

Germinación *in vitro* de biznaga cabuchera

Erick Rubén Rodríguez-Ruíz¹

Wilberth A. Poot-Poot²

José Antonio Rangel-Lucio¹

Humberto Vaquera-Huerta³

Othón Javier González-Gaona¹

Jacinto Treviño-Carreón^{2§}

¹Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria. Boulevard Emilio Portes Gil núm. 1301, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. CP. 87010. Tel. 01(834) 1532000, ext. 325. (erick.burrin@yahoo.com; wpoot@docentes.uat.edu.mx). ²Facultad de Ingeniería y Ciencias-Universidad Autónoma de Tamaulipas. Centro Universitario Adolfo López Mateos, Cd. Victoria, Tamaulipas, México. CP. 87149. Tel. 01(834) 3181800, ext. 2102. ³Posgrado en Estadística-Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. CP. 56230. Tel. 01(595) 9520200, ext. 1459 y 1409. (antonio.rangel@itvictoria.edu.mx; hvaquera@colpos.mx; othonjavier@hotmail.com).

§Autor para correspondencia: jatrevino@docentes.uat.edu.mx.

Resumen

Ferocactus pilosus [(Galeotti ex Salm-Dyck) Werdermann] es una cactácea conocida como biznaga, la cual muestra crecimiento lento y se encuentra catalogada como una especie en riesgo de extinción. El objetivo del presente estudio fue el realizar un ensayo *in vitro* con el fin de estudiar el efecto de tratamientos químicos y reguladores de crecimiento, como promotores de la germinación de semillas colectadas en dos años consecutivos. Los productos químicos que se estudiaron fueron el H₂SO₄ y H₂O₂ y como los fitoreguladores AG₃, AIA y ANA, bajo diferentes tiempos de inmersión y concentración, respectivamente. La asignación de tratamientos fue bajo un diseño completamente al azar. Durante 30 días se registró número de semillas germinadas cada 2 días y se determinó la germinación estándar. Se utilizó la regresión logística para estudiar el efecto de los factores de estudio sobre la proporción de semillas germinadas. La germinación estándar de la biznaga es 82% con el tratamiento H₂SO₄, mientras que la germinación de la semilla inicia entre 2 y 6 días después de la siembra en ambos años y la fase logarítmica representativa se tiene entre 8 y 20 días con H₂SO₄ en 2015. Las semillas de biznaga muestreadas el año 2016 muestran mayor lentitud para cubrir la fase inicial de la germinación, cubierta en 16 días. La aplicación de H₂SO₄ acortó 4 días el tiempo de germinación y aumentó 82% la germinación estándar, mientras que el H₂O mantuvo constante la germinación estándar ($\pm 50\%$) y el tiempo de respuesta de la germinación se localizó entre 6 y 10 días de la siembra *in vitro*.

Palabras clave: *Ferocactus pilosus*, H₂O₂, H₂SO₄, germinación estándar, regulador de crecimiento, tiempo de germinación.

Recibido: abril de 2018

Aceptado: mayo de 2018

Las zonas áridas ocupan *ca.* la tercera parte de la superficie del planeta y están representadas por zonas hiper-áridas, áridas, semi-áridas y subhúmedas, con una diversidad de suelos, fauna, flora, balance de agua y actividad humana. Existen 2 900 especies de Cactáceas a nivel mundial (Bravo-Hollis y Schneivar, 1999), mientras que el continente americano agrupa 2000 especies (Jiménez, 2011). De estas, 1500 especies se desarrollan en *ca.* 56% del territorio mexicano (Hernández, 2006), con 73 y 78% de endemismo genérico y específico (Guzmán *et al.*, 2003) y 35% están amenazadas (Hernández y Godínez, 1994).

