



MORFOLOGÍA DE SEMILLAS DE SIETE ESPECIES DEL GÉNERO *OPUNTIA* (CACTACEAE) DEL SURESTE DE COAHUILA (MÉXICO)

SEED MORPHOLOGY OF SEVEN SPECIES FROM *OPUNTIA* GENUS (CACTACEAE) COLLECTED AT COAHUILA'S SOUTHEAST (MEXICO)

Areli Gonzalez-Cortés¹, Francisca Ramírez-Godina^{1*}, M. Humberto Reyes-Valdés¹, Valentín Robledo-Torres², Miguel Ángel Pérez-Rodríguez³, José A. Villarreal-Quintanilla³ y Alfonso López-Benítez¹

SUMMARY

1. Programa de Doctorado en Recursos Fitogenéticos para Zonas Áridas. 2. Depto. de Fitomejoramiento, Depto. de Horticultura. 3. Depto. de Botánica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315 Saltillo, Coahuila, México.

*godramf@gmail.com

Citar este artículo

GONZALEZ-CORTÉS, A., F. RAMÍREZ-GODINA, M. H. REYES-VALDÉS, V. ROBLEDO-TORRES, M. Á. PÉREZ-RODRÍGUEZ, J. A. VILLARREAL-QUINTANILLA & A. LÓPEZ-BENÍTEZ. 2019. Morfología de semillas de siete especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del sureste de Coahuila (México). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 54: 493-507.

DOI: <http://dx.doi.org/10.31055/1851.2372.v54.n4.23572>



Recibido: 26 Febrero 2019
Aceptado: 12 Septiembre 2019
Publicado: 15 Diciembre 2019
Editora: Ana Calviño 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

Background and aims: *Opuntia*'s natural distribution encompasses from Canada to Argentina and it is part of the landscape in some regions of the world. There are between 191 and 215 *Opuntia* species. The *ex situ* conservation of this phylogenetic resource has gained relevance, but the species identification using the seeds is a limitation when there is a lack of reliable morphological traits. The purpose of this research work was to characterize the seed morphology of seven *Opuntia* species and identify their own morphological traits, in order to establish the species' identification criteria when seeds are the only source of preserved plant material.

M&M: We used the attrition and image analysis technique to measure: seed coat thickness (GT), ventral funicular coat thickness (GCFV), embryo's length, embryo's surface area, major axis length and minor axis length. The most outstanding traits were detected through exploratory ANDEVA and main components methods. The species classification and forecasting were based on a supervised multivariate analysis.

Results: Differences in all the variables among species were significant. *Opuntia ficus-indica* had the largest seeds. GCFV and GT were the most helpful variables in terms of discrimination. The main component analysis explained 92% of the total variation. K- Nearest Neighbor method was able to forecast correctly 83% of the species classification cases.

Conclusions: The assessed seed traits, mainly GCFV and GT, can help in the morphological description of prickly pear species and in the *Opuntia* species identification, when there are only seeds.

KEY WORDS

Cactaceae, traits, embryo, morphology, *Opuntia*, seed coat.

RESUMEN

Introducción y Objetivos: *Opuntia* se distribuye naturalmente desde Canadá hasta Argentina, actualmente forma parte del paisaje en algunas regiones del mundo, comprende entre 191 y 215 especies; la conservación *ex situ* de este recurso fitogenético ha adquirido relevancia, pero la identificación de especies por semilla es una limitante cuando no existen caracteres morfológicos confiables. El objetivo del estudio fue caracterizar la morfología de semillas de siete especies de *Opuntia* e identificar caracteres morfológicos propios, para tener un criterio en la identificación de especies cuando el material vegetal conservado es semilla.

M&M: Mediante la técnica de desgaste y análisis de imágenes se evaluó: grosor de testa (GT), grosor de la cubierta funicular ventral (GCFV), longitud del embrión, área del embrión, longitud del eje mayor y eje menor. Con ANDEVA exploratorios y componentes principales se detectaron los caracteres más sobresalientes. Para la clasificación y predicción de especies se realizó un análisis supervisado con los métodos K-NN y LDA.

Resultados: Las diferencias en todas las variables entre especies fueron significativas. *Opuntia ficus-indica* presentó semillas de mayor tamaño. Las variables que más ayudan a discriminar son GCFV y GT. El análisis de componentes principales explicó el 92% de la variación total. El método K-NN, fue capaz de predecir correctamente el 83% de los casos en la clasificación de las especies.

Conclusiones: Los caracteres de semillas evaluados, principalmente el GCFV y GT, pueden coadyuvar en la descripción morfológica de las especies de nopal o en identificación de especies de *Opuntia* cuando sólo se tiene semilla.

PALABRAS CLAVE

Cactaceae, caracteres, embrión, morfología, *Opuntia*, testa.

INTRODUCCIÓN

Los nopales, como se les conoce comúnmente a las cactáceas con cladodios planos de los géneros *Opuntia* y *Nopalea*, son un recurso biológico, cultural, económico y social; actualmente se reportan más de 20 usos entre los que sobresalen alimenticio, medicinal, forrajero, ornato, combustible y control de desertificación (Mandujano *et al.*, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2005; Sáenz, 2006). Sus especies son parte del paisaje natural y de sistemas agrícolas de diferentes regiones del mundo, en América se distribuyen desde Canadá hasta Argentina (Anderson, 2001). México tiene la mayor diversidad de opuntias, por ello se considera un área de endemismo y centro de diversificación (Scheinvar *et al.*, 2010).

En el género *Opuntia*, actualmente se reconocen entre 191 y 215 especies (Anderson, 2001; Hunt, 2002), de las cuales 83 se distribuyen en México (Guzmán *et al.*, 2003) principalmente en las zonas áridas y semiáridas del país, aunque algunos autores reportan más de 93 especies silvestres (Mandujano *et al.*, 2002; Guzmán *et al.*, 2007; Scheinvar, 2010), y se han documentado alrededor de 144 variantes adicionales (Reyes-Agüero, 2005). Se cree que la diferencia en el número es por los problemas de identificación y delimitación de especies existentes en el género, debido a la variación morfológica continua, falta de descriptores claros para cada especie, alta plasticidad fenotípica, diferentes niveles de ploidía (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), y a que las especies de *Opuntia* continúan en proceso de diferenciación, evolución y domesticación (Pinkava, 2002; Reyes & Aguirre, 2006); Actualmente la conservación *ex situ* de diferentes especies de *Opuntia*, tiene como objetivo preservar el germoplasma de este género, mejorar la semilla y elaborar guías de descripción; sin embargo, se pueden cometer errores de clasificación en los distintos procesos, desde la adquisición hasta el almacenamiento y la distribución (FAO, 2014), principalmente cuando sólo se tiene la semilla y varias accesiones, y las técnicas utilizadas en la clasificación de especies o variedades se vuelven una limitante, pues la identificación de variedades y especies de *Opuntia* se basan en características morfológicas de la planta como frutos, cladodios, espinas, areolas y flores (Valdez-Cepeda *et al.*, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2005; Peña-Valdivia *et al.*, 2008; Gallegos-Vázquez *et al.*, 2011; Gallegos-Vázquez *et al.*, 2012; Espinoza-Sánchez *et al.*, 2014;

Samah & Valadez-Moctezuma, 2014). A pesar de que existe información acerca de la familia Cactaceae, las características morfológicas de las semillas se conocen poco (Prieto-García *et al.*, 2008), pues no se cuenta con caracteres recientes y confiables para la identificación de especies por medio de semillas, sumado a que los estudios morfológicos se restringen principalmente en especies comerciales. El análisis morfológico de las semillas de *Opuntia* puede ofrecer información adicional en los bancos de germoplasma (conservación *ex situ*) y en las descripciones morfológicas para identificación de especies (Johri, 1984), ya que las características de las semillas son fijadas genéticamente (Corner, 1976; Guerrero-Muñoz *et al.*, 2006), y tienen características distintivas, pues están completamente cubiertas por un tejido esclerificado derivado del funículo y presentan un grueso funículo blanco que las rodea, así como polispermo bien desarrollado y embriones curvos (resultado de la curvatura campilotrópica del óvulo; Stuppy, 2002) y una cubierta dura (Orozco-Segovia *et al.*, 2007), que para romperla se requieren presiones entre 0,2 y 4,6 kN (López-Palacios *et al.*, 2015; Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

La importancia de la morfología de las semillas ha sido reconocida en otros grupos de plantas (Davitashvili & Karree, 2010; Liu *et al.*, 2013), y uno de los caracteres relevantes es el tamaño ya que presenta variaciones considerables en la testa y el embrión, dicho carácter puede ayudar a la identificación en el proceso de conservación *ex situ* de las especies, además se puede combinar con análisis moleculares (Hoogendijk & Williams, 2001).

