Sin embargo, la generación de patrones de nogal pecanero suele complicarse por la falta de uniformidad en las semillas y por los bajos porcentajes de germinación (Jover, Matta y Shah, 2006). Por esta razón, se deben idear estrategias que mejoren la germinación de las pacanas.

Las huertas dedicadas a la producción de patrones deben seleccionar cultivares que produzcan semillas grandes que germinen dando lugar a plántulas vigorosas capaces de favorecer el desarrollo del injerto en etapas tempranas (Sanderlin, 2015). Asimismo, es preciso determinar un método para acelerar el proceso de germinación (Zhang, Peng y Li, 2015).

Las semillas se clasifican en ortodoxas y recalcitrantes, según su tolerancia a la desecación. Las semillas ortodoxas son mucho más tolerantes que las recalcitrantes y pueden ser almacenadas, manteniendo su viabilidad durante años, mientras que las semillas recalcitrantes generalmente son poco tolerantes y mueren durante el secado (Méndez, Covarrubias y Beltrán, 2013).

Las semillas del género *Carya* son recalcitrantes (Dalkiliç, 2013; Poletto, Stefenon, Poletto y Muniz, 2018; Xiao *et al.*, 2020), de manera que las nueces maduras no pasan por un periodo de dormancia previo a la germinación. De hecho, al prolongar el periodo de almacenaje, las semillas del género *Carya* presentan una pérdida de su capacidad germinativa y una disminución de su tasa de germinación (Xiao *et al.*, 2020).

Dalkiliç (2013) trabajó con nueces de pecán cv. Mahan, y comprobó que almacenar las nueces en un ambiente seco puede retardar o inhibir su germinación. Incluso, una semana en un ambiente desecante puede ser suficiente para que las semillas pierdan la capacidad de germinar.

Por otra parte, las semillas de los pecaneros pueden ser tratadas con hormonas para favorecer su germinación. Por ejemplo, en China, se ha desarrollado un protocolo para la propagación de nogal pecanero a partir de semillas, el cual consigue que más de 97 % de las nueces germinen. Primero, las semillas son desinfectadas mediante inmersión en solución de permanganato de potasio a 3 % durante 24 horas, luego son embebidas en agua de la llave durante cinco días. Posteriormente, las semillas son estratificadas en arena húmeda, a partir de mediados de diciembre, durante 60 días. Enseguida, las semillas son sumergidas en solución de somatropina, mejor conocida como *hormona del crecimiento humana* (Thornton *et al.*, 2021), mezclada con 500 mg/L de ácido giberélico, 50 mg/L de ácido indolbutírico y 50 mg/L de 6-benciladenina, por 24 horas. Entonces, las nueces son transferidas a invernadero para dar inicio a la germinación (Zhang *et al.*, 2015).

Otro factor de gran impacto en el porcentaje de germinación de las semillas es la temperatura. Las reacciones bioquímicas que ocurren durante la germinación se ven alteradas por la presencia o ausencia de luz y por la temperatura en el ambiente que rodea a la semilla (Espindola, Romero, Ruiz y Luna, 2018). Por ello se creó el término *temperatura óptima para la germinación*, que hace referencia a la temperatura con la que se logra el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible. Esta temperatura varía según la especie, el cultivar, el genotipo y la edad de la semilla, e incluso puede ser alterada si las semillas han sido expuestas a luz de diferente longitud de onda, o la aplicación de fitorreguladores, como el etileno, el ácido abscísico y el ácido giberélico (Hills y van Staden, 2003).

A nuestro leal saber y entender, no se ha publicado un estudio donde se compare el efecto de la estratificación desnuda contra el efecto de la estratificación húmeda en nueces de nogal pecanero. Por esto, la presente investigación se propone responder a la siguiente pregunta: ¿cuál tipo de estratificación (desnuda o húmeda) induce en mayor medida la germinación en semillas de nogal pecanero? La hipótesis es que la estratificación húmeda proporcionará porcentajes de germinación superiores.

