



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Evaluación del efecto de diferentes tratamientos pregerminativos sobre la capacidad germinativa de las semillas de *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet**

Tesis para obtener el título de  
LICENCIADA EN BIOLOGIA

Presenta  
VERÓNICA ARELLANO CAMACHO

Director  
DR. CARLOS ALBERTO RUIZ JIMÉNEZ

MAYO DE 2023



## **Agradecimientos**

A mi madre que siempre apostó y dio todo por mí, sin ella jamás lo hubiera logrado, este logro es nuestro y con una enorme dicha lo comparto.

A Raúl que siempre confió en que lo lograría y hoy es una realidad.

Al Dr. Carlos Alberto Ruiz Jiménez que siempre estuvo para orientarme en todo este proceso y ante todas las dificultades jamás me negó el apoyo.

A mis amigos Zeltzin, Alberto, Iván y compañeros quienes me brindaron lo mejor de sí desde que los conozco, su apoyo es invaluable.

A mi familia por darme ánimo y siempre sentirse orgullosos de mí.

A Hugo por haberme acompañado todos estos años y nunca soltarme cuando más lo necesité.

***¡Simplemente Gracias!***

## **Dedicatoria**

A mis abuelitos: Juanita, Mario y Teresita, desde donde estén espero se sientan orgullosos de mi ¡Sí se pudo!

A mi madre porque es mi vida y a ella le debo este logro tan grande.

A todas las personas que me ayudaron a lograrlo y siempre permanecieron a mi lado durante esta etapa.

<b>Índice</b>	
<b>Agradecimientos</b>	III
<b>Dedicatoria</b>	IV
<b>Resumen</b>	VII
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. ANTECEDENTES</b>	3
<b>2.2 Origen</b>	3
<b>2.3 Características de las semillas del género <i>Opuntia</i></b>	4
<b>2.4 Usos y aprovechamiento</b>	6
<b>2.5 Importancia de la propagación por semilla</b>	7
<b>2.6 Técnicas de germinación</b>	7
<b>2.6.1 <i>Cactaceae</i></b>	8
<b>2.6.1.1 Escarificación química</b>	8
<b>2.6.1.2 Escarificación mecánica</b>	9
<b>2.6.1.3 Estratificación</b>	9
<b>2.6.2 <i>Opuntia</i></b>	10
<b>2.6.2.1 Escarificación química</b>	10
<b>2.6.2.3 Estratificación</b>	11
<b>2.7 Descripción de la especie</b>	11
<b>3. HIPÓTESIS</b>	15
<b>4. OBJETIVOS</b>	15
<b>4.1 Objetivo General</b>	15
<b>4.2 Objetivos específicos</b>	15
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	16
<b>5.1 Obtención de frutos y semillas</b>	16
<b>5.2 Diseño experimental</b>	16
<b>5.2.2 Tratamientos pregerminativos</b>	18
<b>5.2.3 Siembra</b>	19
<b>5.3 Análisis - Procedimiento estadístico</b>	21
<b>5.4 Transformación de datos</b>	28
<b>6. RESULTADOS</b>	28
<b>7. Discusión</b>	38
<b>9. Bibliografía</b>	49



## Resumen

El xoconostle (*Opuntia joconostle*) tiene múltiples usos en industrias como la cosmética y alimenticia; sin embargo su propagación incluso en vida silvestre se realiza vegetativamente ya que sus semillas tienen una cubierta lignificada lo que pone en riesgo la variabilidad genética de la especie por lo que el desarrollo de un protocolo de germinación mediante la evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas permite conocer los requerimientos de germinación de la especie.

Se utilizaron tres lotes de semillas de diferentes años (2019 [19], 2020 [20] y 2021 [21]) y se les aplicaron seis tratamientos (control [T1], remojo en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% durante 24 horas [T2], remojo en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 6% por 24 horas [T3], escarificación mecánica [T4], y combinación de escarificación mecánica con remojo en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% durante 24 horas [T5] y remojo en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 5% por 24 horas [T6], se sembraron las semillas en un sustrato mixto de peatmoss y perlita bajo condiciones de temperatura y humedad ambientales, la germinación se registró por un periodo de 60 días.

El porcentaje de germinación más alto fue de 34.62% del T2-20 y el más bajo de 3.84% para T2-20, T3-20, T5-20 y T6-20 para el resto de tratamientos no se presentó germinación, la distribución de la germinación fue sigmoideal, la ANOVA realizada mostró que no existen diferencias significativas entre los tratamientos  $F=1.8328$  por lo que se concluye que el tipo de tratamiento no tiene influencia en la germinación de las semillas, más bien el tiempo de almacenamiento de un año es el que permite la maduración del embrión y germinación ya que solo el lote del año 2020 presentó resultados.

## 1. INTRODUCCIÓN

La familia *Cactaceae* se distingue por diversas características que favorecen su adaptación a condiciones adversas en ambientes desérticos (Barrios *et al.*, 2020). Es considerada como endémica de América, con una distribución restringida que va desde Canadá hasta Argentina, incluye aproximadamente entre 1,500 a 1,800 especies y el género *Opuntia* contiene entre 191 y 215 especies, de las cuales 83 están distribuidas en México por lo que se le considera como el centro de distribución y diversificación (Cortés *et al.*, 2019; Majure *et al.*, 2012 y Peña-Valdivia *et al.*, 2008).

Las cactáceas se caracterizan por su resistencia a las sequías, los climas extremos y a los suelos pobres en nutrientes (Cortés *et al.*, 2019), gracias a las diversas adaptaciones morfológicas que presentan como los tallos cubiertos de espinas que son hojas modificadas y ayudan a la planta a protegerse de depredadores, sequías, captación de agua y evitar la pérdida de agua (Stintzing y Carle, 2005).

Sin embargo, habitar en ambientes hostiles con recursos limitados supone una desventaja reproductiva, en el caso del género *Opuntia* la reproducción vegetativa en las poblaciones silvestres y en la industria de su producción es la más frecuente debido a los bajos costos energéticos y rápido crecimiento para obtener diversos beneficios, esta práctica de propagación pone en riesgo la variabilidad genética de estas especies al no permitir la recombinación y solo tener clones de un solo individuo (Cortés *et al.*, 2019).

La germinación en palabras de Barrios *et al.* (2020) es “la serie de eventos que empiezan con la imbibición y que finaliza con la emergencia de la radícula de la semilla”; en algunas especies la reproducción sexual se dificulta debido a la dureza de la testa de la semilla y a la dormancia que Orozco-Segovia *et al.* (2007) clasifican como física, cuando las semillas presentan una cubierta impermeable al agua, o fisiológica cuando las semillas presentan un potencial bajo de crecimiento del embrión y no pueden imbibirse (hidratarse); aunque es un mecanismo de sobrevivencia, implica que el proceso de germinación nunca ocurra o sea muy difícil de lograr bajo condiciones naturales o *in situ*.

Dentro de esta familia se encuentra el género *Opuntia* que comúnmente se les conoce como nopales o pencas, la especie *Opuntia joconostle* Weber presenta dormancia física y fisiológica en sus semillas y al ser una especie con valor alimenticio, medicinal y biológico, es muy importante la realización de estudios que permitan conocer sus requerimientos de germinación por medio de tratamientos de escarificación.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Características generales del género *Opuntia***

Se considera que el género *Opuntia* es el que incluye más especies de la familia *Cactaceae*, las cuales están distribuidas desde Canadá hasta Argentina donde México es considerado como el centro de diversificación y distribución en donde se presentan el mayor número de especies (Reyes-Agüero *et al.*, 2006), dentro de nuestro territorio habitan desde regiones semiáridas hasta pastizales.

Las plantas pertenecientes a este género se caracterizan por sus tallos o cladodios carnosos aplanados en forma de raqueta, areolas, glóquidas numerosas tanto en el cladodio como en flores y frutos, hojas presentes solo en etapa temprana del desarrollo de los cladodios y flores hermafroditas de distintos colores, frutos carnosos o bayas, semillas aplanadas con testa lignificada (Muñoz, 2014; Bravo-Hollis, 1978). El género está constituido aproximadamente por 191 a 215 especies; sin embargo, existen problemas de identificación por la alta variabilidad morfológica de las especies y su plasticidad fenotípica (Cortés *et al.*, 2019).

### **2.2 Origen**

Su origen se remonta al final del Eoceno y el inicio del Mioceno hace aproximadamente 35 millones de años en el suroeste de América del Sur como resultado de la desertificación de la zona; la radiación ocurrió en Perú y Ecuador (figura 1), del clado de Norteamérica se derivaron varias especies endémicas de América del Sur.

La mayoría de las especies de *Opuntia* son producto de la hibridación, lo que hace sumamente difícil su clasificación al no contar con colecciones y registros de las especies, alta plasticidad fenotípica, falta de estudios de morfología, falta de guías para su identificación, poliploidía y los constantes cambios físicos entre individuos (Majure *et al.*, 2012; Majure & Puente 2014).



Figura 1. Reconstrucción de las vías de distribución de los clados del género *Opuntia*. Tomado de (Majure *et al.*, 2012).

### 2.3 Características de las semillas del género *Opuntia*

Las semillas de este género tienen como características una cubierta funicular dura rica en lignina que envuelve al embrión curvo (Reyes-Agüero *et al.*, 2006), incluso Orozco-Segovia *et al.*, (2007) reportan que se necesitan presiones de 440.83–44.35 daN (equivalentes a 449.49-45.22 kgf) para romperlas, así mismo esta dureza hace que las semillas presenten dormancia o latencia física (Orozco-Segovia *et al.*, 2007 y Delgado-Sánchez *et al.*, 2010).

Tienen forma lenticular o discoidal con tamaños promedio de entre 0.45 centímetros de largo, 0.35 de ancho y 0.16 de grosor, requieren de un periodo de maduración después de su cosecha para romper la latencia mientras que los embriones presentan un potencial bajo de crecimiento (Delgado-Sánchez *et al.*, 2010).