La importancia de la conservación *ex situ* de *Opuntia*, y considerando a la caracterización morfológica de semillas como el conjunto de características para formar un criterio para identificar especies, en el presente estudio se estableció como objetivo evaluar las características morfológicas externas e internas de semillas de siete especies del género *Opuntia* (*Opuntia durangensis* Britton & Rose, *Opuntia engelmannii* Salm-Dyck ex Engelm, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, *Opuntia megacantha* Salm-Dyck, *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff, *Opuntia rastrera* F. A. C. Weber y *Opuntia stenopetala* Engelm.), se localizan en diferentes localidades del noreste de México, con el fin de encontrar caracteres morfológicos confiables que permitan su identificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de recolecta

Durante el 2016 y 2017 se recolectaron frutos maduros de siete especies del género *Opuntia* de importancia económica: tres semi-domesticadas (recolectadas en solares) que se cultivan para producir fruta y cladodios que se consumen como verdura (*O. durangensis*, *O. ficus-indica*, y *O. megacantha*), y cuatro silvestres (recolectadas en ambientes silvestres), de las cuales tres se utilizan como forraje (*O. engelmannii*, *O. rastrera* y *O. stenopetala*) y una se considera de tipo ornamental (*O. microdasys*). Las recolectas fueron en cinco municipios ubicados en el sureste del estado de Coahuila, México (Arteaga, General Cepeda, Parras de la Fuente, Ramos Arizpe y Saltillo, entre 25° 02,406' a 25° 50,657' N y 100° 00,646' a 101° 57,720' O), en altitudes ente 930 y 2464 m (Tabla 1, Fig. 1A-B, Fig. 2A-G). Los ejemplares de referencia se encuentran resguardados en el herbario del Departamento de Botánica, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo Coahuila, México (González 101564, 101565, 101566, 101567, 101568, 101569, 101570, ANSM).

Recolecta y limpieza de semilla

Se eliminaron las gloquidias y la cubierta carpelar o cascara de los frutos; cada fruto se colocó en una licuadora con las aspas cubiertas con cinta para evitar que se dañara la semilla, se licuaron por un lapso de cinco segundos con la finalidad de separar la pulpa de las semillas, para recuperarlas se filtró el líquido a través de un colador o cernedor de mano; y se realizaron varios lavados con agua corriente para eliminar los restos de pulpa y dejar completamente limpias las semillas. Estas se deshidrataron en papel filtro por 72 h a temperatura ambiente promedio de 25°C; para evitar el crecimiento de hongos, se almacenaron en bolsas de papel kraft debidamente etiquetadas con el nombre de la especie, sitio de recolecta, número de fruto y planta, a una temperatura de 25°C hasta su utilización. Las semillas pequeñas de color claro, abortivas y con malformaciones se eliminaron; dejando para el análisis las que estaban completamente desarrolladas y sin daño aparente (López-Palacios *et al.*, 2015).

Caracterización externa de la semilla

De cada especie se tomó una muestra aleatoria de 51 semillas provenientes de tres plantas por localidad, de acuerdo a Laynez *et al.* (2007). Por la dureza, tamaño y por ser campilótropas, para el estudio y análisis de las semillas se aplicó la técnica de desgaste sugerida por Guerrero-Muñoz *et al.* (2006). Cada semilla limpia, seca y viable se fijó a un portaobjetos con un adhesivo de cianocrilato, orientadas paralelamente a la sección mediana, se dejaron secar con el adhesivo durante 5 min; se fotografiaron para evaluar los caracteres externos: longitud (mm) del eje mayor (LEMA) o longitud de la línea más larga que se puede dibujar a través del objeto y longitud en mm del eje menor (LEME) o longitud de la línea más larga que se puede dibujar sobre el objeto perpendicular al eje mayor. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Dino-Lite USB y el análisis de imágenes se realizó con el software Dino-Capture 2,0 (Fig. 2H).

Caracterización interna de la semilla

Después de medir los caracteres externos, las semillas se desgastaron simétricamente con una lija de agua (180 granos por unidad de superficie) hasta exponer el embrión y el endospermo, de acuerdo con lo propuesto por Guerrero-Muñoz *et al.* (2006); la superficie de cada semilla desgastada se limpió con un pincel y se le colocó una solución de IKI (0,5 % de yoduro de potasio en agua + yodo elemental hasta saturación) para teñir el almidón (Jensen, 1962) y diferenciar el área de la semilla: embrión, perispermo y testa (Guerrero-Muñoz *et al.*, 2006). La tinción se dejó reposar por 15 min., posteriormente se tomaron fotografías individuales para evaluar los caracteres internos de la semilla: grosor (mm) de testa (GT), grosor (mm) de la cubierta funicular ventral (GCFV), área (mm²) del embrión (AEM) y longitud (mm) del embrión (LE). La captura de imágenes también se realizó con la cámara digital Dino-Lite y se evaluaron con el software Dino-Capture 2,0 (Fig. 2I).

Diseño experimental y Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, con tres repeticiones (51 semillas por repetición). Se evaluaron seis variables cuantitativas: dos externas y cuatro internas de la semilla. El análisis incluyó, una distribución de las frecuencias ANDEVA, cuando el valor de *F* fue

Tabla 1. Sitios de recolecta, series y váucher de herbario de siete especies del género *Opuntia* distribuidas en el sureste del estado de Coahuila, México.

Num.	Especie	Serie	Grado de domesticación	Herbario y No. váucher	Sitio de colecta	Latitud norte	Longitud oeste	Altitud (m)
1	<i>Opuntia durangensis</i> Britton & Rose.	MacDougallianae	Medianamente cultivada	ANSM-101564	Rincón de los pastores, Saltillo.	25° 23,452	101° 06,465	2016
2	<i>Opuntia engelmannii</i> Salm-Dyck ex Engelm.	Phaeacanthae	Silvestre	ANSM-101565	Jaralito, General Cepeda. Cañada Ancha, Ramos Arizpe. San Martín, Ramos Arizpe. Palma Gorda, Saltillo. San Martín, Ramos Arizpe.	25° 20,297 25° 32,612 25° 34,420 25° 23,713 25° 34,433	101° 26,600 101° 02,708 101° 11,360 101° 06,143 101° 11,341	1576 1499 1793 1982 1790
3	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Ficus-indicae	Medianamente cultivada	ANSM-101566	Piedra Blanca, Arteaga. El Tunal, Arteaga. La India, Saltillo. Ramos Arizpe. Cañada Ancha, Ramos Arizpe. San Martín, Ramos Arizpe.	25° 27,793 25° 25,070 25° 02,833 25° 31,831 25° 32,612 25° 34,433	100° 36,553 100° 38,150 101° 16,304 101° 09,944 101° 02,708 101° 11,341	2304 2266 1947 1714 1499 1790
4	<i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dyck.	Streptacanthae	Medianamente cultivada	ANSM-101567	El Tunal, Arteaga. Piedra Blanca, Arteaga. Palma Gorda, Saltillo. La Angostura, Saltillo.	25° 26,470 25° 27,780 25° 23,713 25° 19,641	100° 36,596 100° 36,580 101° 06,143 101° 03,615	2464 2296 1982 1803
5	<i>Opuntia microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff.	Basilares	Silvestre	ANSM-101568	Jaralito, General Cepeda. El Clavel, General Cepeda. La India, Saltillo. Cañada Ancha, Ramos Arizpe. La Paila, Parras de la Fuente. Cañada Ancha, Ramos Arizpe. El Clavel, Ramos Arizpe. Palma Gorda, Saltillo.	25° 20,297 25° 39,601 25° 02,931 25° 32,626 25° 29,994 25° 32,612 25° 39,601 25° 23,713	101° 26,600 101° 43,194 101° 15,965 101° 02,644 102° 11,327 101° 02,708 101° 43,194 101° 06,143	1576 1178 1950 1499 1403 1499 1178 1982
6	<i>Opuntia rasfrena</i> F. A. C. Weber.	Phaeacanthae	Silvestre	ANSM-101569	Rincón de los Pastores, Saltillo. Santa Fe de los linderos, Saltillo. Agua Nueva, Saltillo. Jame, Arteaga.	25° 22,544 25° 11,534 25° 08,467 25° 15,830	101° 06,568 101° 02,499 101° 06,635 100° 36,670	2029 2068 2073 2056
7	<i>Opuntia stenopetala</i> Engelm.	Stenopetalae	Silvestre	ANSM-101570	Cuahtémoc, Saltillo.	25° 16,753	101° 55,175	2396



