

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Estudio del potencial de los residuos de cáscara de nuez para su aprovechamiento en el cultivo de pimiento

Estudo do potencial dos residuos da casca de noz para o seu aproveitamento no cultivo de pemento

Study of walnut shell residue as a potential agricultural input in pepper crops



Lucía Jorge Matos

Curso: 2023

Convocatoria: Julio

Director Académico 1: José Díaz Varela

Director Académico 2: Néstor Carrillo Barral

ÍNDICE

1. Resumen/Resumo/Abstract.....	1
2. Introducción.....	2
2.1 Cáscara de nuez.....	2
2.2 Germinación.....	3
2.3 Pimiento de Padrón.....	3
2.4 <i>Botrytis cinerea</i>	4
3. Objetivos.....	6
4. Material y métodos.....	6
4.1 Obtención y procesado de la cáscara de nuez.....	6
4.2 Determinación del porcentaje de retención de agua.....	6
4.3 Estudio de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas.....	7
4.4 Ensayo del tratamiento con extracto de cáscara de nuez sobre la infección por <i>B. cinerea</i>	7
4.5 Análisis estadísticos.....	8
5. Resultados.....	9
5.1 Porcentaje de retención de agua.....	9
5.2 Estudio de la germinación.....	9
5.3 Efecto de la nuez en el crecimiento de plántulas.....	11
5.4 Efecto del extracto de cáscara de nuez sobre la infección por <i>B.cinerea</i>	11
6. Discusión.....	13
7. Conclusiones/Conclusións/Conclusions.....	14
8. Bibliografía.....	16

1. Resumen.

La cáscara de nuez es uno de los principales residuos del comercio mundial de productos alimentarios. Se producen millones de toneladas al año, por lo que en este trabajo se ha explorado su uso como sustrato, para ver si mejora la germinación y el establecimiento de plántulas de pimiento de Padrón. También se ha utilizado como material de partida para la obtención de un extracto que pudiese inducir las defensas propias de las plantas y mejorar su respuesta frente a diversos patógenos. En este estudio se utilizó *Botrytis cinerea* como patógeno. Los resultados muestran un aumento de la velocidad de germinación en los sustratos dónde se encuentran las cáscaras de nuez y un mayor crecimiento en longitud del hipocótilo de las plántulas. Por otra parte, el extracto de nuez no redujo los síntomas causados por *B. cinerea* ni a nivel local ni a nivel sistémico.

Resumo.

A casca de noz é un dos principais residuos do comercio mundial de produtos alimentarios. Prodúcese millóns de toneladas ao ano, polo que neste traballo explorouse o seu uso como substrato, para ver se mellora a xerminación e o establecemento de plántulas de pemento de Padrón. Tamén se utilizou como material de partida para obter un extracto que puidese inducir as defensas propias das plantas e mellorar a súa resposta fronte a diversos patóxenos. Neste estudo utilizouse *Botrytis cinerea* como patóxeno. Os resultados mostran un aumento da velocidade de xerminación nos substratos onde se encontran as cascas de noz e un maior crecemento en lonxitude do hipocótilo das plántulas. Por outra banda, o extracto de noz non reduciu os síntomas causados por *B. cinerea* nin a nivel local nin a nivel sistémico.

Abstract.

Walnut shells are one of the main waste products in the global food trade. Millions of tonnes are produced each year, so this work has explored its use as a substrate to check if it improves the germination and establishment of Padrón pepper seedlings. It was also used as a starting material for obtaining an extract that could induce plant defence and improve its response to various pathogens. In this study, *Botrytis cinerea* was used as a pathogen. The results show an increase in germination rate in substrates containing walnut shells and an increase in the length of the hypocotyl of the seedlings. On the other hand, the walnut extract did not reduce the symptoms caused by *B. cinerea* either locally or systemically.

Palabras clave: cáscara de nuez, germinación, *Botrytis cinerea*, pimiento de Padrón (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.), defensa en plantas.

2. Introducción.

2.1 Cáscara de nuez.

La cáscara de nuez es uno de los principales residuos del comercio mundial de frutas y frutos secos (Nair *et al.*, 2023). La producción mundial de nuez supera los 3,7 millones de toneladas anuales, y el 90% de la misma se cultiva en ocho países, siendo estos: China, Estados Unidos, Irán, Turquía, México, Ucrania, Chile y Uzbekistán (Queirós *et al.*, 2020; Uslu *et al.*, 2020). La nuez es un cultivo que está altamente distribuido por todo el planeta, por lo que encontrar formas de poder aprovechar los residuos generados, es decir, la cáscara, ayudaría a que su explotación fuese ambientalmente más sostenible y a compensar el coste del descascarado, un proceso que requiere muchos recursos.

