

## Tratamientos pregerminativos y morfología *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* y *Echinocactus horizonthalonius*

### Seed weight and pregerminative treatments in the *in vitro* germination of *Echinocactus platyacanthus* and *Echinocactus horizonthalonius*

Dolores Adilene García-González<sup>1</sup> , Pedro Osuna-Avila<sup>1\*</sup> , Juan Pedro Flores-Margez<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas. Av. Benjamín Franklin no. 4650, Zona Pronaf Condominio La Plata, 32310 Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

\*Autor de correspondencia: [posuna@uacj.mx](mailto:posuna@uacj.mx)

#### Artículo científico

Recibido: 12 de marzo 2025

Aceptado: 19 de marzo 2026

**RESUMEN.** *Echinocactus platyacanthus* y *Echinocactus horizonthalonius* se encuentran en constante riesgo por deterioro de su hábitat natural. El objetivo fue comparar el peso de la semilla entre *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* y que efecto tiene sobre las variables morfométricas de la semilla. Determinar si la interacción entre los tratamientos pregerminativos y peso de la semilla tiene efecto en la germinación y tamaño de plántulas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* y realizar una descripción morfológica de las plántulas durante 60 días de crecimiento. Las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* fueron divididas en tres categorías de peso. Los tratamientos pregerminativos fueron: control, remojo 24 horas, ácido sulfúrico 25%, ácido clorhídrico 30% y escarificación mecánica. Las plántulas del tratamiento escarificación mecánica fueron fotografiadas durante 60 días para descripción morfológica. Las semillas de *E. horizonthalonius* de la categoría peso 3, mostraron el mayor tamaño con  $3.06 \pm 0.07$  mm de largo,  $2.28 \pm 0.07$  mm de ancho y área de  $5.09 \pm 0.20$  mm<sup>2</sup>. En *E. platyacanthus* las semillas de la categoría de peso 2 con tratamiento de remojo 24 horas, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y escarificación mecánica obtuvieron 100% de germinación. La interacción de tratamiento pregerminativo y peso de semilla indica que las semillas de peso medio de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* se obtiene el mayor porcentaje de germinación y tamaño de plántulas. La escarificación mecánica, promueve mayor germinación en las semillas de *E. horizonthalonius* y las plántulas de ambas especies presentaron diferencias morfológicas durante los primeros 60 días de vida.

**Palabras clave:** Escarificación mecánica, escarificación química, tamaño semilla, descripción, tamaño plántulas.

**ABSTRACT.** *Echinocactus platyacanthus* and *Echinocactus horizonthalonius* are in constant risk due to the deterioration of its natural habitat. The objective was to compare seed weight among *E. platyacanthus* and *E. horizonthalonius* and what effect does it have with seeds's morphometric variables. To determine if the interaction among pregerminative treatments and seed weight have an effect on the germination percentage and seedling size as well and produce a morphological description of the seedlings for 60 days. The seeds of *E. platyacanthus* and *E. horizonthalonius* were divided into three weight categories. The pregerminative treatments were control, soaking in water for 24 hours, 25% sulfuric acid, 30% hydrochloric acid and mechanical scarification. The seedlings obtained with mechanical scarification were photographed for morphological description for 60 days. Weight category 3 of *E. horizonthalonius* seeds showed the largest size with  $3.06 \pm 0.07$  mm in length,  $2.28 \pm 0.07$  mm in width, and an area of  $5.09 \pm 0.20$  mm<sup>2</sup>. *E. platyacanthus* seeds of weight category 2 with 24-hour soaking water treatment, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and mechanical scarification obtained 100% germination. The interaction of pregerminative treatments and seed weight indicate that the highest percentage of germination and seedling size is obtained with medium-sized seeds of *E. platyacanthus* and *E. horizonthalonius*. The mechanical scarification treatment promotes the highest germination in *E. horizonthalonius* seeds. The seedlings of both species presented morphological differences in the first 60 days of growth.

**Keywords:** Chemical scarification, mechanical scarification, seed size, description, seedling size.

## INTRODUCCIÓN

*Echinocactus platyacanthus* o biznaga burra, es una especie que en la NOM-059-SEMARNAT-2010 está sujeta a protección especial (SEMARNAT 2010). Mientras que en Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés), se encuentra como amenazada (IUCN 2024). Estas normas dictaminan que los individuos de sus poblaciones se encuentran en declive, debido a su uso desmedido como alimento para humanos/animales, medicinal y por la agricultura; por ello deben existir restricciones para su aprovechamiento (Gómez-Serrano *et al.* 2021). En cambio, *Echinocactus horzonthalonius* o biznaga meloncillo, según la NOM-059-SEMARNAT-2010 no se encuentra en alguna categoría de riesgo (SEMARNAT 2010). La IUCN la cataloga como preocupación menor, sin embargo, enfatiza que los territorios donde se distribuye se encuentran en constante deterioro por actividades como la agricultura, desarrollo comercial/habitacional y por la excesiva colecta para su uso ornamental (IUCN 2024). En consecuencia, es importante promover la conservación y propagación de estas especies de importancia ecológica.

En condiciones naturales, la principal forma de reproducción de las cactáceas es a través de la semilla, pero de cada 1 000 semillas producidas solo una planta alcanza la edad reproductiva (Almeida *et al.* 2021). Esto indica que dichas poblaciones son difíciles de establecerse naturalmente en sus ecosistemas y que es necesario buscar alternativas para elevar su porcentaje de germinación para contribuir a su conservación. Una forma de incrementar la germinación de las semillas y obtener plántulas libres de patógenos es la germinación *in vitro* (Costa *et al.* 2022). Esta técnica utiliza medios de cultivo donde las semillas con tratamientos pregerminativos podrían germinar bajo condiciones ambientales controladas que contribuirían a su propagación *ex situ* (Villanueva *et al.* 2016). Un tratamiento pregerminativo posible es la escarificación química. Este tratamiento consiste en simular semillas digeridas por herbívoros (Sánchez-Villegas y Rascón-Chu 2017), Algunos ejemplos son el uso de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) o ácido clorhídrico (HCl), quienes adelgazan la cubierta de la semilla (Utami *et al.* 2021). La escarificación mecánica, es otra alternativa que consiste en remover o desgastar la cubierta seminal para permitir la asimilación de humedad a y expansión del embrión para facilitar la germinación (Robles-Martínez *et al.* 2016).

Son variadas las investigaciones que se han reportado sobre los tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de *E. platyacanthus*. Algunos ejemplos son: combinaciones de escarificación química y concentraciones de medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962), así como las condiciones de *ex vitro* e *in vitro*. El método más efectivo fue combinar cultivo *in vitro* aplicando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante una hora lo que permitió obtener 100% de germinación (Rosas-López y Collazo-Ortega 2004). El tratamiento térmico a sus semillas con agua a 50° C por 15 minutos ha logrado un 70.11% de germinación *in vitro* (Villanueva *et al.* 2016). El uso de diferentes gelificantes, como el agar-agar, ha promovido el 98% de germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas (López-Escamilla *et al.* 2016). La adición de ácido giberélico en agar mostró el 67.8 ± 11.85% de germinación (Mascot-Gómez *et al.* 2019). El papel filtro húmedo ha promovido 100% de germinación de semillas colectadas en diferentes sitios (Ruiz-Pérez *et al.* 2021). También se ha alcanzado 100% de germinación en sustrato de arena (*ex vitro*), y el más bajo con un 36% de germinación en medio MS al 50% (Manzo *et al.* 2022). Para *E. horzonthalonius*, solo se encontró la publicación de Valero *et al.*

(2023) quién utilizó cajas Petri conteniendo suelo estéril como sustrato para promover un porcentaje máximo de 15.5% de germinación.

Por otra parte, el tamaño de las semillas también influye en el desarrollo y establecimiento de las plántulas (Mendoza-Pedroza *et al.* 2023). Esto se debe a que mientras más pesadas sean las semillas, las reservas de nutrientes serán mayores, por lo tanto, sería posible obtener mayor porcentaje de germinación (Pivatto *et al.* 2014). Lo que también se refleja en plántulas de mayor tamaño, representando una ventaja para la supervivencia en su ambiente natural, no obstante, estas características han sido poco estudiadas en cactáceas (Martino *et al.* 2021). El conocimiento sobre el desarrollo de las semillas y plántulas en cactáceas es de gran importancia para saber cómo es que estas plantas se van estableciendo en su hábitat natural (Camacho-Velázquez *et al.* 2018). El estudio de los diferentes órganos de las plántulas permite conocer los cambios morfológicos que ocurren en las especies a través de los diferentes estadios fenológicos, los cuales son importantes para la clasificación y taxonomía (Loza-Cornejo y Terrazas 2011). Con el conocimiento de estas características podría ser viable la identificación de las especies en etapas juveniles, contribuyendo a la conservación *in situ* y *ex situ* de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius*. El objetivo fue comparar el peso de la semilla entre *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* y que efecto tiene sobre las variables morfométricas como: largo, ancho y área de la semilla, grosor de la testa, el largo y área del embrión. Determinar si la interacción entre los tratamientos pregerminativos y peso de la semilla tiene un efecto sobre la germinación y tamaño de las plántulas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* así como realizar una descripción morfológica de las plántulas de hasta los 60 días de crecimiento *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tamaño de las semillas