Materiales y métodos

Materia prima

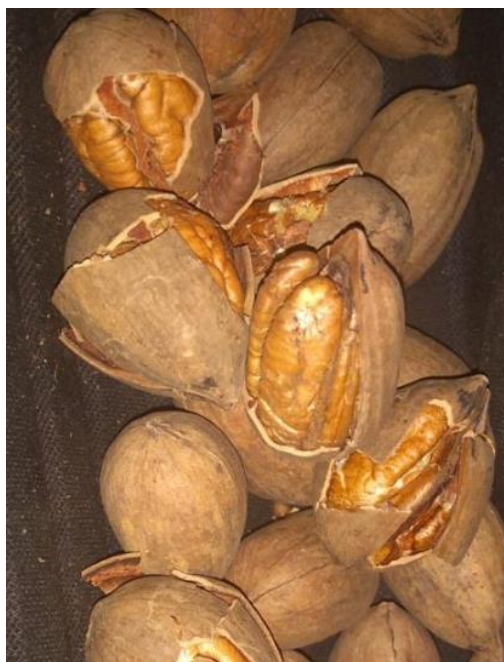
En octubre de 2019, se recolectaron nueces pecanas de los cultivares Wichita y Western Schley (figuras 1 y 2) en un huerto de 50 ha ubicado en el bloque 1010 del Valle del Yaqui, con coordenadas geográficas 27° 20' 10.8564" N (latitud) y 109° 55' 23.04048" W (longitud) (Cd. Obregón, Sonora, México). Las nueces fueron cosechadas mediante vibración del tronco del nogal pecanero. Inmediatamente después de que el árbol fue vibrado, las nueces fueron recogidas del suelo. Posteriormente, se realizó la remoción del ruezno o monda, es decir, el pericarpio, el cual se presenta como una capa carnosa y verde que cubre a la nuez, y que se reseca, se oscurece y se abre cuando la almendra ha madurado. Luego las nueces fueron lavadas y, a continuación, secadas con aire caliente (30-32 °C) por un máximo de cuatro días hasta que la nuez alcanzó una humedad de 10-12 %. Luego, las nueces fueron almacenadas hasta que adquirieron una humedad aproximada de 3 %.

Figura 1. Nueces de pecán cv. Western Schley



Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Nueces de pecán del cultivar Wichita



Fuente: Elaboración propia

Estratificación desnuda, sin riego, con incubación (ED-SR-CI)

Las nueces fueron colocadas en vasos de unicel, y refrigeradas a 4 °C durante un mes. Terminado el periodo de estratificación, las nueces fueron escarificadas e incubadas, de acuerdo con los métodos descritos más adelante.

Estratificación en sustrato, con riego, con incubación (ES-CR-CI)

Las nueces fueron colocadas en posición horizontal en vasos de unicel rellenos con perlita expandida, y fueron refrigeradas a 4 °C durante un mes. El sustrato se mantuvo húmedo mediante riego diario con solución fungicida a 0.2 %, alternando Captan Ultra 50 WP, Benoma-T 50 WP (benomilo) y Velbistin 50 PH (carbendazim). Terminado el periodo de estratificación, las nueces fueron escarificadas, y finalmente fueron incubadas.

Estratificación desnuda, sin riego, sin incubación (ED-SR-SI)

Esta estratificación constituyó el tratamiento control. Las nueces fueron colocadas en vasos de unicel, y refrigeradas a 4 °C durante un mes. Posteriormente, las nueces fueron escarificadas y plantadas individualmente en bolsas cargadas con una mezcla de turba de

musgo, vermiculita y perlita (5:3:2; V:V:V), y fueron resguardadas durante 17 días, en invernadero refrigerado. El sustrato se mantuvo húmedo mediante riego con agua de la llave.

Escarificación

Para ablandar la cáscara y despegarla de la almendra, las nueces fueron embebidas en solución fungicida de Captan Ultra 50 WP y Velbistin 50 PH (carbendazim) (1:1, 2 g/L) durante 10 horas, bajo un suministro constante de aire, mediante un aireador de pecera. Después, utilizando un cascanueces, se removió la cáscara de la mitad de la nuez, dejando expuesto el extremo del eje embrionario, por donde emergen la raíz y el brote de la semilla, como puede apreciarse en la figura 3.

Figura 3. Nuez pecán parcialmente escarificada



Fuente: Elaboración propia

Incubación

Las nueces se mantuvieron a 30-32 °C durante 17 días. Durante la incubación, el sustrato se mantuvo húmedo mediante la aplicación de solución fungicida a 0.2 %, alternando Captan Ultra 50 WP, Benoma-T 50 WP (benomilo) y Velbistin 50 PH (carbendazim).

Evaluación de la germinación de nueces

Al final de cada tratamiento, se calculó el porcentaje de nueces germinadas y el porcentaje de nueces contaminadas. Asimismo, se midió la longitud de las raíces y los brotes de las nueces germinadas, utilizando una cinta métrica.