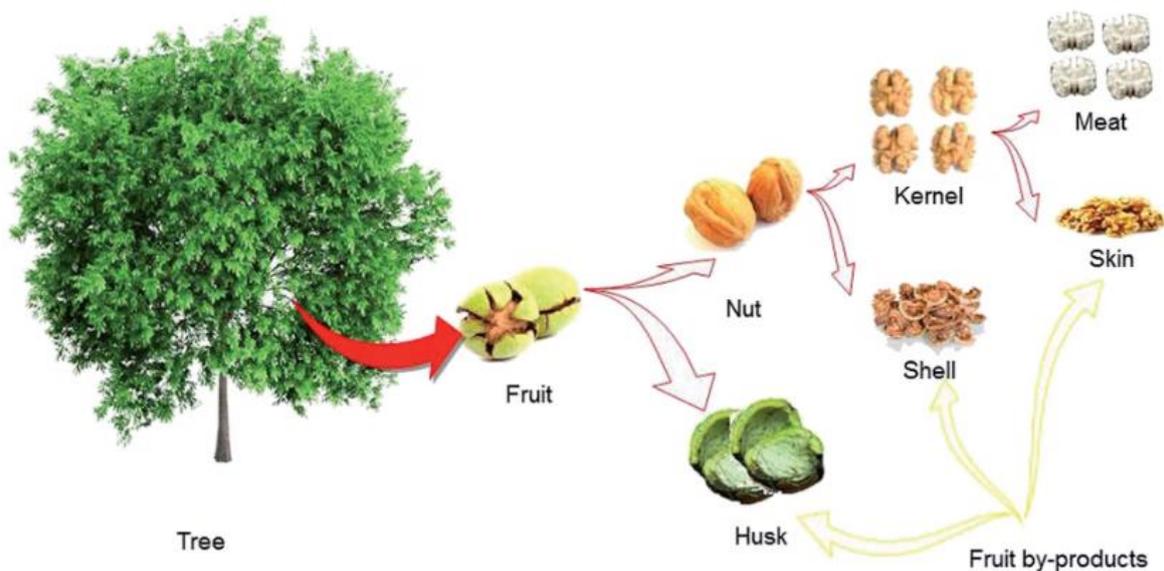


Figura 1. Diferentes partes del fruto del nogal y los subproductos correspondientes. El fruto del nogal se compone principalmente de la cáscara verde (husk), la cáscara (shell), la semilla (kernel), a su vez formada por la piel (skin) y el embrión (meat). La cáscara verde, la cáscara y la piel son los principales residuos agrícolas del fruto. En este trabajo se utilizó la cáscara (shell), correspondiente al endocarpo del fruto (Jahanban-Esfahlan *et al.*, 2020).

La cáscara de nuez se caracteriza por un bajo contenido mineral, un contenido moderado de compuestos polares y una alta lignificación (Queirós *et al.*, 2020). Este alto contenido en lignina hace que pueda ser utilizada, por ejemplo, para la producción de biocombustibles o para la eliminación de metales pesados, como el cobre, gracias a la presencia de grupos funcionales polares (Kali *et al.*, 2022; Queirós *et al.*, 2020). Además de la lignina, también contiene hemicelulosa y celulosa, en menor cantidad, y una alta cantidad de fenoles que pueden ser utilizados como antioxidantes naturales. Estos compuestos se utilizan en diversas industrias como puede ser el caso de la cosmética o la farmacéutica (Jahanban-Esfahlan *et al.*, 2019;2020).

En este trabajo se explora el uso de la cáscara de nuez de forma directa como sustrato y como material de partida para la obtención de un extracto. En otros estudios se han explorado otras formas de aplicación como la transformación en biocarbón (Uslu *et al.*, 2020).

2.2 Germinación.

La semilla es la unidad de diseminación de la planta, puede permanecer bajo condiciones desfavorables durante extensos períodos, hasta que el entorno se vuelve adecuado para el crecimiento y supervivencia de la planta (Weitbrecht *et al.*, 2011).

Aunque la semilla es una estructura de resistencia, el proceso de germinación está altamente regulado por factores ambientales. Para que se produzca es imprescindible la disponibilidad de agua, oxígeno y una temperatura adecuada. La germinación comienza con la absorción de agua por parte de la semilla seca, un proceso conocido como imbibición, y termina con la absorción de agua a medida que el hipocótilo se alarga a través de la cubierta de la semilla. (Weitbrecht *et al.*, 2011).

Una vez concluida la germinación comienza el establecimiento de la plántula (Kucera *et al.*, 2005; Weitbrecht *et al.*, 2011). La plántula, al contrario que la semilla, es una fase del desarrollo de la planta en la que ésta es especialmente vulnerable a todo tipo de condiciones adversas. La germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas son procesos esenciales para el establecimiento de las plantas, y en agricultura es fundamental tenerlos en cuenta para conseguir una buena productividad (Uslu *et al.*, 2020).

2.3 Pimiento de Padrón.

El pimiento de Padrón (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*) se encuentra entre las especies más cultivadas en España.



Figura 2. Fotografía donde se observan varios frutos de pimiento de Padrón. Imagen cedida por: José Díaz Varela.

Al igual que otras solanáceas que se cultivan hoy en día, esta planta es de procedencia americana, y fue en este continente dónde se domesticó por primera vez. El origen del cultivo en Galicia se asocia a las semillas traídas por los monjes Franciscanos al convento de Herbón en el Siglo XVII (Rodríguez Bao *et al.*, 2006). En la actualidad, este cultivo es tan importante en nuestra comunidad que cuenta con una Denominación de Origen Protegida, “Pemento de Herbón”, cuya área de envasado y producción abarca los ayuntamientos de Padrón, Dodro, Rois, Pontecesures y Valga. Los pimientos pertenecientes a esta DOP son ecotipos locales de la variedad Padrón. La producción de pimiento de Herbón en Galicia en 2022 fue de 76.406 kg, en un total de 5,5 ha plantadas y la ganancia conseguida supera los 300.000 euros (Consellería de Medio Rural da Xunta de Galicia, 2022).

El pimiento es un cultivo de estación cálida que germina lentamente en suelos fríos, esto hace que las semillas y las plántulas jóvenes sean más susceptibles a las enfermedades (Samarah *et al.*, 2016).

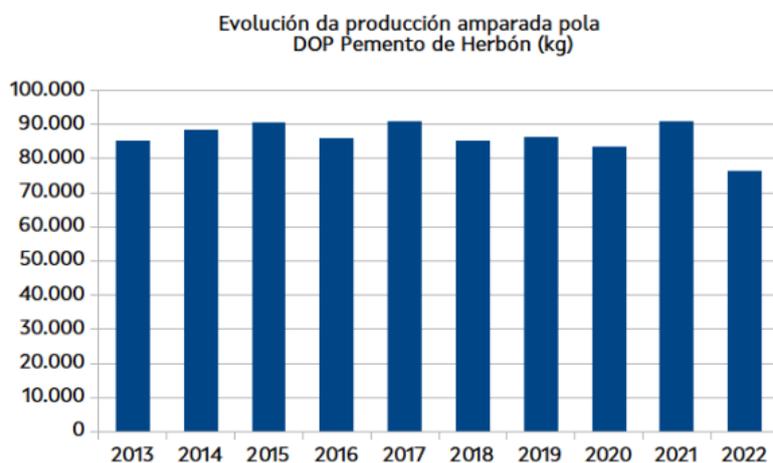


Figura 3. Producción anual de Pimiento de Herbón DOP en Galicia en los últimos 10 años (Consellería de Medio Rural da Xunta de Galicia, 2022).

