

1-1-2013

Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M. C. Johnston

Jorge Alejandro Sobrevilla-Solís
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Maritza López-Herrera
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Ana Laura López-Escamilla
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Leticia Romero-Bautista
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Follow this and additional works at: <http://digitalcommons.unl.edu/hidalgo>

 Part of the [Zoology Commons](#)

Sobrevilla-Solís, Jorge Alejandro; López-Herrera, Maritza; López-Escamilla, Ana Laura; and Romero-Bautista, Leticia, "Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M. C. Johnston" (2013). *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*. Paper 12.
<http://digitalcommons.unl.edu/hidalgo/12>

This Article is brought to you for free and open access by the Parasitology, Harold W. Manter Laboratory of at DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln. It has been accepted for inclusion in Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas by an authorized administrator of DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln.

Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M. C. Johnston

Jorge Alejandro Sobrevilla-Solís, Maritza López-Herrera,
Ana Laura López-Escamilla, y Leticia Romero-Bautista

Resumen

El mezquite es un elemento importante en la vegetación de ambientes semiáridos ya que tiene un gran valor ambiental. Biológicamente, las semillas de *Prosopis laevigata* presentan dificultades de germinación debido a la presencia de una testa impermeable causando una latencia física. El objetivo de esta investigación fue evaluar 10 diferentes tratamientos de escarificación y la combinación de los tratamientos que obtuvieron los mayores porcentajes de germinación, con cuatro soluciones osmóticas para aumentar la germinación de *P. laevigata*. Los índices de germinación demuestran que los tratamientos de escarificación de índole mecánico, son los de mayor efectividad ya que estos dañan de forma directa a la testa de la semilla, rompiendo así la latencia.

En los tratamientos osmóticos, el análisis estadístico indicó que no existen diferencias significativas en los potenciales, pero si en los tratamientos de escarificación. Aspectos como la edad de la semilla, tiempo de maduración e interacciones ambientales, pueden ser la causa de las variaciones en la respuesta de germinación de *P. laevigata*.

Palabras clave: *Prosopis laevigata*, tratamientos osmóticos, germinación

Introducción

Las semillas cumplen una doble función en el mundo, por un lado forman parte de la dieta diaria de millones de personas dándole un significativo valor económico; sin embargo, su principal importancia es ser el medio de dispersión, propagación y perpetuación de un gran número de especies, ocupando un papel trascendental en la historia evolutiva de las plantas superiores (The Seed Biology Place, 2007; Raven *et al.*, 1999; Willis y McElwain, 2002). Las investigaciones enfocadas en los aspectos fisiológicos y ecofisiológicos de estas estructuras son indispensables para desarrollar proyectos encaminados a la propagación en masa de especies con

finés de reforestación y restauración ecológica (Besnier, 1989; Martínez, 1994).

Prosopis laevigata comúnmente conocida como mezquite, es una especie de vital importancia en los ambientes semiáridos; y a la vez ha sido uno de los principales recursos naturales para los habitantes de las regiones semidesérticas (Gómez *et al.*, 1970; Burkart, 1976; CONAZA, 1994; Pennington y Sarukhán, 2005). Sin embargo, las poblaciones naturales de *P. laevigata* en nuestro país y en el estado de Hidalgo han disminuido considerablemente debido a actividades desmedidas de explotación de los recursos; este hecho aunado a la latencia física que presentan las semillas, ha ocasionado la casi nula regeneración natural de los mezquiteales (Gómez *et al.*, 1970).

Para enfrentar los problemas de latencia que presentan este tipo de semillas, se han desarrollado diversas técnicas de pregerminación en un gran número de especies vegetales, principalmente las de valor agrícola. Dichas técnicas han permitido obtener una germinación rápida, completa y uniforme. Lo que ayudan a las labores de manipuleo y el establecimiento de los cultivos (Martínez, 1994). Las evidencias prácticas que emplean este tipo de tratamientos pregerminativos en las semillas de *P. laevigata* revelan perspectivas exitosas a partir de la germinación en viveros, garantizando la posibilidad de su propagación (Ffolliot y Thames, 1983; Gold *et al.*, 2004) ya sea como el uso de cultivo comercial de áreas marginales, en sistemas agroforestales o para fines de reforestación para incrementar la densidad de los mezquites silvestres (CONAZA, 1994).

El género *Prosopis* se distribuye en las zonas tropicales y subtropicales en ambos hemisferios (Gómez *et al.*, 1970; Rzedowski, 1988). La especie *P. laevigata* es el mezquite típico del centro y sur de México (Rzedowski, 1988), con distribución en los estados de Guerrero, Querétaro, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Veracruz, Nuevo León, Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, y Zacatecas (CONAZA, 1994). Comúnmente se encuentran individuos creciendo en climas semi-húmedos, mien-

tras que existen otras poblaciones que prosperan en altitudes próximas a 2,500 m y hacia el norte, esta especie forma parte de matorrales xerófilos, donde las precipitaciones llegan a ser de 300 mm anuales en promedio (Rzedowski, 1988; Rzedowski y Rzedowski 2001) (Fig. 1).

En Hidalgo, *P. laevigata* se distribuye en el centro y norte del Valle del Mezquital, en gran parte del Valle de Ixmiquilpan, parte sureste del Valle de Actopan y parte noroeste y suroeste del Valle de Mixquiahuala (Fig. 2); al sur se encuentra delimitado por las comunidades de Santa María Amajac, San Juan Tepa, Tetepango, San Juan Tepenene y el Arenal (Gómez *et al.*, 1970). También se reporta la presencia de *P. laevigata* en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, formando parte del estrato arbóreo y arbustivo dentro del Bosque Tropical Caducifolio, Matorral crasicaule de *Stenocereus dumortieri*, Matorral crasicaule de *Opuntia imbricata* y Matorral submontano (CONANP, 2003).

Prosopis laevigata es una especie con un gran valor ecológico dentro de las regiones donde abunda (Pennington y Sarukhán, 2005), debido a que es un excelente controlador de la erosión gracias a su capacidad de desarrollarse en lugares donde los suelos son pobres, con escasos horizontes y son fácilmente deslavados por las lluvias torrenciales (Gómez *et al.*, 1970). Además, como otras leguminosas, tiene

