

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Desarrollo de un Protocolo para la Germinación *in vitro* de Semillas de *Nolina micrantha* I.M. Johns

Por:

**EDGAR DAVID GONZÁLEZ HERNÁNDEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México  
Diciembre, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Desarrollo de un Protocolo para la Germinación *in vitro* de Semillas de *Nolina  
micrantha* I.M. Johns

Por:

**EDGAR DAVID GONZÁLEZ HERNÁNDEZ**

TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



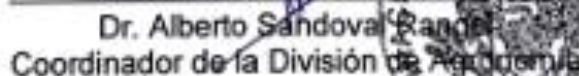
Dra. Aida Isabel Leal Robles  
Asesor Principal



M.C. Laura María González Méndez  
Coasesor



Dra. Silvia Yudith Martínez Amador  
Coasesor



Dr. Alberto Sandoval Sandoval  
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2025

## Derechos de Autor y Declaración de no plagio

Todo material contenido en estas memorias de experiencias profesionales está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.


Autor principal



Edgar David González Hernández

Firma y Nombre

Asesor principal



Aida Isabel Leal Robles

Firma y Nombre

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme brindado la vida, la salud y la sabiduría para así lograr cada etapa de mi vida, por la fuerza otorgada para lograr sacar adelante mi preparación académica, también por permitir concluir una meta más en mí vida, por sus constantes bendiciones y por guiarme durante toda mi vida personal y profesional.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi querida y adorada *Alma Terra Mater*, por haberme acogido en sus instalaciones y darme la oportunidad de desarrollarme académicamente, por hacerme crecer personalmente y ser independiente, por formar parte de mi vida y darme momentos felices, tristes, para aprender así cada día más, marcando mi vida en el periodo de mi carrera profesional.

Al departamento de Botánica y a sus profesores quienes compartieron todo su conocimiento, apoyo perseverancia, constancia y colaboraron con mi formación académica.

A la Dra. Aida Leal Robles, por darme la oportunidad de formar parte de sus tesis, por confiar en mí y el gran apoyo brindado para la elaboración y motivación de la investigación realizada, gracias a su gran paciencia, su comprensión, su tiempo, la constancia, por su conocimiento y entusiasmo, para lograr culminar este proyecto.

A Profauna por darme la oportunidad de trabajar con ellos para lograr llevar a cabo el proyecto.

Al comité revisor, Dra. Aida Isabel Leal Robles, Dra. Silvia Yudith Martínez Amador y M.C. . Laura María González Mendez.

A mis compañeros de carrera, en específicamente a la generación CXXVIII de ingenieros en Agrobiología, en especial a Marisol Gómez Santos, José Rodolfo Simental de la Paz, Nanglis López Domínguez, Sagrario Castillo Gutiérrez, Alondra Silvestre Martínez y, Elsa Carolina Landeros por estar en mis mejores y peores momentos, por bríndame parte de su confianza, por compartir con ellos momentos

inolvidables durante esta etapa de mi vida, también quiero agradecer a mis amigos que no pertenecían a la universidad Gladis Jaqueline Gordillo, Victoria López Domínguez, Lupita Jiménez e Iris Esmeralda quienes estuvieron apoyándome constantemente para no rendirme.

## **DEDICATORIAS**

A mis padres:

**Sra. Guadalupe Hernández Vázquez**

**Sr. Felipe González Solano**

Por brindarme la vida, por también brindarme la oportunidad de estudiar, por haber confiado en mí, por darme el apoyo constante y siempre inspirar a dar lo mejor en todo momento, porque nunca dejaron que me rindiera en los momentos en los cuales me sentía solo.

A mis amados padres, este logro académico es un reflejo del inalcanzable amor y esfuerzo que han invertido para brindarme una educación sólida, cada sacrificio hecho, cada día de trabajo duro y cada una de las decisiones tomadas en mi nombre son el resultado de mi éxito. Su dedicación y esfuerzo son el regalo más grande brindado.

Esta tesis dedicada a ellos es un testimonio de amor y sacrificio del cual me llena de orgullo poder honrarlos de esta manera. Gracias por ser los faros en mi vida, la luz que me ha guiado en cada una de mis decisiones, por iluminar mi camino hacia el conocimiento y por enseñarme la importancia del trabajo duro y la educación.

Los amo profundamente.

# Índice

1. Introducción.....	1
2. Justificación.....	4
3. Objetivos.....	5
4. Hipótesis.....	6
5. Revisión de literatura.....	7
5.1 Aspectos biológicos de <i>Nolina micrantha</i> I.M. Johns (subfamilia Nolinoidae).....	7
5.2 Descripción botánica de <i>Nolina micrantha</i> .....	7
5.3 Hábitat y ecología .....	9
5.4 Usos y manejo de <i>Nolina micrantha</i> .....	10
5.5 Características de las semillas .....	11
5.5.1 Descripción de las semillas.....	11
5.5.2 Clasificación .....	11
5.5.3 Germinación.....	13
5.5.4 Latencia .....	15
5.6 Aplicación de tratamientos pre germinativos para la obtención de plántulas a partir de semillas .....	18
5.7 Cultivo <i>in vitro</i> de semillas.....	19
6. Materiales y métodos.....	21
6.1 Material biológico.....	21
6.2 Caracterización de semillas .....	21
6.3 Prueba de viabilidad de semillas .....	22
6.4 Desinfección de semillas.....	22
6.5 Cultivo de semillas bajo condiciones <i>in vitro</i> .....	24
6.6 Aclimatación de plántulas en vivero.....	25
7. Resultados y discusión .....	26
7.1 Características de las semillas.....	26
7.2 Prueba de viabilidad.....	27
7.3 Protocolo de desinfección .....	28
7.4 Tratamientos pre germinativos.....	29
7.5 Aclimatación de plántulas en el vivero.....	31
8. Conclusiones.....	32
9. Literatura citada.....	33

## Índice de figuras y gráficas

1. Figura 1. Arbusto de la especie *Nolina Micrantha* I.M. Johnst.....7
2. Figura 2. Imagen digitalizada de un ejemplar herborizado de *Nolina micrantha*.....8
3. Figura 3. Detalle de la morfología externa de una Fabaceae.....12
4. Figura 4. Semilla de *Nolina micrantha* en las que se aprecian las características de color amarillo ambar y tamaño de 3.4 a 3.5 cm....26
5. Figura 5. Semillas sumergidas en sal de tetrazolio para determinación de viabilidad..... 28
6. Gráfica 1. Porcentaje de germinación de *Nolina micrantha* al utilizar diferentes tratamientos pregerminativos .....29
7. Figura 6. Plántulas de *Nolina micrantha* crecidas en tratamiento de germinación ex vitro.....31
8. Figura 7. Aclimatación de plántulas de *Nolina micrantha* para entregar a los viveros de PRO FAUNA.....31

## RESUMEN

*Nolina micrantha* es una especie tipo arborescente a arbustiva, tiene similitudes con *Nolina texana*, se distingue de otras especies de nolinias principalmente por su pigmentación purpura en todas sus inflorescencias y la floración tardía, geográficamente se distribuye al norte de México en los sitios de Chihuahua en México, Arizona y Texas en Estados Unidos. Al ser una especie poco estudiada y con distribución restringida en la Sierra de Zapaliname, se considera de importancia para su conservación, por lo anterior, el objetivo del trabajo fue desarrollar un protocolo para la germinación de semillas de *N. micrantha* utilizando diferentes tratamientos para romper la latencia, desarrollar plantas y posterior entregarlas a la A. C. PROFAUNA para su conservación. Previo al ensayo de germinación, las semillas pasaron por una prueba de germinación, posteriormente se dividió en 4 grupos, las semillas del grupo uno se sumergieron en ácido sulfúrico por un periodo de 10 min, el grupo dos se sumergió en agua caliente (60° C) por un periodo de cinco minutos, el tercer grupo se sumergió en peróxido de hidrogeno al 1% por 24 horas y el cuarto grupo solo recibió un tratamiento de desinfección siendo este el testigo, se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento, y se obtuvo el porcentaje de germinación. El mayor porcentaje de germinación (95%) se registró en las semillas que estuvieron sumergidas en peróxido de hidrogeno. Por lo anterior podemos concluir que las semillas de *Nolina micrantha* requieren de un promotor para que rompa la latencia y comience la germinación, siendo el peróxido de hidrogeno al 1% por 24 h, una solución de escarificación química, que promueve dicha respuesta.

Palabras clave: germinación, *in vitro*, tratamiento pregerminativo, *Nolina micrantha*, latencia.

