



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Efecto de dos tratamientos pregerminativos y dos tipos de siembra:
invernadero e *in vitro* sobre la germinacion de cuatro especies de
Opuntia (Cactaceae)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGA

PRESENTA

GABRIELA GOMEZ VELASCO

Director de Tesis: Biol. Gabriel Olalde Parra

Asesora Interna: M en C. Balbina Vázquez Benítez

Ciudad de México, Octubre 2016





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



DEDICATORIA

A Dios y a mi familia..... por todo



AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por mi formación profesional.

Al Jardín Botánico del Instituto de Biología (IB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por el uso de sus instalaciones, tales como el Laboratorio de Sistemática de Cactáceas, el Invernadero de Propagación y el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales; para la realización del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Víctor Manuel Chávez Ávila, al M. en C. Octavio González Caballero y a la Biol. Elena Bárbara Estrada Galván por la asesoría y facilidades otorgadas para la realización de toda la parte *in vitro*.

A mis sinodales el Biol. Gabriel Olalde Parra, a la M. en C. Balbina Vázquez Benítez, al Dr. Arcadio Monroy Ata, a la M. en C. Bárbara Susana Luna Rosales y el Biol. Juan Romero Arredondo, por todos y cada uno de sus comentarios y observaciones realizados al manuscrito que ayudaron a mejorarlo.

Al Biol. Gabriel Olalde Parra por toda su asesoría, su apoyo, tiempo y paciencia en la dirección de este trabajo, pero sobre todo por su valiosa amistad. Gracias por haberme permitido formar parte de tu equipo de trabajo.

A la M. en C. Balbina Vázquez Benítez por su asesoría y cada una de las observaciones realizadas al manuscrito.

A la M. en C. Mariana Rojas Aréchiga del Instituto de Ecología de la UNAM, por toda la asesoría recibida en la parte estadística del presente trabajo, así como por todo su tiempo y disposición.

Al Dr. Clemente Gallegos Vázquez del Centro Regional Universitario Centro Norte (CRUCEN), Universidad Autónoma Chapingo (UACH) por el material vegetal donado.

A la Biól. Mayra Adriana García Cerecedo de la Facultad de Ciencias UNAM, por su asesoría en el manejo de datos para el análisis estadístico.



CONTENIDO

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
3.1 La familia Cactaceae.....	4
3.2 Género <i>Opuntia</i>	6
3.3 Importancia biológica y económica del género <i>Opuntia</i>	7
3.4 Semillas y mecanismos de dispersión en <i>Opuntia</i>	9
3.5 Germinación.....	10
3.6 Factores que intervienen en la germinación.....	11
3.6.1 Humedad.....	12
3.6.2 Temperatura.....	12
3.6.3 Luz.....	13
3.6.4 Oxígeno.....	15
3.7 Latencia y viabilidad.....	15
3.8 Germinación en cactáceas.....	17
IV. JUSTIFICACIÓN	20
V. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general.....	21
5.2 Objetivos particulares.....	21
VI. HIPOTESIS	21
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	22
7.1 Material vegetal.....	22
7.2 Limpieza de semillas.....	23
7.3 Aplicación de los tratamientos.....	23
7.4 Desinfestación de semillas.....	24



7.5 Siembra en invernadero.....	24
7.6 Siembra <i>in vitro</i>	25
7.7 Diseño experimental.....	26
7.8 Variables de germinación estudiadas.....	27
7.9 Análisis de datos.....	28
VIII. RESULTADOS.....	29
8.1 Porcentaje final de germinación.....	29
8.1.1 <i>O. matudae</i>	29
8.1.2 <i>O. oligacantha</i>	36
8.1.3 <i>O. leiascheinvariana</i>	40
8.1.4 <i>Opuntia</i> sp.....	42
8.2 Tiempo de latencia.....	44
8.2.1 <i>O. matudae</i>	44
8.2.2 <i>O. oligacantha</i>	47
8.2.3 <i>O. leiascheinvariana</i>	49
8.2.4 <i>Opuntia</i> sp.....	49
8.3 Velocidad de germinación.....	50
8.3.1 <i>O. matudae</i>	50
8.3.2 <i>O. oligacantha</i>	52
8.3.3 <i>O. leiascheinvariana</i>	53
8.3.4 <i>Opuntia</i> sp.....	54
IX. DISCUSIÓN.....	55
9.1 Porcentaje final de germinación.....	55
9.2 Tipo de siembra: invernadero- <i>in vitro</i>	58
9.3 Tiempo de latencia y velocidad de germinación.....	60
9.4 Localidades de procedencia.....	62
X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	63
XI. LITERATURA CITADA.....	64
XII. ANEXO.....	73



INDICE DE FIGURAS

Número	Página
1. Limpieza de semillas.....	23
2. Semillas y unidad experimental de la siembra en invernadero.....	24
3. Unidad experimental de la siembra <i>in vitro</i>	25
4. Diagrama de flujo del método general.....	27
5. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de invernadero.....	31
6. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones <i>in vitro</i>	31
7. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>O. matudae</i> subsp <i>purpurea</i> “rojo sainero” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) <i>in vitro</i>	32
8. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>O. matudae</i> “cuaresmeño” (Villa de Tezontepec, Hidalgo), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) <i>in vitro</i>	33
9. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>O. matudae</i> “el sitio” (El Sitio, Pinos, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) <i>in vitro</i>	34
10. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>O. matudae</i> “cueron” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) <i>in vitro</i>	35
11. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de dos localidades de <i>O. oligacantha</i> sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de invernadero.....	37



12. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones *in vitro*.....**37**
 13. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. oligacantha* “apastillado” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**38**
 14. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *O. oligacantha* “borrego” (Villa de Tezontepec, Hidalgo), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**39**
 15. Porcentaje final de germinación en semillas de *O. leiascheinvariana* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**40**
 16. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *O. leiascheinvariana* “matizado”, sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**41**
 17. Porcentaje final de germinación en semillas de *Opuntia* sp. sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**42**
 18. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *Opuntia* sp. “xoconostle de castilla”, sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de: a) invernadero y b) *in vitro*.....**43**
 19. Emergencia de radícula en rojo sainero, cuaresmeño y cueron respectivamente, sembradas bajo condiciones de invernadero.....**45**
 20. Emergencia de radícula en borrego y apastillado, sembradas bajo condiciones *in vitro*.....**48**
-
-



INDICE DE CUADROS

Número	Página
1. Relación de especies de <i>Opuntia</i> y procedencias.....	22
2. Numero de semillas y repeticiones por tratamiento para cada especie y localidad....	26
3. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	44
4. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sembradas bajo condiciones <i>in vitro</i> y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	46
5. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de dos localidades de <i>O. oligacantha</i> sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	47
6. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de dos localidades de <i>O. oligacantha</i> sembradas bajo condiciones <i>in vitro</i> y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	48
7. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	50
8. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de cuatro localidades de <i>O. matudae</i> sembradas bajo condiciones <i>in vitro</i> y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	51
9. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de dos localidades de <i>O. oligacantha</i> sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	52
10. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de dos localidades de <i>O. oligacantha</i> sembradas bajo condiciones <i>in vitro</i> y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.....	53



I. RESUMEN

El género *Opuntia* es uno de los más representativos y diversos de la familia Cactaceae. México alberga 104 especies y variedades, siendo uno de los íconos más importantes de la cultura mexicana. Sin embargo es uno de los menos estudiados en los aspectos de su germinación. El objetivo del presente estudio fue evaluar la germinación de cuatro especies de *Opuntia* (*O. matudae*, *O. oligacantha*, *O. leiascheinvariana* y *Opuntia* sp.). Para *O. matudae* se trabajó con semillas de cuatro procedencias y para *O. oligacantha* con dos. Se emplearon dos tratamientos pregerminativos: ácido sulfúrico por 5 min y escarificación mecánica, más un testigo. Para cada ensayo se realizaron tres réplicas con 30 semillas cada una. Se comparó el tipo de siembra, en el cual las semillas después de los tratamientos se sembraron bajo condiciones de invernadero en una mezcla de tepojal, tezontle y tierra negra (2:1:1), e *in vitro* en medio de cultivo MS al 50% bajo temperatura constante ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$). El experimento se evaluó diariamente durante cuatro meses. La germinación se consideró al aparecer la radícula. Las variables que se analizaron fueron el porcentaje final de germinación, el tiempo de latencia y la velocidad de germinación para cada especie y localidad. Los resultados demostraron que la escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para incrementar los porcentajes de germinación (excepto *O. leiascheinvariana* $\leq 4\%$), aunque éste solo fue significativo en *O. matudae*. La escarificación química no incrementó significativamente los porcentajes de germinación en ninguna especie ($\leq 18\%$). El tiempo de latencia y velocidad también se favorecieron significativamente con el empleo de la escarificación mecánica en las cuatro especies. En *O. matudae* se presentaron diferencias significativas entre localidades de procedencia, no así para *O. oligacantha*. La siembra *in vitro* solo incrementó significativamente los porcentajes de germinación en *O. matudae* ($\geq 35\%$). El tiempo de latencia en *O. matudae* y *O. leiascheinvariana* se redujo significativamente *in vitro* que en invernadero. Para la velocidad de germinación solo *O. leiascheinvariana* presentó diferencias significativas a favor de la siembra *in vitro* (1.20). Se observó que las semillas presentaron latencia innata relacionada con una inmadurez fisiológica, además de una cubierta seminal dura que constituye una barrera para la imbibición así como para la expansión y crecimiento del embrión.



II. INTRODUCCIÓN

México ha sido señalado reiteradamente como un país megadiverso por su alta diversidad biológica. En su territorio están representados casi todos los tipos de vegetación del planeta. Se ha calculado que nuestro país contiene alrededor del 10% de la flora del mundo y ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en diversidad de especies de plantas vasculares con alrededor de 25,000 a 35,000 especies (Magaña y Villaseñor, 2002; Gallegos-Vázquez y Mondragón-Jacobo, 2011).

Dentro de esta gran diversidad biológica entre las especies más notables que caracterizan el paisaje de las zonas áridas del país se distingue, junto con los magueyes, los mezquites y las yucas, un fascinante grupo vegetal: la familia Cactaceae (Bravo-Hollis, 1978). En el continente americano se reconocen dos principales centros de diversidad florística de esta familia, uno ubicado en Norteamérica particularmente México y el segundo en Sudamérica involucrando parcialmente a Bolivia, Brasil, Argentina y Perú (Arias, 1993). En México esta familia destaca por su amplia representatividad tanto a nivel genérico como específico lo que la ha llevado a colocarse en el quinto lugar en diversidad del país (Rzedowski, 1983; Arias, 1993).

Actualmente muchas de las especies de esta familia están sujetas a presiones de colecta y a la destrucción de su hábitat, por lo general la mayoría de sus especies poseen una combinación de características biológicas y ecológicas que las hacen vulnerables a los efectos de factores de perturbación. Bajo condiciones naturales las cactáceas tienen tasas de crecimiento bajas y ciclos de vida frecuentemente largos (Gibson y Nobel, 1986) y por lo general el reclutamiento de nuevos individuos en sus poblaciones es muy bajo, por lo que después de un evento de perturbación, la habilidad que tengan para establecerse demográficamente pueda verse limitada. Por lo tanto uno de los desafíos más importantes es generar información básica indispensable sobre la biología de estas especies, incluyendo aspectos genéticos, ecológicos y reproductivos, entre otros (Hernández y Godínez, 1994).

En este aspecto los estudios de germinación son de vital interés ya que proveen información ecofisiológica básica sobre los requerimientos para la propagación por semilla y el desarrollo y subsecuente establecimiento de plántulas, siendo ésta la fase



más crítica en el ciclo de vida de las plantas (Rojas-Aréchiga, 1995). La propagación por semilla constituye un método de reproducción fundamental para mantener la diversidad genética de las poblaciones y las especies (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000). Los requerimientos mínimos para la germinación y el establecimiento de cactáceas pueden aplicarse a la reproducción de especies que tengan algún valor comercial o que se encuentren en peligro de extinción (Rojas-Aréchiga, 1995), también el conocimiento acerca de la fisiología de su germinación puede aplicarse para la reforestación de zonas áridas naturales o desertificadas (Martínez-Cárdenas *et al.*, 2006). En la familia Cactaceae varias especies se encuentran en alguna categoría de riesgo y sin embargo los estudios sobre los aspectos de su germinación aún son insuficientes (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

El género *Opuntia* se encuentra ampliamente distribuido en la República Mexicana y constituye uno de los íconos más representativos del país, existen evidencias de su uso desde hace más de 9000 años. México tiene la mayor diversidad y abundancia de especies y cultivares por lo que se le considera como centro de origen y diversificación del género. Desde el punto de vista económico-social sus múltiples características nutritivas, terapéuticas, químicas, industriales, ecológicas y simbólicas entre otros, hacen del nopal el recurso natural más importante para los habitantes de las zonas áridas de México (Méndez-Gallegos y García-Herrera, 2006). Sin embargo, a pesar de su importancia hay pocos estudios sobre los aspectos de su germinación. Por lo anterior en la presente investigación se aborda el estudio de la germinación de cuatro especies de este género, con el fin de generar información sobre esta etapa de su ciclo de vida.



III. ANTECEDENTES

3.1 La familia Cactaceae

La familia Cactaceae comprende cuatro subfamilias de plantas perenes: Pereskioideae, Opuntioideae, Cactoideae y Maihuenioideae (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Anderson, 2001). Son endémicas del continente americano en el que se encuentran distribuidas desde Canadá hasta la Patagonia en Argentina (Bravo-Hollis, 1978; Arias, 1997).

Las cactáceas pertenecen a un grupo de plantas suculentas que se pueden identificar por la presencia de aréolas en sus tallos. Las aréolas son la característica distintiva de la familia. Son estructuras de aspecto algodonoso de donde surgen fibras lanosas (tricomas), cerdas (espinas setosas), espinas, flores y frutos. Es una yema de tejido meristemático, esto es, un grupo de células no diferenciadas con la capacidad de dar lugar a cualquier tipo de tejido (Arreola, 1997).

Esta familia comprende aproximadamente 110 géneros y 2000 especies, en México se encuentran representadas con 52 géneros y con 850 especies, lo que representa la mayor variedad florística para los países americanos (Arias, 1993; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995). Asimismo Hernández y Godínez (1994) estiman que el nivel de endemismo se encuentra representado por 78% a nivel genérico y 73% a nivel específico. Mientras que Guzmán *et al.* (2003) reconocen para el país 913 taxones entre especies (669) y subespecies (244) agrupadas en 63 géneros. De los cuales 25 géneros, 518 especies, y 206 subespecies son endémicos para México.

Las cactáceas las podemos encontrar desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de altura. La gran mayoría se encuentran distribuidas principalmente en las regiones áridas y semiáridas donde se distribuyen alrededor del 70 % de las especies, sin embargo también se han diversificado en las regiones tropicales y subtropicales, como son las selvas altas perennifolias, las selvas medianas o bajas caducifolias, las regiones templadas y frías, así como en las estepas patagónicas (Bravo-Hollis, 1978; Arias, 1997; Olalde, 2001).

Estas especies han desarrollado diversas adaptaciones que les han permitido enfrentar las adversas condiciones climáticas de las zonas áridas. La mayoría de sus características morfológicas y fisiológicas están relacionadas con un uso muy eficiente



del agua (Becerra, 2000). Generalmente están muy desarrollados sus tejidos de almacenamiento (parénquima) lo que les permite conservar agua y nutrientes (Arreola, 1997). Su forma globosa y robusta disminuye la superficie de la planta expuesta al sol (Becerra, 2000). La eliminación de hojas reduce al máximo la superficie de contacto con el ambiente (Arreola, 1997). Las espinas protegen el cuerpo de la planta al formar una coraza contra depredadores, condensan la humedad, aísla a las plantas de la acción nociva del medio y facilitan la propagación vegetativa (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Becerra, 2000). La cutícula gruesa e impermeable evita la pérdida de agua por transpiración. Las raíces crecen extendiéndose alrededor de las plantas cerca de la superficie y a poca profundidad (Vázquez-Yanes, 1997). Presentan metabolismo CAM lo que les permite fijar durante el día la luz solar en forma de uniones químicas de alta energía, pero es hasta la noche cuando realizan el intercambio de gases (Ezcurra, 1997).

Las cactáceas poseen hábitos muy diversos la gran mayoría son terrestres. Las hay de gran porte arbóreo como *Carnegia gigantea* (saguaro), arbustivas como algunas especies de *Opuntia*, epifitas como *Epiphyllum* y *Rhipsalis*, candelabroiformes como *Myrtillocactus* (garambullo) y columnares como *Neobuxbaumia* (Bravo-Hollis, 1978; Arreola, 1997). Algunas son globosas como *Mammillaria*, rastreras como *Stenocereus eruca* y cactus diminutos como *Ariocarpus*. Pocas familias vegetales poseen tanta diversidad de formas y dimensiones como las cactáceas (León de la luz y Valiente-Banuet, 1994).

El uso de las cactáceas en México ha sido muy variado, el consumo de tallos y frutos como alimento es probablemente el uso más común que los antiguos pobladores dieron a estos vegetales (Becerra, 2000). Prácticamente todas las partes de las plantas han sido utilizadas para el consumo humano. Entre la población indígena y rural han sido un recurso alimenticio muy importante. Además distintas especies se han aprovechado para diversos fines como en la elaboración de jaleas, mermeladas, jugos, jarabes, en ceremonias religiosas, cercos vivos, como fuente de obtención de mucilagos, gomas, pectinas, textiles, sustancias químicas, medicinales, entre otros y como ornamento cuyo uso quizá sea el más común (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Becerra, 2000).



3.2 Género *Opuntia*

Scheinvar *et al.* (2009) reportan que el género *Opuntia* fue descrito por Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708), antes de que Lineo publicara su obra *Species Plantarum*. Posteriormente el nombre *Opuntia* fue retomado por Philip Miller (1754), quien describió las especies conocidas entonces y es considerado el autor del género.

El género *Opuntia* pertenece a la subfamilia Opuntioideae y la mayoría de las especies que aquí se agrupan tienen tallos suculentos de forma cilíndrica o aplanada (cladodios) y poseen hojas deciduas en los estados tempranos de su desarrollo. La característica más importante de la subfamilia son la presencia de glóquidas (aguates) que aparecen en casi todas las aréolas de los tallos, flores y frutos, también se caracterizan por presentar semillas que tienen una consistencia dura y por estar rodeadas por un arilo y su flor es rotada (Guzmán, 1997).

Opuntia se encuentra distribuido en todo el continente Americano, y de forma naturalizada se desarrolla en diversas partes del mundo (Pimienta, 1990; Barbera, 1999).

En México la subfamilia Opuntioideae se encuentra representada por los géneros *Pereskia*, *Opuntia*, *Nopalea* y *Grusonia*. *Opuntia* (nopales) es el género más representativo de esta subfamilia (Bravo-Hollis, 1978; Guzmán, 1997). Existen cerca de 300 especies de este género. En México Bravo-Hollis (1978) registró 104 especies y variedades y es común encontrarlo en las planicies áridas del centro y norte del país, creciendo en diferentes climas, suelos, altitudes y tipos de vegetación, ya que también se ha reportado su existencia en climas tropicales y subtropicales (Pimienta, 1990; Scheinvar, 1999). Sin embargo su mayor distribución se encuentra en las zona áridas y semiáridas por lo que se ha llegado a considerar como su posible centro de origen (Pimienta, 1990). México se considera como un importante centro de diversificación de este género (Méndez-Gallegos y García-Herrera, 2006; Scheinvar *et al.*, 2009).



3.3 Importancia biológica y económica del género *Opuntia*

Las especies de *Opuntia* son componentes dominantes de la flora mexicana, donde los nopales pueden ser parte destacada del paisaje y formar vastas extensiones de terreno denominadas nopaleras. Se ha considerado que las nopaleras son de los ecosistemas más diversos de las zonas áridas, por ejemplo en los estados de Chihuahua, San Luis Potosí y Zacatecas (Mandujano *et al.*, 2002). Se estima que las nopaleras naturales ocupan un área cercana a los tres millones de hectáreas, de las cuales el 60% se localiza en Zacatecas, San Luis Potosí y Jalisco (Pimienta, 1990).

Opuntia es un género de rápida adaptación a diversas condiciones climáticas y edáficas, entre sus principales funciones se pueden mencionar que son utilizadas para proteger el suelo de la erosión y restauración de los ya degradados, esta cactácea ha jugado un papel ecológico relevante al frenar la degradación de los suelos deforestados en las zonas áridas del país (Pimienta, 1997). En México por problemas de desertificación año tras año se incrementa la superficie de las zonas áridas y semiáridas, donde los nopales son una alternativa para implementar programas de recuperación y reforestación de tierras degradadas (Scheinvar *et al.*, 2009). Otra función potencial es como planta alternativa para combatir la contaminación como captadora de CO₂ ante el alto grado de perturbación ambiental por ser una de las pocas especies que pueden establecerse con éxito en superficies deterioradas o suelos poco fértiles, por su capacidad de consumir grandes cantidades de CO₂ por la noche (Pimienta, 1997). Así mismo constituye una fuente de alimento básico para un gran número de especies, en el norte del país los frutos y tallos son elementos importantes en la dieta de pecaríes, venados, pavos silvestres y tortugas del desierto. Además brindan protección a la fauna silvestre que habita las zonas áridas (Pimienta, 1997; Hernández, 2006).

Las especies de *Opuntia* han adquirido importancia como fuente de diversos productos y funciones. Los cladodios jóvenes son consumidos como verdura principalmente en México y sur de Estados Unidos de América y por su alto contenido en agua, fibra, vitamina C y sus bajas cantidades de carbohidratos, son comparables con otras hortalizas como la lechuga y zanahoria (Pimienta, 1997). Su uso se remota a



las antiguas civilizaciones mesoamericanas que colectaban los brotes tiernos de las plantas silvestres y que constituyó un factor clave para la transformación de sus comunidades recolectoras a sedentarias (Scheinvar *et al.*, 2009). El cultivo de nopal para la producción de tuna es uno de los usos más importantes de esta planta en México y otros países, los frutos para consumo fresco tienen un mercado potencial internacional en Estados Unidos y Europa en donde se les considera un producto exótico y su valor nutricional es comparable con la manzana, pera, naranja, fresa y durazno, por sus altos contenidos en vitamina C y azúcares (Pimienta, 1997). Como forraje constituye un recurso de emergencia importante para proveer al ganado de alimento durante la época de sequía en las zonas áridas del norte de México, sus cladodios presentan altos niveles de palatabilidad y digestibilidad, asociados con un alto contenido de agua que reduce la necesidad de suministrar agua a los animales (Pimienta, 1997; Barbera, 1999). Son plantas en las cuales se desarrolla la grana de la cochinilla (*Dactylopius coccus*) y de la cual se obtiene el carmín que es un colorante rojo y que representa una alternativa natural a los colorantes sintéticos ya que se utiliza ampliamente en la industria alimenticia y cosmética (Sáenz, 2006). Como fuente de energía varias especies son empleadas para la obtención de leña, para la producción de etanol y biogás (Varnero y García, 2006).

En México la superficie cultivada de nopal abarca cerca de 240 mil hectáreas, de las cuales 150,000 se destinan para la obtención de forraje, 72,500 para la producción de tunas y xoconostles, 10,500 para la cosecha de nopal verdura y 10,000 como sustrato para la producción de la grana cochinilla (Flores, 2004).