Evaluación de la contaminación microbiana en las nueces

La evaluación de la contaminación de nueces por microorganismos se realizó mediante la examinación visual de las mismas. Se contabilizaron las nueces contaminadas y se calculó el porcentaje de nueces contaminadas considerando las 55 nueces de cada réplica como el número total de nueces.

Análisis estadístico

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar. Se hicieron tres réplicas de cada tratamiento, y para cada réplica se utilizó un tamaño de muestra de 55 nueces ($n = 55$). Los datos fueron sujetos a un análisis de la varianza (Anova) de una vía, considerando el tipo de tratamiento pregerminativo (tipo de estratificación en combinación con incubación o ausencia de incubación) como la variable independiente. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$). Los datos fueron analizados con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics, versión 22.

Resultados

El peso promedio de las nueces de los cvs. Wichita y Western Schley previo a la aplicación de los tratamientos pregerminativos fue de $9.3576 \text{ g} \pm 1.0581 \text{ g}$ y $8.7010 \text{ g} \pm 1.2753 \text{ g}$, respectivamente. Los resultados de germinación de las nueces aparecen en la tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de germinación y contaminación, así como longitud de raíz y de brote en nuez pecán de los cultivares Wichita y Western Schley, en función del tratamiento pregerminativo

Tratamiento	Cultivar	Germinación (%)	Contaminación (%)	Longitud de raíz (cm)	Longitud de brote (cm)
ED-SR-CI	Wichita	69.69 ± 2.77 ^a	18.78 ± 10.01 ^a	1.84 ± 0.03 ^a	1.83 ± 0.01 ^a
	Western Schley	51.51 ± 4.57 ^b	59.39 ± 5.55 ^b	1.08 ± 0.19 ^{b, c}	1.14 ± 0.13 ^{b, c}
ES-CR-CI	Wichita	56.35 ± 4.80 ^b	48.48 ± 5.55 ^b	1.16 ± 0.08 ^b	1.26 ± 0.09 ^b
	Western Schley	51.51 ± 8.20 ^b	55.75 ± 6.88 ^b	0.98 ± 0.09 ^{b, c}	0.96 ± 0.14 ^{c, d}
ED-SR-SI	Wichita	10.90 ± 1.81 ^c	100 ± 0.00 ^c	0.94 ± 0.09 ^c	0.76 ± 0.13 ^d
	Western Schley	1.81 ± 1.81 ^d	100 ± 0.00 ^c	0.08 ± 0.07 ^d	0.06 ± 0.05 ^e

*ED-SR-CI: estratificación desnuda sin riego, con incubación; ES-CR-CI: estratificación en perlita, con riego, con incubación; ED-SR-SI: estratificación desnuda sin riego, sin incubación, con siembra en invernadero. Los valores son el promedio ± la desviación estándar del porcentaje de nueces germinadas, porcentaje de nueces contaminadas, longitud de raíz y longitud de brote de tres réplicas de 55 nueces cada una ($n = 55$). Los datos que se encuentran en la misma columna y que comparten el mismo superíndice presentan diferencias estadísticamente insignificantes según la prueba de Duncan (Anova, $p < 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

Diferencias de germinación en función del cultivar de origen

En el presente estudio, el porcentaje de germinación en las nueces del cultivar Wichita fue significativamente superior al de las nueces del cultivar Western Schley en los tratamientos de estratificación desnuda sin riego, con incubación (ED-SR-CI) y estratificación desnuda sin riego, sin incubación, con siembra en invernadero (ED-SR-SI). No hubo diferencias significativas entre porcentaje de germinación de las nueces de ambos cultivares que recibieron el tratamiento estratificación en perlita con riego, con incubación (ES-CR-CI). Asimismo, la longitud promedio de la raíz en las nueces germinadas del cultivar Wichita fue significativamente superior a la observada en las nueces del cultivar Western

Schley en los tratamientos ED-SR-CI y ED-SR-SI. Además, la longitud promedio del brote en las nueces germinadas del cultivar Wichita fue significativamente superior a la observada en las nueces del cultivar Western Schley en los tres tratamientos probados.

Contaminación microbiana de acuerdo al cultivar

En la presente investigación, con el tratamiento ED-SR-CI las nueces del cultivar Wichita presentaron una incidencia de contaminación por hongos significativamente menor que las nueces del cultivar Western Schley. Adicionalmente, el mayor porcentaje de contaminación microbiana se observó en las semillas a las que no se les aplicó fungicida y que fueron sembradas en invernadero, lo cual prueba la efectividad de la combinación de fungicidas aplicada durante la incubación.

