

Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2016, 33: 193-215

Tratamientos pregerminativos de semillas y emergencia de las plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem.

Pregerminative seed treatments and seedlings emergence of *Opuntia streptacantha* Lem.

Tratamentos pré-germinativos das sementes na emergência de plântulas de *Opuntia streptacantha* Lem.

Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta¹, Ernesto Suárez-Calleja¹, Josleny Tusent-Pérez², Carlos Labarca Sánchez³, Victor Baruch Arroyo Peña⁴, Ciolys Beatriz Colmenares de Ortega³ y Cecilia Beatriz Peña-Valdivia⁵

^{1,3}Departamentos de Botánica y Estadística, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ). Maracaibo, Venezuela. ²Ingenieros Agrónomos, Facultad de Agronomía, LUZ. Maracaibo, Venezuela. ⁴The University of Kansas, Department of Ecology and Evolutionary Biology, Lawrence, Kansas 66045. ⁵Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 35,5, Montecillo, 56230. México.

Resumen

Las semillas de *Opuntia* tienen latencia fisiológica, rompen la latencia después de un periodo de postmaduración, y sus embriones tienen potencial bajo de germinación. Los estudios morfofisiológicos y bioquímicos de las plántulas de *Opuntia* y su comparación entre especies están limitados por la falta de metodología para germinar las semillas y obtener las plántulas. El objetivo del estudio fue evaluar tratamientos pregerminativos de las semillas en la emergencia y crecimiento de plántulas de *O. streptacantha* Lem. El diseño experimental fue totalmente al azar, con tres repeticiones, la emergencia de las plántulas se cuantificó cada 3 d durante 40 d después de la siembra (DDS) en sustrato de viruta de coco y humus de lombriz (1:1). Los tratamientos fueron: testigo, inmersión en agua caliente (98°C; 5 min)/enfriamiento a 20°C, remojado en agua a 20°C/24 h y remojado en ácido acético al 5% (30 min). La unidad experimental fue un grupo de 50 semillas. El tiempo para la emergencia, número de plántulas emergidas, número de raíces por plántula y dimensiones de las plántulas fueron evaluados. El tratamiento con agua caliente inhibió la emergencia de plántulas. Las plántulas

Recibido el 18-10-2015 • Aceptado el 07-06-2016

Autor de correspondencia e-mail: cecilia@colpos.mx; cecibetipv@gmail.com

del testigo iniciaron la emergencia 7 DDS y los otros dos tratamientos la retardaron 3 y 4 d. La emergencia máxima de plántulas fue 48%, tomó entre 22 y 31 d ($P>0,05$) y el número de raíces por plántula no difirió entre los tratamientos. Las plántulas del testigo (17,5 cm) fueron 21% más altas y su raíz e hipocótilo alcanzaron longitud 20 y 23% mayor que los otros dos tratamientos. Los tratamientos utilizados para estimular la germinación de las semillas de *O. streptacantha* son ineficientes para incrementar la emergencia y crecimiento de las plántulas. La emergencia de las plántulas de esta especie parece estar relacionada con las temperaturas diurnas y nocturnas relativamente altas (33,6 y 27,1°C) durante su emergencia.

Palabras clave: crecimiento, enraizamiento, *Opuntia* spp., plántula, propagación sexual.

Abstract

Seeds of *Opuntia* have physiological dormancy, needing an after-ripening period to break dormancy and embryos with low germination potential. Morphophysiological and biochemical studies of *Opuntia* seedlings and the comparison between species are limited by the lack of methodology to the seed germination and to obtain seedlings. The objective of the study was to evaluate pregerminative treatments of seeds in the emergence and growth seedlings of *O. streptacantha* Lem. A completely randomized design was used with three replications, the seedling emergency was evaluated every 3 d for 40 d after sowing (DAS) in substrate of coconut shaving and vermicompost (1:1). The treatments were: control, seed immersion in hot water (98°C; 5 min)/cooling at 20°C, soaked in water at 20°C/24 h and seeds soaked for 30 min in 5% acetic acid. The experimental unit was a group of 50 seeds per treatment and per replication. The time for seedlings emergency, number of emerged seedlings, number of roots per seedling and seedlings dimensions were evaluated. The treatment of hot water totally inhibited the emergence of seedlings. Seedling emergency of control began 7 DAS and the other treatments retarded it 3-4 d. Maximum seedling emergence amounted 48% and took between 22 and 31 d ($P>0.05$) and the number of roots per seedling was not different among treatments. The seedlings obtained from the control (17.5 cm) were 21% taller and its root and hypocotyl reached 20 and 23% greater length than the other two treatments. The treatments to stimulate seed germination of *O. streptacantha* were inefficient to increase the emergence and growth of the seedlings. The seedlings emergency of this species appeared to be related with relatively high daytime and night-time temperatures (33.6 and 27.1°C) during the emergency.

Key words: growth, *Opuntia* spp., rooting, sexual and asexual propagation, substrate.

Resumo

As sementes de *Opuntia* tem latência fisiológica e quebram a latência depois de um período de post-maturação, os seus embriões tem potencial baixo de germinação. Os estudos morfofisiológicos e bioquímicos das plântulas *Opuntia* e sua comparação entre as espécies esta limitada por a falta de metodologia para germinar as sementes e obter as plântulas. O objetivo do estudo foi avaliar tratamentos pré-germinativos das sementes na emergência e crescimento de plântulas *O. Streptacantha* Lem. O desenho experimental foi completamente ao acaso, com três repetições, a emergência das plântulas quantificou-se cada três dias durante 40 dias depois da sementeira (DDS) em substrato de lasca de coco e húmus de minhoca (1:1). Os tratamentos foram: testemunha, imersão em água quente (98°C; 5 min)/esfriamento a 20°C, remolhado em água a 20°C/24 h e remolhado em ácido acético ao 5% (30 min). A unidade experimental foi um grupo de 50 sementes. O tempo para a emergência, número de plântulas emergidas, número de raízes por plântula e dimensões foram avaliados. O tratamento com água quente inibiu a emergência de plântulas. As plântulas da testemunha começaram a emergência 7 DDS e os outros dois tratamentos demoraram-lhe 3 e 4 dias. A emergência máxima de plântulas foi 48%, precisou entre 22 e 31 dias ($P>0,05$) e o número de raízes por plântula não diferiu entre os tratamentos. As plântulas da testemunha (17,5 cm) foram 21% mais altas e a sua raiz e hipocotilo alcançaram uma longitude 20 e 23% maior que os outros dois tratamentos. Os tratamentos utilizados para estimular a germinação das sementes de *O. streptacantha* são ineficientes para incrementar a emergência e crescimento das plântulas. A emergência das plântulas desta espécie aparentemente esta relacionada com as temperaturas diurnas e noturnas relativamente altas (33,6 y 27,1°C) durante a sua emergência.

Palavras chave: crescimento, enraizamento, *Opuntia* spp., plântula, propagação sexual.

Introducción

Nopal es el nombre común que reciben las plantas de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* de la familia Cactaceae, ésta es originaria de América (Bravo, 1978). México se caracteriza por la riqueza extraordinaria de especies de *Opuntia* y las evidencias indican que los humanos han utilizado un número indeterminado de ellas desde hace 9000 años (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2006; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Aunque numerosas varian-

Introduction

Nopal is the common name for plants of the *Opuntia* and *Nopalea* genus, Cactaceae family, and it is originally from America (Bravo, 1978). Mexico characterizes by the extraordinary richness of the *Opuntia* species and the evidences indicate that humans have used an undetermined number of this species since 9000 years ago (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2006; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Even though several wild and domesticated

tes silvestres y domesticadas se han preservado en nopaleras silvestres, huertos familiares (cultivos de traspatio) y plantaciones comerciales y experimentales, la erosión del acervo natural es continua y acelerada por la destrucción y abandono de las nopaleras y los huertos familiares (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2006; Reyes-Agüero y Aguirre, 2011).