En ésta situación está la biznaga cabuchera [*Ferocactus pilosus* (Galeotti ex Salm-Dyck) Werdermann], distribuida en Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). La cual, está sometida a presión intensa por la colecta y destrucción de su hábitat (Alanís y Velazco, 2008), que la ha obligado a modificar estructura y densidad poblacional. Además, su propagación es limitada, es vulnerable a depredadores y depende de nodrizas, compite con otras especies, sufre ataque de patógenos y es afectada por temperatura, humedad, luminosidad y suelo (Lara *et al.*, 2016). En consecuencia, es una especie en riesgo y bajo protección especial (DOF, 2010), por lo que es necesario recuperar y conservar sus poblaciones.

El conocimiento ecológico y biológico de *F. pilosus* es escaso: reproducción sexual poco explorada, tasa de germinación lenta, establecimiento pobre de plántulas y crecimiento lento (Mandujano *et al.*, 2007). Por ello se ha explorado la reproducción sexual en condiciones controladas, mediante el uso de compuestos químicos y reguladores del crecimiento. De ésta manera, *Ferocactus* ha logrado 70 a 90% de germinación de la semilla inmersa 1.5 min en HCl (Navarro y González, 2007), que también acelera la tasa germinativa de *F. histrix* (Navarro *et al.*, 2008). También alcanzó 80% de germinación estándar al sumergir la semilla en ácido giberélico (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000). Por el contrario, los ácidos indol acético y naftalenacético no promueven la germinación de *F. histrix* y *F. latispinus* (Amador-Alfárez *et al.*, 2013).

La propagación por semilla de la biznaga convendría para la obtención de individuos con mejores características genéticas (Ortiz-Hernández y Carrillo-Salazar, 2012), por lo que, se sugiere aumentar conocimiento en la germinación de semillas (Sánchez-Villegas y Rascón-Chu, 2017), etapa crítica para la sobrevivencia de *F. pilosus*. El objetivo de este trabajo fue demostrar que la aplicación de productos químicos y reguladores de crecimiento vegetal, representan un medio eficaz para incrementar la velocidad y germinación estándar de semillas de *Ferocactus pilosus* colectadas en dos años consecutivos.

La colecta de fruto se realizó en el ejido Estanque de los Walle, Miquihuana, Tamaulipas, México (23° 34' 15" latitud norte y 99° 51' 24" longitud oeste), a 1 560 msnm. El clima es seco, precipitación anual de 350 a 500 mm y temperatura media de 17 a 19 °C. El suelo es Regosol calcárico (Rc) de origen aluvial (SPP-INEGI 1983). Entre la vegetación predomina *Yucca filifera*, *Larrea tridentata* y *Agave lechugilla* (Mora-Donjuán *et al.*, 2014). La selección de individuos para colecta de fruto se hizo de acuerdo a número (≤ 10) y longitud de vástagos (≤ 1.5 m), en julio de 2014. Aleatoriamente se eligieron 50 frutos fisiológicamente maduros que fueron mantenidos entre 4 y 5°C por 30 días.

La extracción de semillas se realizó manualmente: la pulpa se comprimió contra una malla de 1 mm de abertura, con enjuagues constantes de agua potable. Enseguida fueron distribuidas sobre papel de estraza hasta secado total, a temperatura ambiente de laboratorio (25 °C) y conservadas en sobres encerados hasta octubre de 2015. Ese mismo año se hizo otra colecta de frutos con el mismo protocolo de 2014, y las semillas fueron preservadas hasta octubre de 2016. La selección de las semillas se realizó considerando los parámetros de morfología, color de la testa, sin daño aparente y la viabilidad, siendo esta última medida con la prueba de precipitación/flotación en agua destilada reportada por Emongor *et al.* (2004).

Las pruebas de germinación se llevaron a cabo en condiciones de asepsia en la campana de flujo laminar (ESCO, modelo AVC-4D2). Las semillas se sometieron a un proceso de limpieza que consistió en inmersión durante 10 min en alcohol al 70% (Purex, México), seguido de tres lavados con agua desionizada estéril en cajas Petri con agitación de 5 min. Luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 15% (Cloralex, Alen, México) por 5 min, después se lavaron en agua desionizada estéril como se mencionó anteriormente.