En la medicina tradicional diversos grupos étnicos han empleado estas especies contra diversas afecciones (dolor, inflamación, tos, fiebre etc.) y actualmente diversos estudios han demostrado su eficiencia en tratamientos contra la diabetes, gastritis y obesidad (Pimienta, 1990). Además de ser ampliamente utilizadas en la industria cosmética para la elaboración de cremas, shampo, astringentes, jabones, adhesivos, gomas, fibras, obtención de mucilago para la industria alimenticia, entre otros (Barbera, 1999).



3.4 Semillas y mecanismos de dispersión en *Opuntia*

La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores. Es una unidad reproductiva compleja que se forma a partir del óvulo generalmente después de la fertilización (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). Esta desempeña una función fundamental siendo la estructura portadora, protectora y dispersora del material genético. Es la fase en el ciclo de vida de la planta que está mejor adaptada para resistir las condiciones ambientales adversas (Bewley y Black, 1986; Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994).

En *Opuntia* las semillas maduras se encuentran formadas por las siguientes estructuras: testa, embrión (formado con cotiledones grandes y curvos), endospermo, perispermo, funículo, hilo y micrópilo (Bravo-Hollis, 1978, Pimienta, 1990). En general la cubierta seminal de estas semillas es muy dura, ya que además de las células de la testa que presentan paredes celulares gruesas y grandes cantidades de taninos, cuenta con varias capas de células que provienen del funículo, el cual rodea al ovulo y posteriormente a la semilla desde etapas tempranas de su desarrollo (Flores, 1973, Olvera-Carrillo, 2001) endureciéndose al madurar.

Las distintas especies presentan variaciones en la forma, tamaño y en color de la testa. Por ejemplo las semillas de *Opuntia imbricata* son lisas, de 2.5 a 3.5 mm de diámetro, *O. parryi* presenta semillas grandes de 4 a 6 mm, blanquecinas e irregularmente anguladas (Bravo-Hollis, 1978), las de *O. ficus-indica* son de 4 a 7 mm, rugosas y de color grisáceo (Barthlott *et al.*, 1997 citados en Hernández-Aguilar, 2007), mientras que *O. joconostle* posee semillas pardas, reniformes y ligeramente aplanadas, con 3.22 mm de longitud (Sánchez-Venegas, 1997).

Por otra parte la dispersión es un mecanismo importante en el ciclo de vida de las plantas ya que es indispensable contar con un agente que tome las semillas producidas y las deposite en sitios seguros, donde los recursos estén disponibles para el óptimo desarrollo de las plántulas y que a su vez aleje las semillas de la planta madre a fin de evitar competencias por recursos entre padres e hijos (Valiente-Banuet y Arizmendi, 1997). Además tiene un papel primordial en la sobrevivencia y adaptación de las especies (Olvera-Carrillo, 2001).



Las semillas que son dispersadas por animales (aves y mamíferos) se caracterizan por tener testas gruesas que pueden resistir los ácidos estomacales como en *Opuntia*. La dispersión por hormigas u otros insectos también es un modo muy común, en este caso los animales llevan las semillas a sus nidos donde si escapan a la depredación pueden encontrar condiciones óptimas para su germinación, *Opuntia* es uno de los pocos géneros que presenta este tipo de dispersión (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

3.5 Germinación

La germinación de la semilla comprende una serie de procesos que comienzan con la imbibición de agua y culmina con la emergencia de la radícula a través de las cubiertas (Azcón-Bieto y Talón, 1993). Hartmann y Kester (1995) definen la germinación de una semilla como la reanudación del crecimiento activo del embrión, que resulta en la ruptura de las cubiertas de la semilla. La primera manifestación de una germinación exitosa es usualmente la emergencia de la radícula (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Para que la germinación pueda tener lugar, deben establecerse tres condiciones. Primera, la semilla debe ser viable. Segundo, las condiciones internas deben ser favorables para la germinación, esto es debe haber desaparecido cualquier barrera física o química para la germinación. Tercera, la semilla debe estar expuesta a condiciones ambientales favorables, siendo factores esenciales la disponibilidad de agua, temperatura apropiada, provisión de oxígeno y en ocasiones luz (Hartmann y Kester, 1995).

La germinación es el resultado de una secuencia de cambios bioquímicos, morfológicos y fisiológicos que van sucediéndose de una forma escalonada desde la absorción de agua, hasta el crecimiento de la radícula. Normalmente se distingue en el proceso germinativo tres fases sucesivas (Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994; Hartmann y Kester, 1995).

Fase I o de imbibición: Se caracteriza por una intensa absorción de agua por los tejidos que forman la semilla. En esta fase la absorción de agua por imbibición causa su hinchamiento y la ruptura final de la testa (Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994; Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).



Fase II o de activación: Durante esta fase, tienen lugar en la semilla profundas transformaciones metabólicas. En esta fase se reduce considerablemente la absorción de agua por la semilla e incluso puede detenerse debido al equilibrio que hay entre el potencial hídrico de la semilla y el potencial hídrico del ambiente. Los principales eventos metabólicos que ocurren en esta fase están relacionados con el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones de crecimiento del embrión, reparación de DNA, síntesis de proteínas etc, las semillas latentes en esta fase también son metabólicamente activas (Bewley y Black, 1994; Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994; Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Fase III o de crecimiento: Representa la última etapa en el proceso de germinación y corresponde con el inicio en la semilla de cambios morfológicos visibles, en concreto con la elongación de la radícula. Fisiológicamente esta fase se caracteriza por un constante incremento de la absorción de agua y de la actividad respiratoria (Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994).

La germinación marca la transición del estado relativamente seguro del embrión latente dentro de la testa, a una forma metabólicamente activa y vulnerable de la planta, la plántula (Rojas-Aréchiga, 1995). Por ello la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas son fases críticas en el ciclo de vida de las plantas, durante esta etapa se presenta una mortalidad muy alta, pues muestran una gran vulnerabilidad a la influencia de condiciones bióticas y abióticas desfavorables (Angevine y Chabot, 1979 citados en Ruedas *et al.*, 2000).

3.6 Factores que intervienen en la germinación

Los factores externos o ambientales más importantes son: la disponibilidad de agua, temperatura adecuada y luz que puede afectar la germinación de algunas especies (Meyer *et al.*, 1976). Los factores internos más importantes son la latencia y viabilidad que están determinadas genéticamente aunque pueden ser modificados por factores ambientales (Rojas-Aréchiga, 1995). Aunque en una semilla determinada cada una de esas condiciones puede tener un efecto diverso a los otros, con más frecuencia el



comienzo de la germinación, puede ser determinado por la interacción de ellos (Hartmann y Kester, 1995).

3.6.1 Humedad

La absorción de agua por parte de la semilla es el primer paso de la germinación sin el cual este proceso no puede producirse (Azcon-Bieto y Talón, 1993). El agua es primordial pues las semillas generalmente se encuentran deshidratadas (excepto las semillas recalcitrantes) por lo que tienen que absorber una buena cantidad antes de que se inicie la germinación (Bidwell, 1979). El agua desencadena una secuencia de cambios metabólicos, que incluyen la activación del proceso respiratorio, la síntesis proteica y la movilización de las reservas (Meyer *et al.*, 1976; Azcon-Bieto y Talón, 1993). Hasta el momento de la emergencia de la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal. Después de la imbibición la absorción de agua decrece, la germinación prosigue y comienzan los procesos irreversibles que llevan al crecimiento y desarrollo (Bidwell, 1979).

3.6.2 Temperatura

Los cambios que ocurren durante la germinación comprenden procesos metabólicos que se producen en estrecha relación con la temperatura expresándose en la capacidad germinativa o en la velocidad de germinación (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). Su efecto se debe a su capacidad para influir sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras su rehidratación. Las temperaturas compatibles con la germinación varían mucho de unas especies a otras. Sus límites suelen ser muy estrechos en semillas de especies adaptadas a hábitats muy concretos, y más amplios en semillas de especies con una amplia distribución ecológica (Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994).

Las exigencias de temperatura para la germinación de las semillas generalmente se consideran con relación a tres puntos: mínimo, máximo y óptimo. La temperatura mínima es aquella por debajo de la cual la germinación no se produce, la máxima es la temperatura más alta en la que puede producirse la germinación y la óptima es la



temperatura más favorable en la cual se consigue el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible (Hartmann y Kester, 1995).

Los intervalos de temperatura en los que se produce la germinación en cada especie pueden estar determinados por diversos factores como el lugar de procedencia de las semillas, las diferencias genéticas presentes entre individuos de la misma especie y la edad de la semilla (Cervantes, 1986). En cactáceas se ha observado que el rango de temperaturas para la germinación es muy amplio siendo el más favorable entre los 17 y 34°C y el óptimo frecuentemente a 25°C, se ha observado que en algunas especies la germinación se puede reducir hasta un 50% cuando la temperatura decrece o aumenta 9°C de su valor óptimo (Nobel, 1988).

Algunas de las primeras investigaciones acerca del efecto de la temperatura sobre la germinación fueron hechas por Zimmer (1965) (citado en Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000) quien trabajó con temperaturas diurnas y nocturnas sobre la germinación de *Astrophytum myriostigma* y de sus resultados concluyó que a 10°C la germinación no se produce, entre 15 y 25°C se obtienen los porcentajes más altos de germinación y arriba de 30°C la germinación se reduce considerablemente. Semillas de *Mammillaria magnimamma* sometidas a dos tratamientos de temperatura constante (15°C y 25°C) no mostraron diferencias significativas sobre el porcentaje final de germinación (Ruedas *et al.*, 2000). Hernández-Aguilar y Collazo-Ortega (2007) evaluaron la respuesta germinativa de *Astrophytum myriostigma* bajo temperaturas constantes (15, 20, 25 y 30°C), encontrando un incremento en la germinación con el aumento de la temperatura, siendo la mejor a 25°C. Por otro lado Rojas-Aréchiga *et al.* (2008) evaluaron la respuesta germinativa de *Obregonia denegrii* y *Turbinicarpus valdezianus* bajo temperatura constante (25°C) y alternante (15/25°C) encontrando que la germinación se ve favorecida a temperatura constante. Coincidiendo con lo reportado por Olvera-Carrillo *et al.* (2003) para *Opuntia tomentosa*. Mientras que Serna (2012) reporta para *Myrtillocactus geometrizans* una temperatura óptima de 20°C.

3.6.3 Luz

No todas las semillas requieren de luz para germinar; algunas no son afectadas y otras son inhibidas por la luz. De acuerdo a la respuesta de las semillas a la luz, éstas se han



clasificado en: fotoblásticas positivas (semillas que necesitan de luz para germinar), fotoblásticas negativas (semillas cuya germinación se inhibe total o parcialmente por la luz) e indiferentes (no presentan cambios en la germinación cuando se exponen a la luz u oscuridad) (Bidwell, 1979; Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). La exigencia de luz para la germinación de muchas semillas es presuntamente un mecanismo que impide la germinación de semillas pequeñas enterradas muy profundamente, tanto que agotarían sus reservas antes de alcanzar la superficie y volverse autótrofas (Bidwell, 1979). Muchas semillas no germinan bajo el dosel vegetal del bosque porque la luz que llega al suelo es insuficiente para estimular la germinación, ya que la luz que llega al suelo es pobre en rojo y rica en rojo lejano, mientras que en lugares abiertos ambas longitudes de onda llegan en igual proporción debido a que la luz no ha sido filtrada por un dosel vegetal (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Las semillas sensibles a la luz presentan una cromoproteína perceptiva a la composición espectral de la luz, este pigmento denominado fitocromo posee dos formas fotoconvertibles una inactiva (Pr) y otra activa (Pfr), la conversión de Pr a Pfr por lo general se lleva a cabo bajo el efecto de luz roja y la reacción opuesta ocurre bajo el efecto de rojo lejano. La longitud de onda del espectro correspondiente al rojo es promotor de la germinación, mientras que la correspondiente al rojo lejano la inhibe. Esta reacción de conversión en ambos sentidos está relacionada con la inducción y la inhibición de la germinación. La cantidad de fitocromo activo presente en una semilla en el momento de su liberación determinará si ésta puede germinar en la oscuridad o si requerirá de luz para iniciar el proceso (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

En cactáceas se han observado distintas respuestas a las calidades de luz Zimmer (1969 citado en Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000) trabajó con diversas especies de cactáceas y encontró que algunas germinaban en la oscuridad, mientras que otras variaban la intensidad de luz que requieren para germinar. Hernández-Aguilar y Collazo-Ortega (2007) encontraron que las semillas de *Astrophytum myriostigma* son indiferentes a la luz. En cambio las semillas de *Melocactus curvispinus* son fotoblásticas positivas indicando que el factor lumínico es un factor indispensable para la germinación de esta especie (Pascacio-Villafán y Ortega, 2009). Rojas-Aréchiga *et al.* (1997) sugieren que los requerimientos de luz pueden estar asociados a la forma de



vida de las cactáceas debido a los efectos maternos inducidos por la temperatura ya que las especies barreliformes estudiadas por ellos (*Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus flavovirens*, *Ferocactus robustus* y *Ferocactus recurvus*) fueron fotoblásticas positivas, lo que sugiere que estas especies pueden germinar sobre la superficie del suelo donde la temperatura es alta y la luz es más abundante, mientras que las especies columnares (*Pachycereus hollianus*, *Cephalocereus chrysacanthus* y *Neobuxbaumia tetetzo*) fueron indiferentes a la luz, lo que sugiere que estas especies generalmente germinan cuando la temperatura no es tan alta y la luz es escasa.

3.6.4 Oxígeno

La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado que permita una adecuada disponibilidad de oxígeno. La semilla seca muestra generalmente una escasa actividad respiratoria, aumentando el consumo de oxígeno después de iniciada la imbibición (Azcon-Bieto y Talón, 1993). El metabolismo durante los estadios iniciales de la germinación puede ser anaerobio cambiando a aerobio, tan pronto la testa se rompe y el oxígeno se difunde en su interior (Bidwell, 1979). La aireación es necesaria para la germinación pues el embrión necesita disponer de oxígeno suficiente para la obtención de energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas (Pérez-García y Martínez-Laborde, 1994).

3.7 Latencia y viabilidad

Muchas semillas maduras fracasan en la germinación aún en el caso de ser favorables todos los factores ambientales. En tales semillas la reanudación del crecimiento por el embrión se encuentra detenido por condiciones existentes en las mismas semillas (Meyer *et al.*, 1976). Se dice entonces que la semilla se encuentra en estado de latencia.

La latencia, es el estado en el cual una semilla viable es incapaz de germinar aunque se la coloque en condiciones adecuadas de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para hacerlo (García *et al.*, 2006; Díaz, 2010). La viabilidad es el periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar (García *et al.*, 2006).



La naturaleza de la latencia y la duración de la viabilidad varían enormemente entre las diferentes especies y ambientes (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1984).

La latencia seminal es un mecanismo de defensa que tiene una importancia crítica para la supervivencia de las plantas frente a condiciones ambientales desfavorables. Algunas semillas presentan mecanismos que impiden a la semilla germinar inmediatamente después de caer al suelo aunque las condiciones ambientales sean apropiadas. Este requisito, que implica un periodo de desarrollo posterior entre la caída de la semilla y su germinación se denomina postmaduración, asociado a su vez con la formación de un banco de semillas (Bidwell, 1979; Rojas-Aréchiga y Batis, 2001).

Entre los principales mecanismos que causan latencia en la semilla o la prolongan se encuentran, factores ambientales (exigencia de luz para la germinación: positiva o negativa y altas temperaturas), factores internos (testa de la semilla que impide el intercambio gaseoso o la expansión del embrión, inmadurez del embrión, presencia de sustancias inhibidoras), mecanismos de cortometraje (postmaduración, desaparición de sustancias inhibidoras, síntesis de promotores de crecimiento) entre otros (Bidwell, 1979).

Se han definido varios tipos de latencia, Harper (1957 citado en Vázquez-Yanes *et al.*, 1997) reconoció tres tipos: innata, inducida e impuesta.

La latencia innata o endógena: se presenta cuando el embrión cesa de crecer y la semilla aún no se ha dispersado. Este tipo de latencia se origina durante el proceso de desarrollo o maduración de las semillas. La presencia de inhibidores químicos en el embrión, la inmadurez de este, o la presencia de cubiertas o testas duras son las principales causas de este tipo de latencia. Su duración puede ser muy variable según la especie, incluso puede variar entre las semillas de un mismo individuo. Este tipo de latencia previene la germinación de las semillas dentro de la planta madre y de aquellas que han sido dispersadas alrededor de ella y puede romperse con periodos de postmaduración, tratamientos de estratificación, escarificación, hormonas, entre otros (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006).

Latencia inducida o secundaria: se produce cuando las semillas están en condiciones fisiológicas para germinar y se encuentran en un medio que presenta



alguna característica desfavorable, como poco oxígeno, concentraciones mayores de CO₂, temperatura alta, entre otros (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Latencia impuesta o forzada: se presenta en semillas aptas para germinar en condiciones de humedad y temperatura adecuadas, pero que continúan latentes por falta de luz, requerimientos especiales de oxígeno o de otro factor. Este tipo de latencia está controlada por las presiones físicas del ambiente que rodean a la semilla (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

En la naturaleza diversos factores pueden actuar para poner fin a la latencia, entre los que se encuentran exposiciones prolongadas a periodos de frío, condiciones de humedad en presencia de oxígeno (estratificación), calor intenso, paso a través del intestino de aves o mamíferos, abrasión física (escarificación) o ataque por hongos. Todos estos requerimientos aseguran que la semilla germine hasta que halle condiciones adecuadas para el crecimiento (Bidwell, 1979).

La latencia es una adaptación que presentan las semillas para enfrentar las duras condiciones de su ambiente natural y es de gran valor para la sobrevivencia de las especies pues puede prolongar la viabilidad de las semillas al evitar la germinación en periodos desfavorables (Koller, 1969; Jurado y Flores, 2005). Constituye una manera de repartir o distribuir la germinación en el tiempo y espacio, el hecho de que la germinación se lleve a cabo en diferentes tiempos y en diferentes lugares dependiendo de los factores que puedan romper la latencia, incrementa la probabilidad de sobrevivencia de los individuos (Fenner, 1985; Bewley y Black, 1994).

En muchas plantas de ambientes áridos o semiáridos donde la mayoría de las especies de cactáceas se distribuyen, el proceso de germinación ha evolucionado hacia su inhibición o retraso en espera de condiciones favorables para el establecimiento de las plántulas (Flores-Martínez *et al.*, 2008). En las semillas de cactáceas la presencia de latencia innata y forzada ha sido detectada (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000)

3.8 Germinación en cactáceas

Muchas cactáceas tienen como requerimientos germinativos el efecto del nodricismo esto es que la germinación y sobrevivencia ocurra bajo la copa de arbustos y árboles



denominados plantas nodrizas. Estas tienen la capacidad de modificar el microambiente por debajo de su copa y favorecer la germinación y el desarrollo plantular ya que protege a las semillas y a las plántulas de la radiación solar directa, de temperaturas extremas y da una mayor humedad al reducir la evaporación del suelo (Valiente-Banuet y Arizmendi, 1997). Se ha demostrado este efecto en varias especies de cactáceas por ejemplo entre *Neobuxbaumia tetetzo* y la planta nodriza *Mimosa luisana* en el Valle de Tehuacán, Puebla (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991), en *Pachycereus pecten-aboriginun* asociado con *Cassia* spp. en su lugar de distribución (Vega-Villasante *et al.*, 1996), o como en *Opuntia tomentosa* ya que Olvera-Carrillo (2001) encontró una mayor germinación en sitios protegidos de la radiación solar excesiva y con mayor humedad.

No todas las semillas de cactáceas germinan fácilmente algunas requieren de un tratamiento de escarificación para romper la latencia y poder germinar, por ejemplo inmersión en ácido por diferentes periodos de tiempo para simular el paso de las semillas por el tracto digestivo, lavados para eliminar la presencia de sustancias inhibitoras, escarificación mecánica que simula el desgaste de la testa por la acción de partículas del suelo, periodos de estratificación y postmaduración, entre otros (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios, 1999; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

Se ha observado que la escarificación química incrementa el porcentaje de germinación en algunas especies. Corona y Chávez (1982) estudiaron en *Echinocactus grandis* y *E. grusonii* el efecto de un tratamiento pregerminativo con ácido sulfúrico concentrado y con nitrato de potasio al 0,2 % lo que redujo el tiempo de obtención de plántulas. Potter *et al.* (1984) observaron un incremento en el porcentaje de germinación de *Opuntia edwardsii*, *O. phaeacantha* var *discata* y *O. lindheimeri* al escarificar las semillas con ácido sulfúrico concentrado de 30 a 90 min. Godínez (1991) realizó un estudio con ocho especies de cactáceas, evaluando el efecto del ácido clorhídrico a diferentes concentraciones y obteniendo porcentajes de germinación altos. Flores-Martínez y Manzanero (2003) encontraron un incremento en el porcentaje de germinación de *Mammillaria kraehenbuehlii* y *M. oteroi* con 5 min de ácido sulfúrico y clorhídrico. Rosas-López y Collazo-Ortega (2004) observaron para *Echinocactus platyacanthus* el requerimiento de un tratamiento pregerminativo con ácido sulfúrico o



clorhídrico concentrado. Navarro y Juárez (2006) observaron que la germinación de *Mammillaria zephyranthoides* se incrementó (52%) con ácido sulfúrico concentrado por 1.5 min, sugiriendo que en campo las semillas requieren del paso por el tracto digestivo de algún herbívoro para poder germinar. También Navarro *et al.* (2008) reportaron 100% de germinación en *M. hamata* con ácido sulfúrico por 2 min. Así como Luna (2005) quien encontró un mayor incremento en la germinación de *Opuntia streptacantha* con 3 min en ácido sulfúrico. Por el contrario Álvarez y Montaña (1997) no encontraron diferencias significativas en la germinación de *Cephalocereus chrysacanthus*, *C. hoppenstedtii*, *Ferocactus latispinus*, *Stenocereus stellatus* y *Wilcoxia viperina* después de someter las semillas por una hora a diferentes concentraciones de ácido clorhídrico. Resultados similares obtuvieron Navarro y Deméneghi (2007) en *Mammillaria pectinifera*. Por otra parte Martínez-Cárdenas *et al.* (2006) encontraron que el ácido giberelico promovió la germinación de *Stenocereus griseus* y de *Escontria chiotilla*.

Los tratamientos de escarificación mecánica también pueden tener resultados favorables sobre la germinación de algunas especies. Moreno *et al.* (1992) reportan que *Sclerocactus mariposensis* germina mejor con escarificación mecánica. Ochoa (1992) y Sánchez-Venegas (1997) mencionan que la germinación de *Opuntia joconostle* puede ser inducida y acelerada mediante ruptura parcial de la testa. Así como Guedes *et al.* (2009) quienes para *O. ficus-indica* también mencionan el efecto favorable de este tratamiento. Contrario a lo reportado por Mandujano *et al.* (2005) ya que en *O. rastrera* los porcentajes de germinación no mejoraron con ningún tratamiento de escarificación.

Algunas especies como *O. compressa* y *O. macrorhiza* necesitan un periodo de estratificación para obtener porcentajes altos de germinación (Baskin y Baskin, 1997). En otras se han detectado sustancias inhibitoras en la testa como en *Melocactus curvispinus* subsp. *caesius* (Arias y Lemus, 1984), *Stenocereus gummosus* (León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991) y *O. joconostle* (Sánchez-Venegas, 1997) las cuales necesitan ser lavadas por ciertos periodos de tiempo para obtener porcentajes altos de germinación. Así como también en algunas otras especies el requerimiento de un periodo de postmaduración ha sido detectado como en *O. joconostle* (Barriga, 1994), *O. rastrera* (Mandujano *et al.*, 1997), *O. ficus-indica* (Altare *et al.*, 2006) y *O. tomentosa* (Rosas, 2011).