Actualmente las plantas de *Opuntia* son parte del paisaje natural y de los sistemas agrícolas de diferentes regiones del mundo y alimento de numerosos herbívoros. Esas plantas abundan en zonas templadas y semiáridas con condiciones secas, lluvias erráticas y suelos pobres expuestos a la erosión; por lo que los nopales pueden representar cosechas vitales para humanos y animales en casos de sequía extrema (Sáenz *et al.*, 2006; Peña-Valdivia *et al.*, 2012). Existen, especies de *Opuntia* que son consideradas como plantas naturalizadas en Australia, Italia y Sudáfrica, donde las condiciones ambientales son particularmente favorables para su desarrollo. Asimismo, las plantaciones de las especies de *Opuntia* se han incrementado, en África, América, Asia y Europa, principalmente para la producción de fruta, forraje, cladodios tiernos (nopalitos), y colorante grana de cochinilla (*Dactylopius coccus*); pero, también se aprovechan los cladodios o artículos maduros y las flores (Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006). La presencia de compuestos biológicamente activos son numerosos (sustancias nutritivas y con propiedades multifuncionales) en toda la planta, por ello son alimento para promover la salud (Peña-Valdivia *et al.*,

variants have been preserved in wild cacti communities, family orchards (backyard crops) and commercial and experimental plantations, the erosion of the natural reservoir is continuous and fast due to the destruction and abandon of the cacti communities and family orchards (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2006; Reyes-Agüero and Aguirre, 2011).

Currently, *Opuntia* plants are part of the natural landscape and the agricultural systems of different regions of the world, and are food for different herbivorous. Those plants are abundant in template and semi-arid areas with dry conditions, erratic raining and poor soils exposed to erosion; thus, the cacti communities might represent vital crops for humans and animals in cases of extreme drought (Sáenz *et al.*, 2006; Peña-Valdivia *et al.*, 2012). There are *Opuntia* species considered as naturalized in Australia, Italy and South Africa where the environmental conditions are particularly favorable for their development. Likewise, the plantations of *Opuntia* species have increased in Africa, America, Asia and Europe, mainly for the production of fruit, forage, tender cladode (small *Opuntia*) and cochineal red coloring (*Dactylopius coccus*); but cladodes or ripened parts and flowers are also used (Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006). There are a lot of biologically active compounds (nutritional substances with multi-functional properties) in all the plant; thus, it is a food for promoting the health (Peña-Valdivia *et al.*, 2012; Patel, 2013). Additionally, *Opuntia* plants are used as forage, alive fences, ornamental

2012; Patel, 2013). Además, las plantas de *Opuntia* se usan como forraje, cerco vivo, ornato, combustible, control de la desertificación, en la medicina tradicional, fuente de materias primas para la industria alimentaria, farmacéutica cosmética y para purificación de aguas residuales y otros productos (Sáenz *et al.*, 2006; Álvarez y Peña-Valdivia, 2009).

La propagación comercial de *Opuntia* se realiza con cladodios o porciones de ellos y los cladodios de las plantas madre que caen al suelo son el mecanismo principal de dispersión de las poblaciones silvestres (Mandujano *et al.*, 2005; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). La propagación vegetativa permite mantener las características del cultivar o tipo silvestre, pero representa riesgos relacionados con la dispersión de enfermedades porque pueden ser propágulos portadores de patógenos por tiempo indefinido. Esto unido a la variabilidad genética reducida despliega problemas fitosanitarios en huertos comerciales (Delfin *et al.*, 2005; Altere *et al.*, 2006; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). La propagación sexual tiene ventajas respecto a la vegetativa, pues contribuye a la multiplicación de individuos seleccionados por su potencial o características genéticas únicas, propicia la variabilidad genética de la especie y mantiene el potencial de dispersión en regiones donde el nopal puede prosperar (Mandujano *et al.*, 1996), pero es lenta (Palleiro *et al.*, 2006) y las condiciones óptimas para la germinación se conocen parcialmente.

Las semillas de *Opuntia* son poco exitosas en la germinación y el establecimiento de las plántulas en condiciones naturales, donde de acuerdo con

plants, fuel, desertification control, traditional medicine, source of raw matter for the food industry, cosmetic and purification of residual water and other products (Sáenz *et al.*, 2006; Álvarez and Peña-Valdivia, 2009).

The commercial propagation of *Opuntia* is done through cladodes or portions of these, and the cladodes of the mother plant that fall to the soil as the main propagation mechanisms of wild populations (Mandujano *et al.*, 2005; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). The vegetative propagation allows keeping the cultivar or wild characteristics, but it represents risks related to the dispersion of diseases because these might be propagules carrying pathogens for indefinite time. This, along to the reduced genetic variability cause phytosanitary problems in commercial orchards (Delfin *et al.*, 2005; Altere *et al.*, 2006; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). The sexual propagation has advantages regarding the vegetative since it contributes to the multiplication of individuals selected by their potential or unique genetic characteristics, it propitiates the genetic variability of the specie and keeps the dispersion potential in regions where *Opuntia* might thrive (Mandujano *et al.*, 1996), but, it is slow (Palleiro *et al.*, 2006) and the optimum conditions for the germination are partially known.

Opuntia seeds are not too successful in the germination and establishment of seedlings in natural conditions, where according to Mandujano *et al.* (1996) only one plant will emerge out of 600,000 seeds; and under experimental conditions the germination of seeds without any

Mandujano *et al.* (1996) de 600.000 semillas solo una originará planta, y en condiciones experimentales, la germinación de las semillas sin algún tratamiento es cercana a cero (Delgado-Sánchez *et al.*, 2013). Los factores de la germinación poco exitosa de las semillas de *Opuntia* se atribuye a que poseen una cubierta funicular rica en lignina que rodea las semillas y dificulta la germinación (Bregman y Bouman, 1983), a su latencia fisiológica, pues necesitan un período de maduración para germinar y al vigor bajo, o potencial bajo de crecimiento, de los embriones que los imposibilita a penetrar y romper la testa (Orozco-Segovia *et al.*, 2007). Esto último parece relacionarse con la dureza de la testa de las semillas, que necesita de 0,2 a 4,6 kN, según López-Palacios *et al.* (2015), o 1,59 a 1,68 kN, según Aguilar-Estrada *et al.* (2003) y Reyes-Agüero *et al.* (2005), para fracturarse. Los métodos de escarificación mecánica y química con ácido concentrado (HCl o H_2SO_4), tratamiento con reguladores del crecimiento, como ácido giberélico, y algunos hongos del género *Phoma* sp., *Trichoderma koningii* y *Penicillium chrysogenum*, que erosionan la testa y facilitan la emergencia de la radícula (Delgado-Sánchez *et al.*, 2013) pueden incrementar parcialmente la germinación de algunas especies (Mandujano *et al.*, 2005; Rojas-Aréchiga *et al.*, 2011). Una metodología estandarizada para la obtención de plántulas de *Opuntia* para fines diversos como la investigación, reforestación, entre otros es necesaria.