El secado se efectuó en papel absorbente antes de iniciar con los tratamientos pre-germinativos los cuales consistieron en 1) reactivos químicos: a) inmersión en peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3.34% durante 10, 20 y 30 min en 2015 y 2016; b) ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 97.3% por 5, 10 y 15 min en ambos años; y 2) reguladores de crecimiento vegetal (RCV): a) ácido giberélico (AG_3); b) ácido indol acético (AIA) y; c) ácido naftalenacético (ANA). En estos últimos, las semillas estuvieron inmersas por 30 min en concentraciones de 125, 250 y 500 ppm en ambos años de colecta. El tratamiento testigo consistió en remojar las semillas en agua desionizada estéril por 30 min. La combinación de los tratamientos permitió obtener 16 en total para ambos años de colecta.

El primer experimento de germinación se estableció en octubre de 2015. Las cajas Petri fueron esterilizadas en autoclave (All American, 1941X, USA) a 1 atm. de presión por 30 min. Cada caja Petri representó a la unidad experimental y estuvo integrada por 25 semillas y repetida cuatro veces. Las cajas fueron incubadas a un cuarto de cultivo con humedad relativa de 70% y temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h luz ($30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 8 h oscuridad, emitida por lámparas fluorescentes de luz fría (Illux, T5 Mod. 1, 4 100 °K, 50 W/120 V). La humedad en las cajas Petri se mantuvieron añadiendo 10 ml de agua desionizada estéril cada 48 h durante 25 días, para recuperar el agua consumida o perdida, después de realizar el recuento de semillas germinadas.

Se consideró semilla germinada, al exhibir ruptura de testa y emergencia de radícula de 1 mm (ISTA, 2011). El segundo experimento germinativo se realizó en septiembre de 2016 siguiendo el mismo procedimiento que en 2015. El análisis estadístico comprendió la regresión logística o regresión binaria con el fin de estudiar el efecto de los factores de estudio: compuestos químicos y fitoreguladores, tiempo de inmersión, concentración y años de colecta sobre la proporción de germinación. Para ello se usó el procedimiento GENMOD del programa SAS ver. 9.1.3 (SAS, 2007). El modelo probabilístico que se supone para modelar el número de semillas germinadas fue el de la Distribución Binomial, con una función de liga logarítmica (Myers *et al.*, 2002).

El modelo utilizado es:

$$\log \frac{P(Y = 1 | \underline{x})}{1 - P(Y = 1 | \underline{x})} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_p x_p$$

Donde: $P(Y = 1 | \underline{x})$ es la probabilidad de que una semilla germine dado los factores de estudio (\underline{x}), $Y =$ variable binario (1 germinar, 0 no germinar), $\beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_p x_p$ es una función que refleja el efecto de factores x_i y β_i son los parámetros asociados.

El test de chi-cuadrado (χ^2) verificó diferencias específicas entre tratamientos. La elección del mejor tratamiento se realizó mediante contrastes ortogonales conforme el procedimiento GENMOD (De Menezes *et al.*, 2016).

La latencia es una estrategia que las semillas tienen para asegurar su germinación cuando las condiciones ambientales lo permitan, sin embargo, esta puede romperse mediante el uso de compuestos químicos o RCV (Flores y Jurado, 2011) que ayudan a la imbibición del agua y activación del metabolismo celular. El análisis del estimador de máxima verosimilitud de la regresión logística, para el año de 2015 indicó que ácido sulfúrico fue el compuesto que presentó mayor porcentaje de germinación (82%) de biznaga ($p < 0.01$) en comparación a los demás tratamientos incluyendo el testigo (Cuadro 1, Figura 1). Asimismo, en 2015 el ácido sulfúrico como tratamiento pre-germinativo de la semilla de biznaga, mejoró el tiempo de germinación al iniciar en el 6° día y posteriormente estabilizarse hasta alcanzar 82% de germinación; no obstante este comportamiento fue diferente en los tratamientos restantes donde la germinación inicio al 9° día y se estabilizó después del 20° día alcanzando 59% de germinación.