## 1. INTRODUCCIÓN

México, por su ubicación geográfica y la combinación de condiciones fisiográficas y climáticas presenta una gran biodiversidad en cada uno de los ecosistemas representados en el territorio nacional (Encina-Domínguez et al., 2008). El norte del país, destaca por presentar ambientes de climas desérticos, sin embargo, también se caracteriza por la presencia de macizos montañosos como la Sierra Madre Oriental (SMO), conformada por un conjunto de montañas angostas y alargadas, se ubica desde la faja volcánica transmexicana hasta la parte central de Coahuila, Chihuahua y la frontera norte de México, su unidad geográfica cuenta con más de 800 km de longitud y de 80 a 10 km de amplitud (Antuñao, et al. 2000). La Sierra de Zapalinamé pertenece a esta provincia fisiográfica y se ubica al sureste del estado de Coahuila, la cual abarca parte de los municipios de Arteaga y Saltillo, geográficamente se ubica en las coordenadas desde los  $-100^{\circ}05'3.8''$  a los  $-100^{\circ}47'14.5''$  de longitud Oeste y de los  $25^{\circ}15'00''$  a los  $25^{\circ}25'58.35''$  de longitud Norte y cuenta con una superficie aproximadamente de 25, 768-8 hectáreas (UAAAN, 1998). La Sierra de Zapalinamé ha sido declarada como una reserva natural voluntaria (RNV) y forma parte del proyecto de conservación, sumado a las cinco áreas naturales protegidas con que se cuentan en el estado de Coahuila, de ahí la importancia de proteger la biodiversidad que se encuentra en esos sitios.

Dentro de la diversidad vegetal distintiva de la Sierra de Zapalinamé se encuentran representantes de la subfamilia Nolinoideae, integrada por los géneros *Nolina*, *Dasyllirion*, *Beaucarnea* y *Calibanus* e incluye aproximadamente 55 especies arbustivas, herbáceas y arborescentes, las cuales habitan desde el sur de Estado Unidos hasta Centroamérica. De acuerdo con Silva et al. (2013) México cuenta con la mayor riqueza de especies de esta familia.

Las áreas naturales protegidas ayudan a la conservación de especies terrestres, las cuales son fundamentales para mantener la integridad en dichas áreas (PNUD, 2019), bajo esa premisa, para el presente trabajo se eligió estudiar a la especie *Nolina micrantha*, distribuida al sur de Estados Unidos (Nuevo México y Texas) y al

norte de México, con un reducido número de poblaciones naturales en los estados de Coahuila y Chihuahua (NatureServe Explorer, 2022), integrando actividades para conocer su taxonomía, sus características biológicas, así como establecer estrategias para su cultivo que nos permitan conocer aspectos de su reproducción y al mismo tiempo, como alternativa de conservación *ex situ*, para incrementar el número de ejemplares.

Como previamente se destacó, las poblaciones de *N. micrantha* tienen una distribución restringida en México, razón por la cual no debemos ignorar su preservación y centrar acciones para su conservación, por ello, se desarrolló una metodología para la germinación de semillas, favoreciendo el mantenimiento de la variabilidad genética al utilizar una herramienta como lo es el cultivo *in vitro* donde las condiciones de nutrición (medio de cultivo), temperatura, iluminación, son controladas y aseguran la respuesta de germinación de semillas viables. Se probaron tres tratamientos pre germinativos para tratar las semillas, previo a su cultivo, los reactivos utilizados fueron: ácido sulfúrico (90%/10min), peróxido de hidrógeno (1%/24h) y agua caliente (60°C/5min).

En sección de resultados se demuestra que los tres tratamientos evaluados, se obtuvo la respuesta de germinación *in vitro*, con una respuesta mayor en las semillas tratadas con agua caliente, 3 de cada 5 semillas por frasco germinó, alcanzando en promedio 50% de germinación del total de semillas sembradas, para el tratamiento de peróxido de hidrógeno , germinaron 2 de cada 5 semillas por frasco, es decir, en promedio germinaron un 40% del total de semillas sembradas en total y el tratamiento con menor respuesta de germinación fue en las semillas sumergidas en ácido sulfúrico, 1 de cada 5 semillas por frasco, es decir, en promedio germinaron un 10% del total de semillas sembradas. Cabe destacar que la pérdida de semillas por contaminación fue nula.

Los resultados de esta investigación al ser comparados con otros trabajos de investigación, sostienen que las técnicas pre-germinativas tuvieron la función de ablandar las testas de las semillas (escarificación) por lo tanto, se observaron

diferentes respuestas en los tratamientos empleados, siendo la aplicación de agua caliente y peróxido de hidrogeno, en los que se cuantificó el mayor número de semillas germinadas de *N. micrantha*

Por otra parte, el cultivo *in vitro* es una técnica que empleada para lograr la germinación y reproducción de especies, esta práctica es eficiente para la conservación debido a que ayuda a la reproducción masiva de especies que cuentan con alguna dificultad para su germinación debido a su tipo de latencia o por características físicas de las semillas, en donde aplicando técnicas pre germinativas más su cultivo en condiciones *in vitro*, se pudo lograr la reproducción de la especie en cuestión.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se enfocará en la germinación de semillas por medio de cultivo *in vitro* para la especie de *N. micrantha*, debido a que es una especie con una población reducida en el estado de Coahuila, sus registros principalmente demuestran su presencia en áreas al sur de Texas y el norte de México, esta especie en estudio cuenta con muy poca información documentada.

Por otra parte, los resultados permitieron generar mayor información sobre las condiciones de germinación, llevando a entender las adaptaciones que las especies desarrollan para asegurar su permanencia en el ecosistema, mientras que, para los encargados de su reproducción en los viveros será una herramienta útil en la elección de tratamientos adecuados para la germinación de las mismas, dentro de condiciones controladas.

Por último, la propagación *ex situ* incrementa el número de ejemplares disponibles para futuras acciones de reincorporación de plantas en su hábitat natural.

### 3. OBJETIVOS

#### Objetivo General

Proponer un protocolo de germinación de semillas de *Nolina micrantha* bajo condiciones *in vitro*, como una estrategia para su conservación *ex situ*.

#### Objetivos Específicos

1. Establecer un protocolo de desinfección de semillas de *Nolina micrantha* para su cultivo *in vitro*.
2. Aplicar tres tratamientos pre germinativos a las semillas de *N. micrantha* y comparar la respuesta de germinación *in vitro*.
3. Establecer en el vivero las plántulas de *N. micrantha* germinadas *in vitro*.

#### 4. HIPÓTESIS

El adecuado proceso de desinfección así como la aplicación de sustancias que favorezcan la respuesta de germinación (tratamiento pre germinativo) a las semillas de *Nolina micrantha* I.M. Johns, permitirá el buen desarrollo en el cultivo *in vitro* disminuyendo la contaminación y el rompimiento de la latencia, obteniendo un porcentaje de germinación mayor comparado con las semillas que no reciban ningún tratamiento.

## 5. REVISIÓN DE LITERATURA

### 5.1. Aspectos biológicos de *Nolina micrantha* I.M. Johns (Subfamilia Nolinoidae)

Descripción taxonómica:

De acuerdo con la Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2022) la clasificación taxonómica de la especie es una planta que pertenece a la familia Asparagaceae, subfamilia: Nolinoidae, del género y especie *Nolina micrantha* (fig. 1), distinguiéndose de otras nolininas principalmente por su pigmento púrpura en todas sus inflorescencias y la fecha de floración, debido a que tiene una floración más tardía (Boufford, 2020).



Figura 1. Arbusto de la especie *Nolina micrantha* I.M. Johnst (Tomada de T. Gleason, 2022)

### 5.2. Descripción de *Nolina micrantha*

De acuerdo con Hernández-Sandoval (2020) entre las características generales de la familia Nolinaceae destaca que, son plantas de tipo arborescentes a arbustivas a veces sarcocaulas, acaules o con tallos subterráneos, con crecimientos secundario tipo monocotiledóneo, hojas agrupadas en rosetas basales o dispuestas al final de las ramas, lineares con la superficie acanalada, márgenes con denticillos muy pequeños o espinas, inflorescencias paniculadas a espiciformes con brácteas

escariosas, flores con seis estambres, anteras sagitadas y ovarios abortado o reducido funcionando como nectario, flores pistiladas

*Nolina* Michx. es un género americano con 21 a 30 especies que se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta México. El género ha tenido poco estudio desde el punto de vista taxonómico (García Mendoza, et al. 2012), fue descrito por Michaux. y las plantas que pertenecen a esta familia, conforman comunidades vegetales rosetófilas áridas o templadas, además de proporcionar refugios a especies como los reptiles (Quirino Olvera, 2017).

La descripción en específico para *Nolina micrantha* (Fig. 2) de acuerdo con la publicación de Flor of Nort America (2020) considera que, son plantas caulescentes cespitosas con rosetas de caudices verticales, sus laminas foliares son rígidas, fibrosas, cóncavo-convexas de 80 a 130 cm x 6-4 mm no glaucas, márgenes enteros o lejanamente serrulados con dientes cartilagosos separados, su ápice es lacerado, escapo de 0.5 a 2 cm, inflorescencia paniculada por lo general de color purpura, *N. micrantha* tiene similitudes a *Nolina texana* excepto por su pigmento de color purpura en la inflorescencia y su floración es tardía.