Opuntia streptacantha es una especie silvestre considerada ancestro de *O. ficus-indica* (Bravo, 1978) que es

treatment is close to zero (Delgado-Sánchez *et al.*, 2013). The not too successful germination causes of *Opuntia* seeds are attributed to the fact that these have a funicular cover rich in lignin that covers the seeds and makes difficult the germination (Bregman and Bouman, 1983); also, the physiological dormancy since these need a ripening period to germinate, and the low vigor or low potential under growth of the embryos that make impossible to enter and break the seed coat (Orozco-Segovia *et al.*, 2007). The latter seems to be related to the roughness of the seed coat that needs from 0.2 to 4.6 kN according to López-Palacios *et al.* (2015) or from 1.59 to 1.68 kN according to Aguilar-Estrada *et al.* (2003) and Reyes-Agüero *et al.* (2005), to break down. The methods of mechanical and chemical scarification with concentrated acid (HCl or H_2SO_4), treatments with growth regulator such as gibberellic acid and some fungi of the genus *Phoma* sp., *Trichoderma koningii* and *Penicillium chrysogenum*, that erosion the seed coat and ease the emergency of the radicle (Delgado-Sánchez *et al.*, 2013) might partially increase the germination of some species (Mandujano *et al.*, 2005; Rojas-Aréchiga *et al.*, 2011). A standardized methodology is necessary for obtaining *Opuntia* seedlings for different purposes such as research, reforest, among others.

Opuntia streptacantha is a wild specie considered ancestry of *O. ficus-indica* (Bravo, 1978), known as the one with higher domestication degree (Reyes-Agüero *et al.*, 2005); both used to evaluate the biochemical-physiological

reconocida como la de grado mayor de domesticación (Reyes-Agüero *et al.*, 2005); ambas se han utilizado para evaluar los cambios bioquímico-fisiológicos y biofísicos durante la domesticación (López-Palacios *et al.*, 2012 y 2015; García-Nava *et al.*, 2015). El objetivo de este estudio fue aplicar tratamientos pregerminativos a las semillas de *O. streptacantha* Lem. y evaluar la emergencia, crecimiento y desarrollo de las plántulas. La hipótesis fue que diferentes tratamientos pregerminativos de las semillas potencian la emergencia y el desarrollo de las plántulas de *O. streptacantha*.

Materiales y métodos

Evaluaciones preliminares de la emergencia se realizaron en invernadero con fotoperiodo (12:12 h) y termoperiodo (15:30°C) natural. Las evaluaciones finales se realizaron en el propagador del Vivero Universitario, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela. El fotoperiodo durante el estudio fue en promedio de 12h/12h, la temperatura ambiental mínima diaria fluctuó entre 25,1 y 29,1°C, y las máximas entre 27,9 y 39,2°C, con promedio entre 27,1 y 33,6°C.

Las semillas evaluadas fueron de *O. streptacantha* Lem. Dos kg de frutos con calidad comercial de esta especie se adquirieron en la Central de Abastos de San Luis Potosí, SLP, México; el endocarpo se colocó con agua destilada en una licuadora con aspas sin filo, la licuadora se accionó por 5 seg, tres veces seguidas, y la mezcla se filtró a través de un colador doméstico. Las semillas se lavaron con agua

and bio-physical changes during domestication (López-Palacios *et al.*, 2012 and 2015; García-Nava *et al.*, 2015). The aim of this research was to apply pre-germinative treatments to the *O. streptacantha* Lem. seeds and evaluate the emergency, growth and development of the seedlings. The hypothesis was that different pre-germinative treatments of the seeds potentiate the emergency and development of seedlings of *O. streptacantha*.

Materials and methods

Preliminary assessments of the emergency were done in greenhouse with photoperiod (12:12 h) and natural thermal-period (15:30°C). The final assessments were done in the propagator of the University Greenhouse, Agronomy Faculty, Universidad del Zulia, Venezuela. The photo-period during the research was 12h/12h, the minimum daily environmental temperature fluctuated from 25.1 to 29.1°C and the maximum from 27.9 to 39.2°C, averagely from 27.1 to 33.6°C.

The seeds evaluated were *O. streptacantha* Lem. Two kg of fruits with commercial quality of this specie were acquired at San Luis Potosí stores, SLP, Mexico; the endocarp was put with distilled water in a blender with vanes without edges, the blender activated for 5 seconds three times, and the mix filtered using a domestic sieve. The seeds were washed with abundant distilled water until eliminating the rest of the tissue. The seeds extended on filtered paper and kept for 3 days at laboratory temperature; two groups

destilada abundante, hasta eliminar los restos de tejido. Las semillas se extendieron sobre papel filtro, se mantuvieron 3 días a temperatura del laboratorio; se formaron dos grupos uno se evaluó inmediatamente, otro se almacenó en frascos de vidrio a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 4 años. La propagación se realizó en bandejas de poliestireno expandido, o semilleros, con 200 celdas y con capacidad de 40 mL por celda. El sustrato estuvo formado por viruta de coco y humus de lombriz (tamizado), en proporción 1:1.

Los tratamientos fueron cuatro: semillas testigo, semillas con inmersión durante 20 seg en agua destilada caliente (98°C) seguida de enfriamiento al aire libre, a 20°C , a velocidad natural, semillas remojadas en agua destilada, a 20°C , por 24 h y semillas remojadas en ácido acético (vinagre comercial) al 5% en agua (v:v) por 30 min y lavado con agua destilada tres veces.

Las variables respuesta evaluadas fueron: tiempo para el inicio de la emergencia (días), tiempo para la emergencia máxima (días), plántulas con tallo expuesto (cladodio inicial; número), longitud del primer cladodio (cm), raíces por planta (número), longitud de la raíz más larga (cm), longitud del hipocótilo (cm), longitud del epicótilo (cm), altura de la plántula (cm) y cantidad de plántulas emergidas (%).

El estudio se realizó con un diseño experimental totalmente al azar, con cuatro tratamientos y tres repeticiones; la unidad experimental estuvo constituida por 50 semillas. Se utilizó análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey. La variable emergencia de las plántulas, fue evaluada a través del

were formed and one was evaluated immediately and the other one stored in glass jars at $5\pm 2^{\circ}\text{C}$, for 4 years. The propagation was done in expanded polystyrene or seedbed with 200 cells and with 40 mL of capacity per cell. The substrate was formed by coconut shaving and worm humus (sift) in 1:1 proportion.

There were four treatments: control seeds, seeds with immersion during 20 sec in hot distilled water (98°C) followed by cooling in fresh air at 20°C , at natural velocity, seeds soaked in distilled water at 20°C for 24 h and seeds soaked in acetic acid (commercial vinegar) at 5% in water (v:v) for 30 min and soaking with distiller water three times.

The evaluated response variables were: time for the beginning of the emergency (days), time for the maximum emergency (days), seedlings with exposed stem (initial cladode; number), length of the first cladode (cm), roots per plant (number), length of the longest root (cm), longitude of the hypocotyls (cm), length of the epicotyls (cm), height of the seedling (cm) and quantity of the emerged seedlings (%).

The research was done with a completely randomized design with four treatments and three replications; the experimental unit was constituted by 50 seeds. A variance analysis and Tukey's mean test were used. The emergency of the plant was evaluated throughout the time with measures every 3 or 4 days; thus, it was analyzed using the repeated measure methodology using the MIXED procedure, with the statistical software SAS (version 9) and second-grade

tiempo con mediciones cada 3 o 4 días, por lo que se analizó con la metodología de medidas repetidas a través del procedimiento MIXED, con el programa estadístico SAS (versión 9), y se seleccionaron modelos polinómicos de segundo grado para explicar el comportamiento a través del tiempo de la variable mencionada.

Resultados y discusión

Las semillas del testigo sin almacenamiento produjeron menos de 1% de plántulas, que emergieron asincrónicamente después de 30 d; los otros tratamientos de ese ensayo preliminar no generaron plántulas. Después del almacenamiento, solo el testigo mostró emergencia de plántulas (3%) en el ambiente con temperatura diurna:nocturna media de 33,6 y 27,1°C (invernadero). En contraste, las semillas almacenadas 4 años sí generaron plántulas en el propagador, suficientes para realizar las evaluaciones.

