



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Germinación de seis especies del género *Bursera* de la
Selva Baja Caducifolia del noroeste de Morelos, México.**

Reporte de Investigación

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

MARÍA ISABEL CAJERO LÁZARO



**DIRECTOR:
Dra. MARÍA DEL CONSUELO BONFIL SANDERS
2009**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Cajero

Lázaro

María Isabel

57 10 49 44

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

095012050

2. Datos del tutor

Dra

María del Consuelo

Bonfil

Sanders

3. Datos del sinodal 1

Dra

Margarita

Collazo

Ortega

4. Datos del sinodal 2

Dra

Alicia Enriqueta

Brechú

Franco

5. Datos del sinodal 3

Dra

Mariana

Hernández

Apolinar

6. Datos del sinodal 4

M en C

María Esther

Sánchez

Coronado

7. Datos del trabajo escrito

Germinación de seis especies del género *Bursera* de la Selva Baja Caducifolia del noroeste de Morelos, México.

55 p

2009

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM por el apoyo a través del proyecto PAPIT-UNAM IN231802-411.01

Al Proyecto Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano SDEI-PTID-02 por el apoyo para la realización de este trabajo

A las sinodales por ayudarme a esclarecer y ordenar las ideas

A mi asesora por la paciencia y el esfuerzo que me dedicó

A los docentes de la Facultad de Ciencias, por dedicar su tiempo a compartir su conocimiento

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme crecer en sus aulas y áreas verdes

A mi familia

A mis amigos

A mis queridísimas hijas e hijos

y por supuesto...

A la Naturaleza !!

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
Objetivos	6
MARCO TEÓRICO	7
Reproducción de angiospermas	7
La germinación de las semillas	8
Latencia	10
MÉTODOS	17
Sitio de estudio	17
Las especies de estudio	17
<i>Bursera bicolor</i>	19
<i>Bursera bipinnata</i>	19
<i>Bursera copallifera</i>	20
<i>Bursera fagaroides</i>	20
<i>Bursera glabrifolia</i>	21
<i>Bursera grandifolia</i>	21
Colecta de semillas	22
Germinación en condiciones controladas	22
Contaminación fúngica	23
Evaluación de la imbibición en dos especies	23
Prueba de presencia / ausencia de embrión	24
Germinación en condiciones naturales	24
Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio	25
Análisis de datos	26

RESULTADOS	28
Germinación de semillas en condiciones controladas	28
Contaminación fúngica	30
Evaluación de la imbibición en dos especies	31
Prueba de presencia / ausencia de embrión	32
Germinación en condiciones naturales	32
Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio	34
DISCUSIÓN	41
Germinación de semillas en condiciones controladas	41
Germinación en condiciones naturales	43
Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio	44
CONCLUSIONES	46
LITERATURA CITADA	47
ANEXO	55

RESUMEN

A pesar de que la tasa de deforestación de los bosques tropicales secos en México es alta, muy pocas especies nativas se propagan en viveros locales, lo que limita su restauración. Muchas especies de *Bursera* son elementos dominantes de estos bosques, pero su propagación es difícil por la germinación reducida de las semillas. En este trabajo se evalúa la germinación de semillas de seis especies de *Bursera* (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. fagaroides*, *B. glabrifolia* y *B. grandifolia*) del noroeste de Morelos, México. En un primer ensayo se encontró una alta proporción de semillas vanas en *B. bipinnata*, *B. fagaroides* y *B. grandifolia*. La germinación fue mayor con temperatura fluctuante que con temperatura constante. La germinación de semillas almacenadas de estas tres especies durante seis meses a temperatura ambiente y en refrigeración (5°C) no difirió significativamente y fue del 30 al 60% en *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*. Una solución de 6-benzilaminopurina (150 ppm) aumentó la germinación de una de las tres especies (*B. copallifera*). En campo, las semillas de *B. bicolor* y *B. copallifera* presentaron porcentajes de germinación similares a los registrados a temperatura fluctuante.

ABSTRACT

Although the deforestation rate of the dry tropical forests in México is high, very few native species are propagated in local nurseries, which limits their restoration. Many *Bursera* species are dominant elements of these forests, but their propagation is difficult because of the reduced germination of their seeds. In this work an evaluation is made of seed germination of six species of *Bursera* (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. fagaroides*, *B. glabrifolia* and *B. grandifolia*) of the northwestern region of Morelos, México. In a first assay, a high proportion of empty seeds was found in *B. bipinnata*, *B. fagaroides* and *B. grandifolia*. Germination was higher with fluctuating temperature rather than with constant temperature. The germination of stored seeds of these three species during six months at room temperature and in refrigeration (5°C) did not differ significantly and was from 30 to 60% in *B. bicolor*, *B. copallifera* and *B. glabrifolia*. A solution of benzyladenine (150 ppm) increased germination of one of the three species (*B. copallifera*). In the field, the seeds of *B. bicolor* and *B. copallifera* presented germination percentages similar to those registered at fluctuating temperature.

INTRODUCCIÓN

La selva baja caducifolia (Miranda y Hernández-X, 1963; Medrano, 2004) o bosque tropical caducifolio (Rzedowski, 1978) es un tipo de vegetación tropical que se caracteriza por tener un dosel relativamente bajo (altura promedio entre 7 y 12 m) y porque la gran mayoría de las especies que lo constituyen pierden las hojas durante la temporada seca (Rzedowski, 1981; Trejo, 1999). Los árboles presentan a menudo ramificación basal y tienen copas extendidas, de formas convexas a planas, cuyo ancho puede ser igual o mayor a su altura. Las cortezas son de distintos colores y texturas; las brillantes y exfoliativas son comunes. La altura del estrato arbustivo varía de 3 a 6 m, y es denso donde el dosel no lo es (Rzedowski, 1981). Por su parte, el estrato herbáceo es poco conspicuo, está constituido en su mayor parte por plantas anuales (Challenger, 1998). Las cactáceas columnares y candelabrifformes suelen ser parte importante de la fisonomía de esta vegetación. Las familias más representadas, por su número de especies, son: Leguminosae, Euphorbiaceae, Cactaceae, Compositae y Burseraceae (Trejo, 1998).

Este tipo de vegetación se desarrolla entre 0 y 1900 msnm (Rzedowski, 1981), y se presenta en climas cuya temperatura media anual va de 18 a 28°C (Cervantes *et al.*, 2001), y con una precipitación anual muy variable, de entre 300 y 1800 mm (Rzedowski, 1981), aunque más comúnmente entre 700 y 1200 mm (Trejo, 1999). La precipitación se concentra en un período lluvioso y el periodo seco, de entre seis y ocho meses, es muy definido. Los principales tipos climáticos en que se presenta son cálido subhúmedo, con diferentes grados de humedad (Aw_0 , Aw_1 y Aw_2), semicálido subhúmedo ($A(C)w_0$ y $(A)Cw_0$) y semiárido (BS_1 y BS_1h') (Rzedowski, 1981; Trejo, 1998; 1999). Sin embargo, el clima más típico es el cálido subhúmedo (el más seco de los subhúmedos) con régimen de lluvias en verano y con oscilación térmica anual extremosa ($Aw_0(w)(e)$) (Trejo, 1999).

La selva baja caducifolia (SBC) es el tipo de vegetación tropical con mayor extensión en México; su distribución abarca gran parte de la vertiente del Pacífico (desde el sur de Sonora hasta Chiapas, con interrupciones en las porciones más húmedas de Nayarit y Oaxaca (Trejo, 2005), la cuenca del río Balsas, parte del Valle de Tehuacán – Cuicatlán, el Bajío, el Altiplano Central, el Istmo de Tehuantepec y Baja California Sur (Rzedowski, 1981; Cervantes *et al.*, 2001). Generalmente se encuentra sobre laderas con pendientes de moderadas a fuertes, y se asienta sobre una amplia variedad de

formaciones geológicas y litológicas, dando lugar a suelos muy someros y/o poco desarrollados con frecuentes afloramientos de rocas (Trejo, 1996; 1999; 2005). Los suelos generalmente se caracterizan por tener texturas migajón arcillosas y arcillo arenosas, un pH neutro, un contenido de materia orgánica y un porcentaje de saturación de bases de moderado a alto, así como con una alta capacidad de intercambio catiónico (CIC). Entre los varios tipos de suelos sobre los que se asienta la SBC se incluyen los siguientes: Regosol, Leptosol, Feozem, Cambisol, Rendzina, Vertisol y Luvisol (Trejo, 1998).

Alrededor del 60% de las especies que constituyen la SBC se encuentran solamente en México, y en este tipo de vegetación se encuentra el 20% del total de especies de la flora mexicana (Rzedowski, 1991). Por ello, se considera que las selvas bajas tienen una alta diversidad (Trejo y Dirzo, 2000); en particular presentan una alta tasa de recambio de especies (diversidad β ; Trejo, 2005), lo que tiene consecuencias importantes para su conservación. Tiene además una gran importancia etnobotánica, siendo además un reservorio importante de carbono vegetal (Trejo y Dirzo, 2000).

La extensión cubierta por la SBC corresponde al 60% del total ocupado por comunidades vegetales tropicales de México (Trejo y Dirzo 2000). Se ha estimado que abarca entre el 5.9% y el 8.2% de la superficie del país (SFFS, 1994; Trejo, 1999), pero un estudio más reciente reportó que sólo en el 7.5% se presenta este tipo de vegetación, aunque en muchas áreas boscosas no se mantiene la composición florística y la diversidad original de los bosques (Trejo 2005).