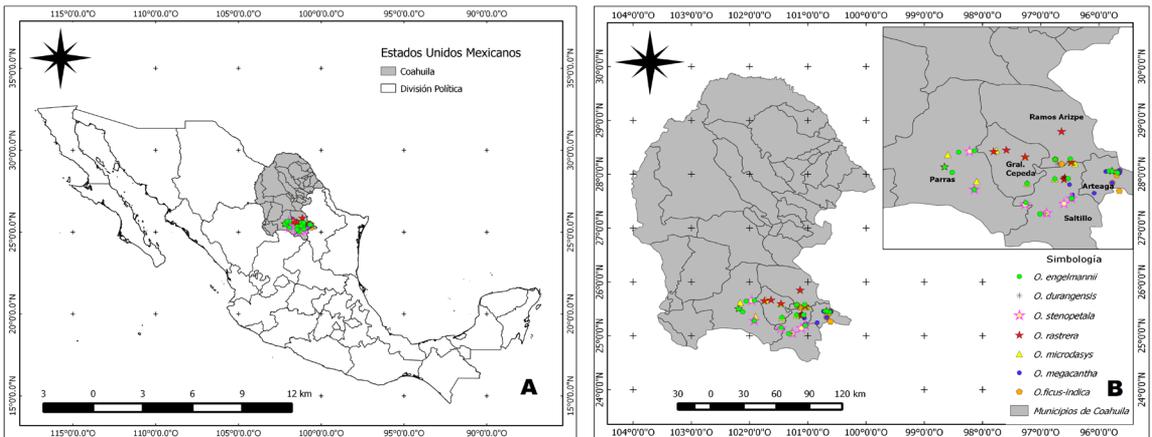


Fig. 1. Localidades de recolecta de frutos de las siete especies del género *Opuntia*, en el sureste de Coahuila, México.

significativo se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Un análisis de componentes principales (CP) para identificar agrupación de las especies, respecto a las variables morfológicas confiables y discriminantes. Además, se llevó a cabo un análisis supervisado de

predicción para la clasificación de especies, y para este, se probaron dos métodos K-NN (K-Nearest-Neighbor) y LDA (Linear Discriminant Analysis) para ver cuál era mejor predictor. Los análisis se realizaron utilizando el software estadístico R (R Core Team, 2017).



Fig. 2. Frutos recolectados de las especies. **A:** *O. engelmannii*. **B:** *O. rastrera*. **C:** *O. durangensis*. **D:** *O. ficus-indica*. **E:** *O. microdasys*. **F:** *O. stenopetalae*. **G:** *O. megacantha*. **H:** Semilla de *O. rastrera* con mediciones de caracteres externos (LEMA y LEME). **I:** Semilla de *O. rastrera* limada en plano mediano con mediciones de GT. Escalas= H-I: 1 mm.

RESULTADOS

Existen diferencias entre especies con respecto a las seis variables evaluadas. *O. ficus-indica* mostró los valores de los caracteres externos (Fig. 3A, B) e internos (Fig. 4A-D) mayores. En contraste *O. engelmannii* y *O. microdasys* presentaron valores menores en los seis caracteres (Fig. 3A-B y Fig. 4A-D).

Caracterización externa de las semillas

Las semillas con mayor tamaño de LEMA y LEME se presentaron en *O. ficus-indica*; sin embargo, *O. rastrera* y *O. megacantha* mostraron una longitud similar con un tamaño de LEMA por encima de los 4 mm; en *O. durangensis* y *O. stenopetala* se observó que el tamaño de semilla es menor a las especies antes mencionadas, con una LEMA y LEME promedio de 3 mm, pero las especies *O. engelmannii* y *O. microdasys* son las que presentaron semillas más pequeñas con longitudes promedio de 2,5 mm (Tabla 2).

Caracterización interna de las semillas

GT no presentó diferencias significativas entre *O. durangensis* y *O. engelmannii*. Además, GCFV y AEM en *O. durangensis* y *O. stenopetala* tampoco mostraron diferencias significativas, generando

así un GCFV promedio de 0,99 mm, y un AEM promedio de 4 mm²; por otro lado, al analizar el carácter LE, *O. ficus-indica* y *O. rastrera* tuvieron valores similares, con un valor promedio mayor (10,99 mm). En GT también las semillas de *O. ficus-indica* presentaron una testa más gruesa con 0,80 mm, seguido de *O. rastrera* y *O. megacantha* con más de 0,60 mm de grosor, mientras que las especies *O. durangensis*, *O. engelmannii*, *O. microdasys* y *O. stenopetala* evidenciaron un GT menor a 0,55 mm. *O. microdasys* es la especie que mostró semillas con una testa más delgada menor a 0,4 mm. Para el GCFV, *O. ficus-indica* y *O. megacantha* expusieron una diferencia mayor llegando a tener semillas con un grosor por encima de 1,2 mm, en contraste *O. durangensis*, *O. engelmannii* y *O. microdasys* exhibieron un GCFV menor a 1 mm. El AEM también fue mayor en la especie *O. ficus-indica* con cerca de 7 mm², seguido de las especies *O. rastrera* con 1 mm² menos y *O. megacantha* con 2 mm² menos, mientras que *O. stenopetala* y *O. durangensis* mostraron un área del embrión similar (4 mm²), por último las especies *O. engelmannii* y *O. microdasys* mantuvieron una área menor a 3 mm². En cuanto a LE, las semillas de las especies *O. ficus-indica* y *O. rastrera* exteriorizaron valores mayores, con embriones mayores a 10 mm de longitud, mientras que en *O. megacantha* los

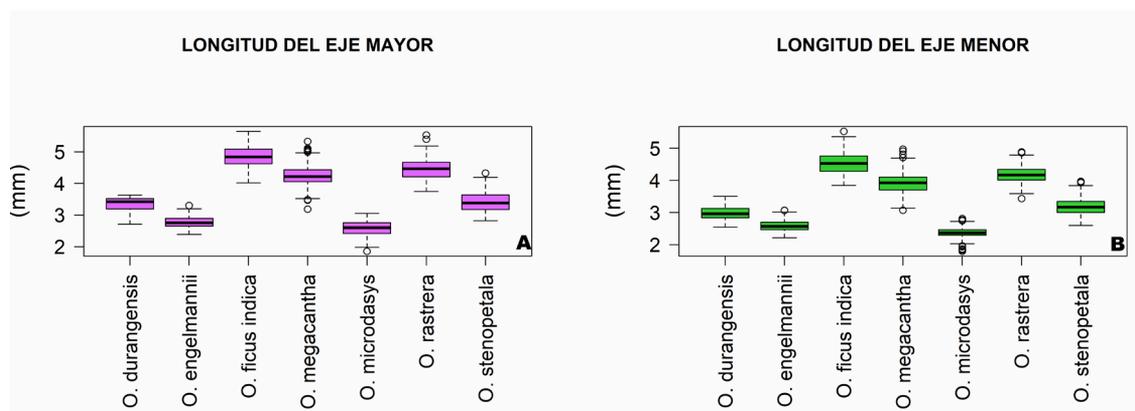


Fig. 3. Rango y distribución de los caracteres externos de siete especies del género *Opuntia*. **A:** LEMA: longitud del eje mayor en mm. **B:** LEME: longitud del eje menor en mm. Las líneas horizontales en el interior de la caja son los valores medianos. La altura de la caja es igual a la distancia intercuartil, que indica la distribución del 50% de los datos. Aproximadamente el 99% de los datos se encuentran dentro de los bigotes (las líneas de puntos que se extienden desde la parte superior e inferior de la caja). Los datos atípicos están indicados por círculos, después del extremo superior o inferior.