Cuadro 1. Análisis de la estimación del parámetro de máxima verosimilitud en la prueba de distribución binomial por efecto de compuestos químicos y fitoreguladores en la germinación estándar de semilla de biznaga en dos años.

Tratamientos	2015			2016		
	VE	EE	χ^2	VE	EE	χ^2
H ₂ O ₂	-0.09	0.17	0.3	-0.71	0.12	31.5 *
H ₂ SO ₄	0.39	0.13	8.99 *	-0.53	0.11	23.5 *
AG ₃	-0.06	0.17	0.13	-0.71	0.12	31.5 *
AIA	0.05	0.15	0.14	-1.21	0.17	46 *
ANA	0.27	0.19	2.8	-0.47	0.1	20.6 *
H ₂ O	-0.59	0.11	26.2 *	-0.17	0.04	15.9 *

VE= valor estimado; EE= error estándar; χ^2 = Chi cuadrada; * = significativo ($\alpha \leq 0.05$).

Este tipo de respuesta podría deberse al fenómeno biológico que normalmente ocurre en las semillas que germinan bajo condiciones ambientales de aridez (Jurado y Flores, 2005). Es decir, que la germinación de la semilla expresaría la dependencia al agua edáfica retenida entre las partículas del suelo, mínima pero fundamental en comparación con la requerida por otras especies de plantas (Loustalot *et al.*, 2014). La mayor respuesta germinativa se debe a la escarificación de

la testa por la acción corrosiva del ácido sulfúrico (Flores y Jurado, 2011), situación morfológica que favorece el flujo del agua para acelerar la imbibición y el proceso germinativo (Navarro y González, 2007).

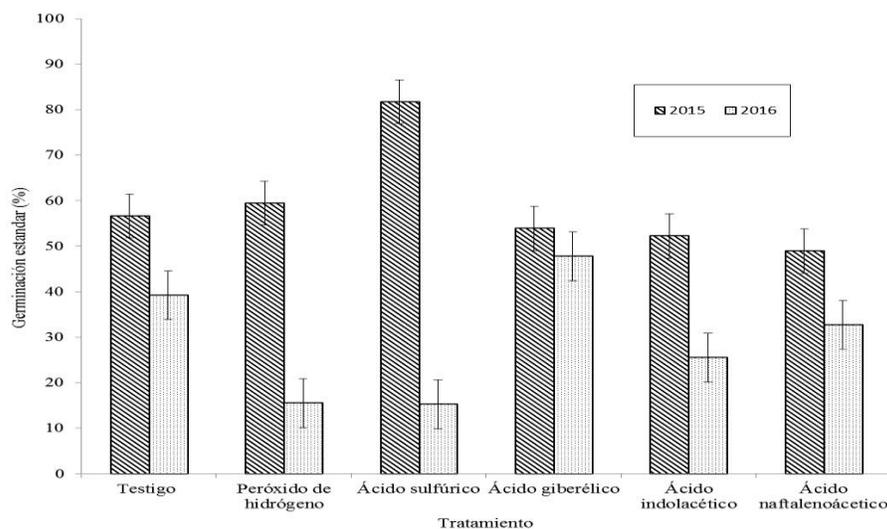


Figura 1. Efecto de pre-tratamientos químicos y reguladores de crecimiento en la germinación estándar de semillas de *Ferocactus pilosus* muestreadas en 2015 y 2016. Las líneas indican la desviación estándar.