La emergencia de *O. streptacantha* fue epigea, el hipocótilo se alargó y elevó los cotiledones sobre la superficie del sustrato. Las hojas seminales fueron gruesas, suculentas, de color verde ocre brillante, apariencia lisa y dos veces más largas que anchas (en la zona central). Entre los dos cotiledones emergió el primer cladodio (tallo) con forma globular y areolas múltiples con gloquidas y espinas finas y prominentes (figura 1).

Pocos estudios han descrito la morfología de las plántulas del género *Opuntia* e incluyen solo algunas especies, como *O. tuna* Mill. (De Fraine, 1910) y *O. auriantica* (Archibald, 1939), aunque en esos estudios no pre-

polynomial models were selected to explain the behavior in the time of the mentioned variable.

Results and discussion

The seeds of the control without storing produced less than 1% of seedlings that emerged asynchronously after 30 d; the other treatments of the preliminary essay did not generate seedlings. After the storing, only the control showed emergency of the seedlings (3%) in the environment with mean daily:night temperature of 33.6 and 27.1°C (greenhouse). On the other hand, the seeds stored for 4 years generated plants in the propagator, which were enough for carrying out assessments.

The emergency of *O. streptacantha* was epigeous, the hypocotyls elongated and increased the cotyledons on the surface of the substrate. The leaf seminal were thick, succulent, with bright green color, smooth, and twice longer than wider (in the central area). The first cladode (stem) emerged between both cotyledons with a globular shape and multiple areola with glochids, fine and prominent thorns (figure 1).

Few researches have described the morphology of *Opuntia* seedlings and only include a few species such as *O. tuna* Mill. (De Fraine, 1910) and *O. auriantica* (Archibald, 1939), though these researches did not present images and the descriptions were superficial; and generally, the ones of the current research agreed with those (figure 1).

The researches about the germination of the seeds, the

sentaron imágenes y las descripciones fueron someras, en general las del presente estudio coincidieron con ellas (figura 1).

Los estudios sobre la germinación de las semillas, la emergencia de las plántulas y su establecimiento son importantes para entender los procesos reproductivos naturales y pueda realizarse eventualmente la propagación artificial y conservación de las especies. Específicamente, la estandarización de la metodología para caracterizar la germinación y emergencia de las plántulas es un tema central en el estudio del proceso de domesticación del género *Opuntia* que se ha abordado con enfoques diversos (López, 2011; López-Palacios *et al.*, 2012 y 2015; García, 2014; García-Nava *et al.*, 2015), similar a los estudios de la domesticación de *Stenocereus stellatus* (Rodríguez-Morales *et al.*, 2013) y *Phaseolus vulgaris* L. (Peña-Valdivia *et al.*, 2013a). La multiplicación

emergency of the seedlings and their establishment are important to understand the natural reproductive processes to eventually perform the artificial propagation and preservation of the species. Specifically, the standardization of the methodology to characterize the germination and emergency of the seedlings is a main topic in the study of the domestication process of *Opuntia* and has been studied through and using different approaches (López, 2011; López-Palacios *et al.*, 2012 and 2015; García, 2014; García-Nava *et al.*, 2015), similar to the domestication researches of *Stenocereus stellatus* (Rodríguez-Morales *et al.*, 2013) and *Phaseolus vulgaris* L. (Peña-Valdivia *et al.*, 2013a). The vegetative multiplication in the *Opuntia* genus seems to be more efficient than the sexual reproduction for the proliferation of the plants; and without doubt both types of reproduction: sexual and vegetative,



Figura 1. Plántulas de nopal (*Opuntia streptacantha* Lem.) de entre 15 y 35 días de edad.

Figure 1. *Opuntia* seedlings (*Opuntia streptacantha* Lem.) from 15 to 35 days old.

vegetativa en el género *Opuntia* parece ser más eficiente que la reproducción sexual para la proliferación de las plantas; indudablemente ambos tipos de reproducción, la sexual y la vegetativa, contribuyeron al éxito ecológico y evolutivo del género, pero se carece de la evidencia empírica para reconocer el papel de cada una (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Cantidad de plántulas emergidas

A los 34 d las semillas testigo y las remojadas en agua destilada, a 20°C, por 24 h alcanzaron 48% de plántulas emergidas, mientras que las remojadas en ácido acético (vinagre comercial) llegaron a 45% de plántulas emergidas, sin diferencias estadísticas entre esos tratamientos ($P \leq 0,424$). El análisis de medidas repetidas mostró que, con excepción del remojo de las semillas con agua caliente, los métodos usados para estimular la germinación no tuvieron efecto en la capacidad de emergencia de las plántulas de *O. streptacantha* y las curvas de acumulación de la emergencia en el tiempo describieron un proceso similar entre ellas (figura 2).

También el análisis de medidas repetidas en el tiempo, de los tres tratamientos en los que hubo emergencia de plántulas, indicó que el proceso fue similar entre ellos, ya que generó ecuaciones polinómicas de segundo grado en todos (figura 2). Además, este análisis permitió visualizar que la emergencia acumulada, una vez iniciada en cada tratamiento, incrementó aceleradamente hasta los 15 DDS y decayó entre los 34 y 37 DDS en los tres tratamientos. Este resultado podría indicar que durante el remojo de

contribuyó a la ecológica y evolutiva exitosa del género, pero falta la evidencia empírica para reconocer el rol de cada uno (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Quantity of emerged seedlings

After 34 d the control seeds and those soaked in distilled water at 20°C for 24 h reached 48 h of emerged plants; meanwhile, those soaked in acetic acid (commercial vinegar) reached 45% of emerged seedlings, without statistical differences among these treatments ($P \leq 0.424$). The analysis of repeated measures showed that the methods used for stimulating the germination did not have any effect in the capacity of the emergency of *O. streptacantha* seedlings, excepting the seeds soaked in hot water; and the accumulation curve of the emergency in the time described a similar process among them (figure 2).

Also, the analysis of repeated measures in the time of the three treatments with seedling emergency indicated that the process was similar among them, since it generated second degree polynomial equations (figure 2). Additionally, this analysis allowed visualizing that the accumulated emergency, once initiated on each treatment, increased rapidly until 15 DDS and decreased from 34 and 37 DDS in three treatments. This results might indicate that during the relatively prolonged soaking (24 h) in water, the seed coat did not soften and the diluted acid did not cause any chemical scarification of the seed coat; thus, both treatments were equal to the control.

Delgado-Sánchez *et al.* (2010) mentioned that the germination of

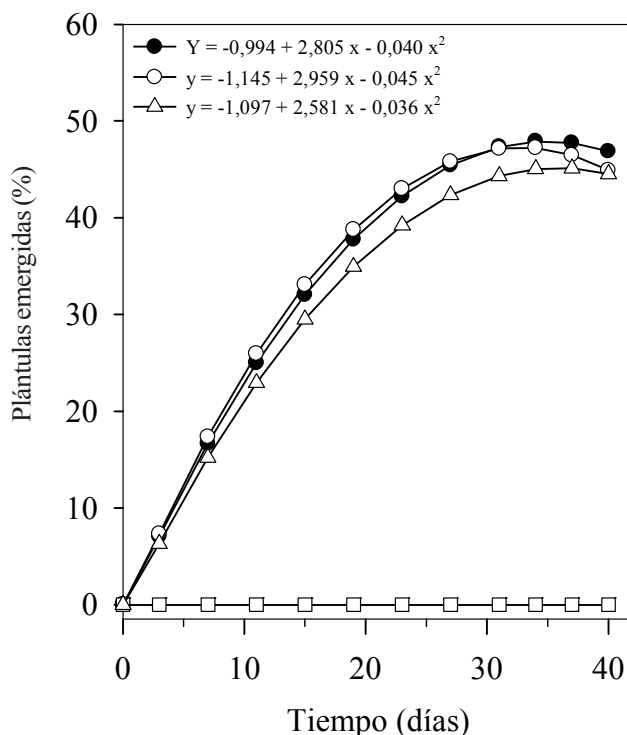


Figura 2. Porcentaje de plántulas de nopal (*Opuntia streptacantha* Lem.) emergidas de semillas almacenadas 4 años a $5\pm 2^\circ\text{C}$ (● testigo) y sumergidas una vez en agua caliente y enfriadas hasta temperatura ambiente (□), remojadas en agua destilada a 20°C por 24 h (○) y remojadas en ácido acético (vinagre comercial) por 30 min y lavadas tres veces con agua destilada (△).