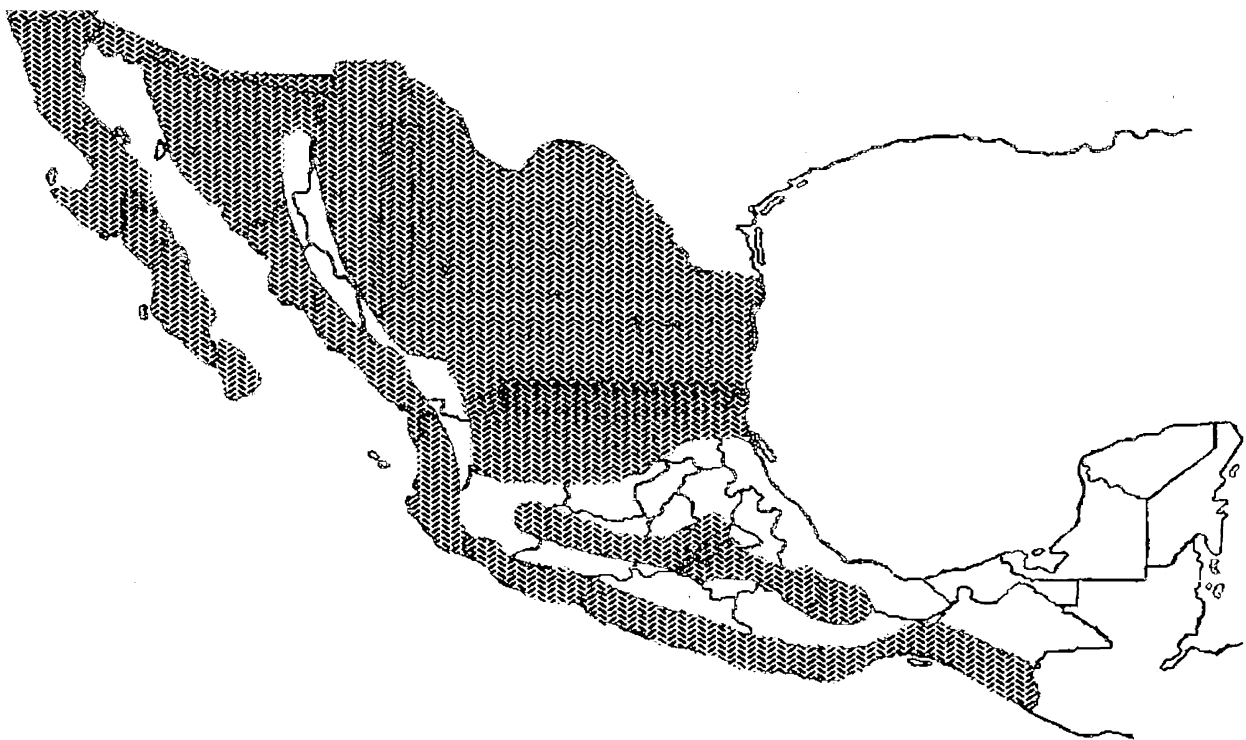


Figura 1. Distribución del género *Prosopis* en la República Mexicana (Tomado de Gómez *et al.*, 1970).

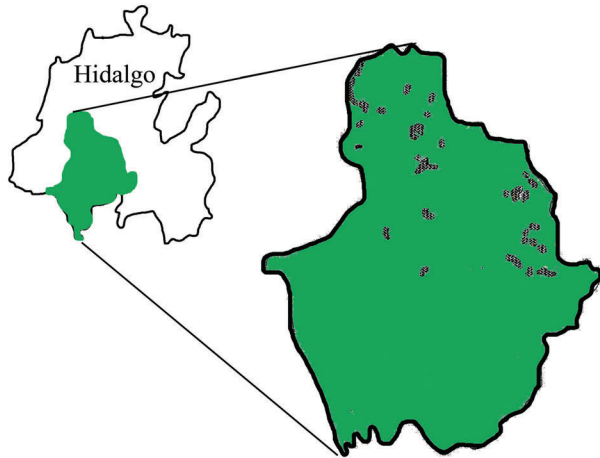


Figura 2. Distribución de *Prosopis laevigata* en la región del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo (Tomado de Gómez *et al.*, 1970).

la cualidad de fijar el nitrógeno atmosférico al suelo, a través de las micorrizas asociadas a sus raíces, mejorando así su fertilidad. Por ello esta especie puede ser considerada para su uso en programas de reforestación de áreas semiáridas. También se considera que *P. laevigata* tiene cierta importancia como indicador, pues se piensa que de esta especie está asociada a la presencia de mantos freáticos, indicando los sitios de perforación de pozos comunales (Gómez *et al.*, 1970; Felker, 1981; Pennington y Sarukhán, 2005).

Dentro del entorno, las comunidades de *P. laevigata* son importantes en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas ya que son el hábitat de una cantidad considerable de fauna silvestre, además de mejorar la estética del paisaje (CONAZA, 1994). La gran problemática que presentan las semillas de *P. laevigata*, al igual que muchas otras leguminosas, es la latencia, ya que el principal factor que lo genera es la impermeabilidad que muestran las semillas al agua. Las semillas de *P. laevigata* presentan una testa dura e impermeable, por lo que la semilla se califica como una "semilla dura" (Dübbern de Souza y Marcos-Filho, 2001; D' Aubeterre *et al.*, 2002; Rivas *et al.*, 2005). Esta impermeabilidad impide la imbibición de la semilla, debido a que es un fenómeno puramente físico (Dübbern de Souza y Marcos-Filho, 2001; Vilela y Ravetta, 2001; Baes *et al.*, 2002; De Villalobos *et al.*, 2002; D' Aubeterre *et al.*, 2002; Rivas *et al.*, 2005).

La latencia se define como una fase inactiva de la semilla durante la cual el crecimiento y desarrollo se ven retrasados y los procesos metabólicos se ven

reducidos a niveles mínimos. La verdadera función de la latencia es prevenir la germinación cuando las condiciones ambientales no son favorables, y las probabilidades de crecimiento y establecimiento de las plántulas son bajas (Koornneef *et al.*, 2002; Fenner y Thompson, 2005). Las principales causas de latencia son distintos factores ambientales, tales como la luz, temperatura, humedad. Sin embargo, también existen características intrínsecas que pueden inducir la latencia, las cuales pueden actuar solas o en combinación con los factores ambientales antes mencionados (Bewley y Black, 1985; Debeaujon *et al.*, 2000; Baskin y Baskin, 2001; Koornneef *et al.*, 2002).

Los tratamientos de escarificación son un grupo de actividades previas a la germinación encaminadas a facilitar y aumentar la germinación; este tipo de actividades se centra en semillas que generalmente presentan una latencia exógena, por ejemplo la latencia física que presentan las semillas de *P. laevigata* (Willian, 1991; Kolotelo *et al.*, 2001).

La escarificación tiene la finalidad de ablandar, perforar, rasgar o abrir las cubiertas de la semillas para hacerla permeable, sin dañar el embrión ni el endospermo que se encuentran en su interior; logrando así la imbibición y el intercambio gaseoso. La velocidad de emergencia es un factor clave para la instalación en el campo o en vivero en todas las especies. La escarificación mecánica, física o química de semillas es una práctica recomendada para incrementar la germinación en *Prosopis*, pero no la modifica (Willian, 1991; Parretti, 1994). Los tratamientos osmóticos de presembrado pueden ser una herramienta para incrementar la velocidad de emergencia (Besnier, 1989).

Aunque existen un gran número de investigaciones dedicadas a evaluar distintos tratamientos de escarificación con semillas de *P. laevigata*, no es así para los tratamientos de osmocondicionamiento y mucho menos los enfocados a evaluar distintos tratamientos de escarificación con osmocondicionamiento a distintos potenciales con esta especie. En este contexto, surge el interés de conocer y evaluar diferentes tratamientos de escarificación y osmóticos a los que deberían someterse las semillas de *P. laevigata* con el fin de romper su latencia, permitiendo generar un buen porcentaje de germinación.