Efecto de la temperatura en la germinación

Las nueces de ambos cultivares que fueron incubadas (tratamientos ED-SR-CI y ES-CR-CI) presentaron un incremento significativo del porcentaje de germinación, así como de la longitud del brote y de la raíz, en comparación con las nueces que solamente fueron estratificadas y colocadas en sustrato para germinar en invernadero (ED-SR-SI). Esto puede deberse a que las nueces en incubación estuvieron en un ambiente con temperatura cálida constante. Sin embargo, la incidencia de contaminación microbiana probablemente es el factor que más perjudica la germinación y el desarrollo de las nueces.

Considerando los resultados presentados en la tabla 1, la incubación permitió que un mayor porcentaje de semillas germinara. En el caso de las nueces del cv. Wichita, hasta 58.79 % adicional de nueces lograron germinar cuando se incluyó una etapa de incubación en el proceso pregerminativo, y en el caso de las nueces del cv. Western Schley hasta un 49.7 % adicional de nueces germinaron gracias a la incubación.

El impacto de la temperatura durante la germinación podría haberse comprobado con la adición de un tratamiento de germinación en invernadero que incluyera un periodo inicial de 17 días de riego con fungicida, tal y como se efectuó durante la incubación de las nueces de los otros tratamientos.

Efecto del tipo de estratificación en la germinación

Tomando en cuenta los resultados de la tabla 1, se observó que el porcentaje de germinación en las nueces del cv. Western Schley no se vio afectado según el tipo de estratificación aplicado, no obstante, se comprobó que 13.34 % adicional de nueces del cv. Wichita germinaron por efecto de la estratificación desnuda, en comparación con las nueces que recibieron estratificación húmeda.

Discusión

Diferencias de germinación en función del cultivar de origen

Es evidente que los resultados de germinación dependen en gran medida del cultivar de la planta progenitora. Tal y como se demostró en el estudio de Rehman, Hussain, Zaib-un y Awan (2000); ellos cultivaron pacanas de los cvs. Wichita, Mohan, Shawnee, Burket y Mohawk sin aplicarles tratamientos pregerminativos. El cv. Burket tuvo los promedios más elevados de longitud de raíz y de brote, así como de número de raíces. El cv. Mohan tuvo los promedios más bajos de estas variables. En lo que respecta a la germinación, el porcentaje más alto se observó en las nueces del cv. Burket (82 %), seguido por el cv. Wichita (80 %). Por otra parte, se comprobó que el tiempo requerido para la germinación de las semillas varió de un cultivar a otro; las semillas del cv. Wichita fueron las más lentas, ya que requirieron 114 días para completar la germinación, mientras que las nueces del cv. Mohan fueron las más rápidas, con 101 días.

Por otra parte, el proceso de estratificación puede dar diferentes resultados según el cultivar de nuez, tal y como se observó en el estudio realizado por Jover *et al.* (2006). En dicha investigación, se probaron seis tratamientos pregerminativos en pacanas cvs. Huges y Owens, que consistieron en tres diferentes tiempos de estratificación a 3 °C y tres diferentes tiempos de almacenaje a 10 °C; adicionalmente, unas nueces fueron sembradas justo después de su cosecha. Los cultivares estudiados respondieron de manera opuesta a la estratificación: con el incremento del periodo de estratificación, las nueces del cultivar Owens sufrieron un descenso en el porcentaje de germinación, mientras que un mayor porcentaje de nueces del cultivar Hughes germinaron al prolongar la estratificación. En cambio, las nueces de ambos cultivares sufrieron una pérdida de su capacidad germinativa conforme se prolongó el tiempo de almacenaje a 10 °C. Además, se observó que las nueces estratificadas tuvieron un porcentaje de germinación significativamente superior al de las nueces almacenadas.

Contaminación microbiana de acuerdo al cultivar

Es posible identificar cultivares de una determinada especie vegetal que son más resistentes a infecciones fúngicas (Kabak, Dobson y Var, 2006). Por ejemplo, se ha analizado el nivel de contaminación fúngica en plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) generadas a partir de semillas de 11 cultivares distintos, y se ha comprobado que la colonización por hongos endófitos difiere significativamente entre cultivares (Parsa *et al.*, 2016).