IV. JUSTIFICACION

El género *Opuntia* es uno de los más representativos e importantes de nuestro país, tanto desde el punto de vista económico como ecológico, sin embargo hay carencia de información sobre los aspectos de su germinación, debido a que principalmente el método de propagación convencional es a través del uso de cladodios (o vegetativa). Por lo tanto es necesario generar información que ayude a entender este aspecto de su biología. Los estudios sobre germinación proporcionan información relacionada con los procesos de viabilidad, latencia y longevidad de las semillas. Estos datos son de interés para la conservación y manejo sustentable de los recursos vegetales.



V. OBJETIVOS

5.1 General

- ❖ Contribuir al conocimiento de la respuesta germinativa de cuatro especies del género *Opuntia*: *O. matudae*, *O. oligacantha*, *O. leiascheinvariana* y *Opuntia* sp.

5.2 Particulares

- ❖ Evaluar el efecto de dos tratamientos de escarificación (química y mecánica) en la respuesta germinativa en cuatro especies de *Opuntia*.
- ❖ Evaluar la respuesta germinativa de cuatro especies de *Opuntia*, bajo condiciones de invernadero.
- ❖ Evaluar la respuesta germinativa de cuatro especies de *Opuntia*, en condiciones *in vitro*.
- ❖ Evaluar y comparar la germinación de cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*.
- ❖ Evaluar y comparar la germinación de dos localidades de procedencia de *O. oligacantha*.

VI. HIPOTESIS

- ❖ Las semillas del género *Opuntia* presentarán latencia, lo cual retardará el proceso germinativo, por lo tanto la técnica de escarificación mecánica y química incrementará el porcentaje final y la velocidad en la germinación de las especies.
- ❖ Las localidades de procedencia de *O. matudae* y *O. oligacantha* no mostrarán diferencias en sus requerimientos germinativos.
- ❖ El medio de cultivo MS (50%) así como una temperatura constante (25°C) favorecerá la germinación en las especies estudiadas.



VII. MATERIALES Y METODOS

7.1 Material vegetal

Las semillas de las especies y de las localidades con las que se trabajó contaban con 2 años de edad, son productoras de xoconostles y provienen de material que fue colectado y donado por el Dr. Clemente Gallegos Vázquez del Centro Regional Universitario Centro Norte (CRUCEN), Universidad Autónoma Chapingo (UACH). En el cuadro 1 se muestran los datos de colecta de las especies proporcionadas por el Dr. Clemente Gallegos (com. personal).

Cuadro 1. Relación de especies de *Opuntia* y procedencias.

Especie	Nombre	Lugar de procedencia	latitud	longitud	Altitud (msnm)
<i>Opuntia matudae</i> subsp. <i>purpurea</i>	rojo sainero	Municipio de Saín Alto. Zacatecas	23°33'7.26"	103°12'3.18"	2125
<i>O. matudae</i>	cuaresmeño	Villa de Tezontepec. Hidalgo	19° 53' 01"	98° 48' 42"	2318
<i>O. matudae</i>	cueron	Municipio de Saín Alto. Zacatecas	23°32'07"	103°13'03"	2173
<i>O. matudae</i>	el sitio	El sitio, Pinos. Zacatecas	21°57'16.6"	101°35'7.1"	2198
<i>O. oligacantha</i>	borrego	Villa de Tezontepec. Hidalgo	19° 53' 01"	98° 48' 42'	2318
<i>O. oligacantha</i>	apastillado	Municipio de Saín Alto. Zacatecas	23°33'37.8"	103°12'17"	2104
<i>O. leiascheinvariana</i> sp. nov *	matizado	Villa de Tezontepec. Hidalgo	19° 53' 01"	98° 48' 42"	2318
<i>O. sp</i>	xoconostle de castilla	Villa de Arriaga. S.L.P			1950

* Especie nueva en proceso de publicación



7.2 Limpieza de semillas

Con el fin de eliminar residuos de pulpa del fruto en las semillas, se procedió a lavarlas con agua corriente, posteriormente se secaron a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de papel hasta su posterior germinación (Figura 1). Para cada una de las especies y localidades de procedencia se formaron lotes de 540 semillas. Que a su vez se dividieron en dos lotes de 270 cada uno para los experimentos de la siembra en invernadero e *in vitro*.



Figura 1. Limpieza de semillas.

7.3 Aplicación de los tratamientos

Cada lote de 270 semillas se dividió en tres lotes de 90 semillas cada uno, a los cuales se les aplicaron dos tratamientos pregerminativos y un testigo de la siguiente forma:

1. Tratamiento testigo o control en el cual las semillas se pusieron a germinar sin ningún tratamiento pregerminativo.
2. Escarificación química: las semillas fueron sumergidas en ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado por 5 minutos bajo agitación constante para uniformizar la acción corrosiva del ácido y posteriormente se enjuagaron con agua destilada para retirar los restos del ácido.
3. Escarificación mecánica: se utilizó un cortaúñas nuevo, limpio y desinfectado y se practicó un pequeño corte en el arilo lateral cerca de la región del micrópilo en cada una de las semillas, teniendo cuidado de no dañar el embrión.

Para cada tratamiento de escarificación y testigo se hicieron tres replicas con 30 semillas cada uno (Cuadro 2), después las semillas se desinfectaron como se detalla a continuación.



7.4 Desinfestación de semillas

Después de aplicar los tratamientos las semillas se lavaron en una solución jabonosa por 10 min, posteriormente se sumergieron en etanol al 70% por 1 min y finalmente se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (Cloralex) al 30% por 20 min en agitación constante. Las semillas testigo también fueron desinfestadas de la misma forma. Después de la desinfestación las semillas de cada especie y de cada localidad se sembraron en condiciones de invernadero e *in vitro* como se detalla a continuación.

7.5 Siembra en invernadero

El sustrato que se empleó para la siembra en invernadero consistió de una mezcla de tepojal, tezontle y tierra negra en una proporción de 2:1:1, el cual fue previamente cernido con tamiz de 1.3 cm de abertura y se esterilizó en una autoclave a 120°C y 1.5 atmósferas de presión por 17 min.

Para cada tratamiento de escarificación y testigo se realizaron tres repeticiones con 30 semillas cada una. Tanto para las especies como para las localidades (Cuadro 2). La unidad experimental empleada fue una charola de plástico con tapa (domo), a la cual se le agregó el sustrato estéril y se colocaron con ayuda de pinzas de disección previamente desinfectadas 30 semillas en cada unidad acomodadas ordenadamente en hileras de 5 x 6 (Figura 2), al final el sustrato se humedeció con agua destilada. El riego de las charolas se realizó cada tres o cinco días dependiendo la cantidad de humedad que se observara en cada unidad experimental con el fin de evitar que el sustrato se secase. Todas las unidades experimentales se colocaron en el invernadero de propagación del Programa Docente de Cactología del Jardín Botánico del IB-UNAM.



Figura 2. Semillas y unidad experimental de la siembra en invernadero.



7.6 Siembra *in vitro*

El medio de cultivo que se empleó en la siembra *in vitro* fue el medio Murashige y Skoog (MS) al 50% de macronutrientes y micronutrientes, sin reguladores de crecimiento vegetal y adicionado con sacarosa (30 g/L), el pH se ajustó a 5.7 y el agente gelificante que se empleó fue el agar bacteriológico BD Bioxón (8.5 g/l) (Anexo 1).

Una vez elaborado el medio de cultivo MS 50% éste se repartió en frascos de vidrio con 70 ml de medio en cada frasco, después se esterilizó en una autoclave a 120°C y 1.5 atmósferas de presión por 17 minutos.

La siembra de las semillas se realizó en condiciones estériles dentro de una campana de flujo laminar, todo el material e instrumental empleado durante la siembra de las semillas fue debidamente esterilizado en autoclave. Dentro de la campana de flujo laminar, las semillas después de la desinfección (jabón, etanol 70% y cloro 30%) se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril a fin de eliminar restos de las soluciones utilizadas para la desinfección.

La unidad experimental para la siembra *in vitro* fue un frasco de vidrio con 30 semillas en cada uno (Figura 3) para cada tratamiento de escarificación y testigo se realizaron tres repeticiones con 30 semillas (Cuadro 2).

Todas las unidades experimentales se mantuvieron en la cámara de incubación del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, con temperatura constante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.



Figura 3. Unidad experimental de la siembra *in vitro*.



Cuadro 2. Número de semillas y repeticiones por tratamiento para cada especie y localidad.

Especie	No. semillas por repetición	Número de repeticiones invernadero / <i>in vitro</i>
<i>O. matudae</i>		
rojo sainero	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
cuaresmeño	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
el sitio	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
cuaron	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
<i>O. oligacantha</i>		
apastillado	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
borrego	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
<i>O. leiascheinvariana</i>	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química
<i>Opuntia</i> sp	30	3 testigo, 3 mecánica, 3 química

En la figura 4 se muestra el diagrama de flujo del método general. Después de la siembra de las semillas tanto en el invernadero como *in vitro*, éstas se revisaron diariamente para observar y cuantificar la cantidad de semillas que habían germinado. En ambas condiciones se consideró que una semilla germinó cuando se observó la emergencia de la radícula. El experimento se siguió diariamente durante cuatro meses.

7.7 Diseño experimental

El diseño experimental para *Opuntia matudae* fue un arreglo factorial de 4 localidades de procedencia x 3 (dos tratamientos de escarificación y un testigo) x 2 tipos de siembra (invernadero e *in vitro*) x 3 repeticiones (cada una con 30 semillas), teniéndose un total de 72 unidades experimentales. Para *O. oligacantha* el diseño experimental fue un arreglo factorial de 2 localidades de procedencia x 3 (dos tratamientos de escarificación y un testigo) x 2 tipos de siembra (invernadero e *in vitro*) x 3 repeticiones (cada una con 30 semillas), teniéndose un total de 36 unidades experimentales. Para *O. leiascheinvariana* el diseño experimental fue un arreglo factorial de 1 especie x 3 (dos tratamientos de escarificación y un testigo) x 2 tipos de siembra (invernadero e *in vitro*) x 3 repeticiones (cada una con 30 semillas), teniéndose un total de 18 unidades experimentales. Por último para *Opuntia* sp el diseño experimental fue similar al de *O. leiascheinvariana* teniéndose un arreglo factorial de 1 x 3 x 2 x 3, obteniéndose también un total de 18 unidades experimentales.

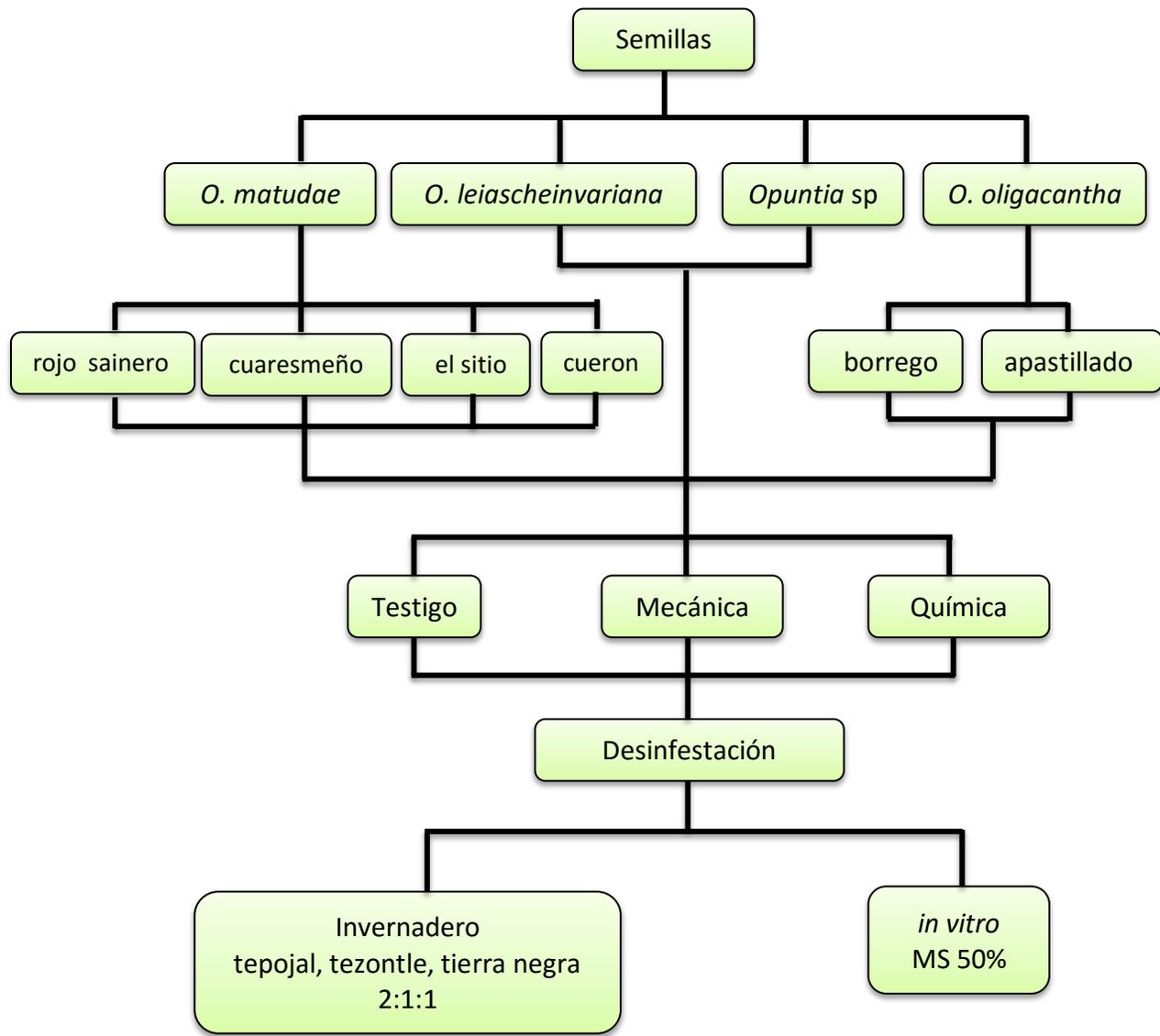


Figura 4. Diagrama de flujo del método general.

7.8 Variables de germinación estudiadas

Se midieron las siguientes variables de acuerdo a Gonzales-Zertuche y Orozco-Segovia (1996):

Tiempo de latencia: Tiempo necesario para el inicio de la germinación.

Porcentaje de germinación final: Muestra el número final de semillas germinadas o el porcentaje final de germinación en cada tratamiento.



Velocidad de germinación: Muestra el número de semillas germinadas inversamente relacionado con el tiempo y el número de semillas germinadas por día. Con base en la siguiente formula:

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

Donde CV= coeficiente de velocidad, n_i = número de semillas germinadas el día i , t_i = número de días después de la siembra. Es una medida de la distribución de la germinación en el tiempo en relación con el número de semillas germinadas.

7.9 Análisis de datos

Los datos obtenidos como porcentajes de germinación para cada réplica se transformaron a la función arcoseno para cumplir con los supuestos de normalidad. El análisis estadístico que se realizó fue un ANDEVA multifactorial para evaluar el efecto del tratamiento pregerminativo, el tipo de siembra y las localidades de procedencia en *O. matudae* y *O. oligacantha*. Para *O. leiascheinvariana* y *Opuntia* sp se realizaron ANDEVAS de una vía. Cuando se registraron diferencias significativas en el análisis de varianza se realizó un análisis de comparaciones múltiples de Tukey. Cuando los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad se realizaron análisis no paramétricos de Kruskal-Wallis y las comparaciones se hicieron visualmente con diagramas de cajas. El programa estadístico que se empleó fue STATISTICA ver 10. El nivel de significancia del ANDEVA, la prueba de Tukey y de Kruskal-Wallis fue $P \leq 0.05$.



VIII. RESULTADOS

8.1 Porcentaje final de germinación

8.1.1 *Opuntia matudae*

En la figura 5 se muestra la gráfica de los porcentajes finales de germinación obtenidos para las cuatro localidades de procedencia de esta especie que fueron sembradas en condiciones de invernadero, donde se muestra la respuesta obtenida en los dos tratamientos pregerminativos comparados con el testigo. De manera general se observó que las semillas testigo presentaron bajos porcentajes de germinación con un máximo de 8.8% (el sitio) y un mínimo de 3.33% para el resto de las demás localidades. La escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para incrementar la germinación, ya que fue en éste donde se alcanzaron los mayores porcentajes, aunque estos igualmente fueron bajos ya que el máximo porcentaje alcanzado solo fue del 38.8% en el sitio y el mínimo fue del 7.77% en cueron. Con el tratamiento de escarificación química se observó que este solo incrementó ligeramente la germinación en comparación con el testigo en (rojo sainero, cuaresmeño y el sitio), este último con un máximo de 18.88%, en tanto que el mínimo fue del 2.2% en cueron, porcentajes que a su vez fueron inferiores a los obtenidos con la escarificación mecánica.

El análisis de varianza registró diferencias significativas entre localidades de procedencia ($F_{(3,24)}=10.564$; $p=0.00013$), entre tratamientos ($F_{(2,24)}=29.343$; $p=0.0000$), pero no en la interacción localidad-tratamientos ($F_{(6,24)}=1.3683$; $p=0.26729$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades cueron presentó los porcentajes más bajos de germinación y se diferenció de rojo sainero y el sitio, mientras que el sitio presentó los mayores porcentajes de germinación diferenciándose de cuaresmeño y cueron (Anexo 2). Entre tratamientos la escarificación mecánica se diferenció significativamente tanto del testigo como de la escarificación química y estos últimos tratamientos no se diferenciaron entre sí (Anexo 3).

Las figuras 7a, 8a, 9a, y 10a muestran las curvas de germinación acumulada con respecto al tiempo para cada una de las localidades de procedencia de esta especie, sembradas en condiciones de invernadero.



Por otra parte en la figura 6 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de germinación para las cuatro localidades de procedencia de esta misma especie que fueron sembradas bajo condiciones *in vitro*. En este tipo de siembra se observó que a diferencia del invernadero las semillas testigo presentaron porcentajes nulos de germinación al igual que con el tratamiento de escarificación química en donde solo para rojo sainero se alcanzó un 3.33%. El tratamiento de escarificación mecánica fue determinante para incrementar la germinación en este tipo de siembra ya que fue en este tratamiento donde se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación y que en general para las cuatro localidades fueron superiores a los registrados en invernadero, ya que el máximo porcentaje obtenido fue de 62.22% (el sitio) y en invernadero el máximo no excedió del 38.88% (el sitio), mientras que el menor porcentaje registrado fue del 35.5% (cueron). Las figuras 7b, 8b, 9b, y 10b muestran las curvas de germinación acumulada para cada una de las localidades de esta especie sembradas en esta condición.

Debido a que en el testigo y en el tratamiento de escarificación química se obtuvieron porcentajes nulos de germinación, éstos se descartaron del análisis estadístico. Sin embargo para conocer si había diferencias significativas entre el tipo de siembra (invernadero-*in vitro*) se realizó un análisis comparando solo al tratamiento de escarificación mecánica. Este indicó que hay diferencias significativas entre localidades de procedencia ($F_{(3,16)}=4.2095$; $p=0.02251$), entre el tipo de siembra ($F_{(1,16)}=17.073$; $p=0.00078$), pero no en la interacción localidad-siembra ($F_{(3,16)}=0.1991$; $p=0.89541$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades solo (cueron) y (el sitio) se diferenciaron significativamente entre sí, siendo las localidades donde se registraron los menores y mayores porcentajes de germinación respectivamente (Anexo 4). Para el tipo de siembra la germinación *in vitro* se diferenció significativamente de la siembra en invernadero siendo esta en donde se obtuvo la mejor respuesta germinativa (Anexo 5).

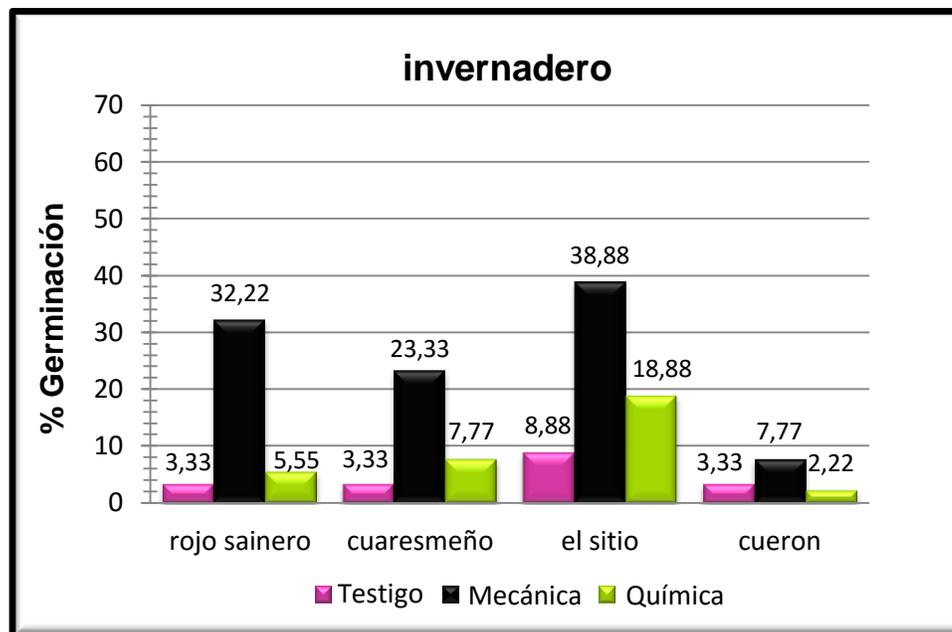


Figura 5. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de invernadero.

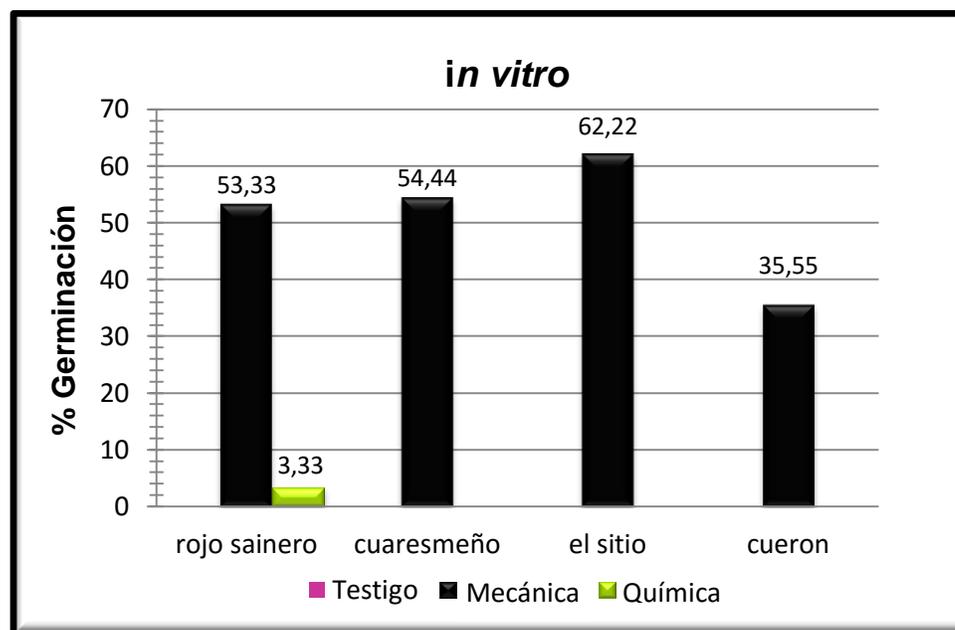


Figura 6. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones *in vitro*.