Las semillas de *E. horizonthalonius* fueron colectadas en el municipio de Juárez Chihuahua, México en septiembre de 2023 a partir de 25 frutos maduros pertenecientes a 25 plantas adultas. Las semillas de *E. platyacanthus* se colectaron en el estado de Querétaro, México en marzo de 2021. Se colectaron tres frutos pertenecientes a tres plantas, de cada fruto fueron extraídas aproximadamente 200 semillas, formando un único lote de 600 semillas. Gold *et al.* (2004), menciona que un número adecuado de colecta de semillas con fines de conservación a corto plazo y desarrollo de protocolos de germinación es de 300 a 1 000. Los frutos de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* al momento de la colecta se encontraban adheridos a la planta y no presentaban dehiscencia. El número de frutos utilizados difiere entre ambas especies debido a la cantidad de semillas que se pueden obtener de cada uno. Los frutos de *E. horizonthalonius* presentaron un promedio de  $51.13 \pm 3.86$  semillas por fruto, mientras que para *E. platyacanthus*, Rojas-Aréchiga y Mandujano-Sánchez (2017), reportan que esta especie presenta un promedio de  $676.28 \pm 314.37$  semillas por fruto. Las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* se almacenaron en sobres de papel a temperatura de  $25 \pm 1$  °C. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales ubicado en el Instituto de Ciencias Biomédicas en la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez en Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

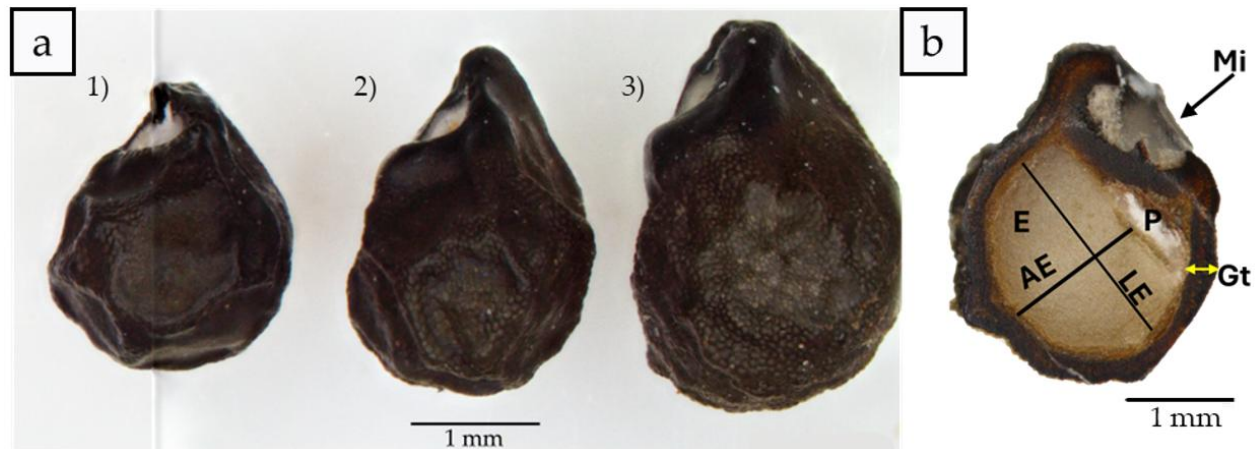
Las semillas fueron seleccionadas y se descartaron aquellas que presentaran alguna anomalía. Para establecer las tres categorías de peso de las semillas, inicialmente se pesaron una por una, 100 semillas, de ambas especies en una báscula analítica (Sartorius® peso máximo 61 g, Goettingen, Alemania). Para saber el peso mínimo y máximo de las semillas, se siguió el método empleado de pesado y agrupamiento por Osuna-Ávila *et al.*, (2025). Las semillas se agruparon con base en la distribución de las frecuencias de pesos que mostraron. Las semillas de *E. horizonthalonius* registraron peso mínimo de 2.9 mg y máximo de 9.0 mg por lo que, las tres categorías de peso quedaron de la siguiente manera: 1)  $\leq 3.5$  mg 2) 3.6 a 6.0 mg y 3)  $\geq 6.1$  mg. Para las semillas de *E. platyacanthus* el peso mínimo registrado fue de 1.5 mg y máximo de 2.3 mg y las tres categorías de peso fueron: 1)  $\leq 1.7$  mg, 2) 1.8 a 1.9 mg y 3)  $\geq 2.0$  mg (Figura 1a y 2a). Una vez pesadas las semillas, se colocaron 180 semillas para cada categoría de peso. Para realizar las mediciones del largo (mm), ancho (mm) y área (mm<sup>2</sup>) de la semilla, se tomaron aleatoriamente 10 semillas de cada categoría de peso de cada especie siguiendo el método de Guerrero-Muñoz *et al.* (2006). Las mediciones se realizaron observando las semillas a través de un microscopio estereoscópico (SMZ 800, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón) conectado con el programa computacional NIS-elements (BR, v. 4.30.02, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón), el cual proporcionó los datos. Consecutivamente, se seleccionaron aleatoriamente otras 10 semillas de cada categoría de peso de cada especie y se fijaron en un portaobjetos con pegamento (Kola Loka®). Guerrero-Muñoz *et al.* (2006), afirman que las semillas de las cactáceas presentan testa dura y que, para poder observar las estructuras internas de las semillas, es necesario desgastar o limar la testa hasta llegar al plano medio y observar el embrión. La testa de las semillas fue desgastada mecánicamente con una lija de agua número 2000 (Fandeli®) hasta que el embrión fue visible. A las semillas lijadas se les midió el largo del embrión (mm) ancho del embrión (mm), área del embrión (mm<sup>2</sup>) y grosor de la testa (mm) (Figura 1b y 2b). El método de Guerrero-Muñoz *et al.* (2006) y Cano-Vázquez *et al.* (2015), auxilio en identificar las diferentes partes internas de las semillas lijadas. Las mediciones se realizaron y fueron proporcionadas por el programa computacional NIS-elements (BR, v. 4.30.02, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón) observando las semillas a través del microscopio estereoscópico (Nikon SMZ 800, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón).

### **Influencia de tratamientos pregerminativos en el porcentaje de germinación y tamaño de plántulas**

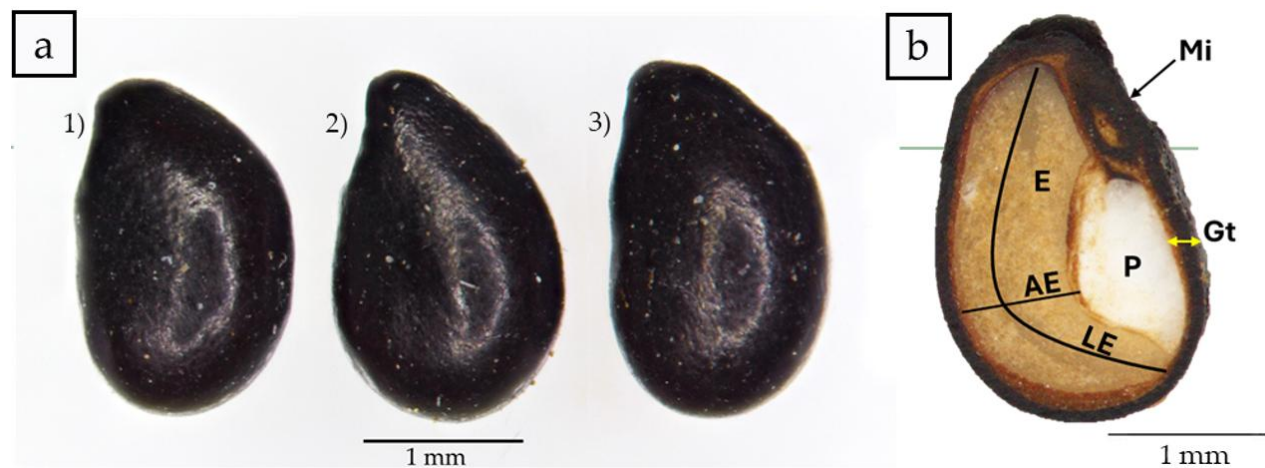
Las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* se sometieron a cinco tratamientos pregerminativos. Para caracterizar los requerimientos de germinación de las semillas, los tratamientos aplicados fueron variados como lo realizado por Sánchez-Salas *et al.* (2006), González *et al.* (2024) y Osuna-Ávila *et al.* (2025). Los cuales fueron: 1) Control: que consistió en utilizar semillas intactas y solo realizando tratamiento aséptico para evitar la contaminación del medio de cultivo. 2) Remojo: las semillas asépticas se dejaron remojando con agua destilada estéril durante 24 horas. 3) Escarificación química con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 25%: las semillas se colocaron en la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante cinco minutos y posteriormente se lavaron con agua destilada. 4) Escarificación química con ácido clorhídrico (HCl) al 30%: las semillas se colocaron en la solución de HCl durante cinco minutos y consecutivamente se lavaron con agua destilada. 5) Escarificación mecánica: siguiendo el método empleado por García-González *et al.* (2020), primero se aplicó el



tratamiento de asepsia a las semillas y posteriormente se dejaron sumergidas en agua destilada estéril durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se les removió aproximadamente el 50% de la testa utilizando pinzas y bisturí, observadas a través de un microscopio estereoscópico (Velab®) bajo condiciones asépticas.



**Figura 1.** Semillas de las tres categorías de peso y escarificadas con lija de *E. horizonthalonius*. a) 1) semillas de  $\leq 3.5$  mg, 2) semillas de 3.6 a 6.0 mg y 3) semillas de  $\geq 6.1$  mg (2  $\times$ ). Semilla de *E. horizonthalonius* desgastada con lija exponiendo al embrión. E = embrión, Mi = micrópilo, P = perispermo, LE = longitud de la semilla, AE = ancho del embrión, Gt = grosor de la testa (2  $\times$ ).



**Figura 2.** Semillas las tres categorías de peso de *E. platyacanthus*. a) 1) semillas de  $\leq 1.7$  mg, 2) semillas de 1.8 a 1.9 mg y 3) semillas de  $\geq 2.0$  mg (2  $\times$ ). b) Semilla de *E. platyacanthus* desgastada con lija exponiendo al embrión. E = embrión, Mi = micrópilo, P = perispermo, LE = longitud de la semilla, AE = ancho del embrión, Gt = grosor de la testa (3  $\times$ ).