Material y Métodos

Obtención de la semilla: Se realizó una colecta de frutos en la comunidad de San José Tepenene, en el municipio de El Arenal, Hidalgo, ubicado en Latitud 20°12'13" y Longitud 98°53'28" durante el mes

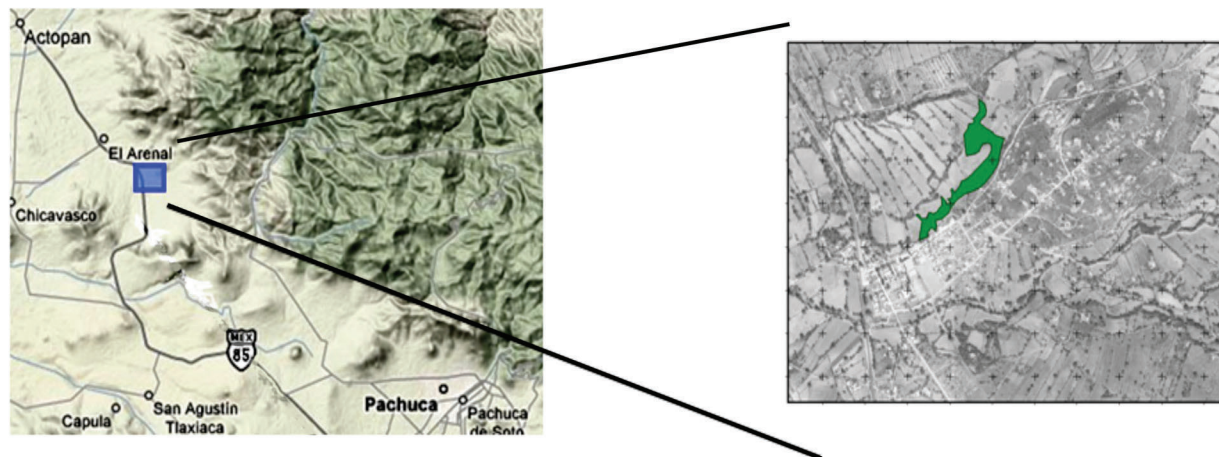


Figura 3. Ubicación de la comunidad de San José Tepenene (Tomada de Google Earth 2007). Delimitación del área de colecta (en verde), dentro de la comunidad de San José Tepenene.

de agosto del 2006, en una población natural y visiblemente conservada de *P. laevigata* con presencia de individuos altos, aparentemente sanos (Fig. 3).

Los frutos se colectaron directamente de los árboles cuando tenían una coloración entre violeta y amarillo; los frutos se remojaron en agua durante 72 horas para ablandar las vainas y extraer la semilla de forma manual. Una vez obtenida la semilla, se enjuaga con agua corriente, para retirar la mayor cantidad de pulpa, finalmente se dejó secar al sol durante 48 horas. Las semillas fueron almacenadas en bolsas Ziploc®, etiquetadas y mantenidas a temperaturas que oscilaban entre 4 y 10°C hasta su posterior uso.

Escarificación de la semilla: Se evaluaron 10 métodos de escarificación (M): (M1) Lijado manual con lija de agua N° 100; (M2) escarificación en licuadora domestica con 500 ml de agua durante 10 segundos a una velocidad media; (M3) inmersión en ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 98% durante 15 minutos; (M4) inmersión en vinagre al 5% de acidez durante 15 minutos, al término del tiempo de inmersión se realizó un enjuague utilizando agua corriente, con la finalidad de neutralizar tanto el ácido como el vinagre; (M5) choque térmico, colocando a las semillas en una pequeña bolsa de tela y sumergiéndolas en agua a 80°C durante 5 minutos, para que inmediatamente fueran expuestas en agua con hielo durante el mismo tiempo. Este procedimiento se realizó dos veces; (M6) inmersión en agua a 65°C durante 4 minutos; (M7) inmersión en agua a 65°C durante 8 minutos; (M8) inmersión en agua a 75°C durante 4 minutos; (M9) inmersión en agua a 75°C durante 8 minutos; (M10) control con

testa. De los métodos seleccionados, dos fueron de naturaleza mecánica (M1 y M2), otros dos métodos de escarificación fueron químicos (M3 y M4) y finalmente, cinco fueron métodos físicos (M5, M6, M7, M8 y M9). Sumándoles un tratamiento control (M10).

Para evaluar los métodos antes mencionados, se tomó una muestra al azar de 400 semillas de *P. laevigata*, las cuales se dividieron en 10 grupos de 40 semillas, para someterlos a los métodos de escarificación, agrupándolos en cuatro repeticiones y 10 semillas por repetición. Antes de ser sembradas, e inmediatamente después de ser sometidas a los métodos de escarificación, las semillas estuvieron inmersas durante un minuto en una solución de CAPTAN® en proporción de 1.5 gr por litro; con la finalidad de evitar la proliferación de hongos durante la germinación.

Las semillas escarificadas se sembraron en almácigos de unisel con capacidad para 200 semillas cada uno a una profundidad de 1.5 cm. Como sustrato se utilizó Peat Moss esterilizado previamente, adicionado con fertilizante Multicote 8 (16-6-12+2MgO)® en una proporción de 340 gr por kilogramo de sustrato. Los almácigos se colocaron en el invernadero del Área Académica de Biología, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; que se mantuvo a una temperatura promedio de 36°C, y una humedad relativa promedio de 17.2%. Se realizaron riego diarios durante todo el proceso de germinación, para evitar la pérdida de humedad. Las semillas escarificadas fueron evaluadas cada 24 horas; el criterio para determinar cuando habían germinado las semillas fue cuando los cotiledones emergieron completamente del sustrato.

Variables evaluadas: Los índices de germinación empleados fueron (Bewley y Black, 1985):

- a. Potencial germinativo (G%): Es el valor total de germinación expresado en porcentaje.
- b. Índice de velocidad de germinación (IVG): El cual se obtiene dividiendo el número de semillas germinadas entre el número de días evaluados (desde el día de la siembra hasta el último día de evaluación).

$$IVG = ni/ti$$

Donde:

ni = número de semillas germinadas desde el primer al último día.

ti = tiempo en días (desde el día de siembra hasta el final de la evaluación).

- c. Tiempo promedio para alcanzar la germinación (TPG): Se obtiene

$$TPG = \sum(t * n) / \sum n$$

Donde:

t = tiempo en días (iniciando desde el día de la siembra).

n = numero de semillas que completaron la germinación.

- d. Tiempo para alcanzar la máxima germinación (TMax): El cual contempla el día en que el número de semillas germinadas no aumentó más.

- e. Coeficiente de Uniformidad de la Germinación (CGU): La uniformidad puede ser expresada como la varianza de los tiempos individuales de las semillas, respecto al promedio del tiempo de la muestra evaluada. A la par que asumimos que el tiempo para completar la germinación se comporta como una distribución normal; y mientras mayor resulte ser dicho valor, mayor será la uniformidad.

$$CUG = \sum n / \sum [(t^+ - t)^2 * n]$$

Donde:

t⁺ = Tiempo promedio para alcanzar la germinación.

t = Tiempo en días, desde el día cero hasta el último día de evaluación.

n = Número de semillas totales germinadas.

- f. Tratamientos osmóticos (osmocondicionamiento).

Se evaluaron cuatro potenciales osmóticos (Ψ_o) empleando una solución de agua destilada y Cloruro

Tabla 1. Proporción de cloruro de sodio (NaCl) en 200 ml de agua destilada para obtener los distintos potenciales osmóticos durante el osmocondicionamiento. Nota: PO = potencial osmótico.

PO	NaCl (gr)
0	0
-0.4	0.191
-0.8	0.382
-1.2	0.573

de Sodio (NaCl). Para determinar la concentración de este último, se realizaron una serie de cálculos para saber que cantidad de NaCl sería necesario poner con 200 ml de agua destilada para poder obtener los siguiente potenciales: 0.0, -0.4, -0.8, -1.2. Los resultados obtenidos a partir de los cálculos para cada potencial se presentan en Tabla 1.