Se ha estimado que a nivel mundial la tasa de deforestación de los bosques tropicales secos es muy similar a la de las selvas húmedas (Trejo, 2005). En México, la selva baja (al igual que el resto de los bosques tropicales) presenta severos problemas de pérdida de superficie, cuya causa principal es el cambio de uso de suelo debido a la ampliación de la frontera agropecuaria y los asentamientos humanos. El deterioro de los bosques remanentes se debe sobre todo a la ganadería libre y a la extracción inmoderada de leña y otros productos. En el estado de Morelos se ha estimado que de los 2, 843 Km² que presentaban este tipo de vegetación en 1973 (57.3% de la superficie forestal estatal), en 1989 sólo permanecían 1, 095 Km² (22.1%), lo que implica que la tasa anual de deforestación en ese periodo fue de 1.4%, equivalente a una pérdida anual de 17.9 Km² (Trejo, 1999; Trejo y Dirzo, 2000). De mantenerse dicha tasa de deforestación, se corre el

riesgo de perder no sólo las especies constitutivas de este tipo de vegetación y alterar su diversidad (β), sino perder los múltiples servicios ecosistémicos que brindan estos bosques.

A pesar de su importancia, la SBC es uno de los tipos de vegetación menos conocido de nuestro país y se encuentra escasamente protegido, ya que hasta hace pocos años solamente el 0.06% de la superficie total del territorio nacional contaba con áreas protegidas con selvas bajas caducifolias (150, 000 ha; Ordóñez y Flores, 1995). Recientemente se decretó una nueva área natural protegida en el estado de Michoacán, la reserva de la biosfera Zicuirán-Infiernillo, con ~265, 000 ha, 85% de las cuales corresponden a selva baja, con lo que esta cifra se ha incrementado.

Debido al grado de deterioro que presentan muchas SBC de México, grandes áreas cubiertas por este tipo de vegetación se han convertido en zonas degradadas o bosques con distintos niveles de perturbación, por lo que resulta imperativo emprender programas de restauración ecológica, con la finalidad de detener la progresiva pérdida de especies y recuperar los servicios ecosistémicos en las zonas degradadas. Sin embargo, para lograr su restauración es necesario incrementar el conocimiento biológico y ecológico de las principales especies que conforman estas comunidades vegetales, en las que dominan los géneros *Acacia*, *Lysiloma*, *Leucaena*, *Mimosa*, *Eysenhardtia*, *Conzattia*, *Diphysa*, *Havardia*, *Piscidia*, *Pithecellobium*, *Prosopis*, *Euphorbia*, *Sapium*, *Lemaireocereus*, *Neobuxbamia*, *Pachycereus*, *Cephalocereus*, *Agave*, *Pseudosmodingium*, *Amphipterygium*, *Cyrtocarpa*, *Plumeria*, *Hauya*, *Ipomea*, *Guazuma*, *Ceiba* y *Bursera* (Rzedowski, J. 1978; Cervantes *et al.* 2001).

De este modo, se emprendió el presente estudio que busca ampliar el conocimiento sobre la propagación de algunas especies del género *Bursera* a partir de semillas. El tema cobra especial relevancia debido a que no existen trabajos previos publicados sobre la germinación de semillas de *Bursera*, y sólo se dispone de datos dispersos sobre la germinación de unas cuantas especies. Recientemente se han realizado algunos estudios de propagación de varias especies del género a partir de estacas (Bonfil *et al.*, 2007; Castellanos, 2009).

Los trabajos que incluyen resultados relacionados con la germinación de algunas especies de *Bursera* son escasos y se enfocan en un número limitado de especies, sobre todo en aquellas de mayor interés y explotación debido a su uso artesanal (como *B. glabrifolia*); además, se encuentran dispersos o abordan sólo parcialmente la germinación, por estar orientados a otros fines (Ray y Brown, 1994, 1995; Andrés-Hernández y Espinosa-Organista, 2002; Montes, 2006; Hernández-Apolinar *et al.*, 2006). Sólo un trabajo, poco conocido, explora la respuesta de una especie (*B. penicillata*) a diferentes tratamientos pre-germinativos (Nargaraja y Farooqi, 1989). En ellos se muestran diferencias notables con respecto a los porcentajes de germinación obtenidos en las diferentes especies, pero en general coinciden en que es frecuente encontrar un bajo porcentaje de germinación.

De lo anterior se desprende la necesidad de ampliar el conocimiento sobre los requerimientos ambientales y fisiológicos de las semillas de diferentes especies del género *Bursera* para su germinación. Esto permitirá ampliar el acervo de especies disponibles para programas de reforestación y restauración de selvas bajas caducifolias en muchas regiones del país.

En particular, el presente estudio tiene como finalidad analizar la respuesta germinativa de seis especies del género *Bursera* (comunes en el norponiente del estado de Morelos) bajo diferentes tratamientos. Este trabajo se inscribe en un programa de investigación más amplio, cuyo objetivo es la restauración ecológica de terrenos perturbados, antes cubiertos por selva baja caducifolia, en el norponiente de Morelos (Bonfil *et al.*, 2004; García 2008). Dicho proyecto pretende, entre otros objetivos, reintroducir varias especies de *Bursera*, ya que son elementos característicos de los parches de vegetación remanentes bien conservados o de estados sucesionales avanzados. Por ello, este trabajo pretende ser una contribución importante al conocimiento sobre la propagación de dichas especies y a la restauración de las selvas bajas de Morelos y de otros estados del país, en los cuales se presenten las especies de estudio.

OBJETIVOS

General

- Conocer la respuesta germinativa de seis especies del género *Bursera* (*Bursera bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. fagaroides*, *B. glabrifolia* y *B. grandifolia*) en condiciones controladas y en condiciones naturales, con la finalidad de aportar elementos para su reintroducción en sitios perturbados de la selva baja caducifolia del norponiente del estado de Morelos.

Particulares

- Evaluar, bajo condiciones controladas, el efecto de dos temperaturas y dos tratamientos pre-germinativos en la germinación de semillas recién colectadas.
- Comparar, en condiciones controladas, la germinación de semillas de tres especies almacenadas durante 170 días a temperatura ambiente y en refrigeración (5°C), y sometidas a dos tratamientos pre-germinativos.
- Evaluar y comparar la germinación de semillas de tres especies en condiciones de campo, sembrándolas en dos sitios: SBC conservada y SBC perturbada.
- Evaluar el efecto del de la bacteria *Azospirillum brasilense* en la germinación en campo.

MARCO TEÓRICO

La reproducción es una característica fundamental de todos los seres vivos, por la que se asegura la subsistencia de las especies. En las plantas la reproducción puede ser de dos tipos: asexual y sexual. En la primera, ciertas partes o estructuras (propágulos vegetativos) que se desprenden de la planta original pueden generar subsecuentemente una nueva planta, manteniéndose con vida la planta de origen; mientras que en la segunda se produce un nuevo individuo por la fusión del gameto masculino con el femenino. A diferencia de la reproducción asexual, en este tipo de reproducción el nuevo individuo es genéticamente diferente a su antecesor debido al entrecruzamiento del material genético los gametos (Bold, 1961; Cronquist, 1971; Don, 2006).

Reproducción en angiospermas

En las angiospermas, la reproducción sexual comienza con la maduración del microgametofito y del megagametofito (saco embrionario) a través de una serie de divisiones meióticas y mitóticas. Una vez maduros, el microgametofito se compone de la célula del tubo polínico y de dos gametos masculinos (derivadas de la célula generativa) y el megagametofito esta compuesto de dos células sinérgicas al lado de la célula huevo (cerca del micrópilo), de la célula central (con dos núcleos polares) y las tres células antípodas hacia la región de Chalaza (Bold, 1961, Cronquist, 1971; Raven *et al.*, 1999). Durante la polinización, los dos gametos masculinos son transportados a través del tubo polínico hasta saco embrionario, donde uno de ellos se une a la célula central formando el núcleo endospermico primario ($3n$) y el otro gameto masculino se une a la célula huevo dando origen la cigoto ($2n$). En el desarrollo posterior, el núcleo endospermico primario se convertirá en el endospermo y el cigoto se desarrollará en el futuro embrión, y las otras estructuras que rodean al óvulo ya fertilizado como los integumentos, darán origen a las cubiertas seminales, y la pared del ovario al fruto o pericarpo (exocarpo, mesocarpo y endocarpo) (Cronquist, 1971; Raven *et al.*, 1999).

Todo este proceso que lleva a la formación de semillas, juega un papel importante en mantener la variación genética de las especies, al permitir la recombinación y ser un medio de dispersión, así como ser un mecanismo de multiplicación y de supervivencia

(Bradbeer, 1988; Raven *et al.*, 1999). En el caso del género *Bursera*, se sabe poco sobre la floración y desarrollo de frutos (Ramos-Ordoñez *et al.*, 2008) así como sobre los diversos aspectos relacionados con la germinación de las semillas.