Otra característica importante a resaltar es que sus semillas son ortodoxas que de acuerdo con (Méndez-Ferreira *et al.*, 2013) son aquellas que “pasan por una maduración en sequía, son liberadas de la planta madre en un ambiente poco húmedo, adquieren tolerancia a la desecación en la maduración alcanzando un intervalo de humedad del 1-5% sin dañarse; su longevidad aumenta con la disminución de humedad de almacenamiento y en la germinación pierden la tolerancia a la deshidratación”.

El número de semillas por fruto es variable y depende de la especie, por ejemplo *O. brunneogemma* 55, *O. excelsa* 99, *O. stricta* 110, *O. joconostle* 164 y *O. rastrera* 208, incluso cambian dependiendo del grado de domesticación y los porcentajes de semillas abortadas del 0.0-98% (Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

La semilla de *Opuntia ficus indica* (tuna roja) (Alba-Jiménez *et al.*, 2014) tiene hasta un 20% de lignina, 2.5% de cenizas, 8% de grasas y ceras, 1.5% de proteínas, 27% de polisacáridos y 35% de celulosa (en peso seco) de (Habibi *et al.*, 2008); además, de acuerdo con Delgado-Sánchez *et al.* (2010) presenta “altas concentraciones de Fósforo, Potasio y Magnesio y concentraciones menores de Calcio, Sodio, Manganeso, Zinc, Hierro, Cobre; glutamina, asparagina y arginina como aminoácidos predominantes”.

En *Opuntia joconostle* se ha reportado un alto contenido de aceites en sus semillas del 12.40% -16.00% y un alto porcentaje de agua desde el 9.93%-11.02% (Morales *et al.*, 2012).



Figura 2. Vista longitudinal de la semilla de *O. joconostle*

## 2.4 Usos y aprovechamiento

Los “nopales” son un recurso biológico, económico y social que se usan como alimento en diferentes recetas (elaboración de dulces, mermeladas, bebidas y los cladodios de *Opuntia ficus-indica* son consumidos en ensaladas, asados, guisados), por sus diferentes propiedades alimenticias como altos contenidos en fibra (18 g/100g), proteínas (4-10 g/100g), bajo contenido de carbohidratos (3-7 g/100g) y azúcares (0.32g/100g); altos contenidos de betalaínas, polifenoles y vitamina C (Alba-Jiménez *et al.*, 2014) incluso se reportan potenciales efectos analgésicos, antiinflamatorios, diuréticos, antivirales y reducción del colesterol, incluso su uso en la industria cosmética (Stintzing, & Carle, 2005b).

En el fruto de *Opuntia joconostle* se presenta un contenido de fibra del 2% que aporta hasta un 5% a 8% de la fibra requerida diariamente para un adulto y

también se han reportado propiedades antioxidantes en la pulpa y en las semillas ácido ascórbico y tocoferoles (Morales *et al.*, 2012).

Las bayas también son la dieta de muchos invertebrados, aves, mamíferos y reptiles. En México la palabra “xoconostle” proviene del Náhuatl “xoco” que significa ácido y “noxtle” que significa tuna, los frutos o “tunas” representan un importante recurso, son consumidas como fruta o en recetas, además, sus flores y cladodios maduros son utilizados como forraje debido a sus propiedades nutritivas, la reducción de los niveles de azúcar en la sangre e incluso a nivel cultural forman parte de la historia y representación del país siendo parte del escudo nacional (Muñoz, 2014).

## **2.5 Importancia de la propagación por semilla**

Este tipo de propagación es más complejo y riesgoso ya que implica una serie de procesos y etapas que requieren tiempo, desde la formación de la flor hasta el desarrollo de las plántulas (el estadio más delicado) y su crecimiento hasta ser individuos reproductivos (Reyes-Agüero *et al.*, 2006); sin embargo representa una estrategia que permite la obtención de plantas genéticamente diferentes, mantiene la diversidad genética de las poblaciones, protege el potencial de dispersión de las plantas, estos estudios son importantes para el conocimiento de las estrategias reproductivas, requerimientos de cada especie y su conservación (González-Cortés *et al.*, 2019 ; Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000).

## **2.6 Técnicas de germinación**

Son definidas como “aquellos procedimientos necesarios para romper la latencia de las semillas” (Varela y Arana, 2011) y se conocen principalmente la escarificación que se divide en química: cuando las semillas son sumergidas en compuestos ácidos por lo regular se utiliza el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno en diferentes concentraciones y en diferentes periodos de tiempo; la escarificación

mecánica consiste en desgastar la testa o cubierta de las semillas con lijas de grano fino, limas con martillo o pinzas (Pérez, 2003 ; Varela y Arana, 2011) y la otra técnica es la estratificación ya sea fría donde las semillas son expuestas a temperaturas bajas (4-10° C) imitando las condiciones ambientales a las que naturalmente son sometidas y así inactivar sustancias inhibitoras de la germinación como el ácido abscísico (ABA) y por último la estratificación caliente o cálida que contrariamente a la fría aquí se someten las semillas a temperaturas altas con calor seco o húmedo con el mismo propósito de activar la germinación (Pérez, 2003 ; Varela y Arana, 2011); son considerados una buena estrategia para el manejo de semillas ya que potencian los porcentajes de germinación.

### **2.6.1 Cactaceae**

A continuación, se presentan los antecedentes de germinación dentro de la familia *Cactaceae*

#### **2.6.1.1 Escarificación química**

Ortega-Baes y Rojas Aréchiga (2007) realizaron escarificación química con ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a diferentes concentraciones (500 y 1000 ppm), tratamientos de respuesta a iluminación (luz blanca, luz roja y oscuridad) con un fotoperiodo de 12 horas en las semillas provenientes de dos poblaciones de *Trichocereus terscheckii* lo que mostró una respuesta fotoblástica positiva mayor ante la luz blanca en ambas poblaciones; sin embargo el uso de ácido giberélico no mostró diferencias significativas en la promoción de la germinación.

Mihalte *et al.* (2011) investigaron la “energía de germinación” (germinación en 8-10 días) y la “capacidad germinativa” (germinación en 17-20 días) en diferentes especies de los géneros *Rebutia*, *Aylostera*, *Mediolobivia* y *Sulcorebutia* con cinco tratamientos pregerminativos: Remojo con agua corriente, remojo por 8 horas con agua y nitrofenolato al 1.8%, remojo por 8 horas con agua y ácido naftalenoacético

al 9%, remojo por 8 horas en ácido salicílico (0.1  $\mu$ M) y remojo por 8 horas con ácido acetilsalicílico (0.1  $\mu$ M); de los dos últimos en ninguno se presentó germinación mientras que las especies tratadas con ácido naftalenoacético presentaron los porcentajes más altos (*R. marsoneri* [21.5%], *A. fiebrigii* [21.8%] y *R. krainziana* [21.8%]); al igual que las tratadas con nitrofenolato (*M. orurensis* [22.5%]).

### **2.6.1.2 Escarificación mecánica**

Larrea-Alcázar y López (2008) realizaron escarificación mecánica con una lija de grano fino en las semillas de *Corryocactus melanotrichus* con un intervalo de temperaturas de 16-25 °C, la germinación comenzó entre los 6 a 8 días después de la siembra (d.d.s.) y en el día 18 superó un porcentaje del 78%, después de 31 d.d.s. no presentaron diferencias significativas el tratamiento aplicado y el control por lo que la escarificación mecánica acelera la germinación pero no afecta la capacidad germinativa.

Loustalot *et al.* (2014) realizaron un raspado leve en las semillas de *Ferocactus histrix* con temperaturas entre 26 y 27 °C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad, los resultados mostraron que la escarificación mecánica logró un porcentaje de germinación del 81% comparado con el control (74%), la germinación con respecto al tiempo fue más rápida al aplicar escarificación ya que a los 10 d.d.s. se alcanzó el 50% de germinación en comparación con el resto de los tratamientos.

### **2.6.1.3 Estratificación**

Ortega-Baes y Rojas Aréchiga (2007) estratificaron las semillas de dos poblaciones de *Trichocereus terscheckii* con temperatura fija y alternante (25 °C y 25-30 °C, respectivamente) dentro de un termoperiodo de 16 horas luz y 8 oscuridad, en las temperaturas extremas (10 °C y 40 °C) no hubo germinación pero a una temperatura

constante (25 °C) se registró el número más alto de semillas germinadas con una proporción (KW= 12.99, p= 0.002).

## **2.6.2 *Opuntia***

A continuación, se presentan los antecedentes del género *Opuntia*

### **2.6.2.1 Escarificación química**

Altare *et al.* (2006) escarificaron químicamente las semillas de *Opuntia ficus-indica* mediante diferentes compuestos, ácido sulfúrico, peróxido de hidrógeno y reactivo de Schweizer a distintas concentraciones, en un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 oscuridad; encontraron que el ácido sulfúrico al 5% durante cinco minutos e incubación de 60 días tuvo una germinación del 32%, y en combinación con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2.5% el porcentaje de germinación fue de hasta el 86% y a concentración del 1% un 80%, por último la combinación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2.5% con el reactivo de Schweizer por 30 minutos logró un porcentaje del 60%, concluyeron que los agentes químicos que utilizaron tienen un efecto promotor de la germinación en esta especie.

Khan (2006), realizó la escarificación con ácido sulfúrico al 5% por 5 minutos en semillas de *Opuntia ficus-indica* y obtuvo porcentajes de germinación del 8% al 39%, las semillas comenzaron a germinar desde el día 9 y obtuvo el mayor porcentaje de germinación (39%) el día 22, las semillas que no fueron escarificadas comenzaron a germinar a partir del día 18 con porcentajes de 0-10%.

González-Cortes *et al.* (2018) escarificaron químicamente las semillas de cuatro especies de *Opuntia* (*O. megacantha*, *O. engelmannii*, *O. microdasys* y *O. rastrera*) con peróxido de hidrógeno al 3% y 5% por 24 horas, *O. megacantha* presentó los porcentajes de germinación más altos 100% y 77.5%, *O. rastrera* 55% y 62.5%, *O. microdasys* 55% y 42.5% y *O. engelmannii* 35% y 42.5%, respectivamente; también realizaron tratamientos con remojo en agua corriente por 24 y 48 horas más ácido giberélico a concentraciones de 50,100 y 200 ppm los porcentajes de germinación de los tratamientos fueron bajos (12.5%) en *O. engelmannii* y los más altos en *O. microdasys*.