En el caso específico de *C. illinoensis*, las nueces del cultivar Western Schley tienen un bajo porcentaje de germinación, porque suelen pudrirse en la etapa de estratificación, y se desaconseja su uso para la generación de portainjertos (Conner, 2010).

Aparte de Western Schley se han identificado otros cultivares de nogal pecanero cuya descendencia es susceptible a la contaminación microbiana. Sanderlin (2015) trabajó con patrones provenientes de semillas obtenidas por polinización cruzada a partir de ocho cultivares de nogal pecanero, a saber: Apache, Curtis, Elliott, Moore, Riverside, Stuart, VC1-68 y Cape Fear. Las plántulas fueron inoculadas con *Xylella fastidiosa* para determinar su tolerancia a la infección por esta bacteria patógena. Los ocho cultivares estudiados resultaron susceptibles a la infección por *X. fastidiosa*, pero se comprobó que en el caso del cv. Apache un porcentaje significativamente mayor de plántulas manifestó signos de infección, mientras que en el caso del cv. Curtis se observó un porcentaje de plántulas infectadas significativamente más bajo, en comparación con los resultados obtenidos en el resto de los cultivares.

Efecto de la temperatura en la germinación

Las semillas del género *Carya* presentan mayores porcentajes de germinación y tasas más uniformes de germinación cuando son incubadas a 30-35 °C (Xiao *et al.*, 2020). La cáscara de la nuez es permeable al agua y los gases, pero retarda la germinación al imponer una restricción mecánica sobre la elongación de la radícula. Esta restricción puede ser superada por medio de incubación de la semilla a una temperatura óptima (30-35 °C). A estas temperaturas, la germinación es uniforme y rápida, y es completada en menos de 20 días (van Staden y Dimalla, 1976).

Van Staden y Dimalla (1976) investigaron el efecto de la incubación a diferentes temperaturas (20, 25, 30 y 35 °C) sobre la germinación de pacanas escarificadas e intactas, cvs. Curtis, Major y Peruque. La escarificación, por sí misma, no resultó en un incremento

del porcentaje final de germinación. Sin embargo, escarificar e incubar las nueces a 30-35 °C hizo que la germinación fuera uniforme y que los porcentajes de germinación fueran elevados. Las nueces escarificadas alcanzaron la máxima germinación en 12 días, en comparación con las nueces intactas, que la alcanzaron a los 22 días.

También se ha probado el efecto combinado de la estratificación, imbibición e incubación cálida en la germinación de las pacanas. Bustamante, Gonzalez, Benavides, Banuelos y Rojas (2006) aplicaron tratamientos pregerminativos a nueces pecán cv. Western Schley y luego las sembraron en sustrato y las distribuyeron en invernadero. Observaron que las nueces embebidas en agua e incubadas a 30 °C germinan más rápido y desarrollan plántulas de mayor altura en menos tiempo, en comparación con las nueces que solo han sido embebidas o las nueces que han sido embebidas y estratificadas. Sin embargo, se comprobó que, al cabo de un tiempo, las plántulas obtenidas mediante incubación interrumpieron su crecimiento, mientras que las demás plántulas continuaron creciendo y superaron la altura de las plántulas generadas por incubación. Se especula que la aplicación de calor durante la incubación inhibió el crecimiento de las plántulas porque indujo la síntesis de ácido abscísico y ácido jasmónico.

En otra investigación se observó que las pacanas que no fueron estratificadas y que fueron incubadas a 20 °C tuvieron un bajo porcentaje de germinación. En cambio, 95 % de las nueces que fueron incubadas a 30 °C germinaron en tan solo 22 días. De igual modo, las nueces que fueron estratificadas a 4 °C por 90 días y posteriormente incubadas a 20 °C tuvieron un alto porcentaje de germinación en poco tiempo. Con tales resultados, se concluyó que las pacanas requieren estratificación o incubación a 30 °C para germinar adecuadamente (Dimalla y van Staden, 1977). Dichas conjeturas concuerdan con los resultados de la presente investigación, donde el mayor porcentaje de germinación, el menor porcentaje de contaminación y las mayores longitudes de raíz y brote se observaron en las nueces del cultivar Wichita que recibieron el tratamiento ED-SR-CI.

En el pasado, ya se tenía la noción de que la germinación de las pacanas en la naturaleza y en el suelo de los viveros es esporádica debido a que dichos ambientes no alcanzan temperaturas suficientemente elevadas. Se consideraba que el requerimiento de calor para la inducción de la germinación de la nuez podía deberse a que las reservas lipídicas de la semilla se movilizan mejor a altas temperaturas (van Staden y Dimalla, 1976).