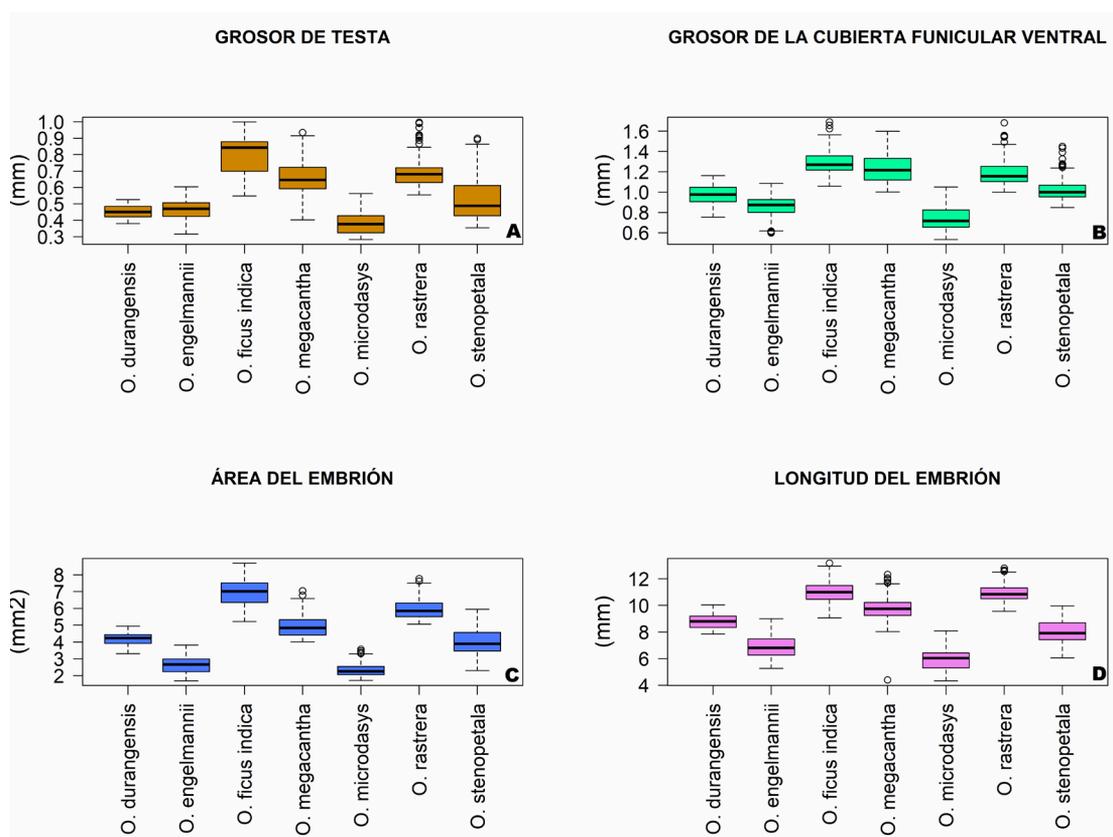


Fig. 4. Rango y distribución de los caracteres internos de siete especies del género *Opuntia*. **A:** GT: grosor de testa en mm. **B:** GCFV: grosor de la cubierta funicular ventral en mm. **C:** AEM: áreas del embrión en mm². **D:** longitud del embrión en mm. Las líneas horizontales en el interior de la caja son los valores medianos. La altura de la caja es igual a la distancia intercuartil, que indica la distribución del 50% de los datos. Aproximadamente el 99% de los datos se encuentran dentro de los bigotes (las líneas de puntos que se extienden desde la parte superior e inferior de la caja). Los datos atípicos están indicados por círculos, después del extremo superior o inferior.

embriones tuvieron una longitud promedio de 9,8 mm; y en *O. durangensis* y *O. stenopetala* la LE fue similar con una longitud de 8 mm, y *O. engelmannii* y *O. microdasys* fueron las especies que ostentaron semillas con una longitud del embrión menor a 7 mm (Tabla 2).

Análisis de componentes principales (CP)

El diagramas de dispersión obtenido de la matriz de correlación, mostró que algunos de los caracteres analizados estaban asociados, dado que presentaron altos valores de correlación con información redundante, entre dicha correlación se observaron las variables: LEMA y LEME (0,974),

AEM y LE (0,945), AEM y LEMA (0,907), LEME y AEM (0,903) y LE y LEMA (0,901), mientras que GT y el GCFV (0,736) no presentaron una correlación alta en comparación con los caracteres antes mencionados (Fig. 5).

Debido a que la mayoría de los caracteres estaban correlacionados se utilizó un análisis de CP para reconocer los atributos de las semillas que diferencian a las especies. Los primeros tres componentes principales (CP) explicaron el 96% de toda la información que aportaron las variables. El valor propio del CP1 explicó el 87% de la variación; las variables correlacionadas con este componente fueron LEMA, LEME, AEM y LE.

Tabla 2. Caracteres externos (LEMA: longitud del eje mayor y LEME: longitud del eje menor) e internos (GT: grosor de testa, GCFV: grosor de la cubierta funicular ventral, AEM: área del embrión y LE: longitud del embrión), evaluados en semillas de siete especies del género *Opuntia*. Valores con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0,05$). Los valores más significativos se muestran en negritas.

Especies	LEMA (mm)	LEME (mm)	GT (mm)	GCFV (mm)	AEM (mm ²)	LE (mm)
<i>Opuntia durangensis</i> Britton & Rose.	3,329 ^d	2,969 ^e	0,4523 ^e	0,9725 ^d	4,207 ^d	8,775 ^c
<i>Opuntia engelmannii</i> Salm-Dyck ex Engelm.	2,781 ^e	2,583 ^f	0,4633 ^e	0,8453 ^e	2,670 ^e	6,916 ^e
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	4,843^a	4,529^a	0,8028^a	1,292^a	6,941^a	11,030^a
<i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dyck.	4,237 ^c	3,893 ^c	0,6504 ^c	1,237 ^b	4,923 ^c	9,815 ^b
<i>Opuntia microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff.	2,569 ^f	2,379 ^a	0,3821 ^f	0,7459 ^e	2,365 ^f	6,019 ^f
<i>Opuntia rastrera</i> F. A. C. Weber.	4,451 ^b	4,169 ^b	0,6914 ^b	1,186 ^c	5,946 ^b	10,960^a
<i>Opuntia stenopetala</i> Engelm.	3,437 ^d	3,176 ^d	0,5348 ^d	1,024 ^d	4,030 ^d	8,026 ^d

Para el CP2 el valor propio representó el 5% de la variación, y estuvo relacionado con la variable GCFV. Mientras que el CP3 explicó el 4% y estuvo relacionado con la variable GT. Por medio de un bi-plot se logró apreciar que las variables GCFV y GT son las que más discriminan, principalmente GCFV pues discriminó en los dos componentes (Fig. 6).

El diagrama de dispersión mostró que los primeros dos componentes (CP1 y CP2) explicaron

el 92% de la variación total. La proyección de las siete especies mostró una dispersión horizontal (Fig. 7), las especies que se ubicaron en el extremo izquierdo del CP1 fueron *O. microdasys* y *O. engelmannii*, en contraste *O. ficus-indica* y *O. megacantha* se situaron a la derecha del mismo componente, ya que tienen valores más altos en los caracteres evaluados. *O. stenopetala*, *O. durangensis* y *O. rastrera*, se mantuvieron más dispersas dentro de los componentes (Fig. 7).