A todas las semillas se les aplicó el mismo tratamiento de asepsia; primero se lavaron con agua y jabón líquido (Axion®) durante 5 minutos en agitación constante con un agitador para microplaca (Isotemp®, Fisher Scientific, Pittsburgh, Pennsylvania, EUA) y se enjuagaron con abundante agua corriente. Posteriormente, se colocaron en una solución de cloro comercial (Cloralax®) al 50% durante 20 minutos en agitación constante con un agitador para microplaca (Isotemp®, Fisher Scientific, Pittsburgh, Pennsylvania, EUA) y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril en una campana de flujo laminar vertical (Isaac Lab® Zapopan, Jalisco, México).

Las semillas asépticas se pusieron a germinar en un medio de cultivo MS al 25% de concentración de macro y micronutrientes, adicionado con 30 g L<sup>-1</sup> de azúcar morena. El pH del medio de cultivo se ajustó a 5.7 ± 0.1. El gelificante usado fue agar para micropropagación tipo I (Caisson Laboratories®) 7 g L<sup>-1</sup>. El medio de cultivo se esterilizó en autoclave horizontal de vapor (Terlab®, TE-A22, Tepic, Nayarit, México) a 121 °C durante 30 minutos. Posteriormente, el medio de cultivo se vació en frascos de vidrio (volumen 60 mL) a los cuales se les vertieron de 20 a 25 mL del medio de cultivo. La unidad experimental fue el frasco de vidrio con tres repeticiones y 10 semillas en cada uno, para cada tratamiento y por categoría de peso, utilizando un total de 450 semillas en cada especie. El número de semillas utilizadas en cada tratamiento es similar a lo reportado en *E. platyacanthus* (Rosas-López y Collazo-Ortega 2004) y en *Stenocereus beneckeii* (Ayala-Cordero *et al.* 2004). Las semillas una vez colocadas en los frascos se incubaron en cámara bioclimática de cultivo de tejidos vegetales (ubicada en el edificio V del Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez), con intensidad lumínica de 111 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-2</sup>, fotoperiodo de 16 horas luz y temperatura de 25 ± 1 °C. Se consideró como semilla germinada la emergencia de la radícula a través de la testa, aproximadamente 2 mm como lo reportan González *et al.* (2024) para considerar una semilla como germinada. La germinación de las semillas fue monitoreada cada 48 horas durante 30 días. Transcurrido el tiempo de germinación, se valuó el efecto del tratamiento pregerminativo y el peso de las semillas en el tamaño de las plántulas de 30 días. Las plántulas fueron medidas en su altura del tallo (mm), diámetro del tallo (mm) y longitud de la raíz (mm) utilizando un vernier digital (Truper®, Caldi-6mp, Estado de México, México).

### Morfología de plántulas

Para monitorear la morfología, se utilizaron las plántulas provenientes del tratamiento pregerminativo de escarificación mecánica de *E. horizonthalonius* y *E. platyacanthus*. Fueron monitoreadas durante 60 días de cultivo *in vitro*. A las plántulas se les registró desde el inicio de la germinación y cada 15 días los cambios morfológicos a través de imágenes digitales. Las plántulas se mantuvieron en condiciones asépticas y se observaron a través del microscopio estereoscópico (SMZ 800, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón). Las imágenes fueron capturadas con cámara digital (Digital Sight DS-Fi2, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón) y fueron procesadas con el programa computacional NIS-elements (BR, v. 4.30.02, Nikon®, Nikon Corporation, Konan Minato-Ku, Tokio, Japón).

### Análisis estadístico

Para el análisis del tamaño de las semillas completas y mediciones internas a las semillas, se realizó un análisis de correlación de Pearson según el peso de las semillas y las variables morfométricas analizadas: largo de la semilla, ancho de la semilla, área de la semilla, longitud del embrión, área del embrión y grosor de la testa. El análisis de normalidad de datos fue con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, así al cumplirse este supuesto estadístico, se procedió a realizar un análisis de varianza de dos vías para un diseño completamente al azar con arreglo factorial y comparación múltiple de promedios con la técnica de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). El primer factor fue la especie con dos niveles y el segundo factor fueron las categorías de peso de las semillas con seis niveles. Para el análisis del efecto del tratamiento pregerminativo y peso de las semillas en el porcentaje de germinación, al tratarse de una variable binomial no paramétrica se utilizó la prueba U de Mann-

Witney para dos muestras independientes, con la que se analiza si existe diferencia entre dos muestras, de manera que se compararon cada una de las 30 combinaciones de tratamientos en parejas ( $p \leq 0.05$ ). Para analizar el efecto del tratamiento pregerminativo y peso de la semilla en el tamaño de las plántulas de 30 días de *E. platyacanthus*, se realizó un análisis de varianza completamente al azar con arreglo factorial y comparación de promedios de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). El primer factor fue el peso de la semilla con tres niveles y el segundo factor los tratamientos pregerminativos con cinco niveles. Mientras que en *E. horzonthalonius* se transformaron los datos a arcoseno para lograr una distribución normal ( $p < 0.01$ ) y luego se realizó una prueba de comparación de promedios Tukey para los datos disponibles ya que algunos tratamientos no presentaron crecimiento de plántulas. Los análisis fueron realizados con el programa SPSS versión 24.0 (IBM 2017).

## RESULTADOS

### Tamaño de las semillas

En las semillas de *E. horzonthalonius*, el análisis estadístico demostró que el peso de la semilla tiene un efecto significativo en el tamaño (mm) de las semillas, debido a que las semillas de la categoría de peso 3 mostraron un promedio de  $3.06 \pm 0.07$  mm de largo ( $p = 0.007$ ) y  $2.28 \pm 0.07$  mm de ancho ( $p = 0.0001$ ). El análisis de regresión solo fue significativo en el área de la semilla de *E. horzonthalonius*, indicando que conforme aumenta el peso de las semillas también aumentan en área con promedio de  $5.09 \pm 0.20$  mm<sup>2</sup> ( $r = 0.504$ ,  $p = 0.003$ ). En cambio, para *E. platyacanthus* el análisis estadístico de los datos muestra que el peso de las semillas no afecta al tamaño de la semilla (largo, ancho y área) ( $r = 0.5703$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Promedio del largo, ancho y área de semillas completas de diferentes categorías de peso de *E. platyacanthus* y *E. horzonthalonius*.

| Especie                   | Variables morfométricas de las semillas |                   |                   |                                       |
|---------------------------|---|-------------------|-------------------|---------------------------------------|
|                           | Categoría de peso de la semilla         | Largo (mm)        | Ancho (mm)        | área de la semilla (mm <sup>2</sup> ) |
| <i>E. platyacanthus</i>   | 1                                       | $2.05 \pm 0.01^c$ | $1.37 \pm 0.02^c$ | $2.18 \pm 0.02^c$                     |
| <i>E. platyacanthus</i>   | 2                                       | $2.11 \pm 0.01^c$ | $1.39 \pm 0.05^b$ | $2.33 \pm 0.06^b$                     |
| <i>E. platyacanthus</i>   | 3                                       | $2.16 \pm 0.01^c$ | $1.51 \pm 0.06^b$ | $2.46 \pm 0.09^b$                     |
| <i>E. horzonthalonius</i> | 1                                       | $2.58 \pm 0.07^b$ | $1.99 \pm 0.05^a$ | $3.76 \pm 0.17^a$                     |
| <i>E. horzonthalonius</i> | 2                                       | $2.74 \pm 0.08^b$ | $2.00 \pm 0.05^a$ | $4.14 \pm 0.15^a$                     |
| <i>E. horzonthalonius</i> | 3                                       | $3.06 \pm 0.07^a$ | $2.28 \pm 0.07^a$ | $5.09 \pm 0.20^a$                     |

Medias  $\pm$  el error estándar, con una letra en común no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). n = 10.

Los resultados obtenidos indican que a mayor peso de las semillas de *E. horzonthalonius* aumenta el largo del embrión al obtener un promedio de  $3.13 \pm 0.20$  mm ( $r = 0.5526$ ,  $p = 0.0001$ ) en las semillas de la categoría de peso 3. Respecto al área del embrión, existen diferencias significativas entre las especies, siendo los embriones de *E. horzonthalonius* de la categoría de peso 3 los de mayor área con  $6.92 \pm 0.62$  mm<sup>2</sup> ( $r = 0.6538$ ,  $p = 0.0001$ ). Para *E. platyacanthus*, los embriones de la categoría de peso 3 fueron los de mayor área con  $1.89 \pm 0.07$  mm<sup>2</sup>, aunque, esta fue casi tres veces menor que la

de los embriones de *E. horizonthalonius*. No obstante, el análisis de regresión reveló una predisposición de que a mayor peso de la semilla mayor será el área del embrión ( $r = 0.7674$ ). En cuanto al grosor de la testa, para ambas especies se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ), donde la testa más gruesa la presentaron las semillas más pesadas (categoría 3) de *E. horizonthalonius* con  $0.41 \pm 0.007$  mm ( $r = 0.748$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tamaño del embrión y grosor de la testa, según el peso de la semilla de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius*.

| Especie                    | Categoría de peso | Variables morfométricas internas de las semillas |                           |                                 |                            |
|----------------------------|-------------------|--|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|
|                            |                   | Largo embrión (mm)                               | Ancho embrión (mm)        | Área embrión (mm <sup>2</sup> ) | Grosor de la testa (mm)    |
| <i>E. platyacanthus</i>    | 1                 | 1.51 ± 0.02 <sup>b</sup>                         | 0.73 ± 0.02 <sup>c</sup>  | 1.09 ± 0.02 <sup>c</sup>        | 0.22 ± 0.100 <sup>bc</sup> |
| <i>E. platyacanthus</i>    | 2                 | 1.64 ± 0.03 <sup>b</sup>                         | 0.95 ± 0.03 <sup>ab</sup> | 1.56 ± 0.04 <sup>c</sup>        | 0.09 ± 0.004 <sup>c</sup>  |
| <i>E. platyacanthus</i>    | 3                 | 1.58 ± 0.04 <sup>b</sup>                         | 1.20 ± 0.07 <sup>b</sup>  | 1.89 ± 0.07 <sup>c</sup>        | 0.10 ± 0.003 <sup>c</sup>  |
| <i>E. horizonthalonius</i> | 1                 | 1.65 ± 0.08 <sup>b</sup>                         | 0.93 ± 0.04 <sup>c</sup>  | 1.54 ± 0.10 <sup>c</sup>        | 0.15 ± 0.010 <sup>c</sup>  |
| <i>E. horizonthalonius</i> | 2                 | 2.74 ± 0.05 <sup>a</sup>                         | 1.95 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 5.30 ± 0.18 <sup>b</sup>        | 0.38 ± 0.008 <sup>ab</sup> |
| <i>E. horizonthalonius</i> | 3                 | 3.13 ± 0.20 <sup>a</sup>                         | 2.17 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 6.92 ± 0.62 <sup>a</sup>        | 0.41 ± 0.007 <sup>a</sup>  |

Medias ± el error estándar, con una letra en común no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). n = 10.