Las soluciones se prepararon en vasos de precipitados, agregando la cantidad suficiente de NaCl para cada uno de los potenciales y aforando la cantidad de agua destilada en probetas de 250 ml para obtener los volúmenes exactos. Cada vaso de precipitados fue cubierto con PARAFILM® para evitar su contaminación y colocados en refrigeración para su mejor conservación. Antes ser utilizadas, cada solución era sacada del refrigerador para que al momento de ser empleadas estuvieran a temperatura ambiente.

La evaluación de los cuatro potenciales osmóticos (0.0, -0.4, -0.8, y -1.2) fue combinada con los dos métodos de escarificación (lijado manual e inmersión en vinagre al 5% de acidez por 15 minutos) y los dos tratamientos de control (control con testa y control sin testa) para así obtener 16 combinaciones diferentes de tratamientos de escarificación con soluciones osmóticas a evaluar. Para este experimento se obtuvo una muestra al azar de 960 semillas, organizándolas en cuatro repeticiones con 15 semillas cada una, 60 semillas en total para cada combinación.

Para evaluar la germinación, se utilizaron cajas Petri de cristal de 10 cm de diámetro, previamente esterilizadas y en su interior se colocó papel filtro previamente esterilizado del mismo diámetro de la caja. Las semillas después ser escarificadas por los métodos antes mencionados, era sumergidas en CAPTAN® a 1.5 gr por litro con la finalidad de evitar la proliferación de hongos durante la germinación. Al terminar este proceso, las semillas se colocaron en las cajas Petri y se agregaron 2 ml de la solución osmótica; para finalizar se cubrieron las semillas con papel filtro. Las cajas fueron rotuladas y colocadas para su incubación en una estufa a una temperatura de $32 \pm 2^\circ \text{C}$.

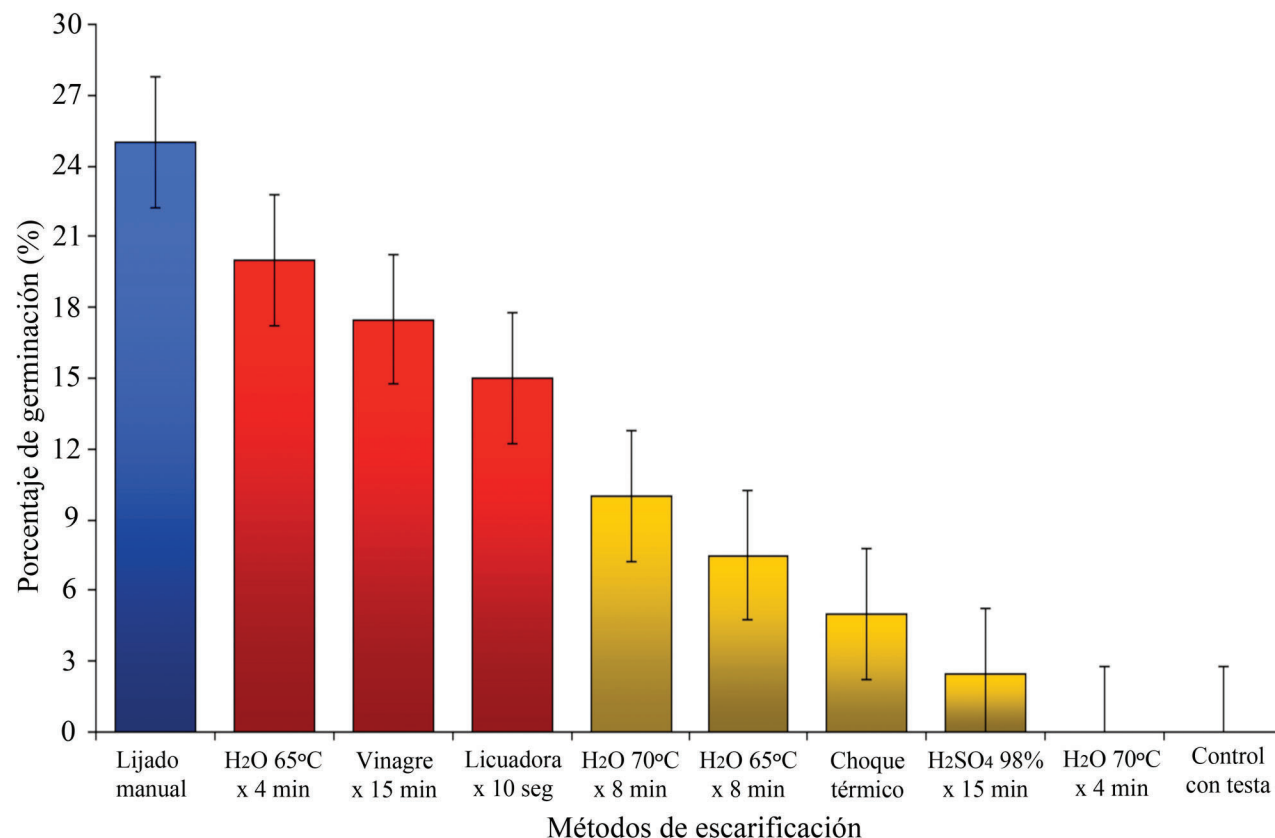


Figura 4. Porcentaje de germinación para cada uno de los tratamientos de escarificación, mostrando barra de error típico en cada uno.

La evaluación de las semillas se realizó diariamente; mientras que la aplicación de las soluciones osmóticas fue cada tercer día. El criterio para determinar que las semillas habían germinado fue cuando se hacía evidente la aparición de la radícula.

Resultados y Discusión

Tratamientos de escarificación: Los resultados de los tratamientos de escarificación pueden agruparse en 4 grupos (Fig. 4). El primer grupo (lijado manual) con el valor más alto de germinación, 25%. Dentro del segundo grupo se encontraron los métodos de inmersión en agua a 65°C por 4 min con el 20%; inmersión en vinagre por 15 min con 17.5% y escarificación en licuadora doméstica por 10 seg con 15% de germinación. El tercer grupo lo formaron el método de inmersión en agua a 70°C por 8 min con el 10%; inmersión en agua a 65°C por 8 min con 7.5%; choque térmico con 5% e inmersión en H₂SO₄ al 98% con el 2.5% de germinación. En el cuarto se engloban a los métodos de inmersión en agua a 70°C por 4 min y el control con testa, en los cuales no hubo germinación.

El lijado manual y el someter a las semillas durante 4 min en agua a 65°C de temperatura, fueron los métodos que mostraron los mejores resultados (25 % y 20 % de germinación). Ambos métodos muestran dos periodos, en donde el proceso de germinación fue más activo (Fig. 5A y C); en el caso del segundo método los resultados muestran que temperaturas más elevadas del agua y mayor tiempo de permanencia de las semillas en ésta, daña permanentemente al embrión generando con esto una inhibición de la germinación.

En la comparación de la cinética de germinación de los dos métodos mecánicos (lijado manual y licuadora por 10 seg) se observa un comportamiento inicial muy semejante pero una vez llegado al 11 día de evaluación, la germinación se detuvo en el segundo método. Es posible que con el método de la licuadora, se genera daño importante en el embrión, Rivas *et al.*, (2005) en su trabajo con semillas de *P. laevigata*, aún cuando no especifica la especie con la cual se trabajó, probaron seis métodos mecánicos de escarificación y en general tuvieron un porcentaje bajo de germinación, siendo el método de licuadora por 30 seg el que mostró mejores resultados (53% de

germinación). Sin embargo en el trabajo mencionado anteriormente, no se describe las revoluciones por minuto (r.p.m) a las cuales fueron sometidas la semillas, por lo que es posible que en el trabajo que se presenta las r.p.m. hayan dañado el embrión generando los resultados observados (Fig. 5A).