2.4 *Botrytis cinerea*.

El patógeno utilizado en este trabajo ha sido *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. Este patógeno tiene una amplia gama de hospedadores, alrededor de 1000 especies de plantas, principalmente dicotiledóneas y puede infectar tanto la propia planta huésped como los productos postcosecha (Veloso & van Kan, 2018; Williamson *et al.*, 2007). Es un hongo filamentoso ubicuo que se caracteriza por provocar la muerte de las células de la planta huésped y luego colonizar el tejido muerto, es decir, es un necrotrofo. Este hongo puede crecer en un rango de temperatura que va desde los 0°C, hasta los 30°C, siendo los 20°C lo óptimo (Romanazzi & Feliziani, 2014). Es un patógeno difícil de controlar porque tiene una gran variedad de modos de ataque y puede permanecer largos períodos de tiempo en el suelo y en restos de cultivos. Presenta un amplio rango de síntomas que dependen del tejido y del órgano

que esté colonizando. Los síntomas más comunes en las hojas son las podredumbres blandas, acompañadas del colapso de los tejidos parenquimáticos, seguidas de una rápida aparición de masas grises de conidios (Williamson *et al.*, 2007).

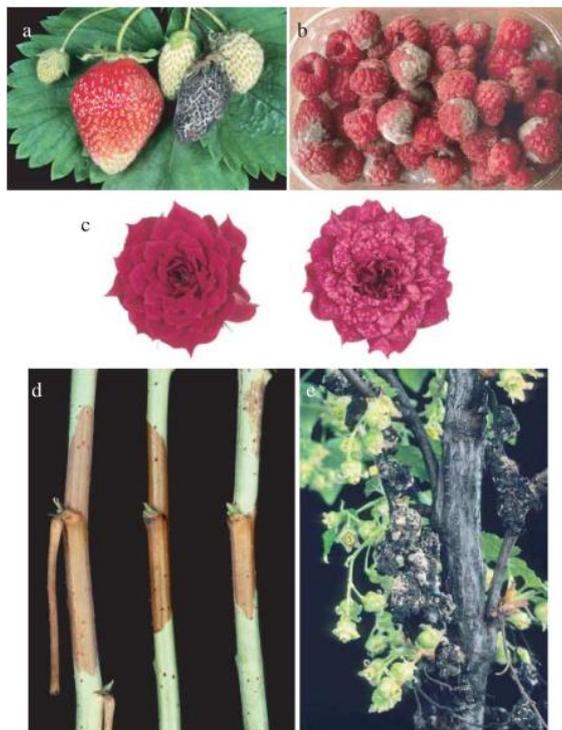


Figura 4. Síntomas de la infección con *B. cinerea* en diferentes partes de las plantas. (a) Frutos de fresa. (b) Frutos de frambuesa. (c) Pétalos de rosa. (d) Lesiones en los nudos de frambueso. (e) Frutos momificados de grosella negra (Williamson *et al.*, 2007).

Es necesario encontrar alguna forma de frenar la propagación de este patógeno o de disminuir los síntomas que causa. Tradicionalmente se han usado los fungicidas como método de control de las enfermedades, aunque actualmente el uso de estos compuestos se ha ido restringiendo cada vez más. Por ello, es interesante el uso de alternativas que induzcan las defensas propias de la planta y mejoren su respuesta frente a patógenos. Dicha inducción de defensas se puede obtener mediante el uso de extractos, donde se encuentren sustancias que desempeñan un papel fundamental desencadenando los mecanismos de defensa de las plantas e incluso también pueden actuar como biocidas, para así poder combatir ciertos patógenos vegetales (Jahanban-Esfahlan *et al.*, 2019; Lujan *et al.*, 2021).

3. Objetivos.

Los objetivos de este trabajo son:

1. Comprobar la capacidad de retención de agua del residuo de cáscara de nuez de cara a su posible uso como sustrato.
2. Conocer la eficacia de las cáscaras de nuez como sustrato para el cultivo de semillas de pimiento de Padrón.
3. Describir el efecto de la cáscara de nuez como sustrato sobre el crecimiento temprano de plántulas de pimiento de Padrón.
4. Determinar la resistencia del pimiento de Padrón a *Botrytis cinerea* cuando se trata con un extracto de cáscaras de nuez.

4. Material y métodos.

4.1 Obtención y procesado de la cáscara de nuez.

La cáscara de nuez se obtuvo a partir de nueces comerciales enteras. Una vez separadas de la semilla, las cáscaras fueron sometidas a dos lavados con agua del grifo y otro con agua destilada para retirar cualquier posible contaminante. A continuación, se secaron en una estufa a 70°C y se trituraron en una batidora de vaso. Los fragmentos resultantes de dicho triturado se separaron en varias fracciones de tamaño mediante el uso de tamices y se almacenaron en bolsas herméticas. En este trabajo se utilizó la fracción de 3-6 mm.

4.2 Determinación del porcentaje de retención de agua.

Se determinó el porcentaje de retención de agua de varios sustratos: perlita, vermiculita, tierra vegetal y cáscara de nuez.

Para ello se pesaron 25 g de cada sustrato y se dejaron en 100 ml de agua durante 24 horas, para que alcancen su punto máximo de hidratación. Una vez pasado ese tiempo, se prepararon 5 placas de Petri con 5 g para cada sustrato, y se dejaron secar en la estufa a 70°C durante 24 h. Pasadas 24 h se pesaron las placas, y posteriormente se continuaron pesando cada hora hasta que no hubo variación del peso. Una vez se establezca, ese dato será el peso seco. El porcentaje de retención de agua para cada sustrato se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ retención agua} = \frac{\text{agua retenida (g)}}{\text{peso sustrato húmedo (g)}} \times 100$$

$$\text{agua retenida (g)} = \text{peso sustrato húmedo (g)} - \text{peso sustrato seco (g)}$$

4.3 Estudio de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas.

Se utilizaron semillas comerciales de pimiento de Padrón (semillas Fitó). El estudio de la germinación se realizó en 3 sustratos distintos: perlita, perlita y nuez en proporción 4:1 (v/v) y por último perlita y nuez en proporción 2:1 (v/v). Los sustratos se esterilizaron en el autoclave. Las semillas se desinfectaron previamente, para evitar la proliferación de hongos u otros microorganismos. Para ello se utilizó una solución de hipoclorito sódico al 10%, en la que se sumergieron las semillas durante 10 minutos en agitación y posteriormente se realizaron varios lavados con agua destilada estéril.