### Influencia de tratamientos pregerminativos en el porcentaje de germinación y tamaño de plántulas

El peso de la semilla, la especie y el tratamiento pregerminativo, mostraron un efecto significativo en la germinación de las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius*. Se obtuvo 100% de germinación en las semillas de la categoría de peso 2 de *E. platyacanthus* con los tratamientos de remojo 24 horas, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y escarificación mecánica. Aunque el porcentaje de germinación fue el 100% para los tres tratamientos, la escarificación mecánica resulta ser más eficiente ya que se observó que la germinación inicia partir del tercer día. Para las semillas de *E. horizonthalonius* igualmente las semillas de la categoría de peso 2 mostraron los mejores resultados de germinación con  $60 \pm 0.09\%$  con el tratamiento de escarificación mecánica, mientras que el resto de los tratamientos no fueron efectivos para promover la germinación de las semillas de *E. horizonthalonius* (Tabla 3).

El tallo de mayor altura se obtuvo en las plántulas de las semillas de la categoría de peso 2 en ambas especies. La altura del tallo en plántulas obtenidas con escarificación mecánica en *E. Horizonthalonius* fue de  $9.07 \pm 0.23$  mm de alto y para *E. platyacanthus* la mayor altura del tallo se registró con los tratamientos de remojo 24 horas y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con  $8.3 \pm 0.17$  mm y  $8.31 \pm 0.21$  mm respectivamente a los 30 días de cultivo *in vitro*. En cuanto al ancho del tallo, las plántulas de *E. horizonthalonius* mostraron el mayor promedio con  $5.04 \pm 0.11$  mm con el tratamiento de escarificación mecánica y semillas de la categoría de peso 2. Mientras que para *E. platyacanthus* el mayor promedio de ancho del tallo se obtuvo con el tratamiento de remojo y semillas de la categoría de peso 2 con  $4.68 \pm 0.15$  mm. Para la longitud de la raíz, las plántulas de *E. horizonthalonius*, de las semillas de la categoría de peso 3 y escarificación mecánica exhibieron la mayor longitud con  $14.27 \pm 3.7$  mm, seguido de las categorías de peso 1 y 2 con  $5.28 \pm 1.78$  mm y  $9.92 \pm 3.5$  mm respectivamente. Para las plántulas de *E. platyacanthus* las raíces más largas se



generaron de semillas de la categoría de peso 2 con tratamiento de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al presentar un promedio de 11.52 ± 0.79 mm de largo (Tabla 4).

**Tabla 3.** Influencia del tratamiento pregerminativo y el peso de la semilla en el porcentaje de germinación *in vitro* de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* a los 30 días de cultivo *in vitro*.

| Tratamiento                    | Categoría de peso | % de germinación           |                            |
|--------------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                |                   | <i>E. platyacanthus</i>    | <i>E. horizonthalonius</i> |
| Control                        | 1                 | 83.33 ± 0.06 <sup>ab</sup> | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| Control                        | 2                 | 96.67 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| Control                        | 3                 | 46.67 ± 0.09 <sup>c</sup>  | 6.67 ± 0.04 <sup>c</sup>   |
| Remojo                         | 1                 | 76.67 ± 0.07 <sup>ab</sup> | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| Remojo                         | 2                 | 100 ± 0 <sup>a</sup>       | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| Remojo                         | 3                 | 43.33 ± 0.06 <sup>b</sup>  | 3.33 ± 0.03 <sup>c</sup>   |
| HCl                            | 1                 | 6.67 ± 0.04 <sup>c</sup>   | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| HCl                            | 2                 | 6.67 ± 0.04 <sup>c</sup>   | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| HCl                            | 3                 | 0 ± 0 <sup>c</sup>         | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1                 | 93.33 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 2                 | 100 ± 0 <sup>a</sup>       | 6.67 ± 0.04 <sup>c</sup>   |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 3                 | 93.33 ± 0.04 <sup>ab</sup> | 0 ± 0 <sup>c</sup>         |
| Esc. Mec.                      | 1                 | 93.33 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 13.33 ± 0.06 <sup>bc</sup> |
| Esc. Mec.                      | 2                 | 100 ± 0 <sup>a</sup>       | 60.0 ± 0.09 <sup>a</sup>   |
| Esc. Mec.                      | 3                 | 96.67 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 43.33 ± 0.09 <sup>ab</sup> |

Medias ± el error estándar, con una letra en común no son significativamente diferentes de acuerdo ( $p < 0.05$ ). n = 30. Esc. Mec. = escarificación mecánica.

### Morfología de las plántulas

Se describen las diferentes características del proceso de germinación iniciando con semillas escarificadas mecánicamente en el día uno de *E. platyacanthus* (Figura 3a) y *E. horizonthalonius* (Figura 4a). Al tercer día de cultivo *in vitro* las semillas iniciaron la germinaron con el surgimiento de la radícula en ambas especies. En *E. platyacanthus* apenas se alcanza a distinguir la radícula del hipocótilo, ya que ambos son de color blanco. Los cotiledones aún se encuentran cubiertos por una porción de la testa y presenta una longitud de 3.75 mm desde el ápice hasta la radícula con 1.16 mm de diámetro (Figura 3b). En *E. horizonthalonius* a los tres días, la radícula es blanca, con una longitud de 3.38 mm y el hipocótilo de color amarillo, donde el tallo mide 2.96 mm de largo y 2.28 mm de diámetro (Figura 4b). A los siete días, las plántulas de *E. platyacanthus* exhiben un tono amarillo claro en la parte del hipocótilo y la radícula continua de color blanco mide 4.95 mm de longitud. Los cotiledones aún se encuentran cubiertos por la testa, el tallo tiene forma cilíndrica ya que es más alto que ancho con 4.91 mm de altura y 1.73 mm de diámetro (Figura 3c). En *E. horizonthalonius* a los siete días, ya se pueden observar los cotiledones, los cuales se encuentran próximos entre sí con una ligera separación en el ápice, son suculentos, tienen forma triangular, achatados y de color rojizo. El tallo muestra una forma redonda ya que la altura es de 5.63 mm,

muy similar al diámetro de 5.25 mm y la raíz tiene 15.17 mm de largo sin la formación de raíces secundarias (Figura 4c).

**Tabla 4.** Efecto del tratamiento pregerminativo y peso de la semilla en el tamaño de las plántulas de 30 días de cultivo *in vitro* de *E. platyacanthus* y *E. horizionthalonius*.