### **2.6.2.2 Escarificación mecánica**

González-Cortés *et al.* 2018 aplicaron escarificación mecánica en cuatro especies de *Opuntia*, emplearon una lija de grano fino para evitar dañar el tejido interno de las semillas, los resultados de este proceso mostraron en *O. rastrera* un porcentaje de germinación del 72.5%, *O. engelmannii* 57.5%, *O. megacantha* 40% y en *O. microdasys* 27.5%.

Negrón-Ortiz (1998) realizó ensayos de germinación con remoción parcial y total del funículo y extirpación de embriones sembrados en papel filtro dentro de cajas Petri en medio de cultivo Murashigue & Skoog, 2 de 4 semillas con funículo germinaron entre 100 y 119 d.d.s. y 3 de 5 semillas sin funículo germinaron entre 5 y 16 d.d.s., las semillas sembradas en medio de cultivo que conservaron su funículo no germinaron, las que no lo tenían germinaron y en las de los embriones extirpados solo una de dos germinó 9 d.d.s.

### **2.6.2.3 Estratificación**

González-Cortés *et al.* (2018) remojaron en agua a 100 C° por 5 y 10 segundos las semillas de *Opuntia megacantha*, *O. engelmannii*, *O. microdasys* y *O. rastrera*, reportaron porcentajes de germinación del 20% para *O. megacantha* y para *O. engelmannii* de 12.5%.

## **2.7 Descripción de la especie**

Nombre científico: *Opuntia joconostle* F. A.C. Weber ex Diguet

Nombre común: Xoconostle o xocotuna

De acuerdo con Martínez-González *et al.* (2020), Bravo-Hollis (1978) y Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1978) "Crecimiento arbustivo que mide desde 1 metro de altura hasta los 2 metros, tronco definido de 30 centímetros de diámetro con

corteza escamosa color marrón claro, cladodios verdes obovados de 23-29 centímetros de largo y 17 a 24 centímetros de ancho con espesor de 1.5 a 1.7 centímetros recubiertos con una capa cerosa de color verde claro ligeramente amarillento areolas dispuestas en series de 8 a 9 con una distancia de 2.6 centímetros de espacio entre cada una de 0.4 a 2.0 centímetros, glóquidas cortas (0.2 cm.) de color amarillo en la parte superior de las areolas, de cero a 6 espinas de longitud desigual color blanco con ápice amarillento, flexibles, rectas y radiales; los cladodios juveniles cuentan con una podaria prominente, ápice ligeramente rojizo, areolas con tricomas cortos rojizos, ovario incrustado en pericarpio, obovado u ovoide, muchos óvulos, semilla lenticular, granos de polen con forma polihédrica, flores color amarillo de 6.5 centímetros de altura” (Fig. 3), el fruto es una baya piriforme que tiene una depresión apical llamada receptáculo y está compuesta por el epicarpio (piel), mesocarpo (pulpa) ligeramente rosada y endocarpo (donde se sitúan las semillas agrupadas en una estructura mucilaginosa)” Morales *et al.*, (2012) de color verde en el exterior, blanco con tonalidad verde en el mesocarpo y funículos blancos a rosas (Martínez-González *et al.* 2020).

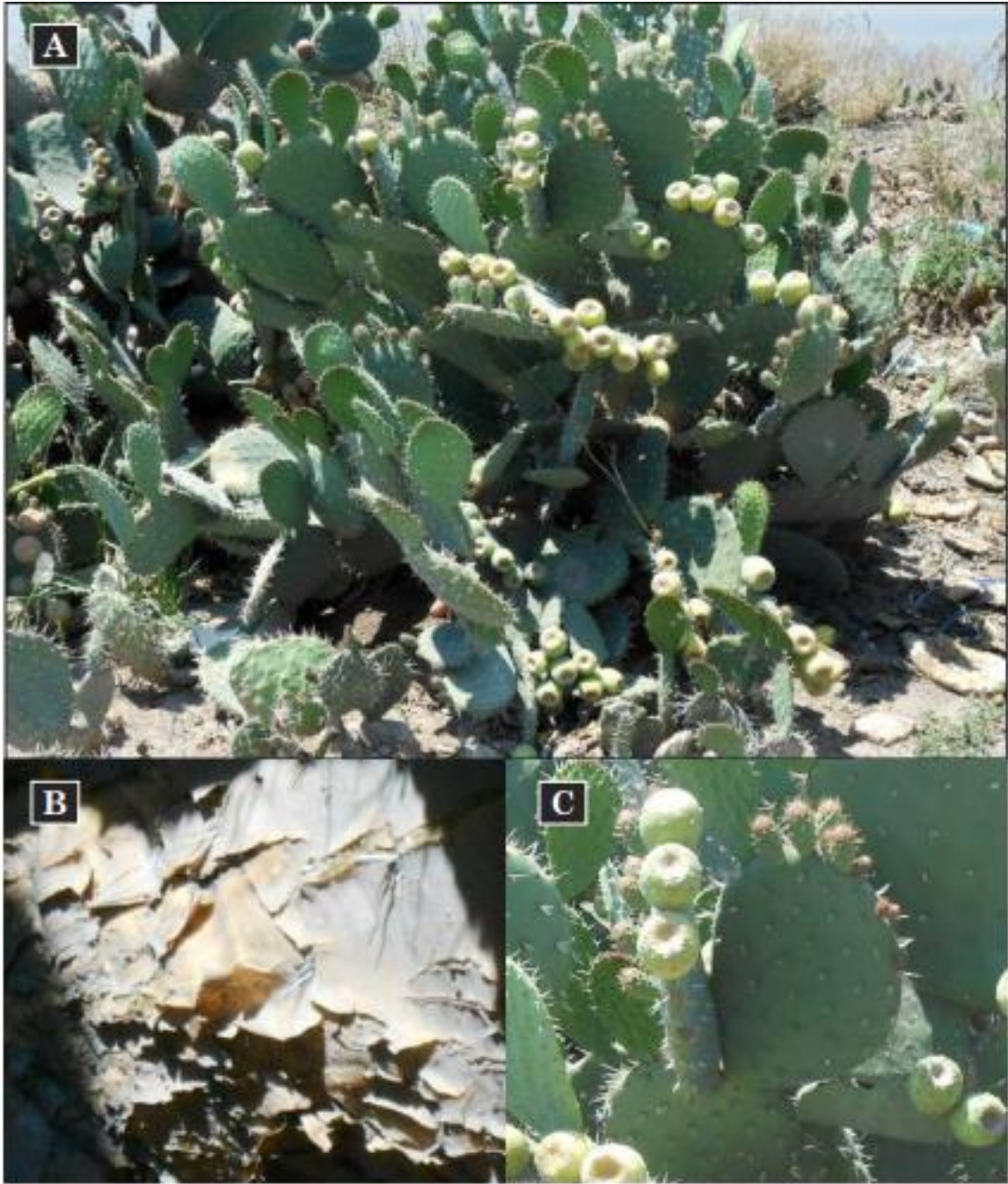


Figura 3. Características de *O. joconostle* A) Hábito arbustivo, frutos, B) Tronco definido con coloraciones grisáceas, C) Cladodios con forma ovalada. Tomado de Martínez-González *et al.* 2020.



Figura 4. Continuación E) Fruto obovado y F) Corte longitudinal del fruto con paredes anchas y funículos rosados. Tomado de Martínez-González et al. 2020.

### **3. HIPÓTESIS**

- El uso de tratamientos pregerminativos en las semillas de *Opuntia joconostle* aumenta el porcentaje de germinación, mismo que se reduce directamente al aumentar el tiempo de almacenamiento.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos sobre la capacidad germinativa de las semillas de *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet considerando el tiempo de cosecha.

#### **4.2 Objetivos específicos**

- Evaluar mediante métodos descriptivos y analíticos los tratamientos pregerminativos utilizados (escarificación química y mecánica).
- Establecer un protocolo de germinación para las semillas de *O. joconostle*.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **5.1 Obtención de frutos y semillas**

La primera etapa consistió en la adquisición de los frutos, todos fueron comprados en mercados locales de la ciudad de Puebla en los años 2019, 2020 y 2021; se trató de investigar el lugar de procedencia de los frutos con los vendedores pero desafortunadamente desconocían dicha información. Las semillas y la pulpa (endocarpo) se extrajeron de los frutos con una cuchara, se colocaron en agua y con la mano se disgregó el endocarpo, posteriormente las semillas se colaron y enjuagaron las veces necesarias hasta retirar los restos de tejido, finalmente se secaron al aire libre sobre papel absorbente, y se almacenaron en un pastillero de plástico dentro de una caja de cartón con bolsas de sílica gel hasta la fecha del experimento.

### **5.2 Diseño experimental**

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio teniendo tres variables: porcentaje de germinación, fecha de cosecha la semilla (lotes 2019, 2020, 2021) y seis tratamientos de germinación con dos repeticiones (Tabla 1), cada tratamiento tiene 26 semillas y un total para el experimento de 468 semillas.

Tabla 1. Resumen de los tratamientos pregerminativos aplicados

Tratamientos	Características
T1	Control
T2	Remojo en agua oxigenada al 3% por 24 horas y enjuague con agua destilada (en este caso será agua purificada hervida)
T3	Remojo en agua oxigenada al 6% por 24 horas y enjuague (agua purificada hervida)
T4	Escarificación mecánica usando lija de grano fino (600)
T5	Combinación de tratamientos con escarificación mecánica con remojo de agua oxigenada al 3% por 24 horas (enjuague con agua purificada hervida)
T6	Combinación de tratamientos con escarificación mecánica con remojo de agua oxigenada al 6% por 24 horas (enjuague con agua purificada hervida)

El experimento se adaptó la metodología propuesta por Gonzalez-Cortés *et al.* (2018), debido a la contingencia por COVID-19 no se pudo acceder al laboratorio de Ecología y Restauración de Sistemas Acuáticos y Terrestres perteneciente a la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP, por lo que algunos materiales se sustituyeron, el agua oxigenada de marca comercial al 5% por 6% (Fig. 4), agua destilada por agua purificada hervida.