Figura. 2. Imagen digitalizada de un ejemplar herborizado de *Nolina micrantha*. (Tomada de Texas Tech University, E. L. Reed Herbarium, 2025)

### 5.3. Hábitat y ecología

La familia Nolinaceae es endémica de norte América y Centroamérica los cuatro géneros que integran esta familia su distribución se encuentra desde el sur y sureste de Estados Unidos, México, Guatemala, Belice y Honduras. Para *Nolina* la provincia fitogeográfica más rica es la Sierra Madre Occidental con 17 taxas, en donde 5 de ellas son endémicas de la misma (García Mendoza & Galván V., 1995), además Ruíz-Sánchez, et al. (2019) menciona que con los análisis filogenéticos que incluyen datos moleculares y morfológicos se encuentra a *Nolina* relacionada con *Bucarnea*, *Lamaire*, *Dasyllirion Zaccarini* dentro de las Asparagaceae y *Nolina* es un género representado por 26 especies descritas de las cuales 18 son endémicas de México.

*Nolina* y otros géneros relacionados se han considerado dentro de las familias Liliaceae, la familia Nolinaceae se propuso en el año de 1936 (Silva, et al. 2013), posteriormente por Nakai en 1943 (García-Mendoza, et al. 2012) y fue aceptada en el año de 1985. En donde estas plantas fueron incluidas en las familias Agavaceae y Liliaceae. y se constituye por los géneros *Beucarnea*, *Calibanus* y *Dasyllirium* (García-Mendoza, et al. 2012)

Si bien los datos para *Nolina micrantha* son limitados, se tiene como referente a otras especies, tal como lo es *Nolina texana*, especie que se encuentra principalmente al norte de México en los estados de Chihuahua y Sonora, prefiriendo hábitos de zonas áridas con una precipitaciones bajas de no más de 300 mm sobre pastizales amacollados, matorral micrófilo y rosetófilo, en zonas de transición con tipo de vegetación de bosque de encino, las especies con las que se relaciona son: *Nolina lindheimeriana*, *Yucca rupicola*, *N. microcarpa*, *Quercus emoryi* y *Quercus chihuahuensis*, entre otras especies (Comisión Nacional Forestal, 2017).

*Nolina micrantha* se encuentra distribuida en los sitios como son el estado de Chihuahua en México, Arizona y Texas en Estados Unidos cuenta con una distribución abundante al norte del Altiplano Mexicano y al norte de la Sierra Madre

Occidental, siendo parte la Mesa, Coahuila. Ascende en 1800 a 2400 msnm, en bosques de tipo encino, matorral y pastizal (Olvera, 2006).

#### 5.4. Usos y manejo de *Nolina micrantha*

En el caso particular de las especies vegetales que habitan las zonas áridas y semiáridas, el uso excesivo y desmedido ha llevado a la degradación de los ecosistemas y la disminución de sus poblaciones naturales (Mallen Rivera & Nieto de Pascual, 2009).

De acuerdo con Silva et al., (2013) en Centro América, particularmente en México, se tiene la mayor riqueza de la familia en especies. En la actualidad las hojas de algunas de las plantas de la familia se utilizan para la elaboración de canastas, mientras que la llamada flor de sotol se utiliza como elemento decorativo.

En específico, la especie *Nolina cespitifera* o mejor conocida como “cortadillo”, es un recurso forestal no maderable es fundamental para la económica para los pobladores que habitan en zonas áridas y semiáridas para las regiones sur y centro del estado de Coahuila, debido a que se aprovecha para obtener una fibra dura y muy resistente. (Sánchez- Méndez, 2020). La recolección de este recurso ofrece una alternativa de producción para los pobladores de la región, en muchos casos es la fuente principal de ingresos y representa una fuente de captación de recursos económica (Castillo Quiroz, 2009)

Otras especies, también del mismo género, son aprovechadas para retirar sus hojas y ser utilizadas en la obtención de fibras para cordelería, por otra parte, el uso como plantas de ornato, como *Dasyllirion*, ha incrementando la colecta clandestina y su comercialización masiva debido a su belleza y bajo consumo de agua (Silva et al., 2013).

## 5.5. Semillas: características e importancia en la reproducción de las plantas

### 5.5.1. Definición de semilla y sus características generales

Las semillas son el órgano reproductivo más importante en la gran mayoría de las plantas terrestres y acuáticas. Según Doria (2010) la definición de semilla es *“una unidad reproductiva compleja y característica de las plantas vasculares superiores que se desarrolla a partir del óvulo vegetal después de la fertilización y se encuentra principalmente en las plantas con flores (Angiospermas) y en las gimnospermas”*.

Independientemente del concepto de semilla, podemos decir que esta estructura contiene un embrión y al recibir las condiciones adecuadas podrá generar un nuevo individuo.

### 5.5.2. Clasificación

La morfología de las semillas se compone de una cubierta seminal con función protectora, el endospermo es la reserva de nutrientes y el embrión que es el óvulo fecundado como se muestra en la fig. 3 (Soblechero et al., 2005).

Las semillas pueden diferenciarse en su tolerancia en la desecación, características muy particulares como lo es la capacidad de pérdida de agua en su almacenamiento, se pueden clasificar en ortodoxas, recalcitrantes e intermedias (Plaza & Magnitskiy, 2007, Berjak & Pammenter, 2010)



Figura. 3 Detalle de la morfología externa de una Fabace, 1. Testa; 2, hilo y 3, micropilo (Tomada de Soblechero, et al. 2005)

Las semillas ortodoxas desarrollan resistencia a la deshidratación durante su desarrollo lo que permite ser almacenadas en estado seco, por períodos de tiempo y bajo condiciones ambientales controladas, estas semillas deben mantener un alto vigor y viabilidad, por lo general todas las semillas ortodoxas pueden resistir la deshidratación a aproximadamente 5%. Cualquier semilla que no cumpla con estas características no es ortodoxa. (Berjak & Pammenter, 2010).

Por otro lado, se encuentran las semillas recalcitrantes las cuales no experimentan un proceso de secado durante su maduración, o bien se encuentra ausente, y están susceptibles a la pérdida de agua desde el comienzo de su desarrollo hasta que caen de la planta. Su contenido de agua puede estar dentro del rango de 0.43 a 4.0 g, que corresponde al 30 a 80% en base de masa húmeda (Berjak & Pammenter, 2010).

Por su parte, Magnitskiy & Plaza (2007) da los siguientes conceptos para comprender la clasificación:

- Semillas ortodoxas: son capaces de resistir a la deshidratación, pueden dispersarse y mantenerse viable después de alcanzar un bajo porcentaje de humedad, tolerando una deshidratación de 5%.
- Semillas intermedias: son las que toleran una deshidratación entre 10% y 12.5%

- Semillas recalcitrantes: presentan sensibilidad a la pérdida de humedad y se dispersan junto con los tejidos del fruto (caroso) con altos contenidos de humedad toleran una deshidratación entre el 15% y 50%.

En particular las semillas de las especies del género *Nolina*, son consideradas como ortodoxas debido a que cuenta con un contenido de humedad de 8.1% en fresco a 8.8% en base a seco de acuerdo con Reyes & Rodríguez (s/f)

### 5.5.3. Germinación

El término germinación se refiere al proceso mediante el cual la semilla se activa, se desarrolla y crece, originando una nueva planta, este proceso está influenciado en factores externos e internos, en los primeros se pueden considerar: calidad de luz, fotoperiodo, humedad, y en los propios se encuentran la viabilidad del embrión, las proteínas de reserva, por mencionar algunas. Varela-Santiago & Arana (2011) describen que una característica de algunas especies vegetales es que sus semillas poseen algún impedimento para que germinen, atribuidas a dos causas:

- *El medio presenta condiciones desfavorables para el crecimiento vegetativo a causa de baja disponibilidad de humedad, insuficiente aireación o por una temperatura inadecuada. A este tipo de inhibición se le llama quiescencia.*
- *Aunque las condiciones del medio son adecuadas, el organismo tiene una combinación fisiológica tal que impide su crecimiento. Esta forma de inhibición se le conoce como latencia o dormancia, la cual se subdivide en dormancia primaria y dormancia secundaria.*

De acuerdo con Villamil & García (1998) el proceso de germinación comienza con la absorción de agua por la semilla (imbibición) y concluye cuando se inicia la elongación de la radícula.

De la Cuadra, (1992) define tres conceptos fundamentales para germinación de las semillas, los cuales se describen a continuación:

***Imbibición:*** es el periodo en donde la semilla absorbe agua y se hincha, esa agua absorbida pasa a través de las envueltas seminales hasta llegar al embrión, en cantidad suficiente, este se activa y comienza el proceso que termina en el desarrollo de la planta.