La germinación de las semillas

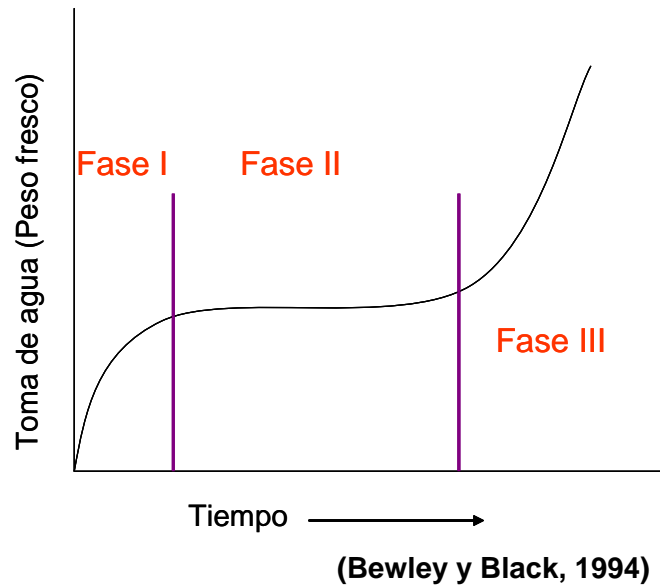
La germinación se define como el proceso que comienza con la imbibición de agua por la semilla –que dispara una secuencia de eventos moleculares y celulares que hacen visible el crecimiento del embrión (Bradbeer, 1988)– y que culmina con la salida del eje embrionario, usualmente la radícula (Baskin y Baskin, 1998). Se registra como germinación la emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales, como el tegmen y la testa (Besnier, 1988).

La germinación es un proceso en donde se llevan a cabo una serie de eventos que comienzan con la toma de agua por el embrión desecado. Dicha toma de agua depende del potencial hídrico (Ψ) del ambiente y de la semilla, donde habrá un flujo de agua por difusión de la zona más húmeda a la menos húmeda (Bewley y Black, 1994). En condiciones óptimas, la toma de agua por la semilla es trifásica (Bewley y Black, 1994; Don, 2006):

Fase I o imbibición. Debido a la diferencia en los potenciales hídricos de la semilla y el ambiente, la semilla toma agua de éste, ya sea latente o no, viable o no, pero lo hace de modo diferencial, pues mientras el embrión se embebe rápidamente, la testa de la semilla lo hace más lentamente, de modo que inicialmente existen zonas húmedas de la semilla mientras que otras permanecen secas. Lo que ocasiona que la semilla se hinche continuamente hasta que la humedad alcance los tejidos secos. Esta situación permite la activación de metabolismo y aumenta la presión interna de la semilla. Una vez que la toma de agua se mantiene constante se inicia la segunda fase.

Fase II o Lag. En ella, la toma de agua ya no juega el papel preponderante, y el potencial hídrico de la semilla está casi en balance entre el potencial osmótico y el componente mátrico. Durante esta fase se llevan a cabo los eventos metabólicos que preparan la emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales. Las semillas latentes son metabólicamente activas en esta fase.

Fase III o fase de elongación. En ella el potencial osmótico disminuye por la hidrólisis de las sustancias de reserva, lo que hace que entre más agua por difusión.



Los eventos metabólicos que se registran en las tres fases II y III son:

- Desaminación de aminoácidos
- Utilización de los aminoácidos en la glicólisis
- Oxidación de los nucleótidos de pirimidina para formar ATP
- Asimilación de los aminoácidos para la elongación celular. Este paso es inducido por las auxinas.
- Hidrólisis de los polímeros de los tejidos nutritivos por inducción de las giberelinas.
- Traslocación de los monómeros de los tejidos nutritivos al eje embrionario. A partir de este punto la respiración comienza a ser aerobia en lugar de seguir como anaerobia.
- Aumenta la actividad del ciclo de Krebs
- Incrementa la transcripción del ADN en el embrión
- Se sintetizan nuevas proteínas en el embrión
- Se replica el ADN y hay división celular en el embrión por inducción de las citocininas
- Incrementa la respiración y la síntesis de proteínas en el embrión y finalmente se inicia el crecimiento visible de la radícula (Camacho, 1987).

Una vez que la radícula ha emergido, la posición de la semilla puede variar dependiendo de si la germinación es hipógea o epígea. En la primera hay un rápido desarrollo y elongación de la plúmula y los cotiledones permanecen bajo la superficie del suelo adheridos a la plántula (hasta agotar las sustancias de reserva), y en la germinación epigea, el hipocótilo se elonga rápidamente (en forma de arco) hasta que su crecimiento saca del suelo a los cotiledones, quienes comúnmente portan aún la testa, que después de algunos días se desprende y los deja ver ya convertidos en hojas cotiledonares (que son fotosintéticas). (Patiño *et al.*, 1983; Baskin y Baskin, 1998; Smith *et al.*, 2002). El tipo de germinación suele ser constante en cada género (Patiño *et al.*, 1983), y tiene relación con la cantidad de sustancias de reserva almacenadas en los cotiledones, pues en las semillas no-endospermicas de germinación hipógea los cotiledones tienen una mayor cantidad de sustancias de reserva en comparación con las semillas no-endospermicas de germinación epigea (Bewley y Black, 1994). Esta diferencia en la cantidad de sustancias de reserva y en el uso de hojas cotiledonares como fuente de energía es importante en el desarrollo y supervivencia del embrión y la plántula (Hartman, 1997), en condiciones ambientales adversas.

Latencia

Como ya se mencionó, la germinación de una semilla depende de una serie de factores intrínsecos y extrínsecos, tales como la disponibilidad de agua, de oxígeno, y la ausencia de sustancias inhibitoras de la germinación, asimismo la temperatura, la cantidad y la calidad de luz que recibe la semilla deben ser adecuadas (Ramírez, 2003).

En muchos casos, aún estando presentes estas condiciones, la semilla no logra germinar. Se dice entonces que se trata de una semilla latente (Bewley y Black, 1994), un estado diferente al de una semilla que se encuentra en un estado de reposo metabólico debido a condiciones ambientales adversas (que se rompe con la entrada del agua), a la cual se denomina quiescente (Bewley y Black, 1994; Vázquez-Yañez *et al.*, 1997).

La latencia se ha definido como un periodo de interrupción en el desarrollo que implica una disminución en el metabolismo debido a un bloqueo químico, metabólico o estructural que impide la germinación aún cuando las condiciones ambientales presentes sean favorables (Bewley y Black, 1994; Vleeshouwers *et al.*, 1995; Vázquez-Yañez *et al.*,

1997). Han surgido distintas clasificaciones de latencia, siendo las siguientes las más utilizadas:

- Harper (1977) describió la latencia dependiendo de su origen:
 - a) Latencia innata o primaria: en este caso es una condición inherente al embrión, asociada con su falta de madurez.
 - b) Latencia inducida o secundaria: se presenta en una semilla madura que después de desprenderse de la planta adquiere una condición latente por la presencia de un factor desfavorable para la germinación, después de lo cual, aunque dicho factor sea eliminado, permanece sin germinar.
 - c) Latencia impuesta o forzada: es regulada por condiciones ambientales tales como la luz, la temperatura y la humedad que impiden la germinación, pero una vez eliminadas sus formas limitantes, la semilla puede germinar.

Sin embargo, de acuerdo con las definiciones anteriores, el tercer caso no corresponde a una latencia verdadera, ya que describe la situación en que una semilla se encuentra quiescente.

- Bewley y Black (1994) distinguen dos tipos básicos de latencia, relacionada con propiedades intrínsecas de la semilla:
 - 1) Latencia embrionaria. Está dada por un bloqueo profundo en la germinación de la semilla, que involucra inhibidores químicos producidos en los cotiledones o el eje embrionario. Una vez que éstos son removidos, se lleva a cabo la germinación.
 - 2) Latencia impuesta por los tegumentos de la semilla. En ella los tejidos que envuelven al embrión (testa, endospermo, pericarpio u órgano extrafloral) impiden la germinación, ya sea por que interfieren con la entrada del agua o el intercambio de gases, por ofrecer una resistencia mecánica, impedir la salida de inhibidores o ser una fuente de suministro de éstos.

- Baskin y Baskin (2004) elaboraron una nueva clasificación -basada en la permeabilidad al agua, la morfología del embrión y en las respuestas fisiológicas de las semillas a la temperatura o a los gradientes de temperatura- que pretende unificar los conceptos anteriores (sin incluir a aquellas semillas con un embrión no diferenciado) y que divide al proceso de latencia en cinco tipos:

- 1) Latencia fisiológica (PD, por sus siglas en inglés: physiological dormancy): En ella las semillas reaccionan a diferentes factores, tales como la temperatura (o sus gradientes), a la presencia de determinado tipo de luz (a través de sus fitocromos Pfr o Pr) y a las hormonas reguladoras del crecimiento.
- 2) Latencia morfológica (MD, morphological dormancy): Las semillas presentan un embrión poco desarrollado (pequeño, para el tamaño promedio de la especie) e indiferenciado, y lo único que generalmente necesitan es tiempo para completar el desarrollo del embrión.
- 3) Latencia morfofisiológica (MPD, morphophysiological dormancy): Las diásporas presentan tanto un bajo desarrollo y diferenciación del embrión así como latencia fisiológica, por lo que suele tomar un periodo de tiempo mayor para finalizar en comparación con las otras.
- 4) Latencia física (PY, physical dormancy): En ella, la restricción al acceso del agua hacia el embrión es la principal limitante del proceso de germinación, y depende en gran medida del origen del parénquima de empalizada que forma las capas impermeables que rodean al embrión.
- 5) Latencia combinada (PY + PD): Aquí se considera solamente el caso de la latencia física en conjunción con la fisiológica en su nivel no profundo; en ella las cubiertas de las semillas o fruto son impermeables y el embrión se encuentra en un estado fisiológicamente latente.