Figura 4. Agua oxigenada comercial utilizada en los tratamientos

### 5.2.2 Tratamientos pregerminativos

El experimento inició el 24 de junio del año 2021 con la fase de imbibición de las semillas en agua purificada hervida durante 24 horas, para la siembra previamente se llenaron charolas tipo domo con sustrato húmedo de perlita-peat moss comercial a proporción 50/50 (Fig. 5 y 6).

Una vez cumplidas las 24 horas de flotabilidad a cada lote de semillas se le aplicó el tratamiento correspondiente y posteriormente las semillas se enjuagaron con agua purificada hervida.



Figura 5. Semillas en imbibición



Figura 6. Llenado de charolas con sustrato perlita-peat moss

### 5.2.3 Siembra

Las semillas se sembraron en charolas tipo domo a una profundidad del doble de su diámetro de acuerdo con Gonzalez-Cortés *et al.* (2018) y a una distancia de 1.5 centímetros (Fig. 7).



Figura 7. Enjuague y siembra de semillas

Cada charola fue rotulada con el número de lote y el número de tratamiento correspondiente (Fig. 8), posteriormente se colocaron en un estante donde se protegieron de la luz solar directa y de la lluvia (Fig.9), se regaron periódicamente con ayuda de un atomizador procurando evitar la desecación y un exceso de riego, diariamente se realizó la toma de datos de germinación incluyendo fines de semana y días festivos, se tomó como registro de germinación cuando la radícula emergió de la testa.



Figura A. Charola rotulada



Figura B. Estante metálico con charolas de germinación

### **5.3 Análisis - Procedimiento estadístico**

Se emplearon los métodos de análisis de datos de germinación propuestos por González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996) además de los implementados en el programa estadístico “GerminaQuant for R” para complementar los análisis de resultados.

#### **5.3.1 Métodos descriptivos**

Se utilizaron los métodos descriptivos propuestos por González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996).

##### **a) Gráfica de capacidad de germinación**

Permite observar el efecto que tienen los tratamientos sobre la capacidad germinativa (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

#### **b) Gráfica de germinación diaria**

Muestran la distribución de la germinación en el tiempo, se observa qué tan cercana es a una distribución normal (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

#### **c) Gráfica de germinación acumulada por intervalos de tiempo**

Muestran la máxima capacidad de germinación y el tiempo en el que se alcanza (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

#### **d) Gráfica de germinación en el tiempo**

Permite establecer la relación entre capacidad y tiempo de germinación (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

### **5.3.2 Métodos analíticos**

#### **a) Coeficiente de velocidad**

Medida de la distribución de la germinación en el tiempo en relación con el número de semillas sembradas (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

$$CV = \frac{\sum n_i}{\sum (n_i t_i)} 100$$

Donde:

CV= Coeficiente de velocidad

$n_i$ = Número de semillas germinadas el día  $i$

$t_i$ = Número de días después de la siembra

#### **b) Tiempo promedio de germinación**

Medida del tiempo promedio que necesitan las semillas para germinar (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

$$T = \frac{\sum(n_i t_i)}{\sum n_i}$$

Donde:

T= Tiempo promedio de germinación

t<sub>i</sub>= Número de días después de la siembra

n<sub>i</sub>= Número de días germinadas el día i

### c) Índice de germinación

Medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad de germinación (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N}$$

Donde:

IG: Índice de germinación

n<sub>i</sub>: Número de semillas germinadas el día i

t<sub>i</sub>: Número de días después de la siembra

N= Total de semillas sembradas

### d) Velocidad de germinación

Relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996).

$$M = \sum \binom{n_i}{t}$$

Donde:

M= velocidad de germinación

n<sub>i</sub>= Número de semillas germinadas el día i

t= Tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla

### **e) Germinación o germinabilidad (GNP)**

Es el porcentaje de semillas que completan el proceso de germinación (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

$$GNP = \left( \frac{\sum_{i=1}^k n_i}{N} \right) \times 100$$

Donde:

n<sub>i</sub>: Número de semillas germinadas en i tiempo

N: Número total de semillas en cada unidad experimental

k: Último día de la evaluación de la germinación

### **f) Tiempo medio de germinación (MGT)**

Muestra el número de semillas germinadas respecto al número de semillas germinadas en el tiempo de evaluación (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

$$MGT = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

Donde:

$n_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$N$ : Número total de semillas en cada unidad experimental

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$t_i$ : Tiempo desde el inicio del experimento hasta la  $i$  observación

### **g) Coeficiente de velocidad de germinación (GSP)**

“Permite definir si la germinación de una semilla es rápida o lenta, define el tiempo de establecimiento de las plántulas o semillas” BUENDÍA-VALVERDE *et al.*, (2018).

$$GSP = \left( \frac{\sum_{i=1}^k G_i}{\sum_{i=1}^k G_i X_i} \right) X 100$$

Donde:

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$G_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$X_i$ : Días después de la siembra

### **h) Tasa media de germinación (MGR)**

Es expresada como un recíproco del tiempo medio de germinación (MGT) (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

### **i) Incertidumbre de germinación (UNC)**

Es una adaptación al índice de Shannon, evalúa la incertidumbre asociada a la distribución relativa de la frecuencia de germinación (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

$$UNC = - \sum_{i=1}^k f_i \log_2 f_i,$$

Dónde:

$$f_i = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

$n_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$f_i$ : Frecuencia relativa de germinación

$X_i$ : Días después de la siembra

#### **j) Sincronía de germinación (SYN)**

Cuando el valor es igual a 1 la germinación ocurre al mismo tiempo, cuando el valor es 0 indica que al menos dos semillas germinan en diferente tiempo (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

$$SYN = \frac{\sum C_{n1,2}}{N}$$

$$\text{Donde: } C_{n1,2} = \frac{n_i(n_i-1)}{2}$$

$$N = \frac{\sum n_i(\sum n_i - 1)}{2}$$

$n_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$N$ : Número total de semillas en cada unidad experimental

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$t_i$ : Tiempo desde el inicio del experimento hasta la  $i$  observación

### k) Índice de varianza de la germinación (VGT)

$$VGT = \left( \frac{\sum_{i=1}^k n_i (t_i - t)^{-2}}{\sum_{i=1}^k n_i - 1} \right)$$

$n_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$t_i$ : Tiempo desde el inicio del experimento hasta la  $i$  observación

### l) Desviación estándar de germinación (SDG)

Expresado como la raíz cuadrada de la varianza de germinación (Lozano-Isla *et al.*, 2018).

$$SDG = \sqrt{\frac{\{\sum_{i=1}^k n_i (t_i - t)^{-2}\}}{\{\sum_{i=1}^k n_i - 1\}}}$$

Donde:

$n_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$k$ : Último día de la evaluación de la germinación

$t_i$ : Tiempo desde el inicio del experimento hasta la  $i$  observación

$f_i$ : Frecuencia relativa de germinación

$G_i$ : Número de semillas germinadas en  $i$  tiempo

$X_i$ : Días después de la siembra

### m) Coeficiente de variación (CVG)

$$CVG = \left( \frac{SDG}{MGT} \right) \times 100$$

## 5.4 Transformación de datos

Se realizó una transformación angular para cubrir los supuestos de normalidad ( $\text{Arc Sen } \sqrt{\%/100}$ ) ideal para porcentajes y proporciones además de preservar la independencia de la varianza y la media (Sokal y Rohlf, 1987).

Se realizó una ANOVA solo a los tratamientos del lote 2020 para identificar si existían diferencias significativas entre los tratamientos utilizados.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Ensayo de germinación

En la presente investigación se emplearon procedimientos pregerminativos físicos, químicos y combinaciones de ambos, las claves asignadas a los diferentes tratamientos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Claves utilizadas para referir a los tratamientos y lotes.

Características del tratamiento	Lote 2019	Lote 2020	Lote 2021
Control	T1-19	T1-20	T1-21
Remojo en agua oxigenada al 3% por 24 horas y enjuague con agua purificada hervida	T2-19	T2-20	T2-21
Remojo en agua oxigenada al 6% por 24 horas y enjuague agua purificada hervida	T3-19	T3-20	T3-21
Escarificación mecánica usando lija de grano fino (600)	T4-19	T4-20	T4-21
Combinación de tratamientos con escarificación mecánica con remojo de agua oxigenada al 3% por 24 horas más enjuague	T5-19	T5-20	T5-21

Combinación de tratamientos con escarificación T6-19 T6-20 T6-21  
mecánica con remojo de agua oxigenada al 6% por 24  
horas más enjuague

---

Durante el registro de la germinación en los tratamientos T5-19 y T6-19 (combinaciones de procedimientos físicos y químicos) se observó una abundancia en la presencia de hifas hongos en las testas de las semillas (Fig. 10).

Las semillas del T2-20 comenzaron a desarrollar el primer cladodio a los 40 días después de la siembra y a los 17 días de haber germinado (Fig. 11).



Figura 10. Emergencia del primer cladodio de *O. joconostle*



Figura 11.

Se registró la presencia de tricotiledonia en una de las plántulas y posteriormente desarrolló doble cladodio, sin embargo la plántula no sobrevivió (Fig. 12).

Se registró la presencia de poliembrionia en varias de las semillas germinadas de todos los lotes pero de la gran mayoría solo sobrevivió la plántula más grande.



Figura 12. Plántula con tricotiledonia y doble cladodio.

Además, algunas de las plántulas tuvieron un colapso en su tallo debido a causas desconocidas, el cladodio presentó un cambio de coloración a un tono morado, posteriormente se deshidrató parcialmente, se inclinó hacia el sustrato y con el paso de los días se desarrollaron raíces adventicias (Fig. 13).



Figura 13. Desarrollo de raíces adventicias en cladodio de *O. joconostle*

## 6.2 Capacidad de germinación

La germinación de las semillas de *Opuntia joconostle* comenzó desde el día 18 después de la siembra y el registro de datos concluyó 60 días después, cuando ya no se presentaron nuevos eventos de germinación (Fig. 14).