***Digestión y transporte de alimentos:*** lo que el embrión necesita para su desarrollo es el alimento. Es por eso que libera unas enzimas digestivas que disuelven parte del alimento que es que es absorbido desde el tejido almacenador hasta el embrión

***Elongación celular:*** durante este proceso las células embrionarias son inicialmente pequeñas antes de la germinación, el crecimiento del embrión se debe a que las células incrementan su tamaño. El embrión utiliza las proteínas, grasas e hidratos de carbono, digeridos y absorbidos desde el endospermo

Las semillas de *Nolina cespitifera* se caracterizan por su tamaño pequeño, aproximadamente de 3.4 mm de largo y 2.65 mm de ancho, también pueden presentar un tipo de latencia exógena de acuerdo con los trabajos de germinación realizados por Castillo Quiroz, et al. (2015) donde el porcentaje total es muy bajo, la latencia de estas semillas puede ser debido a las propiedades físicas y químicas de las cubiertas seminales. Castillo Quiroz, et al. (2018) realizaron ensayos para la germinación de semillas de *N. cespitifera*, reportando que éstas germinaron entre los 5-10 días, una vez que fueron expuestas a las condiciones de humedad y temperatura.

#### 5.5.4. Latencia

La latencia, también denominada como dormición o letargo, se le define como *“la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentraciones de gases que son adecuadas para llevar a cabo la germinación”* (Varela & Arana, 2011). La latencia de las semillas es considerada como una estrategia de adaptación comúnmente presente en las plantas que habitan en ecosistemas áridos y semiáridos (Rojas-Aréchiga & Merina-Sanches, 2017)

Este proceso es un estado innato de un organismo en el que el crecimiento se detiene, en las plantas esta puede ser presentada en los meristemos y en las semillas (Soriano & Villegas, 2019).

De acuerdo con Varela & Arana (2011) mencionan que la latencia se desarrolla durante la formación de la semilla la cual cumple una importante función que es inhibir la germinación, además sugiere una adaptación para que las especies sobrevivan en su medio natural.

De acuerdo con Pérez Ruiz et al. (2015) mencionan que la latencia se basa en factores que inhiben la germinación ya sea endógeno del embrión o exógeno de acuerdo a la cubierta seminal. Los aspectos físicos y químicos que más influyen en la presencia de latencia es la forma y la biomasa, la presencia y el grosor de la cubierta seminal y la composición de las reservas almacenadas (carbohidratos, lípidos y compuestos nitrogenados (Soriano & Villegas, 2019).

Rojas-Arechiga (2017) en su investigación mencionan la división de la latencia en: primaria o innata y latencia secundaria o inducida:

**Latencia primaria:** este tipo de latencia se presenta cuando las semillas se desprenden de la planta madre

**Latencia secundaria:** se ocurre cuando la semilla se expone a condiciones adversas al medio y dicha latencia no concluye aun cuando se remueven estas condiciones.

Soriano & Villegas (2019) proponen una clasificación de latencia (Tabla. 1), clasificando de acuerdo a sus características como el estado de desarrollo del embrión al momento de la dispersión, las cualidades físicas de las semillas, su respuesta fisiológica a los estímulos ambientales o una combinación de las anteriores, eso puede llevar a que la latencia sea morfológica, fisiológica, morfofisiológica o combinada.

**Latencia morfológica:** las semillas que presentan este tipo de latencia tienen embriones subdesarrollados, los factores ambientales como la temperatura, luz y humedad pueden influir en la maduración del embrión y en la liberación de la latencia, las semillas de algunas especies del género *Annona* y *Apio* presentan latencia morfológica.

**Latencia fisiológica:** estas semillas no germinan si no cuentan con la presencia de factores ambientales específicas, temperatura, humedad, luz, concentraciones de gases, entre otras) esto les permite determinar el tiempo y el lugar de la germinación y así logran un ajuste muy específico al medio, *Dahlia coccinea* son un ejemplo de especie que presenta latencia fisiológica.

**Latencia física:** algunas semillas presentan embriones sin latencia, pero presentan cubiertas impermeables que previenen la imbibición y la germinación, estas características definen la latencia física, un ejemplo de semillas con germinación física es *Acacia farnesiana*.

**Latencia morfofisiológica:** algunas especies de semillas presentan latencia física como fisiológica y germinan hasta que ambas se rompen, un ejemplo de estas es la de *Narcissus hispanicus*.

Tabla 1. Clasificación de latencia. (Tomada de Soriano & Villegas, 2019 modificado por Orozco, 2012)

		Primaria	Endógena (inherente al embrión)	Fisiológica Morfológica Morfofisiológica
Primaria	Innata		Exógena (externa al embrión)	Física
Secundaria	Inducida	Secundaria		
	Impuesta	Pseudolatencia (quiescencia )		

Por su parte, Suárez & Melgarejo (2010) consideran que la dormancia primaria es la dormancia más frecuente en semillas y se dan por factores endógenos o exógenos, mientras que la dormancia secundaria es la que tiene que ser inducida a temperaturas de 50°C a 90°C. Estas situaciones pueden ser causados por la exposición de las semillas a condiciones que promueven la germinación junto con factores que bloquean y restringen este proceso de germinación o bien, en donde las semillas una vez que se separan de la planta madre y son expuestas a condiciones adversas del medio.

Por otra parte, el estado de reposo de la semilla también se le conoce como quiescencia o latencia, la quiescencia es producida por la falta de agua, lo cual ocurre con las semillas almacenadas en condiciones artificiales, mientras que en la latencia es el reposo de las semillas cuando no germinan aun con las condiciones óptimas de temperatura y humedad (Del Amo Rodríguez, et al. 2002).

A partir de la consulta bibliográfica de las características de las semillas de *Nolina micrantha* no existen reportes de latencia, pero si está reportada para otras especies del género, de acuerdo con Castillo Quiroz, et al. (2018) *Nolina cespitifera* presenta una latencia exógena, dicha latencia se puede atribuir principalmente a las propiedades físicas y químicas de las cubiertas seminales.

5.6. Aplicación de tratamientos pre germinativos para la obtención de plántulas a partir de semillas

Como se ha revisado, existen diferentes tipos de latencia que limitan el proceso de germinación, siendo de tipo: físico o mecánica, química, morfológica y fisiológica (Merino-Valdez, et al. 2018), de acuerdo con Bautista, (2007) se clasifican en mecánicas, químicas y físicas, en la Tabla 2 se muestran los tipos de tratamientos para romper la latencia exógena para los diferentes tipos de latencia en semillas.

Tabla 2. Técnicas pre germinativas (Tomada de Bautista, 2007).

Tipo de latencia		Factores que las causan	Tratamiento para romper la testa.
Latencia exógena (es debida a las partes exteriores de la semilla, testa o pericarpio)	Mecánica	Resistencia mecánica de la cubierta al crecimiento del embrión.	Destrucción del pericarpio o cubierta de la semilla (rosáceas, tejocote, chabacano, ciruelo , durazno).
	Física	Impermeabilidad de la semilla al agua.	Escarificación inmersión en agua caliente o en ácidos (leguminosas)
	Química	Inhibidores en el pericarpio	Remoción del pericarpio o lixiviado en agua caliente (pirul, palo dulce).

Varela & Arana (2010) describen la forma en la que actúan los tratamientos pre germinativos anteriormente:

Mecánica: es un tratamiento que consiste en raspar la semilla con lijas o algún otro método que ayude a romper la testa de la semilla ayudando a sea eliminado el arilo mediante frotación.

Química: este método consiste en remojar las semillas por periodos cortos de 15 min o hasta 2 horas, en compuestos químicos.

### 5.7. Cultivo *in vitro* de semillas

Intagri (2024) define que *“el cultivo in vitro de especies vegetales se centra en el aislamiento de órganos, tejidos vegetales y/o células vegetales, así como en el control de las condiciones requeridas para la obtención de respuestas fisiológicas o morfológicas a partir de estos explantes”*.

El cultivo *in vitro* se basa en obtener porciones de una planta a la que se le denomina explante (por ejemplo, el ápice, una hoja o segmento de ella, segmento de tallo, meristema, embrión, nudo, semilla, antera, etc.) y se coloca en un medio nutritivo aséptico (usualmente gelificado, semisólido) con el objetivo de inducir la regeneración de una o varias plantas (Segretín 2019).

Esta técnica, se ha ido transformando a través del tiempo y además ha permitido la introducción de diferentes explantes para usos diversos, particularmente para cultivos de propagación vegetativa o en especies de cultivos con semillas recalcitrantes o en latencia, especies silvestres que producen poca o ninguna semilla, y especies con largos ciclos de vida (Thorman-Imke, et al. 2006).

Al respecto Jimenez Terry & Agramontes (2013) señalan que la micropropagación ha ayudado a mantener un equilibrio con el ecosistema forestal y del medio ambiente

debido a que es una técnica que permite la producción de plantas y su conservación genética.