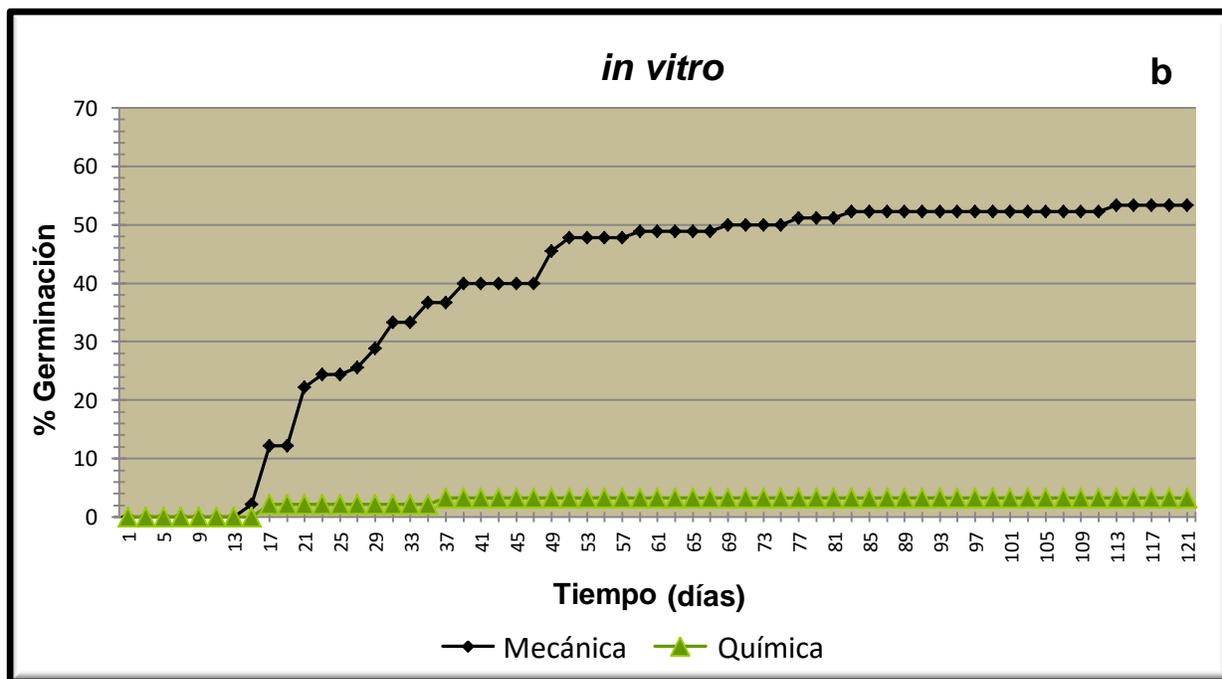
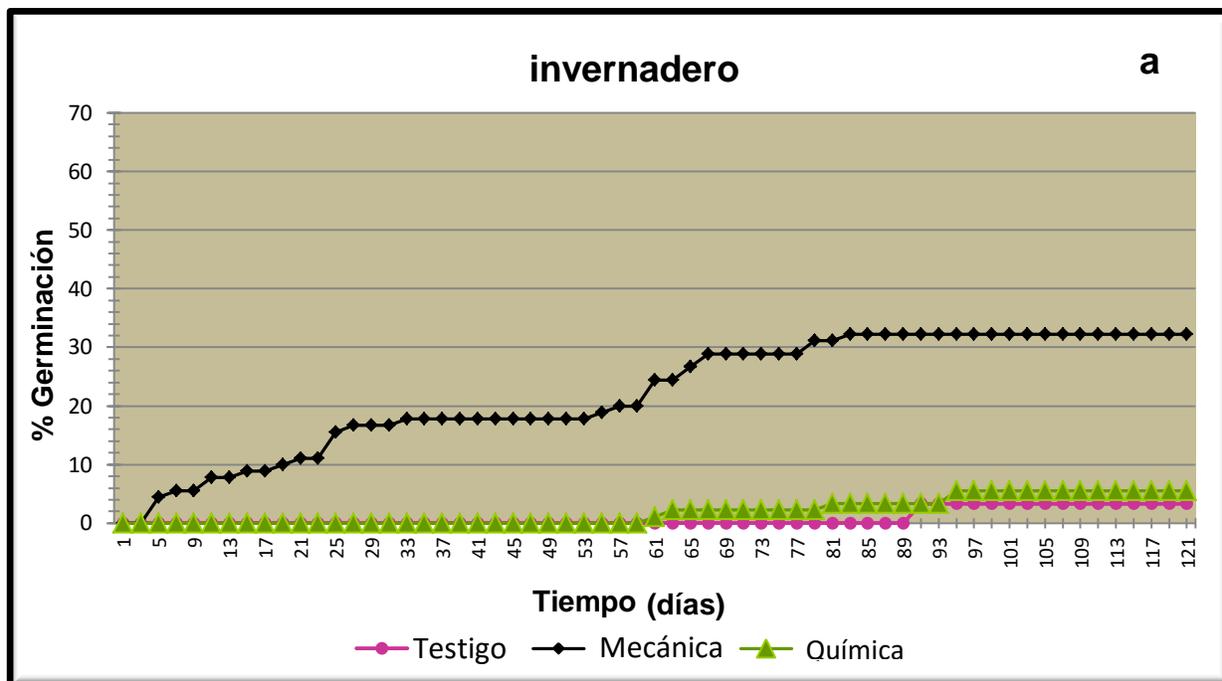


Figura 7. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. matudae* subsp. purpúrea “rojo sainero” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.

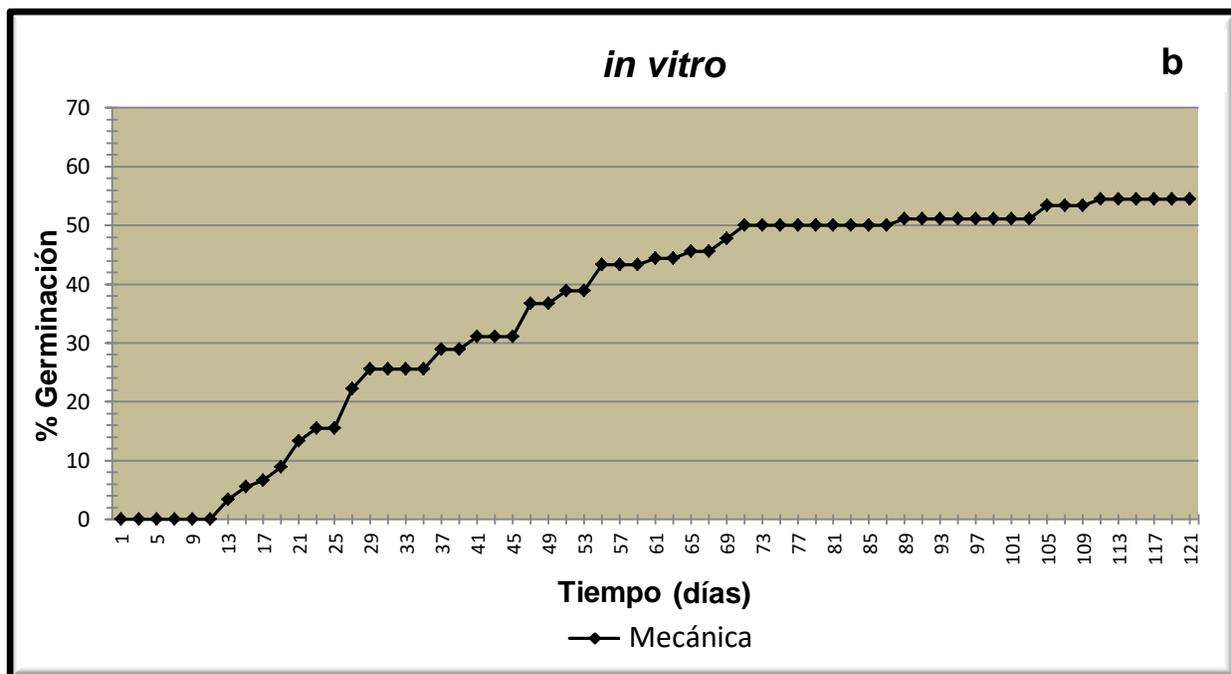
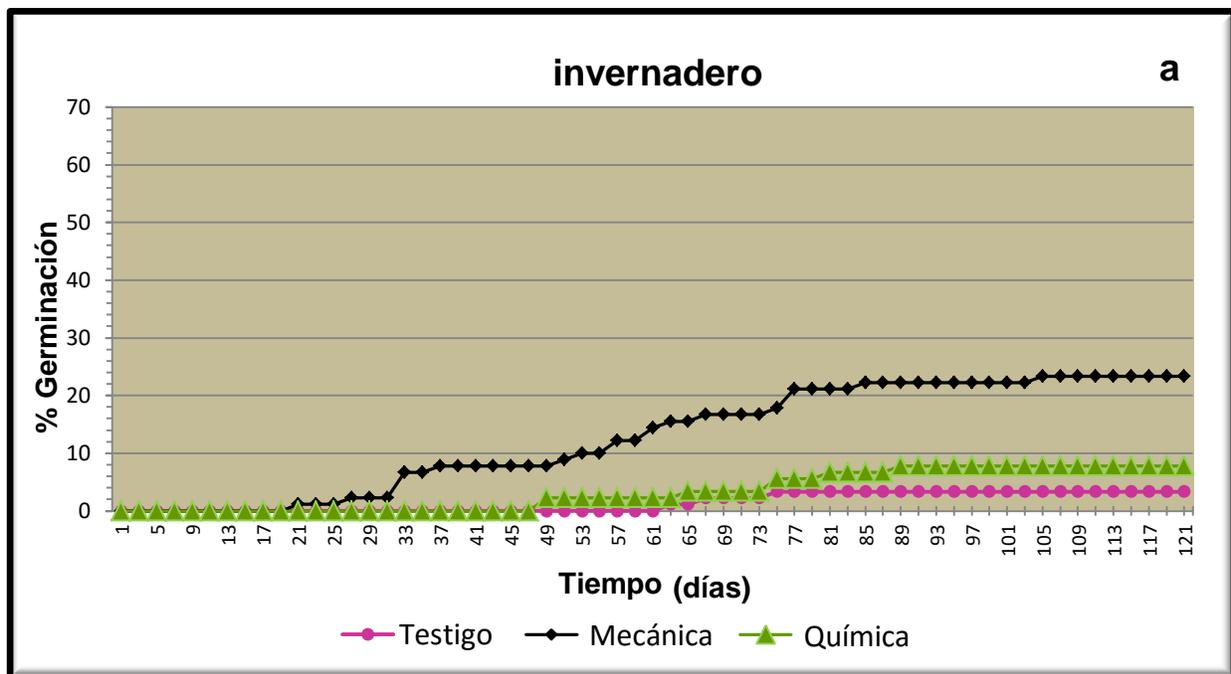


Figura 8. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. matudae* “cuaresmeño” (Villa de Tezontepec, Hidalgo), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.

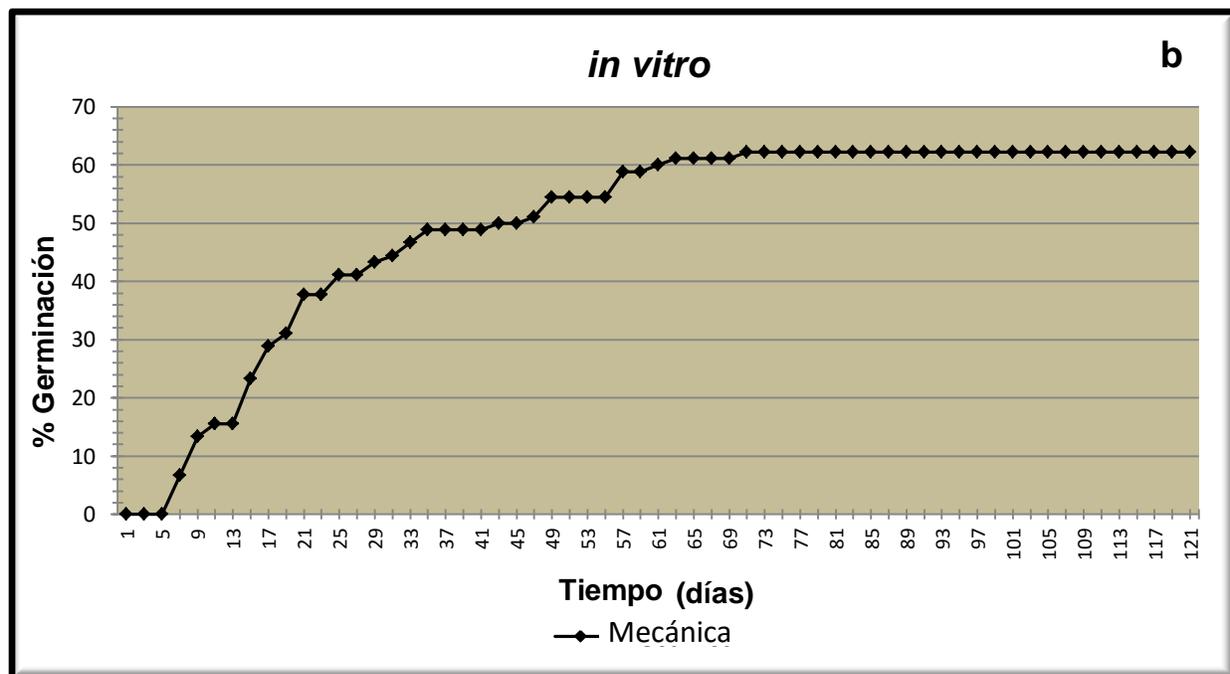
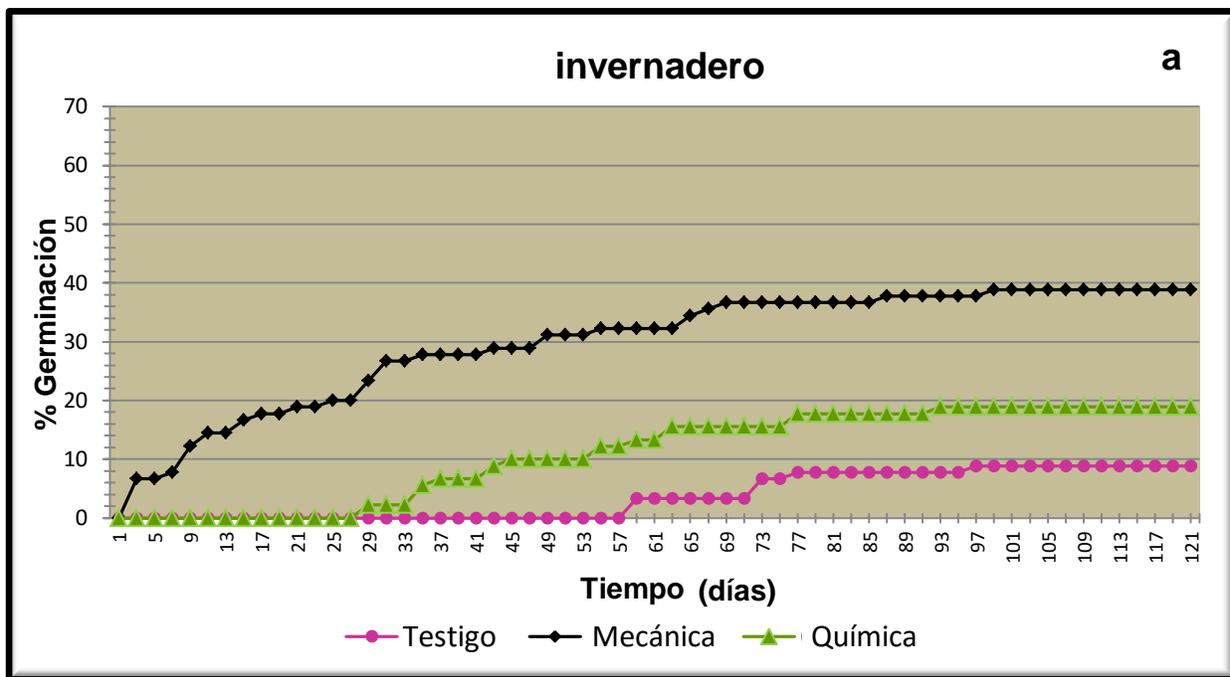


Figura 9. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. matudae* “el sitio” (El Sitio, Pinos Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.

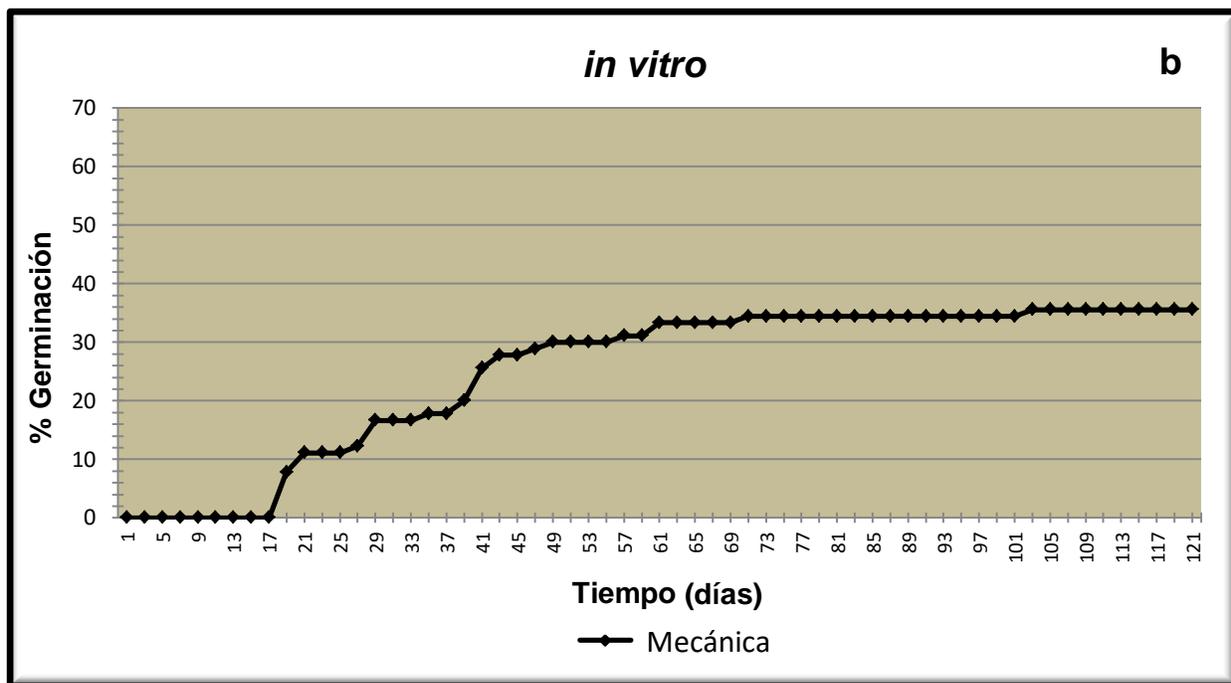
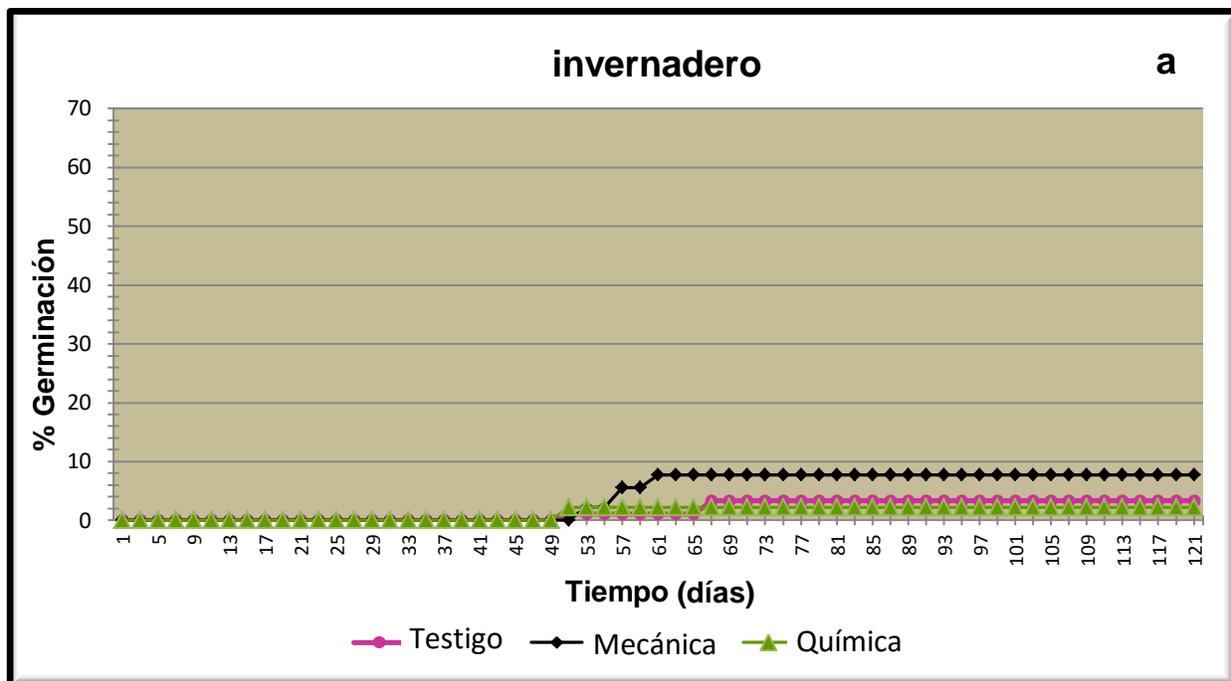


Figura 10. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. matudae* “cueron” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.



8.1.2 *O. oligacantha*

La figura 11 muestra los porcentajes finales de germinación obtenidos en las dos localidades de procedencia de esta especie que se sembraron en invernadero. Igualmente se registraron bajos porcentajes de germinación ya que las semillas testigo solo alcanzaron un 7.77%. El tratamiento de escarificación mecánica incrementó la germinación con un máximo de 24.44% y con el tratamiento de escarificación química solo se registró un 16.66%. Se observó que apastillado presentó los mayores porcentajes de germinación en los tratamientos y borrego los más bajos. Sin embargo el análisis de varianza indicó que no hay diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,12)}=2.2456$; $p=0.15983$), entre tratamientos ($F_{(2,12)}=1.0946$; $p=0.36587$), ni en la interacción localidad-tratamientos ($F_{(2,12)}=0.6461$; $p=0.5434$).

En condiciones *in vitro* (Figura 12) el comportamiento germinativo fue similar al registrado en *O. matudae*, con porcentajes nulos de germinación en las semillas testigo y con el tratamiento de escarificación química. Igualmente la escarificación mecánica resultó ser el mejor tratamiento para incrementar la germinación en este tipo de siembra, cuyos porcentajes obtenidos en ambas localidades fueron superiores a los registrados en invernadero con un máximo de 58.88% (apastillado). La comparación invernadero-*in vitro* igualmente no registro diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,8)}=4.5281$; $p=0.06552$), en el tipo de siembra ($F_{(1,8)}=3.7943$; $p=0.08885$), ni en la interacción localidad-siembra ($F_{(1,8)}=0.1964$; $p=0.66936$).

Las figuras 13a y 14a muestran las curvas de germinación acumulada de las dos localidades de procedencia de esta especie sembradas en invernadero.

Las figuras 13b y 14b muestran las curvas de germinación acumulada de las dos localidades de esta especie sembradas *in vitro*.