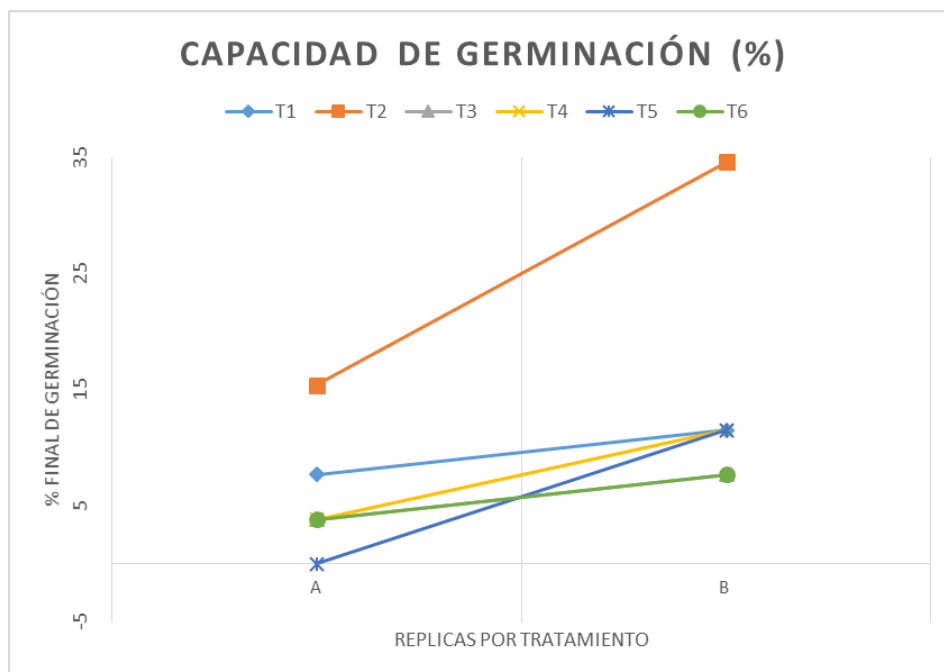
Figura 14. Radícula emergente de la semilla de *O. joconostle*

Respecto a los porcentajes de germinación el más alto fue de 34.62% del T2-20 y el más bajo de 3.84% correspondientes a los tratamientos T3-20, T5-20 y T6-20, para la elaboración de las gráficas solo se consideró el lote perteneciente al año 2020 debido a que los otros dos lotes del experimento presentaron valores bajos de germinación (Gráfica 1).

Los tratamientos de los lotes correspondientes a los años 2019 y 2021 muestran porcentajes de 3.18% para T3-19, T4-19 y T6-21, en otros tratamientos y lotes no se presentó germinación.

Respecto a los porcentajes de germinación el más alto fue de 34.62% del T2-20 y el más bajo de 3.84% correspondientes a los tratamientos T3-20, T5-20 y T6-20, para la elaboración de las gráficas solo se consideró el lote perteneciente al año 2020 debido a que los otros dos lotes del experimento presentaron valores bajos de germinación (Gráfica 1).

Los tratamientos de los lotes correspondientes a los años 2019 y 2021 muestran porcentajes de 3.18% para T3-19, T4-19 y T6-21, en otros tratamientos y lotes no se presentó germinación.

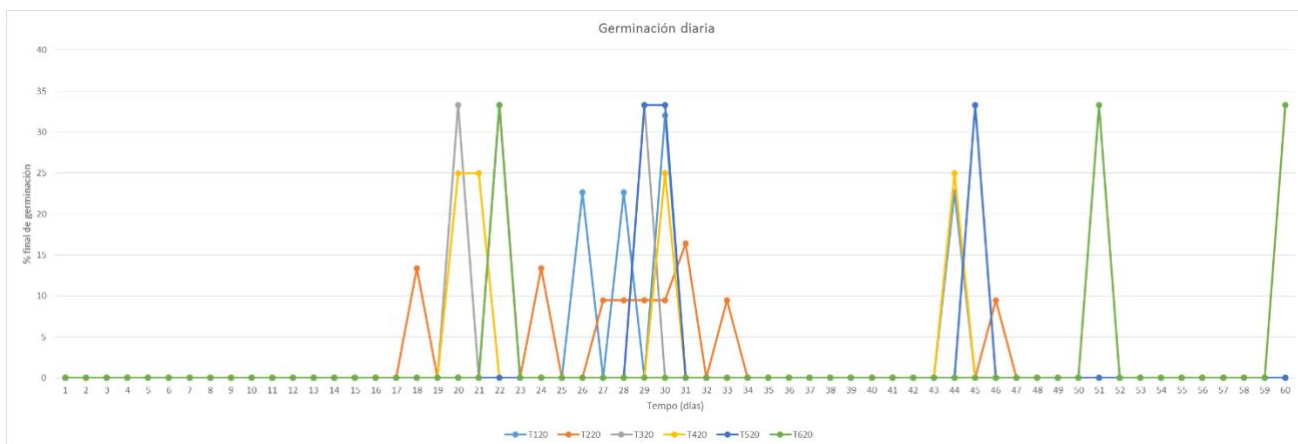


Gráfica 1. Porcentajes de germinación final para los seis tratamientos pregerminativos del lote 2020.

### 6.3 Germinación diaria

La gráfica de germinación diaria muestra un comportamiento no uniforme en la germinación del lote de semillas 2020, generalmente se presentan valores máximos de germinación aislados a lo largo de los 60 días (Gráfica 2).

Para el T3-20 el valor máximo de germinación (pico de germinación) se presentó el día 20 con un porcentaje de germinación del 33.33%, para el T6-20 se presentaron 3 picos de germinación: el día 22 (con un porcentaje de 33.3%), el día 51 (33.3%) y el día 60 (33.3%), para el T5-20 se presentaron los valores máximos de germinación registrados corresponden a los días 29 (33.3%) y 30 (33.3%).



Gráfica 2. Distribución de la germinación diaria para los seis tratamientos pregerminativos del lote 2020.

#### 6.4 Germinación acumulada por intervalos de tiempo

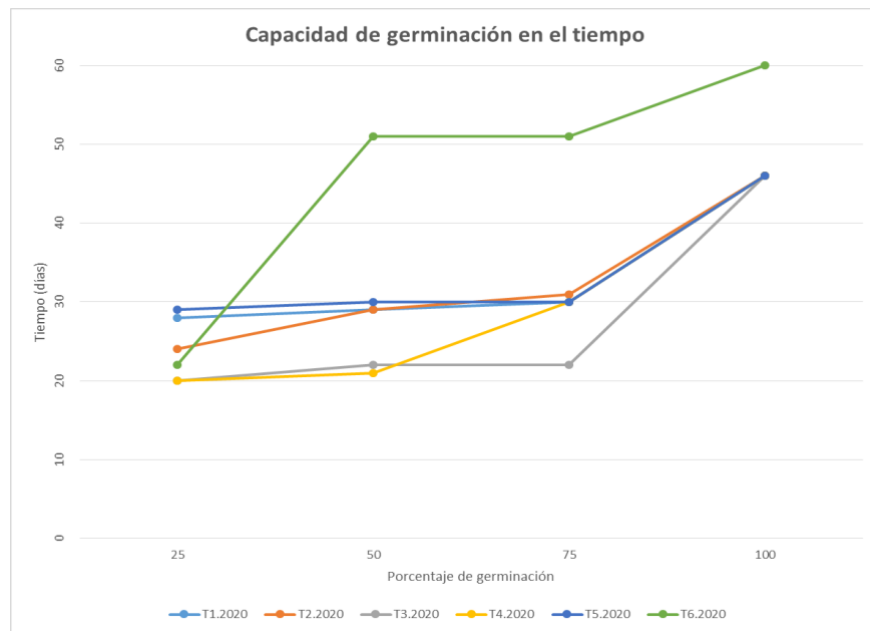
Las curvas de germinación acumulada para los tratamientos de 2020 presentaron distribución sigmoideal (Gráfica 3). La máxima capacidad de germinación para el T3-20 se alcanzó el día 29, para los T1-20 y T4-20 el día 44, para los T2-20 y T5-20 el día 45, finalmente, para el T6-20 se alcanzó el día 60.

#### 6.5 Capacidad de germinación en el tiempo

La capacidad de germinación en el tiempo fue diferente para cada tratamiento, el T6-20 requirió de 25 días para lograr el 25% de germinación y 60 días para el 100%, para los otros cinco tratamientos el tiempo en el que se obtuvo el 25% de germinación fue entre los 20 y 29 d.d.s. y el 100% de germinación se presentó en el día 46.



Gráfica 3. Distribución de las capacidades de germinación para los seis tratamientos pregerminativos del lote 2020.



Gráfica 4. Capacidad de germinación en el tiempo de los diferentes tratamientos del lote 2020.

## 6.6 ANOVA

El análisis de varianza realizado mostró que no existían diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos pertenecientes al lote 2020 por lo que se aceptó la hipótesis nula: “todas las medias de los tratamientos son iguales”  $p= 0.105$ ,  $\alpha= 0.005$  (Tabla 3), los tratamientos de los lotes 2019 y 2021 no fueron considerados debido los bajos valores de germinación.

Tabla 3. Resultados del Análisis de Varianza para los tratamientos del lote 2020.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.40	5	1.48	1.8328	0.1056	2.239
Dentro de los grupos	286.03	354	0.80			
Total	293.43	359				

## 6.7 Métodos de analíticos de germinación - Índices

El cálculo de los índices de germinación únicamente se realizó para los tratamientos del lote 2020.

### 6.7.1 Coeficiente de velocidad

Las semillas germinadas a través del tiempo mostraron los valores más altos para el T3-20 (4.22) seguido por el T2-20 (3.45) y el T1-20 (3.14), respecto a los demás tratamientos, el valor más bajo lo presento el T6-20 (2.25) (Tabla 4).