Figure 2. Percentage of *Opuntia* seedlings (*Opuntia streptacantha* Lem.) emerged from seeds stored for 4 years at $5\pm 2^\circ\text{C}$ (● control) and submerged once in hot water and cold in environment temperature (□), soaked in distilled water at 20°C for 24 h (○) and soaked in acetic acid (commercial vinegar) for 30 min and washed three times with distilled water (△).

relativamente prolongado (24 h) en agua fue insuficiente para ablandar la testa y el ácido diluido no provocó ninguna escarificación química de la testa por lo que ambos tratamientos igualaron al testigo.

Delgado-Sánchez *et al.* (2010) señalaron que la germinación de las se-

Opuntia spp. seeds, modified with the conditions of germination and increased by the action of some fungi such as *Phoma* sp. and *P. chrysogenum* in the seed coat. In the current research, the action of these fungi was evaluated on the dormancy lost during the germination of *O. streptacantha* seeds

millas de *Opuntia* spp., además de modificarse con las condiciones de germinación, se incrementó por la acción de algunos hongos, como *Phoma* sp. y *P. chrysogenum*, en la testa. En ese estudio, evaluaron específicamente la acción de estos hongos en la pérdida de la latencia durante la germinación de la semillas de *O. streptacantha* originarias del desierto Chihuahuense. En el mismo estudio las semillas sin almacenamiento y con 9 años de edad no germinaron en un ensayo inicial, pero aquellas no esterilizadas externamente tuvieron 27 y 67% de germinación y *P. medicaginis*, *T. harzianum*, *T. koningii* y *P. chrysogenum* creciendo sobre la testa. Además, Delgado-Sánchez *et al.* (2011) observaron que las semillas de *O. streptacantha* almacenadas por 2 años tuvieron máximo 2% de germinación, y las almacenadas 3 y 12 años alcanzaron cerca de 10%.

Además, el deterioro de la testa por los hongos incrementó la germinación de las semillas almacenadas 3 y 12 años hasta 60 y 70% y la luz tuvo efecto positivo, pues la germinación aumentó hasta 60% respecto a las semillas que durante la germinación permanecieron en oscuridad. En contraste, con los estudios de Delgado-Sánchez *et al.* (2010 y 2011), las semillas del presente estudio no se inocularon, naturalmente o artificialmente, con hongos fueron extraídas de frutos en el laboratorio y lavadas varias veces, por lo que la posibilidad de que tuvieran la microflora autóctona, que propicia la erosión de la testa y acelerara o incrementara la germinación y emergencia de plántulas, era mínima. Además, es

original from Chihuahuense dessert. In the same research, the seeds without storing and with 9 years of age did not germinate in an initial essay, but those that were not externally sterilized had 27 and 67% of germination and *P. medicaginis*, *T. harzianum*, *T. koningii* and *P. chrysogenum* growing on the seed coat. Additionally, Delgado-Sánchez *et al.* (2011) observed that the seeds of *O. streptacantha* stored for 2 years had a maximum of 2% of germination and those stored for 3 and 12 years reached almost 10%.

Also, the damage of the seed coat by the fungi increased the germination of the seeds stored for 3 and 12 years until 60 and 70% and the light had a positive effect since the germination increased until 60% in the seeds, which remained in the dark during the germination. Contrary to the studies of Delgado-Sánchez *et al.* (2010 and 2011), the seeds of the current research did not inoculate naturally or artificially; these were extracted in the laboratory and washed several times; thus, the possibility of having the autochthonous microflora that propitiates the erosion of the seed coat and accelerates or increases the germination and emergency of the seedlings was minimum. Additionally, it is probable that the microflora of the substrate employed in this research differed from the previous reports.

Some of the results obtained by Delgado-Sánchez *et al.* (2010 and 2011) agreed with those of the current research, since the seeds evaluated increased (48%) the germination after storing at $5\pm 2^{\circ}\text{C}$, for 4 years. The maximum emergency of the seedlings

probable que la microflora del sustrato empleado en este estudio difiriera de los reportes previos.

Parte de los resultados de Delgado-Sánchez *et al.* (2010 y 2011) coincidieron con los del presente estudio, pues las semillas evaluadas aquí incrementaron (48%) la germinación después del almacenamiento a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 4 años. La emergencia máxima de plántulas con las semillas sin almacenar (en los días después de haberse extraído de los frutos) fue menor a 1% con y sin escarificación mecánica y química con ácido sulfúrico concentrado (10 min).

De acuerdo con López-Palacios *et al.* (2015), los frutos de *O. streptacantha* contienen en promedio 175 semillas, de las que 6% son abortadas. Esta información puede ayudar a explicar parte de la proporción de plántulas que no emergió (similar a la de las semillas abortadas).

Tiempo para el inicio de la emergencia y tiempo para la emergencia máxima

La emergencia inicial y máxima de plántulas fue significativamente diferente ($P\leq 0,001$) entre los tratamientos y los valores acumulados variaron entre 0 y 48%. El tratamiento con agua caliente fue el que difirió de los otros, por la ausencia de plántulas emergidas. Este resultado puede interpretarse como un daño a los embriones, en tal magnitud por el agua caliente (tratamiento 2) que impidió la germinación, la emergencia o ambas (figuras 2 y 3).

Entre los tratamientos se detectaron diferencias significativas en el número de días para el inicio de la emergencia de las plántulas

with seeds without storing (in the days after having extracted the fruits) was lower to 1% with and without mechanical and chemical scarification with concentrated sulfuric acid (10 min).

According to López-Palacios *et al.* (2015), *O. streptacantha* fruits had in average 175 seeds, and 6% are aborted. This information might explain part of the seedling proportion that did not emerge (similar to the aborted seeds).

Time for the beginning of the emergency and time for the maximum emergency

The initial and maximum emergency of seedlings was significantly different ($P\leq 0.001$) among the treatments, and the accumulated values varied from 0 to 48%. The treatment with hot water differed from the others by the absence of seedlings emerged. This results might be interpreted as a damage to the embryos by the hot water (treatment 2) that did not allow the germination, emergency or both (figures 2 and 3).

Among the treatments significant differences were detected in the number of days for the beginning of the seedling emergency ($P\leq 0.0004$) and for its end ($P\leq 0.007$) among the treatments. The control initiated the seedling emergency within 7 d, and the emergency delayed from 3 to 4 d regarding the control with the soak in water 1 day after and with soak with acetic acid. During 40 d of the research, the seedlings that soaked in hot water did not emerge (figure 3).

The time for the maximum emergency fluctuated from 22 to 31 d among the three treatments with

($P \leq 0,0004$) y para el final de ella ($P \leq 0,007$) entre los tratamientos. El testigo inició la emergencia de las plántulas a los 7 d, con el remojo con agua un día después y con remojo con ácido acético la emergencia se retardó entre 3 y 4 d respecto al testigo. Durante los 40 d del estudio las plántulas de las semillas que fueron remojadas con agua caliente no emergieron (figura 3).