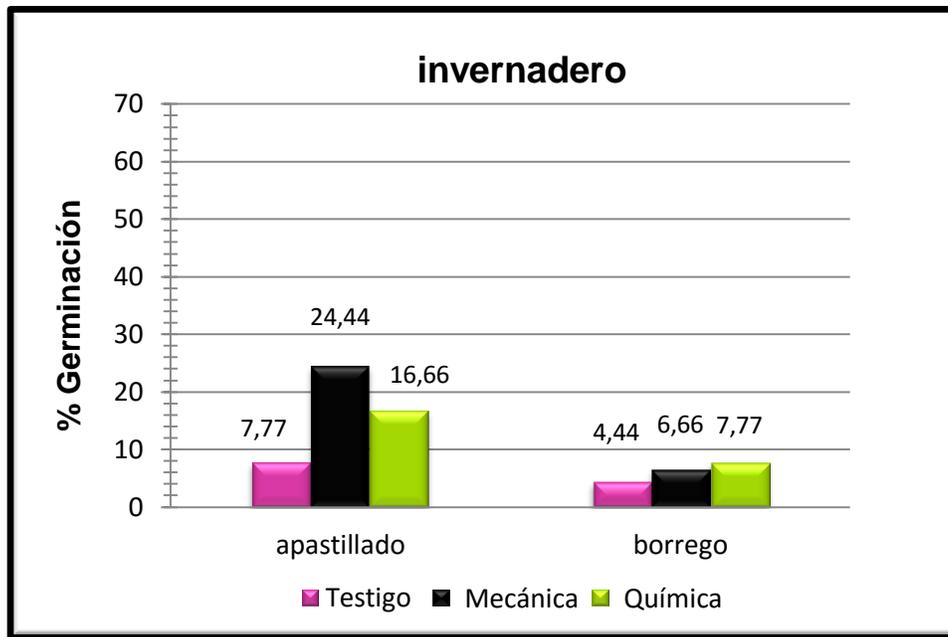


Figura 11. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de invernadero.

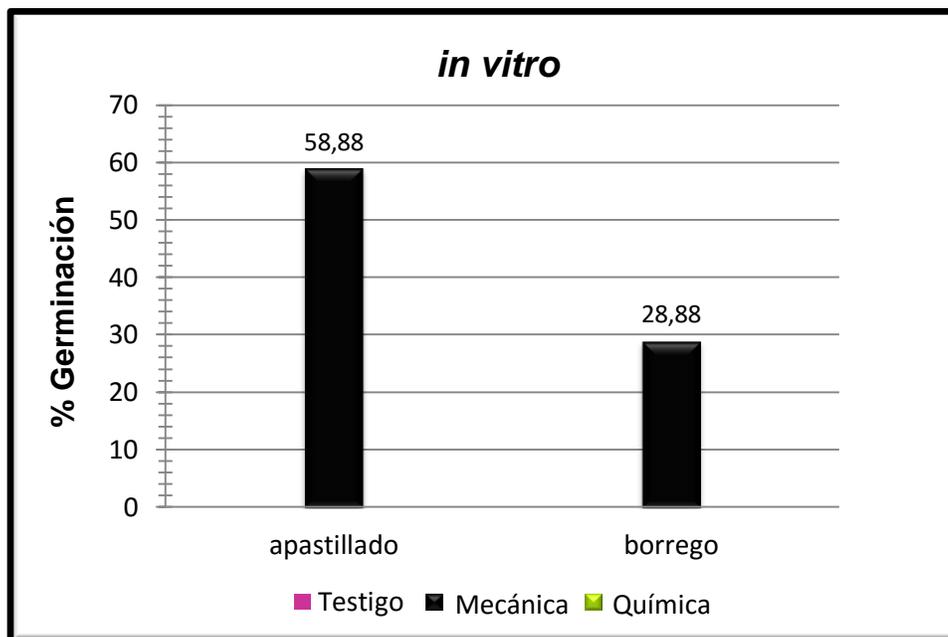


Figura 12. Porcentaje final de germinación en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones *in vitro*.

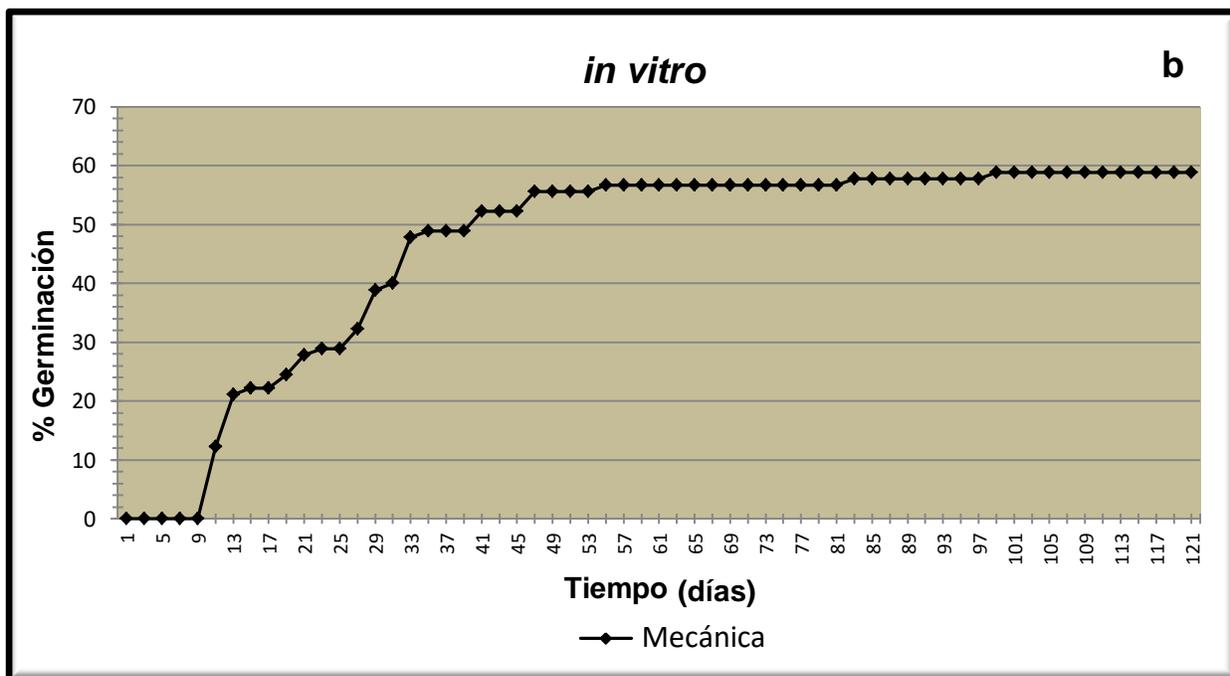
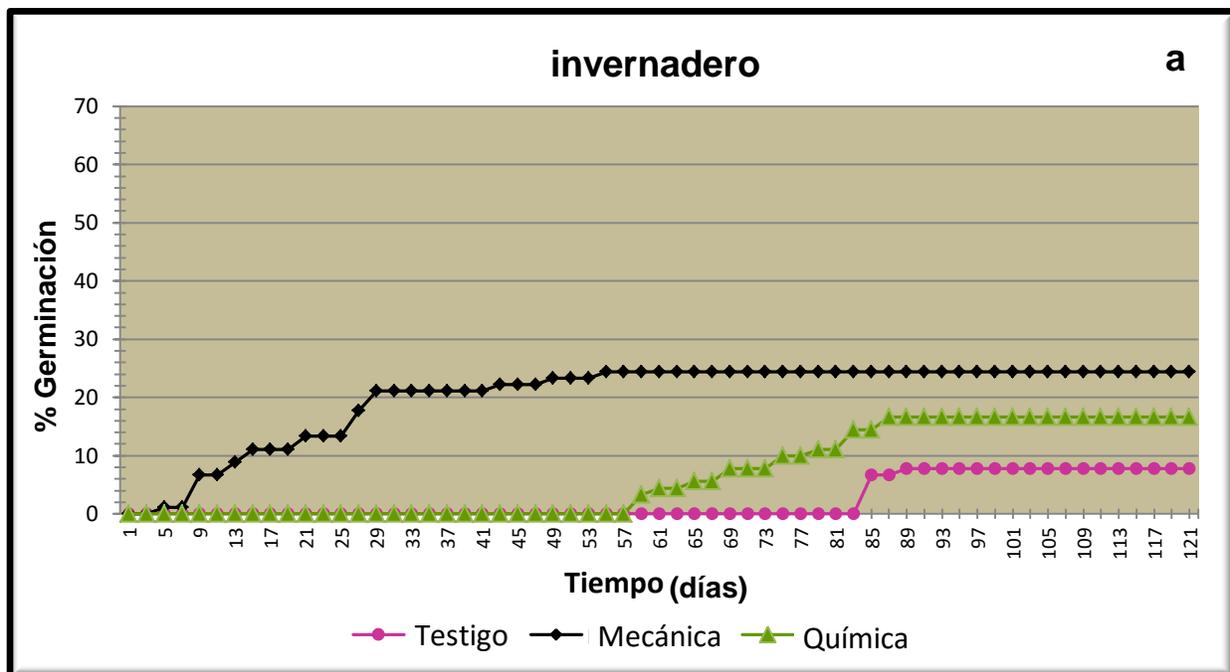


Figura 13. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *O. oligacantha* “apastillado” (Saín Alto, Zacatecas), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.

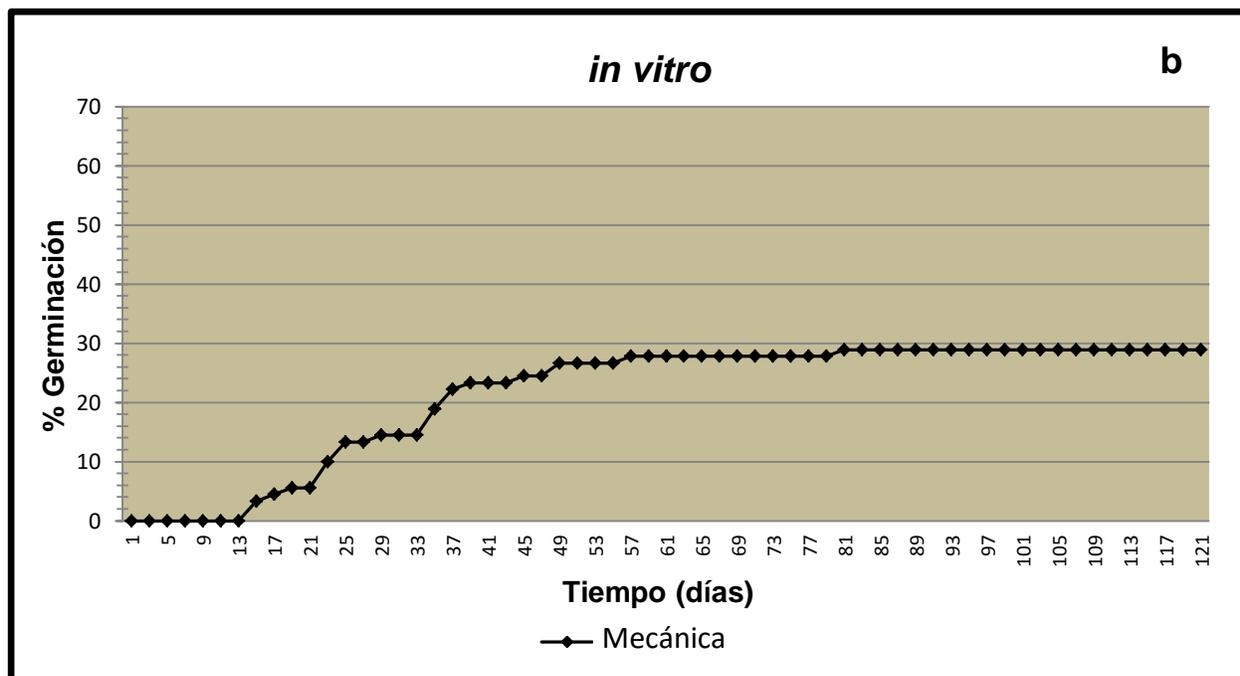
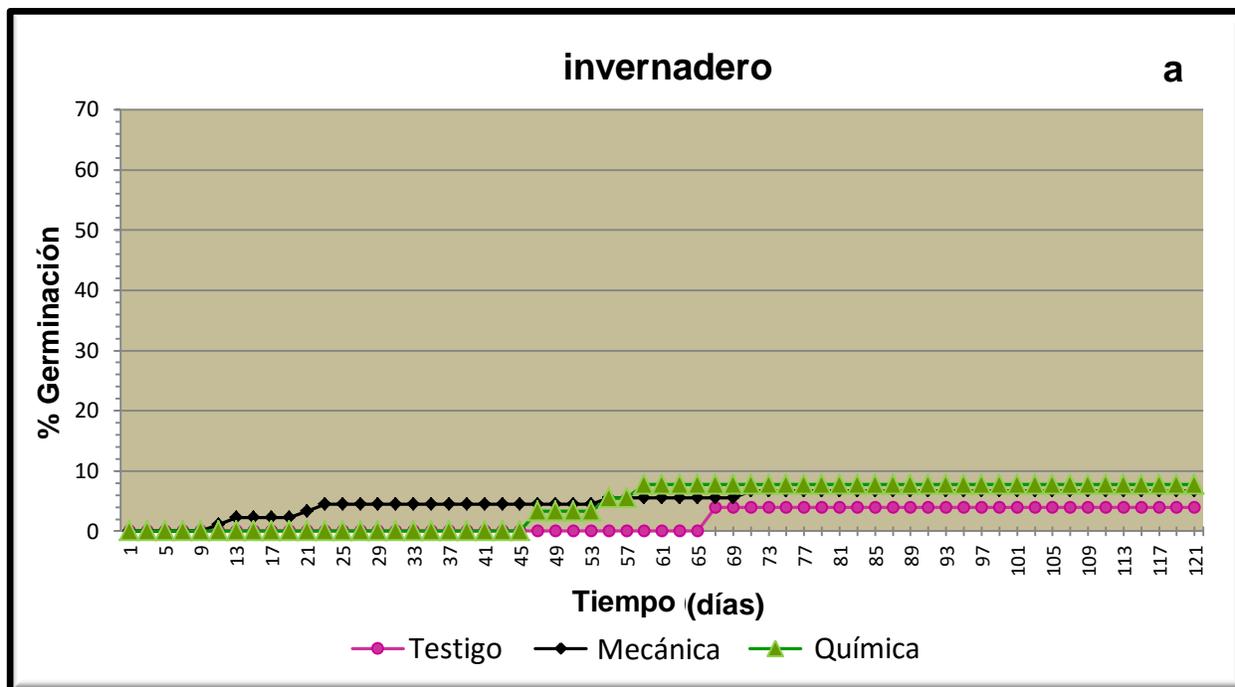


Figura 14. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *O. oligacantha* “borrego” (Villa de Tezontepec, Hidalgo), sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.



8.1.3 *O. leiascheinvariana*

En esta especie se registraron los porcentajes de germinación más bajos independientemente de los tratamientos pregerminativos y del tipo de siembra, ya que estos porcentajes no excedieron del 4.4%. En condiciones de invernadero los resultados obtenidos fueron de 2.22% para las semillas testigo, de 4.44% con escarificación mecánica y de 3.33% para el tratamiento de escarificación química (Figura 15a). El análisis de varianza no encontró diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(2,6)}=0.086$; $p=0.91790$).

En *in vitro* solo se registró 2.22% de germinación y solo con el tratamiento de escarificación mecánica, para el testigo y la escarificación química los resultados obtenidos fueron nulos (Figura 15b). El análisis de varianza tampoco encontró diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}= 0.1708$; $p=0.70053$). A diferencia de *O. matudae* y *O. oligacantha* en esta especie además se obtuvieron altos porcentajes de contaminación en el medio de cultivo (40%).

Las figuras 16a y 16b muestran las curvas de germinación acumulada para esta especie en ambos tipos de siembra.

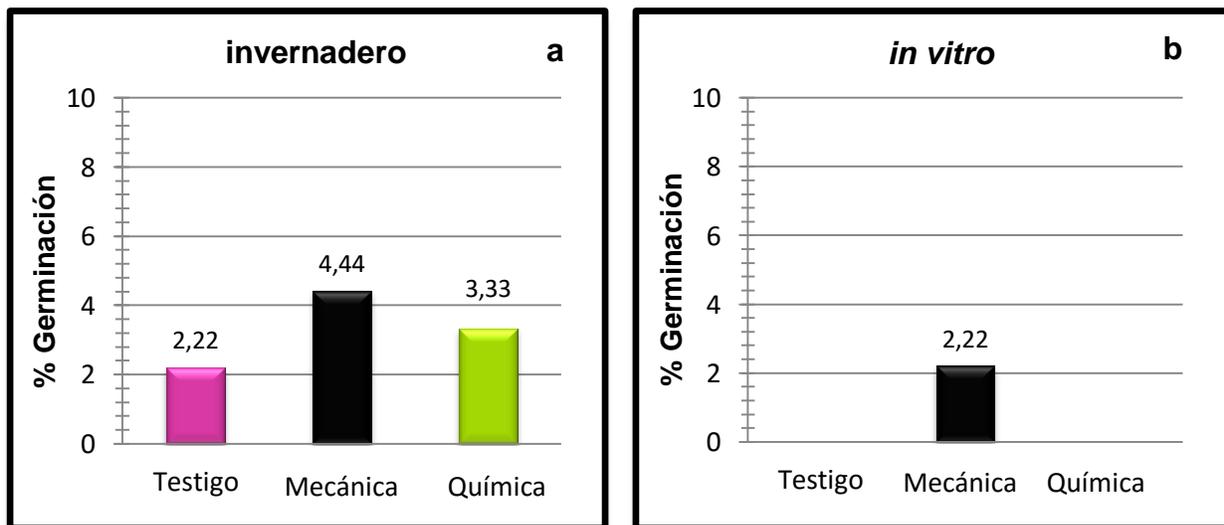


Figura 15. Porcentaje final de germinación en semillas de *O. leiascheinvariana* sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones en a) invernadero y b) *in vitro*.

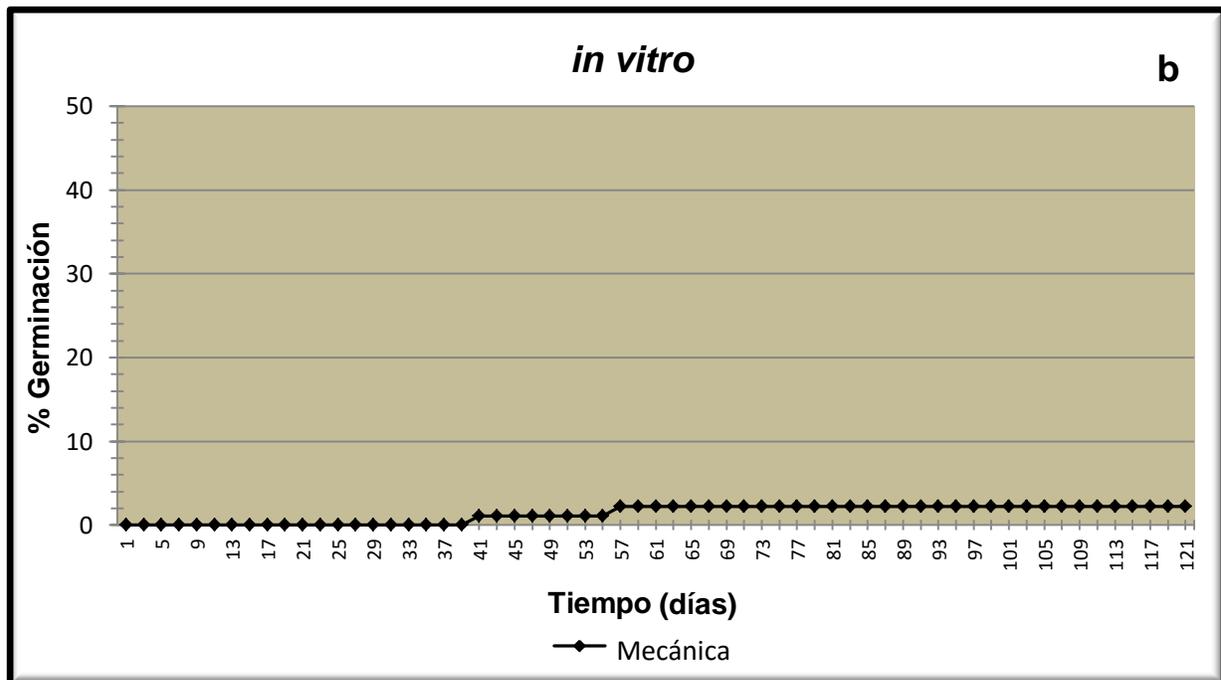
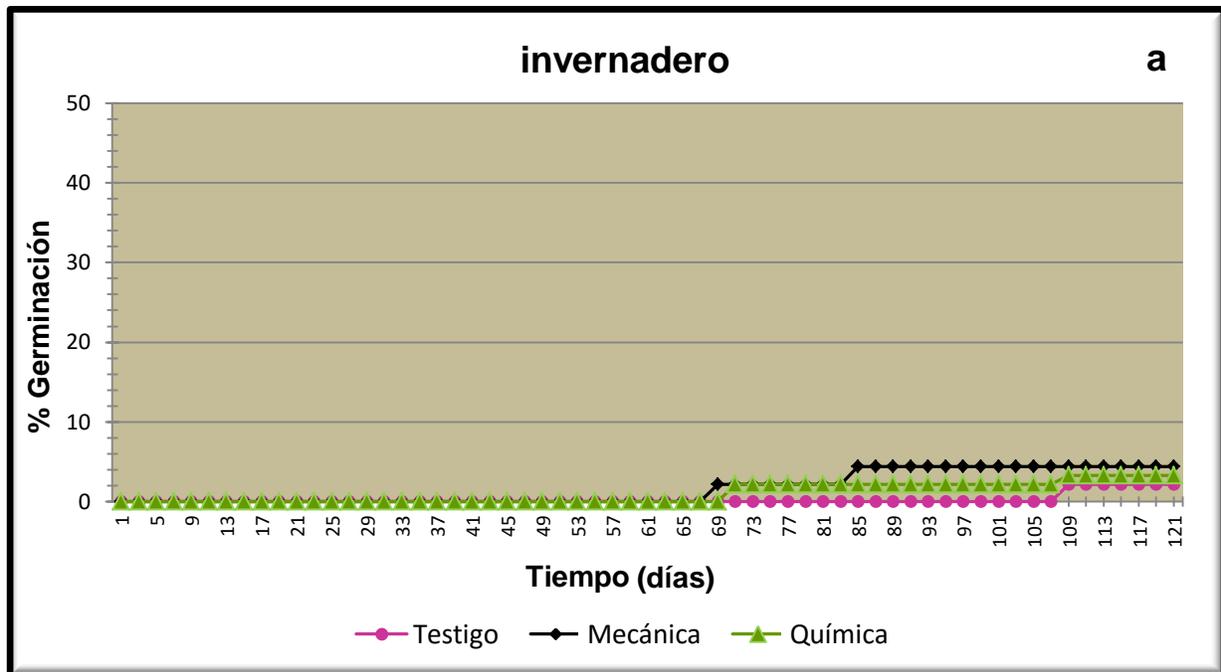


Figura 16. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *O. leiascheinvariana* “matizado”, sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.



8.1.4 *Opuntia* sp.