Tabla 4. Índices de germinación calculados de acuerdo con González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996 para los tratamientos lote 2020

Índice	Tratamientos					
	T1-20	T2-20	T3-20	T4-20	T5-20	T6-20
Coeficiente de velocidad	3.14	3.45	4.22	3.48	2.88	2.26
Tiempo promedio de germinación	31.81	28.98	23.67	28.75	34.67	44.33
Índice de germinación	122.35	111.70	91.03	110.58	133.33	170.51
Velocidad de germinación	2.27	2.17	3.45	2.27	2.22	1.67

### 6.7.2 Índice de germinación

El índice presentó un intervalo de 91.03 a 170.51, valores que corresponden a los tratamientos T3-20 y T6-20, respectivamente (Tabla 4).

### 6.7.3 Velocidad de germinación

El valor más alto de velocidad de germinación se presentó en el tratamiento T3-20 (3.44), seguido por los tratamientos T4-20 y T120 (2.27), la velocidad más baja corresponde al T6-20 (1.66) (Tabla A4).

### 6.7.4 Índices de GerminaQuant

A continuación, se presentan los índices de germinación obtenidos a partir del análisis de los datos en el programa GerminaQuant.

#### **6.7.4.1 Semillas germinadas**

El número de semillas germinadas del lote 2020 varía entre 9.56 a 33.71 semillas. El valor más alto corresponde al tratamiento T2-20 y el valor más bajo (9.56) a los tratamientos T3-20, T5-20 y T6-20 (Tabla A5).

#### **6.7.4.2 Germinabilidad**

El valor más alto se obtuvo en el tratamiento T2-20 (129.64), seguido del T1-20 (54.16) y los valores más bajos en T3-20, T5-20 y T6-20 (36.79) (Tabla A5).

#### **6.7.4.3 Tiempo medio de germinación**

El tratamiento con el menor tiempo de germinación fue el T3-20 (23.66) y el T6-20 muestra el valor más alto (44.33) (Tabla A5).

#### **6.7.4.4 Tasa media de germinación**

El valor más alto lo presenta el tratamiento T3-20 (0.04) y el más bajo el T6-20 (0.02) (Tabla A5).

#### **6.7.4.5 Velocidad de germinación**

La velocidad de germinación más alta la muestra el tratamiento T3-20 (4.22), el segundo lugar fue el T4-20 (3.48) y la velocidad más baja el T6-20 (2.26) (Tabla A5).

#### **6.7.4.6 Índice de incertidumbre**

El índice presenta el valor mayor en el tratamiento T2-20 (3.14) y el más bajo en los tratamientos T6-20, T5-20 y T6-20 (1.58) (Tabla A5).

#### 6.7.4.7 Índice de sincronización

Para esta variable los valores más cercanos a 1 corresponden a los tratamientos T3-20, T5-20 y T6-20 (0.25) mientras que el valor más cercano a 0 fue T2-20 (0.09) (Tabla 5).

#### 6.7.4.8 Coeficiente de variación

En el coeficiente el tratamiento T6-20 muestra el valor más alto (38.65) y el valor más bajo se presenta en T3-20 (17.23) (Tabla A5).

Tabla A5. Índices de germinación calculados en el programa GerminaQuant para los tratamientos lote 2020.

Variables	Tratamiento					
	T1-20	T2-20	T3-20	T4-20	T5-20	T6-20
Semillas germinadas (grs)	14.08	33.71	9.56	12.75	9.56	9.56
Germinabilidad (grp)	54.16	129.64	36.79	49.05	36.79	36.79
Tiempo medio de germinación (mgt)	31.81	28.98	23.67	28.75	34.67	44.33
Tasa media de germinación (mgr)	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02
Velocidad de germinación (gsp)	3.14	3.45	4.22	3.48	2.88	2.26
Índice de incertidumbre (unc)	1.98	3.14	1.58	2.00	1.58	1.58
Índice de sincronización (syn)	0.20	0.09	0.25	0.19	0.25	0.25
Coeficiente de variación (cvg)	22.03	24.68	17.23	34.88	22.31	38.65

## 7. Discusión

### 7.1 Aspectos metodológicos

La sustitución de agua oxigenada al 5% por 6% y el uso de agua purificada hervida en este proyecto en relación a la metodología propuesta por Gonzalez-Cortés *et al.*,

(2018) se debió al impedimento de acceso al laboratorio de Ecología y restauración de sistemas acuáticos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP por lo que fue la única manera de poder adaptar el método, en ninguna investigación se hace mención sobre la sustitución de agua corriente por destilada y la forma en que puede afectar de alguna manera los resultados.

Los frutos utilizados en este trabajo se compraron en los mercados locales “Acocota” y “Cinco de Mayo” considerando que su procedencia era desconocida, únicamente se utilizaron las semillas de un fruto por lote. En los trabajos de Gonzalez-Cortés *et al.*, (2018) y Larrea-Alcázar y López (2008), colectaron en campo frutos provenientes de individuos y poblaciones diferentes; Romo-Campos *et al.*, (2010) sugieren que las variaciones en los factores ambientales pueden afectar los valores de germinación debido a la expresión fenotípica dentro de la misma especie.

El procesamiento de las semillas en la presente investigación se realizó siguiendo el método empleado en diversos trabajos (Orozco-Segovia *et al.*, 2007; Larrea-Alcázar y López, 2008; Romo-Campos *et al.*, 2010 y Gonzalez-Cortés *et al.*, 2018). El método consiste en separar las semillas por disección del fruto, lavarlas con agua corriente hasta eliminar los restos de pulpa, ponerlas a secar al aire libre sobre papel absorbente y almacenarlas a temperatura ambiente en un lugar fresco y seco hasta la fecha de inicio del experimento. El enjuague e imbibición de la semilla es de suma importancia, Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000), Larrea-Alcázar y López (2008) y Mihalte *et al.*, (2011) refieren que en la testa de las semillas existen componentes inhibitorios de la germinación como el ácido abscísico (Celia, 1993).

El diseño experimental original consideró el uso de todos los tratamientos pregerminativos probados por Gonzalez-Cortés *et al.* (2018), sin embargo, debido a que la investigación se realizó durante la pandemia por COVID-19 y no se tuvo acceso a los reactivos que se resguardan en la Facultad de Ciencias Biológicas (BUAP) los tratamientos de ácido giberélico y ácido salicílico no se realizaron; en

los trabajos de Altare *et al.*, (2006), Potter *et al.*, (1984), Khan (2006) se utilizó ácido sulfúrico a diferentes concentraciones como tratamiento escarificante.

El sustrato utilizado para la germinación de las semillas ha sido muy variable y en ningún caso se ha reportado su influencia sobre la germinación (Altare *et al.*, 2006; Khan, 2006; y Romo-Campos *et al.*, 2010).

El uso de pruebas de viabilidad en semillas es frecuente en muchos trabajos de germinación (Larrea-Alcázar y López, 2008; Orozco-Segovia *et al.*, 2007; y Potter *et al.*, 1984), para este trabajo se realizó la prueba de flotación debido a las circunstancias de la pandemia. El uso de cloruro de tetrazolio en semillas del género *Opuntia* solo se ha utilizado en las investigaciones de Altare *et al.*, (2006) y Romo-Campos *et al.*, (2010).

La siembra de las semillas se realizó colocándolas a una profundidad del doble del diámetro de la semilla de acuerdo con Gonzalez-Cortés *et al.* (2018), en otros estudios de germinación de semillas de *Opuntia* no se especifica el método empleado (si la semilla fue enterrada o solo puesta sobre el sustrato). Existen reportes sobre fotoblastismo positivo en las semillas de este género (Altare *et al.*, 2006) se sugiere que en *O. joconostle* existe un fotoblastismo negativo puesto que las semillas fueron capaces de germinar estando enterradas.

La germinación se consideró cuando la radícula emergió de la testa (Larrea-Alcázar y López, 2008; Loustalot *et al.*, 2014; Romo-Campos *et al.*, 2010 y Varela y Arana 2011).

## **7.2 Análisis estadísticos**

El uso de métodos descriptivos gráficos en el análisis de datos de germinación permite “tener una evaluación preliminar de los resultados” (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996). En la mayoría de los trabajos de germinación en el género

*Opuntia* los métodos estadísticos que se reportan son el porcentaje de germinación, germinabilidad, capacidad de germinación, velocidad de germinación y porcentaje de emergencia (Delgado-Sánchez *et al.*, 2010; Gonzalez-Cortés *et al.*, 2018; Khan 2006; Larrea-Alcázar y López 2008 y Loustalot *et al.*, 2014).

En palabras de Ranal y García (2006) “La germinación tiene varios aspectos que deben ser medidos como tiempo, tasa, homogeneidad y sincronía que informan sobre la dinámica de este proceso”. En este trabajo se utilizaron varios índices de germinación (Tabla 4 y A5) que incluyen los propuestos por González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996) y el programa estadístico “GerminaQuant for R”. El uso de estos índices provee un criterio homogéneo que permite la comparación con futuros trabajos (Ranal y García, 2006).

### **7.3 Presencia de hongos**

La presencia de hongos sobre las testas de las semillas tratadas química y mecánicamente no ha sido reportada, únicamente se ha publicado la presencia de hongos en el suelo al sembrar semillas de *Opuntia ficus-indica*, Konings-Dudin *et al.*, (2014) encontraron *Trichoderma viride* y *Glomus sp.*

Delgado-Sánchez *et al.*, (2010) reportaron la presencia de *Penicillium chrysogenum* y *Phoma medicaginis* en testas sin tratamiento pregerminativo en las semillas de *O. streptacantha*, donde ambos hongos desgastaron la testa de la semilla y promovieron la germinación con porcentajes de 68% y 87% respectivamente, además, en el lote más antiguo de semillas (diez años), la presencia de hongos no promovió la germinación de las semillas en los lotes.

### **7.4 Desarrollo del cladodio**

El desarrollo del cladodio de *O. joconostle* comenzó cuando la plántula tenía 40 días de edad, tiempo que coincide parcialmente con lo reportado por Khan (2006), donde las plántulas comenzaron el desarrollo del cladodio a los 40 y 45 días; hasta el

momento, no hay otros trabajos que reporten el crecimiento ni desarrollo de esta estructura en las plántulas del género *Opuntia*.