El tiempo para la emergencia máxima fluctuó entre 22 y 31 d entre los tres tratamientos en los que hubo plántulas, pero no hubo diferencias estadísticas entre ellos ($P > 0,05$). El ANDEVA detectó diferencia significativa entre los tratamientos; y la comparación de medias indicó que el tratamiento que incluyó semillas sumergidas una vez en agua caliente y enfriadas hasta temperatura ambiente fue diferente a los otros tres. La diferencia se debió a que éste no tuvo emergencia (figura 3).

Los métodos identificados como aceleradores o promotores de la germinación de semillas de algunas especies de *Opuntia*, como *O. lindheimeri* Engelm, *O. phaeacantha* var. *discata* Engelm. (remojadas o lavadas con agua; Pilcher, 1970), *O. engelmannii* Salm-Dyck (remojadas en H_2SO_4 diluido, Pendley, 2001) y *O. discata* Griffiths, *O. edwardsii* V.E. Grant & K. A. Grant, *O. lindheimeri* Engelm. y *O. tomentosa* Salm-Dyck (escarificadas con H_2SO_4 concentrado; Potter *et al.*, 1984; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), no fueron efectivos para acelerar la emergencia de las plántulas de *O. streptacantha* (figura 3).

En contraste, los resultados coincidieron con los obtenidos en semillas de

seedlings, but there were not statistical differences among them ($P > 0.05$). ANDEVA detected significant differences among the treatments and the mean comparison indicated that the treatment that included seeds immersed in hot water and cold until reaching environment temperature was different from those three. The difference was because it did not have emergency (figure 3).

The methods identified as accelerators or promoters of seed germination of some *Opuntia* species such as *O. lindheimeri* Engelm, *O. phaeacantha* var. *discata* Engelm. (soaked or washed with water; Pilcher, 1970), *O. engelmannii* Salm-Dyck (soaked in diluted H_2SO_4 , Pendley, 2001) and *O. discata* Griffiths, *O. edwardsii* V.E. Grant & K. A. Grant, *O. lindheimeri* Engelm. and *O. tomentosa* Salm-Dyck (scarified with concentrated H_2SO_4 ; Potter *et al.*, 1984; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), were not effective to accelerate the seedling emergency of *O. streptacantha* (figure 3).

On the other hand, the results agreed to those obtained in seeds of *O. rastrera* by Mandujano *et al.* (2005), since seeds stored at environment temperature for 3 years and without scarification (control treatment) presented higher germination (30%) than the ones scarified with H_2SO_4 until 120 min (<20%) and it was significantly similar to the treatments of soaking and washing of seeds.

Growth of seedlings

The growth of seedlings was different ($P \leq 0.0004$) among the treatments. The organs where the differences observed were the root

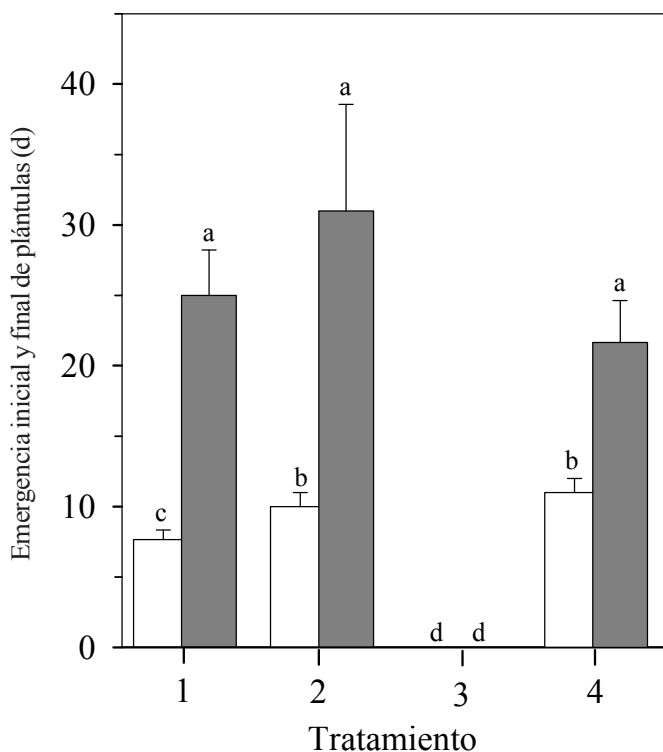


Figura 3. Tiempo (d: días) para la emergencia (+ error estándar) inicial (barras blancas) y final (barras grises) de plántulas de nopal (*Opuntia streptacantha* Lem.) emergidas de semillas almacenadas 4 años a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Tratamiento 1, testigo) y remojadas en agua destilada a 20°C por 24 h (Tratamiento 2), sumergidas una vez en agua caliente y enfriadas hasta temperatura ambiente (Tratamiento 3) o remojadas 30 min en ácido acético diluido (vinagre comercial) y lavadas tres veces con agua destilada (Tratamiento 4). Medias con letras iguales no fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $P\geq 0,05$).

Figure 3. Time (d: days) for the emergency (+ standard error) initial (white bars) and final (gray bars) of *Opuntia* seedlings (*Opuntia streptacantha* Lem.) emerged from seeds stored for 4 years at $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Treatment 1, control) and submerged in distilled water at 20°C for 24 h (Treatment 2), submerged once in hot water and cold in environment temperature (Treatment 3) and soaked for 30 min in diluted acetic acid (commercial vinegar) and washed three times with distilled water (Treatment 4). Means with same letters were not statistically different (Tukey, $P\geq 0.05$).

O. rastrera por Mandujano *et al.* (2005), ya que las semillas almacenadas a temperatura ambiente, por 3 años, sin escarificar (tratamiento testigo) presentaron la germinación significativamente mayor (30%) que las escarificadas con H_2SO_4 hasta por 120 min (<20%) y fue significativamente similar a los tratamientos de remojo y lavado de semillas.

Crecimiento de las plántulas

El crecimiento de las plántulas fue diferente ($P \leq 0,0004$) entre los tratamientos. Los órganos en los que se observaron las diferencias fueron la raíz (longitud) y el hipocótilo (altura), debido a esas diferencias la altura de las plántulas también fue diferente entre los tratamientos. En promedio las plántulas del testigo fueron 21% más altas (17,5 cm) y su raíz e hipocótilo alcanzaron longitud 23 y 20% mayor que los tratamientos de remojo, lavado y escarificación con ácido de las semillas (figura 4).

Los resultados del crecimiento de las plántulas (figura 4) indicaron que el remojo con agua por 24 h y con ácido acético diluido por 30 min pudo haber dañado parcialmente a los embriones y provocado disminución del crecimiento. El crecimiento menor de las plántulas también pudo ser aparente debido a que en ambos tratamientos las emergencias inicial y total presentaron varios días de retardo respecto al testigo (figura 3) o combinación de los dos efectos anteriores.

Número de raíces

El número de raíces por plántula no fue significativamente diferente entre los tres tratamientos que gene-

lenght) and the hypocotyls (height), and due to those differences, the height of the seedlings was different among the treatments. In average, the control seedlings were 21% higher (17.5 cm) and the root and hypocotyls reached a lenght 23 and 20% higher than the soaking, washing and scarification treatments with acid of the seeds (figure 4).

The results of the seedling growing (figure 4) indicated that soaking in water for 24 h and with diluted acetic acid for 30 min might have partially damaged the embryos and caused the reduction of the growing. The lowest growing of the seedlings might be apparent since in both treatments the initial and total emergencies retarded several regarding the control (figure 3) or by the combination of the previous effects.

Number of roots

The number of roots per seedling was not significantly different among the three treatments that generated seedlings; the treatments with seeds soaked in water for 24 h was observed, by presented lower quantity of roots (24%) than the control but without a significant difference (figure 5).