Se ha observado que entre la dieta alimenticia de especies como *Neotoma* sp., *Sceloporus* sp., *Corvux corax*, *Melanerpes aurifrons* y *Campylorhynchus brunneicapillus* están los frutos de biznaga o cabuches (observación personal) y que a su vez contribuyen a la acción dispersora (endozoocórica) de semillas. Por lo que, la inmersión de la semilla en ácido sulfúrico simula el proceso de escarificación que ocurre en el tracto digestivo de esos y otros vertebrados, favoreciendo de esta manera la germinación (Escobar y Huerta, 1999).

En 2016, la germinación de las semillas tratadas con compuestos pre-germinativo inicio aproximadamente el 2^{do} día de la siembra, pero con lenta respuesta germinativa hasta el 18^{vo} día. El RCV, ácido giberélico presentó mayor porcentaje de germinación (48%) que los tratamientos restantes ($p < 0.01$) y el testigo (Cuadro 1). El efecto diferencial de AG₃ en la respuesta germinativa, fue ligeramente superior con 9% mayor al testigo (39%) y se mantuvo desde el inicio de la germinación. Este mismo efecto fue reportado en semillas de *F. acanthodes*, *F. wislizeni*, *Echinocereus viridiflorus* (Deno, 1994), *Stenocereus griseus* (Martínez-Cárdenas *et al.*, 2006) y en el caso de *Harrisia fragrans*, a concentración mayor (1000 ppm) de AG₃ (Dehgan y Pérez, 2005) obtuvo mejor respuesta en el porcentaje de germinación.

En este sentido, el AG₃ mejora la germinación a través de la hidrólisis del almidón en el endospermo y promueve la división celular en los tejidos meristemático. Se ha sugerido que puede reemplazar a otros estímulos como la luz y temperatura para iniciar la germinación (Sánchez-Villegas y Rascón-Chu, 2017) e incrementa la respuesta germinativa en semillas con algún tipo de latencia, que presentan barreras fisiológicas o que han permanecido almacenadas por largos periodos de tiempo (Amador-Alfárez *et al.*, 2013).

Las diferencias observadas en los porcentajes de germinación entre los años 2015 y 2016 para H_2SO_4 (Figura 2) se atribuye a variaciones en el espesor de las testas de las semillas, lo que permitiría mayor o menor resistencia a la escarificación por este compuesto y/o presencia de semillas con grados de latencia polimórfica dentro de un mismo fruto o una latencia a nivel de embrión (Sánchez *et al.*, 2015). Se ha documentado que el H_2SO_4 en soluciones diluidas estimula y acelera el tiempo de germinación, debido a que ablanda las membranas del tegumento de semillas que puede estar suberizado o impregnado de sustancias que las hacen impermeables al agua y oxígeno.