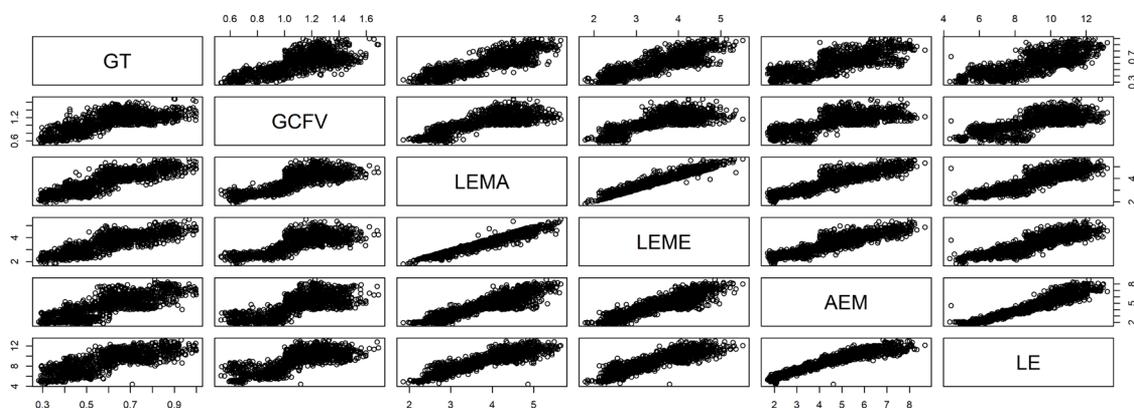


Fig. 5. Diagrama de dispersión que muestra la relación entre las variables morfológicas evaluadas en siete especies del género *Opuntia*. GT: grosor de testa, GCFV: grosor de la cubierta funicular ventral, LEMA: longitud del eje mayor, LEME: longitud del eje menor, AEM: área del embrión y LE: longitud del embrión.

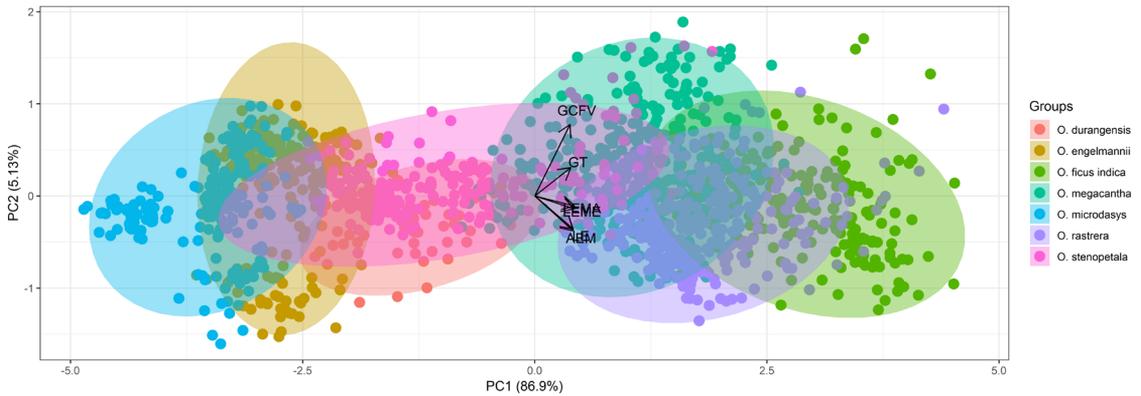


Fig. 6. Bi-plot que muestra las variables morfométricas discriminantes en siete especies del género *Opuntia*. GT: grosor de testa, GCFV: grosor de la cubierta funicular ventral, LEMA: longitud del eje mayor, LEME: longitud del eje menor, AEM: área del embrión y LE: longitud del embrión.

Para poner de manifiesto si hay tendencias espaciales con respecto a la variabilidad de los rasgos analizados, se preparó el gráfico de puntos con los primeros dos componentes (CP1 y CP2) agregando municipios de recolecta, y se observó una aglomeración por especie, la cual no depende de las localidades (Fig. 7).

Análisis supervisado de predicción

Al probar los métodos K-NN y LDA, el modelo LDA obtuvo una tasa de error del 21%, mientras

que con K-NN el error fue de 17%, por lo tanto, se utilizó K-NN para la predicción de especies.

El método K-NN indicó que los individuos fueron clasificados correctamente en el 83% de los casos. En *O. durangensis* el 60% de las semillas fueron clasificados de manera correcta, mientras que el 40% como pertenecientes a *O. megacantha*. Un patrón similar ocurrió con *O. rastrera* ya que el 62% de las observaciones se clasificó de manera correcta, el 22% como *O. megacantha* y el 16% como *O. ficus-indica*. En *O. engelmannii* el 88% se

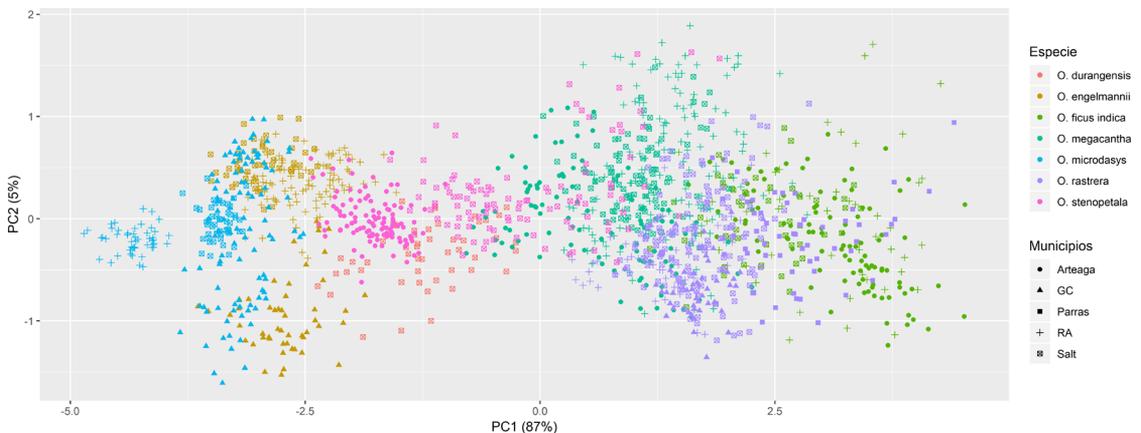


Fig. 7. Análisis de componentes principales de la morfología de semillas, basados en seis variables cuantitativas con respecto a siete especies del género *Opuntia* y a los municipios de colecta. Municipios: Arteaga; GC: General Cepeda; Parras: Parras; RA: Ramos Arizpe y Salt: Saltillo. Los porcentajes entre paréntesis representan la varianza de cada componente.

Para poner de manifiesto si hay tendencias espaciales con respecto a la variabilidad de los rasgos analizados, se preparó el gráfico de puntos con los primeros dos componentes (CP1 y CP2) agregando municipios de recolecta, y se observó una aglomeración por especie, la cual no depende de las localidades (Fig. 7).

Análisis supervisado de predicción

Al probar los métodos K-NN y LDA, el modelo LDA obtuvo una tasa de error del 21%, mientras que con K-NN el error fue de 17%, por lo tanto, se utilizó K-NN para la predicción de especies.

El método K-NN indicó que los individuos fueron clasificados correctamente en el 83% de los casos. En *O. durangensis* el 60% de las semillas fueron clasificados de manera correcta, mientras que el 40% como pertenecientes a *O. megacantha*. Un patrón similar ocurrió con *O. rastrera* ya que el 62% de las observaciones se clasificó de manera correcta, el 22% como *O. megacantha* y el 16% como *O. ficus-indica*. En *O. engelmannii* el 88% se clasificó correctamente, un 9% se clasificó como *O. microdasys* y un 3% como *O. durangensis*. Para *O. ficus-indica* en el 86% de los casos las observaciones fueron correctamente predichas, aunque el 14% fue como *O. rastrera*. En *O. megacantha* el 87% de los individuos fueron clasificados de manera correcta, sin embargo, el 5% como *O. rastrera* y el 1.5% como *O. ficus-indica* y *O. stenopetala*. En contraste, para *O. microdasys* la predicción fue 100% correcta. Finalmente, en *O. stenopetala* el 82 % de las observaciones fueron clasificadas de manera correcta, el 5% como *O. durangensis* y *O. megacantha*, el 4% como *O. engelmannii* y el 2% con características de *O. microdasys* y *O. rastrera*.

DISCUSIÓN

Las especies en estudio pertenecen a series diferentes, por lo tanto, las diferencias morfológicas en las plantas son claras, sin embargo, cuando solamente se tiene semilla, la correcta identificación de especies se complica, aunado a que no se tienen caracteres morfológicos confiables de las semillas de *Opuntia*. En este trabajo el análisis de varianza presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las siete especies de *Opuntia* para los caracteres externos e internos evaluados, lo que sugiere la

existencia de diversidad en los rasgos morfológicos de semillas.

Al aplicar CP como análisis exploratorio no supervisado, fue útil en la caracterización, permitiendo tener un criterio en la discriminación de especies. Esto se corrobora con Sassone *et al.* (2013), quienes señalan la importancia de los análisis multivariantes para ver diferencias entre especies y la utilidad en la evaluación de entidades taxonómicas.