### **7.5 Tricotiledonia**

Esta condición se presentó solamente en una de las plántulas de *O. joconostle*, Khan (2006) reportó este fenómeno en las plántulas de *Opuntia ficus-indica* con un crecimiento más lento de hasta 15 días en comparación con las de dos cotiledones que tardaron de cuatro a seis días en crecer, en otras investigaciones no se ha reportado dicha condición a pesar de haber realizado ensayos de germinación en otras especies de *Opuntia*.

### **7.6 Poliembrionia**

Romo-Campos *et al.*, (2010) reportaron poliembrionía en *O. jaliscana*, *O. lasiacantha*, *O. streptacantha* y *O. robusta* y Khan (2006) en *Opuntia ficus-indica* y Reinhardt *et al.*, (1999) reportaron poliembrionía en *O. stricta* al germinar sus semillas. Marcelina (1994) reportó en diferentes morfoespecies de *Opuntia* distintos porcentajes de poliembrionía donde los más altos están en las especies cultivadas en solar (15%) y el porcentaje más bajo en las morfoespecies cultivadas (0.5%). En esta investigación una sola semilla presentó poliembrionía y desarrolló tres plántulas, de las cuáles la más vigorosa sobrevivía observación coincidente con Celia (1993).

Romo-Campos *et al.*, (2010) sugieren que esta condición es más frecuente en plantas que habitan en ambientes secos y que están expuestas a temperaturas altas o bajas así como cambios ambientales, contrastantemente Marcelina (1994) sugiere que la poliembrionia es una estrategia que utiliza la planta para dejar individuos adaptados y es más frecuente en plantas que habitan en ambientes con condiciones estables aunque falta profundizar en el tema y hacerlo con estudios genéticos.

## 7.7 Capacidad de germinación

Los porcentajes de germinación fueron más altos con el tratamiento T2-20 (34.62%) y el más bajo de (3.84%) en los lotes T3-20, T5-20 y T6-20, Lenzi e Inácio, (2012) encontraron porcentajes similares a los de este trabajo, 31% y el más bajo de 5% empleando de ácido sulfúrico como método pregerminativo, Altare *et al.*, (2006) utilizaron el ácido durante cinco minutos en semillas de *O. ficus-indica* obteniendo porcentajes de 58.6% y de 32%. Las semillas del género *Opuntia* poseen una cubierta funicular lignificada que se forma durante el desarrollo que impide la germinación aunque el embrión esté vivo (Orozco-Segovia *et al.*, 2007) y tenga condiciones ambientales favorables para germinar.

La escarificación química genera el desgaste de la testa y promueve la degradación de compuestos presentes en ella, sustancias como el ácido abscísico que se ha reportado en grandes cantidades en semillas con latencia, al igual que compuestos como cianuro, amoníaco y diferentes aceites (Celia, 1993), dichos compuestos pueden tener implicaciones ecológicas o adaptativas al ambiente que influyan en la germinación (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000) éstos tratamientos también proveen un desgaste físico a la testa de la semilla lo que disminuye la restricción mecánica o dormancia física y permite el paso de agua al embrión, Potter *et al.*, (1984) lograron incrementar el porcentaje de germinación (22%) en las semillas de *O. edwardsii* con este método.

Gonzalez-Cortés *et al.*, (2018) con el tratamiento de remojo en agua oxigenada por 24 horas lograron un porcentaje de germinación en *O. megacantha* del 100% y 35% para *O. engelmannii* estos datos coinciden con los obtenidos en este trabajo en relación con el tratamiento utilizado y su efectividad para lograr porcentajes de germinación más altos. Altare *et al.*, (2006) utilizaron remojo en agua oxigenada al 5% en las semillas de *O. ficus-indica* y obtuvieron porcentajes similares a los de este trabajo 32% el más alto y 8% el más bajo, debido a lo que este método se propone como una buena alternativa para promover el desgaste de las testas de las semillas y en el caso de *O. joconostle*.

Respecto a la capacidad de germinación en el tiempo para *O. joconostle* existen diferencias respecto al tratamiento, el T6-20 requirió un periodo de 25 días para alcanzar el 25% de germinación y de 60 días para lograr el 100% los cinco tratamientos restantes el 25% se obtuvo entre los 20 y 29 d.d.s y el 100% el día 46, para este índice no es posible realizar una comparación puesto que no se cuenta con datos publicados.

### **7.8 Germinación diaria**

Para este índice tampoco es posible realizar una comparación debido a no se reporta en ninguna investigación del género *Opuntia*.

### **7.9 Germinación acumulada por intervalos de tiempo**

La mayoría de las distribuciones de germinación son de tipo sigmoideal e indica una germinación lenta seguido de eventos de germinación rápidos y consecutivos hasta la fase final donde los eventos de germinación dejan de suceder de manera frecuente hasta llegar a cero y es más común en especies que tienen ciclos de vida muy largos (Álvarez-Martínez, 2016, González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996 y Morlans y María, 2014).

Las curvas de germinación acumulada para los tratamientos de 2020 presentaron distribución sigmoideal (Gráfica 3). La máxima capacidad de germinación para el T3-20 se alcanzó el día 29, para los T1-20 y T4-20 el día 44, para los T2-20 y T5-20 el día 45, finalmente, para el T6-20 se alcanzó el día 60, la distribución de la germinación en las semillas de *O. joconostle* fue sigmoideal, datos que coinciden con los obtenidos en cuatro tratamientos por Gonzalez-Cortés *et al.*, (2018) y los de Olvera-Carrillo *et al.*, (2009).

## 7.10 Índices de germinación

Para índices como “coeficiente de variación” e “índice de germinación” no existen trabajos publicados en el género *Opuntia* con los cuales se pueda establecer una comparación y no es recomendable comparar los resultados con otros géneros de diferentes familias e incluso de la familia *Cactaceae* debido a las diferencias fisiológicas y morfológicas que presentan respecto a *Opuntia*.

### 7.10.1 Velocidad de germinación

El valor más alto de velocidad de germinación se presentó en el tratamiento T3-20 (3.44), seguido por los tratamientos T4-20 y T120 (2.27), la velocidad más baja corresponde al T6-20 (1.66), el uso de agua oxigenada promueve la oxidación de compuestos inhibidores de la germinación que regulan cuando las semillas aun no tienen condiciones favorables o siguen en la planta madre. En el género *Opuntia* y en especies que habitan en lugares desérticos se presenta el fenómeno llamado “serotinia” como una estrategia de dispersión retardada de las semillas donde se retienen en la planta madre hasta por más de un año (Barrios *et al.*, 2020), en el medio natural este mecanismo abre una posibilidad de desarrollar un banco de semillas, de manera práctica cuando se conocen los requerimientos de almacenamiento, siembra y germinación para el diseño de ensayos y protocolos de germinación.

En el trabajo de Gonzalez-Cortés *et al.*, (2018) para varias especies, las velocidades de germinación promedio fueron de 0.15 semillas germinadas cada día con los tratamientos de escarificación físicos y químicos, estos tratamientos aceleraron el proceso de germinación en siete a diez días después de la siembra, datos que difieren con los obtenidos en este trabajo donde solo el uso de agua oxigenada tuvo una velocidad de germinación mayor 3.45 para el T3-20 al lograr la germinación de las semillas a partir del día 18 lo que sugiere que en *O. joconostle* el uso de agua oxigenada al 5% acelera el proceso de germinación, dato

contrastante con los de Altare *et al.*, (2006) donde las semillas de *O. ficus-indica* requirieron de 40 a 60 días para germinar, aun utilizando agua oxigenada al 5%.

### 7.10.2 Índices de GerminaQuant

Esta herramienta de cómputo provee un estándar sobre los índices de germinación y se recomienda su uso en la comparación entre diferentes investigaciones (Lozano-Isla *et al.*, 2018), los parámetros utilizados proveen una manera de predecir el grado de éxito de las especies con base en su germinación Ranal y García (2006).

Los cálculos de los índices de germinación obtenidos con GerminaQuant en este trabajo no se pueden comparar con otras investigaciones porque no se han utilizado en el género *Opuntia*, sin embargo, este trabajo provee una pauta para su uso para el género y en un futuro poder realizar comparaciones que fortalezcan el conocimiento integral de la especie. Debido a que las semillas del género *Opuntia* tienen características particulares los índices podrían evidenciar las diferencias en relación con otras especies de la familia *Cactaceae*.

Finalmente el tipo de tratamiento pregerminativo aplicado (remojo en agua oxigenada al 5% por 24 horas) no tuvo influencia en los valores de germinación pero sí en la velocidad de emergencia de la radícula. Romo-Campos *et al.*, (2010) mostraron el mismo fenómeno en las semillas de *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. lasiacantha*, *O. tomentosa*, *O. jaliscana*, *O. estreptacantha* y *O. leucotricha* donde el tratamiento pregerminativo no influyó la germinación pero sí la aceleró.

El tiempo de almacenamiento fue clave en los resultados de germinación ya que en los lotes 2019 y 2021 no se presentó pero sí en el lote 2020, datos que coinciden con los obtenidos por Celia (1993) donde el letargo o latencia se prolonga hasta por siete meses o más, como resultado sus semillas presentaron letargo fisiológico.

Rojas-Aréchiga y Vazquez-Yanes, (2000) mencionan que en el género *Opuntia* las semillas se mantienen viables por varios años, Reyes-Agüero *et al.*,

(2006) reportan que en *O. stricta* la viabilidad se mantiene hasta por 15 años y las semillas de *O. rastrera* colectadas recientemente (uno o dos años) germinaron, estos datos coinciden con los de esta investigación donde el almacenamiento por un año permitió la maduración del embrión y germinaron en condiciones adecuadas, mientras que las que se almacenaron por dos años no germinaron y las que se habían cosechado recientemente tampoco lo hicieron, esto sugiere que *O. joconostle* presenta latencia fisiológica y física por la dureza de su testa.