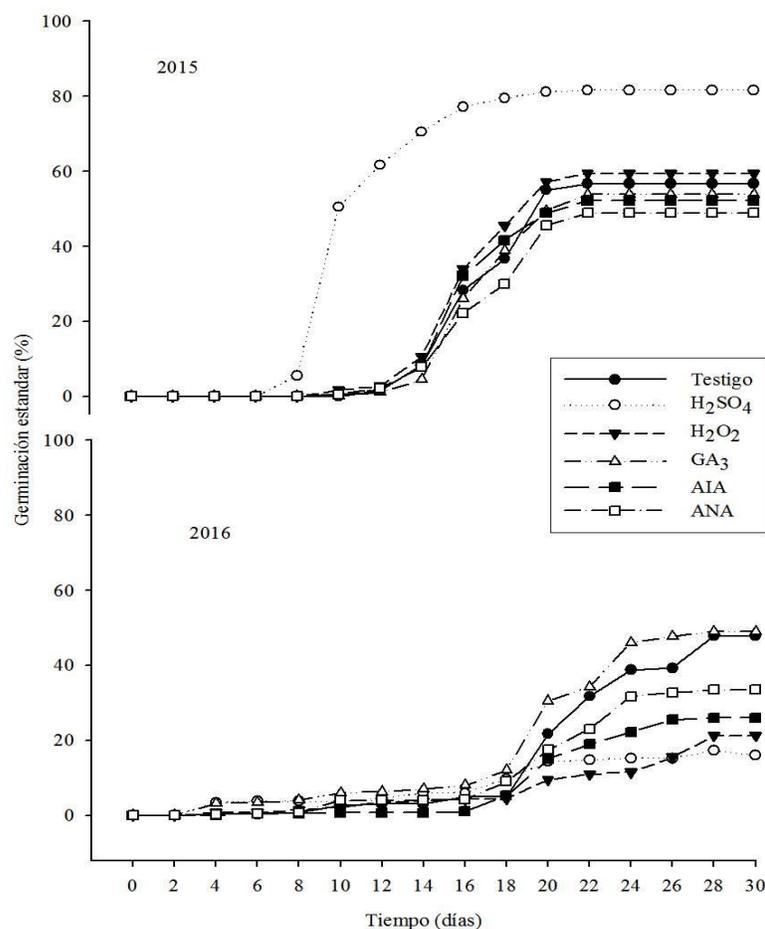


Figura 2. Germinación acumulada de semillas de *Ferocactus pilosus* muestreadas en 2015, 2016 y pre-tratadas con compuestos químicos y reguladores de crecimiento.

Estas variaciones en la respuesta germinativa positiva, se ha reportado en especies de *Mammillaria zephyranthoides* (Navarro y Juárez 2006), *M. myrtax* (Navarro *et al.*, 2010) y *M. mainiae* (Sánchez-Villegas y Rascón-Chu, 2017). Otro efecto debido al uso de compuestos con propiedades de escarificación, es la inactivación de enzimas relacionadas con la germinación (Martínez-Cárdenas *et al.*, 2006). En este estudio, se detectó que un tiempo de inmersión mayor a 10 min en H_2SO_4 , causó necrosis y muerte de la radícula recién emergida; por lo que se sugiere reducir la concentración y el tiempo de inmersión de *F. pilosus* en H_2SO_4 a 1.5 min (Navarro y González, 2007).

Los compuestos pre-germinativos aplicados en semillas de *F. pilosus* en ambos años, disminuyeron el tiempo de germinación de aproximadamente de 10 a 3 días con respecto al testigo (Figura 1 y 2). El espesor y la composición química de la testa pueden interferir en la permeabilidad del agua en la semilla y afectar la germinación; esta interferencia se ha reportado en semillas de cactáceas (Navarro y Deméneghi, 2007), donde el término de latencia física se utiliza para referirse a la ausencia de germinación como resultado de la impermeabilidad del agua debido a la testa. Se ha sugerido que *F. pilosus* presenta memoria de hidratación (Contreras-Quiroz *et al.*, 2016a).

Es decir, después de que las semillas se dispersan en el campo, permanecen en la superficie del suelo expuestas a ciclos de hidratación discontinuos siendo factor clave en la dinámica de las plantas del desierto, como estrategia adaptativa para aplazar la germinación en zonas áridas donde las condiciones climáticas son impredecibles, con precipitación pluvial anual menor a los 500 mm y que precipitaciones en un lapso temporal reducido puede llegar a producir un efecto fisiológico en semillas con diferente grado de latencia sincronizando su germinación de forma acumulada (Contreras-Quiroz *et al.*, 2016a, 2016b).

Por lo cual, una ventaja de la semilla es acelerar la germinación, debido al corto tiempo que la superficie del suelo puede retener humedad. El tiempo y porcentaje de germinación parece ser similar a lo que ocurre al usar H₂SO₄ o aplicación continua de H₂O, del mismo modo que responde con hidratación discontinua (Contreras-Quiroz *et al.*, 2016a). Por lo que las semillas de biznaga bajo condiciones naturales requieren de un dispersor para ablandar la testa (jugos gástricos) y aprovechar la escasa agua de lluvia retenida en las partículas del suelo para germinar (Loustalot *et al.*, 2014; Sánchez-Villegas y Rascón-Chu, 2017).