| Tratamiento                    | Categoría de peso | <i>E. platyacanthus</i>    |                            |                              | <i>E. horizionthalonius</i> |                           |                          |
|--------------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                |                   | Altura (mm)                | Ancho (mm)                 | Raíz (mm)                    | Altura (mm)                 | Ancho (mm)                | Raíz (mm)                |
| Control                        | 1                 | 6.36 ± 0.24 <sup>ab</sup>  | 3.39 ± 0.17 <sup>ab</sup>  | 5.13 ± 1.04 <sup>bcdef</sup> | NG                          | NG                        | NG                       |
| Control                        | 2                 | 7.85 ± 0.16 <sup>ab</sup>  | 3.37 ± 0.08 <sup>cd</sup>  | 7.54 ± 1.09 <sup>abcde</sup> | NG                          | NG                        | NG                       |
| Control                        | 3                 | 7.04 ± 0.27 <sup>abc</sup> | 3.42 ± 0.24 <sup>bcd</sup> | 4.73 ± 0.68 <sup>cdef</sup>  | 4.27 ± 0.49 <sup>bc</sup>   | 3.19 ± 0.07 <sup>ab</sup> | 1.15 ± 1.78 <sup>a</sup> |
| Remojo                         | 1                 | 8.1 ± 0.31 <sup>ab</sup>   | 3.74 ± 0.29 <sup>abc</sup> | 6.42 ± 0.64 <sup>abcde</sup> | NG                          | NG                        | NG                       |
| Remojo                         | 2                 | 8.3 ± 0.17 <sup>a</sup>    | 4.68 ± 0.15 <sup>a</sup>   | 7.55 ± 0.62 <sup>abcde</sup> | 4.07 ± 0.28 <sup>c</sup>    | 2.05 ± 0.12 <sup>c</sup>  | 5.29 ± 3.0 <sup>ab</sup> |
| Remojo                         | 3                 | 6.58 ± 0.36 <sup>abc</sup> | 3.39 ± 0.7 <sup>bcd</sup>  | 4.21 ± 1.2 <sup>cdef</sup>   | NG                          | NG                        | NG                       |
| HCl                            | 1                 | 6.66 ± 0.68 <sup>abc</sup> | 3.13 ± 0.35 <sup>cd</sup>  | 3.60 ± 0.6 <sup>def</sup>    | NG                          | NG                        | NG                       |
| HCl                            | 2                 | 5.76 ± 0.29 <sup>c</sup>   | 2.52 ± 0.42 <sup>d</sup>   | 2.95 ± 1.1 <sup>ef</sup>     | NG                          | NG                        | NG                       |
| HCl                            | 3                 | 6.07 ± 0.68 <sup>bc</sup>  | 2.48 ± 0 <sup>d</sup>      | 0 ± 0 <sup>f</sup>           | NG                          | NG                        | NG                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1                 | 8.04 ± 0.27 <sup>a</sup>   | 3.9 ± 0.11 <sup>abc</sup>  | 9.6 ± 0.75 <sup>abc</sup>    | NG                          | NG                        | NG                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 2                 | 8.31 ± 0.21 <sup>a</sup>   | 3.94 ± 0.06 <sup>abc</sup> | 11.52 ± 0.79 <sup>a</sup>    | 3.98 ± 1.74 <sup>c</sup>    | 3.14 ± 0.41 <sup>ab</sup> | 0 ± 0 <sup>a</sup>       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 3                 | 8.19 ± 0.43 <sup>a</sup>   | 4.09 ± 0.1 <sup>abc</sup>  | 9.41 ± 0.84 <sup>abc</sup>   | NG                          | NG                        | NG                       |
| Esc. Mec.                      | 1                 | 6.98 ± 0.44 <sup>bc</sup>  | 4.11 ± 0.17 <sup>abc</sup> | 8.92 ± 1.2 <sup>abcd</sup>   | 4.07 ± 1.65 <sup>c</sup>    | 2.05 ± 0.07 <sup>c</sup>  | 5.28 ± 1.78 <sup>a</sup> |
| Esc. Mec.                      | 2                 | 8.02 ± 0.38 <sup>ab</sup>  | 4.47 ± 0.15 <sup>ab</sup>  | 10.23 ± 0.97 <sup>ab</sup>   | 9.07 ± 0.23 <sup>a</sup>    | 5.04 ± 0.11 <sup>a</sup>  | 9.92 ± 3.5 <sup>a</sup>  |
| Esc. Mec.                      | 3                 | 6.03 ± 0.68 <sup>bc</sup>  | 3.98 ± 0.25 <sup>abc</sup> | 8.97 ± 1.4 <sup>abcd</sup>   | 7.13 ± 0.72 <sup>ab</sup>   | 4.40 ± 0.43 <sup>ab</sup> | 14.27 ± 3.7 <sup>a</sup> |

Medias ± el error estándar, con una letra en común no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). NG = No germino, Esc. Mec. = escarificación mecánica.

A los 15 días el tallo de *E. platyacanthus* es de color rojizo, los cotiledones ya son visibles, unidos entre sí, suculentos y triangulares, la radícula mide 5.76 mm de largo sin raíces secundarias (Figura 3d). Las plántulas de 15 días de *E. horizionthalonius* se diferencian de las de *E. platyacanthus* porque el tallo es de color verde y tiene una forma más o menos globular con altura de 6.55 mm y ancho de 5.2 mm. Los cotiledones son suculentos con la punta redonda y se observan separados entre sí, debido al desarrollo del epicótilo que es ligeramente visible por la presencia de tricomas simples y translucidos, la raíz mide 18.8 mm de largo y se empiezan a desarrollar las primeras raíces secundarias (Figura 4d).

A los 30 días en *E. platyacanthus*, los cotiledones están separados e inicia la emergencia del epicótilo en el cual se empiezan a desarrollar las areolas, con la aparición de los primeros tricomas de color blanco. El tallo es verde, suculento y con abundantes puntos blancos, mide 5.7 mm de alto y 2.39 mm de diámetro. La raíz mide 5.76 mm de largo y de 6-8 raíces secundarias (Figura 3e). En las plántulas de *E. horizionthalonius* de 30 días, los cotiledones están separados entre sí por el que presenta la formación de un tubérculo con la primera areola que contiene de 3-4 espinas de color blanco en la base y amarillo claro en la punta. El tallo de la plántula mide 6.84 mm de altura y 5.89 de diámetro. La raíz alcanza una longitud de 23.9 mm y con 4-6 raíces secundarias (Figura 4e). A los 45 días, las plántulas de *E. platyacanthus* tienen cuatro areolas conteniendo 2-3 espinas blancas en cada una, la plántula ha aumentado de tamaño con un tallo de 8 mm de alto y diámetro de 3.43 mm. La raíz primaria mide 6.27 mm de largo y exhibe numerosas raíces secundarias. Los

cotiledones aún son visibles (Figura 3f). Las plántulas de 45 días de crecimiento de *E. horizonthaloni* continúan con una sola areola (A) con 3-4 espinas y abundantes tricomas en la base de las espinas. La raíz primaria se observa engrosada, mide 26.4 mm de largo y presenta el desarrollo de 3-4 raíces secundarias, el tallo mide 7.72 mm de alto y 6.6 mm de diámetro (Figura 4f).

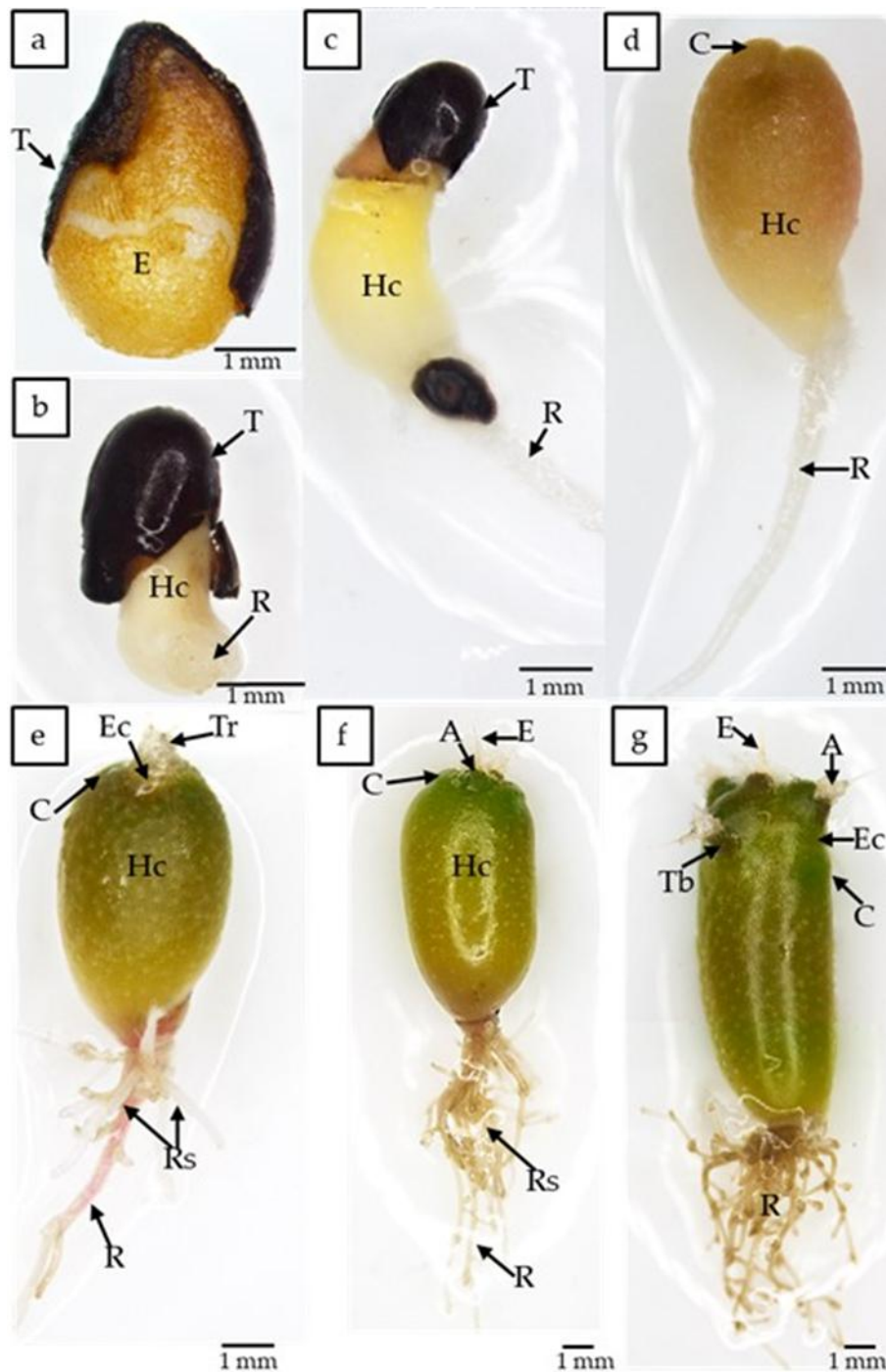
Las plántulas de *E. platyacanthus* de 60 días, en la parte del epicótilo muestran el crecimiento de cinco tubérculos que contienen una areola con 2-3 espinas en cada uno y abundantes tricomas hialinos. Los cotiledones aún se encuentran en la plántula, pero están a punto de marchitarse. El tallo se ha engrosado y alargado, con apariencia suculenta y cilíndrica de color verde con numerosos puntos blancos en la superficie ya presenta 11.53 mm de altura y 4.96 mm de diámetro. La raíz primaria mide 12.02 mm de largo y se aprecian numerosas raíces secundarias (Figura 3g). En *E. horizonthaloni* las plántulas de 60 días tienen tallo globoso, suculento y de color verde con 9.14 mm de alto y 7.54 mm de diámetro. El tallo aún conserva los cotiledones y se pueden visualizar más separados en la punta debido al desarrollo del epicótilo, el cual contiene dos tubérculos con una areola con 3-4 espinas de color amarillo claro con tricomas de color blanco. La raíz ha aumentado considerablemente de tamaño al medir 74.48 mm de largo y presenta el desarrollo de 4-6 raíces secundarias (Figura 4g).