La figura 17a muestra los resultados obtenidos en las pruebas de germinación para esta especie que se sembró en condiciones de invernadero. En el lote testigo se registró 18.88%, de 24.44% con el tratamiento de escarificación mecánica y de 6.66% con escarificación química. El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(2,6)}=10.985$; $p=0.00987$). La prueba de Tukey reveló que la escarificación química se diferenció del testigo y de la escarificación mecánica, siendo este tratamiento en donde se obtuvieron los porcentajes más bajos de germinación, y que entre el testigo y la escarificación mecánica no hay diferencias significativas (Anexo 6). En condiciones *in vitro* al igual que en las otras especies solo se obtuvieron resultados para el tratamiento de escarificación mecánica con un máximo de 17.77% y que contrario a lo observado en *O. matudae* y *O. oligacantha* este no fue superior a lo registrado en invernadero (Figura 17b). En el análisis de varianza tampoco se encontró diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}=0.0057$; $p=0.37482$). Al igual que en *O. leiacheinvariana* uno de los factores limitantes en la siembra *in vitro* fue la contaminación (40%).

Las figuras 18a y b muestran las curvas de germinación acumulada para esta especie.

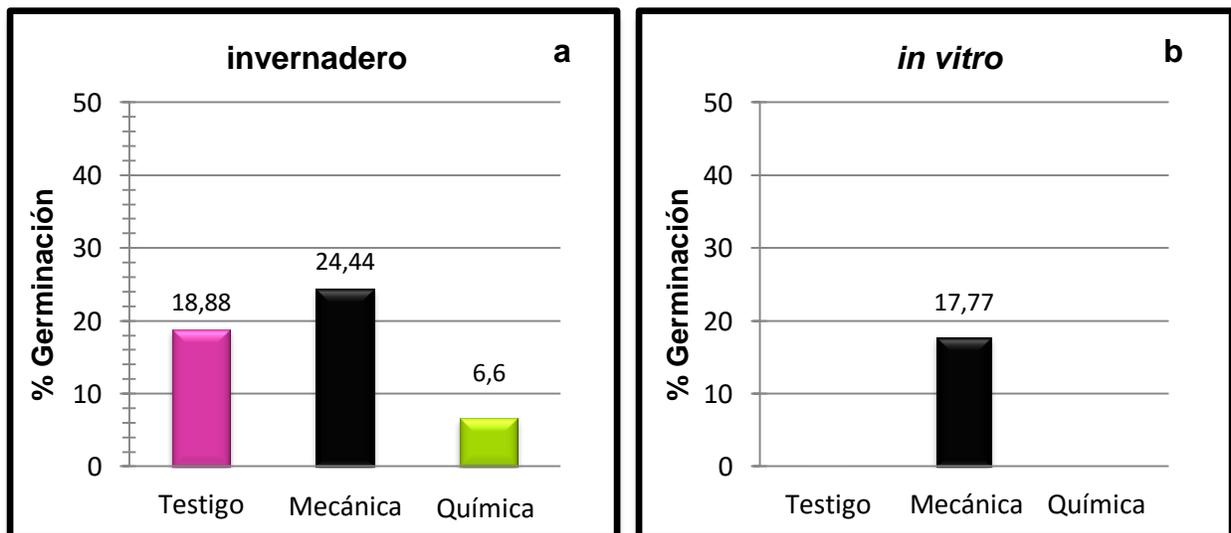


Figura 17. Porcentaje final de germinación en semillas de *Opuntia* sp sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.

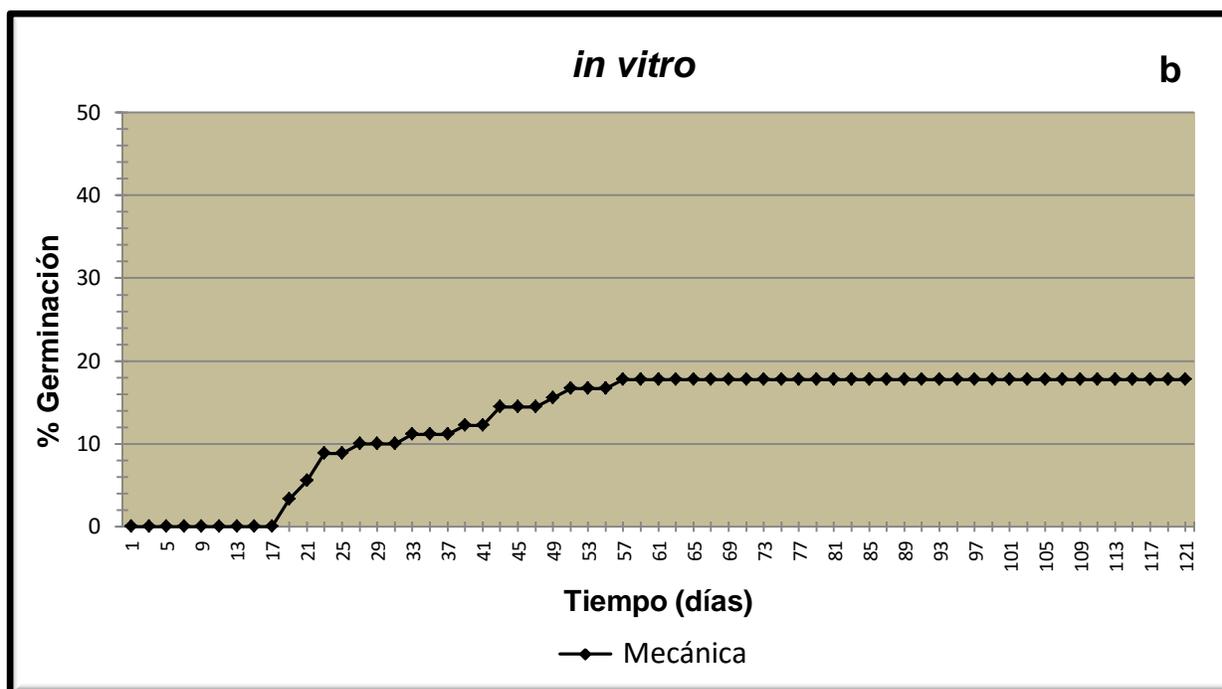
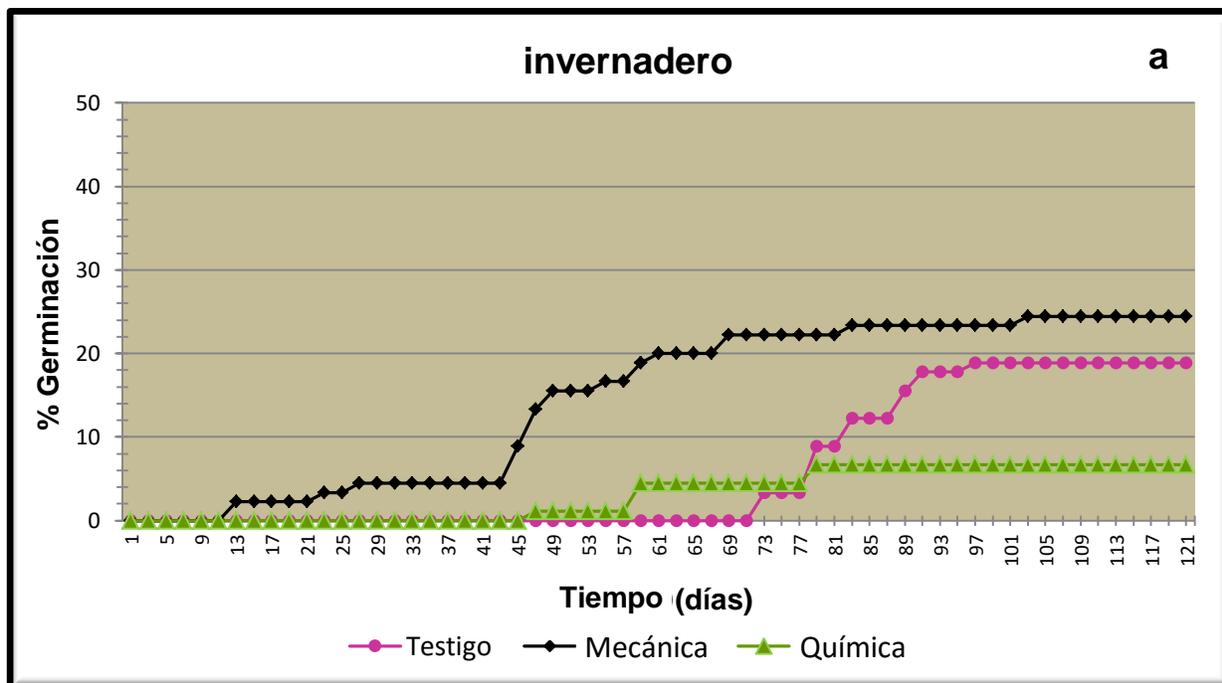


Figura 18. Porcentaje de germinación acumulada en semillas de *Opuntia* sp. “xoconostle de castilla”, sometidas a dos tratamientos pregerminativos y sembradas bajo condiciones de a) invernadero y b) *in vitro*.



8.2 Tiempo de latencia

8.2.1 *O. matudae*

En el cuadro 3 se muestra el tiempo de latencia o el número de días requeridos para el comienzo de la germinación en las cuatro localidades de *O. matudae*. De manera general se observó que las semillas testigo requirieron de tiempos largos después de la siembra para el comienzo de la germinación. El mayor tiempo registrado fue de 91 días en rojo sainero y el mínimo de 56 en cueron. Se observó que el tratamiento de escarificación mecánica fue determinante para reducir este tiempo en rojo sainero, cuaresmeño y el sitio, con un mínimo de 5 días para rojo sainero y un máximo de 21.6 en cuaresmeño. Estos tiempos fueron significativamente menores a los registrados para el testigo (Figura 19). Para estas mismas localidades se observó que la escarificación química redujo el tiempo de latencia en comparación con las semillas testigo, sin embargo estos tiempos también fueron largos con un máximo de 67.6 días en rojo sainero y un mínimo de 33 para el sitio, valores que a su vez fueron mayores a los obtenidos con la escarificación mecánica. En cueron se observaron tiempos muy similares entre si aun con la aplicación de los tratamientos, registrándose un menor tiempo con la escarificación química.

Cuadro 3. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	INVERNADERO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
rojo sainero	91	5	67.6
cuaresmeño	63.6	21.6	59
el sitio	63.6	5.3	33
cueron	56	54.3	50



El análisis de varianza registró diferencias significativas entre localidades ($F_{(3,24)}=10.331$; $p=0.00015$), entre tratamientos ($F_{(2,24)}=88.001$; $p=0.0000$) y en la interacción localidad-tratamiento ($F_{(6,24)}=13.996$; $p=0.0000$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades la diferencia se encontró entre el sitio y todas las demás (rojo sainero, cuaresmeño y cueron) y que estas últimas no se diferenciaron entre sí (Anexo 7). Esto debido a que el sitio registró los menores tiempos de latencia sobre todo en el tratamiento de escarificación química. Entre tratamientos la prueba de Tukey formó tres grupos indicando que tanto las semillas del lote testigo, las de escarificación mecánica y química se diferenciaron significativamente entre sí (Anexo 8).



Figura 19. Emergencia de radícula en rojo sainero, cuaresmeño y cueron respectivamente, sembradas bajo condiciones de invernadero.

En el cuadro 4 se muestran los valores obtenidos en el tiempo de latencia para las cuatro localidades de esta misma especie que se sembraron en condiciones *in vitro*. En el tratamiento de escarificación mecánica se observó que para rojo sainero y el sitio se requirieron de más días para que comenzaran a germinar en comparación con lo registrado en invernadero, sin embargo para cuaresmeño y cueron este tiempo se redujo. En el tratamiento de escarificación química se observó que en rojo sainero hubo una reducción en el tiempo de latencia.



Cuadro 4. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sembradas bajo condiciones *in vitro* y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	IN VITRO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
rojo sainero	0	15.5	17
cuaresmeño	0	17.3	0
el sitio	0	7	0
cueron	0	21.3	0

La comparación invernadero-*in vitro* indicó que hay diferencias significativas entre localidades ($F_{(3,16)}=31.344$; $p=0.00000$), en el tipo de siembra ($F_{(1,16)}=6.1881$; $p=0.02427$) y en la interacción localidad-tipo de siembra ($F_{(3,16)}=14.100$; $p=0.00009$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades la diferencia se encontró entre cueron siendo esta en donde se registraron los tiempos de latencia más largos, y el resto de las demás (rojo sainero, cuaresmeño y el sitio), y que entre estas últimas solo cuaresmeño y el sitio se diferenciaron significativamente entre sí, siendo esta última en la que se registraron los tiempos de latencia más bajos (Anexo 9). En el tipo de siembra la germinación *in vitro* se diferenció significativamente del invernadero, esto se debió ya que a pesar de que solamente en cuaresmeño y cueron se observó una reducción en el tiempo de latencia, en cueron este tiempo se redujo considerablemente a más de la mitad en este tipo de siembra (Anexo 10).



8.2.2 *O. oligacantha*

En el cuadro 5 se muestran los valores obtenidos en el tiempo de latencia para las dos localidades de esta especie sembradas en condiciones de invernadero. Igualmente se observaron tiempos largos para el inicio de la germinación en las semillas testigo con un máximo de 85 días en apastillado, valores que se redujeron significativamente con el tratamiento de escarificación mecánica con un mínimo de 5.6. A su vez el tratamiento de escarificación química al igual que lo observado en *O. matudae* redujo los tiempos de latencia en comparación con el testigo. Sin embargo estos tiempos fueron mucho mayores que con el tratamiento de escarificación mecánica.

Cuadro 5. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	INVERNADERO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
apastillado	85	5.6	58
borrego	67	12.3	47

El análisis de varianza registró diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,12)}=8.9830$; $p=0.01113$), entre tratamientos ($F_{(2,12)}=232.98$; $p=0.0000$) y en la interacción localidad-tratamiento ($F_{(2,12)}=7.7604$; $p=0.00687$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades, borrego se diferenció de apastillado, presentando los tiempos de latencia más bajos, ya que a pesar de que en el tratamiento de escarificación mecánica se registró un mayor tiempo de germinación que en apastillado, en las semillas testigo y con escarificación química estos valores fueron significativamente menores que en apastillado (Anexo 11). Entre tratamientos la prueba de Tukey formó tres grupos indicando que tanto el testigo, el tratamiento de escarificación mecánica y la escarificación química se diferenciaron significativamente entre sí (Anexo 12).

A su vez en el cuadro 6 se muestran los valores obtenidos para las dos localidades de procedencia de esta especie sembradas en condiciones *in vitro*, observándose en ambos casos que los tiempos de latencia fueron mayores que los registrados en invernadero con un máximo de 16.6 días en borrego (Figura 20).

Cuadro 6. Promedio del tiempo de latencia (días) en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sembradas bajo condiciones *in vitro* y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	IN VITRO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
apastillado	0	12.3	0
borrego	0	16.6	0

La comparación invernadero-*in vitro* indicó que no hay diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,8)}=1.1266$; $p=0.31949$), en el tipo de siembra ($F_{(1,8)}=1.1266$; $p=0.31949$), ni en la interacción localidad-tipo de siembra ($F_{(1,8)}=0.0293$; $p=0.86832$).



Figura 20. Emergencia de radícula en borrego y apastillado, sembradas bajo condiciones *in vitro*.



8.2.3 *O. leiascheinvariana*

En esta especie se registraron los mayores tiempos de latencia en comparación con las otras especies evaluadas. En condiciones de invernadero los resultados obtenidos después de la siembra fueron de 108 días para las semillas testigo, de 73.3 para la escarificación mecánica y de 70 con el tratamiento de escarificación química. La prueba de Kruskal-Wallis reveló que hay diferencias significativas entre los tratamientos ($H_{(2,9)}=6.0540$; $p=0.0485$), observándose en el diagrama de cajas (Anexo 13) que tanto el tratamiento de escarificación mecánica como el de escarificación química se diferenciaron del testigo, reduciendo los tiempos de latencia, sin embargo estos tiempos también fueron muy largos y similares entre sí.

En condiciones *in vitro* el tratamiento de escarificación mecánica igualmente registró tiempos muy largos después de la siembra para que comenzaran a germinar sin embargo este tiempo fue menor que lo registrado en invernadero con 46 días. El análisis de varianza indicó que hay diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}=13.979$; $p=0.02014$) y la prueba de Tukey reveló el efecto significativo de la siembra *in vitro* en comparación con el invernadero (Anexo 14).

8.2.4 *Opuntia* sp.

Para esta especie los valores obtenidos en el tiempo de latencia en condiciones de invernadero fueron de 74 días para las semillas testigo, de 17.3 para el tratamiento de escarificación mecánica y de 61.3 en el tratamiento de escarificación química. El análisis de varianza reveló que hay diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(2,6)}=26.391$; $p=0.00106$). La prueba de Tukey reveló que la escarificación mecánica se diferenció del testigo y de la escarificación química y que estos últimos tratamientos no se diferenciaron entre sí (Anexo 15).

En condiciones *in vitro* se observó un mayor tiempo de latencia en comparación con lo registrado en invernadero con 20.3 días en el tratamiento de escarificación mecánica. El análisis de varianza indicó que no hay diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}=0.4378$; $p=0.54434$).



8.3 Velocidad de germinación

8.3.1 *O. matudae*

El cuadro 7 muestra los valores obtenidos en el coeficiente de velocidad de Kotowski para las cuatro localidades de *O. matudae* que se sembraron en condiciones de invernadero. De manera general los máximos valores se registraron con el tratamiento de escarificación mecánica con un máximo de 1.41 en el sitio y un mínimo de 1.13 en cueron. Los valores más bajos se obtuvieron en las semillas testigo con un mínimo de 0.94 en rojo sainero y un máximo de 1.13 en cueron. En el tratamiento de escarificación química los valores en general fueron superiores al testigo con un mínimo de 1.03 para rojo sainero y un máximo de 1.18 en el sitio, pero en general estos valores fueron inferiores a los obtenidos con el tratamiento de escarificación mecánica.

Cuadro 7. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	INVERNADERO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
rojo sainero	0.94	1.34	1.03
cuaresmeño	1.07	1.20	1.07
el sitio	1.06	1.41	1.18
cueron	1.13	1.13	1.17

El análisis de varianza registró diferencias significativas entre localidades ($F_{(3,24)}=8.4715$; $p=0.00052$), entre tratamientos ($F_{(2,24)}=52.334$; $p=0.0000$) y en la interacción localidad-tratamiento ($F_{(6,24)}=10.607$; $p=0.0000$). La prueba de Tukey reveló que entre localidades el sitio se diferenció significativamente del resto de las demás (rojo sainero, cuaresmeño y cueron) y que estas últimas no se diferenciaron entre sí (Anexo 16). Y entre tratamientos la prueba de Tukey formó tres grupos indicando que



tanto el testigo, el tratamiento de escarificación mecánica y química se diferenciaron significativamente entre sí (Anexo 17).

Por otra parte en el cuadro 8 se muestran los valores del coeficiente de velocidad obtenidos para las cuatro localidades de esta especie que se sembraron bajo condiciones *in vitro*, obteniéndose un mínimo de 1.27 en cuaresmeño y un máximo de 1.39 para el sitio.

Cuadro 8. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de cuatro localidades de *O. matudae* sembradas bajo condiciones *in vitro* y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	IN VITRO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
rojo sainero	0	1.34	0
cuaresmeño	0	1.27	0
el sitio	0	1.39	0
cueron	0	1.30	0

La comparación invernadero-*in vitro* reveló que hay diferencias significativas entre localidades ($F_{(3,16)}=10.060$; $p=0.0005$), pero no en el tipo de siembra ($F_{(1,16)}=3.7929$; $p=0.6924$), ni en la interacción localidad-tipo de siembra ($F_{(3,16)}=2.3850$; $p=0.1073$). La prueba de Tukey indicó que entre localidades el sitio se diferenció de cuaresmeño y cueron, siendo el sitio en donde se obtuvo la mayor velocidad, y que cueron se diferenció significativamente de rojo sainero y el sitio, siendo cueron en donde se registró la menor velocidad (Anexo 18).



8.3.2 *O. oligacantha*

El cuadro 9 muestra los valores obtenidos en la velocidad de germinación para las dos localidades de procedencia de esta especie que se sembraron en condiciones de invernadero. Registrándose igualmente los máximos valores en el tratamiento de escarificación mecánica con un mínimo de 1.43 en apastillado y un máximo de 1.45 en borrego. Asimismo el tratamiento de escarificación química registró valores superiores a los obtenidos en el testigo, pero menores que con la escarificación mecánica.

El análisis de varianza no registró diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,12)}=3.6700$; $p=0.7953$), pero sí entre tratamientos ($F_{(2,12)}=54.247$; $p=0.0000$), la interacción localidad-tratamientos tampoco fue significativa ($F_{(2,12)}=0.52414$; $p=0.60502$). La prueba de Tukey reveló que entre tratamientos la escarificación mecánica se diferenció significativamente del testigo y de la escarificación química y que entre estos últimos no hay diferencia significativa entre sí (Anexo 19).

Cuadro 9. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sembradas bajo condiciones de invernadero y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	INVERNADERO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
apastillado	0.98	1.43	1.06
borrego	1.05	1.45	1.17

Por otra parte en el Cuadro 10 se muestran los valores obtenidos en la velocidad de germinación para las dos localidades de procedencia de esta especie que se sembraron en condiciones *in vitro*. Observándose que estos valores fueron ligeramente menores a los registrados en invernadero.



Cuadro 10. Promedio del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas provenientes de dos localidades de *O. oligacantha* sembradas bajo condiciones *in vitro* y sometidas a dos tratamientos pregerminativos.

Nombre común	IN VITRO Tratamiento pregerminativo		
	testigo	escarificación mecánica	escarificación química
apastillado	0	1.38	0
borrego	0	1.38	0

La comparación invernadero-*in vitro* no encontró diferencias significativas entre localidades ($F_{(1,8)}=0.02211$; $p=0.8854$), tipo de siembra ($F_{(1,8)}=0.88940$; $p=0.3732$), ni en la interacción localidad-tipo de siembra ($F_{(1,8)}=0.02824$; $p=0.8707$).

8.3.3 *O. leiascheinvariana*

Para esta especie los valores obtenidos en el coeficiente de velocidad fueron de 0.87 para las semillas testigo, de 1.02 para el tratamiento de escarificación mecánica y de 1.03 para la escarificación química. El análisis de Kruskal-Wallis registro diferencias significativas entre tratamientos ($H_{(2,9)}=5.6579$; $p=0.0591$). En el diagrama de cajas se observa al testigo por debajo de los tratamientos con la menor velocidad. En la escarificación mecánica y química no se observan diferencias presentando velocidades muy similares entre sí, pero ligeramente mayores al testigo (Anexo 20).

En condiciones *in vitro* se observó un incremento en la velocidad de germinación con un valor de 1.20 para el tratamiento de escarificación mecánica, el análisis de varianza registró diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}=17.083$; $p=0.0144$). La prueba de Tukey reveló que la siembra *in vitro* se diferenció del invernadero siendo está en la que se obtuvo la mejor velocidad (Anexo 21).



8.3.4 *Opuntia* sp.

Para esta especie los valores que se obtuvieron en el coeficiente de velocidad para las semillas testigo fueron de 0.99, de 1.23 con el tratamiento de escarificación mecánica observándose el efecto favorable de este tratamiento para incrementar la velocidad en comparación con el testigo, y de 1.09 con el tratamiento de escarificación química. El análisis de varianza registró diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(2,6)}=11.358$; $p=0.0091$). La prueba de Tukey indicó que la escarificación mecánica se diferenció del testigo, pero no del tratamiento de escarificación química (Anexo 22).

En condiciones *in vitro* en el tratamiento de escarificación mecánica se obtuvo un valor de 1.32. No se encontraron diferencias significativas entre el tipo de siembra ($F_{(1,4)}=3.1515$; $p=0.1505$).