Respecto a la conservación de la especie, Peña-Valdivia et al., (2008) indican la importancia y necesidad de realizar trabajos como la presente investigación porque contribuyen al conocimiento y preservación de los recursos genéticos de las especies, además, pueden ser utilizados para complementar estudios relacionados con la dinámica de las poblaciones, estrategias reproductivas y la conservación. Los resultados de este trabajo hacen evidente la urgencia de realizar más estudios sobre la propagación por semilla del género *Opuntia* (Rojas-Aréchiga y Vazquez-Yanes, 2000).

En este trabajo no se abordaron aspectos sobre la viabilidad de la semilla ni de su capacidad de absorción de agua, se recomienda realizar la prueba topográfica de tetrazolio para contrastar los resultados con los tratamientos pregerminativos y poder establecer un protocolo de germinación.

## 8. Conclusiones

A continuación se presentan las conclusiones de la presente investigación:

- 1) El tipo de tratamiento pregerminativo no tiene influencia en la germinación de las semillas de *O. joconostle* aunque permite una germinación más rápida.
- 2) El tiempo de almacenamiento es el factor más importante en la germinación de *O. joconostle* debido a que permite la maduración del embrión.
- 3) El conocimiento del tiempo y las condiciones de almacenamiento de las semillas de *O. joconostle* se deben de emplear para el establecimiento de bancos de germoplasma.
- 4) Este tipo de investigaciones permite tener una visión más clara sobre los requerimientos de germinación de la especie para fines de conservación.
- 5) Es urgente realizar estudios de diversos aspectos biológicos de *O. joconostle* no solo con fines alimenticios o de producción sino también para conservar su variabilidad genética.

## 9. Bibliografía

- Alba-Jiménez, J. E., Chavez-Servia, J. L., Verdalet-Guzmán, I., JESÚS MARTÍNEZ, A. R. M. A. N. D. O., & Aquino-Bolaños, E. N. (2014). Betaína, polifenoles y actividad antioxidante en tuna roja mínimamente procesada, almacenada en atmósferas controladas. *Gayana. Botánica*, 71(2), 222-226.
- Altare, M., Trione, S., Guevara, J. C., & Cony, M. (2006). Stimulation and promotion of germination in *Opuntia ficus-indica* seeds. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 8, 91-100.
- Alvarez Martinez, O. (2016). Ecología, dinámica de las poblaciones, e interacciones en el ecosistema. *Publicaciones Didácticas*, 72, 168-172.
- Barrios, D., Sánchez, J. A., Flores, J., and Jurado, E. (2020). Seed traits and germination in the Cactaceae family: A review across Americas. *Botanical Sciences*, 98(3), 417-440.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1. 2nd ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Buendía-Valverde, M. D. L. L., Trejo-Téllez, L. I., Corona-Torres, T., & Aguilar-Rincón, V. H. (2018). Cadmio, talio y vanadio afectan diferencialmente la germinación y crecimiento inicial de tres variedades de chile. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(4), 737-749.
- Celia, P. R. (1993). Viabilidad de semillas y poliembrionia en morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal tunero (*opuntia* spp.).
- Cortés, A. G., Godina, F. R., Reyes-Valdés, M. H., Torres, V. R., Rodríguez, M. Á. P., Quintanilla, J. A. V., & Benítez, A. L. (2019). Morfología de semillas de

- siete especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del sureste de Coahuila (México). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 54(4), 493-507.
- Delgado-Sánchez, P., Ortega-Amaro, M. A., Jiménez-Bremont, J. F., & Flores, J. (2011). Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae). *Plant Biology*, 13(1), 154-159.
- Delgado-Sánchez, P., Ortega-Amaro, M. A., Rodríguez-Hernández, A. A., Jiménez-Bremont, J. F., & Flores, J. (2010). Further evidence from the effect of fungi on breaking *Opuntia* seed dormancy. *Plant Signaling & Behavior*, 5(10), 1229-1230.
- Flores, J., Jurado, E., & Arredondo, A. (2006). Effect of light on germination of seeds of Cactaceae from the Chihuahuan Desert, Mexico. *Seed science research*, 16(2), 149-155.
- Gonzalez-Cortés, A., Reyes-Valdés, M. H., Robledo-Torres, V., Villarreal-Quintanilla, J. A., & Ramírez-Godina, F. (2018). Pre-germination treatments in four prickly pear cactus (*Opuntia* sp.) species from Northeastern Mexico. *Australian Journal of Crop Science*, 12(10), 1676-1684.
- González-Zertuche, L., & Orozco-Segovia, A. (1996). Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Botanical Sciences*, (58), 15-30.
- Habibi, Y., Heux, L., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2008). Morphological and structural study of seed pericarp of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 72(1), 102-112.
- Khan, D. (2006). Some seed and seedling characteristics (tricotyledony) of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). *Intern. J. Biol. & Biotech*, 3(4), 795-800.
- Konings-Dudin, G., Butcher, M. J., Castor-Macías, J. A., Kohanloo, B., & Garcia, M. (2014). Endomycorrhizal Fungi and *Opuntia ficus-indica* Seed Germination on a Lunar Regolith Simulant. *Advances in Microbiology*, 2014.
- Larrea-Alcázar, D. M., & López, R. P. (2008). Germinación de semillas de *Corryocactus melanotrichus* (K. Schum.) Britton & Rose (Cactaceae): Un

- cactus columnar endémico de los Andes Bolivianos. *Ecología en Bolivia*, 43(2), 135-140.
- Lenzi, M., & Orth, A. I. (2012). Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 35, 49-58.
- Loustalot Laclette, E., Malda Barrera, G. X., Suzán Azpiri, H., Hernández Sandoval, L. G., & Guevara Escobar, A. (2014). Estudio de germinación y crecimiento en semillas de *Ferocactus histrix* (De Candolle). *Cactáceas y suculentas mexicanas*, 59(3).
- Lozano-Isla, F., Benites-Alfaro, O. E., & Pompelli, M. F. (2019). *GerminaR: An R package for germination analysis with the interactive web application "GerminaQuant for R"* (Vol. 34, No. 2, pp. 339-346). Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Majure, L. C., Puente, R., Griffith, M. P., Judd, W. S., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2012). Phylogeny of *Opuntia* ss (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American journal of botany*, 99(5), 847-864.
- Majure, L. C., & Puente, R. (2014). Phylogenetic relationships and morphological evolution in *Opuntia* s. str. and closely related members of tribe Opuntieae. *Succulent Plant Research*, 8, 9-30.
- Marcelina, G. A. (1994). Evidencias morfológicas y citológicas de agamospermia en morfoespecies de *Opuntia* spp.
- Martínez-González, C. R., de León, M. E. M. D., González-Martínez, C. A., Jiménez-Ramírez, J., de Jesús Morales-Sandoval, J., & Gallegos-Vázquez, C. (2020). Phylogenetic placement and new data on macro-and micromorphology of *Opuntia joconostle* (Cactaceae). *Bradleya*, 2020(38), 158-169.
- Méndez-Ferreira, G. D., Robles, A. C., & Peña, E. B. (2013). Procesos moleculares involucrados en la protección de las semillas a la desecación. *Biológicas*, 15, 42-48.
- Mihalte, L., Sestras, R. E., & Feszt, G. (2011). Methods to improve seed germination of Cactaceae species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(3), 288-295.

- Morales, P., Ramírez-Moreno, E., de Cortes Sanchez-Mata, M., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* FAC Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*, 46(1), 279-285.
- Morláns, C., & María, B. (2014). Introducción a la ecología de poblaciones.
- Muñoz, F. M. (2014). Diversidad y sistemática del género *Opuntia* ss, en la región de los Cabos, Baja California Sur, México.
- Negrón-Ortiz, V. (1998). Reproductive biology of a rare cactus, *Opuntia spinosissima* (Cactaceae), in the Florida Keys: why is seed set very low?. *Sexual Plant Reproduction*, 11(4), 208-212.
- Orozco-Segovia, A., Márquez-Guzmán, J., Sánchez-Coronado, M. E., Gamboa de Buen, A., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2007). Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). *Annals of Botany*, 99(4), 581-592.
- Ortega-Baes, P., & Rojas-Aréchiga, M. (2007). Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of arid Environments*, 69(1), 169-176.
- Peña-Valdivia, C. B., Luna-Cavazos, M., Carranza-Sabas, J. A., Reyes-Agüero, J. A., & Flores, A. (2008). Morphological characterization of *Opuntia* spp.: a multivariate analysis. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 10, 1-21.
- Pérez, F. 2003. Germinación y dormición de semillas. En Navarro, R., Iglesias, S., Montávez, I., Lora, Á., Gálvez, C., Sánchez, M.E., Pérez, F., Troncoso, A., Cantos, M., Liñán, J., García, M.R., Troncoso, J., Martín, L., y Álvarez, J (Eds.), *Material Vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento* (pp. 177-200).Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.
- Potter, R. L., Petersen, J. L., & Ueckert, D. N. (1984). Germination responses of *Opuntia* spp. to temperature, scarification, and other seed treatments. *Weed Science*, 32(1), 106-110.

- Reinhardt, C. F., Rossouw, L., Thatcher, L., & Lotter, W. D. (1999). Seed germination of *Opuntia stricta*: implications for management strategies in the Kruger National Park. *South African Journal of Botany*, 65(4), 295-298.
- Reyes-Agüero, J. A., J. R. Aguirre R. & Valiente-Banuet, A. (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of arid environments*, 64(4), 549-585.
- Romo-Campos, L., Flores-Flores, JL, Flores, J., & Álvarez-Fuentes, G. (2010). Germinación de semillas de especies de *Opuntia* de un gradiente de aridez en el centro de México. *Revista de la Asociación Profesional para el Desarrollo del Cactus*, 12 (2), 181-198.
- Rojas-Aréchiga, M., & Vázquez-Yanes, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of arid environments*, 44(1), 85-104.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1987). Biostatistics. *Francise & Co, New York*.
- Stintzing, F. C., and Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular nutrition & food research*, 49(2), 175-194.
- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistemas Forestales Integrados*, 3, 1-10.