Ahora se sabe que los tejidos de reserva de las semillas contienen nutrientes que deben ser hidrolizados para poder ser transportados a los sitios donde son requeridos como fuente de energía durante la germinación (Bewley, Bradford, Hilhorst y Nonogaki, 2013). Particularmente, en las nueces los órganos de reserva son los cotiledones (Scussel, Manfio, Savi y Moecke, 2014) y su principal sustancia de reserva son los lípidos (Flores *et al.*, 2017). Por lo tanto, la actividad de las lipasas es fundamental para la germinación de las nueces, pues las lipasas son hidrolasas de éster de glicerol que catalizan la hidrólisis de triacilgliceroles a ácidos grasos libres y glicerol (Joseph, Ramteke y Thomas, 2008).

Existen estudios donde se ha cuantificado la actividad de lipasas en pacanas de los cultivares Wichita y Western Schley (Tanwar, Modgil y Goyal, 2020; Wakeling, Mason, D'Arcy y Caffin, 2001). Dichos resultados podrían ser aprovechados para categorizar a las semillas de diferentes cultivares o sometidas a diferentes tratamientos pregerminativos, estableciendo una relación entre la actividad de las lipasas y la longitud del brote generado en la germinación, ya que hay evidencia de que la movilización de las reservas de la semilla puede estar asociada al vigor de la plántula (Walters, Landré, Hill, Corbineau y Bailly, 2005).

Uno de los factores que más alteran la actividad de las lipasas es la temperatura. Barros, Fleuri y MacEdo (2010) identificaron la temperatura óptima para la actividad de lipasas comerciales extraídas de semillas de 14 especies vegetales. En dicho estudio, todas las lipasas examinadas presentaron una temperatura óptima de activación igual o mayor a 30 °C.

Una vez asegurada la actividad de las lipasas, se desencadena una serie de eventos metabólicos. Primero, los triacilgliceroles son hidrolizados a diacilgliceroles, luego monoacilgliceroles y finalmente a ácidos grasos libres y glicerol, por la acción de lipasas; luego, el glicerol es convertido a fosfato de dihidroxiacetona por la acción de las enzimas glicerol quinasa y glicerol-3-fosfato deshidrogenasa; posteriormente, los ácidos grasos libres son transportados al glioxisoma donde adquieren la forma activa de acil coenzima A; después, la acil coenzima A pasa por un proceso de β -oxidación, para producir acetil coenzima A; a continuación, la acetil coenzima A ingresa al ciclo del glioxilato, y se convierte en ácidos orgánicos; más adelante, los ácidos orgánicos pasan a la mitocondria y al citosol, donde son convertidos en ácido oxaloacético; por último, el ácido oxaloacético y la dihidroxiacetona fosfato pasan por un proceso de gluconeogénesis, para producir sacarosa, la cual es transportada principalmente al eje embrionario (Bewley *et al.*, 2013).

Conclusiones

Se presenta evidencia de que la estratificación desnuda proporciona resultados significativamente superiores a los de la estratificación húmeda. Específicamente, la estratificación desnuda, seguida por incubación a 30-32 °C, tuvo un efecto benéfico significativo sobre el porcentaje de germinación, longitud de brote y raíz, así como la disminución de la incidencia de infecciones microbianas en nueces de nogal pecanero. Asimismo, la evidencia indica que el cv. Wichita tiene un desempeño superior que el cv. Western como fuente de semillas para la producción de patrones.

Los resultados implican que muchas semillas de pecanero pueden prescindir de la incubación para completar el proceso de germinación, sin embargo, el porcentaje de nueces del cv. Wichita que germinaron fue seis veces superior al incluir una etapa de incubación en el tratamiento pregerminativo. En el caso de las nueces del cv. Western Schley, el porcentaje de germinación fue 28 veces más elevado en las nueces incubadas que en las nueces que no fueron incubadas. Por otra parte, el presente estudio fue incapaz de probar la prescindencia de la estratificación para inducir la germinación de las nueces de pecán, ya que todas las nueces utilizadas en este experimento fueron almacenadas en refrigeración antes de ser sometidas a los diferentes tratamientos.