IX DISCUSIÓN

9.1 Porcentaje final de germinación

Entre las especies de la familia Cactaceae es frecuente la producción de semillas que a su vez pueden alcanzar porcentajes de germinación que oscilan del 0 hasta el 100%, bajo diversas condiciones que facilitan el establecimiento (Navarro y Deménegui, 2007). En el presente estudio los resultados obtenidos en las pruebas de germinación para las cuatro especies de *Opuntia* en general fueron bajos, lo cual contrasta con lo reportado para otras especies de cactáceas que han mostrado porcentajes de germinación relativamente altos ($\geq 80\%$) en cuanto se cumple con el requisito de humedad y luz (Flores-Martínez *et al.*, 2008; Pascacio-Villafán y Ortega, 2009; Serna, 2012).

Los bajos porcentajes de germinación obtenidos en las semillas que no se sometieron a los tratamientos pregerminativos indica la presencia de latencia. En la naturaleza este mecanismo es una estrategia de adaptación que presentan las plantas frente a condiciones ambientales impredecibles como las que se presentan en las zonas áridas o semiáridas (Jurado y Flores, 2005), donde las condiciones ambientales pueden no ser favorables para la germinación inmediatamente después de la dispersión de la semilla (Hartmann y Kester, 1995). En especies de *Opuntia* la latencia se ha relacionado con la presencia de una cubierta seminal dura y lignificada que constituye una barrera mecánica para la expansión del embrión y emergencia de la radícula (Ochoa, 1992; Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios, 1999; Olvera-Carrillo, 2001; Altare *et al.*, 2006). Esta característica le provee a la semilla de ciertas ventajas como es la protección contra la abrasión que produce el suelo así como de factores ambientales adversos, sin embargo también limita la germinación (Flores, 1973; Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios, 1999). En algunos estudios con este género se han utilizado diversos tratamientos para promover la germinación de estas semillas, los cuales han incluido escarificación mecánica, escarificación mecánica e inmersión en ácido giberelico, inmersión en agua a temperaturas cercanas a los 100°C por diferentes periodos de tiempo, inmersión en ácido sulfúrico concentrado, entre otros, sin embargo los resultados obtenidos han sido muy diversos entre las diferentes especies estudiadas (Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios, 1999).



Con respecto a los tratamientos pregerminativos utilizados, los resultados demostraron que la escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para incrementar la germinación en la mayoría de las especies, tanto en la siembra en invernadero como en *in vitro* (excepto *O. leiascheinvariana*), y aunque estadísticamente este tratamiento solo fue significativo en *O. matudae*, se observó que en *O. oligacantha* (apastillado y borrego) y *Opuntia* sp este tratamiento incrementó ligeramente la germinación en comparación con el testigo, lo cual sugiere la presencia de latencia innata asociada con la dureza de la cubierta seminal. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ochoa (1992) quien registró 5% de germinación en semillas no tratadas de *O. joconostle* observando un incremento en la germinación después de aplicar un tratamiento de escarificación mecánica (42%). Guedes *et al.* (2009) reportaron un mayor porcentaje de germinación en *O. ficus-indica* después de escarificar mecánicamente las semillas (80%) en comparación con el testigo (20%), indicando que este tratamiento fue el más eficiente para superar la latencia en esta especie. Asimismo Rosas (2011) obtuvo un mayor porcentaje de germinación en semillas almacenadas y enterradas de *O. tomentosa* después de remover la valva (región cerca del micrópilo).

En condiciones naturales las semillas que presentan cubiertas seminales duras germinan solo después de que sus testas se han debilitado o fracturado ya sea por intemperismo, por el efecto de fluctuaciones extremas de temperaturas en la superficie del suelo o por degradación microbiana, entre otros (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). En algunas especies de *Opuntia* se ha observado el efecto favorable de los hongos presentes en el suelo para fracturar y erosionar la cubierta seminal para favorecer la germinación (Olvera-Carrillo, 2001; Rosas, 2011). La ingestión de semillas por animales (aves y mamíferos) es otro mecanismo que promueve la germinación de semillas con testas duras. Estos organismos a su vez pueden dispersar las semillas lejos de la planta madre por medio de regurgitación o defecación, algunas veces en sitios favorables para la germinación y el establecimiento (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006).

El tratamiento de escarificación química mostró un ligero incremento en los porcentajes de germinación comparados con el testigo, sin embargo en ningún caso fue significativo. Estos resultados coinciden con lo reportado para otras especies de



cactáceas que no mostraron un aumento significativo después de escarificar las semillas con ácido (Vega-Villasante *et al.*, 1996; Álvarez y Montaña, 1997; Ruedas *et al.*, 2000). Sin embargo para especies de *Opuntia* los resultados obtenidos han sido contrastantes. En invernadero Sánchez-Venegas (1997) reportó 10% de germinación en *O. joconostle* con 12 y 45 min en ácido sulfúrico. Mientras que Luna (2005) reportó 40% de germinación en *O. streptacantha* después de escarificar las semillas con ácido sulfúrico por 3 min, observando que tiempos mayores de 5 y 10 min reducen este porcentaje. A su vez Guedes *et al.* (2009) en *O. ficus indica* obtuvieron ($\leq 60\%$) de germinación en semillas tratadas por 10 min en ácido sulfúrico. Mientras que Potter *et al.* (1984) reportaron 83% de germinación en *O. discata* y 34% en *O. lindheimeri* después de escarificar las semillas con ácido sulfúrico por 30 min. Mandujano *et al.* (2005) reportaron que la inmersión en ácido sulfúrico por periodos prolongados de tiempo fue perjudicial para *O. rastrera*. Lo que demuestra que los resultados son muy variables y específicos para cada especie. En el presente estudio posiblemente el tiempo de inmersión en el ácido sulfúrico (5 min) no fue suficiente para desgastar la dura cubierta seminal de la semilla por lo que se sugiere futuros estudios en donde se evalúen mayores tiempos de exposición en el ácido. Sin embargo se ha sugerido en algunas especies de *Opuntia* que el paso de las semillas por el tracto digestivo de aves o mamíferos no interviene en el proceso germinativo y que solo se restringe a su dispersión (Mandujano *et al.*, 1997; Olvera-Carrillo, 2001). Esto en virtud de su gran tamaño y dureza de la cubierta seminal (Flores, 1973).

En algunas semillas el embrión no se encuentra totalmente desarrollado al momento de su dispersión, por lo que necesitan un periodo de tiempo para terminar de completar su maduración, siendo este periodo de postmaduración (afterripening) muy variable de especie a especie (Rojas-Aréchiga y Batis, 2001).

En *Opuntia* la inmadurez del embrión ha sido otro factor que se ha observado provoca latencia en las semillas de sus especies. Potter *et al.* (1984) menciona que en *O. lindheimeri* y *O. edwardsii* la germinación mejoró cuando las semillas se almacenaron por un año sugiriendo la necesidad de un periodo de postmaduración. A su vez Barriga (1994) encontró que la germinación de *O. joconostle* bajo diferentes tratamientos pregerminativos, incrementó en un 20% en semillas almacenadas por dos



años que recientemente colectadas. También Mandujano *et al.* (1997) mencionan que la germinación de *O. rastrera* se incrementa con el envejecimiento de las semillas ya que en semillas frescas la germinación no se produce y estudios posteriores revelaron que un periodo de postmaduración es la mejor o la única vía para superar la latencia en esta especie (Mandujano *et al.*, 2005). En este sentido el incremento en la capacidad germinativa con el transcurso del tiempo indica la pérdida de una latencia endógena (innata), causada por un inadecuado balance hormonal en la semilla después de su dispersión (Villiers, 1972 citado en Osuna *et al.*, 1997). En este aspecto las semillas de las especies evaluadas contaban con 2 años de edad y posiblemente este tiempo no fue suficiente para terminar de completar su maduración ya que a pesar de que la escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para incrementar la germinación estos porcentajes fueron bajos y en ningún caso fueron superiores al 62%, sobre todo en *Opuntia* sp. y en *O. leiascheinvariana* que presentaron los porcentajes más bajos de germinación, esta última con $\leq 4\%$, lo cual posiblemente esté asociado con el nivel de madurez de las semillas y que estas requieren de mayor tiempo para terminar de completar su maduración, implicando la presencia de latencia innata asociada con la inmadurez fisiológica del embrión. Y que coincide con lo reportado por Rosas (2011) quien menciona que dos años de almacenamiento no fueron suficientes para completar la maduración del embrión en *O. tomentosa*, implicando la presencia de una inmadurez fisiológica. En condiciones naturales la inmadurez es un mecanismo que previene la germinación hasta después de que el invierno haya pasado (Bewley y Black, 1986). Así mismo, el requerimiento de un periodo de postmaduración puede permitir a las semillas formar un banco en el suelo, ya que este requerimiento es una característica de las semillas que los forman (Rojas-Aréchiga y Batis, 2001).

9.2 Tipo de siembra: invernadero e *in vitro*

Al comparar el tipo de siembra se observó que en condiciones *in vitro* solo se obtuvo resultados con el tratamiento de escarificación mecánica y que en general estos porcentajes de germinación fueron mayores a los registrados que en el invernadero en *O. matudae* (rojo sainero, cuaresmeño, el sitio y cuerón) y aunque estadísticamente solo esta especie registro diferencias significativas en este tipo de siembra, también se



observó en *O. oligacantha* (apastillado y borrego) un mayor incremento en los porcentajes de germinación con respecto a los obtenidos en invernadero bajo esta condición.

En algunas especies de cactáceas se han registrado porcentajes altos de germinación cuando se siembran en condiciones *in vitro* (Zamora, 2007; Martínez-Cárdenas *et al.*, 2009). De acuerdo a los resultados obtenidos en *O. matudae* y *O. oligacantha* estos son contrarios a lo reportado por Gómez *et al.* (2006) quienes observaron que el porcentaje de germinación de *Myrtillocactus geometrizans* no difirió entre la germinación *in vitro* con medio MS y en sustrato compuesto de tezontle fino, gravilla y tierra negra (2:2:1), obteniendo porcentajes similares de germinación (87%) en ambas condiciones. Sin embargo coincide con lo reportado por Yáñez (2011) quien reportó para *Mammillaria bombycina* mayores porcentajes de germinación en medio MS al 50% (92.13%) en comparación con la siembra realizada en sustrato tierra-tepojal (1:1) con 38%. Así como Mendoza (2007) quien reportó un mayor porcentaje de germinación en *Astrophytum ornatum* en medio MS al 50% (82.2%) que en agua con agar (75.5%). El efecto favorable de este tipo de siembra observado en *O. matudae* y *O. oligacantha* puede ser atribuido a las condiciones que se generan ya que en condiciones *in vitro* hay disponibilidad suficiente de agua en el medio de cultivo, hay una alta concentración de humedad relativa, además de que existen condiciones de temperatura controladas (Zamora 2007; Yáñez, 2011). En este aspecto uno de los elementos más importantes en la germinación es la temperatura ya que su efecto se expresa en la capacidad germinativa o en la velocidad de germinación (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). En este sentido la temperatura registrada en el cuarto de incubación fue constante ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) y que de acuerdo con Nobel (1988) es la temperatura óptima de germinación para cactáceas. Por lo que posiblemente este elemento esté relacionado con el incremento en los porcentajes de germinación de estas especies en este tipo de siembra, ya que se ha observado que las temperaturas constantes favorecen la germinación en algunas especies en comparación con temperaturas fluctuantes (Rojas-Aréchiga *et al.*, 2008). Olvera-Carrillo *et al.* (2003) obtuvo para *O. tomentosa* una mayor germinación bajo temperaturas constantes que alternantes. Sin embargo en condiciones de invernadero a diferencia de lo observado en *in vitro*, para las cuatro



especies se registró germinación en las semillas testigo y con el tratamiento de escarificación química aunque estos porcentajes fueron muy bajos. Lo cual posiblemente también esté relacionado con el efecto de la temperatura ya que en el invernadero las semillas estuvieron expuestas a fluctuaciones de temperatura a lo largo del día registrándose en promedio temperaturas mínimas de 8°C y máximas de 39°C y que pudieron haber influido para fracturar las duras cubiertas seminales de las semillas, ya que la temperatura puede influir para fracturar semillas con testas duras (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006).

De manera general la siembra *in vitro* favoreció el incremento en la germinación en *O. matudae* y *O. oligacantha*, sin embargo para *Opuntia* sp. y *O. leiascheinvariana* no se observó un incremento en los porcentajes de germinación cuando se sembraron en esta condición lo cual posiblemente se debió al nivel de contaminación que se presentó, o bien por presentar un mayor nivel de inmadurez. Sin embargo al final del experimento se observó que las plántulas de todas las especies sembradas *in vitro* presentaron una mayor altura, un mayor grosor de los tallos y un mejor desarrollo de la raíz (obs. personal) en comparación con las obtenidas en invernadero, lo cual posiblemente se debió a una mayor disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo y que puede ser un factor importante para la obtención de plántulas vigorosas, sin embargo como se mencionó anteriormente uno de los factores limitantes fue la contaminación debido posiblemente a errores en la manipulación del material vegetal o por requerir mayores tiempos de desinfección, por lo que se sugiere incluir el empleo de fungicidas o bactericidas en el medio de cultivo a fin de garantizar un menor nivel de contaminación.

9.3 Tiempo de latencia y velocidad de germinación

Las semillas que no se sometieron a los tratamientos pregerminativos en las cuatro especies, presentaron tiempos largos después de la siembra para que comenzaran a germinar y que es contrario a lo reportado para otras especies de cactáceas que germinan a los pocos días después de la siembra sin ningún tratamiento (Flores-Martínez *et al.*, 2008; Pascacio-Villafán y Ortega, 2009). En estos casos en condiciones naturales es evidente el mecanismo de una rápida germinación en cuanto se presentan



condiciones adecuadas de humedad y temperatura. En *Opuntia* el largo tiempo requerido para el comienzo de la germinación indica que las duras cubiertas seminales son un factor limitante para su imbibición. En condiciones naturales este mecanismo de latencia puede ser una ventaja ya que puede prevenir a las semillas de responder a lluvias intermitentes que no proporcionen suficiente humedad para el establecimiento y crecimiento de las plántulas (Rojas-Aréchiga, 1995), de manera que la germinación se lleve a cabo después del desgaste de la cubierta seminal y de una disponibilidad apropiada de agua.

En general la escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para reducir significativamente los tiempos de latencia para las cuatro especies y con el tratamiento de escarificación química se observó que aunque éste no influyó para incrementar los porcentajes de germinación, si redujo los tiempos de latencia en comparación con el testigo y aunque este tratamiento solo fue significativo en *O. matudae*, *O. oligacantha* y *O. leiascheinvariana* en *Opuntia* sp también se observó el efecto favorable de este tratamiento. En cuanto a la velocidad de germinación de manera general en las cuatro especies, la escarificación mecánica fue el mejor tratamiento para incrementarla significativamente. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ochoa (1992) quien observó en *O. joconostle* una reducción en el inicio de la germinación después de escarificar mecánicamente las semillas (5 días) en comparación con el testigo (21 días), obteniendo igualmente un incremento en la velocidad de germinación en semillas escarificadas (1.50) que en el testigo (0.2). Así como Rosas (2011) quien observó una reducción en el número de días para el comienzo de la germinación en *O. tomentosa* después de remover la valva (región cerca del micrópilo).

En cuanto a las diferencias observadas en el tipo de siembra (invernadero e *in vitro*) con la variable tiempo de latencia los resultados fueron contradictorios ya que para *O. oligacantha* (apastillado y borrego) y para *Opuntia* sp no se encontraron diferencias significativas en el tipo de siembra, sin embargo se observó en estas especies un mayor tiempo de latencia en *in vitro* que en invernadero y que coincide con Rosas-López y Collazo-Ortega (2004) quienes en *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus* obtuvieron un retraso en la germinación en medio MS al 50 y 100% que en agua con agar. Lo cual posiblemente este asociado con la presencia de sales en el



medio de cultivo que puede hacer más lenta la imbibición y por ende retardar el proceso germinativo (Mendoza, 2007). Sin embargo para *O. matudae* y *O. leiascheinvariana* se obtuvieron diferencias significativas a favor de la siembra *in vitro* ya que a pesar de que en *O. matudae* (rojo sainero) y (el sitio) igualmente se obtuvieron mayores tiempos de latencia en *in vitro* que en invernadero, para cuaresmeño, cueron y para *O. leiascheinvariana* se obtuvo lo contrario con mayores tiempos de latencia en el invernadero que en *in vitro*, lo cual posiblemente este asociado con un mayor nivel de deshidratación de estas semillas en el invernadero y que requieren de mayor tiempo para el inicio de la germinación. En cuanto a la velocidad en general no se encontraron diferencias significativas en el tipo de siembra (excepto en *O. leiascheinvariana*).

9.4 Localidades de procedencia

En *O. matudae* se obtuvieron diferencias significativas entre localidades de procedencia, tanto en el porcentaje final de germinación, en el tiempo de latencia así como en la velocidad. Se observó que el sitio fue quien presentó la mejor respuesta germinativa en las variables antes mencionadas y cueron la menos favorable. Para las dos localidades de *O. oligacantha* también se observaron diferencias en estas variables, aunque estadísticamente no fueron significativas. Así mismo entre las cuatro especies estudiadas los resultados obtenidos fueron muy variables, lo cual se reflejó en las diferencias observadas en la capacidad germinativa donde el mayor porcentaje de germinación fue del 62% (*O. matudae* “el sitio”) y el menor del 2% (*O. leiascheinvariana*). Estas diferencias pueden ser atribuidas a la variabilidad genética que presentan las especies, así como también podría estar asociado con las condiciones ambientales que predominan en cada localidad, por ejemplo: las variaciones climáticas de temperatura y humedad, las variaciones microclimáticas derivadas de aspectos fisiográficos, la calidad de luz, así como las características específicas del lugar, elementos que tienen gran influencia durante el desarrollo de la semilla por lo que pueden existir variaciones entre cosechas de semillas de una especie, según la época y el lugar de colecta (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).



X. Conclusiones y Recomendaciones

- ❖ Las semillas de las cuatro especies evaluadas de *Opuntia* (*O. matudae*, *O. oligacantha*, *O. leiascheinvariana* y *Opuntia* sp) presentaron latencia innata asociada con la dureza de la cubierta seminal y con una posible inmadurez fisiológica del embrión, cumpliendo así la primer hipótesis planteada.
- ❖ Los porcentajes finales de germinación, tiempo de latencia y velocidad se vieron favorecidos por la aplicación de los tratamientos pregerminativos en las cuatro especies, siendo el más favorable el tratamiento de escarificación mecánica.
- ❖ En *O. matudae* se obtuvieron diferencias significativas entre localidades de procedencia en las tres variables evaluadas, no así para las localidades de *O. oligacantha*, por lo que la segunda hipótesis planteada se cumplió parcialmente.
- ❖ La siembra *in vitro* solo incrementó significativamente el porcentaje final de germinación en *O. matudae*. No así en *O. leiascheinvariana*, *Opuntia* sp y *O. oligacantha*, aunque en esta última también se observó un incremento en esta condición. Por lo que la tercera hipótesis planteada se cumplió parcialmente.
- ❖ La siembra *in vitro* registró diferencias significativas en el tiempo de latencia en *O. matudae* y *O. leiascheinvariana*, obteniéndose menores tiempos que en el invernadero, sin embargo para *O. oligacantha* y *Opuntia* sp. no se registraron diferencias en el tipo de siembra, aunque los tiempos de latencia fueron ligeramente mayores en *in vitro*.
- ❖ La siembra en invernadero e *in vitro* no mostró diferencias significativas en la velocidad de germinación en ninguna de las especies, excepto en *O. leiascheinvariana* en donde fue ligeramente mayor en *in vitro*.
- ❖ Para futuros trabajos experimentales se recomienda evaluar la germinación con semillas de diferentes edades. Trabajar con mayores tiempos de exposición en ácido sulfúrico, así como implementar un protocolo de desinfestación que incluya el empleo de fungicidas y bactericidas.



XI. Bibliografía

- Altare, M., S. Trione., J. C. Guevara y M. Cony. 2006. Simulation and promotion of germination in *Opuntia ficus-indica* seeds. J. PACD. 91-100 pp.
- Álvarez, M. G y C. Montaña. 1997. Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación. Acta Botánica Mexicana. 40: 43-58.
- Anderson, F. 2001. The cactus family. Timber Press Inc. Portland Oregon. U.S.A. 776 pp.
- Arias, S. 1993. Cactáceas: Conservación y diversidad en México. Rev. Soc. Mex. His. Nat. Vol. Esp XLIV. 109-115 pp.
- Arias, S. 1997. Distribución, grupos taxonómicos y formas de vida. Suculentas mexicanas/Cactáceas. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Arias, I y L. Lemus. 1984. Interaction of light, temperature and plant hormones in the germination of seeds of *Melocactus caesius* Went (Cactaceae). Acta Científica Venezolana. 35: 151-155.
- Arreola, H. J. 1997. Formas de vida y características morfológicas. Suculentas mexicanas/Cactáceas. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Azcon-Bieto, J y M. Talón. 1993. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Ed Mac Graw-Hill. España. 419-432 pp.
- Barbera, G. 1999. Historia e importancia económica y agroecológica. En: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (Eds.). Agroecología cultivo y usos del nopal. FAO. Roma. 221 pp.
- Barriga, B. E. 1994. Efecto de la edad de la semilla de xoconostle (*Opuntia joconostle* Weber) forma cuaresmero, sobre la germinación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 59 pp.
- Baskin, J. M. y C. C. Baskin. 1997. Seed and seedling ecology of *Opuntia compressa* in Tennessee cedar glades. Journal of the Tennessee Academy of Science. 52: 118-122.
- Becerra, R. 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. CONABIO. Biodiversitas. 32: 1-5.



- Bewley, J. D y M. Black. 1986. Seeds Physiology of development and germination. Plenum Press. U.S.A. 367 pp.
- Bewley, J. D y M. Black. 1994. Seeds Physiology of development and germination. Plenum. New York.
- Bidwell, R. G. 1979. Fisiología vegetal. Ed AGT. México. 784 pp.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. Vol. 1. UNAM. México. 743 pp.
- Bravo-Hollis, H y L. Scheinvar. 1995. El interesante mundo de las cactáceas. CONACYT. Fondo de Cultura Económica. México D.F. 233 pp.
- Cervantes, M. V. 1986. Aspectos ecofisiológicos de la germinación y de las primeras etapas de crecimiento de algunas especies pioneras de la selva tropical. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México
- Corona, N. V. y V. M. Chávez. 1982. Cultivo de cactáceas en medios asépticos. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 27:17-22.
- Díaz, D. G. M. 2010. Fisiología de las plantas. Grupo Editorial Universitario. 2da ed. 240-245 pp.
- Ezcurra, E. 1997. De árboles leñosos a suculentas espinosas. Suculentas mexicanas/Cactáceas. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Fenner, M. 1985. Seed ecology. Chapman & Hall. Gran Britania. 151 pp.
- Flores, V. E. 1973. Algo sobre morfología y anatomía de semillas de Cactaceae. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. México. 167 pp.
- Flores, C. 2004. Presentación del Congreso. Memoria del X Congreso Nacional y VIII Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal y otras cactáceas de Valor Económico. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. CD.
- Flores-Martínez, A y G. I. Manzanero. 2003. Germinación comparativa de especies del genero *Mammillaria* endémicas de Oaxaca, México. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 48 (2): 36-51.
- Flores-Martínez, A., G. M. Manzanero., M. Rojas-Aréchiga., M. C. Mandujano y J. Golubov. 2008. Importancia de la latencia de las semillas para la conservación de una cactácea endémica de Oaxaca, México. Cactáceas y suculentas mexicanas. 53 (4): 155-122.