En la clasificación de Baskin y Baskin, se encontró por medio de un análisis filogenético, que tanto la latencia morfológica (MD) como la morfofisiológica (MPD) son

basales en las angiospermas, y que la latencia fisiológica (PD), la física (PY) y la combinada (PY + PD) se derivaron posteriormente, siendo las dos últimas las de distribución más restringida entre las angiospermas, y se encuentran ausentes en las gimnospermas. Consideran también a la latencia fisiológica la más avanzada evolutivamente, y se presenta en clados cercanos filogenéticamente entre las angiospermas.

Desde que se inició el estudio de la latencia se ha considerado que representa un mecanismo de optimización en la distribución de la germinación a lo largo del tiempo y del espacio, por lo que juega un papel ecológico importante al evitar que las semillas germinen rápidamente bajo condiciones que no son favorables para el establecimiento de las plántulas (Bradbeer, 1988). En el caso de las semillas de especies arbóreas tropicales, la latencia evita la germinación inmediatamente después de su maduración y dispersión, que generalmente se produce durante la temporada seca y cálida, hasta la llegada de la temporada de lluvias (Smith *et al.*, 2002).

Algunos autores relacionan los tipos de latencia con tratamientos para eliminarla, por ejemplo, para la latencia fisiológica (causada por un bajo potencial del crecimiento del embrión, quien no puede sobreponerse a la fuerza de constricción mecánica de las cubiertas seminales) se sugiere el uso de la escarificación mecánica, ciclos de remojo / secado, estratificación fría, estratificación cálida, o su combinación, congelamiento y hormonas vegetales. En el caso de la latencia morfológica se recomienda el almacenamiento en seco a temperatura ambiente, estratificación cálida y hormonas vegetales. Por otro lado, para la latencia morfofisiológica se indican la estratificación fría o cálida prolongada (2 a 4 meses) y las hormonas vegetales. Para eliminar la latencia física son necesarios los métodos que permitan el acceso del agua al interior de la semilla como la escarificación mecánica o ácida, los ciclos de remojo / secado, inmersiones en agua caliente o solventes orgánicos, calentamiento en seco, percusión y fermentación, y para la latencia combinada (física + fisiológica) se usan los tratamientos de cada una de estas latencias de modo combinado.

Los diferentes tratamientos que promueven la germinación en semillas de difícil germinación pueden agruparse en:

- a) Tratamientos húmedos: remojos, inmersiones y lavados. Pueden hacerse con agua, solventes orgánicos (acetona, metanol, etanol, manitol, glicol, xileno, nitrato de potasio, nitrato de amonio, nitritos, fosfato de potasio, peróxido de hidrógeno, éter, dióxido dietílico y cloroformo) o componentes sulfhídricos (tiourea), hormonas vegetales (giberelinas, citocininas, etileno, y auxinas) y con ácidos (clorhídrico, sulfúrico y nítrico).
 - b) Tratamientos mecánicos: escarificación manual (lija, abrasivos, aguja, escalpelo, navaja y máquinas mezcladoras con arena o forradas con abrasivos en su interior)
 - c) Tratamientos con variaciones de temperatura: Temperatura baja desde -180°C a menos de 10°C (gases líquidos, refrigeradores y congeladores) Temperatura alta desde 15 hasta 100°C (agua caliente, horno, en sustratos con actividad microbiana, almácigos bajo el sol cubiertos con plástico)
 - d) Tratamiento de almacenamiento en seco, con buena ventilación.
 - e) Tratamientos dependientes de radiación lumínica: Variaciones en la frecuencia de onda de la luz.
 - f) Tratamientos de actividad microbiótica: fermentación.
- Y la combinación de ellos. (Camacho, 1987; Rodríguez y Álvarez, 1992; Hartman, 1997; Don, 2006 y Desai *et al.*, 1997).

Además de los tratamientos anteriores, existe también el uso de rizobacterias bacterias relacionadas con la promoción de la germinación de un modo indirecto (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000; Chauhan *et al.*, 2009). El género *Azospirillum* (α -subclase de proteobacteria) demostró tener efectos benéficos en el crecimiento de las plantas y las cinco especies descritas fueron aisladas de la rizosfera de pastos presentes en climas tropicales y templados (Sadasivan y Neyra, 1985) pues suelen colonizar la superficie de las raíces. Las bacterias de este género son Gram negativas y son fijadoras de nitrógeno (sólo en condiciones microaeróbicas pobres en nitrógeno) de vida libre. Como fuentes de nitrógeno usan el amonio, los nitratos, nitritos, aminoácidos y el nitrógeno molecular presentes en el suelo. En ellas se han descubierto ya 16 genes relacionados con la fijación, asimilación y regulación de nitrógeno (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000). Pueden resistir condiciones de sequía y de bajos nutrientes en el medio, alargando su forma, cubriéndose de una capa externa de polisacáridos y

acumulando gránulos de poli- β -hidroxibutirato que les sirven como fuente de energía (Sadasivan y Neyra, 1985).

Estas bacterias son altamente móviles pues desarrollan un flagelo polar en medios acuosos o flagelos laterales en medios sólidos, por lo que la humedad en el medio es la principal limitante de su movimiento. Presentan quimiotaxis positiva hacia los ácidos orgánicos, azúcares, aminoácidos, compuestos aromáticos, exudados de las raíces y hacia las concentraciones óptimas de oxígeno (aerotaxis) (Sadasivan y Neyra, 1985; Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

La promoción del crecimiento vegetal por la inoculación de *Azospirillum* se puede explicar no sólo por el aporte de nitrógeno a la planta, sino también por la producción de sustancias reguladoras del crecimiento generadas por estas bacterias. Tres de esas sustancias han sido detectadas en el sobrenadante de los cultivos de *Azospirillum*: auxinas, citocininas y gibelerinas, de las cuales la auxina ácido-3-indolacético resulta la más notoria. En *Azospirillum brasilense* se reconocen al menos dos vías de síntesis del ácido indolacético, ambas, dependientes de la presencia del aminoácido triptófano (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000). A dicha auxina se le relaciona también como facilitadora de la germinación, aunque su influencia en este aspecto sea menor a la de las giberelinas y citocininas (Chauhan *et al.*, 2009). Sin embargo, aunque *Azospirillum* produce ácido indolacético en cultivo, no se sabe con certeza que sucede en la rizósfera (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

Finalmente, el tiempo y la velocidad a la que se produce la germinación son los elementos más importantes que conforman el llamado patrón de germinación de una especie. La respuesta germinativa de las poblaciones de semillas puede variar en: a) su capacidad germinativa (proporción de semillas capaces de germinar en condiciones óptimas o en una condición determinada); b) distribución de la germinación en el tiempo (tasa de germinación, velocidad o forma de la curva); c) tiempo en el que germina la primera semilla; d) tiempo promedio de germinación para una muestra de semillas; e) uniformidad, simultaneidad o sincronía en la germinación (variabilidad alrededor del tiempo medio de germinación) (Bewley y Black, 1994). Estas variables pueden evaluarse a través de distintos métodos de tipo gráfico o analítico (índices, ajustes a funciones logísticas y de distribución normal; González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996) y

evaluarlas nos permite conocer el patrón de germinación de las semillas de diferentes especies, para poder planear la producción de plántulas a través de semillas en programas con diversos fines, entre los que se encuentra la reforestación.

MÉTODOS

Sitios de estudio

Aunque el presente trabajo fue en su mayoría realizado en la Facultad de Ciencias, UNAM; las especies con las que se trabajó son procedentes de los alrededores del poblado de Cuentepec, área que también fue utilizada en parte de este trabajo junto con la zona arqueológica de Xochicalco. Tanto el poblado de Cuentepec (18° 52' norte y 99° 19' oeste) como Xochicalco (18° 48' norte y 99° 16' oeste) pertenecen al municipio de Temixco, Estado de Morelos, y se encuentran dentro de la subcuenca hidrológica Río Coatlán, perteneciente a la región hidrológica del Río Balsas (INEGI, 1998; 2001).

Ambos sitios comparten una temperatura media anual de 22.9°C, 903 mm de precipitación total anual (INEGI, 1998) y un clima Aw₀ (Trejo, 1999). La altitud promedio de la región es de 1470 msnm, y los tipos de suelo presentes son Acrisol y Andosol húmico así como Feozem háplico, todos ellos compuestos por roca sedimentaria, principalmente conglomerados de arenisca, cuyo origen se sitúa en el periodo terciario del Cenozoico (Trejo, 1996; INEGI, 1998; 2001). La vegetación natural de la región es la Selva Baja Caducifolia (Trejo, 1996; 1999; INEGI, 1999), aunque puede verse un avanzado grado de deterioro en el cual los pastizales (derivados en su mayoría de la práctica extensiva de extracción de leña, uso agrícola y pastoreo) han ganado territorio (INEGI, 1998).

Las especies de estudio

La familia Burseraceae está formada por 18 géneros, ocho de ellos del continente Americano, de los cuales seis son endémicos (Cuatrecasas, 1957). El género *Bursera* (Jacq. ex L.) incluye alrededor de 100 especies, 80 de las cuales se encuentran en México (Rzedowski y Kruse, 1979; Daly, 1993; Rzedowski *et al.*, 2005). La mayor diversificación y concentración de especies se encuentra en la vertiente del Pacífico, especialmente en la depresión del Balsas, con 47 especies registradas (Toledo-Manzur, 1982; Guizar y Sánchez, 1991).