Se sembraron tres bandejas con 50 semillas para cada uno de los diferentes sustratos. Las bandejas se prepararon con 500 ml del sustrato correspondiente humedecido con 300 ml de agua y se guardaron en bolsas herméticas de plástico, para conservar la humedad. Posteriormente se mantuvieron en una cámara de cultivo con las siguientes condiciones: 16 h de luz a 25°C y 8 h de oscuridad a 18°C.

Se determinó el porcentaje de semillas germinadas cada 24 h durante 10 días. Se consideró germinada una semilla en la que la radícula ha atravesado las cubiertas y es claramente visible (aproximadamente 1 mm). A partir de los datos de germinación, se calculó el t50 utilizando la siguiente fórmula, según el método descrito por Dastanpoor *et al.*, 2013:

$$t_{50} = t_i + \frac{[(\frac{N}{2} - n_i)(t_i - t_j)]}{n_i - n_j}$$

Donde, N es el número final de germinación y ni, nj número acumulado de semillas germinadas por recuentos adyacentes en los tiempos ti y tj, respectivamente cuando ni < N / 2 < nj.

Tras 16 días desde el inicio de la germinación se midió la longitud del hipocótilo y de la raíz de cada plántula utilizando un calibre digital.

Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

4.4 Ensayo del tratamiento con extracto de cáscara de nuez sobre la infección por *B. cinerea*.

4.4.1 Obtención del material vegetal.

Se sembraron semillas de pimiento en una bandeja con perlita como sustrato y se dejaron crecer en cámara de cultivo durante 20 días aproximadamente, hasta que alcanzaron un tamaño mayor de 2 cm. Se trasplantaron 70 plantas a pocillos individuales que se mantuvieron en la cámara de cultivo (16 h de luz a 25°C y 8 h de oscuridad a 18°C) hasta el día del tratamiento una semana después. Estas plantas se regaron con la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (1950).

4.4.2 Obtención del material patógeno.

En este experimento se utilizó como patógeno la cepa B0510 de *Botrytis cinerea* proporcionada por el doctor Jan van Kan (Wageningen University, Países Bajos). El cultivo se realizó en medio semisólido PDA (agar patata dextrosa). El último repicado se realizó 3 días antes de la inoculación para asegurar que el patógeno se encontrara en un estado de crecimiento activo. Los cultivos se mantuvieron en cámara a 23°C en oscuridad.

4.4.3 Obtención del extracto.

El extracto se preparó a partir de 5 g de nuez junto con 25 mL de etanol al 50% en un matraz Erlenmeyer. Esta mezcla se lleva al autoclave, para además de esterilizar, extraer posibles compuestos de la cáscara de nuez. Posteriormente se centrifugó durante 5 minutos a 2300 xg, se recogió el sobrenadante y se diluyó con 250 ml de agua mineral.

4.4.4 Tratamiento de las plantas.

Se utilizaron 32 plantas repartidas en dos tratamientos, 16 plantas en el control y 16 plantas tratadas con el extracto de cáscara de nuez. En el caso del control se trataron con agua mineral. La hoja tratada fue una de las dos primeras hojas verdaderas, a la que se le hizo una marca para diferenciarla de la no tratada. Se les pulverizó con 5 ml de extracto o agua mineral, dependiendo a que tratamiento pertenezcan. Durante 24 horas se incubaron en la cámara de cultivo, y posteriormente se procedió a la inoculación con el patógeno. Los experimentos se realizaron por duplicado.

4.4.5 Inoculación.

Se colocaron dos discos de micelio de 4 mm de diámetro en la hoja tratada y otros dos en la hoja opuesta, para poder observar el efecto del extracto de cáscara de nuez a nivel local y a nivel sistémico. Las plantas inoculadas se incubaron en la cámara de cultivo en cajas, a las cuales se les añadió agua en el fondo, para aumentar la humedad ambiental y favorecer la infección por el hongo.

4.4.6 Medida de síntomas.

A las 48 horas tras la inoculación se midieron los síntomas. Para ello se midió el diámetro (mm) de la lesión y posteriormente se calculó el área lesionada (mm²).

4.5 Análisis estadísticos.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa Statgraphics Centurion XVIII. El test utilizado en cada caso se especifica en el apartado de resultados.

5. Resultados.

5.1 Porcentaje de retención de agua.

Se determinó el porcentaje de retención de agua en diferentes sustratos, los resultados obtenidos pueden observarse en la **Fig. 5**. La nuez fue el sustrato con un menor porcentaje de retención (en torno a un 40%), el resto de los sustratos tienen una capacidad de retención más similar, aunque la perlita y la tierra vegetal tienen una capacidad ligeramente superior a la vermiculita.