- Gallegos-Vázquez, C y C. Mondragón-Jacobo. 2011. Cultivares selectos de tuna, de México al mundo. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SNICS-SAGARPA). Universidad Autónoma Chapingo. México. 159 pp.
- García, F. J., J. Rosello y M. P. Santamarina. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Universidad Politécnica de Valencia. Ed. UPV. 179 pp.
- Gibson, A y P. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts. 286 pp.
- Godínez, H. 1991. Propagación de cactáceas por semilla: una experiencia para su cultivo y conservación. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 27 pp.
- Gómez, J. J., J. E. Morales., J. A. Lechuga y C. Sosa. 2006. Reproducción *in vitro* del garambullo *Myrtillocactus geometrizans* (Martius) Console. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 51 (2): 26-45.
- González-Zertuche, L. y A. Orozco-Segovia. 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. Bol. Soc. Bot. México. 58:15-30.
- Guedes, R.S., A. E. Ursulino., G. E. Pereira., V. J. Silva y M. M. Faria. 2009. Germinacao e vigor de sementes de *Opuntia ficus-indica* Mill, apos tratamientos para superar a dormencia. Caatinga. Brasil. 22 (4): 20-26 pp.
- Guzmán, C. L. 1997. Grupos taxonómicos. Suculentas mexicanas/Cactáceas. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de Cactáceas Mexicanas. UNAM. CONABIO. 315 pp.
- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1995. Propagación de plantas, principios y prácticas. Ed Continental S.A. México. 760 pp.
- Hernández-Aguilar, 2007. Germinación de cinco poblaciones de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 78 pp.
- Hernández, H. 2006. La vida en los desiertos mexicanos. Fondo de Cultura Económica. México. 188 pp.



- Hernández, H. M. y H. Godínez. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana*. 26:33-52.
- Hernández-Aguilar, A. y M. Collazo-Ortega. 2007. Respuesta germinativa a la luz y temperatura de plantas de *Astrophytum myriostigma* Lemaire (Cactaceae) mantenidas en invernadero. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 52 (4): 109-121.
- Jurado, E y J. Flores. 2005. Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits?. *Journal of Vegetation Science*. 16: 559-564 pp.
- Koller, D. 1969. The physiology of dormancy and survival of plants in desert environments. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 23: 449-469.
- León de la luz, J. L y R. Domínguez-Cadena. 1991. Evaluación de la reproducción por semilla de la pitaya agria *Stenocereus gummosus* en Baja California Sur, México. *Acta Botánica Mexicana*. 14:75-87.
- León de la Luz, J y Valiente-Banuet. 1994. Las cactáceas: un recurso natural, diverso y predominantemente mexicano. *Ciencia y Desarrollo*. 20 (117): 58-65.
- Luna, C. L. A. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de *Agave salmiana* (Agavaceae) y *Opuntia streptacantha* (Cactaceae) en condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. 84 pp
- Magaña, P y J. L. Villaseñor. 2002. La flora de México ¿Se podrá conocer completamente?. *Ciencias* 66. 24-26 pp.
- Mandujano, M.C., J. Golubov y C. Montaña. 1997. Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* seeds in the southern Chihuahuan desert. *Journal of Arid Environments*. 36:259-266 pp.
- Mandujano, M., J. Golubov y J. Reyes. 2002. Lo que usted siempre quiso saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *Biodiversitas* 40:4-7 pp.
- Mandujano, M.C., C. Montaña y M. Rojas-Aréchiga. 2005. Breakings seed dormancy in *Opuntia rastrera* from the Chihuahua desert. *Journal of Arid Environments*. 62. 15-21.
- Martínez-Cárdenas, M. L., M. C. Cabrera-Jiménez., A. Carmona y G. J. Varela-Hernández. 2006. Promoción de la germinación de semillas de *Stenocereus*



- griseus* (Haworth) Buxbaum y *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 51 (4): 111-121.
- Martínez-Cárdenas, M. L., R. Vicente., A. Martínez., G. J. Varela., M. L. Yáñez y A. Armelia. 2009. Germinación, cultivo *in vitro* y regeneración de la pitaya de mayo. En: Yáñez, M. L., M. A. Armella., R. Soriano., D. M. Sánchez-Díaz (Eds). Estudios de tres cactáceas de la Mixteca baja. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 55-62 pp.
- Méndez-Gallegos, S. J. y J. García-Herrera. 2006. La tuna: Producción y diversidad. CONABIO. Biodiversitas 68:1-5 pp.
- Mendoza, M. G. 2007. Propagación *in vitro* de *Astrophytum ornatum* (De Candolle) Weber (Cactaceae), especie amenazada de extinción. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto Hidalgo. 87 pp.
- Meyer, B. S., D. B. Anderson y R. H. Bohning. 1976. Introducción a la fisiología vegetal. Ed Universitaria de Buenos Aires. Argentina. 579 pp.
- Mondragón-Jacobo. y E. Pimienta-Barrios. 1999. Propagación. En: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (Eds.). Agroecología cultivos y usos del nopal. FAO. Roma. 68-72 pp.
- Moreno, N., J. J. López y L. Arce. 1992. Aspectos sobre las semillas y su germinación de *Echinomastus mariposensis* Hester. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 37: 21-27.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plant. 15: 473-497.
- Navarro, M. C. y A. P. Deméneghi. 2007. Germinación de semillas y efecto de las hormonas en el crecimiento de *Mammillaria pectinifera*. Zonas Áridas. 11(1): 233-239.
- Navarro, M. C y M. S. Juárez. 2006. Evaluación de algunos parámetros demográficos de *Mammillaria zephyranthoides* en Cuautinchán, Puebla, México. Zonas Áridas. N 10. 74-83 pp.
- Navarro, C. M. C., G. Cervantes y J. O. Lázaro. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. Zonas Áridas 12(1). 97-105 pp.



- Nobel, P. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press. Nueva York. 270 pp.
- Ochoa, E. F. 1992. Efecto de diferentes tratamientos pregerminativos en semillas de *Opuntia joconostle* weber, forma cuaresmero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 64 pp.
- Olalde, G. 2001. La familia de las cactáceas. Gaceta de Coapa. UNAM. Julio-Agosto: 6.
- Olvera-Carrillo, Y. 2001. Estudio ecofisiológico de la germinación, sobrevivencia y crecimiento de *Opuntia tormentosa* S.D en la reserva del pedregal de san ángel. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 93 pp.
- Olvera-Carrillo, Y., J. Márquez-Guzmán., V. L. Barradas., M. E. Sánchez-Coronado y A. Orozco-Segovia. 2003. Germination of the hard seed coated *Opuntia tormentosa* S.D, a cacti from the Mexico valley. Journal of Arid Environments. 55:29-42 pp.
- Osuna, F. R., G. Laguna., A. Brechú y A. Orozco-Segovia. 1997. Germinación de *Chiranthodendron pentadactylon* Larr (Sterculiaceae), en respuesta a la escarificación, temperatura y luz. Bol. Soc. Bot. México. 60:5-14 pp.
- Pascacio-Villafán, C y O. R. Ortega. 2009. Influencia de la edad de la semilla y la oscuridad en la germinación de *Melocactus curvispinus* Pfeiff subsp *curvispinus*. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 54 (1): 18-27.
- Pérez-García, F. y J. B. Martínez-Laborde. 1994. Introducción a la fisiología vegetal. Ed Mundi-Prensa. Madrid. 218 pp.
- Pimienta, B. E. 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jalisco. 246 pp.
- Pimienta, E. 1997. El nopal en México y el mundo. Suculentas mexicanas/Cactáceas. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Pimienta-Barrios, E., A. Muñoz., B. C. Ramírez y L. Méndez. 2006. Desarrollo vegetal. Universidad de Guadalajara. México. 329 pp.
- Potter, R. L., J. L. Petersen y D. N. Ueckert. 1984. Germination responses of *Opuntia* spp to temperature, scarification and other seed treatments. Weed Science, 32: 106-110.



- Rojas-Aréchiga, M. 1995. Estudios sobre la germinación de cactáceas del Valle de Zapotitlán de las salinas Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). UNAM. México. 125 pp.
- Rojas-Aréchiga, M., A. Orozco-Segovia y C. Vázquez-Yanes. 1997. Effect of light on germination of seven species of cactus from the Zapotitlán Valley in Puebla, Mexico. *Journal of Arid Environments* 36:571-578.
- Rojas-Aréchiga, M. y C. Vázquez-Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*. 44: 85-104.
- Rojas-Aréchiga, M y A. Batis. 2001. Las semillas de cactáceas ¿forman bancos en el suelo?. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 46(4): 76-82 pp.
- Rojas-Aréchiga, M., J. Golubov., O. Romero y M. C. Mandujano. 2008. Efecto de la luz y la temperatura en la germinación de dos especies de cactáceas en CITES I. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 53 (2): 51-57.
- Rosas-López, U y M. Collazo-Ortega. 2004. Conditions for the germination and early growth of seedlings of *Polaskia chichipe* (Goss) Backeberg and *Echinocactus platyacanthus* Link and Otto fa. Grandis (Rose) Bravo-Hollis (Cactaceae). *Phyton*. 213-220 pp.
- Rosas, M. J. 2011. Morfología y germinación de las semillas de *Opuntia tormentosa* Salm-Dyck (Cactaceae), sometidas a enterramiento en dos sitios contrastantes del Pedregal de San Ángel, D.F. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 51 pp.
- Ruedas, M., T. Valverde y S. C. Arguero. 2000. Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Bol. Soc. Bot. México* 66:25-35.
- Rzedowski, J. 1983. Vegetación de México. Ed Limusa. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto politécnico Nacional. México. 433 pp.
- Sáenz, C. 2006. Producción industrial de productos no alimentarios. En: Sáenz, C., H, Berger., Cuevas, R. y Arias, J. (coeditores). Utilización agroindustrial del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 165 pp.



- Sánchez-Venegas, G. 1997. Germinación viabilidad y características distintivas de la semilla de *Opuntia joconostle* Weber, forma cuaresmero. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 42: 16-21.
- Scheinvar, L. 1999. Taxonomía de las Opuntias utilizadas. En: Barbera, G., P. Inglese., Pimienta-Barrios, E. (Eds.). Agroecología cultivos y usos del nopal. FAO. Roma. 221 pp.
- Scheinvar, L., S. Filardo., G. Olalde y P. Zabaleta. 2009. Diez especies mexicanas productoras de xoconostles: *Opuntia* spp. y *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae). UNAM. 179 pp.
- Serna, L. 2012. Germinación y propagación vegetativa de *Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) Console (Cactaceae) en San Rafael Coxcatlán, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología ambiental). Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 56 pp.
- Valiente-Banuet, A. y E. Ezcurra. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Ecology* 79: 961-971.
- Valiente-Banuet, A. y M. Arizmendi. 1997. Interacción entre cactáceas y animales: polinización, dispersión de semillas y nuevos individuos. *Suculentas mexicanas/Cactáceas*. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.
- Varnero, M. T. y V. García. 2006. Producción de bioenergía y fertilizantes a partir de nopal. En: Sáenz, C., H, Berger., Cuevas, R. y Arias, J. (coeditores). Utilización agroindustrial del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 165 pp.
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1984. Ecophysiology of seed germination in the tropical humid forest of the world: a review. En: E. Medina, H.A. Mooney y C. Vázquez-Yanes (Eds). *Physiological Ecology of plants of the Wet Tropics*. Dr. W. Junk Publishers. Holanda. 37-50 pp.
- Vázquez-Yanes, C. 1997. Extraordinarias administradoras de agua. *Suculentas mexicanas/Cactáceas*. CVS Publicaciones. CONABIO. 143 pp.



- Vázquez-Yanes, C., A. Orozco-Segovia., M. Rojas-Aréchiga., M. E. Sánchez y V. Cervantes. 1997. La reproducción de las plantas: Semillas y meristemas. SEP. Fondo de Cultura Económica. CONACYT. México D.F. 167 pp.
- Vega-Villasante, F., H. Nolasco., C. Montaña., H. Romero-Schmidt y E. Vega-Villasante. 1996. Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* “cardón barbón” (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 41:51-61.
- Yáñez, M. M. 2011. Regeneración *in vitro* de *Mammillaria bombycina* Quehl (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 86 pp.
- Zamora, M. H. 2007. Micropropagación de *Thelocactus bicolor* (Galeotti ex Pfeiff) Britton y Rose (Cactaceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. 45 pp.



XII. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de composición del medio de cultivo Murashige y Skoog (1962).

COMPONENTES	MS 100% (g/l)	MS 50% (g/l)
MACRONUTRIENTES		
KNO ₃	1.90	0.950
(NH ₄) NO ₃	1.65	0.825
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.37	0.185
KH ₂ PO ₄	0.17	0.085
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0.44	0.220
MICRONUTRIENTES		
H ₃ BO ₃	0.0062	0.0031
MnSO ₄ . H ₂ O	0.01689	0.00844
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.0086	0.0043
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0.00025	0.000125
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.000025	0.0000125
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.000025	0.0000125
KI	0.00083	
FIERRO		
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.0373	0.0186
Na ₂ EDTA	0.0278	0.0139
VITAMINAS		
Piridoxina-HCL	0.0005	0.00025
Tiamina-HCL	0.0001	0.00005
Ac. Nicotínico	0.0005	0.00025
INOSITOL	0.10	0.05
GLICINA	0.002	0.001
SACAROSA	30	30
AGAR	9	9



Anexo 2. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el porcentaje final de germinación en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cueron. En rojo se resaltan los resultados significativos.

Tukey HSD test; variable Porcentaje (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 40.443, df = 24.000					
Cell No.	Localidad	{1}	{2}	{3}	{4}
		18.808	17.615	26.698	9.8635
1	1		0.978238	0.065385	0.030700
2	2	0.978238		0.027701	0.071897
3	3	0.065385	0.027701		0.000207
4	4	0.030700	0.071897	0.000207	

Anexo 3. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el porcentaje final de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. matudae*. Tratamiento 1: testigo, 2 escarificación mecánica, 3 escarificación química.

Tukey HSD test; variable Porcentaje (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 40.443, df = 24.000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
		10.497	29.460	14.781
1	1		0.000129	0.244932
2	2	0.000129		0.000146
3	3	0.244932	0.000146	

Anexo 4. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la comparación invernadero-*in vitro* sobre el porcentaje final de germinación en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cueron.

Tukey HSD test; variable Porcentaje (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 96.893, df = 16.000					
Cell No.	Localidad	{1}	{2}	{3}	{4}
		40.951	38.220	45.605	26.271
1	1		0.962365	0.844775	0.084381
2	2	0.962365		0.576413	0.194378
3	3	0.844775	0.576413		0.017315
4	4	0.084381	0.194378	0.017315	



Anexo 5. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el porcentaje final de germinación sobre el tipo de siembra, en la comparación invernadero-*in vitro* en *O. matudae*. Siembra 1: invernadero, 2: *in vitro*.

Tukey HSD test; variable Porcentaje (Spreadsheet) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 96.893, df = 16.000			
Cell No.	Siembra	{1}	{2}
		29.460	46.064
1	1		0.000911
2	2	0.000911	

Anexo 6. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el porcentaje final de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *Opuntia* sp. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Porcentaje (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 15.343, df = 6.0000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
		25.620	29.411	14.956
1	1		0.503126	0.036297
2	2	0.503126		0.009705
3	3	0.036297	0.009705	

Anexo 7. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cuerón.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 77.750, df = 24.000					
Cell No.	Localidad	{1}	{2}	{3}	{4}
		54.556	48.111	34.000	53.444
1	1		0.424747	0.000408	0.993211
2	2	0.424747		0.012020	0.582186
3	3	0.000408	0.012020		0.000648
4	4	0.993211	0.582186	0.000648	



Anexo 8. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. matudae*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 77.750, df = 24.000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
		68.583	21.583	52.417
1	1		0.000129	0.000544
2	2	0.000129		0.000129
3	3	0.000544	0.000129	

Anexo 9. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la comparación invernadero-*in vitro* sobre el tiempo de latencia en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cuerón.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 37.875, df = 16.000					
Cell No.	Localidad	{1}	{2}	{3}	{4}
		10.333	19.500	6.1667	37.833
1	1		0.084889	0.651926	0.000187
2	2	0.084889		0.008588	0.000649
3	3	0.651926	0.008588		0.000186
4	4	0.000187	0.000649	0.000186	

Anexo 10. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia sobre el tipo de siembra en la comparación invernadero-*in vitro* en *O. matudae*. Siembra 1: invernadero, 2: *in vitro*.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 37.875, df = 16.000			
Cell No.	Siembra	{1}	{2}
		21.583	15.333
1	1		0.024408
2	2	0.024408	



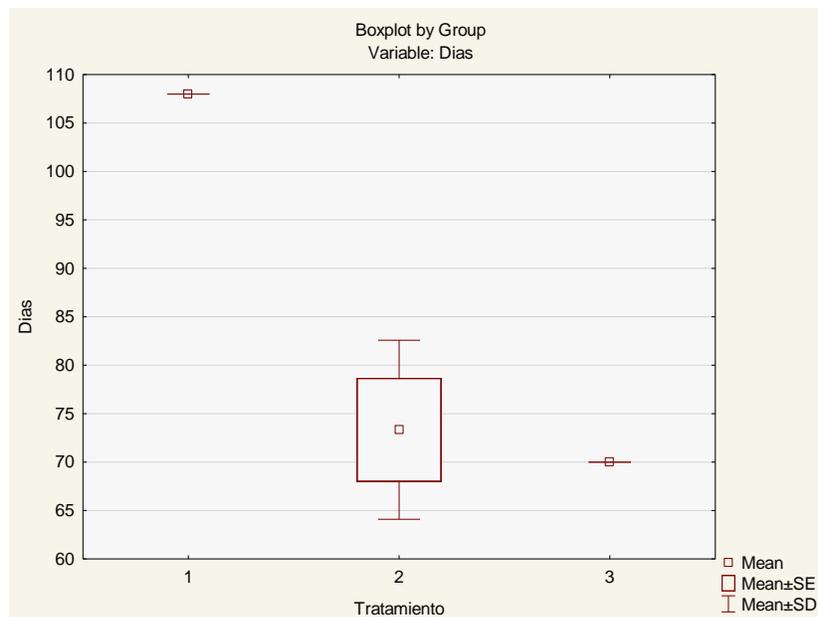
Anexo 11. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia en dos localidades de procedencia de *O. oligacantha*. Localidad 1: apastillado y 2: borrego.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 29.444, df = 12.000			
Cell No.	Localidad	{1}	{2}
1	1	49.778	42.111
2	2	0.011292	0.011292

Anexo 12. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. oligacantha*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 29.444, df = 12.000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
1	1	76.000	9.3333	52.500
2	2	0.000190	0.000190	0.000201
3	3	0.000201	0.000190	0.000190

Anexo 13. Diagrama de cajas para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. leiascheinvariana*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.





Anexo 14. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia sobre el tipo de siembra, en la comparación invernadero-*in vitro* en *O. leiascheinvariana*. Siembra 1: invernadero y 2: *in vitro*.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 80.167, df = 4.0000			
Cell No.	Siembra	{1} 73.333	{2} 46.000
1	1		0.020310
2	2	0.020310	

Anexo 15. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en el tiempo de latencia con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *Opuntia* sp. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Dias (Spreadsheet) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 100.56, df = 6.0000				
Cell No.	Tratamiento	{1} 74.000	{2} 17.333	{3} 61.333
1	1		0.001283	0.336519
2	2	0.001283		0.004258
3	3	0.336519	0.004258	

Anexo 16. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cueron.

Tukey HSD test; variable velocidad (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00286, df = 24.000					
Cell No.	localidad	{1} 1.1080	{2} 1.1210	{3} 1.2240	{4} 1.1492
1	1		0.954122	0.000753	0.378852
2	2	0.954122		0.002367	0.682534
3	3	0.000753	0.002367		0.031939
4	4	0.378852	0.682534	0.031939	



Anexo 17. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. matudae*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Velocidad (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00286, df = 24.000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
		1.0585	1.2749	1.1184
1	1		0.000129	0.029622
2	2	0.000129		0.000129
3	3	0.029622	0.000129	

Anexo 18. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la comparación invernadero-*in vitro* sobre la velocidad de germinación en cuatro localidades de procedencia de *O. matudae*. Localidad 1: rojo sainero, 2: cuaresmeño, 3: el sitio y 4: cueron.

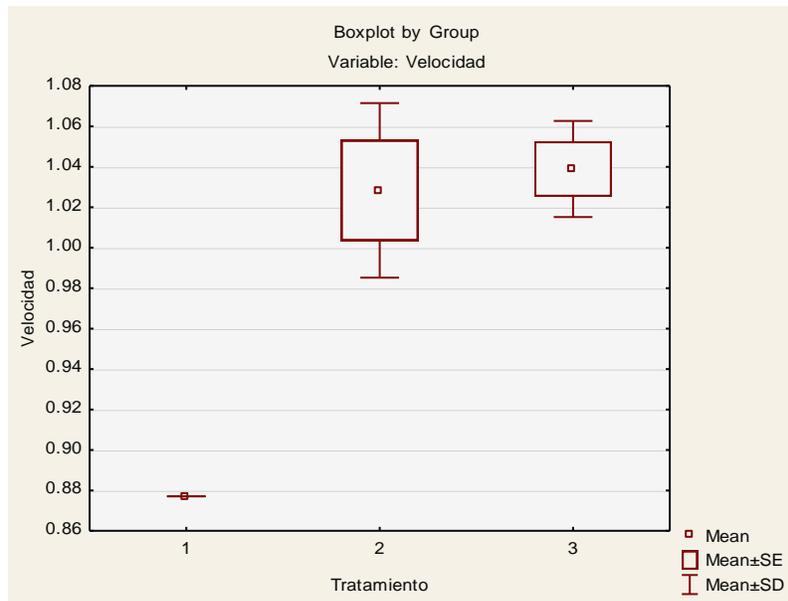
Tukey HSD test; variable velocidad (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00453, df = 16.000					
Cell No.	localidad	{1}	{2}	{3}	{4}
		1.3440	1.2423	1.4031	1.2171
1	1		0.078918	0.448959	0.022586
2	2	0.078918		0.003966	0.914369
3	3	0.448959	0.003966		0.001173
4	4	0.022586	0.914369	0.001173	

Anexo 19. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. oligacantha*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable Velocidad (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00541, df = 12.000				
Cell No.	Tratamiento	{1}	{2}	{3}
		1.0199	1.4435	1.1216
1	1		0.000190	0.080475
2	2	0.000190		0.000200
3	3	0.080475	0.000200	



Anexo 20. Diagrama de cajas para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *O. leiascheinvariana*. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.



Anexo 21. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación sobre el tipo de siembra, en la comparación invernadero-*in vitro* en *O. leiascheinvariana*. Siembra 1: invernadero y 2: *in vitro*.

Tukey HSD test; variable velocidad (Spreadsheet Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00280, df = 4.0000)			
Cell No.	siembra	{1}	{2}
1	1	1.0283	0.014630
2	2	0.014630	1.2069

Anexo 22. Análisis de Tukey para ubicar las diferencias significativas en la velocidad de germinación con el empleo de tres tratamientos pregerminativos en *Opuntia* sp. Tratamiento 1: testigo, 2: escarificación mecánica y 3: escarificación química.

Tukey HSD test; variable velocidad (Spreadsheet Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .00383, df = 6.0000)				
Cell No.	tratamiento	{1}	{2}	{3}
1	1	.99850	0.007744	0.204170
2	2	0.007744	1.2382	0.071150
3	3	0.204170	0.071150	1.0974