Las especies del género son árboles o arbustos caducifolios, dioicos o poligamodioicos, con canales resinosos aromáticos. Su corteza es lisa o áspera, exfoliante o no, de color rojizo o amarillento. Las hojas, alternas y compuestas, son imparipinadas o bipinnadas, trifoliadas o unifoliadas, glabras o pubescentes, con el margen del foliolo entero o aserrado, raquis con o sin alas y carecen de estípulas. Las inflorescencias son pequeñas, actinomorfas, axilares o terminales, paniculadas o fasciculadas, de color blanquecino, amarillo o rojizo en la madurez. Las flores femeninas o hermafroditas son trímeras o tetrámeras (a veces pentámeras), las masculinas son tetrámeras o pentámeras (a veces trímeras o hexámeras). El cáliz tiene de 3 a 5 sépalos libres o connados en la parte basal. Las flores masculinas tienen de 6 a 10 estambres libres, con anteras oblongas. El estilo es cilíndrico o cónico y el ovario es bilocular o trilocular, de placentación axial. Los frutos son drupáceos, dehiscentes, bivalvados o trivalvados, de una sola semilla, sin endospermo. La semilla está envuelta por un pseudoarilo carnoso y coloreado, que lo cubre totalmente o sólo en la parte inferior. El exocarpo y el mesocarpo son coriáceos. El embrión es recto o curvo y los cotiledones son foliáceos (Standley, 1923; Standley y Steyenmark, 1946; Woodson y Schery, 1970; Toledo-Manzur, 1982; Rzedowski y Guevera-Fefer, 1992; Rzedowski y Calderón, 1996; Daly, 1997).

El género se ha dividido en dos secciones, *Bullockia* y *Bursera*, con base en la morfología del fruto (número de valvas), las características de la corteza (lisa o exfoliante), la presencia o ausencia de catáfilos y la hibridación entre especies de la misma sección. Las especies de la sección *Bursera* o “cuajotes” poseen una nervadura cladódroma, hojas cotiledonares multilobadas y traqueoblastos. El ovario es trilocular, las flores trímeras, tetrámeras o pentámeras y la corteza exfoliante. Comprende alrededor de 42 especies, de las cuales en el presente trabajo se estudiaron *B. grandifolia* y *B. fagaroides*. (Rzedowski y Kruse, 1979; Guizar, 1991; Andrés, 2001)

Por su parte, las 40 especies de la sección *Bullockia* poseen un raquis ampliamente alado, así como catáfilos y un ovario bilocular con fruto bivalvado. Las semillas son del tipo lenticular y el pseudoarilo cubre menos de la mitad de éstas. A esta sección pertenecen las especies *B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*, incluidas en este estudio (Becerra y Venable, 1999; Rzedowski *et al.*, 2005).

Bursera bicolor

Árbol de cuatro metros de altura en promedio, que suele ramificar a baja altura. Es de corteza lisa, de color gris con exudados resinosos aromáticos. Tiene de 25 - 30 cm de diámetro, hojas de 14 - 36 cm incluyendo el peciolo, raquis alado, tiene entre 13 a 17 foliólos sésiles, lanceolados con base oblicuamente obtusa, ápice agudo o acuminado y margen aserrado. El haz es glabro y lustroso y el envés densamente pubescente y blanquecino. Presenta catáfilos triangulares rojos, verdes o cafés, inflorescencias paniculadas de 7 a 16 cm de largo, flores tetrámeras con lóbulos de cáliz lanceolados o triangulares, pétalos oblanceolados y pilosos de color rosa pálido. Los frutos son drupas bivalvadas ovoides, acuminadas. La semilla de 7 a 8 mm de largo es ovoide con un pseudarilo de color amarillo – naranja, que la cubre casi totalmente con excepción del ápice.

Se encuentra con frecuencia en lugares abiertos en altitudes de 990 a 1420 msnm. Se distribuye en la cuenca del Balsas y una porción de la vertiente occidental del Istmo de Tehuantepec. Se desconoce algún uso de su madera, localmente se utiliza la resina para tratamiento de reumas (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001).

Bursera bipinnata

Árbol o arbusto dioico de 6 a 10 m de alto, con diámetro de 12 a 25 cm, muy ramificado. Tiene corteza lisa gris a gris-rojiza, no exfoliante, con poco exudado incoloro y aromático. Las hojas son bipinnadas, agrupadas en ramillas secundarias, con 3 a 4 pares de pinnas de 1 a 5 pares de foliólos secundarios sésiles, oblongos, elípticos a ovalados, con base cuneada, ápice redondeado a agudo, margen entero a trilobado, de color verde oscuro en el haz lustroso de textura cartácea y pálido el envés. Ambas superficies poco densas de pelos. El raquis es alado, las inflorescencias de pseudoracimosas a paniculiformes, con flores masculinas tetrámeras, lóbulos del cáliz angostamente triangulares, pétalos blanquecinos a amarillentos oblanceolados, estambres dispuestos en dos series, anteras ovadoblongas. Las flores femeninas tienen pétalos más cortos que los sépalos, ovario glabro, estaminodios conspicuos. El fruto es una drupa bivalvada, obovoide; semilla de 5 a 6 mm x 3.5 a 5 mm, algo comprimida, color negro en la parte expuesta y recubierta casi totalmente por pseudoarilo naranja-rojo.

De ella se obtiene por medio de incisiones en el tallo la resina llamada copal utilizada en medicina y como incienso. Se encuentra en laderas abiertas, su distribución abarca desde Sinaloa y sur de Chihuahua, hasta Chiapas, incluyendo la cuenca del Balsas (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001).

Bursera copallifera

Árbol o arbusto de hasta 7m de altura con diámetro de 20 a 40 cm. Corteza lisa a escamosa, color café rojizo a gris, no exfoliante, con exudado resinoso aromático. Hojas de 9 a 17 cm de largo, de 17 a 29 foliolos sésiles, de forma elíptica, margen aserrado-crenado, ápice agudo a redondeado, base obtusa color verde oscuro en el haz y pubescente como el raquis alado. Catáfilos triangulares agudos o acuminados. Inflorescencias paniculadas con flores aglomeradas. Flores tetrámeras, sépalos libres, lanceolados y agudos. Pétalos oblanceolados-estipulados, amarillos o amarillo-anaranjados. Los fruto son drupas bivalvadas de ovoide a esférico de 5.2 a 7-10 y 4.6 mm. Pseudoarilo cubriendo en su totalidad a la semilla o con una pequeña región desnuda y oscura en el ápice.

Su madera es un poco dura, se ocupa en la producción de resina conocida como copal. Se distribuye en los estados de Jalisco, Michoacán, México, Morelos, Guerrero y Oaxaca (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001).

Bursera fagaroides

Árbol o arbusto dioicos de 1.6 a 6 m de alto, diámetro de hasta 37 cm. Corteza externa lisa de color verde amarillento, exfoliante, presencia de lenticelas espaciadas. Corteza interna rojiza con canales resinosos. Hojas imparipinnadas aglomeradas en el extremo de las ramillas, de 5 a 7 foliolos, elípticos, lanceolados a oblongos y glabros, base redondeada, ápice acuminado margen ligeramente aserrado, color verde claro. Raquis desnudo. Inflorescencias aglomeradas o unifloras. Flores pentámeras, lóbulos del cáliz triangulares a lanceolados, pétalos rojizos, linear-oblongos. El fruto es un drupa trivalvada, esférica, glabra. Semilla globosa, de 4 a 5 mm de diámetro cubierta en su totalidad de un pseudoarilo color amarillo- verdoso, o crema-rojizo.

El área de distribución de ésta especie va desde Durango a Oaxaca (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001; Ortiz-Pulido y Rico-Gray, 2006).

Bursera glabrifolia

Árbol o arbusto de 2 a 6 m de alto, diámetro de 15 cm, que suele ramificar desde la base. Corteza grisácea, rojiza o café, no exfoliante. Hojas imparipinadas de 7 a 9 foliolos, ovales a oblongo-lanceolados, base obtusa a redondeada, margen crenado, ápice agudo, color verde oscuro en el haz glabro y verde pálido en el envés. Escasamente pubescentes en la nervadura central. Raquis alado. Catáfilos triangulares de color morado. Inflorescencias paniculadas aglomeradas. Flores tetrámeras a veces pentámeras, cáliz fusionado, lóbulos triangulares, pétalos oblongos u oblanceolados de color amarillo. El fruto es una drupa bivalvada obovoide, elipsoidal o esférica. Semilla anchamente lenticular de 0.6 a 0.7 mm de largo. Pseudoarilo amarillo a rojo-anaranjado cubriendo la mitad inferior de la semilla.

Suele utilizarse como cerca viva, se le encuentra en la proximidad de arroyos temporales. Su distribución abarca Michoacán, México, Morelos, Puebla, Guerrero y Oaxaca (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001).

Bursera grandifolia

Árbol de hasta 18 m de altura, diámetro de 30 a 60 cm. Corteza externa lisa de color verde oscuro, exfoliante, corteza interna rojiza con exudado pegajoso incoloro, poco abundante. Hojas imparipinnadas de 5 a 7 foliolos elípticos, obovados u oblongos, base obtusa, ápice caudado, margen entero, haz verde oscuro y verde claro en el envés, ambos hirtos (más el envés). Raquis desnudo. Inflorescencias paniculadas. Flores masculinas pentámeras, femeninas trímeras, lóbulos del cáliz triangulares, pilosos por fuera. Pétalos blancos, lanceolados a oblongos, glabros. El fruto es una drupa trivalvada, trígona elipsoidal o globosa, pilosa o rara vez glabra. Pedicelo largo. Semilla de 6 a 8 mm, con pseudoarilo rosa cubriéndola totalmente.