El CP1 se asoció más con el tamaño de la semilla, en cambio el CP2 y CP3 se relacionaron con características de grosor de las partes internas de la semilla. De esta forma las características cuantitativas internas y externas de la semilla, forman un criterio a la explicación de la diversidad de *Opuntia*.

Los caracteres que más ayudaron a diferencias entre especies fueron GCFV y GT al presentar coeficientes de variación más altos en el análisis de CP, principalmente con el GCFV ya que la dirección de la diferenciación es horizontal y discrimina en ambos componentes (CP1 y CP2); mientras que LEMA, LEME, estuvieron altamente relacionadas, mostrando un alto grado de dependencia entre sí, lo mismo ocurrió con el AEM y LE al presentar información redundante, sin embargo, la multicolinealidad puede atenuarse si se eliminan los caracteres LEMA y LE. Por otro lado, la ordenación de las especies en ambos componentes, indica que *O. ficus-indica*, *O. megacantha* y *O. rastrera* se caracterizan por presentar semillas de mayor tamaño, con testa y cubierta funicular ventral gruesa, y con embriones más grandes al agruparse en la parte positiva del eje; mientras que *O. microdasys* y *O. engelmannii* se diferencian por tener semillas más pequeñas, con testa y cubierta funicular ventral delgada y embriones pequeños, ya que se agrupan en la parte negativa del eje. *O. stenopetala* y *O. durangensis* exhibieron una mayor variación en el tamaño y grosor, ya que el agrupamiento se da en ambos ejes.

Pareciera que, el agrupamiento existente entre las especies está relacionado con el grado de domesticación, puesto que *O. ficus-indica* y *O. megacantha* son especies semi-domesticadas y presentaron semillas más grandes en comparación con *O. microdasys* y *O. engelmannii*, dichos resultados parecen coincidir con Aguilar-Estrada *et al.* (2003) pues al evaluar diferentes variantes

de *Opuntia*, determinaron que las semillas con dimensiones pequeñas prevalecían más en las variantes silvestres, sin embargo, también *O. rastrera* se agrupa con las especies de más grado de domesticación, de tal manera que la relación del tamaño de la semilla puede ser más bien un rasgo adaptativo asociado con la dimensión y el establecimiento de la especie, como lo mencionan Obeso *et al.* (2011). Pero Reyes-Agüero *et al.* (2004) al hacer un análisis de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *O. ficus-indica*, consideradas como exclusivas de los ambientes más antropizados y con el mayor grado de domesticación (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), concluyeron que las presiones de selección bajo domesticación, generan una reducción en el número de semillas normales y en el tamaño de la semilla, caso contrario con lo observado, por López-Borja *et al.* (2017) al estudiar la variación morfológica de *O. jaliscana* en poblaciones silvestres obtuvieron diferencias estadísticas entre sitio en cuanto a la longitud de las semillas. Por otro lado, López-Palacios *et al.* (2019) al caracterizar frutos y semillas de diferentes especies de *Opuntia* observaron en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* que a mayor grado de domesticación mayor es el contenido de semillas abortadas y el tamaño es menor.

Por otro lado, se cree que el tamaño de la semilla está relacionado con el nivel de ploidía, Tiwari *et al.* (2010) determinaron que las semillas tetraploides de *Arabidopsis thaliana* fueron más grandes y pesadas que las semillas diploides y triploides. Cota-Sánchez (2004) observó que el tamaño de la semilla de *Rhizopalis baccifera* y las células de la testa aumentan con la ploidía, con máxima expresión en las poblaciones poliploides, esto coincide sólo con *O. ficus-indica* y *O. megacantha* al ser especies octaploides y con un tamaño de semilla mayor y con *O. microdasys* por ser diploide y haber presentado semillas pequeñas (González, 2019), pero está tendencia no se mantiene con las demás especies, ya que *O. rastrera* tetraploide presentó semillas de mayor tamaño, mientras que *O. engelmannii* es octaploide (González, 2019) y sus semillas fueron más pequeñas. En contraste Adewale *et al.* (2012), mencionan que la variabilidad de las características físicas, como la longitud, el ancho, el grosor de las semillas del género *Opuntia* es un atributo con un valor taxonómico, y ecológico dentro del género. Baloch *et al.* (2001), observaron que la

variación en el tamaño de la semilla muestra una relación en la germinación y establecimiento de las plántulas, y esto coincide con lo encontrado en este estudio, ya que en *O. ficus-indica*, *O. megacantha* y *O. rastrera* que presentaron semillas de mayor tamaño en comparación con las demás especies, se han reportado porcentajes de germinación mayores al 80%, mientras que en *O. microdasys*, *O. engelmannii*, *O. durangensis*, *O. stenopetala* y *O. durangensis* los porcentajes de germinación son de 0 al 60% (González *et al.*, 2018), lo que nos indica que las semillas de *Opuntia* de mayor tamaño almacenan más reservas y en consecuencia puede producir una plántula con mayor porcentaje de germinación (Linkies *et al.*, 2010), también se ha relacionado al grosor de testa con la germinación, al jugar un papel importante en el proceso de absorción de agua (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2007). Al respecto Stuppy (2002) señala que la semilla de *Opuntia* tiene un tamaño pequeño, ovalado, y el embrión tiene forma de espiral alrededor de un perispermo plegado fuertemente reducido, ya que, si la longitud del embrión aumenta, la capacidad de almacenamiento también se incrementa, esto explicaría la relación con el porcentaje de germinación encontrado por González *et al.* (2018). Y Baskin & Baskin (2014) y Romero-Saritama (2015) mencionan que los rasgos internos de las semillas generalmente han sido relacionados con el comportamiento germinativo y el tipo de dormición en las semillas, factores a tomar en cuenta en la conservación *ex situ*.

El análisis morfológico de semillas de diferentes especies del género *Opuntia* funcionaría en la conservación *ex situ* como un criterio en la diferenciación de especies, cuando lo que se tiene es semilla, en especial entre especies cercanas taxonómicamente, ya que el potencial de un banco de germoplasma radica en las introducciones que permitan evitar duplicados e identificar accesiones para procesos de selección y conservación (Fischer *et al.*, 2000), los caracteres con potencial discriminante como GT y GCFV podrían ser de utilidad en la clasificación taxonómica del género *Opuntia*, pues son caracteres que no se han tomado en cuenta, también se podrían adicionar caracteres morfológicos confiables en la descripción de las especies (Caruso *et al.*, 2010; Valadez-Moctezuma *et al.*, 2014; Helsen *et al.*, 2009), por la variación morfológica que presentan (Bravo-Hollis, 1978;

Pimienta-Barrios & Muñoz-Urías, 1995; Scheinvar, 1995; Muñoz-Urías *et al.*, 2008).

Con respecto a la aglomeración interespecífica, Solís-Neffa (2010) y Nooryazdan *et al.* (2010) han hecho hincapié en que el origen geográfico puede afectar la variación morfológica, pero al realizar el análisis de CP con las diferentes rutas de colecta notamos que las diferencias interespecíficas existentes se deben a la especie y no a las localidades, sin embargo, el área de recolecta para este estudio, comparativamente con el área de distribución de estas especies en el norte de México, es reducida. No obstante, cabe hacer mención que la identificación de especies del género está enfocada a caracteres de la altura de las plantas, los cladodios, el fruto y la flor, los cuales se usan de forma tradicional en la taxonomía de los nopales (Scheinvar, 1995; Scheinvar *et al.*, 2010). Esto ocurre a pesar de que tales descriptores se ven considerablemente afectados por las condiciones geográficas del entorno. Del mismo modo, y aunque los atributos de las flores se consideran estables, Fuentes-Pérez *et al.* (2009) informaron que las características anatómicas florales de cinco especies del género *Opuntia* no fueron decisivas en la separación taxonómica entre especies. Las semillas están poco influenciadas por la presión ambiental, y esto debido principalmente a su estructura genética, dureza, efecto protector ofrecido por la pulpa, la testa y al corto periodo de exposición de los frutos a factores ambientales (Haridasan & Mukherjee, 1988; Samah & Valadez-Moctezuma, 2014), por lo tanto el análisis morfológico de semillas puede ayudar a los estudios taxonómicos, sistemáticos, arqueológicos, de paleobotánica y tiene utilidad para agricultores y horticultores que pueden disponer de dicha información para mejorar el cultivo e identificar las especies por medio de semillas (Johri, 1984).