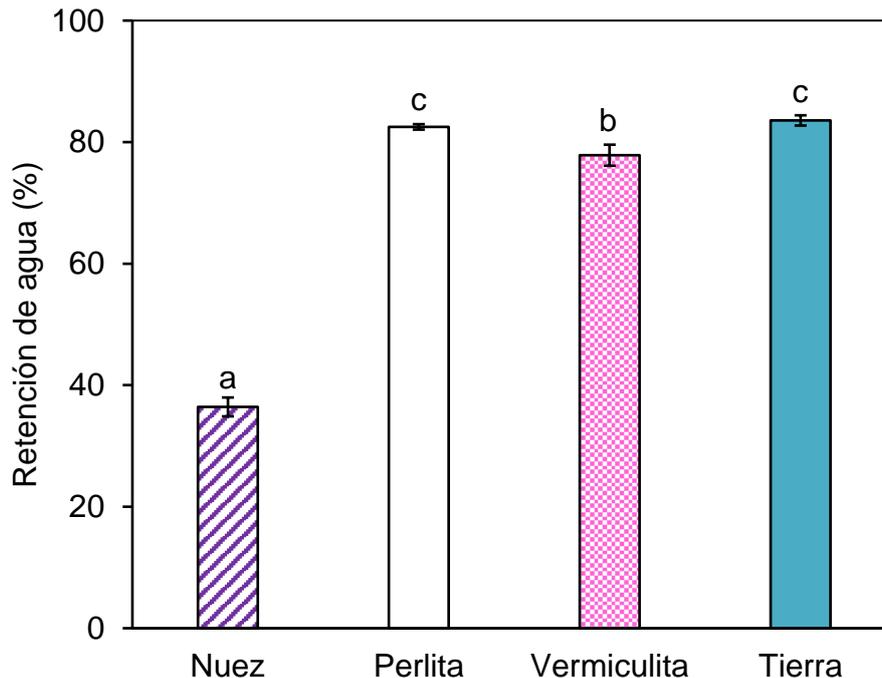


Figura 5. Porcentaje de retención de agua en los diferentes sustratos. Los datos son las medias \pm el error estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas en un test ANOVA seguido de una prueba de rango múltiple (método LSD) con un $\alpha=0,05$.

5.2 Estudio de la germinación.

Se reflejan los datos de germinación de semillas de pimienta en los diferentes sustratos a lo largo del tiempo en la **Fig. 6**. La presencia de nuez en el sustrato favorece o acelera la germinación de las semillas, aunque aparentemente no hay diferencias entre las dos concentraciones de nuez utilizadas con respecto al porcentaje de germinación a medida que avanzan los días.

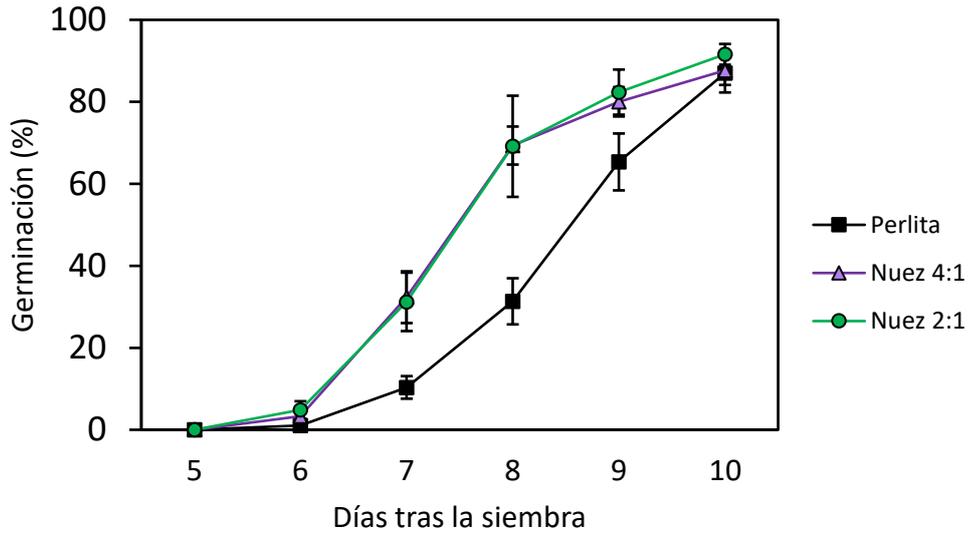


Figura 6. Porcentaje de germinación de pimienta de Padrón a lo largo del tiempo en diferentes sustratos. Los datos son las medias \pm el error estándar.

A partir de los datos de porcentaje se calculó el indicador t_{50} , que refleja el tiempo medio necesario para que las semillas alcancen el 50% de germinación. Este dato es un indicador fiable del progreso de la germinación y facilita la interpretación y análisis estadístico de los datos.

Los resultados obtenidos están representados en la **Fig.7**. En la perlita se necesita más tiempo para alcanzar el 50% de germinación, mientras que en los sustratos con nuez se alcanza un par de días antes. La presencia de nuez en el sustrato induce la germinación, aunque no se han observado diferencias entre las distintas concentraciones de nuez utilizadas.

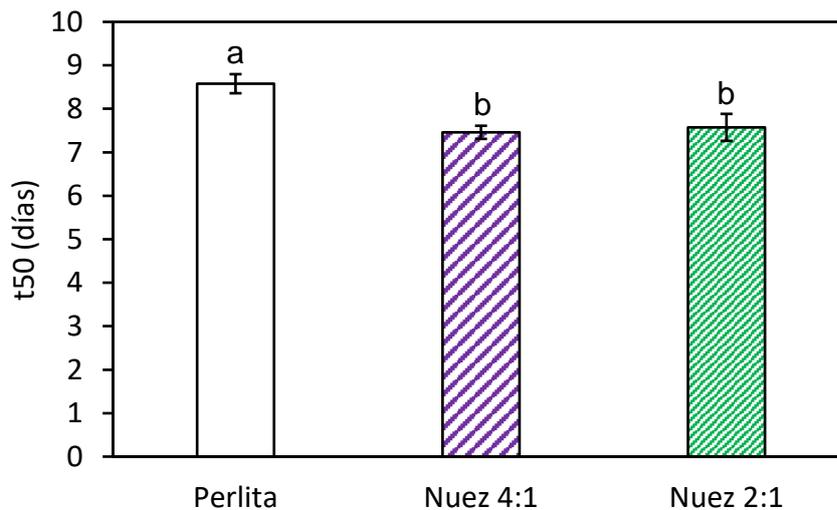


Figura 7. t_{50} de semillas de pimienta de Padrón germinadas en diferentes sustratos. Los datos son las medias \pm el error estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas en un ANOVA seguido de una prueba de rango múltiple (método LSD) con un $\alpha=0,05$.