Por otro lado, las experiencias positivas en germinación de semillas vía cultivo *in vitro*, pueden ser una estrategia de solución a la problemática planteada por Maxted *et al.* (2000) quien afirma que, está ocurriendo una pérdida catastrófica de la diversidad genética de las plantas; las especies, las combinaciones de genes y los alelos se están perdiendo para siempre y este proceso de erosión genética probablemente se agravará aún más en el futuro, la conservación, la diversidad de plantas es de importancia crítica, debido a los beneficios directos. La pérdida constante de diversidad de plantas combinada con el rápido crecimiento de la población es probable que sea devastador si no se controla y buscan alternativas para evitar la pérdida de especies.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Material biológico y ubicación geográfica

Ubicación geográfica del desarrollo del experimento:

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Botánica y en el Jardín Botánico “Ing. Gustavo Aguirre Benavides” del Departamento de Botánica, dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicado geográficamente a 25° 23’42” latitud norte y 100° 50’ 57” longitud oeste y a una altitud de 1743 msnm en Buenavista, Saltillo Coahuila, México.

Las semillas de *N. micrantha* fueron colectadas por el personal de PROFAUNA A. C. y nos fueron entregadas el 28 de octubre del año 2020. Para su almacenamiento se limpiaron, contaron 50 semillas y cada conjunto de las mismas, se guardó en un sobre de papel. Se mantuvieron en un lugar seco, fresco y sin luz.

### 6.2 Caracterización de las semillas

Se consideró medir e identificar color y forma de las semillas de *Nolina micrantha* para determinar sus características distintivas.

**Tamaño.** Se obtuvo midiendo con un vernier (marca) el largo y ancho.

**Color.** Se comparó el color de las semillas con la paleta de colores de Munsell (2024 /[Tabla munsell digital | PDF](#)).

**Forma.** Se determinó la forma de las semillas tomando las descripciones previamente descritas en las referencias bibliográficas.

### 6.3 Prueba de viabilidad de las semillas

Para tener un valor estimado de la viabilidad de las semillas, se realizó la técnica colorimétrica de sal de tetrazolio que consistió en seleccionar 20 semillas, se colocaron en una caja Petri e hidrataron con agua corriente por 24 horas a 2° C, transcurrido ese tiempo se partieron por la mitad y se colocaron en la caja Petri con la superficie en la que se hizo el corte hacia abajo, se le añadió 5 mililitros de disolución de cloruro de tetrazolio al 1% y se dejaron incubar por 2 h. Transcurrido el tiempo, se observaron las semillas bajo el estereoscopio y se comparó el patrón de coloración con la tabla de referencia de color, determinando el grado de tinción, considerando que si el embrión se encuentra de un 100 a un 80% teñido, es una semilla viable y si el porcentaje es menor a 80% e involucra al embrión, es considerada como no viable.

Con los datos obtenidos se calculó el valor de viabilidad (ver fórmula) a su vez, ese valor se puede usar como un referente del porcentaje de germinación (tomada y modificada de Espinosa-Chávez, (2016):

$$PV = \frac{(\text{numero de semillas teñidas de rojo})}{(\text{numero total de semillas})} \times 100$$
$$PV = \frac{(10 \text{ semillas teñidas})}{(11 \text{ semillas})} \times 100 = 90\% \text{ de viabilidad}$$

### 6.4 Desinfección de semillas

El protocolo de desinfección consistió en realizar un primer lavado con detergente (Tween 20) a una concentración de 2 ml/L, posteriormente un enjuague y la introducción a una solución clorada (hipoclorito de sodio comercial) 40% por 5 minutos, seguido de un enjuague y otro lavado con una solución de alcohol al 70 % por 3 min. Todos los lavados se realizaron en campana de flujo laminar con agua destilada.

Posterior a la desinfección, las semillas se dividieron en cuatro grupos de acuerdo al tratamiento pre germinativo que recibieron, las semillas pasaron por los siguientes tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3. Tratamiento pre germinativo que recibieron las semillas

Medio	T1	T2	T3	Testigo
	Desinfección + Remojo en Peróxido de hidrógeno 24 hrs.	Desinfección + Ácido sulfúrico Concentrado Por 10 min.	Desinfección + Remojo en Agua caliente por 5 min.	Desinfección
<i>Ex vitro</i>	150 semillas	150 semillas	150 semillas	150 semillas

Medio	T1	T2	T3	Testigo
	Desinfección + Remojo en Peróxido de hidrógeno 24 hrs.	Desinfección + Ácido sulfúrico Concentrado Por 10 min.	Desinfección + Remojo en Agua caliente por 5 min.	Desinfección
<i>in vitro</i>	150 semillas	150 semillas	150 semillas	150 semillas

### 6.5 Cultivo de semillas bajo condiciones *in vitro*

- Elaboración de medio de cultivo:

En la balanza (A&D/GR-200) se pesaron 4.43 gramos de medio Murashige and Skoog (marca PlantMedia, composición descrita en la Tabla 4) para preparar un litro de medio, los cuales se disolvieron en agua, se incorporaron 30 g de sacarosa, se aforó para alcanzar un volumen de litro, se ajustó el pH a 5.7 con un potenciómetro (Hanna Instrument/HI98107) y adiciona 7 g de agar bacteriológico, se calentó en una

placa de calor con agitación magnética (Corning PC-320) hasta que se disolvió y observó una consistencia homogénea, se vertieron aproximadamente 25 ml de medio en cada uno de los recipientes de vidrio (frascos tipo Gerber) y se cubrieron con una tapa de papel aluminio.

Tabla 4. Composición química del medio MS (modificada de Shobhana, *et. al.* 2018)

<b>Macronutrientes</b>	<b>Micronutrientes</b>	<b>Hierro</b>	<b>Vitaminas</b>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	KI	Na <sub>2</sub> .EDTA	Inositol
KNO <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Ácido Nicotínico
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O		Piridoxina HCL
CaCl <sub>2</sub> .aq	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O		Tiamina
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O		Glicina
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O		
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O		
<b>Fuente de carbono</b>	<b>Gelificante</b>		
Sacarosa	Agar		

- Esterilización del medio y material de soporte:

El medio preparado, así como los materiales para la siembra: vasos de precipitados, probeta, pinzas, cajas Petri y toallas de papel “sanitas”, se esterilizaron a 20 libras de presión por 20 minutos en autoclave, una vez enfriado el material y gelificado el medio se almaceno en un lugar limpio y seco hasta su uso. El material de soporte y de cristalería se mantuvo en condiciones estériles con el fin de evitar cualquier contaminante en los cultivos.

- Siembra *in vitro*:

Los cultivos con las semillas se incubaron en una cámara de germinación con un fotoperiodo de 16 hrs. luz/ 8 hrs. oscuridad por un tiempo de 30 a 60 días posteriormente a la siembra, a temperatura de 22° C. Paralelo al cultivo *in vitro* se realizó una prueba de germinación *ex vitro* con un sustrato estéril compuesto por peat moss y vermiculita con el fin de comparar diferencias en tiempo y porcentaje de germinación.

- Evaluación de respuesta de germinación:

Cada uno de los ensayos se hicieron por triplicado, durante el proceso de germinación se obtuvieron datos de porcentaje de germinación, formación de radícula, formación de brote caulinar y porcentaje de contaminación.

Los datos obtenidos se procesaron utilizando las variables estadísticas del programa de Excel para aplicar en la estadística descriptiva.

#### 6.6 Aclimatación de plántulas en vivero

Las plántulas obtenidas de la germinación *in vitro*, se trasladaron al área de vivero en el Jardín Botánico, para su aclimatación. Se preparó la mezcla del sustrato peat moss con agrolita y vermiculita en proporción 8:1:1, posteriormente se hidrata hasta punto de saturación y fue colocado en bolsas de plástico, para luego colocar las plantas y continúen con su crecimiento bajo las condiciones *ex vitro*.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Caracterización de las semillas.

El tamaño, el color y la forma de las semillas de *Nolina micrantha* sigue un patrón con de otras especies de su género tomando como referente el trabajo de Quiahua Barrera, et al., (s/f) donde menciona que las semillas de *Nolina cespitifera* tienen forma esférica ligeramente ovoide, con una tamaño de 3.4 a 4.5 mm de largo y de ancho una medida de 3.4 a 4.4 mm, la semilla presenta un color amarillo ámbar a marrón oscuro a negro, por otro lado (Castillo Quiroz, et al. 2015) también argumenta que las semillas de *Nolina cespitifera* tienen una forma ovoide, con un tamaño de 3-4 mm de diámetro y son de color marrón.

Las características obtenidas para semillas de la especie en estudio fueron de un tamaño de 2mm a 3mm, con un color marrón brillante y una forma ovoide, tal como otros miembros de su género.



Figura 4. Semillas de *Nolina micrantha* en las que se aprecian las características de color amarillo ámbar y tamaño de 3.4 a 3.5mm.

## 7.2. Prueba de viabilidad

Podemos entender por viabilidad de una semilla, a la capacidad que tiene para germinar y formar una nueva planta, Mancipe-Murillo, et al. (2018) define viabilidad al potencial que tiene una semilla para germinar. Una de las técnicas que nos permite conocer la viabilidad de las semillas y en consecuencia, estimar la respuesta que tendrán en el cultivo, es la prueba con sal de tetrazolio. Tomando en cuenta que el SNICS (2018) menciona que se deben de hidratar las semillas para que comience la actividad metabólica; ésta actividad puede demostrarse al adicionar sal de tetrazolio el cual interactúa con las enzimas activas de las células del tejido embrionario, dando paso a una reacción colorida y observando una tinción de color rojizo en el embrión y endospermo, condición que indica la viabilidad (potencial de germinación) que tiene la semilla.

