

# LATENCIA EN SEMILLAS DE MANIHOT Y RICINUS (EUPHORBIACEAE)

756

John A. Ospina.<sup>1</sup> - Claudia L. Guevara<sup>2</sup>  
Manuel Sánchez O.<sup>3</sup>

## COMPENDIO

Se evaluó el efecto de temperatura, escarificación mecánica, ácido giberélico, etileno, luz roja y/o combinaciones de éstos, en la latencia en semillas de diferentes edades provenientes de poblaciones de 2 clones de *M. esculenta*, 4 de especies silvestres y 1 de *Ricinus* sp.. El comportamiento de semilla sexual de Manihot se asemeja al tipo convencional de semillas ortodoxas. La semilla con contenido de humedad entre 4 - 6 % puede almacenarse en cuarto frío (5°C - 35% HR) sin perder viabilidad. Las mejores respuestas en las poblaciones de Manihot se obtuvieron al combinar escarificación, temperatura, luz roja y etileno. La excisión de la carúncula o la ruptura de la testa en *Ricinus* permitió la liberación del estado latente. El tiempo de almacenamiento ejerció un efecto diferencial en la respuesta de latencia de algunas de las poblaciones de Manihot y *Ricinus*.

Palabras claves: Semillas, latencia, rompimiento, GA<sub>3</sub>, etileno, Manihot, *Ricinus*

## ABSTRACT

### DORMANCY IN MANIHOT AND RICINUS SEEDS (Euphorbiaceae)

Cassava is commonly propagated by means of stakes but the sexual seed is an important vehicle in the genetic improvement of the species. Ten treatments were selected to break dormancy over seed populations of 2 clones of *M. esculenta*, 4 wild species and one of *Ricinus* sp.. The selected treatments taking in consideration age (time of storage) evaluated the effect of temperature, mechanic scarification, Gibberelic acid, Ethylen, red light and/or combinations of these. For the time under study (14 months), we can establish that the behavior of sexual seed of Manihot corresponds to the conventional orthodox seed type. Within 4 to 6 % seed moisture content, seed can be stored under cold room conditions (5°- 35% RH) while maintaining viability. Time of storage influenced dormancy response in some of the populations studied. Therefore, this factor has to be considered anytime evaluating treatments to break dormancy in species of Manihot and *Ricinus*. Since the best treatments corresponded to the combined effect of scarification, temperature, red light and Ethylene it can be concluded that there must be a physical and physiological mechanism that controls germination and dormancy on seed population(s) of Manihot and *Ricinus*. It is suggested that it must exist a combination of two types of dormancy: exogenous and endogenous. In the case of *Ricinus*, since the only breakage of the seed coat and/or the removal of the caruncle induced germination, an exogenous type of dormancy is suggested for this specie. Preliminary results with GA<sub>3</sub>, Ethylene and light treatments suggest additional work.

Keys words: Seeds, dormancy, break, GA<sub>3</sub>, ethylene, Manihot, *Ricinus*

## INTRODUCCION

Aunque la yuca se propaga generalmente por medio de estacas, los fitomejoradores requieren semilla como fuente de variabilidad genética para la obtención de nuevos materiales. Debido a la alta heterosis de la especie y con el fin de aumentar el nivel de probabilidad de obtener un genotipo deseado, se hace necesario trabajar con poblaciones grandes de semillas de un cruzamiento específico y disponer de semillas que presenten buena capacidad de germinación.

En general, las semillas de *Manihot* spp. presentan baja germinación, condición que limita la utilización de estos recursos genéticos, y en algunos casos puede inducir un tipo de erosión genética (Hanh et al, 1.973). El sistema de cuarentena para las especies silvestres de *Manihot* se restringe al intercambio de germoplasma a través de clones in vitro ó a semilla botánica. El conocimiento y manejo de la latencia de poblaciones de semillas de las especies en intercam-

<sup>1</sup> Ing. Agr. Unidad de Recursos Genéticos, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia. <sup>2</sup> Ph.D. Agronomía, Conservación de Germoplasma, Unidad de Recursos Genéticos, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia. <sup>3</sup> Ing. Agr., M.Sc. Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia, AA. 237, Palmira, Colombia mssanchez64@hotmail.com

bio, facilitará la inspección cuarentenaria y evitará la posible diseminación de problemas fitosanitarios (que pueden ser llevados en semilla sexual).