Futuras líneas de investigación

Para futuras investigaciones, se propone probar la aplicación de solución fungicida de procloraz para la hidratación de las semillas durante la incubación. Además, con el fin de comprobar que los beneficios de la incubación se deben al mantenimiento de una temperatura cálida y no a la aplicación constante de fungicida, se propone probar el efecto de sembrar las semillas en invernadero sin previamente estratificarlas ni incubarlas, pero incluyendo riego con fungicida. Finalmente, se recomienda que en los próximos experimentos de germinación se evalúe la supervivencia y el vigor de las plántulas al cumplir un año de edad para conocer la efectividad de los tratamientos a mediano plazo.

Referencias

- An, J., Althiab Almasaud, R., Bouzayen, M., Zuine, M. and Chervin, C. (2020). Auxin and ethylene regulation of fruit set. *Plant Science*, 292, 1-26. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110381>.
- Barros, M., Fleuri, L. F. and MacEdo, G. A. (2010). Seed lipases: Sources, applications and properties - A review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 27(1), 15-29. Retrieved from <https://doi.org/10.1590/S0104-66322010000100002>.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M. and Nonogaki, H. (2013). Mobilization of stored reserves. In *Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy* (3rd ed.) (pp. 183-246). Springer Science+Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4_5
- Bustamante, M. A., Gonzalez, J. A., Benavides, A., Banuelos, L. and Rojas, A. (2006). Control of pecan seedling growth with a heat treatment to the seeds. *Acta Horticulturae*, (727), 79-84. Retrieved from <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.727.7>.
- Casales, F. G., Van der Watt, E. and Coetzer, G. M. (2018). Propagation of Pecan (*Carya illinoensis*): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(18), 586-605. Retrieved from <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16183>.
- Conner, P. J. (2010). Some thoughts on growing young pecan seedlings in a nursery. Retrieved from <https://pecanbreeding.uga.edu/content/dam/caes-subsite/pecan-breeding/docs/papers/Nursery-Paper.pdf>.
- Dalkılıç, Z. (2013). Effects of drying on germination rate of pecan seeds. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(3-4), 879-882.
- Dimalla, G. G. and van Staden, J. (1977). The effect of temperature on the germination and endogenous cytokinin and gibberellin levels of pecan nuts. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 82(3), 274-280. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(77\)80061-5](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(77)80061-5).
- Espindola, Y., Romero, L., Ruiz, R. y Luna, C. (2018). Influencia de las condiciones de incubación sobre la germinación de semillas de diferentes individuos de *Pterogyne nitens*. *Quebracho*, 26(1), 5-17.
- Flores, M. A., Sánchez, E., Muñoz, E., Ojeda, D. L., Soto, J. M. and Preciado, P. (2017). Phytochemical composition and antioxidant capacity in Mexican pecan nut. *Emirates*

- Journal of Food and Agriculture*, 29(5), 346-350. Retrieved from <https://doi.org/10.9755/ejfa.EJFA-2016-08-1075>.
- Hills, P. N. and van Staden, J. (2003). Thermoinhibition of seed germination. *South African Journal of Botany*, 69(4), 455-461. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30281-7](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30281-7).
- Joseph, B., Ramteke, P. W. and Thomas, G. (2008). Cold active microbial lipases: Some hot issues and recent developments. *Biotechnology Advances*, 26(5), 457-470. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.05.003>.
- Jover, P., Matta, F. B. and Shah, F. S. (2006). Harvest Time and Storage Condition Affect Germination, Moisture, Abscisic Acid, and Indoleacetic Acid in Pecan. *HortScience*, 41(5), 1235-1237. Retrieved from <https://doi.org/10.21273/hortsci.41.5.1235>.
- Kabak, B., Dobson, A. D. W. and Var, I. (2006). Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 1549-7852. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/10408390500436185>.
- Ku-Mahamad, K. R. (2015). Hybrid ant colony system and flower pollination algorithms for global optimization. Paper presented at the 2015 9th International Conference on IT in Asia: Transforming Big Data into Knowledge. Sarawak, August 4-5, 2015. <https://doi.org/10.1109/CITA.2015.7349816>
- Méndez, G. D., Covarrubias, A. y Beltrán, E. (2013). Procesos moleculares involucrados en la protección de las semillas a la desecación. *Biológicas*, 15(2), 42-48.
- Parsa, S., García, A. M., Castillo, K., Ortiz, V., Becerra, L. A., Braun, J. and Vega, F. E. (2016). Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Fungal Biology*, 120(5), 783-790. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.017>.
- Poletto, T., Stefenon, V. M., Poletto, I. and Muniz, M. F. B. (2018). Pecan Propagation: Seed Mass as a Reliable Tool for Seed Selection. *Horticulturae*, 4(3), 1-7. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/horticulturae4030026>.
- Rehman, N., Hussain, I., Zaib-un, N. and Awan, A. A. (2000). Germination study on five different varieties of pecan nut [1999]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2(3), 917-918.