The highest quantity of roots in the control treatment agreed to the highest growth in the seedling's height (figures 4 and 5), which confirmed that contrary to the hypothetical statement, the processes promoting germination, such as the elimination of dormancy, adequate inhibition of the embryo, activation of the metabolism, emergency and growth of seedlings of *O. streptacantha* were partially affected. The highest number of roots favors the development of seedlings

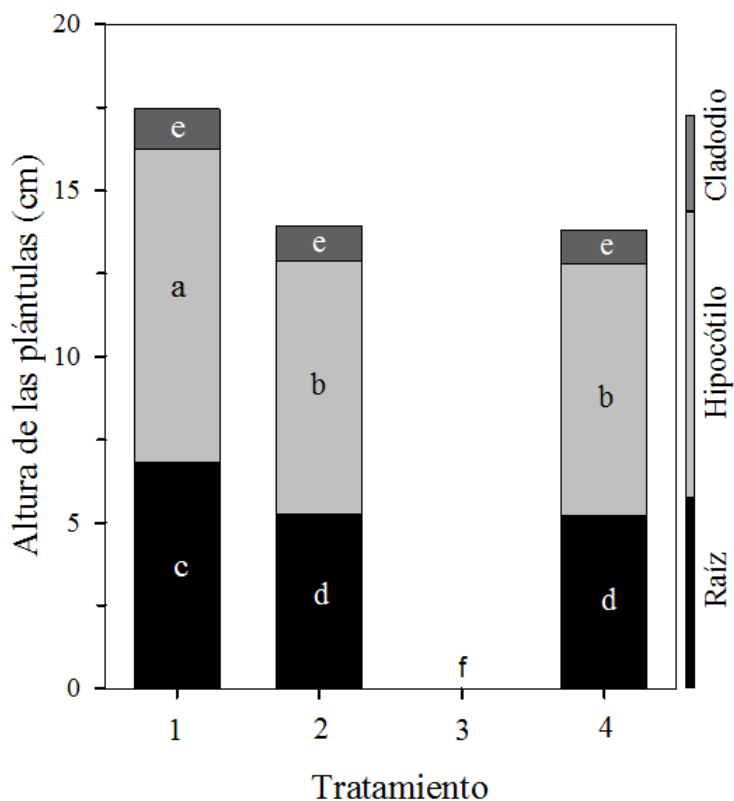


Figura 4. Altura (cm) de las plántulas de nopal (*Opuntia streptacantha* Lem.), y longitud (cm) de sus estructuras, emergidas de semillas almacenadas 4 años a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Tratamiento 1, testigo) remojadas en agua destilada a 20°C por 24 h (Tratamiento 2), sumergidas una vez en agua caliente y enfriadas hasta temperatura ambiente (Tratamiento 3) y remojadas 30 min en ácido acético diluido (vinagre comercial) y lavadas tres veces con agua destilada (Tratamiento 4). Medias con letras iguales no fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $P\geq 0.05$).

Figura 4. Height (cm) of *Opuntia* seedlings (*Opuntia streptacantha* Lem.) and length (cm) of their structures, emerged from seeds stored for 4 years at $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Treatment 1, control) and submerged in distilled water at 20°C for 24 h (Treatment 2), submerged once in hot water and cold in environment temperature (Treatment 3) and soaked for 30 min in diluted acetic acid (commercial vinegar) and washed three times with distilled water (Treatment 4). Means with same letters were not statistically different (Tukey, $P\geq 0.05$).

raron plántulas; pero, sobresalió la tendencia del tratamiento con semillas remojadas en agua por 24 h de presentar menor cantidad de raíces (24%) que el testigo, sin que la diferencia fuera significativa (figura 5).

La cantidad mayor de raíces en el tratamiento testigo coincidió con el crecimiento mayor en altura de las plántulas (figuras 4 y 5), lo que confirmó que, al contrario de la proposición hipotética, los procesos promotores de la germinación, como la eliminación de la latencia, imbibición adecuada del embrión, activación de su metabolismo, se afectaron parcialmente y también la emergencia y crecimiento de las plántulas de *O. streptacantha*. El número mayor de raíces favorece el desarrollo de las plántulas, ya que es parte de los caracteres que conforman el vigor de una plántula. El hecho de que las plántulas tengan un número mayor de raíces sugiere factibilidad superior de crecimiento y desarrollo, pues la superficie de contacto con el sustrato incrementaría y por lo tanto la exploración que ellas podría ser mayor y por tanto, incrementaría la absorción de agua y de elementos minerales que se encuentren en la solución del suelo (Peña-Valdivia *et al.*, 2013b). Lo anterior permitirá un crecimiento considerable de las plántulas.

Conclusiones

El almacenamiento prolongado de semillas de *O. streptacantha* incrementa significativamente la emergencia de plántulas, la que parece estar relacionada con la temperatu-

since it is part of the traits that form the vigor. The fact that the seedlings have a higher number of roots suggests the feasibility of growing and development because the contact of the surface with the substrate would increase; thus, the absorption of water and mineral elements present in the soil would increase (Peña-Valdivia *et al.*, 2013b). The latter will allow a considerable growing of seedlings.

Conclusions

The extended storing of *O. streptacantha* seeds significantly increased the seedling emergency, which seems to be related to the relatively high day and night temperatures (33.6 and 27.1°C) during the emergency. Based on the previous results it is possible to affirm that the treatments to stimulate the germination or pre-germinative of *O. streptacantha* seeds, such as soakings for 1 day, soakings in diluted acetic acid and immersion in hot water are not enough to increase the emergency and the growing of seedlings in greenhouse conditions.

Acknowledgment

The authors thank the Scientific, Humanistic and Technological Board of Universidad del Zulia (VAC-CONDES-CC-0590-13) and the National Fund of Science, Technology and Innovation (FONACIT-Project N° 2013001854), by having financed this project.

End of english version

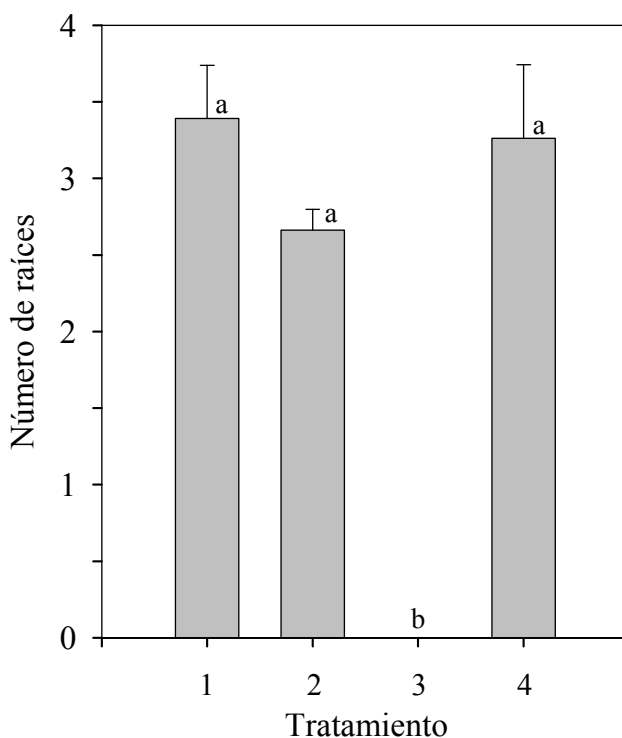


Figura 5. Número de raíces en plántulas de nopal (*Opuntia streptacantha* Lem.) emergidas de semillas almacenadas 4 años a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Tratamiento 1, testigo), remojadas en agua destilada a 20°C por 24 h (Tratamiento 2), sumergidas una vez en agua caliente y enfriadas hasta temperatura ambiente (Tratamiento 3) y remojadas 30 min en ácido acético diluido (vinagre comercial) y lavadas tres veces con agua destilada (Tratamiento 4). Medias con letras iguales no fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $P\geq 0,05$).