Además de la latencia, la producción de semilla híbrida de yuca está limitada por la baja fertilidad y/o compatibilidad. Debido a esto, es necesario evaluar métodos más apropiados para determinar la viabilidad e incrementar la germinación y establecimiento de nuevas progenies (Mendes, 1.977).

Los objetivos de estudio fueron:

- Determinar y cuantificar el tipo de latencia asociada con semillas de algunas poblaciones de *Manihot* y *Ricinus* y evaluar algunos tratamientos para romperla.
- Establecer la relación entre las características morfológicas y fisiológicas de la semilla latente
- Conocer, describir y evaluar la germinación de semillas de varias especies de *Manihot* y una de *Ricinus* (y las etapas que integran este proceso).

## MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, localizado en Palmira, Valle del Cauca, Colombia;

Se utilizó semilla de 8 poblaciones de *Manihot* y una de *Ricinus sp.*, incluida por su disponibilidad y parecido morfológico (Cuadro 1).

Los frutos maduros se cosecharon en bolsas de tela en estado previo a la dehiscencia; la madurez de co-

secha se distingue cuando el pericarpio carnoso del fruto se seca, haciendo visible el endocarpio. La semilla se limpió y se clasificó por densidad, mediante flotación en agua. Para todas las pruebas se utilizó sólo semilla de la fracción de alta densidad. La semilla se secó durante 10 días (T=25°C y HR=22%) hasta alcanzar un contenido de humedad (C.H) en equilibrio entre 4 y 6% (C.H = 10-12% al momento de la cosecha); se empacó en bolsas plásticas y almacenó en condiciones de cuarto frío (T=5-7°C, HR=55%).

Para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento en la latencia, se realizaron pruebas de germinación sin tratamiento y viabilidad a la semilla almacenada en 3 épocas (0, 9 y 14 meses después de la cosecha). El sustrato utilizado en la prueba de germinación fue suelo:arena 1:3 en jiffy pots, en condiciones de invernadero (T/HR= 31°C/50% día y 21°C/78% noche).

Se evaluaron 11 tratamientos para romper latencia (Cuadro 2). Diez tratamientos con tres repeticiones en un diseño completamente al azar; el tratamiento con etileno (No.11) no se replicó.

En las pruebas de germinación se utilizó como sustrato papel para germinación, en rollos dentro de bolsas plásticas (ISTA, 1993).

La evaluación se hizo diariamente durante los primeros 7 días de la prueba y durante las 3 semanas siguientes cada 3 días. Los resultados de la prueba de germinación se reportaron en términos de semilla germinada y no germinada, la cual incluye la fracción de semilla fresca (imbibida pero no germinada) de las cuales se sospechaba su condición de latencia. Esta

CUADRO 1. Identidad de los materiales evaluados

| ESPECIE                  | TIPO      | FTE. MATERNA              | POBLACION   |
|--------------------------|-----------|---------------------------|-------------|
| <i>Manihot sp.</i>       | Cultivada | <i>M. esculenta</i>       | SG 427-87 * |
|                          |           |                           | NGA 5 **    |
|                          | Silvestre | <i>M. pseudoglaziovii</i> | PSE (B)     |
|                          |           |                           | PSE (G)     |
|                          |           | <i>M. chlorosticta</i>    | CHL 002     |
|                          |           |                           | CHL 003     |
|                          |           | <i>M. aesculifolia</i>    | AES 002     |
| <i>M. carthaginensis</i> | CTH       |                           |             |
| <i>Ricinus sp.</i>       | Silvestre |                           |             |

\* : SG 427-87. Selección de polinización abierta del clon Mcol 2060;

\*\* : NGA5=TMS 005. Proveniente de generación avanzada de un cruzamiento controlado con *M. glaziovii*