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio la respuesta germinativa de las semillas es variable; sin embargo, el compuesto químico H₂SO₄ favorece la germinación hasta 82%, mientras que el RCV, GA₃ proporciona 48% de germinación, ligeramente mayor que el testigo.

Literatura citada

- Alanís, F. G. J. y Velasco, M. C. G. 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el Noreste de México. Ciencia UANL. 11(1):5-11.
- Amador, A. K. A.; Díaz, G. J.; Loza, C. S. y Bivián, C. E. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). Polibot. 35(1):109-131.
- Bravo, H. H. y Sánchez, M. H. 1991. Las cactáceas de México. Volumen II. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, DF. 404 p.
- Bravo, H. H. y Scheinvar, L. 1999. El interesante mundo de las Cactáceas. Fondo de Cultura Económica (FCE). Segunda edición. México, DF. 223 p.
- Contreras, Q. M. Del R.; Pando, M. M.; Flores, J. and Jurado, E. 2016a. Effects of wetting and drying cycles on the germination of nine species of the Chihuahuan Desert. Bot. Sci. 94(2):221-228.

- Contreras, Q. M.; Pando, M. M.; Jurado, E.; Bauk, K.; Gurvich, D. E. and Flores, J. 2016b. Is seed hydration memory dependent on climate? Testing this hypothesis with Mexican and Argentinian cacti species. *J. Arid Environ.* 130(1):94-97.
- De Menezes, G. L.; Machado, M. de F. P. S.; Ballesta, P.; Mora, F.; Milaneze, G. M. A. y Aparecida, M. C. 2016. Suplementos orgánicos para el cultivo in vitro del híbrido *Laeliocattleya* (Orchidaceae). *IDESIA*. 34(1):47-54.
- Dehgan, B. and Pérez, H. E. 2005. Preliminary study shows germination of Caribbean Apple Cactus (*Harrisia fragrans*) improved with acid scarification and gibberellic acid. *Native Plants J.* 6(1):91-95.
- Del Castillo, R. 1986. Semillas, germinación y establecimiento de *Ferocactus histrix*. *Cact. Suc. Mex.* 31(1):5-11.
- Deno, N. C. 1994. The critical role of gibberellins in germination and survival of certain cacti. *Cact. Succ. J.* 66(1):28-30.
- DOF. 2010. (Diario Oficial de la Federación). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. 30 de diciembre de 2010. México, DF. 78 p.
- Emongor, V. E.; Mathowa, T. and Kabelo, S. 2004. The effect of hot water, sulphuric acid, nitric acid, gibberellic acid and ethephon on the germination of *Corchorus (Corchorus tridens)* seed. *J. Agron.* 3(3):196-200.
- Escobar, V. y Huerta, F. 1999. Relaciones ecológicas de *Ferocactus histrix* (DC.) Lindsay en los Llanos de Ojuelos, Jalisco-Zacatecas. *Cact. Suc. Mex.* 44(2):40-48.
- Flores, J. y Jurado, E. 2011. Germinación de especies de cactáceas en categoría de riesgo del desierto chihuahuense. *Rev. Mex. Cienc. Fores.* 8(2):59-70.
- Guzmán, U.; Arias, S. y Dávila, P. 2003. Catálogo de cactáceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México, DF. 315 p.
- Hernández, M. H. 2006. La vida en los desiertos mexicanos. Colección: la ciencia para todos No. 213. Fondo de Cultura Económica. México, DF. 188 p.
- Hernández, M. H. y Godínez, A. H. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Bot. Mex.* 26(1): 33-52.
- ISTA. 2011. International Seed Testing Association Rules proposals for the international rules for seed testing 2011 edition ISTA. Bassersdorf, Switzerland. 53 p.
- Jiménez, S. C. L. 2011. Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Rev. Digital Universitaria.* 12(1):1-23.
- Jurado, E. and Flores, J. 2005. Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits? *J. Veg. Sci.* 16(5):559-564.
- Lara, J. E. I.; Treviño-Carreón, J.; Estrada D. B.; Poot, P. W. A.; Vargas-Tristán, V. y Ballesteros-Barrera, C. 2016. Determinación de las especies nodriza de *Ferocactus pilosus* (Galeotti) Werderm. (Cactaceae) en Miquihuana, Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Agroecosist.* 3(2):184-194.
- Loustalot, L. E.; Malda, B. G. X.; Suzán, A. H.; Hernández, S. L.G. y Guevara, E. A. 2014. Estudio de germinación y crecimiento en semillas de *Ferocactus histrix* (De Candolle). *Cact. Suc. Mex.* 59(3):79-95.
- Mandujano, M. C.; Golubov, J. y Rojas-Aréchiga, M. 2007. Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del Desierto Chihuahuense. *Cact. Suc. Mex.* 52(2):46-52.