5.3 Efecto de la nuez en el crecimiento de plántulas.

Se determinó el efecto de los diferentes sustratos sobre la longitud de raíces e hipocótilo. Los resultados obtenidos están representados en la **Fig.8**. La nuez estimuló significativamente el crecimiento del hipocótilo, mientras que en la raíz no se aprecian diferencias significativas. Los datos pertenecientes al tratamiento de nuez 2:1 no se han incluido, debido a que las plántulas presentaron un crecimiento muy irregular y se produjeron repetidos problemas de contaminación.

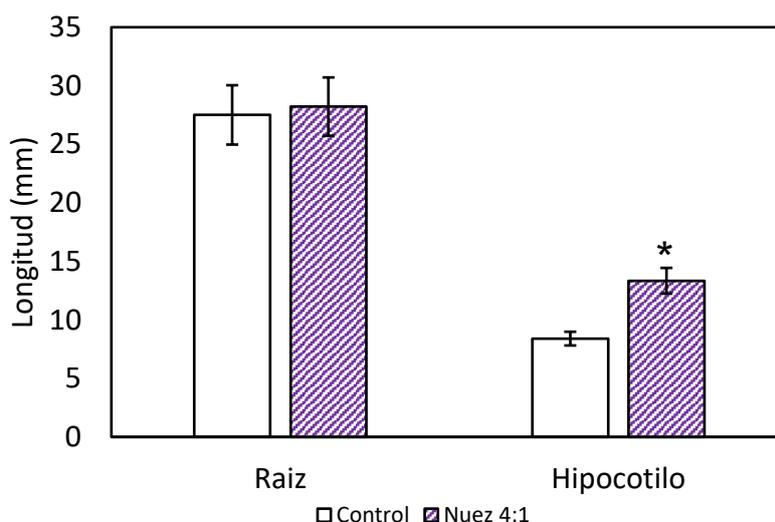


Figura 8. Longitud de la raíz y del hipocótilo de las plántulas de pimiento de Padrón crecidas en diferentes sustratos. Los datos son las medias \pm el error estándar. Un asterisco indica diferencias significativas respecto al control en un ANOVA con un $\alpha=0,05$

5.4 Efecto del extracto de cáscara de nuez sobre la infección por *B. cinerea*.

5.4.1 Efecto a nivel local.

Se estudió el efecto del extracto de nuez a nivel local en los síntomas causados por *B. cinerea* en la hoja que se trató con el extracto de cáscara de nuez. Los resultados obtenidos están representados en la **Fig.9**. En este caso no hay diferencias significativas en los síntomas causados por *B. cinerea* entre el grupo control y el tratado con extracto de cáscara de nuez.

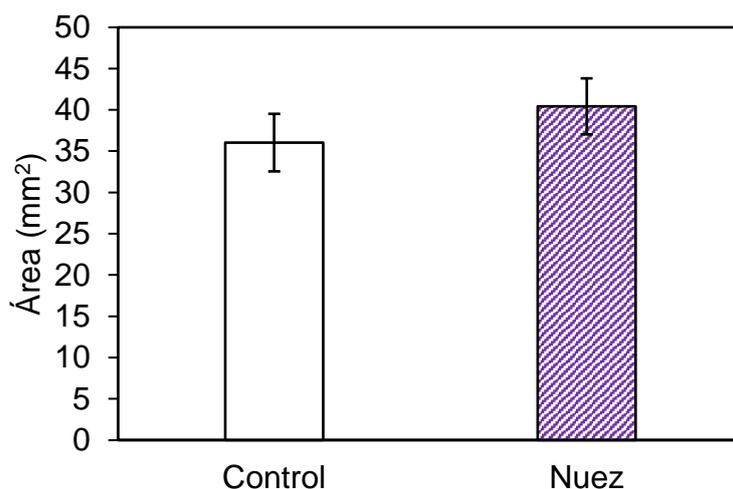


Figura 9: Área de la lesión en las hojas de las plantas de pimiento de Padrón en el control y en las tratadas con extracto de cáscara de nuez a nivel local. Los datos son las medias \pm el error estándar. No se observaron diferencias significativas en una prueba t de Student con un $\alpha=0.05$

5.4.2 Efecto a nivel sistémico.

Se estudió el efecto del extracto de nuez a nivel sistémico en los síntomas causados por *B. cinerea* en la hoja siguiente a la que se trató con el extracto de cáscara de nuez. Los resultados obtenidos están representados en la **Fig.10**. En este caso no hay diferencias significativas entre los síntomas causados por *B. cinerea* en el grupo control y tratado con el extracto de cáscara de nuez.

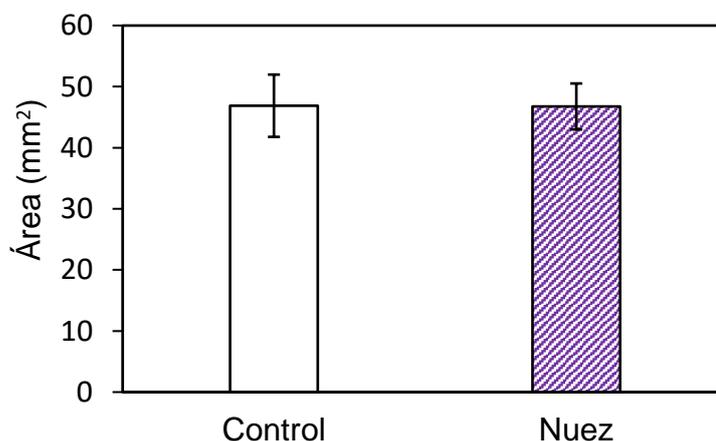


Figura 10: Área de la lesión en mm en las hojas de plantas de pimiento de Padrón en el control y en las tratadas con extracto de cáscara de nuez a nivel sistémico. Los datos son las medias \pm el error estándar. No se observaron diferencias significativas en una prueba t de Student con un $\alpha=0.05$

6. Discusión.

La cáscara de nuez es uno de los residuos más abundantes en la industria de producción y comercialización de frutos secos. La búsqueda de alternativas para poder reaprovechar este residuo tiene un gran interés tanto a nivel económico como ambiental. Una de las formas de utilizar la cáscara de nuez es su incorporación directa al sustrato dónde podría aportar características interesantes para su uso agrícola. En este caso se observó que su incorporación a un sustrato de perlita tiene la capacidad de promover la germinación de semillas de pimiento de Padrón. La presencia de la cáscara de nuez aceleró la germinación aproximadamente un día. Este efecto inductor puede parecer poco relevante, pero hay que tener en cuenta que los experimentos se han realizado en unas condiciones óptimas para la germinación. En unas condiciones de cultivo en campo, donde los parámetros como la humedad, luz, temperatura y oscilación térmica son mucho más variables, el efecto del sustrato sobre la germinación podría ser más importante. Por lo tanto, sería interesante realizar más estudios para ver cómo funciona en campo o en invernadero.