CUADRO 2. Tratamientos evaluados

| TRATAMIENTO                        | DESCRIPCION   |
|------------------------------------|---|
| Temperatura alterna (35/20°C)      | 8/16 h, con fotoperiodo en cámara germinadora   |
| Temperatura constante 35°C         | Cámara germinadora  |
| GA <sub>3</sub> 200 ppm            | Como riego en el sustrato   |
| GA <sub>3</sub> 500 ppm            | Como riego en el sustrato   |
| GA <sub>3</sub> 500 ppm            | Como pretratamiento 24h   |
| Luz Roja (650 nm) 1h               | Se adaptó un cajón de madera instalando una fuente de luz roja (lámpara Gro lux/WS de 20 W). La semilla fue expuesta a la luz, previa imbibición y con posterior oscuridad. El riego y las evaluaciones se hicieron bajo la misma calidad de luz. |
| Escarificación + imbibición 24h    | Se realizó manualmente utilizando papel lija; friccionando sobre la región micropilar de la semilla; condiciones de laboratorio   |
| Escarificación+imb+luz roja        | Posterior oscuridad   |
| Escarificación +imb+luz roja +35°C | Posterior oscuridad   |
| Escarificación + imbibición        | Imbibición en agua tibia 35°C; cond. Laboratorio  |
| Etileno                            | Se colocaron platos petri con semilla y sustrato humedecido dentro de un desecador con manzanas partidas.   |

última fracción se sometió a la prueba de viabilidad con tetrazolio (ISTA, 1993) y se evaluó de acuerdo el patrón de tinción diseñado para las poblaciones en estudio (Figura 1)

Se determinó la humedad de la semilla después del acondicionamiento y el patrón de absorción de agua de la semilla latente y no latente (sin tratamiento y con tratamiento de escarificación) y se relacionó con el proceso germinativo. El patrón de absorción de agua se estableció determinando el contenido de humedad inicial y en un periodo de 30 días, colocando las semillas en papel de germinación saturado con agua, en condiciones de laboratorio (T= 25°C y HR=60 %). Se evaluó la semilla tratada (escarificada) los días 1, 3, 5 después de la siembra y a los 7, 15 y 30 días la semilla no tratada (ISTA, 1993).

#### Diseño experimental y análisis de la información

El diseño utilizado fue completamente al azar con una estructura factorial. (Factor1: Población; Factor2: Métodos para romper latencia).

Las pruebas de humedad se hicieron con 2 repeticiones de 10 semillas por población y las pruebas de germinación y viabilidad con 3 repeticiones de 20 semillas por tratamiento. Variables de respuesta: Porcentaje de latencia, germinación relativa, viabilidad en Tetrazolio, contenido de humedad.

La medición de la latencia se hizo mediante el méto-

do propuesto por Diulgherof (1991), la cual se obtiene descontando la germinación relativa de 100. La expresión matemática de este concepto es:  $L = 100 - GR$ ; donde L= Latencia (%); GR= Germinación Relativa (%); donde  $GR = G/VT$ ; donde G= Germinación (%), VT= Viabilidad en Tetrazolio (%). Este método tiene la ventaja de expresar la germinación y la latencia como una proporción de las semillas viables y es muy útil en la expresión cuantitativa de fenómenos como la germinación y la latencia en lotes de diferente calidad ya que los cuantifica y expresa en términos de una base uniforme (semilla viva).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la latencia de semilla

Todas las semillas de las poblaciones de *Manihot* presentaron altos niveles de latencia (100%) hasta los 9 meses. Algunas poblaciones presentaron rompimiento natural de la latencia a los 14 meses con valores entre 58 y 89%, mientras que *M. pseudoglaziovii* (PSE), *M. carthaginensis* (CTH) y la variedad de yuca cultivada SG 427-87 permanecieron con valores altos de latencia (100%) (Cuadro 3).

De acuerdo a los resultados anteriores, se puede hacer inferencia del grado de latencia en las semillas de las poblaciones estudiadas clasificándolas como se presenta en el Cuadro 4.