## DISCUSIÓN

### Tamaño de las semillas

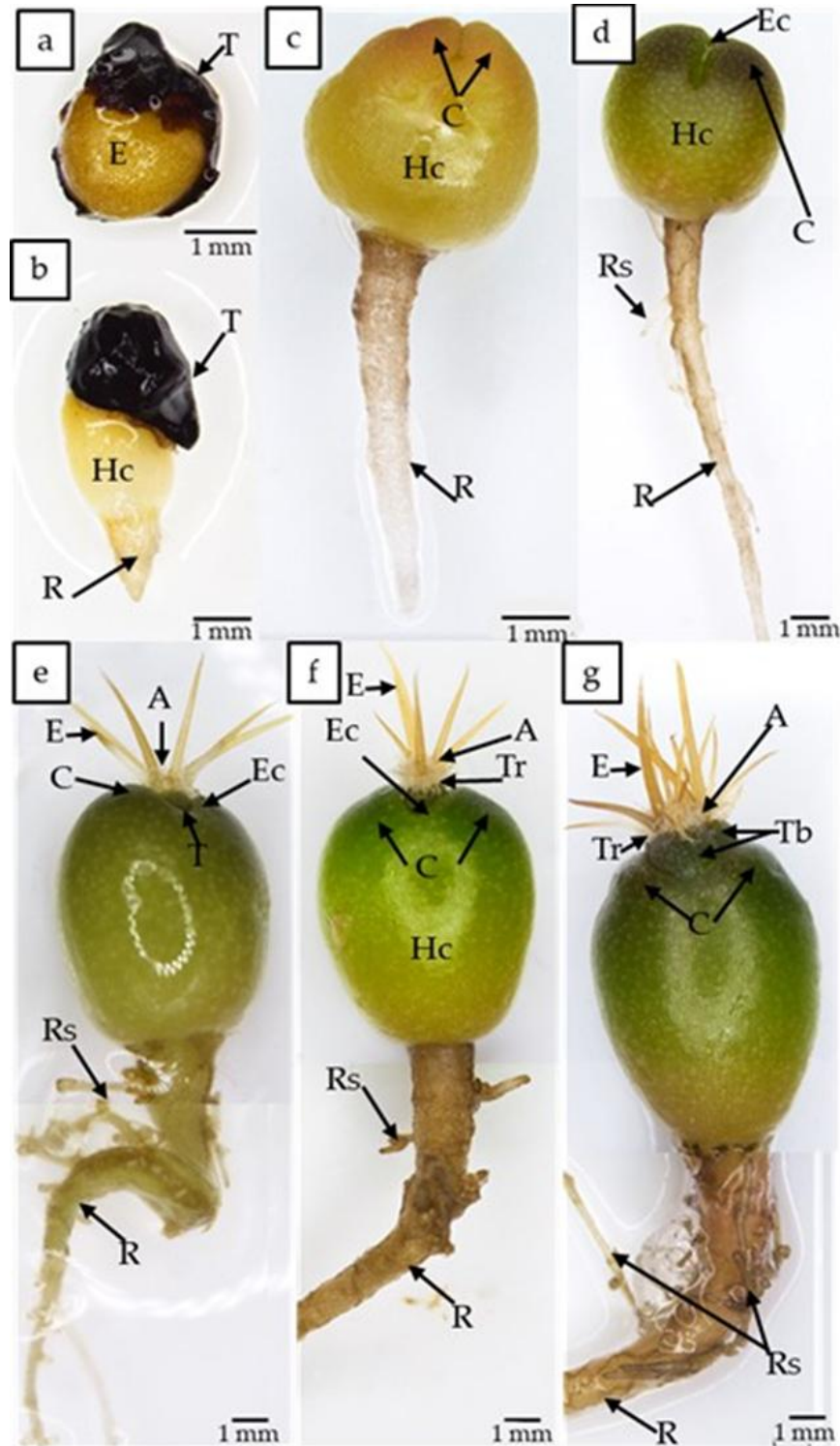
Las diferencias del peso y tamaño de las semillas que existen entre especies son atribuidas a la zona de distribución de las plantas o por la variación en las condiciones bioclimáticas (Ayala-Cordero *et al.* 2004). Estas diferencias fueron observadas en ambas especies a pesar de que pertenecen al mismo género, las semillas de *E. horizonthaloni* son superiores en peso y tamaño a las de *E. platyacanthus*. Sánchez-Salas *et al.* (2006), mencionan que las diferencias en el tamaño de las semillas pueden ser notorias en semillas de la misma especie e incluso en el mismo fruto, lo cual es favorable, ya que se asegura una mayor permanencia de las especies en su ambiente natural. Aunque, *E. platyacanthus* y *E. horizonthaloni* manifiestan diferencias en el tamaño y peso de las semillas, ambas se clasifican como semillas de tamaño grande (Rojas-Aréchiga *et al.* 2013). Similarmente, el tamaño de las semillas es variable entre las especies del mismo género como en *Melocactus radoczi* que presentan un tamaño menor con 0.81 mm de largo y se consideran pequeñas, mientras que las semillas de *Melocactus actinacanthus*, *Melocactus guitartii*, *Melocactus matanzanus* y *Melocactus perezassosi* son de tamaño mediano con una longitud máxima de 1.63 mm (Lemus-Barrios *et al.* 2021). En contraste Arroyo-Cosultchi *et al.* (2007) reportan solo semillas de tamaño grande para las especies *Neobuxbaumia euphorbioides*, *Neobuxbaumia laui*, *Neobuxbaumia mezcalaensis*, *Neobuxbaumia multiareolata*, *Neobuxbaumia polylopha*, *Neobuxbaumia squamulosa* y *Neobuxbaumia tetetzom* siendo similares en el largo y ancho a las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthaloni*. A pesar de que las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthaloni* sean de tamaño grande, la diferencia entre ambas en el área de la semilla es notoria, siendo casi el doble en semillas de *E. horizonthaloni*. Existen cactáceas que presentan semillas con área superior a las especies en estudio como *Opuntia*

*polyacantha* con  $19.69 \pm \text{mm}^2$  (Núñez-Gastélum *et al.* 2018), *Cylindropuntia imbricata* con  $14.1 \pm 1.3 \text{mm}^2$  y *Cylindropuntia spinosior* con  $13.4 \pm 1.5 \text{mm}^2$  (Reyes-Corral *et al.* 2022).



**Figura 3.** Morfología de las plántulas de *E. platyacanthus*. a) Semilla con escarificación mecánica, día uno (2 ×). b) Inicio de la germinación, tres días de crecimiento (1 ×). c) Plántula de siete días. d) Plántula a los 15 días (1 ×). e) Plántula a los 30 días (1 ×). f) Plántula de 45 días (1 ×). g) Plántula de 60 días (1 ×). T = testa; E = embrión; C = cotiledones; Hc = hipocótilo; Rs = raíz secundaria; R = raíz; C, cotiledones; E = espinas; Tb = tubérculo; Tr = tricomas.





**Figura 4.** Morfología de las plántulas de *E. horizontalonius*. a) Semilla con escarificación mecánica, día uno (2 x). b) Inicio de la germinación, tres días de crecimiento (1 x). c) Plántula de siete días (1 x). d) Plántula a los 15 días (1 x). e) Plántula a los 30 días (1 x). f) Plántula de 45 días (1 x). g) Plántula de 60 días (1 x). T = testa; E = embrión; C = cotiledones; Hc = hipocótilo; Rs = raíz secundaria; R = raíz; C, cotiledones; E = espinas; Tb = tubérculo; Tr = tricomas.

Las características de las semillas de mayor relevancia que podrían ayudar a diferenciar entre especies y a su conservación *ex situ* son la testa y el embrión (González-Cortes *et al.* 2019). Dichas características son controladas por factores genéticos, más que por el ambiente (Lemus-Barrios *et al.* 2021). Resultados similares de la variación en el área del embrión fueron encontrados en *Opuntia engelmannii* con 2.365 mm<sup>2</sup> y hasta tres veces mayor en *Opuntia ficus-indica* con 6.941 mm<sup>2</sup> (González-Cortes *et al.* 2019). La cantidad de reservas de nutrientes que se acumulan en los cotiledones puede estar influenciado por el tamaño del embrión, lo cual también se refleja en el crecimiento y supervivencia de las plántulas (González-Vélez *et al.* 2020). Respecto al grosor de la testa, las diferencias observadas fueron significativas, en las semillas de la categoría de peso 3 de *E. horizionthalonius* la cual fue de dos a tres veces más gruesa que la testa de *E. platyacanthus*. En 24 genotipos de *Opuntia* spp. también se reportaron variaciones en el grosor de la testa, que osciló de 0.96 hasta 1.66 mm, siendo hasta tres veces superior que en las especies estudiadas (Guerrero-Muñoz *et al.* 2006). Las cactáceas muestran una gran variación morfométrica en las semillas, por lo que la descripción de algunas de estas características representa una contribución al conocimiento de cómo puede suceder la germinación en su hábitat natural (Uribe-Salazar *et al.* 2022).