Aunque la nuez actuó como inductora de la germinación, no se apreciaron diferencias significativas entre las dos proporciones de perlita:nuez utilizadas, ambas tuvieron un efecto similar. Por el contrario, en este estudio se observó que una proporción excesiva (por encima de 4:1 (v/v)) no es ventajoso y genera problemas en el establecimiento de las plántulas, además de favorecer la aparición de contaminaciones fúngicas. Sería interesante probar con concentraciones más bajas de nuez y determinar cuáles son las proporciones óptimas de perlita:nuez como sustrato.

Cómo se ha mencionado en la introducción, la cantidad de agua presente durante la germinación es determinante, y un mejor intercambio entre el sustrato y la semilla podría explicar la inducción de la germinación provocada por la nuez. No obstante, no parece que la cáscara de nuez esté aportando más agua a la semilla que la perlita, ya que su capacidad de retención de agua es menor. Además, en este experimento el agua no es un aspecto limitante para la germinación de las semillas, ya que se mantuvieron en una atmósfera muy húmeda durante toda la duración del ensayo. Las semillas fueron regadas con agua destilada, por lo que no hubo ningún aporte externo de nutrientes a parte de los que pueda aportar la cáscara de nuez. Por tanto, es posible que la germinación haya mejorado por la presencia de la cáscara de nuez porque debe aportar algún tipo de sustancia, como pueden ser: nutrientes, hormonas, estimuladores del crecimiento, etc (Uslu *et al.*, 2020). Habría que realizar un estudio más detallado de los compuestos solubles que aporta la nuez al medio de crecimiento. Hay resultados similares con el uso de algas, las cuales también presentan un efecto bioestimulante de la germinación (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2019).

En relación con el crecimiento de la raíz, no hay diferencias significativas entre la longitud en el control y en el sustrato con cáscara de nuez. Si el intercambio de agua estuviese afectado de alguna forma por la presencia de cáscara de nuez, en el sustrato se podría esperar un cambio en el sistema radicular pero no es el caso.

Por otra parte, la presencia de cáscara de nuez en el sustrato produjo un incremento notable en la longitud de la parte aérea de la planta. Esto puede ser debido a una estimulación del crecimiento en las etapas tempranas de la planta. Este efecto sería muy beneficioso de cara a su utilización en la producción agrícola. Por otro lado, el aumento en la longitud de los hipocótilos ha sido asociado a procesos de estrés, como por ejemplo, el encharcamiento o la falta de luz (Wang *et al.*, 2019). Aunque no parece haber sido el caso en este experimento, ya que se controló la cantidad de agua y luz, no se podría descartar que este alargamiento del hipocótilo se deba a un factor de estrés. Sería interesante continuar el experimento hasta plantas adultas para ver el efecto a largo plazo.

Además de la incorporación de la cáscara de nuez al sustrato, este residuo se podría emplear en la fabricación de elicitors de origen biológico. El uso de este tipo de compuestos ha demostrado un aumento en la eficiencia de las defensas contra patógenos (Lujan *et al.*, 2021). Por ello se planteó su estudio como posible inductor de las defensas en plantas de pimiento frente a *B. cinerea*. En este trabajo se utilizó un extracto etanólico 50% de cáscara de nuez. No se observó una reducción de los síntomas, ni a nivel local ni sistémico. Se podrían hacer otro tipo de extractos, ya que al cambiar el medio se podrían extraer otros compuestos a partir del mismo material (Queirós *et al.*, 2020). Por lo tanto, sería interesante investigar que ocurre con otros solventes para ver si se obtienen resultados diferentes (Jahanban-Esfahlan *et al.*, 2019). Hay otros estudios donde investigan el potencial supresor de enfermedades con compost hecho a base de residuos agroindustriales como por ejemplo las cáscaras de castaña, posos de café, hojas de olivo, etc. Han obtenido un resultado positivo del compost a base de cáscaras de castaña con relación a la disminución de la patogenicidad de ciertos patógenos, como *B. cinerea* y otros hongos patógenos (Santos *et al.*, 2021).

7. Conclusiones.

1. La cáscara de nuez tiene una capacidad de retención de agua apreciable (40%) aunque inferior a la de los otros sustratos utilizados como referencia.
2. La presencia de cáscara de nuez en el sustrato tuvo un efecto positivo sobre la germinación. La t_{50} se redujo en un día respecto al control, no obstante no se observaron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de nuez.

3. Las plántulas de pimiento de Padrón cultivadas en un sustrato con cáscara de nuez presentaron un mayor crecimiento en sus hipocótilos, pero no vieron afectado el crecimiento de sus raíces. La concentración más alta de nuez tuvo un efecto adverso sobre el desarrollo de las plántulas.
4. La aplicación del extracto de cáscara de nuez no generó un efecto protector frente a *B. cinerea*, ni a nivel local ni sistémico.

Conclusións.