Patrones seguidos, para la interpretación de resultados en pruebas de viabilidad con tetrazolio para especies de *Manihot* sp.

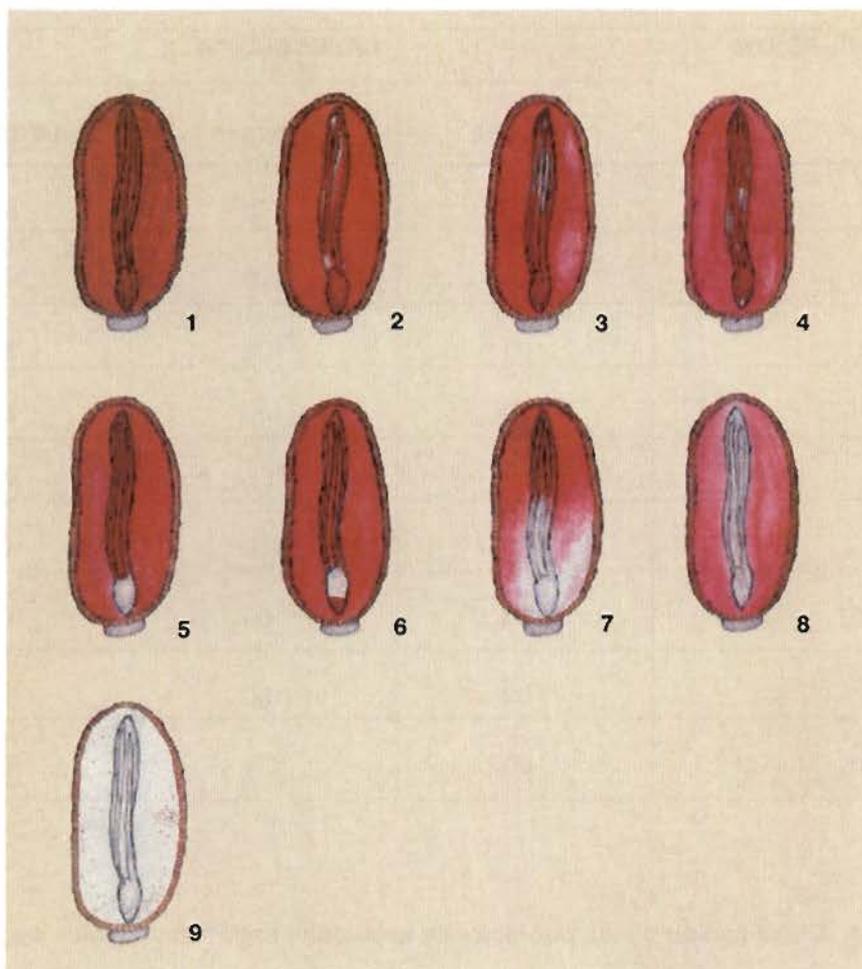


FIGURA 1.

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 1. GERMINABLE:    | Semilla completamente teñida, embrión incluyendo hojas cotiledonales con tonalidades fuertes                               |
| 2. GERMINABLE:    | Plúmula, hipocotilo, radícula y todo el endospermo completamente teñidos excepto pequeñas áreas en las hojas cotiledonales |
| 3. GERMINABLE:    | Plúmula, hipocotilo y radícula completamente teñidos excepto pequeñas áreas en las hojas cotiledonales y del endospermo    |
| 4. GERMINABLE:    | Semilla completamente teñida excepto pequeñas áreas de las hojas cotiledonales y menos del 30% de la radícula sin teñir    |
| 5. NO GERMINABLE: | Plúmula, endospermo y hojas cotiledonales teñidos; hipocotilo y radícula sin teñir   |
| 6. NO GERMINABLE: | Radícula, endospermo y hojas cotiledonales teñidos, plúmula e hipocotilo sin teñir   |
| 7. NO GERMINABLE: | Aproximadamente 50% del endospermo y las hojas cotiledonales teñidos, el resto sin teñir                                   |
| 8. NO GERMINABLE: | Tinción clara y homogénea del endospermo; embrión y hojas cotiledonales pálidos o sin teñir                                |
| 9. NO GERMINABLE: | Semilla completamente sin teñir.   |