Conforme a la valoración de la tinción de las semillas, se obtuvo un porcentaje de viabilidad del 90%, tomando en cuenta las semillas en las que el embrión se tiñó de rojo, lo que nos representa, la cantidad de semillas que son capaces de germinar (Fayad y Chávez, 2016) y las que no alcanzaron la tinción, representaría el porcentaje de las que no germinaron. Nuestros resultados, se sustentan en el hecho, de que una concentración de sal de tetrazolio (Tz) al 1% es suficiente para realizar el ensayo de viabilidad, tal como lo sugiere Gonzalez-Vera, (2019) quien en su estudio señala que sal de Tz al 1% es adecuada para teñir el embrión como indicativo de viabilidad, del mismo modo toma en cuenta que la constitución química de la especie es muy distinta entre sí, lo que conlleva a utilizar concentraciones de sal a diferentes porcentajes, por ejemplo, para las semillas de chíca el 0.075% de sal Tz fue considerado eficiente. Para nuestro estudio el uso de sal al 1% fue adecuado, sustentado por los trabajos de Salazar Mercado, et al. (2018) quienes aplicaron a semillas de linaza sal de tetrazolio al 1% por 24 h y fue suficiente para su análisis, resultados semejantes fueron los del experimento realizado por Monroy-Vasquez et al. (2017) utilizando la prueba de viabilidad de tetrazolio aplicada a cuatro especies de *Opuntia*, obteniendo valores de 97.6% de viabilidad con sal de tetrazolio al 1%. Por otra parte, Salazar Mercado et al. (2020) determinó el valor de

viabilidad en semillas de *Capsicum annuum* L. quien en su estudio aplicó la sal de Tz al 1% por 24 h y determina la alta eficiencia de la prueba.

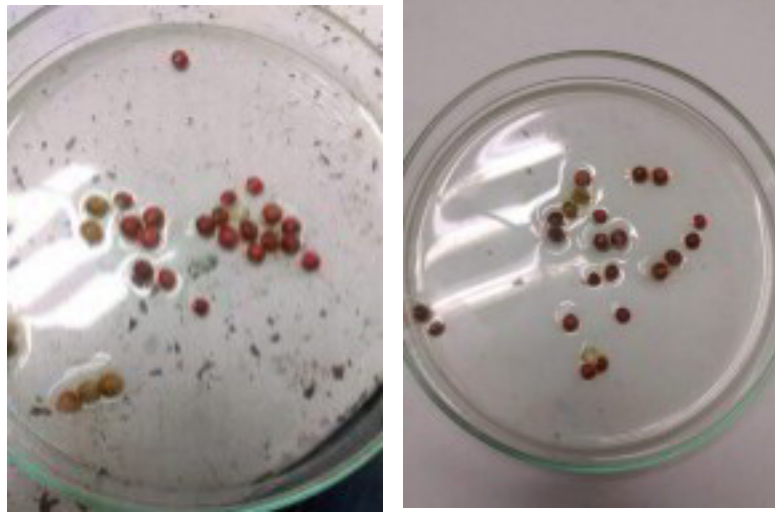


Figura 5. Semillas sumergidas en sal de tetrazolio para la determinación de viabilidad.

### 7.3. Protocolo de desinfección

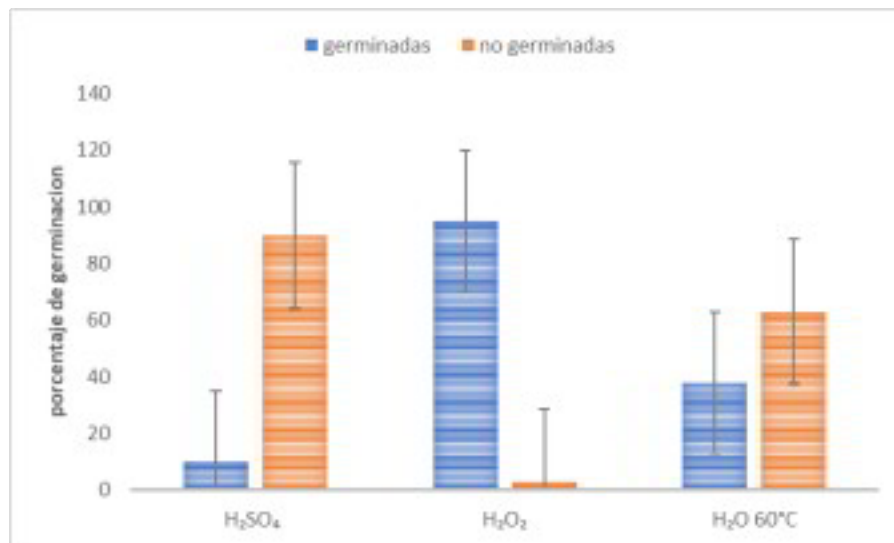
Los resultados obtenidos con el protocolo de desinfección aplicado, fue un índice de contaminación de semillas del 10%, siendo un resultado aceptable de las no contaminadas respecto a las semillas que no se contaminaron.

Tomando el índice de semillas contaminadas en nuestro protocolo de desinfección se considera que la adición de otros componentes para la desinfección es necesaria, como lo demuestran en su trabajo Silva, et al. (2013) al incluir Plant Preservative Mixture (PPM) para la desinfección de las semillas de diferentes especies nolináceas en donde el protocolo de desinfección fue nulo. Por otro lado, Campos Ruiz (2020) quien en su experimento utilizó los mismos agentes desinfectantes, pero realizó por duplicado los lavados en donde uno fue con testa y sin testa, por tiempos de 20 y 10 min, teniendo como resultado un 0% de contaminación y una germinación del 87.5% para semillas de caoba.

#### 7.4. Tratamientos pre germinativos y cultivo in vitro.

De acuerdo a los tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de *N. micrantha* (gráfica 1), el tratamiento que favoreció la obtención de mayor porcentaje de germinación, con un 95%, en condiciones *in vitro* fue al mantener en remojo las semillas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 1% durante 24 hrs, seguido del 40% de germinación, utilizando el tratamiento de remojo con agua por 24 h más remojo de agua a 60° C por 5 min y con el menor porcentaje, las semillas que recibieron el tratamiento ácido sulfúrico al 20% por 10 min.

Acorde con los resultados de esta investigación, Garduza-Acosta, et al., (2019) señalan que los tratamientos de semillas con escarificación química son los métodos pre germinativos eficientes, generalmente utilizados para superar la latencia de las semillas, en su trabajo compararon los resultados producto de la escarificación con ácido sulfúrico y agua caliente, demostrando que al remojar en agua caliente se promueve una mayor permeabilidad ablandando la capa de semillas de crotalaria y obteniendo un porcentaje mayor de germinación al aplicar tratamientos pre germinativos.



Gráfica 1. Porcentaje de germinación de *Nolina micrantha* al utilizar diferentes tratamientos pregerminativos.

Ruiz-Carranza et al. (2024) en su investigación utilizaron peróxido de hidrógeno, ácido sulfúrico y agua hirviendo en diferentes tiempos de remojo y concentraciones como tratamientos pre germinativos para cinco especies leñosas, evaluaron la respuesta de germinación y observaron en las semillas escarificadas se promovió la germinación, siendo más eficiente la escarificación en ácido sulfúrico en *Ebanopsis ebano*, *Havardia pallens* y *Vachellia farnesiana* encontrando una relación entre el tratamiento y la especie que lo recibe.

Por lo anterior, consideramos adecuada la aplicación de tratamientos pre germinativos para *Nolina micrantha*, en específico resaltando el uso de peróxido de hidrógeno que al ser aplicado favoreció el rompimiento de la latencia y en consecuencia se promovió la germinación, Sánchez-Paz & Ramírez-Villalobos (2006) en su investigación, registraron un mayor porcentaje de germinación utilizando agua caliente (80°C por 10 min.) obteniendo un 91.5%, argumenta que este resultado pudo ser debido a la alta temperatura la cual favoreció a la eliminación de la impermeabilidad de la cubierta seminal. Por otro lado, Merino-Valdez et al. (2018) en sus experimentos obtuvieron que los tratamientos que llevaron a una mejor respuesta de germinación fueron los de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 20% por 20 min. y ácido giberélico (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>) 15 mg por 24 h., en donde el peróxido de hidrógeno aumentó el porcentaje de germinación.