En el caso de los métodos químicos, los resultados muestran que el número de semillas germinadas fue realmente bajo, los dos métodos que presentan germinación fue el de vinagre por 15 min y el ácido sulfúrico al 98% por 15 min (Fig. 5B), estos métodos fueron utilizados por Baes *et al.* (2002) en semillas de *P. ferox* obteniendo resultados de hasta un 91% de germinación, sin embargo, a pesar de que en varios trabajos científicos (Baes *et al.*, 2002; D'Aubeterre *et al.*, 2002) los presentan como una buena alternativa para promover la germinación en esta especie, en este estudio no fue así.

Un punto a notar es que en el trabajo de Baes *et al.* (2002) no se menciona la concentración del H_2SO_4 utilizada, en este trabajo se usó dicho ácido al 98%, lo cual pudo dañar las cubiertas de la semilla generando un daño al embrión. Sin embargo, el hecho que se presentara un evento de germinación aun cuando este fue incipiente, plantea la posibilidad de que este método puede ser útil modificando el tiempo de exposición de las semillas a estos agentes químicos y la concentración del ácido utilizado.

Se comprobó que la humedad y la temperatura son factores que inciden fundamentalmente en la regulación de la cantidad y ritmo de absorción del agua en la semilla durante el proceso de germinación de *P. laevigata* (Prokopiuk y Chifa, 2000), por lo tanto de la emergencia del sustrato. Algunas características intrínsecas de las semillas de *P. laevigata* pueden influir en su respuesta germinativa; por ejemplo, el tamaño afecta la germinación (South *et al.*, 1985; Rivas *et al.*, 2005). El tamaño de las semillas en una especie puede variar entre poblaciones o entre individuos, ya sea por diferencia genéticas o por diferencias en la historia de vida de cada planta (Barbour *et al.*, 1999).

Se observa que tanto el lijado manual como el de agua a 65°C por 4 min presentan un porcentaje de germinación muy similar, de ahí que cualquiera de los dos métodos pueden ser utilizados para promover la germinación en *P. laevigata*. Además que la cinética de germinación observada en las gráficas es muy similar, obteniéndose un porcentaje de germinación aceptable, entre el 20 y 25%. Catalán y Balzarini, 1992 indicaron que los mejores métodos de escarificación son los de naturaleza mecánica. Aunque, este tipo de métodos presentan como desventaja

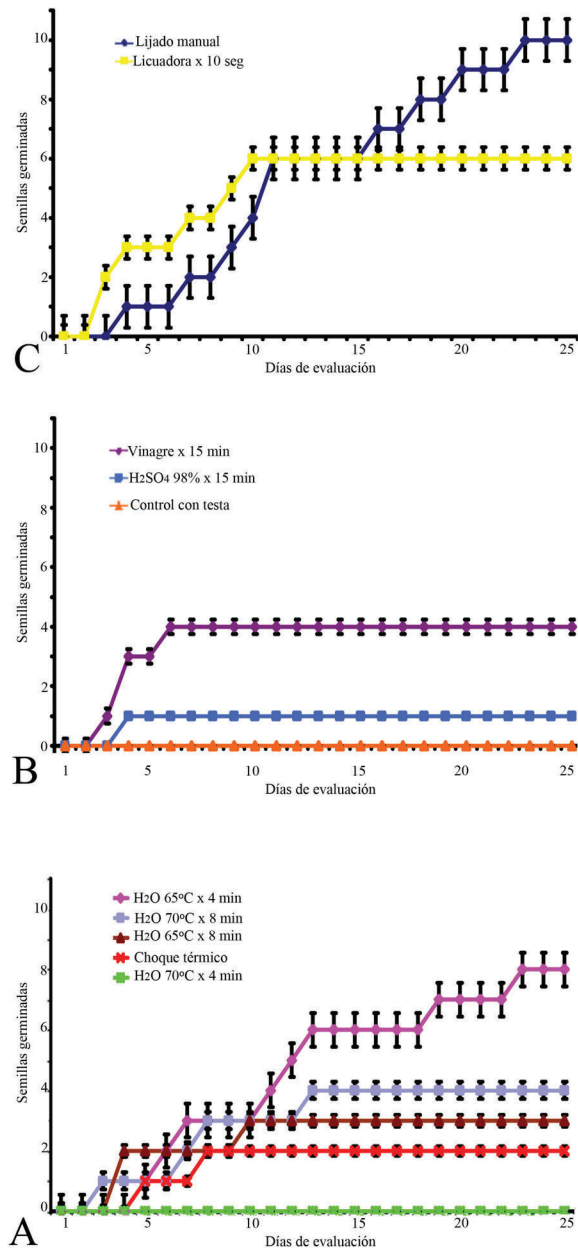


Figura 5. Cinética de germinación de semillas de *Prosopis laevigata* sometidas a diferentes métodos de escarificación: (A) métodos mecánicos; (B) métodos químicos; (C) métodos físicos.

un mayor tiempo de ejecución cuando se realizan en forma manual (Parretti, 1994) (Fig 5C).

Existen diversos indicadores que nos permiten conocer con mayor detalle diferentes características del proceso de germinación en las semillas, entre estos tenemos: índice de velocidad de germinación (IVG), tiempo máximo para alcanzar la germinación (TMAX), tiempo promedio para alcanzar la germi-

nación (TPG) y el coeficiente de uniformidad de la germinación (CUG) (Bewley y Black, 1985). En el presente trabajo el IVG (Tabla 2) del método de lijado manual presenta el valor más alto, 0.37 semillas germinadas por día, seguidos de la inmersión en agua (H_2O) a $65^\circ C$ por 4 min y escarificación en licuadora doméstica por 10 seg con un 0.30 y 0.22 semillas germinadas por día, respectivamente. En lo que respecta al TPG, los valores del lijado manual e inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por 4 min fueron similares (12.9 y 12 días, respectivamente), seguidos por la inmersión en H_2O a $70^\circ C$ por 8 min que presentó un valor de 7.75 días; choque térmico con 6.5 días, y por último escarificación en licuadora e inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por 8 min, ambos con 6 días. Los valores más bajos los presentó la inmersión en H_2SO_4 al 98% por 15 min e inmersión en vinagre por 15 min, los dos con 4 días en promedio para alcanzar la germinación. A pesar de los valores presentados anteriormente, el tiempo promedio para alcanzar la germinación sólo fue trascendente para el caso de los tratamientos de lijado manual e inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por 4 min porque si bien tienen un promedio alto en los días para alcanzar la germinación, también fueron los tratamientos con mayor número de semillas germinadas y emergidas del sustrato. Respecto al índice TMAX, es posible decir que el método de escarificación que presentó una mayor eficiencia germinativa fue la inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por 4 min con 13 días como mínimo para alcanzar un 20% de germinación.

El tratamiento de escarificación que presentó un mayor CUG es el lijado manual con un 5.029; seguido de la inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por cuatro min con 4.440 que son los más altos. También, el tratamiento de inmersión en H_2O a $70^\circ C$ por ocho min

presentó un coeficiente de uniformidad de 2.684, siendo el tercer mejor; el choque térmico tiene 2.397 y por último los tratamientos de escarificación en licuadora por 10 seg e inmersión en H_2O a $65^\circ C$ por 8 min, los dos con 2.267. El CUG más bajo registrado fue de 1.890, perteneciente a los tratamientos de inmersión en H_2SO_4 al 98% por 15 min y a la inmersión en vinagre por 15 min.