Figura 5. Number of roots in *Opuntia* seedlings (*Opuntia streptacantha* Lem.) emerged from seeds stored for 4 years at $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Treatment 1, control) and submerged in distilled water at 20°C for 24 h (Treatment 2), submerged once in hot water and cold in environment temperature (Treatment 3) and soaked for 30 min in diluted acetic acid (commercial vinegar) and washed three times with distilled water (Treatment 4). Means with same letters are not statistically different (Tukey, $P\geq 0.05$).

ras diurnas y nocturnas relativamente altas (33,6 y 27,1°C) durante la emergencia. Con base en los resultados es posible afirmar que los tratamientos para estimular la germinación o pregerminativos de las semillas de *O. streptacantha*, como el remojo por un día, el remojo breve en ácido acético diluido, y la inmersión en agua caliente, son ineficientes para incrementar la emergencia y el crecimiento de las plántulas en condiciones de umbráculo.

Agradecimiento

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad del Zulia (VAC-CONDES-CC-0590-13) y al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT-Proyecto N° 2013001854), por el financiamiento de este proyecto.

Literatura citada

Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). p. 117-120. En: G. Esparza F., M.A. Salas L., J. Mena C., R.D. Valdez Z. (Eds.). Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas, México.

Altare, M., S. Trione, J.C. Guevara and M. Cony. 2006. Simulation and promotion of germination of *Opuntia ficus-indica* seeds. Journal of the Professional Association for Cactus Development 8:91-100.

Álvarez, A.R. and C.B. Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xocoonstle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages.

Journal of the Professional Association for Cactus Development 11:26-44.

Archibald, E.E.A. 1939. The development of the ovule and seed of jointed cactus (*Opuntia aurantiaca* Lindley). South African Journal of Science 36:195-211.

Bravo, H.H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 743 p.

Bregman, R. and F. Bouman. 1983. Seed germination in Cactaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 86:357-374.

De Fraine, E. 1910. The seedling structure of certain *Cactaceae*. Annals of Botany XXIV: 125-175.

Delfín, E., F. Vázquez, S.L. Sánchez-Serrano y C. Martorell-Delgado. 2005. La producción de frutos prolíficos en *Cylindropuntia leptocaulis* (Cactaceae) como una alternativa ante el fracaso de la reproducción sexual. Boletín de la Sociedad Botánica de México 76:79-81.

Delgado-Sánchez, P., M.A. Ortega-Amaro, A.A. Rodríguez-Hernández, J.F. Jiménez-Bremont and J. Flores. 2010. Further evidence from the effect of fungi on breaking *Opuntia* seed dormancy. Plant Signaling and Behavior 5:1229-1230.

Delgado-Sánchez, P., M.A. Ortega-Amaro, J.F. Jimenez-Bremont and J. Flores. 2011. Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae). Plant Biology 13:154-159.

Delgado-Sánchez, P., J.F. Jiménez-Bremont, M.L. Guerrero-González and J. Flores. 2013. Effect of fungi and light on seed germination of three *Opuntia* species from semiarid lands of central Mexico. Journal of Plant Research 126:643-649.

Gallegos-Vázquez, C., R.D. Valdez-Cepeda, A.F. Barrientos-Priego, J. Andrés-Agustín, M. Barrón-Macías y R. Nieto-Angel. 2006. Caracterización morfológica de 40 cultivares de nopal

- del banco de germoplasma de uso como hortaliza del Cruce-UACH. Revista Chapingo Serie Horticultura 12:41-49.
- García, N.F. 2014. Características biofísicas y químicas de plantas MAC en relación con la domesticación, especie y humedad en el suelo. Tesis de doctorado. Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 150 p.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García N., J.A. Reyes A. and J.R. Aguirre R. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp. Cactaceae) as influenced by domestication. Genetic Resources and Crop Evolution 62(6):927-938.
- López, P.C. 2011. Contenido y características reológicas de los polisacáridos estructurales de nopalitos *Opuntia* spp. en un gradiente de domesticación. Tesis de Maestría. Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México. 110 p.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero and A. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalito (*Opuntia* spp.). Genetic Resources and Crop Evolution 59:1015-1026.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes A., J.R. Aguirre R., H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández and J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intraspecific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. Genetic Resources and Crop Evolution 62:1205-1223.
- Mandujano, M.C., C. Montana and L.E. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitments so rare?. American Journal of Botany 83(1):63-70.
- Mandujano, M.C., C. Montaña and M. Rojas-Aréchiga. 2005. Breaking seed dormancy in *Opuntia rastrera* from the Chihuahuan desert. Journal of Arid Environments 62:15-21.
- Olvera-Carrillo, Y., J. Márquez-Guzmán, V.L. Barradas, M.E. Sánchez-Coronado and A. Orozco-Segovia. 2003. Germination of the hard seed coated *Opuntia tomentosa* S.D., a cacti from the Mexico Valley. Journal of Arid Environments 55:29-42.
- Orozco-Segovia, A., J. Márquez-Guzmán, M.E. Sánchez-Coronado, A. Gamboa de Buen, J.M. Baskin and C.C. Baskin. 2007. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). Annals of Botany 99:581-592.
- Palleiro, N., M.C. Mandujano and J. Golubov. 2006. Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. American Journal of Botany 93(4):505-511.
- Patel, S. 2013. Reviewing the prospects of *Opuntia* pears as low cost functional foods. Reviews in Environmental Science and Biotechnology 12:223-234.
- Pendley, G.K. 2001. Seed germination experiments in *Opuntia* (Cactaceae) of the Northern Chihuahuan Desert. Haseltonia 8:42-50.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo, V.B. Arroyo-Peña, A.B. Sánchez-Urdaneta and M.R. Balois. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). Chemistry & Biodiversity 9:1599-1610.
- Peña-Valdivia, C.B., J.R. Aguirre-Rivera y V.B. Arroyo-Peña. 2013a. El frijol: Síndrome de domesticación. Editorial del Colegio de Postgraduados. México. 198 p.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo, R. Celis-Velazquez y A. López-Ordáz. 2013b. Reacción del frijol silvestre (*Phaseolus vulgaris* L.) a la

- profundidad de siembra. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4:89-102.
- Pilcher, B.L. 1970. Germination of seeds of four species of *Opuntia*. Cactus and Succulent Journal 42:281-282.
- Potter, R.L., J.L. Petersen and D.N. Ueckert. 1984. Germination responses of *Opuntia* spp. to temperature, scarification and other seed treatments. Weed Science 32:106-110.
- Reyes-Agüero, J.A. and J.R. Aguirre R. 2011. Agrobiodiversity of cactus pear (*Opuntia*, Cactaceae) in the Meridional Highlands Plateau of Mexico. Journal of Natural Resources and Development 01:01-09.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R. y J.L. Flores F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. Interciencia 30:476-484.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R. and A. Valiente-Banuet. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. Journal of Arid Environments 64:549-585.
- Rodríguez-Morales, J., S. Guillén y A. Casas. 2013. Consecuencias de la domesticación de *Stenocereus stellatus* en el tamaño de las semillas y en la germinación en un gradiente de estrés hídrico. Botanical Sciences 91:485-492.
- Rojas-Aréchiga, M., K.M. Aguilar, J. Golubov and M.C. Mandujano. 2011. Effect of gibberellic acid on germination of seeds of five species of cacti from the Chihuahuan desert, northern Mexico. The Southwestern Naturalist 56:393-400.
- Sáenz, C., H. Berger, G.J. Corrales, L. Galletti, V. García de Cortázar, I. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez-Félix, E. Sepúlveda y M.T. Varnero. 2006. Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 162 p.
- SAS (Statistical Analysis System). 2002-2003. Version 9. Institute Inc, Cary NC, EEUU.