Por otro lado, como parte del análisis para la predicción de especies, el método de K-vecinos más cercanos (K-NN), por medio de datos de entrenamiento generados mediante 500 repeticiones logró hacer una predicción por arriba del 80% en la clasificación de las especies, lo que indicó que los caracteres morfológicos evaluados son confiables para clasificar especies de *Opuntia*. En *O. microdasys* al hacer la predicción el método obtuvo una precisión de clasificación del 100%.

CONCLUSIONES

La utilización de métodos multivariantes en el análisis morfológico de semillas de diferentes especies de *Opuntia* ayudó a distinguir caracteres de importancia, que pueden establecer un criterio en la identificación de especies de *Opuntia*. El grosor de testa (GT) y de la cubierta funicular ventral (GCFV), fueron los caracteres que más discriminaron, estos se pueden tomar en cuenta como descriptores potenciales para la asignación de especies o variedades del género *Opuntia*.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores han realizado conjuntamente y a partes iguales la colecta de datos, su interpretación y redacción del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de una beca de investigación de postgrado (230972) y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento del proyecto (UAAAN-38111-4251-05001-2237).

BIBLIOGRAFÍA

- ADEWALE, B. D., D. J. DUMET, I. VROH-BI, O. B. KEHINDE, D. K. OJO, A. E. ADEGBITE, & J. FRANCO. 2012. Morphological diversity analysis of African yam bean and prospects for utilization in germplasm conservation and breeding. *Genet. Resources Crop Evol.* 59: 927-936. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-011-9734-1>
- AGUILAR-ESTRADA, A., J. A. REYES-AGÜERO & J. R. AGUIRRE. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). In: Esparza, F. G., L. M. A. Salas, C. J. Mena, y R. D. Valdez Z. (eds). *Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*, pp. 117-120. Zacatecas, México.
- ANDERSON, E. F. 2001. *The Cactus Family*. Timber Press, Portland, Oregon. 776.

A. Gonzalez-Cortés et al. - Morfología de semillas de *Opuntia*

- BALOCH, H. A., A. DITOMASSO & A. K. WATSON. 2001. Intrapopulation variation in *Abutilon theophrasti* seed mass and its relationship to seed germinability. *Seed Sci. Res.* 11: 335-343.
- BASKIN, J.M., C. C. BASKIN. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1-16
- BRAVO-HOLLIS, H. 1978. *Las cactáceas de México*. Vol. 1. 2nd ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- CARUSO, M., S. CURRÒ, G. LAS CASAS, S. LA MALFA & A. GENTILE. 2010. Microsatellite markers help to assess genetic diversity among *O. ficus-indica* cultivated genotypes and their relation with related species. *Pl. Syst. Evol.* 290:85-97. <https://doi.org/10.1007/s00606-010-0351-9>.
- CORNER, E. J. 1976. *The Seeds of Dicotyledons*. Vol. 1. Cambridge University Press, London, New York.
- COTA-SÁNCHEZ, J. H. 2004. Vivipary in the Cactaceae: its taxonomic occurrence and biological significance. *Flora*. 199: 481-490. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00175>
- DAVITASHVILI, N. & G. KARRER. 2010. Taxonomic importance of seed morphology in *Gentiana* (Gentianaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 162:101-115. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.01020.x>
- DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ, S., A. DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, A. GONZÁLEZ-HUERTA, S. NAVARRO-GALINDO. 2007. Cinética de imbibición e isoterma de adsorción de humedad de la semilla de Jamaica (*Hibiscus sabdarifa* L.) *Rev. Mex. Ing. Quím.* 3:309-316.
- ESPINOZA-SÁNCHEZ, E. A., H. SILOS ESPINO, S. FLORES-BENÍTEZ, L. VALERA MONTERO, E. RODRÍGUEZ-SALAZAR & C. GALLEGOS-VÁZQUEZ. 2014. Agrupamiento de genotipos de nopal (*Opuntia* spp.) de México por medio de la técnica de AFLPs y características del fruto. *Phyton (Buenos Aires)*. 83: 299-306.
- FAO. 2014. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Edición revisada. Roma. 182.
- FISHER, G., R. FLÓREZ, D. ANGEL, R. & SORA. 2000. Producción, poscosecha y exportación de la *uchuva Physalis peruviana* L. Bogotá: *Universidad Nacional de Colombia*. 175.
- FUENTES-PÉREZ, M., T. TERRAZAS & S. ARIAS. 2009. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica* 27:89-102.
- GALLEGOS-VÁZQUEZ, C. & C. MONDRAGÓN-JACOBO. 2011. *Cultivares selectos de tuna de México al mundo*. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SNICS-SAGARPA) y Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- GALLEGOS-VÁZQUEZ, C., L. SCHEINVAR, C. NÚÑEZ-COLÍN & C. MONDRAGÓN-JACOBO. 2012. Morphological diversity of xocostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a Mexican contribution to functional foods. *Fruits*. 67: 109-120. <https://doi.org/10.1051/fruits/2012001>
- GONZÁLEZ-CORTÉS, 2019. Niveles de ploidía, morfología y germinación de Semillas en especies del género *Opuntia* del sureste de Coahuila, Mex. Tesis Doctorado. UAAAN. 134.
- GONZALEZ-CORTÉS, A., M. H. REYES-VALDÉS, V. ROBLEDO-TORRES, J. A. VILLARREAL-QUINTANILLA, & F. RAMÍREZ-GODINA. 2018. Pre-germination treatments in four prickly pear cactus (*Opuntia* sp.) species from Northeastern Mexico. *AJCS*. 12:1676-1684. <https://doi:10.21475/ajcs.18.12.10.pne1430>.
- GUERRERO-MUÑOZ, P., H. ZAVALA-MANCERA, A. BARRIENTOS-PRIEGO, C. GALLEGOS-VÁZQUEZ, C. NÚÑEZ-COLIN, E. VALADEZ-MOCTEZUMA & J. CUEVAS-SÁNCHEZ. 2006. Technique for the study of the internal hard seed micromorphology in *Opuntia*. *Revista Fitotec. Mex.* 29:37-43.
- GUZMÁN, U., S. ARIAS & P. DÁVILA. 2003. *Catálogo de Cactáceas Mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México, CONABIO. México D.F.
- GUZMÁN, U., S. ARIAS & P. DÁVILA. 2007. *Catálogo de autoridades taxonómicas de las cactáceas (Cactaceae: Magnoliopsida) de México*. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Base de datos SNIB-CONABIO, proyectos Q045 y AS021. México.
- HARIDASAN, V. K. & P. MUKHERJEE. 1988. Seed surface features of some members of the Indian Campanulaceae. *Phytomorphology*. 37:277-285.
- HELSEN, P., P. VERDYCK, A. TYE & S. D. VAN. 2009. Low levels of genetic differentiation between *Opuntia echios* varieties on Santa Cruz (Galápagos). *Pl. Syst. Evol.* 279: 1-10.
- HUNT, D. 2002. Alphabetical List of Currently Accepted Species. In: HUNT, D. and N. TAYLOR (Eds.). *Studies in the Opuntioideae*, pp. 250-255. The Manse and Chapel Lave. Sherborne, UK.