Se utiliza como cerca viva y ornamental. Se le encuentra en lugares protegidos como cañadas o barrancas húmedas. Su área de distribución va desde el sur de Sonora hasta la cuenca del Balsas (Guizar y Sánchez, 1991; Andrés, 2001).

Colecta de semillas

La colecta de semillas de las seis especies de estudio se llevó a cabo durante los meses de septiembre y octubre del 2002 en la ladera este de la barranca del río Tembembe, cerca del poblado de Cuentepec.

Los frutos se obtuvieron de un mínimo de cinco individuos por especie. Los correspondientes a *Bursera grandifolia* se colectaron en las pendientes cercanas al río o a la orilla de éste, debido a su distribución predominante en la vegetación ribereña.

Una vez colectados, los frutos se pusieron a secar, libres sobre papel periódico en charolas dentro del invernadero (temp. media ~20°C) de la Facultad de Ciencias de la UNAM durante un mes y medio en su mayoría, mientras que algunos pasaron alrededor de dos meses en él. Durante este tiempo se les desprendió la cubierta externa (exocarpio).

Germinación de semillas en condiciones controladas

La siembra de las semillas de las seis especies se llevó a cabo el 19 de noviembre (por lo que las semillas tenían entre 6 y 8 semanas), para lo cual se dividió al lote de semillas de cada especie en tres partes:

- escarificadas con una solución de ácido clorhídrico (pH 1.5, 0.03 N) durante 15 minutos
- escarificadas mecánicamente –tallando cada semilla con una lija durante 40 segundos–
- y las que permanecieron como control.

Una vez que las semillas fueron expuestas a sus tratamientos de escarificación correspondientes, se desinfectaron con una solución del hipoclorito de sodio al 10%

durante 10 min. Posteriormente fueron sembradas en un sustrato de tierra - agrolita - arena en proporción (2:1:1 vol), en cajas Petri. La tierra utilizada fue esterilizada una vez.

La mitad de las semillas de cada tratamiento se incubaron en una cámara de ambiente controlado (Convirón) a una fluctuación de temperatura de 18 a 32°C: 12/12 h, al igual que el fotoperiodo; la otra mitad permaneció en otra cámara cuya temperatura se mantenía constante a 25°C y con el mismo fotoperiodo. Las semillas se regaron regularmente con agua destilada, durante el primer mes se aplicó además una solución fungicida (captán al 5%) debido a la incidencia de hongos; permanecieron en las cámaras durante 60 días.

Diseño experimental:

- Dos temperaturas x tres pre-tratamientos x 5 réplicas x 20 semillas = 600 semillas / especie (excepto *B. grandifolia* con 10 semillas x caja o réplica).

Contaminación fúngica

Se evaluó también durante esta primera fase experimental, el porcentaje de pérdida de semillas por contaminación fúngica en cada especie; para ello se multiplicó el número de semillas retiradas de todos los tratamientos de una misma especie (por estar cubiertas en su totalidad por hongos) por cien y el resultado se dividió entre el número total de semillas de esa especie con la que se inició el experimento.

Evaluación de la imbibición en dos especies

Adicionalmente en la primera fase experimental, con el fin de probar la restricción en la imbibición de las semillas, se tomo una muestra de 20 semillas de *B. grandifolia* y de *B. fagaroides*. La mitad de cada muestra fue escarificada usando papel lija (Fandeli C-081 100), una vez hecho esto, ambas muestras (escarificadas y no escarificadas) se pesaron y posteriormente se pusieron a remojar durante 24 horas en agua corriente. Al final de este tiempo su peso fue registrado nuevamente.

Prueba de presencia / ausencia de embrión

Por otro lado, se evaluó también en cada una de las seis especies, el porcentaje de semillas vanas (sin embrión desarrollado) a partir de dos técnicas comúnmente usadas: la radiografía de rayos X y la flotación de las semillas. La primera se aplicó a una muestra de 100 semillas de cada especie con un equipo de rayos X (Faxitron N, modelo 43804N; facilitado por el Biól. Felipe Nepamuceno del INIFAP en marzo de 2003); la exposición de las semillas a los rayos X fue en todos los casos de un minuto, y el potencial de tubo de 15 a 25 kV (Nepamuceno y de la Garza, 1986; Hartman *et al.*, 1997). La segunda técnica se aplicó al resto de las semillas colectadas, las cuales fueron colocadas en un balde con agua corriente, y se separaron las que permanecían flotando (vanas) de aquellas que se hundían (llenas) (Landis *et al.*, 1998). Las semillas hundidas se utilizaron en los experimentos subsecuentes.

Germinación en condiciones naturales

Con el fin de evaluar la germinación en condiciones naturales se sembraron semillas de tres especies (*B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*), en dos lugares distintos: un sitio conservado (cerro principal de la zona arqueológica de Xochicalco) y un sitio perturbado (Cuentepec), en el cual se presenta un pastoreo limitado y del que se extrae ocasionalmente leña. La exposición de ladera en el primer sitio fue W y en el segundo SW. Debido a que no se contó con suficientes semillas de las cinco especies de estudio, esta prueba se llevó a cabo sólo con estas tres especies. El 24 de mayo de 2003 se colocaron en cada uno de los sitios cinco réplicas por especie; cada una consistió en diez semillas dentro una bolsa de malla plástica sin ningún sustrato (de aproximadamente 18 x 11 cm). En el caso de *B. glabrifolia* cada bolsa tuvo nueve semillas, por escasez de semillas.

Adicionalmente se probó el tratamiento pre-germinativo de una solución de la bacteria *Azospirillum brasilense*, (380 gr. de en un litro de agua: cada gramo de *Azospirillum* contiene 500 millones de bacterias) al haberse probado que promueve la germinación de modo indirecto gracias a su biosíntesis de ácido indolacético (Steenhoutdt y Vanderleyden, 2000). Para ello, y sólo en las dos especies de las que se tenían suficientes semillas (*B. bicolor* y *B. copallifera*), se colocaron en cada sitio otras ocho

bolsas (por especie), cuatro réplicas con semillas a las que se añadieron 5 mL de solución con bacterias vivas (humedeciendo con la solución las semillas dentro de las bolsas de malla sobre el suelo, ya listas para ser enterradas) y otras cuatro a las que se añadió la misma cantidad de solución con bacterias muertas (liofilizadas) como placebo. Ambas soluciones eran turbias y de color blanquecino y fueron donadas por el Dr. Jesús Caballero, del entonces Centro de Fijación de Nitrógeno de la UNAM (actualmente Centro de Ciencias Genómicas).

Las réplicas correspondientes a un mismo tratamiento (de ambas especies) se unieron con hilo cáñamo, para evitar que se perdieran, y se enterraron a una profundidad promedio de 6 cm. No fue posible mezclar los tratamientos debido a que la solución con bacterias vivas podría contaminar a las bolsas que no pertenecían a dicho tratamiento, por consiguiente los tratamientos se enterraron en lugares contiguos (entre 1 y 1.5 m) en condiciones de cobertura arbórea y pendiente similares, en ambos sitios experimentales. Las bolsas se desenterraron un mes después, fecha en que se evaluó el número de semillas germinadas.

Diseño experimental:

- Dos sitios x un pre-tratamiento (control) x 5 réplicas x 10 semillas = 100 semillas / especie (excepto en *B. grabrifolia* con 9 semillas x réplica).
- Dos sitios x dos pre-tratamientos (bacteria viva y bacteria muerta) x 4 réplicas x 10 semillas = 160 semillas / especie (sólo para *B. bicolor* y *B. copallifera*).

Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio

En esta fase experimental se usaron semillas de tres especies (*B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*), la mitad de las cuales fueron almacenadas en igual número a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C, Laboratorio Especializado de Ecología, Facultad de Ciencias) y a temperatura baja (5°C, refrigerador del Laboratorio de Alimentos y Biotecnología, Conjunto “E”, Facultad de Química) durante seis meses aproximadamente (5 meses 21 días). Ambos grupos de semillas se envolvieron en papel de estraza y se colocaron en una caja de cartón, aislada completamente con cinta

adhesiva y cubierta con una bolsa plástica sellada. Al final de este tiempo se aplicó a cada grupo la prueba de flotación para separar a las semillas llenas de las vanas y montar así el experimento, lo que se hizo el 29 de agosto de 2003.

Las semillas de cada especie se separaron en tres grupos, a cada uno de los cuales se aplicó uno de los siguientes tratamientos pre-germinativos: exposición a una solución de ácido sulfúrico concentrado (85%) durante 20 min, exposición a una solución de la citoquinina 6-benzilaminopurina (150 ppm) durante 12 horas y un grupo testigo. Se decidió probar el efecto de dicha hormona debido a que existe un reporte previo de que aumentó la germinación de semillas de *B. penicillata* (Nargaraja y Farooqi, 1989). La hormona se preparó disolviendo 30 mg en 6 mL de una solución de ácido clorhídrico 0.5 M agregada poco a poco, calentando al mismo tiempo con un mechero para agilizar la disolución. Para que la concentración de la hormona llegara a 150 ppm fue necesario agregar 194 mL de agua destilada al mismo tiempo que se calentaba para lograr la disolución total.