En términos generales, los índices muestran que el mejor tratamiento de escarificación para semillas de *P. laevigata* es un método mecánico, en este caso, el de lijado manual. Los resultados de esta investigación, coinciden con los Rivas *et al.* (2005), que obtuvieron bajos porcentajes de germinación, siendo el tratamiento mecánico de escarificación en licuadora doméstica por 30 segundos el más alto con el 53%. Por el contrario, los porcentajes de germinación más bajos se presentaron con el método de escarificación química especialmente con la inmersión en H_2SO_4 por 5 y 10 min. Sin embargo, Rivas *et al.* (2005) no hicieron referencia a la especie de *Prosopis* evaluada, número de semillas por repetición y el sustrato utilizado. En dicha investigación los porcentajes bajos fueron atribuidos a las características de las semillas, así como a las variaciones en la temperatura inferior de la cámara de germinación empleada.

Baes *et al.* (2002) encontraron que el mejor tratamiento de escarificación para las semillas de *P. caldenia* fue el de inmersión en H_2SO_4 durante 45 min. De igual forma, D' Aubeterre *et al.* (2002) consideraron que los tratamientos de inmersión en H_2SO_4 por 5 y 10 min (20% y 14%, respectivamente) fueron los más efectivos para *P. laevigata*; siendo estos resultados mayores a los encontrados en este trabajo empleando H_2SO_4 al 98% por 15 min con un 2.5 %. En este mismo sentido, Garwood (1986), encontró

Tabla 2. Tratamientos de escarificación empleados en esta investigación con distintos índices de germinación.

Tipo de Escarificación	SEM G	G%	IVG	TPG	TMAX	CUG
Lijado manual	10.0	25.0	0.4	12.9	23.0	5.0
Licuadora x 10 seg	6.0	15.0	0.2	6.0	10.0	2.3
H_2SO_4 98% x 15 min	1.0	2.5	0	4.0	4.0	1.9
Vinagre x 15 min	4.0	17.5	0.2	4.0	6.0	1.9
Choque térmico	2.0	5.0	0.1	6.5	8.0	2.4
H_2O $65^\circ C$ x 4 min	8.0	20.0	0.3	12.0	13.0	4.4
H_2O $65^\circ C$ x 8 min	3.0	7.5	0.1	6.0	10.0	2.3
H_2O $70^\circ C$ x 4 min	0	0	0			
H_2O $70^\circ C$ x 8 min	4.0	10.0	0.2	13.0	13.0	2.7
Control con testa	0	0	0			

Nota: SEM G = número total de semillas germinadas; G% = porcentaje de germinación; IVG = índice de velocidad de germinación; TPG = tiempo promedio para alcanzar la germinación, en días; TMAX = tiempo para alcanzar la máxima germinación, en días; CUG = coeficiente de de uniformidad de la germinación.

que el H_2SO_4 actúa efectivamente en semillas jóvenes, principalmente las que tienen menos de 3 meses después de la cosecha.

En una investigación donde se evaluó el efecto de las altas temperaturas en la germinación de *P. caldenia*, De Villalobos *et al.* (2002) se reportaron que, en todos los tratamientos, los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron al exponer a las semillas durante 5 min a temperaturas elevadas. Cuando los tiempos de exposición al calor se prolongaban por 10 y/o 15 min, el porcentaje de germinación decrecía. También, se reportaron que, en todos los casos, los porcentajes de germinación fueron menores al 30%. Fue por ello que para evaluar los tratamientos físicos en este estudio se optamos por exponer a las semillas en los distintos tratamientos durante 4 y 8 minutos como máximo, contemplando que deben de existir algunas diferencias en función a la respuesta al calor entre *P. laevigata* y *P. caldenia*.

En la investigación hecha por Torres *et al.* (2000), con semillas cosechadas en agosto de 1990 y evaluadas en mayo de 1991, se compararon diferentes tratamientos de escarificación hídrica, obteniendo el mayor porcentaje (55%) en la inmersión en agua a 55°C durante 6 minutos. Por lo cual, usamos semillas que se mantuvieron en almacenamiento el mismo tiempo (9 meses).

Si se comparan sólo los métodos que fueron empleados en ambas investigaciones (Tabla 3), encontramos que los resultados son menores a los encontrados por Torres *et al.* (2000). Esto puede atribuirse a que los autores emplearon un mayor número de semillas en sus ensayos de germinación (100 semillas por tratamiento con 3 repeticiones). Además, el sustrato empleado consistió en suelo agrícola arcilloso, mientras que en el presente trabajo se utilizó Peat Moss más Fertilizante Multicote 8[®] (en una proporción de 340 gr por kilogramo de sustrato), lo cual permitió tener un mayor control sobre esta variable, ya que es manipulado el número y porcentaje de nutrientes, lo que no es posible utilizando suelo agrícola.

Los bajos porcentajes de germinación fueron atribuibles, en cierto grado, a compuesto fenólicos presentes en la testa de las semillas; si bien estos compuestos juegan un papel importante manteniendo su viabilidad, al funcionar como defensa química frente algunos microorganismos, en condiciones de alta humedad relativa pueden desempeñar el papel de inhibidores de la germinación (Mohamed-Yassen *et al.*, 1994).

Dentro de lote de semillas colectadas fue posible observar diferencias en sus tamaños, fenómeno

Tabla 3. Comparación de la porcentaje de germinación por los métodos físicos de escarificación entre los resultados de Torres *et al.* (2000) (Investigación A) y los resultados obtenidos en este estudio (Investigación B).

Método de Escarificación	Germinación (%)	
	Investigación A	Investigación B
H ₂ O 65°C x 4 min	52.0	20.0
H ₂ O 65°C x 8 min	39.6	7.5
H ₂ O 70°C x 4 min	48.0	0
H ₂ O 70°C x 8 min	41.3	10.0

que se conoce como heteromorfismo somático o polimorfismo de las semillas. El considerar que los resultados fueron afectados en parte por un polimorfismo germinativo, se sustenta en el hecho de que, según Willian (1991), la International Seed Testing Association (ISTA) considera que un lote de semillas es heterogéneo cuando el coeficiente de variación, resultado de evaluar una muestra al azar, es mayor a 4.0.

Del lote de semillas usado, se realizó un muestreo de 50 semillas a las cuales se midió el peso, altura, ancho y grosor de las mismas, y se realizó un análisis de varianza para determinar el grado de uniformidad de las mismas (Tabla 4). Los resultados obtenidos muestran que todas las variables medidas (peso, ancho, largo y grosor), sobrepasan el nivel máximo que prescribe la ISTA; con lo que podemos asegurar que en el lote colectado existe un marcado polimorfismo de las semillas con diferentes maneras de responder ante un ambiente cambiante. Este fenómeno está condicionado genéticamente y se caracteriza por la producción en una misma planta de dos o más tipos de semillas que pueden diferir totalmente en forma, tamaño y comportamiento ecofisiológico, en lo que respecta a dispersión, latencia y germinación (Sánchez *et al.*, 1997; Thomas, 2000). Podemos decir que los bajos porcentajes de germinación, dados por polimorfismo germinativo; también pueden ser atribuibles a las condiciones ambientales dadas durante el experimento.

Tabla 4. Análisis de varianza de las características morfológicas de las semillas (peso, grosor, ancho y espesor). Nota: DS = desviación estándar; CV = coeficiente de variación.