1. A casca de noz ten unha capacidade de retención de auga apreciable (40%) aínda que inferior á dos outros substratos utilizados como referencia.
2. A presenza da casca de noz no substrato tivo un efecto positivo sobre a xerminación. A t50 reduciuse nun día respecto ao control, non obstante non se observaron diferenzas significativas entre as diferentes concentracións de noz.
3. As plántulas de pemento de Padrón cultivadas nun substrato con casca de noz presentaron un maior crecemento nos seus hipocótilos, pero non viron afectado o crecemento das suas raíces. A concentración máis alta de noz tivo un efeto adverso sobre o desenvolvemento das plántulas.
4. A aplicación do extracto de casca de noz non xerou un efecto protector frente a *B. cinerea*, nin a nivel local nin sistémico.

Conclusions.

1. Walnut shells have an appreciable water retention capacity (40%), although lower than that of the other substrates used as a reference.
2. The presence of walnut shells in the substrate had a positive effect on germination. The t50 was reduced by one day compared to the control, but no significant differences were observed between the different concentrations of walnut.
3. Padrón pepper seedlings grown in a substrate with walnut shells showed a higher growth in their hypocotyls, but their root growth was not affected. The higher concentration of walnut had an adverse effect on seedling development.
4. The application of walnut shell extract did not generate a protective effect against *B. cinerea*, either locally or systemically.

8. Bibliografía.

- Consellería de Medio Rural da Xunta de Galicia. (2022). Ficha Técnica da Denominación de Orixe Pemento de Herbón. <https://mediorural.xunta.gal/es/temas/alimentacion/productos-gallegos-de-calidad/productos-origen-vegetal/pemento-herbon> Visitado el 12/07/2023 por última vez.
- Dastanpoor, N., Fahimi, H., Shariati, M., Davazdahemami, S., & Hashemi, S. M. M. (2013). Effects of hydropriming on seed germination and seedling growth in sage (*Salvia officinalis* L.). *African Journal of Biotechnology*, 12(11), 1223-1228. <https://doi.org/10.4314/ajb.v12i11>
- Di Filippo-Herrera, D. A., Muñoz-Ochoa, M., Hernández-Herrera, R. M., & Hernández-Carmona, G. (2019). Biostimulant activity of individual and blended seaweed extracts on the germination and growth of the mung bean. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 2025-2037. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1680-2>
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, 347(2nd edit). <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19500302257>
- Jahanban-Esfahlan, A., Jahanban-Esfahlan, R., Tabibiazar, M., Roufegarinejad, L., & Amarowicz, R. (2020). Recent advances in the use of walnut (*Juglans regia* L.) shell as a valuable plant-based bio-sorbent for the removal of hazardous materials. *RSC Advances*, 10(12), 7026-7047. <https://doi.org/10.1039/C9RA10084A>
- Jahanban-Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2019). A comparative review on the extraction, antioxidant content and antioxidant potential of different parts of walnut (*Juglans regia* L.) fruit and tree. *Molecules*, 24(11), 2133. <https://doi.org/10.3390/molecules24112133>
- Kali, A., Amar, A., Loulidi, I., Jabri, M., Hadey, C., Lgaz, H., Alrashdi, A., & Boukhlifi, F. (2022). Characterization and adsorption capacity of four low-cost adsorbents based on coconut, almond, walnut, and peanut shells for copper removal. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02564-4>
- Kucera, B., Cohn, M. A., & Leubner-Metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15(4), 281-307. <https://doi.org/10.1079/SSR2005218>
- Lujan, P., Dura, S., Guzman, I., Grace, M., Lila, M. A., Steiner, R., & Sanogo, S. (2021). Efficacy of pecan husk and shell phenolic extracts against *Phytophthora* blight in chile pepper. *Plant Health Progress*, 22(3), 342-347. <https://doi.org/10.1094/PHP-02-21-0024-FI>

- Nair, R. R., Schaate, A., Klepzig, L. F., Turcios, A. E., Lecinski, J., Shamsuyeva, M., Endres, H.-J., Papenbrock, J., Behrens, P., & Weichgrebe, D. (2023). Physico-chemical characterization of walnut shell biochar from uncontrolled pyrolysis in a garden oven and surface modification by ex-situ chemical magnetization. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02525-z>
- Queirós, C. S. G. P., Cardoso, S., Lourenço, A., Ferreira, J., Miranda, I., Lourenço, M. J. V., & Pereira, H. (2020). Characterization of walnut, almond, and pine nut shells regarding chemical composition and extract composition. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 10(1), 175-188. <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00424-2>
- Rodríguez Bao, J. M., Terrén Poves, L., & Riveiro Leira, M. (2006). Producción del pimiento de Padrón en Galicia. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, 194, 15-19.
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014). *Botrytis cinerea* (gray mold). En *Postharvest Decay*, 131-146.
- Samarah, N. H., Wang, H., & Welbaum, G. E. (2016). Pepper (*Capsicum annuum*) seed germination and vigour following nanochitin, chitosan or hydropriming treatments. *Seed Science and Technology*, 44(3), 609-623. <https://doi.org/10.15258/sst.2016.44.3.18>
- Santos, C., Monte, J., Vilaça, N., Fonseca, J., Trindade, H., Cortez, I., & Goufo, P. (2021). Evaluation of the potential of agro-industrial waste-based composts to control *Botrytis* gray mold and soilborne fungal diseases in lettuce. *Processes*, 9(12), 2231. <https://doi.org/10.3390/pr9122231>
- Uslu, O. S., Babur, E., Alma, M. H., & Solaiman, Z. M. (2020). Walnut shell biochar increases seed germination and early growth of seedlings of fodder crops. *Agriculture*, 10(10), 427. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100427>
- Veloso, J., & van Kan, J. A. L. (2018). Many shades of grey in *Botrytis*-host plant interactions. *Trends in Plant Science*, 23(7), 613-622. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.03.016>
- Wang, X., Ma, Q., Wang, R., Wang, P., Liu, Y., & Mao, T. (2020). Submergence stress-induced hypocotyl elongation through ethylene signaling-mediated regulation of cortical microtubules in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 71(3), 1067-1077.
- Weitbrecht, K., Müller, K., & Leubner-Metzger, G. (2011). First off the mark: Early seed germination. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3289-3309. <https://doi.org/10.1093/jxb/err030>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. a. L. (2007). *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561-580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>