CUADRO 3. Dinámica de latencia (%) de testigos a través del tiempo

| POBLACION   | LATENCIA (%) |         |          |
|-------------|--------------|---------|----------|
|             | 0 meses      | 9 meses | 14 meses |
| AES 002     | 100          | 100     | 58       |
| CTH         | 100          | 100     | 100      |
| CHL 002     | 100          | 100     | 80       |
| CHL 003     | 100          | 100     | 79       |
| PSE (B)     | 100          | 100     | 100      |
| PSE (g)     | 100          | 100     | 100      |
| SG 427-87   | 100          | 100     | 100      |
| NGA 5       | 100          | 100     | 89       |
| Ricinus sp. | 100          | 60      | 0        |

CUADRO 4. Clasificación de las poblaciones evaluadas según sus niveles de latencia

| Población                        | Nivel de latencia |
|----------------------------------|-------------------|
| CTH, PSE (B), PSE (G), SG 427-87 | *****             |
| NGA 5                            | ****              |
| CHL 002, CHL 003                 | ***               |
| AES 002                          | **                |
| Ricinus sp.                      | *                 |

\*\*\*\*\* = Profunda \* = Ligera

El bajo grado de latencia de semillas de *M. aesculifolia* comparado con el de las otras silvestres, puede estar asociado con su cercanía a la especie cultivada *M. esculenta*. Esta especie ha sido postulada por Rogers and Appan (1.973) como pariente cercano de *M. esculenta*. El tipo de respuesta de las otras cultivadas, especialmente de NGA 5 puede asociarse con su pedigree (generación avanzada de cruzamiento controlado con *M. glaziovii*)

Las semillas de *Ricinus sp.* almacenadas presentaron rompimiento completo de la latencia (0%), a los

14 meses. Este hecho coincide con la situación observada en campo, donde *Ricinus sp.* como maleza (en los lotes de CIAT) invade espontáneamente, probablemente respondiendo a almacenamiento en suelo y a temperaturas alternas día/noche.

#### Tratamientos para romper latencia

El análisis de varianza presentó alto nivel de significancia ( $P < 1\%$ ), entre tratamientos en poblaciones. Se utilizó el método de Duncan para agrupar las poblaciones por tratamiento (Steel and Torrie, 1.960).

**Temperaturas:** A excepción del clon de *M. esculenta*, SG 427-87 y en cierta forma AES 002, el tratamiento con temperaturas alternas (35/20°C) no resultó apropiado para las poblaciones estudiadas, aunque ha sido recomendado en la práctica por muchos autores.

Por otro lado, la temperatura constante (35°C) fue favorable para SG 427-87 y para AES 002 y no presentó efecto alguno en semillas de *Ricinus* y CTH.

En el programa de mejoramiento de yuca del CIAT, la mayoría de las semillas de *Manihot esculenta* con temperaturas alternas 36/25° se reporta cerca de 10% de latencia y en algunos casos, donde se aplica termoterapia por medio de temperaturas mayores a 60°C para el control fitosanitario se obtienen buenos resultados de germinación.

**Acido Giberélico:** El comportamiento de las semillas de las poblaciones utilizadas en este estudio, fue similar en las 3 concentraciones de tratamientos con GA<sub>3</sub>. A excepción de las semillas de *Ricinus sp.*, que

germinaron copiosamente cuando se usó el ácido giberélico en solución para humedecer el sustrato de germinación, las demás poblaciones de *Manihot*, no respondieron al efecto de este regulador hormonal. La razón por la cual no se presentó respuesta al GA<sub>3</sub>, puede ser debida a que, las concentraciones utilizadas no fueron las más apropiadas y tal vez como lo sugirió Khan (1.971), se requiera la participación de Citoquininas en un rol permisivo para la germinación.