	Peso (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)
Promedio	5.99	595.1	390	195.2
DS	0.03	0.95	0.74	0.48
CV	21.05	7.99	9.42	12.28

Tratamientos Osmóticos

Los números de semillas germinadas y sus porcentajes de germinación (%) más altos fueron obtenidos en el control sin testa con el potencial osmótico (Ψ_0) de 0 (agua destilada), con 35 % de germinación, seguido del $\Psi_0 = -0.8$ con un 23.3%; el $\Psi_0 = -1.2$ con 20% y $\Psi_0 = -0.4$ con sólo 15% (Tabla 5). Para los tratamientos de lijado manual y control con testa, en general se puede considerar que el $\Psi_0 = 0$ genera los mayores porcentajes de germinación, seguido del $\Psi_0 = -0.4$; en el tercer sitio el $\Psi_0 = -1.2$ y por último el $\Psi_0 = -0.8$. Estos resultados son totalmente diferentes al tratamiento de inmersión en vinagre por 15 min ya que los potenciales $\Psi_0 = -0.8$ y -1.2 presentaron los porcentajes de germinación más bajos o en su defecto, no los presentaron. El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre los tratamientos de escarificación ($P < 0.05$) mientras que los potenciales osmóticos son estadísticamente similares, y no existe interacción alguna entre estos dos.

Se encontró que el mayor número de semillas germinadas se obtiene al retirar completamente la testa y exponerlas al agua con un potencial osmótico de 0. Sin embargo, semillas en esta situación tienden a presentar un imbibición rápida, trayendo como resultado la muerte del embrión debido a su envenenamiento (Mohamed-Yasseen *et al.*, 1994), situación

Tabla 5. Combinaciones de los tratamientos de escarificación con los potenciales osmóticos, donde se muestran los resultados en número de semillas germinadas y su porcentaje de germinación (%) correspondiente. Nota: PO = potencial osmótico; SG = semillas germinadas; G% = porcentaje de germinación.

Tratamiento	PO	SG	G%
Vinagre	0	0	0
	-0.4	2.0	3.3
	-0.8	0	0
	-1.2	0	0
Lijado Manual	0	14.0	23.3
	-0.4	13.0	21.7
	-0.8	0	0
	-1.2	3.0	5.0
Control con Testa	0	10.0	16.7
	-0.4	6.0	10.0
	-0.8	1.0	1.7
	-1.2	6.0	10.0
Control sin Testa	0	21.0	35.0
	-0.4	9.0	15.0
	-0.8	14.0	23.3
	-1.2	12.0	20.0

que pudo observarse durante las pruebas ya que se tenían semillas evidentemente imbibidas pero que no respondían a la germinación. Si por un lado, la testa genera la latencia física y presencia de inhibidores químicos, también ayuda a la semilla a regular la proporción de agua imbibida en suelos con bajo potencial osmótico (Dübbern de Souza y Marcos-Filho, 2001).

Respecto a los resultados del lijado manual como tratamiento de osmocondicionamiento, se puede considerar que esta técnica ayuda a promover la germinación en cierta medida, pues se obtuvieron porcentajes de 23.33 % con Ψ_0 0 y 21.67 % con $\Psi_0 -0.4$, lo que representan 14 y 13 semillas germinadas, respectivamente. Con el lijado manual, sólo como técnica de escarificación, se lograron obtener 10 semillas emergidas.

Los resultados muestran que el exponer semillas *P. laevigata* en agua destilada genera una respuesta germinativa positiva, incluso si la semilla no recibió ningún tratamiento de escarificación; como ejemplo, el control con testa que obtuvo un 16.7% con 10 semillas germinadas, hecho contrario a lo que sucedió con los tratamientos de escarificación donde las semillas control no presentaron respuesta alguna.

El hecho anterior también demuestra que la testa de *P. laevigata* no es totalmente impermeable; algunos autores consideran que la principal forma en que el agua llega al embrión es cuando éste tiene la capacidad de romper la testa, algunas veces ya debilitada por el ambiente; sin embargo otras vías alternativas es la entrada de agua a través del hilio, el micrópilo y/o el rafe actuando como válvulas higroscópicas (Dübbern de Souza y Marcos-Filho, 2001).

A pesar que las especies del género *Prosopis* se consideran tolerantes al estrés osmótico, se ha demostrado que su germinación se reduce conforme aumenta la salinidad, siendo este estado de desarrollo el más sensible (Ríos-Gómez *et al.*, 2010), pues soluciones de NaCl con Ψ_0 entre -1.4 a -2.2 reducen en un 50% el porcentaje de germinación en *P. fracta* (Baskin y Baskin 2001).

Sosa *et al.* (2005) encontraron que el osmocondicionamiento con NaCl a $\Psi_0 = -1.2$ promueven hasta en un 63% la germinación de *P. strombulifera*, mientras que los mayores porcentajes de germinación se presentaron con soluciones de manitol a $\Psi_0 = -1.2$ con el 85% de germinación; mientras que para *P. argentina* el osmocondicionamiento con Polietilenglicol 6000 a $\Psi_0 = -6$ bars durante 24 hrs, resulta ser el mejor tratamiento con un 86% de germinación (Peluc *et al.*, 2000).

La reducción del porcentaje de germinación frente al aumento de la salinidad no pudo ser comprobado para *P. laevigata* ya que los resultados de la presente investigación muestran que los potenciales osmóticos son iguales estadísticamente. Aunque se ha demostrado que aspectos genéticos pueden también influenciar la respuesta de las semillas al osmoacondicionamiento, por ejemplo, se sabe que las semillas producidas por árboles que crecen en lugares secos tienden a tolerar potenciales osmóticos muy bajos para germinar (Cordero y Di-Stéfano, 1991).

Conclusiones

Los tratamientos de escarificación permitieron eliminar la latencia física en la semillas de *P. laevigata*. Sin embargo, no se pudieron obtener porcentajes de germinación mayores a 30%; por lo que cabe la posibilidad de que las semillas estén experimentando una combinación de latencia física y fisiológica.

Los porcentajes e índices de germinación indicaron que el mejor tratamiento de escarificación fue el lijado manual debido a que la testa impermeable fue dañada y debilitada directamente por medio de la abrasión hecha con la lija. Tratamientos como inmersión en agua a 65°C x 4 min, inmersión en vinagre x 15 min y escarificación en licuadora doméstica indicaron tener buenos resultados; sin embargo, se requieren hacer más ensayos con estos tratamientos para poder mejorar los resultados.

Mediante el osmoacondicionamiento, se lograron obtener porcentajes de hasta 35% en el control sin testa, pero los tratamientos de escarificación presentaron porcentajes aun más bajos. Aunque estadísticamente los potenciales osmóticos no mostraron diferencias significativas, el agua destilada con un $\Psi_0 = 0$ permitió obtener los mayores porcentajes de germinación en la mayoría de las combinaciones con los tratamientos de escarificación. Por ello sería necesario emplear soluciones con mayores potenciales osmóticos para determinar un rango óptimo para tratamientos de osmo-acondicionamiento.

El coeficiente de variación obtenido para las semillas demostró que estas presentaban un heteromorfismo, capaz de provocar un polimorfismo germinativo; el cual cumple la función de desplazar el tiempo de germinación logrando el establecimiento asincrónico de plántulas y, con ello, reducir la competencia y aumentar la posibilidad de supervivencia de cada una de ellas.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) por el financiamiento del proyecto colaborativo "Calidad Ambiental y Desarrollo Sustentable: Inventario Ambiental y Establecimiento de Indicadores Regionales".