- HOOGENDIJK, M. & E. D. WILLIAMS. 2001. Characterizing the genetic diversity of home garden crops: some examples from the Americas. Proceedings of the Second International Home Gardens Workshop: *Contribution of Home Gardens and In-situ Conservation of Plant Genetic Resources in Farming Systems* (Eds. Watson J.W. and Eyzaguirre P.B), pp. 34-40. IPGRI, Germany.
- JENSEN, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry. Principles and Practice*. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- JOHRI, B. M. 1984. *Embriology of angiosperms*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
<https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1>
- LAYNEZ, J. A., J. MÉNDEZ & J. MAYZ. 2007. Crecimiento de plántulas a partir de tres tamaños de semilla de dos cultivares de maíz (*Zea mays* L.), sembrados en arena y regados con tres soluciones osmóticas de sacarosa. *Idesia*. 25:21-36.
- LINKIES, A., K. GRAEBER, C. KNIGHT & G. LEUBNER-METZGER. 2010. The evolution of seeds. *New Phytol.* 86: 817-831.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03249.x>
- LIU, L. L., YU WB, LI DZ, R. R. MILL & H. WANG. 2013. Seed morphological diversity of *Pedicularis* (Orobanchaceae) and its taxonomic significance. *Pl. Syst. Evol.* 299: 1645- 657.
<https://doi.org/10.1007/s00606-013-0821-y>
- LÓPEZ-BORJA, E.N., R. L. ROMO-CAMPOS, H. J. ARREOLA-NAVA, A. MUÑOZ URIAS, & S. LOZA-CORNEJO. 2017. Variación morfológica en *Opuntia jaliscana* (Cactaceae). *Anales Jard. Bot. Madrid* 74: e058.
<http://dx.doi.org/10.3989/ajbm.2431>
- LÓPEZ-PALACIOS, C., J. A. REYES-AGÜERO, C. B. PEÑA-VALDIVIA, J. R. AGUIRRE-RIVERA. 2019. Physical characteristics of fruits and seeds of *Opuntia* sp. as evidence of changes through domestication in the Southern Mexican Plateau. *Genet. Resources Crop Evol.* 66:349-362
<https://doi.org/10.1007/s10722-018-0712-8>
- LÓPEZ-PALACIOS, C., C. PEÑA-VALDIVIA, J. A. REYES-AGÜERO, J. R. AGUIRRE-RIVERA, H. M. RAMÍREZ-TOBIÁS, R. M. SOTO-HERNÁNDEZ & J. F. JIMÉNEZ-BREMONT. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. *Genet. Resources Crop Evol.* 62: 1205-1223.
<https://doi.org/10.1007/s10722-015-0223-9>
- MANDUJANO, M. C., C. MONTAÑA, M. FRANCO, J. GOLUBOV & A. M. FLORES. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology*. 82: 344-359.
[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[0344:IODAVI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[0344:IODAVI]2.0.CO;2)
- MANDUJANO, M. C., J. GOLUBOV & J. REYES. 2002. Lo que usted siempre quiso saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *CONABIO. Biodiversitas*. 40: 4-7.
- MUÑOZ-URÍAS, A., G. PALOMINO-HASBACH, T. TERRAZAS, A. GARCÍA-VELÁZQUEZ & E. PIMIENTA-BARRIOS. 2008. Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del desierto Chihuahuense. *Bol. Soc. Bot. México*. 83: 1-11.
- NOORYAZDAN, H., H. SERIEYS, R. BACILIERI & J. DAVID. 2010. Structure of wild annual sunflower (*Helianthus annuus* L.) accessions based on agromorphological traits. *Genet. Resources Crop Evol.* 57: 27-39.
<https://doi.org/10.1007/s10722-009-9448-9>
- OBESO, JR., I. MARTÍNEZ, D. GARCÍA. 2011. Seed size is heterogeneously distributed among destination habitats in animal dispersed plants. *Basic Appl. Ecol.* 12:134-140
- OROZCO-SEGOVIA, A., J. MÁRQUEZ-GUZMÁN, E. M. SÁNCHEZ-CORONADO, A. GAMBOA DE BUEN, M. J. BASKIN & C. C. BASKIN. 2007. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). *Ann. Bot. (Oxford)*. 99: 581-592.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcm001>
- PEÑA-VALDIVIA, C. B., M. LUNA-CAVAZOS, J. CARRANZA-SABAS, J. REYES-AGÜERO & A. FLORES-HERNÁNDEZ. 2008. Morphological characterization of *Opuntia* spp: A multivariate analysis. *J. Prof. Assoc. Cactus*. 10: 1-21.
- PIMIENTA-BARRIOS, E. & A. MUÑOZ-URÍAS. 1995. Domestication of opuntias and cultivated varieties. In: BARBERA G., INGLESE P. & PIMIENTA-BARRIOS E. Eds. *Agroecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*, pp. 58-63. FAO, Roma.
- PINKAVA, D. J. 2002. On the evolution of the continental North American Opuntioideae (Cactaceae). In: D. HUNT & N. TAYLOR (eds.). *Studies in the Opuntioideae* (Cactaceae), pp. 59-98. *Succ. Pl. Res.* Vol. 6.
- PRIETO-GARCÍA, F., M. MÉNDEZ-MARZO, E. PÉREZ-CRUZ, S. FILARDO-KERSTUPP & B. CRUZ-MARTÍNEZ. 2008. Morfología, tamaño

A. Gonzalez-Cortés et al. - Morfología de semillas de *Opuntia*

- y distribución de partículas en semillas de cinco especies del género *Opuntia*. *Univ. Ci.* 24: 159-162.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org> (01 de febrero de 2018).
- REYES-AGÜERO, J. A., R. J. AGUIRRE & F. CARLÍN. 2004. Análisis preliminar de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. En: ESPARZA, G., R. VALDEZ, & J. MÉNDEZ G. (Eds.), *El Nopal, Tópicos de actualidad*, pp. 21-47. Universidad Autónoma Chapingo and Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- REYES-AGÜERO, J. A., R. J. AGUIRRE & M. H. HERNÁNDEZ. 2005. Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). *Agrociencia (Montecillo)*. 39: 395-408.
- REYES-AGÜERO, J. A. & R. J. AGUIRRE. 2006. Geographical distribution of *Opuntia* in Mexico. International Cactus Pear Conference. University of the Free State, Bloemfontein, South Africa.
- ROMERO-SARITAMA, J.M. 2015. Rasgos morfológicos de frutos, semillas y embriones de *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae) en el sur del Ecuador. *Rev. Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas* 36: 27-35.
- SÁENZ, C. 2006. *Utilización agroindustrial del nopal*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- SAMAH, S. & E. VALADEZ-MOCTEZUMA. 2014. Morphological Seeds Descriptors for Characterize and Differentiate Genotypes of *Opuntia* (Cactaceae, Opuntioideae). *Annual Rev. Res. Biol.* 4: 3791-3809. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/11606>
- SASSONE, A. B., M. L. GIUSSANI & R. E. GUAGLIANONE. 2013. Multivariate studies of *Ipheion* (Amaryllidaceae, Allioideae) and related genera. *Pl. Syst. Evol.* 299: 1561-1575. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0819-5>
- SCHEINVAR, L., G. OLALDE, S. FILARDO & P. BECKLER. 2010. Diez especies mexicanas productoras de xoconostles: *Opuntia* spp. y *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae). Universidad Nacional Autónoma de México, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- SCHEINVAR, L. 1995. Taxonomy of utilized opuntias. In: BARBERA G., INGLESE P., & E. PIMIENTA-BARRIOS (Eds.), *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*, pp. 20-27. FAO, Roma.
- SOLÍS-NEFFA, V. G. 2010. Geographic patterns of morphological variation in *Turnera sidoides* subsp. *pinatifida* (Turneraceae). *Pl. Syst. Evol.* 284: 231-253. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0249-6>
- STUPPY, W. 2002. Seed characters and the classification of the Opuntioideae (Cactaceae). *Succ. Pl. Res.* 6: 25-58.
- TIWARI, S., M. SPIELMAN, R. SCHULZ, J. R. OAKEY, G. KELSEY, A. SALAZAR, K. ZHANG, R. PENNELL & J. R. SCOTT. 2010. Transcriptional profiles underlying parent-of-origin effects in seeds of *Arabidopsis thaliana*. *B. M. C. Pl. Biol.* 10:72. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-72>
- VALADEZ-MOCTEZUMA, E., Q. ORTIZ-VÁSQUEZ & S. SAMAH. 2014. Molecular based assessment of genetic diversity of xoconostle accessions (*Opuntia* spp.). *African J. Biotechnol.* 13: 202-210. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13350>
- VALDEZ-CEPEDA, R. D., M. BLANCO, A. MURILLO, M. MÁRQUEZ, Q. MAGALLANES, R. RUIZ-GARDUÑO, J. GARCÍAHERNÁNDEZ, J. LEDESMA-MARES & F. MACÍASRODRÍGUEZ. 2003. Fertilización química en Fertilización química en nopal. En: MURILLO, A. B.; D. TROYO, J. GARCÍA-HERNÁNDEZ. (Eds.), *El Nopal, Alternativa para la Agricultura de Zonas Áridas en el Siglo XXI*, pp. 117-136. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C. La Paz, B. C. S. México.