Por otra parte se quiso comparar si la respuesta de germinación de semillas de *N. micrantha* bajo condiciones *in vitro* y *ex vitro* utilizando como sustrato de siembra el peat moss:perlita:vermiculita, se aplicaron los mismos tratamientos pre germinativos y al cabo de 20 días, se observó la germinación, sin embargo los valores de germinación fueron inferiores respecto a los obtenidos en las condiciones de cultivo *in vitro* considerando que el alto nivel de humedad de los medios *in vitro* es un factor que favoreció la respuesta bajo esta condición y no la de *ex vitro*, además la temperatura e iluminación al ser constantes favorece al desarrollo de la respuesta de germinación y el desarrollo de las plántulas. Algunos trabajos como el de Ramírez-González, et al. (2019) obtuvo resultados semejantes a los obtenidos en esta

investigación, al comparar la respuesta de germinación de cinco especies de semillas de cactáceas del género *Mammillaria*, en donde obtuvieron una respuesta diferencial de germinación con el cultivo *in vitro* sobrepasando el 90% de germinación, mientras que para el cultivo *ex vitro* (figura 6), el porcentaje de germinación fue ligeramente mayor al 85.2%.

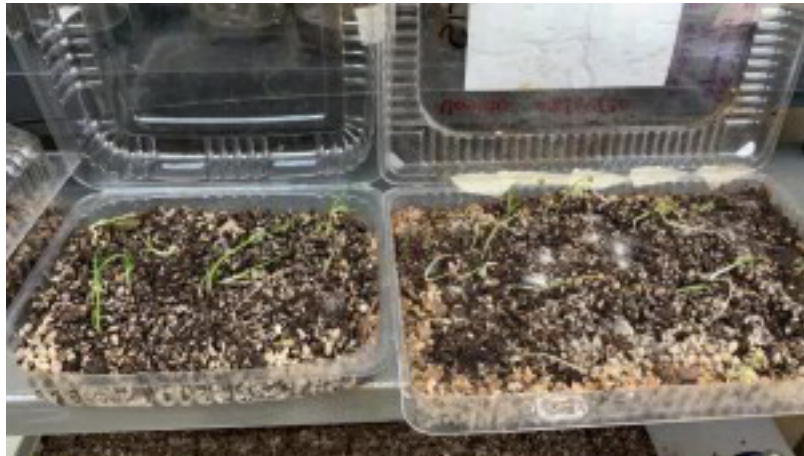


Figura 6. Plántulas de *Nolina micrantha* crecidas en tratamiento de germinación *ex vitro*

#### 7.5. Aclimatación de plántulas en el vivero

Por último, uno de los resultados tangibles del proyecto fue la aclimatación de las Nolinas (figura 7) y la entrega de 27 plantas para su establecimiento en el vivero del Ejido Chapultepec, Arteaga, atendidos por pobladores locales y guarda parques de PROFAUNA A. C.



Figura 7. Aclimatación de plántulas de *Nolina micrantha* para entregar a los viveros de PROFAUNA.

## 8. Conclusiones

La aplicación de tratamientos pre germinativos son una alternativa para el rompimiento de la latencia de las semillas.

El peróxido de hidrógeno puede considerarse como una solución con acción de escarificación química, su aplicación al 1 % por 24 horas permite romper la latencia en las semillas de *Nolina micrantha*.

El cultivo *in vitro* es una técnica viable para la germinación de semillas de la especie *Nolina micrantha* siempre y cuando el protocolo de desinfección sea el adecuado para evitar la pérdida de germoplasma (semillas) por contaminación en el medio.

Una alternativa para satisfacer las necesidades de los viveros en los ejidos circunscritos a la sierra de Zapalinamé, es desarrollar protocolos de germinación para las especies nativas, como una alternativa para la conservación *ex situ*.

## 9. LITERATURA CITADA

- Bautista, A. A. (2007). Manual de ensayos de semillas forestales. *Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales de Coahuila (SERMARNAC), Saltillo, Coahuila, México, 34pp.*
- da Silva, J. A. T., Winarto, B., Dobránszki, J., & Zeng, S. (2015). Disinfection procedures for in vitro propagation of *Anthurium*. *Folia Horticulturae*, 27(1), 3-14.
- Encina-Domínguez, J. A., Encina-Domínguez, F. J., Mata-Rocha, E., & Valdes-Reyna, J. (2008). Aspectos estructurales, composición florística y caracterización ecológica del bosque de oyamel de la Sierra de Zapalinamé, Coahuila, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (83), 13-24.
- EncuRed (2019) Planta Pinguica [https://www.ecured.cu/Planta\\_Pinguica](https://www.ecured.cu/Planta_Pinguica)
- Jiménez-Terry, F., & Agramonte, D. (2013). Cultivo in vitro y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Bioteología Vegetal*, 13(1).
- Maxted N., Ford-Lloyd B.V., Hawkes J.G. (2000) Complementary conservation strategies. In: Maxted N., Ford-Lloyd B.V., Hawkes J.G. (eds) Plant Genetic Conservation. Springer, Dordrecht The in Situ Approach. *Biología Plantarum*, 41(2), 318-319.
- Segretín M. E., recuperado 2019 Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales) INGEBI-CONICET - Dpto. FBMyC, FCEyN-UBA Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular.
- Thormann, Imke & Dulloo, Mohammad & Engels, Johannes. (2006). Techniques for ex situ plant conservation, Inc. All rights reserved. Doi 10. 1300/5546-02.

- Varela-Santiago A. y Arana Veronica (2011) Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistema Forestal Integrado*, 1-10.
- De Antuñano, S. E., Aranda-García, M., & Marrett, R. (2000). Tectónica de la Sierra Madre Oriental, México. *Bol. Soc. Geol. Mex.*, 53, 1-26.
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos tropicales*, 31(1), 00-00.
- Magnitskiy, S., & Plaza, G. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía colombiana*, 25(1), 96-103.
- Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de semillas. *Experimentos en fisiología vegetal*, 13-25.
- Boufford, D. E. Fumaria. In: *Flora of North America* Editorial Committee, eds. 1993+. *Flora of North America North of Mexico* [Online]. 25+ vols. New York and Oxford. Vol. 3. <http://beta.floranorthamerica.org/Fumaria>. Accessed [07 noviembre 2024].
- Olvera, V.,D. 2006, patrones de distribución geográfica de *Nolina Michx.* (Nolinacea). Para obtener el grado de Licenciatura en Biología, Universidad de Querétaro. Biblioteca central de UAQ <https://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/4651/1/RI002023.pdf>
- Comisión Nacional para el Conocimiento Y uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2022) SLI 2173 *Nolina micrantha*. Categoría taxonómica. CONABIO México. [https://enciclovida.mx/explora-por-clasificacion?especie\\_id=159463](https://enciclovida.mx/explora-por-clasificacion?especie_id=159463)
- Silva, A.I.R., Muñoz, C. F. M., Reyes, M. E. P. & Balch E. P. M. (2013). Propagacion in vitro de nolináceas mexicanas. *Investigacion y Ciencias*, 21(58), 12-20.
- Hernandez-Sandoval, L (2020). Flora Del Bajío De Regiones Adyacentes. Instituto de Ecología Ac Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, México. Fascículo, 213, 40.

- Ruiz-Sanchez, E., Carrillo-Reyes, P., Hernández-Sandoval, L. G., & Specht, C. D. (2019). Two new species of *Nolina* (Nolinoideae: Asparagaceae) endemic to western Mexico. *Phytotaxa*, 402(4), 187-198.
- García-Mendoza, A., & Galván-V, R. (1995). Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. *Botanical Sciences*, (56), 7-24.
- Castillo Quiroz, D., Sáenz Reyes, J., Torres Espinosa, L. M., & Sánchez Aspeytia, D. (2009). Tablas de producción para el inventario de Cortadillo (*Nolina cespitifera* Trel.) en el Sureste de Coahuila. *Ciencia forestal en México*, 34(105), 157-172.
- Villamil, J. M. P., & García, F. P. (1998). *Germinación de semillas* (pp. 35-39). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
- Mancipe-Murillo, C., Calderón-Hernández, M., & Pérez-Martínez, L. V. (2018). Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Caldasia*, 40(2), 366-382
- Monroy-Vázquez, M. E., Peña-Valdivia, C. B., García-Nava, J. R., Solano-Camacho, E., Campos, H., & García-Villanueva, E. (2017). Imbibición, viabilidad y vigor de semillas de cuatro especies de *Opuntia* con grado distinto de domesticación. *Agrociencia*, 51(1), 27-42.
- Salazar Mercado, S. A., Maldonado Bayona, H. A., & Quintero Caleño, J. D. (2018). Evaluación de la calidad fisiológica de las semillas de *Linum usitatissimum* L. con la prueba de tetrazolio. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 22(3 (2018)), 25-36
- Espinosa Chávez, J. S. (2016) protocolo para conocer la viabilidad de *Platymiscium pinnatum* confines de conservación y restauración ecológica. Pronatura Veracruz, Recuperado de: [https://pronaturaveracruz.org/PDFs/viabilidad/Protocolo\\_vialbilidad\\_Platymiscium\\_pinnatum.pdf](https://pronaturaveracruz.org/PDFs/viabilidad/Protocolo_vialbilidad_Platymiscium_pinnatum.pdf) 10(02(2025)).