Literatura citada

- Baes, O. P., M. L. de Viana y S. Suhring. 2002. Germination in *Prosopis ferox* seeds: Effects of mechanical, chemical and biological scarifications. *Journal of Arid Environments* 50:185-189.
- Barbour, M. G., J. H. Burk, W. D. Pitts, F. S. Gillian y M. W. Schwarts. 1999. *Terrestrial plant ecology*. 3 edition. Benjamin/Cummings pp. 117-125.
- Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 2001. *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, E.U.A. pp. 97-120.
- Bewley, D. J. y M. Black. 1985. *Seeds, physiology of development and germination*. Plenum Press. New York, E.U.A. pp. 154-180.
- Besnier, R. F. 1989. *Semillas: Biología y tecnología*. Mundi-Prensa. Madrid, España 637 p.
- Burkart, A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae Subfam. Mimosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum* 57:219-249.
- Catalán, L. A. y M. Balzarini. 1992. Improved laboratory germination conditions for several arboreal *Prosopis* species: *P. chilensis*, *P. flexuosa*, *P. nigra*, *P. alba*, *P. caldenia* and *P. affinis*. *Seed Science Technology* 20:239-298.
- CONAZA- Comisión Nacional de las Zonas Áridas. 1994. Instituto Nacional de Ecología. *Mezquite, Cultivo Alternativo para las Zonas Áridas y Semiáridas de México*. México, D.F. 30 p.
- CONANP- Comisión de Áreas Naturales Protegidas. 2003. Programa de manejo Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán. Dirección General de Manejo para la Conservación, D. F., México, 202 p.
- Cordero, S. R. y J. F. Di-Stefano. 1991. Efecto de estrés osmótico sobre la germinación de semilla de *Tecota stans* (Bignoniaceae). *Review Biology Tropical* 39:107-110.
- D'Aubeterre, R., J. Principal y J. Gercia. 2002. Efecto de diferentes métodos de escarificación sobre la germinación de tres especies del genero *Prosopis*. *Revista Científica* 12:575-577.
- Debeaujon, I., K. M. León-Kloosterziel y M. Kornneef. 2000. Influence of the testa on seed dor-

- mancy, germination and longevity in Arabidopsis. *Plant Physiology* 122:403-413.
- De Villalobos, A. E., D. V. Peláez, R. M. Bóo, M. D. Mayor y O. R. Elias. 2002. Effect of high temperatures on seed germination of *Prosopis caldenia* Burk. *Journal of Arid Environments* 52:371-378.
- Dübbern de Souza, F. H., y J. Marcos-Filho. 2001. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Brazilian Journal of Botany* 24:365-375.
- Felker, P. 1981. Uses of tree legumes in semiarid regions. *Economic Botany* 35:174-186.
- Fenner, M. y K. Thompson. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press. USA. 263 p.
- Ffolliot, P. F. y J. L. Thames. 1983. Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de *Prosopis* en América Latina. FAO, Roma, Italia 125 p.
- Garwood, N. C. 1986. Effects of acid and hot water pretreatments and seeds burial on the germination of tropical moist forest seeds. *Turrialba* 36:479-484.
- Gold, K., P. León-Lobos y M. Way. 2004. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 65 p.
- Gómez, L. F., J. P. Signoret, M. M. Abuin. 1970. Mezquites y huizaches, algunos aspectos de la economía, ecología y taxonomía de los géneros *Prosopis* y *Acacia* en México. Instituto Mexicano de los Recursos Naturales Renovables, A. C. México 192 p.
- Kolotelo, D., E. Van Steenis, M. Peterson, R. Bennett, D. Trotter y J. Dennis. 2001. *Seed handling Guidebook*. BC Ministry of Forests Tree Improvement Branch publication. 106 p.
- Koornneef, M., L. Bentsink y H. Hilhorst. 2002. Seed dormancy and germination. *Plant Biology* 5:33-36.
- Martínez, L. M. 1994. El mezquite (*Prosopis laevigata*): Evaluación experimental de método de producción de plántula en vivero. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 78 p.
- Mohamed-Yasseen, Y., S. A. Barringer, W. E. Splittstoesser y S. Costanza. 1994. The role of seed coats in seed viability. *The Botanical Review* 60:227-245.
- Parretti, A. 1994. Manual para el análisis de semillas. Instituto de Tecnología Agropecuaria. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. 125 p.
- Peluc, S., M. Ruiz y C. Parera. 2000. Efecto de tratamientos osmóticos de presiembra en *Prosopis argentina* Burkart. III Reunión Nacional de la Asociación Argentina de *Prosopis*. Mendoza. Argentina pp. 78-86.
- Pennington, T. D. y S. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Universidad Nacional Autónoma de México - Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 527 p.
- Prokopiuk, D. B. y C. Chifa. 2000. Comparación de tratamientos pregerminativos en semillas de algarrobo blanco (*Prosopis alba* Griseb). Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Nacional del Noreste. Argentina pp. 1-4.
- Raven, P. H., R. F. Everts y S. E. Eichhron. 1999. *Biology of plants*. W. H. Freeman and company Worth Publishers, Nueva York, EUA. 944 p.
- Ríos-Gómez, R., C. E. Salas-García, A. Monroy-Ata, E. Solano. 2010. Salinity effect on *Prosopis laevigata* seedlings. *Terra Latinoamericana* 28:99-107.
- Rivas, M. G., C. G. Gonzáles, C. C. Valencia, C. I. Sánchez y D. J. Villanueva. 2005. Morfología y escarificación de la semilla de mezquite, huizache y ahuehuete. *Tecnología Pecuaria en México* 43:441-448.
- Rzedowski, J. 1988. Análisis de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae) en Norteamérica. *Acta Botánica Mexicana* 3:7-19.
- Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª. Ed., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán 1406 p.
- Sánchez, J. A., B. Muñoz, R. Orta, E. Calvo y R. Herrera. 1997. Correlación entre el heteromorfismo somático y la respuesta germinativa de semillas de *Mastichodendron foetidissimum* (Jacq.) Cronq. *Acta Botánica Mexicana* 38:1-7.
- Sosa, L., A. Llanes, H. Reinoso, M. Reginato y V. Luna. 2005. Osmotic and specific ion effects on the germination of *Prosopis strombulifera*. *Annals of Botany* 96:261-267.
- South, D. B., J. N. Boyer y L. Bosh. 1985. Survival and growth of loblolly pine as influenced by seedlings grade: 13 years results. *Southern Journal of Applied Forestry* 9:76-81.

- The Seed Biology Place. 2007. Website- Gerhard Leubner Lab; University Freiburg, Germany. Página en red: <http://www.seedbiology.de> ; (consultada 23 de febrero 2008).
- Thomas, P. 2000. *Trees: Their natural history*. Cambridge University Press. United Kingdom. 296 p.
- Torres, N. S., O. A. J. Martínez, E. García-Aguilera y J. T. Farias-Hernández. 2000. Escarificación hídrica de semillas de mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. Ex. Wild) McJohnst. En Farias-Hernández, J. T., V. O. Portugal y J. V. Carter (editores). *El mezquite: Árbol de usos múltiples, estado actual del conocimiento en México*. Universidad de Guanajuato - Universidad Nacional Autónoma de México, México pp. 125-131.
- Vilela, A. E. y D. Ravetta. 2001. The effect of seeds scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). *Journal of Arid Environments* 48:171-184.
- Willian, R. L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia 502 p.
- Willis, K. J. y J. C. McElwain. 2002. *The evolution of plants*. Oxford University Press. N. Y. EUA. 392 p.