Las semillas fueron desinfectadas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 min, y en una solución fungicida (sulfato de cobre al 2%) 10 min más, después de lo cual se sembraron en cajas Petri con sustrato de agrolita-tierra (1:1). Las cajas con 20 semillas permanecieron en una cámara de ambiente controlado (Convirón) con temperatura alternante (18 – 32°C) con termo y fotoperiodo 12:12 h, en la cual permanecieron 58 días. Durante este periodo se registró la germinación cada tercer día.

Diseño experimental:

- Dos temperaturas de almacenamiento x tres tratamientos pre-germinativos x 5 réplicas x 10 semillas = 300 semillas / especie.

Análisis de datos

En cada fase experimental se analizó como variable de respuesta, el porcentaje final de germinación [(número total de semillas germinadas/número inicial de semillas) x 100]. Dicha variable fue transformada usando la función arcoseno (expresado en grados;

arcoseno $\sqrt{\text{proporción}}$). El efecto de los factores experimentales fue evaluado a través de un Análisis de Varianza (ANDEVA) con el programa STATISTICA (StatSoft, 98) para cada experimento. Los factores evaluados en el primer experimento fueron: los tratamientos pre-germinativos y de la temperatura a la cual permanecieron las semillas, así como la interacción entre ambos factores; en el segundo experimento (condiciones naturales), el efecto del sitio y de los tratamientos pre-germinativos, así como la interacción de ambos; y finalmente, en el tercer experimento (germinación de semillas almacenadas durante 170 días) el efecto de los tratamientos pre-germinativos y de la temperatura de almacenamiento (dos condiciones: temperatura ambiente y 5°C). Cuando el análisis de varianza señaló un efecto significativo de alguno de estos factores se realizaron pruebas de Tukey (post-hoc) para determinar cuáles medias diferían significativamente.

En el tercer experimento se obtuvo además el coeficiente de velocidad de Kotowski, con el fin de obtener la distribución de la germinación en el tiempo, con relación al número de semillas germinadas (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996). Y se calcula del modo siguiente:

$$CV = [\sum n_i / \sum (n_i t_i)] * 100$$

en donde CV = coeficiente de velocidad de Kotowski, n_i = número de semillas germinadas el día i y t_i = número de días desde la siembra.

En la prueba de imbibición aplicada a *B. grandifolia* y *B. fagaroides* se utilizó una prueba de t de Student (StatSoft, 98), para comparar el aumento de peso de semillas escarificadas y no escarificadas, remojadas y secas de cada especie. Mientras que para el análisis radiográfico y de flotación se utilizó solamente el cálculo del porcentaje de semillas vanas tomando en cuenta el número de semillas utilizadas en ambos métodos.

RESULTADOS

Germinación de semillas en condiciones controladas

Las semillas de *Bursera bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia* germinaron, mientras que las de *B. fagaroides* y *B. grandifolia* no, independientemente del tratamiento aplicado. En las cuatro especies que germinaron, los porcentajes de germinación pueden considerarse en general bajos, ya que en ningún tratamiento excedieron el 20%. En las cuatro especies la temperatura resultó determinante en la respuesta germinativa, pues las semillas que permanecieron en condiciones de temperatura fluctuante incrementaron su germinación respecto a las que permanecieron a temperatura constante (Tabla 1 y 2). Por otro lado los tratamientos pre-germinativos no tuvieron un efecto significativo en la germinación, excepto en *B. glabrifolia*, en la cual tuvieron un efecto marginalmente significativo ($p = 0.056$, Tabla 1). En este caso la escarificación mecánica produjo un incremento en la germinación respecto a la que se presentó tanto en el grupo testigo como en el de escarificación ácida, que produjeron resultados similares entre sí, con porcentajes de germinación bajos (5-6%; Tabla 3).

Tabla 1. Resultados del ANDEVA del efecto de la temperatura y el tratamiento pre-germinativo en la germinación de semillas de cuatro especies del género *Bursera* en condiciones controladas.

Especie	Tratamiento pre-germinativo		Temperatura de exposición		Interacción	
	F	p	F	p	F	p
<i>B. bicolor</i>	2.56	0.09	9.43	0.005	3.82	0.03
<i>B. bipinnata</i>	1.62	0.21	18.02	<0.001	0.14	0.86
<i>B. copallifera</i>	0.38	0.68	18.35	<0.001	1.88	0.17
<i>B. glabrifolia</i>	3.23	0.05	10.04	0.004	0.14	0.86

La interacción del tratamiento pre-germinativo y la temperatura resultó ser significativa sólo en el caso de *B. bicolor* (Tabla 1); en ésta se presentó un porcentaje de germinación más alto en el grupo control a temperatura fluctuante (alrededor del 20%). Dos grupos más obtuvieron porcentajes de germinación semejantes: la escarificación

mecánica a temperatura fluctuante, y la escarificación ácida en ambas temperaturas, pero sin diferencias significativas entre temperaturas (Fig. 1).

Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas de cuatro especies del género *Bursera* en dos condiciones de temperatura. Las letras diferentes en un mismo renglón indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $P < 0.05$)

Especie	Temperatura de exposición ($x \pm e. e.$)	
	Constante	Fluctuante
<i>B. bicolor</i>	5.27 \pm 0.36 b	17.94 \pm 0.22 a
<i>B. bipinnata</i>	0.93 \pm 0.13 b	11.06 \pm 0.18 a
<i>B. copallifera</i>	0.17 \pm 0.08 b	6.79 \pm 0.18 a
<i>B. glabrifolia</i>	3.97 \pm 0.27 b	13.38 \pm 0.06 a

Tabla 3. Porcentaje de germinación de semillas de cuatro especies del género *Bursera* sometidas a tres tratamientos pre-germinativos.

Especie	Tratamiento pre-germinativo ($x \pm e. e.$)		
	Control	Escarificación ácida (HCl pH 1.5)	Escarificación mecánica
<i>B. bicolor</i>	6.80 \pm 0.64	18.13 \pm 0.32	8.72 \pm 0.56
<i>B. bipinnata</i>	2.12 \pm 0.39	6.86 \pm 0.39	5.76 \pm 0.36
<i>B. copallifera</i>	2.83 \pm 0.39	2.82 \pm 0.36	1.45 \pm 0.26
<i>B. glabrifolia</i>	5.96 \pm 0.32	4.91 \pm 0.27	14.15 \pm 0.30

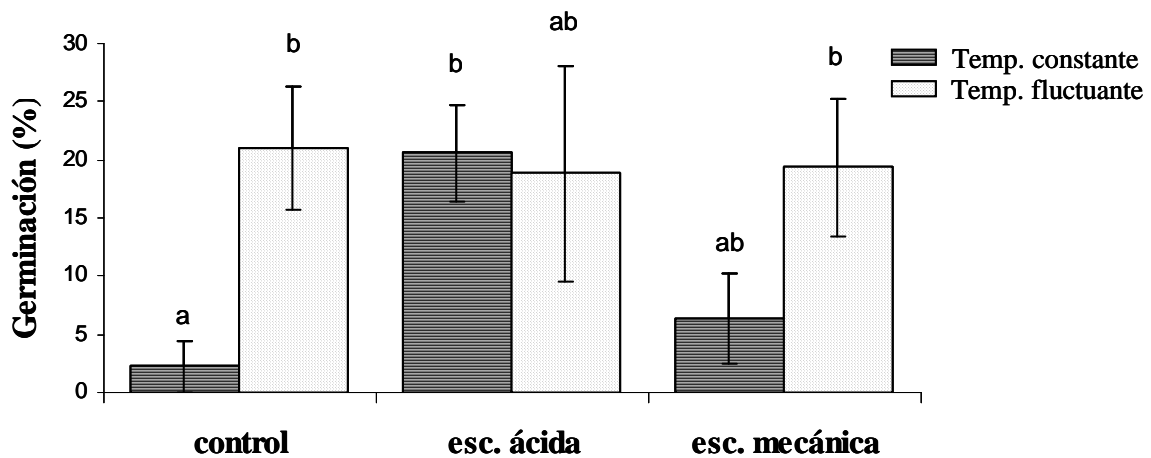


Figura 1. Germinación porcentual ($\bar{x} \pm e. e.$) de semillas de *B. bicolor* sometidas a tres tratamientos pre-germinativos y dos temperaturas. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Contaminación fúngica

En cuanto a las especies que no germinaron, se observó que las semillas de *B. grandifolia* presentaron una alta contaminación por hongos, mientras que en *B. fagaroides* y *B. bipinnata* (que sí germinó) la contaminación fue mucho menor (Tabla 4). De modo que no hubo una relación directa entre infestación por hongos y germinación, ya que algunas semillas contaminadas germinaron mientras que otras (*B. fagaroides*) que presentaron un bajo porcentaje de contaminación por hongos (~6%), no germinaron.

Tabla 4. Porcentaje de pérdida de semillas por contaminación fúngica en seis especies del género *Bursera*.