- Martínez-Cárdenas, M. de L.; Cabrera-Jiménez, M. del C.; Carmona, A. y Varela-Hernández, G. J. 2006. Promoción de la germinación de semillas de *Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum y *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. *Cac. Suc. Mex.* 51(4):111-121.
- Mora, D. C. A.; Rubio, C. E. A.; Alanís, R. E.; Jiménez, P. J.; González, T. Mata, B. M. A. y Mora, O. J. M. 2014. Composición y diversidad vegetal de un área de matorral desértico micrófilo con historial pecuario en el noreste de México. *Polibot.* 38(1):53-66.
- Myers, R. H.; Montgomery, D. C. and Vining, G. G. 2002. Generalized linear models, with applications in engineering and the sciences. John Wiley and Sons Press. New York, USA. 342 p.
- Navarro, C. M. C.; Cervantes, O. G. y Lázaro, C. J. O. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. *Zonas Áridas.* 12(1):97-105.
- Navarro, C. M. C.; Saldívar, S. S y Eliosa, L. H. R. 2010. Efecto de la escarificación y de la edad de semillas en la germinación de *Mammillaria mystax*. *Zonas Áridas* 14(1):196-205.
- Navarro, M. C. y Deméneghi, A. P. 2007. Germinación de semillas y efecto de las hormonas en el crecimiento de *Mammillaria pectinifera*. *Zon. Ári.* 11(1):233-23.
- Navarro, M. C. y González, E. M. 2007. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación y crecimiento de *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Rose (Cactaceae). *Zonas Áridas.* 11(1):195-205.
- Navarro, M. C. y Juárez, M. S. 2006. Evaluación de algunos parámetros demográficos de *Mammillaria zephyranthoides* en Cuautinchán Puebla, México. *Zon. Ári.* 10:74-83.
- Ortiz, H. H. Y. D. and Carrillo, S. J. A. 2012. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review *Comunicata Sci.* 3(4):220-237.
- Rojas, A. M. y Vázquez, Y. C. 2000. Cactus seed germination: a review. *J. Ar. Environ.* 44(1):85-104.
- Sánchez, J.; Muro, G., Flores, J.; Jurado, E. y Sáenz, M. J. 2015. Los bancos de semillas y su germinación en ambientes semiáridos. *Ciencia UANL.* 18(73):69-76.
- Sánchez, V. A. y Rascón, C. A. 2017. Efecto de la escarificación química y del ácido giberélico en la germinación de *Mammillaria mainiae*. *Cact. Suc. Mex.* 62(1):4-12.
- SPP-INEGI. 1983. (Secretaría de Programación y Presupuesto, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Información). Síntesis geográfica del estado de Tamaulipas. Dirección General de Geografía. México, DF. 158 p.
- SAS (Statistical Analysis System). Institute Inc. 2007. SAS 9.1.3 for Windows Microsoft. SAS Institute Inc., Cary. North Carolina, USA. 212 p.