**Luz roja:** La exposición de semillas pre-imbibidas de *Manihot* y *Ricinus* a este tipo de luz no presentó ningún efecto favorable para la germinación de las poblaciones utilizadas. Aunque la fuente utilizada (lampara Gro/lux WS de 20W), proporcionó un aporte importante de luz en el rango rojo 630 - 700 nm (21,78%), es posible que la cantidad de rojo lejano 700 - 780 nm (8.10%) que también suministraba, pudiera estar interfiriendo con la activación del pigmento asociado con la germinación (fitocromo) (Devlin and Witham, 1983).

CUADRO 5. LATENCIA EN SEMILLAS DE ALGUNAS EUPHORBIACEAS EN CADA TRATAMIENTO

| Población | Latencia (%) |        |         |         |         |         |        |        |        |        |
|-----------|--------------|--------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I-           | II-    | III-    | IV-     | V-      | VI-     | VII-   | VIII-  | IX-    | X-     |
| AES 002   | 56.7 c       | 0.0 d  | 96.7 a  | 96.6 b  | 100.0 a | 88.4 a  | 79.0 a | 26.7 b | 70.0 a | 28.4 b |
| CTH       | 93.4 a       | 82.6 a | 98.4 a  | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 83.4 a | 73.4 a | 46.4 b | 28.4 b |
| CHL 002   | 100.0 a      | 70.0 b | 100.0 a | 96.7 a  | 95.0 a  | 94.8 a  | 23.4 c | 3.4 c  | 17.6 c | 18.4 c |
| CHL 003   | 100.0 a      | 43.4 c | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 59.7 b | 29.7 b | 65.0 a | 53.4 a |
| PSE (B)   | 98.4 a       | 73.7 b | 100.0 a | 100.0 a | 98.4 a  | 100.0 a | 65.0 b | 14.2 b | 20.0 c | 13.4 c |
| PSE (G)   | 96.7 a       | 23.4 c | 98.3 a  | 100.0 a | 98.4 a  | 100.0 a | 71.7 a | 25.0 b | 70.0 a | 31.7 b |
| SG 427-87 | 0.0 d        | 0.0 d  | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 96.7 a  | 10.1 c | 3.4 c  | 16.8 c | 0.0 d  |
| NGA 5     | 94.5 a       | 33.4 c | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 100.0 a | 51.9 b | 0.0 c  | 44.5 b | 2.0 d  |
| RICINUS   | 78.4 b       | 98.3 a | 4.5 b   | 0.0 c   | 43.4 b  | 75.0 b  | 20.0 c | 0.0 c  | 0.0 c  | 0.0 d  |

| Tratamiento | Descripción  |
|-------------|--|
| I           | Temperatura alterna (35/20°C) con fotoperiodo 8/16 horas |
| II          | Temperatura constante (35°C)                             |
| III         | GA <sub>3</sub> 200 ppm como sustrato                    |
| IV          | GA <sub>3</sub> 500 ppm como sustrato                    |
| V           | GA <sub>3</sub> 500 ppm como pretratamiento              |
| VI          | Imbibición 24h+luz roja 1h+oscuridad lab.                |
| VII         | Escarificación+imbibición 24h+luz roja 1h+oscuridad lab. |
| VIII        | Escarificación+imbibición 24h+luz roja 1h+35°C oscuridad |
| IX          | Escarificación+imbibición 24h+cond. lab.                 |
|             | Escarificación+imbibición 24h (agua tibia)               |
| X           |  |

\*= Promedios con el mismo subíndice en la misma columna no difieren significativamente al nivel P<0.005 según la prueba de Duncan.