- Sanderlin, R. S. (2015). Susceptibility of Some Common Pecan Rootstocks to Infection by *Xylella fastidiosa*. *HortScience*, 50(8), 1183-1186.
- Scussel, V. M., Manfio, D., Savi, G. D. and Moecke, E. H. S. (2014). Stereoscopy and Scanning Electron Microscopy of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) Shell, Brown Skin, and Edible Part: Part One—Healthy Nut. *Journal of Food Science*, 79(7), H1443-H1453. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12502>.
- Tanwar, B., Modgil, R. and Goyal, A. (2020). Nutritional and phytochemical composition of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] and its hypocholesterolemic effect in an animal model. *British Food Journal*, 123(4), 1433-1448. Retrieved from <https://doi.org/10.1108/BFJ-08-2020-0689>.
- Thornton, P. S., Maniatis, A. K., Aghajanova, E., Chertok, E., Vlachopapadopoulou, E., Lin, Z., Song, W., Christoffersen, E. D., Breinholt, V. M., Kovalenko, T., Giorgadze, E., Korpál-Szczyrska, M., Hofman, P. L., Karpf, D. B., Shu, A. D. and Beckert, M. (2021). Weekly Lonapegsomatropin in Treatment-Naïve Children With Growth Hormone Deficiency: The Phase 3 heiGHt Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(11), 3184-3195. Retrieved from <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab529>.
- van Staden, J. and Dimalla, G. G. (1976). Regulation of Germination of Pecan, *Carya illinoensis*. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 78(1), 66-75. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/s0044-328x\(76\)80141-9](https://doi.org/10.1016/s0044-328x(76)80141-9).
- Verma, P. and Chandel, J. S. (2017). Influence of nursery raising techniques on root development and growth of nursery plants of pecan (*Carya illinoensis* Koch.). *Progressive Horticulture*, 49(2), 113-116.
- Wakeling, L. T., Mason, R. L., D'Arcy, B. R. and Caffin, N. A. (2001). Composition of Pecan Cultivars Wichita and Western Schley [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] Grown in Australia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1277-1281. Retrieved from <https://doi.org/10.1021/jf000797d>.
- Walters, C., Landré, P., Hill, L., Corbineau, F. and Bailly, C. (2005). Organization of lipid reserves in cotyledons of primed and aged sunflower seeds. *Planta*, 222, 397-407. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s00425-005-1541-5>.
- Xiao, L., Ong, W.-D., Wang, J., Huang, C., Hong, J., Xi, J., Lv, S., Li, X. and Huang, J. (2020). Comparative Metabolome Analyses of Chinese Hickory Nut Kernels

Highlight the Importance of Allocation Shift and Accumulation on Primary and Secondary Metabolites During In-Situ Germination. *Research Square*. Retrieved from <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-72375/v1>

Zhang, R., Peng, F. and Li, Y. (2015). Pecan production in China. *Scientia Horticulturae*, 197, 719-727. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.035>.

Zheng, Y., Lin, X., Liang, H., Wang, F. and Chen, L. (2018). The Long Journey of Pollen Tube in the Pistil. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 1-15. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/ijms19113529>.

Rol de Contribución	Autor (es)
Conceptualización	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual), Marco Antonio Gutiérrez Coronado (igual).
Metodología	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual)
Software	NO APLICA
Validación	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual)
Análisis Formal	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual), Marco Antonio Gutiérrez Coronado (igual).
Investigación	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual),
Recursos	Marco Antonio Gutiérrez Coronado
Curación de datos	NO APLICA
Escritura - Preparación del borrador original	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual), Marco Antonio Gutiérrez Coronado (igual).
Escritura - Revisión y edición	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual), Marco Antonio Gutiérrez Coronado (igual).
Visualización	Valeria Gándara Ledezma (principal), Jesus Edrel Perla Valenzuela (igual), Marco Antonio Gutiérrez Coronado (igual).
Supervisión	Marco Antonio Gutiérrez Coronado
Administración de Proyectos	Marco Antonio Gutiérrez Coronado
Adquisición de fondos	Marco Antonio Gutiérrez Coronado