- González Vera, M. J., Zanatta Aumonde, T., Meneghello, G. E., Noguez Martins, A. B., Aquino, Y., & Peña, P. (2019). Protocolo de análisis de viabilidad de semillas de chía mediante test de tetrazolio. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(7), 1481-1489
- Salazar Mercado, S. A., Rojas Suárez, J. P., & Quintero Caleño, J. D. (2020). Determinación de la viabilidad de semillas de capsicum annuum L usando la prueba de tetrazolio. *Aibi revista de investigación, administración e ingeniería*, 8(3 (2020)), 7-12
- Campos Ruiz, J., Arteaga Cuba, M., Campos Ruiz, S., Chico Ruíz, J., & Cerna Rebaza, L. (2020). Establecimiento de un protocolo de desinfección y micropropagación in vitro de " caoba" Swietenia macrophylla King (Meliaceae). *Arnaldoa*, 27(1), 141-156
- García-Mendoza, A., Solano, E., & Rivera-Lugo, M. (2012). Nolina excelsa (Nolinaceae) una especie nueva del estado de Oaxaca, México. *Botanical Sciences*, 90(1), 21-25.
- Sánchez Méndez, R. I. (2020). *Rendimiento de la fibra de Agave lechuguilla Torr. en poblaciones naturales del ejido José María Morelos-El Nopal, Jaumave, Tamaulipas* (Doctoral dissertation).
- Castillo-Quiroz, D., Antonio-Bautista, A., Ávila-Flores, D. Y., Sáenz-Reyes, J. T., & Castillo-Reyes, F. (2018). Chemical and biological treatments for stimulating germination in Nolina cespitifera Trel. seeds. *Polibotánica*, (45), 147-156
- Pérez-Ruiz, J. A., Mejía-Contreras, J. A., Hernández-Livera, A., & Zamora-Díaz, M. (2015). Ausencia de latencia en semilla de genotipos mexicanos de cebada (Hordeum vulgare L.) para malta. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(3), 249-255.
- Intagri (2024) cultivo in vitro de células y tejidos vegetales <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/cultivo-in-vitro-de-celulas-y-tejidos-vegetal>

Imagen de T. Gleason (30 de abril del 2022) Inaturalist Nolina Micrantha I.M. Johnst.  
<https://www.gbif.org/es/occurrence/4516871214>

Ruiz-Carranza, L. D., Sigala-Rodríguez, J. Á., Alanís-Rodríguez, E., Molina-Guerra, V. M., & Basave-Villalobos, E. (2024). Tratamientos que promueven la germinación de semillas de cinco especies leñosas del Matorral Espinoso Tamaulipeco con latencia física. *Polibotánica*, (58), 159-170

Sánchez Paz, Y., & Ramírez-Villalobos, M.. (2006). Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(3), 257-272. Recuperado en 12 de febrero de 2025, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-78182006000300001&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182006000300001&lng=es&tlng=es).

Merino-Valdés, M., Andrés-Meza, P., Leyva-Ovalle, O. R., López-Sánchez, H., Murguía-González, J., Núñez-Pastrana, R., ... & Luis, J. (2018). Influencia de tratamientos pregerminativos en semillas de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *Acta Agronómica*, 67(4),

Rojas-Aréchiga, Mariana, & Mandujano-Sánchez, María C.. (2017). Latencia secundaria en especies de la tribu Cacteeae (Cactaceae). *Polibotánica*, (44), 137-145. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.44.10>

Castillo-Quiroz, D., Flores, D. Y. A., Castillo-Reyes, F., Bautista, A. A., & Martínez-Burciaga, O. U. (2015). *Nolina cespitifera* Trel. recurso forestal no maderable de importancia económica y social del noreste de México. *Interciencia*, 40(9), 611-617

Quiahua Barrera, L., Rodríguez-Trejo, D. A., Mendosa Celino, S. (s/f). *Nolina Cespitifera* Trel. (Asperagaceae) <file:///C:/Users/Juan%20Perez/Downloads/Nolina%20cespitifera%20Trel.%20-Asparagaceae.pdf>

- Ramírez-González, G., Martínez-Solís, J., & Colinas-León, M. T. (2019). Germinación y crecimiento ex vitro e in vitro de cinco especies de cactáceas del género *Mammillaria*. *Polibotánica*, (48), 99-110.
- Mallén Rivera, Carlos, & Nieto de Pascual Pola, Cecilia. (2009). Reseña de publicaciones forestales elaboradas por investigadores del INIFAP. *Ciencia forestal en México*, 34(106), 219-227. Recuperado en 11 de mayo de 2025, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-35862009000200013&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-35862009000200013&lng=es&tlng=es).
- Soblechero, E., Hernanz, A., Antón, N., & Durán, J. M. (2005). La semilla y su morfología. *Agricultura. Revista Agropecuaria. Año*, (74), 612-615.
- Berjak, P. A. T. R. I. C. I. A., & Pammenter, N. W. (2010). Semillas ortodoxas y recalcitrantes. *Manual de Semillas de Árboles Tropicales. IV. US. Agricultural Department. Forestal Service*, 143-155.
- Magnitskiy, S., & Plaza, G. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía colombiana*, 25(1), 96-103.
- De la Cuadra, C. E. L. I. A. (1992). *Germinación, latencia y dormición de las semillas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario.
- Reyes B. Z y Rodriguez T. D. A. (s/f) *Nolina parviflora* (H. B. K.) Hemsl. (Asparagaceae) In : Rodríguez-Trejo, D. A. (Coord.). *Semillas de Especies Forestales*. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx. pp. 201-207.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) (2019), Proyecto de Resiliencia. Áreas naturales protegidas. Soluciones soluciones naturales a retos globales Comisión de las áreas naturales protegidas (CONAP), 157.
- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistemas Forestales Integrados*, 3, 1-10.

Texas Tech University, E. L. Reed Herbarium (TTC:GUMO), (2025), *nolina micrhatha* I.M. Jonst. (pgn), North American Network of Small Herbaria <https://www.nansh.org/portal/collections/individual/index.php?occid=19441107>

Plaza, G. A., & Magnitskiy, S. V. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales.

García-Mendoza, Abisaí, Solano, Eloy, & Rivera-Lugo, Miguel. (2012). *Nolina excelsa* (Nolinaceae) una especie nueva del estado de Oaxaca, México. *Botanical Sciences*, 90(1), 21-25. Recuperado en 23 de mayo de 2025, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-42982012000100003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-42982012000100003&lng=es&tlng=es).

López-Serrano, P.M., Hernández-Ramos, A., Méndez-González, J., Martínez-Salvador, M., Aguirre-Calderón, O., Vargas-Larreta, B., Corral-Rivas J.J. 2021. Mejores prácticas de manejo y ecuaciones alométricas de biomasa de *Nolina texana* S. Wats en el estado de Chihuahua. Proyecto: 2017-4-292674. CONAFOR-CONACYT. México. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/707189/Mejores\\_practicas\\_de\\_Nolina\\_texana.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/707189/Mejores_practicas_de_Nolina_texana.pdf)

Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de semillas. Experimentos en fisiología vegetal, 13-25. <file:///C:/Users/david/Downloads/Biologiaygerminaciondesemillas.pdf>

del Amo Rodríguez, S., Vergara Tenorio, M., Ramos Prado, J., & Sainz Campillo, C. (2002). Germinación y manejo de especies forestales tropicales.“.

Castillo Quiroz, D., Antonio Bautista, A., Castillo Reyes, F., Ávila Flores, D, Y., & Sanches Reyes, T, (2026). Memorias XII Congreso Nacional sobre Recursos Bióticos de Zonas Áridas, Universidad Autónoma de Chapingo, 392.

Garduza-Acosta, B., Lagunes-Espinoza, L. C., Bautista-Muñoz, C. C., García-de-Los-Santos, G., Zaldívar-Cruz, J. M., & Hernández-Flores, A. (2019). Germination

of *Crotalaria* and *Lupinus* (Fabaceae) seeds submitted to different pre-germination treatments and their effect on enzymatic activity during early germination. *Brazilian Journal of Biology*, 80(1), 23-29.

de Coahuila, G. D. E. (1998). Programa de manejo de la zona sujeta a conservación ecológica "Sierra de Zapalinamé". Secretaría de Desarrollo Social. Dirección General de Ecología. Saltillo, Coah., México.

Quirino Olvera R., (2017) La familia nolinaceae en el estado de Nuevo León, Para obtener el título de biólogo, Universidad Autónoma De Nuevo León, Facultad De Ciencias Biológicas, Departamento De Botánica. [http://www.fcb.uanl.mx/nw/images/stories/tesis/Ricardo\\_Quirino\\_Olvera.pdf](http://www.fcb.uanl.mx/nw/images/stories/tesis/Ricardo_Quirino_Olvera.pdf)

Shobhana, V & Ashokkumar, Kaliyaperumal & Karthikeyan, A. (2018). Evaluation of new plant type (NPT) lines of rice (*Oryza sativa* L.) for callus induction and in vitro plant regeneration, *International Journal of chemical studies*, 6(2): 206-212.