### **Influencia de tratamientos pregerminativos en el porcentaje de germinación y tamaño de plántulas**

La aplicación de los tratamientos pregerminativos a las semillas de *E. platyacanthus* y *E. horizionthalonius* tuvo un efecto significativo en el porcentaje de germinación, siendo mayor en las semillas de peso medio. Para *E. platyacanthus* se ha reportado un 91% de germinación *ex vitro* en papel y hasta un 94% en sustrato de arena iniciando entre los días 9-11 (Manzo *et al.* 2022). No obstante, con los resultados obtenidos, se demuestra que la escarificación mecánica promueve el porcentaje máximo de germinación y en menos tiempo tanto en *E. platyacanthus* (100%) como en *E. horizionthalonius* (60%). Esto sucede porque al aplicar escarificación mecánica a las semillas, se remueve una barrera física con lo cual permite una mayor absorción de agua y facilita la expansión del embrión. Esto ha sido demostrado por Robles-Martínez *et al.* (2016), al aumentar hasta un 90% el porcentaje de germinación en semillas de *O. ficus-indica* y *O. megacantha*. Al igual que en semillas con escarificación mecánica de *Echinocactus parryi* con 96.0 ± 3.3% de germinación (García-González *et al.* 2022). Mientras que González *et al.* (2024) mencionan, que cuando se obtiene más del 80% de germinación en semillas sin tratamiento pregerminativo, estas no han desarrollado mecanismos de latencia. Con los resultados observados en las semillas de la categoría de peso 2 de *E. platyacanthus* con más de un 90% de germinación, se puede inferir que no desarrollaron barreras fisiológicas que eviten su germinación. En cambio, en *E. horizionthalonius* las semillas del tratamiento control no germinaron después de 30 días y las semillas de la categoría de peso 2 con escarificación mecánica mostraron solo el 60% de germinación. Estos resultados podrían indicar que las semillas de *E. horizionthalonius* han desarrollado mecanismos de latencia. En tanto que Sánchez *et al.* (2023) señalan, que las semillas pueden presentar latencia, ya sea física al tener partes duras e impermeables o latencia mecánica que no permite la expansión del embrión. Probablemente las semillas de *E. horizionthalonius*, tengan alguno de estos desordenes fisiológicos, ya que el tratamiento de remojo por 24 horas tampoco fue eficiente en promover la germinación de las semillas.

En *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius*, las plántulas de mayor tamaño se obtuvieron con las semillas de la categoría de peso 2, consideradas de tamaño mediano. Contrariamente, Martino *et al.* (2021), mencionan que las semillas de mayor tamaño, son las que producen plántulas más grandes. Las diferencias en el tamaño de las plántulas también se pueden atribuir a los tratamientos aplicados y a las condiciones de siembra de las semillas (Navarro *et al.* 2014). Los resultados observados revelaron diferencias significativas en longitud de la raíz para ambas especies, siendo superior en *E. horizonthalonius* con el tratamiento de escarificación mecánica. Sin embargo, en la cactácea *Oreocereus pseudofossulatus*, la longitud promedio de sus raíces fue mucho menor que las observadas en *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* con  $4.73 \pm 1.92$  mm (Sánchez *et al.* 2021). El alargamiento de la raíz es un mecanismo de supervivencia que se encuentra relacionado con la absorción de agua (Costa *et al.* 2022). Las etapas de mayor riesgo para el establecimiento de las especies en su hábitat natural son la germinación y el desarrollo de las plántulas (Monteón-Ojeda *et al.* 2021). Por tales motivos es necesario promover la conservación y propagación de este grupo de plantas y la germinación *in vitro* es de gran utilidad.

### Morfología de plántulas

Las plántulas de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* presentaron diferencias morfológicas durante los primeros 60 días de desarrollo. La identificación de diversas partes externas en las plántulas es fuente de información de relevancia taxonómica ya que ciertas estructuras cambian o se modifican con el paso del tiempo (Loza-Cornejo y Terrazas 2011). En cactáceas son muy pocos los estudios que se han realizado desde la germinación y durante las primeras semanas de vida para describir la morfología o el desarrollo de las plántulas (Cenizo *et al.* 2013). En ambas especies la germinación inició a partir del tercer día de igual forma que en *Strombocactus corregidora*, *Strombocactus disciformis disciformis* y *Strombocactus disciformis esperanzae* donde inició entre el segundo y tercer día con la emergencia de la radícula (Camacho-Velázquez *et al.* 2018). La radícula de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius*, fue de color blanco, similar a lo que se ha señalado en *Trichocereus candicans* (Cenizo *et al.* 2013), que además presenta numerosos pelos radiculares, característica que no fue observada en las especies en estudio. Al respecto Loza-Cornejo y Terrazas (2011), observan que los tallos de plántulas de 15 días de edad son de color rojizo en las especies *N. mezcalaensis* y *Stenocereus queratoensis*, misma característica que fue registrada en las plántulas de *E. platyacanthus*, pero no en *E. horizonthalonius*. Anteriormente, Gómez-Serrano *et al.* (2021) afirmaron que las plántulas de *E. platyacanthus* inician con el desarrollo del epicótilo y primeras areolas a los 30 días de vida, pero en sus imágenes no son visibles, en cambio, dichas estructuras son notorias en los reportado en la presente investigación. La formación de puntos blancos en la epidermis del tallo en *E. platyacanthus* también se ha observado en plántulas de 30 días de *E. parryi* (García-González *et al.* 2022), característica que no mostraron las plántulas de *E. horizonthalonius*. El desarrollo del epicótilo en *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* fue a partir de los 30 días, sin embargo, existen especies en las que el desarrollo de la plántula es más lento como en *Pilosocereus pachycladus* que se reporta el desarrollo del epicótilo a los 60 días (Abud *et al.* 2010), en *Pilosocereus gounellei* a los 52 días (Abud *et al.* 2012), en *Escontria chiontilla* a los dos meses y en *Myrtillocactus geometrizans* hasta los cuatro meses (Loza-Cornejo y Terrazas 2011). La morfología de las plántulas es importante para comprender los ciclos de vida de las plantas, así como para su clasificación y taxonomía en su hábitat natural (Abud *et al.* 2012, Almeida *et al.* 2013). En futuras investigaciones, sería conveniente

acompañar los estudios morfológicos con estudios anatómicos para complementar la información en las especies de interés. Por los resultados observados y la información consultada, las cactáceas presentan diferencias o similitudes que podría ser utilizadas para distinguir entre especies en las primeras etapas del desarrollo.

## CONCLUSIONES

*E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* presentaron diferencias con relación al peso de sus semillas, lo cual también se reflejó en las diferencias morfométricas externas e internas de las mismas. La interacción del peso de la semilla con los tratamientos pregerminativos, señala que, las semillas de tamaño medio de ambas especies son las que mostraron el mayor porcentaje de germinación y mayor tamaño de las plántulas. Debido a los bajos porcentajes de germinación en las semillas de *E. horizonthalonius* se podría considerar que han desarrollado algún mecanismo de latencia, ya que el único tratamiento en el que se presentó un porcentaje de germinación significativo fue con la escarificación mecánica. Con la descripción de las plántulas durante las primeras semanas de desarrollo se podría contribuir a la conservación *ex situ* e *in situ* de *E. platyacanthus* y *E. horizonthalonius* ya que se brinda información para identificarlas en etapas tempranas de su desarrollo.

## AGRADECIMIENTOS

A los revisores anónimos, así como al Editor Dr. Efraín de la Cruz Lázaro por su contribución a la revisión y mejoramiento de este manuscrito. Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (COHNACyT) por la beca Estancias Posdoctorales por México Convocatoria 2023(1) otorgada a Dolores Adilene García González. Al Dr. Pedro Osuna Ávila y a la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez como receptores de la estancia posdoctoral. A Nahum Uribe Arteaga por la donación de las semillas de *E. platyacanthus*.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses en la presente investigación.

## LITERATURA CITADA

- Abud HF, Gonçalves NR, Espeiron RGR, Pereira DS, Esmeraldo BAM (2010) Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. Revista Ciência Agronômica 41(3): 468-474. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902010000300021>
- Abud FH, Gonçalves NR, Pereira MS, Pereira DS, Espeiron RGR, Esmeraldo BAM (2012) Germination and morphological characterization of the fruits, seeds, and seedlings of *Pilosocereus gounellei*. Brazilian Journal of Botany 35: 11-16. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042012000100003>