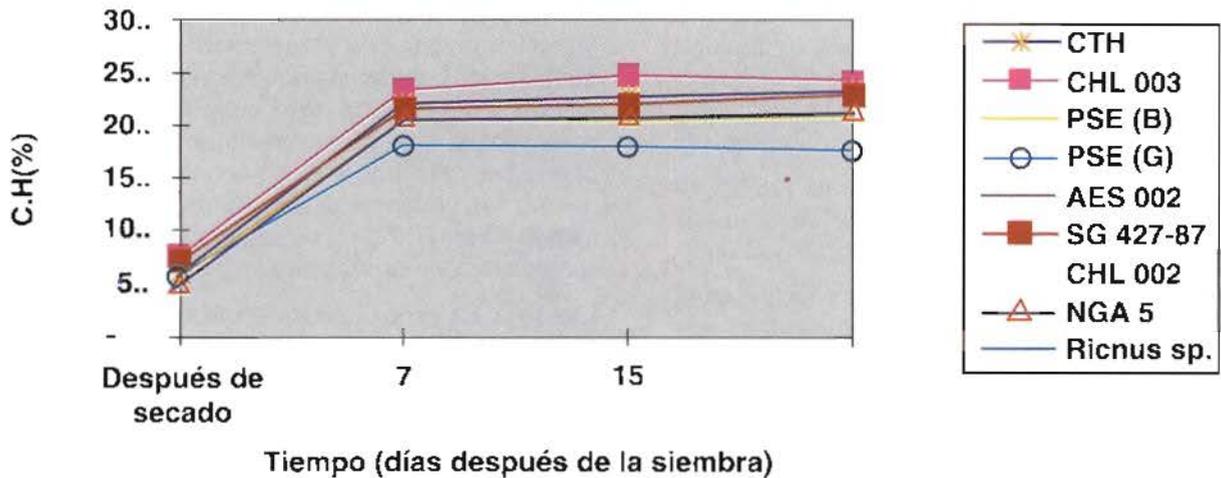


FIGURA 2. Imbibición de semilla escarificada a través del tiempo.

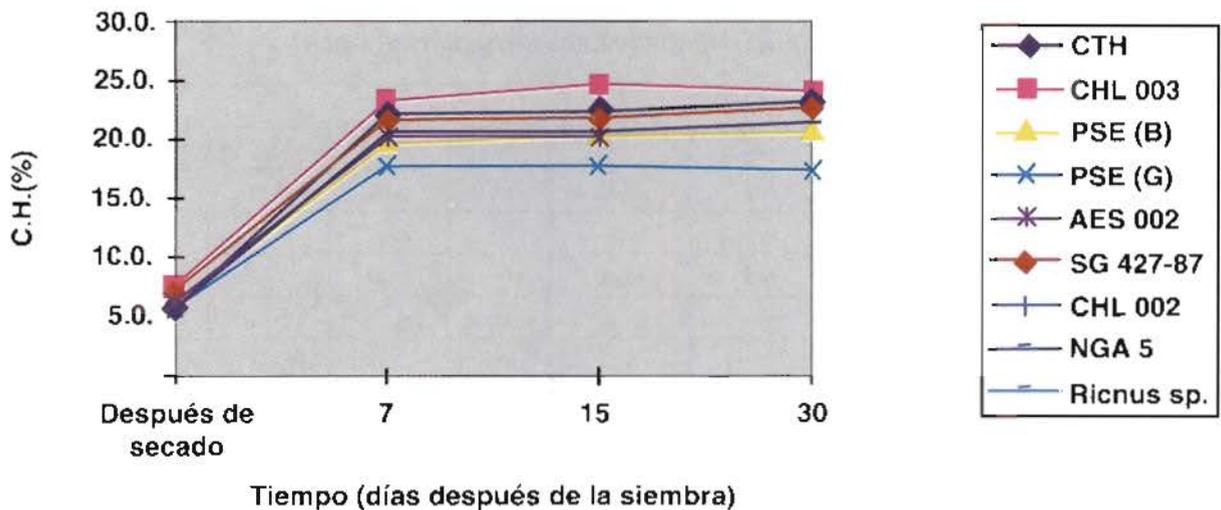


FIGURA 3. Imbibición de semilla no escarificada (latente) a través del tiempo.

**Escarificación:** La semilla escarificada de la mayoría de las poblaciones presentó bajos porcentajes de latencia. Sin embargo, su efecto fue mayor (0 y 31.7) cuando se asoció con imbibición en agua tibia (35°C).

**Combinación de tratamientos:** La acción conjunta de los tratamientos de temperatura (35°C), escarificación y luz roja (1hora), incrementaron parcialmente la germinación en todas las poblaciones, con excepción de CTH.

**Etileno:** Este tratamiento fue efectivo contra la latencia en las semillas de la población CTH 003 (20% de latencia comparado con 100% de latencia en el testigo). Desafortunadamente, la no replicabilidad del experimento debido a factores no controlables (estado climático de las manzanas, dinámica de gases dentro del disecador), no permitió que el experimento pudiera ser evaluado en las demás poblaciones.

Los porcentajes de latencia en las poblaciones eva-

luadas en cada tratamiento se presentan en el Cuadro 5.

#### Patrón de absorción de humedad

Se evaluó el patrón de absorción de agua en la germinación de las semillas de las poblaciones evaluadas para asociar esta información con el tipo de latencia involucrado en *Manihot* y con la aparente dureza de la testa de las semillas.

El patrón de absorción de todas las poblaciones con semilla tratada (escarificada) presentó la curva típica de absorción de agua con tres fases distintivas: rápida absorción, estabilización y post-estabilización; al final de la fase de estabilización ocurre normalmente la germinación. Todas las poblaciones mostraron un patrón típico de absorción de agua observado en cualquier semilla durante el proceso de imbibición. Las diferencias menores en la composición de carbohidratos, lípidos y proteínas, de cada población explica las diferencias en la tasa de absorción.

La velocidad de absorción de agua fué mucho más rápida que con semilla escarificada, pero los niveles de humedad de la fase de estabilización fueron similares en ambos casos. Esta comparación permitió asociar el punto de inicio de germinación con un nivel de humedad determinado y se confirmó que la semilla

latente absorbe la cantidad de agua adecuada para iniciar el proceso germinativo, pero necesita de otros factores adicionales. Por lo tanto, se podría concluir que no existe dureza total de capas o impermeabilidad de la testa, que impidan la absorción de agua como factor determinante para la condición de latencia en poblaciones de *Manihot*.

Comparando los contenidos de humedad en semilla escarificada con los de semilla sin escarificar e imbibida, se puede evidenciar el papel de la escarificación como acelerador en la imbibición y por ende rápida hidratación de las células acelerando el proceso germinativo. Esto se pudo comprobar al observar que los contenidos de humedad reportados en semillas sin escarificar después de 7 días, fueron similares a los obtenidos entre 1 y 5 días con semilla escarificada.

Semilla escarificada de las poblaciones de CHL 002 y de *Ricinus* semilla sin escarificar, no se pudieron evaluar por falta de semilla ya que casi la totalidad de estas habían germinado. Esta situación es explicable ya que se utilizó semilla después de 14 meses de almacenamiento.

Las figuras 2 y 3 presentan los patrones de absorción de humedad en semilla con y sin escarificación.

## BIBLIOGRAFIA

DEVLIN, R.M. and WITHAM, F.H. Plant physiology 4ed. 1983 577p.

DIJLGEROFF, S. Phenology, seed yield and physiological quality of *Brachiaria dictyoneura* Stapf cultivated in Costa Rica. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza. Programa de Enseñanza. Area de Posgrado Tesis M.sc. 150p.

HANH, S.K; HOWLAND, A.V. and TERRY, E R. Cassava breeding of IITA. In: International Symposium on Tropical Root Crops. 3. IBADAN, NIGERIA 197317 p.

ISTA (Asociación Internacional de Ensayos De Semillas). Reglas internacionales para ensayos de semillas. Madrid - Ministerio de Agricultura, 1993. 184p.

KHAN, A.A. Cytokinins permissive role in seed germination. En: Science. Vol. 171; no. 3974 (1971); p. 853-858.

MENDES, R.A. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) seed germination improvement. Lafayette. Purdue, 1977 Thesis (M.Sc). Purdue University Indiana.

ROGERS, D.J and APPAN, S.G. Flora neotropicana. Monograph No 13. Manihotoides (Euphorbiaceae). New York : Hafner Press, 1973 p. 1-272.

STEEL, R.G.D and TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics McGraw-Hill, 1960 481 p