- Almeida CVT, Amorim DSEP, Cunha RAC (2021) 5 medium MS at different concentrations in the initial development *in vitro* of *Melocactus conoideus* Buinin & Brederoo. *Scientia: Revista Científica Multidisciplinar* 6(2): 81-91.
- Almeida OJG, Paoli AAS, Souza LA, Cota-Sánchez JH (2013) Seedling morphology and development in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae: *Hylocereeae*). *Journal of the Torrey Botanical Society* 140(2): 196-214. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-12-00031.1>
- Arroyo-Cosultchi G, Terrazas T, Arias S, López-Mata L (2007) Morfología de la semilla en *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 17-25. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1762>
- Ayala-Cordero G, Terrazas T, López-Mata L, Trejo C (2004) Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckei*. *Interciencia* 29(12): 692-697.
- Camacho-Velázquez A, Arias S, García-Campusano F, Sánchez-Martínez E, Vázquez-Santana S (2018) Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study. *Flora* 242: 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.006>
- Cano-Vázquez A, López-Peralta MC, Zavaleta-Mancera HA, Cruz-huerta N, Ramírez-Ramírez I, Gardea-Béjar A, González-Hernández VA (2015) Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de Chile piquín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*). *Botanical Sciences* 93(1): 175-184.
- Cenizo JV, Mazzola MB, Corro MBM, Kin AG (2013) Características morfológicas y anatómicas de las plántulas de *Trichocereus candicans* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48(3-4): 443-451. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v48.n3-4.7556>
- Costa CMS, Pereira DPE, Barros TS, De Souza NML, De Sousa LM, Pereira BC, Cavalcanti DAC, Vaines DSSF (2022) Pre-germination treatments in pitaya (*Hylocereus* spp.) seeds to attenuate salt stress. *Revista Ciencia Agronómica* 53: e20218121. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20220034>
- García-González DA, Osuna-Ávila P, Santos-Díaz MS, Flores-Margez JP (2022) Initial seed weight and scarification affect *in vitro* germination of *Echinocactus parryi* (Engelm.). *Agrociencia* 56(5): 1-9. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i5.2484>
- Gold K, León-Lobos P, Way M (2004) Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi. La Serena, Chile. 62 pp.
- Gómez-Serrano G, Martínez J, Arreguín-Sánchez ML, García OF (2021) Germinación y crecimiento de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (Cactaceae). *Polibotánica* 52: 117-133. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.9>
- González SL, Chichizola GA, Rovere AE (2024) Germinación de semillas nativas colonizadoras de taludes viales del noroeste patagónico. *Ecología Austral* 34(1): 52-65. <https://doi.org/10.25260/EA.24.34.1.0.2182>
- González-Cortés A, Ramírez-Godina F, Reyes-Valdés H, Robledo-Torres V, Pérez-Rodríguez MA, Villareal-Quintanilla JA, López-Benitez A (2019) Morfología de semillas de siete especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del sureste de Coahuila (México). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 54(4): 493-507. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v54.n4.23572>
- González-Vélez G, Andrés-Hernández AR, Álvarez-Quiroz N, Martínez-Moreno D, Rivas-Arancibia SP (2020) Germinación de semillas de seis especies arbóreas maderables de una selva baja caducifolia en Puebla, México. *Agrociencia* 54(2): 227-240.
- Guerrero-Muñoz P, Zavaleta-Mancera HA, Barrientos-Priego AF, Gallegos-Vázquez C, Núñez-Colín CA, Valadez-Moctezuma E, Cuevas-Sánchez JA (2006) Técnica para el estudio de la morfología interna de semillas duras en *Opuntia*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(2): 37-43. [https://doi.org/10.35196/rfm.2006.Especial\\_2.37](https://doi.org/10.35196/rfm.2006.Especial_2.37)
- IBM (2017) IBM SPSS Statistics for Windows, version 24.0. IBM Corp. Armonk, USA.

- IUCN. 2024. The International Union for Conservation of Nature. Red List of Threatened Species, versión 14. <https://www.iucnredlist.org/resources/redlistguidelines>. Fecha de consulta: 12 de septiembre de 2024).
- Lemus-Barrios H, Barrios D, García-Beltrán JA, Arias S, Majure LC (2021) Taxonomic implications of seed morphology in *Melocactus* (Cactaceae) from Cuba. *Willdenowia* 51: 91-113 <https://doi.org/10.3372/wi.51.51108>
- López-Escamilla AL, López-Herrera M, Loaiza-Alanís (2016) Efecto de diferentes agentes gelificantes en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto (Cactaceae). *Polibotánica* 42: 153-166. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.42.8>
- Loza-Cornejo S, Terrazas T (2011) Morfo-anatomía de plántulas en especies de *Pachycereae*: ¿Hasta cuándo son plántulas?. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 88(1): 1-13
- Manzo RMS, González RH, García DLSG, García-Moya E, Espinosa-Hernández V, Corona TT, Robledo-Paz A (2022) Viabilidad y germinación de semillas de cuatro especies amenazadas de cactáceas. *Caldasia* 44(2): 209-220. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v44n2.86192>
- Martino PA, Las Peñas ML, Gurvich DE (2021) Asociaciones entre las características reproductivas y la abundancia en *Gymnocalycium quehlianum* (Cactaceae) a lo largo de un gradiente altitudinal. *Botanical Sciences* 99(3): 514-524. <https://doi.org/10.17129/botsci.2762>
- Mascot-Gómez E, Flores J, López-Lozano NE, Yáñez-Espinosa L (2019) Seed germination of southern Chihuahuan Desert cacti: Effect of mucilage, light and phytohormones. *Flora* 263: 151528. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151528>
- Mendoza-Pedroza SI, Méndez-Gaona E, Pérez-Cruz KU, Hernández-Livera A, Escalante-Estrada JA, Domínguez-Martínez PA (2023) Tamaño de semilla y su efecto sobre el crecimiento de plántulas de *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *Revista Fitotecnia Mexicana* 46(4A). <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.4A.497>
- Monteon-Ojeda A, Piedragil-Ocampo B, García-Escamilla P, Durán-Trujillo Y, Romero-Rosales T (2021) Effect of imbibition treatments on the germination of *Stenocereus zopilotensis* (Cactaceae) native from Guerrero, Mexico. *Terra Latinoamericana* 39: 1-8. <https://orcid.org/0000-0002-5697-3106>
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3): 473-497.
- Navarro MC, Tzompa R, González EM (2014) Propagación de *Echinocactus platyacanthus*: efectos del sustrato, viabilidad y escarificación de semillas. *Zonas Áridas* 15(1): 31-47.
- Núñez-Gastelum JA, González-Fernández R, Herrera AH, Campas-Baypoli ON, Rodríguez-Ramírez R, Lobo-Galo N, Valero-Galván J (2018) Morphological characteristics, chemical composition and antioxidant activity of seeds by four wild opuntia species from North of Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 20: 23-33
- Pivatto MS, Funes G, Ferreras AE, Gurvich DE (2014) Seed mass, germination and seedling traits for some central Argentinian cacti. *Seed Science Research* 24: 71-77 <https://doi.org/10.1017/S0960258513000366>
- Osuna-Ávila P, Flores-Marge JP, García-González DA (2025) Efecto de tratamientos pregerminativos y peso de las semillas en la germinación *in vitro* de *Kroenleinia grusonii* (Cactaceae). *Acta Botanica Mexicana* 132(e2414): 1-15. <https://doi.org/10.21829/abm132.2025.2414>
- Reyes-Corral VI, González-Fernández R, Quiñónez-Martínez M, Rodrigo-García J, Garza-Vallejo GI, Valero-Galván J (2022) Characterization of the morphometry, germination process, phytochemicals, and antioxidant capacity of seeds of three species of the genus *Cylindropuntia* (Cactaceae) of Chihuahua state. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 22: 251-268. <https://doi.org/10.56890/jpacd.v24i.506>
- Robles-Martínez M, Barba- de la Rosa AP, Guéraud F, Negre-Salvayre A, Rossignol M, Santos-Díaz MDS (2016) Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated *Opuntia* species: study

- on their potential as a source of metabolite production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 124: 181-189. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0886-0>
- Rojas-Aréchiga M, Mandujano MC, Golubov JK (2013) Seed size and photoblastism in species belonging to tribe Cacteeae (Cactaceae). *Journal of Plant Research* 126: 373-386. <https://doi.org/10.1007/s10265-012-0526-2>
- Rojas-Aréchiga M, Mandujano-Sánchez MC (2017) Latencia secundaria en especies de la tribu cacteeae (Cactaceae). *Polibotánica* 44: 137-145. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.44.10>
- Rosas-López U, Collazo-Ortega M (2004) Conditions for the germination and the early growth of seedlings of *Polaskia chichipe* (Goss.) Backeberg and *Echinocactus platyacanthus* Link and Otto fa. *grandis* (Cactaceae). *Phyton-International Journal of Experimental Botany* 73: 213-220.
- Ruiz-Pérez A, Vázquez-Díaz E, Ybarra-Moncada MC, García-Nava JR (2021) Calidad de semilla y sobrevivencia de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* from three regions of México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44(1): 33-40. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.1.33>
- Sánchez J, Estrada CE, García AMA, Duarte HMF, García GF, Valenzuela NLM, Muro PG (2023) Los ambientes áridos y semiáridos: su relación con la dispersión y germinación de especies. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 14(75). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v14i75.1288>
- Sánchez MB, Villegas AN, Quezada PJ, Nova PM (2021) Germinación y descripción morfológica de *Orocercus pseudofussulatus* (Cactaceae) especie endémica de los valles Xéricos interandinos de la puna norte de Bolivia. *Revista de Investigación en Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales* 8: 30-37. <https://doi.org/10.53287/cpoc6464nu83h>
- Sánchez-Salas J, Flores J, Martínez-García E (2006) Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma* Lemaire. (Cactaceae), especie amenazada de extinción. *Interciencia* 31(5): 371-375.
- Sánchez-Villegas VA, Rascón-Chu CA (2017) Efecto de la escarificación química y del ácido giberélico en la germinación de *Mammillaria mainiae*. *Cactáceas y suculentas mexicanas* 62(1): 4-12.
- SEMARNAT (2010) 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. [https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM\\_059\\_SEMARNAT\\_2010.pdf](https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf). Fecha de consulta: 25 de Julio de 2024.
- Uribe-Salazar Y, Quintanar-Isaias A, Marbosa-Marínez C, Flores J, Jiménez-Sierra CL (2022) Morfoanatomía, histoquímica y germinación de las semillas de *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (Cactaceae). *Polibotanica* 53: 119-134. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.8>
- Utami EP, Santika E, Hidayat C (2021) The mechanical and chemical scarification to break dormancy and increasing vigor of sunan candlenut seed. *International e-Conference on Sustainable Agriculture and Farming System* 694(1): 012028. <https://doi.org/10.1088/17551315/694/1/012028>
- Valero-Galván J, Arguijo-Núñez JM, González-Fernández R (2023) Ecología de *Echinocactus Horizontalonius* (Cactáceae) dentro de la sierra Presidio, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. En: Ronova GM, Rascón KM (eds) *Un recorrido desde la paleontología hasta la biotecnología*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, México. pp. 99-111.
- Villanueva RM, Navarro MDC, Eliosa HR (2016) Germinación de tres especies de cactáceas endémicas de México en condiciones asépticas. *Zonas Áridas* 16(1): 1-16.