Especie	Contaminación ($\bar{x} \pm e. e.$)
<i>B. bicolor</i>	38.47 \pm 3.87
<i>B. bipinnata</i>	14.05 \pm 1.62
<i>B. copallifera</i>	54.13 \pm 5.20
<i>B. fagaroides</i>	5.65 \pm 1.17
<i>B. glabrifolia</i>	34.39 \pm 3.35
<i>B. grandifolia</i>	86.51 \pm 2.39

Evaluación de la imbibición en dos especies

El resultado de la comparación del peso de semillas no escarificadas y escarificadas, antes y después de permanecer sumergidas en agua, mostró que el peso de las semillas de ambas especies aumentó significativamente como resultado del remojo (*B. grandifolia* t -9.13 y t -6.90 ; *B. fagaroides* t -5.61 y t -3.13 g.l. 9; $P < 0.01$, en no escarificadas y escarificadas respectivamente) (Figura 2) Este incremento fue mayor en las semillas no escarificadas que en las escarificadas tanto en *B. grandifolia* (0.04 y 0.02 g, respectivamente) como en *B. fagaroides* (0.009 y 0.005 g, respectivamente), lo que demuestra que la imbibición no requirió de la escarificación, ni la aumentó.

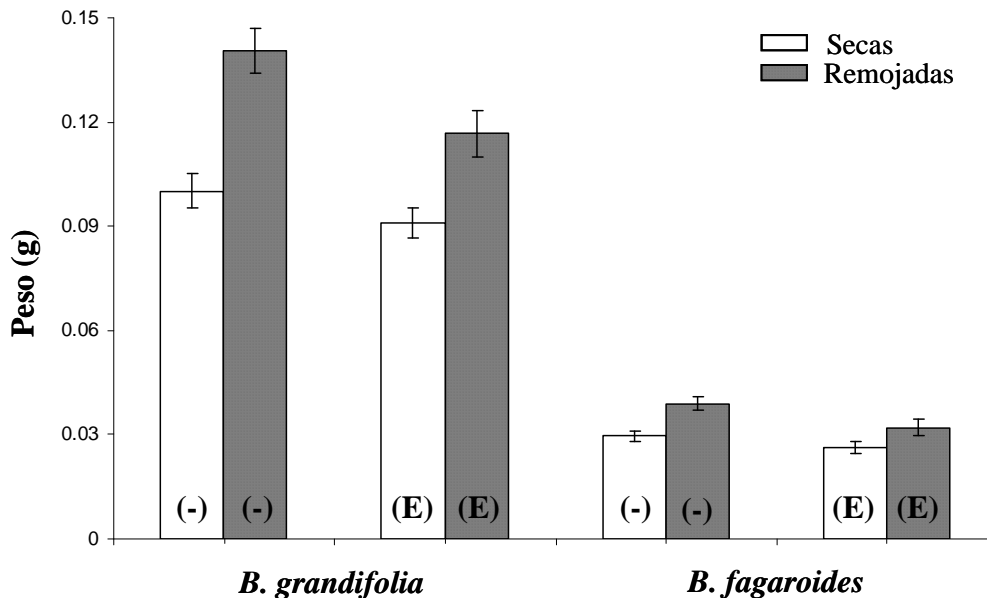


Figura 2. Peso promedio (\pm e. e.) de semillas sin escarificar (-) y escarificadas (E) de dos especies del género *Bursera*.

Prueba de presencia / ausencia de embrión

Los resultados de las pruebas aplicadas para distinguir semillas “llenas” de “vanas” o “huecas” (rayos X y prueba de flotación) demostraron que, en efecto, el porcentaje de semillas llenas fue bajo en la mayoría de las especies, aunque los casos más notables fueron los de *B. grandifolia* y *B. fagaroides*, en los que prácticamente todas las semillas resultaron vanas. *B. bipinnata* también presentó porcentajes de semillas llenas muy bajos (Tabla 5). Los porcentajes más altos correspondieron a *B. copallifera* y *B. bicolor*. Al evaluar los resultados de ambas pruebas, éstos coincidieron, excepto para *B. glabrifolia*, en cuyo caso la prueba de flotación arrojó datos muy inferiores a los mostrados por los rayos x, con respecto a la presencia de un embrión.

Tabla 5. Porcentajes de viabilidad estimados mediante dos métodos, en semillas de seis especies del género *Bursera*.

Especie	Estimaciones de viabilidad de las semillas			
	N	Flotación %	N	Rayos X %
<i>B. bicolor</i>	1167	56.0	94	46.8
<i>B. bipinnata</i>	369	4.9	100	12.0
<i>B. copallifera</i>	3088	67.7	99	64.6
<i>B. glabrifolia</i>	367	25.1	100	61.6
<i>B. grandifolia</i>	404	02.0	100	00.0
<i>B. fagaroides</i>	1162	03.3	97	00.0

Germinación de semillas en condiciones naturales

Las semillas de las especies utilizadas en esta prueba (*B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*) fueron previamente seleccionadas con el método de flotación. Todas las especies germinaron; en dos de ellas (*B. bicolor* y *B. copallifera*) el sitio de enterramiento tuvo un efecto significativo en sus porcentajes de germinación alcanzados (Tabla 6). En ambos casos, el sitio conservado (Xochicalco) favoreció la germinación de las semillas (Figura 3). En *B. glabrifolia* el sitio no afectó significativamente la germinación, que fue en promedio de $17.8 \pm 4.1\%$, seguida por *B. copallifera* con $13.5 \pm 2\%$, mientras que el mayor porcentaje de germinación correspondió a *B. bicolor* con $32.7 \pm 5.9\%$.

Tabla 6. Resultados del ANDEVA que evalúa el efecto del sitio y el tratamiento pre-germinativo de tres especies del género *Bursera*.

Especie	Sitio		Tratamiento pre-germinativo		Interacción	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
<i>B. bicolor</i>	6.89	0.01	1.24	0.31	4.15	0.03
<i>B. copallifera</i>	4.29	0.05	0.62	0.54	0.04	0.95
<i>B. glabrifolia</i>	0.69	0.42				

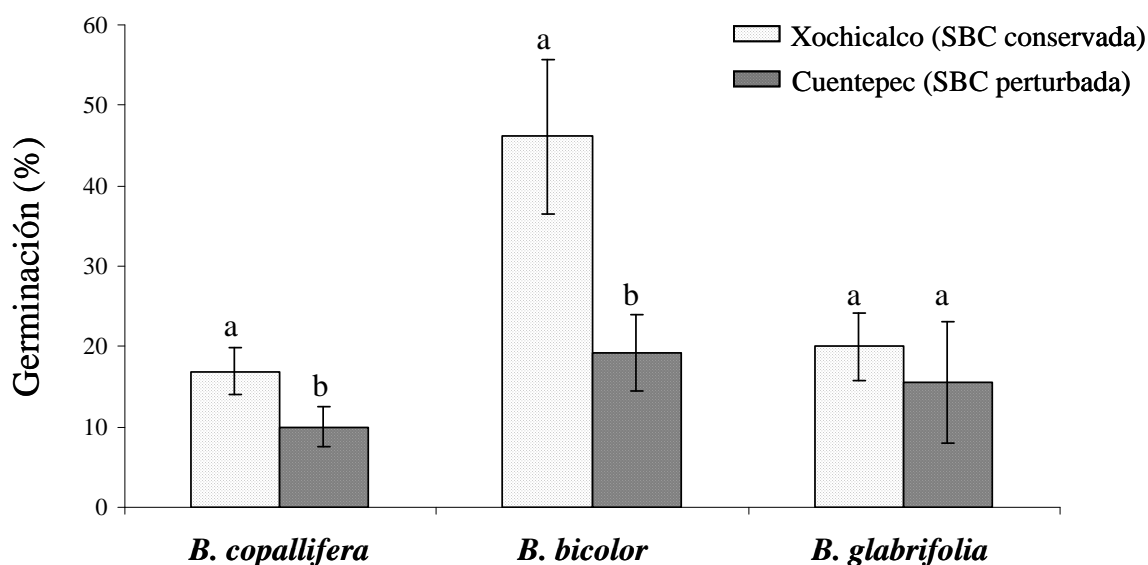


Figura 3. Efecto del sitio de enterramiento en el porcentaje de germinación de tres especies del género *Bursera*. Letras diferentes significan diferencias significativas (prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Los tratamientos pre-germinativos (control, placebo e inóculo de *Azospirillum brasilense*) no produjeron diferencias significativas en los porcentajes de germinación alcanzados por *B. bicolor* y *B. copallifera*, sin embargo, en la primera se produjo una interacción significativa del tratamiento pre-germinativo con el sitio (Tabla 6), que resultó en un mayor porcentaje de germinación ($60 \pm 17.03\%$ e. e.) en el control y en el tratamiento con *A. brasilense*, ambos en Xochicalco, pero no en el bosque perturbado de Cuentepec (Tabla 7). En *B. copallifera* la germinación promedio fue de $17 \pm 10.3\%$ en Xochicalco y de $10 \pm 9.1\%$ en Cuentepec.

Tabla 7. Porcentaje de germinación de *B. bicolor* en respuesta a tres tratamientos pre-germinativos en dos sitios de enterramiento.

Especies	Xochicalco			Cuentepec		
	Control ($\bar{x} \pm e. e.$)	<i>Azospirillum brasiliense</i> ($\bar{x} \pm e. e.$)	Placebo ($\bar{x} \pm e. e.$)	Control ($\bar{x} \pm e. e.$)	<i>Azospirillum brasiliense</i> ($\bar{x} \pm e. e.$)	Placebo ($\bar{x} \pm e. e.$)
<i>B. bicolor</i>	60 ± 17.03	60 ± 14.14	15 ± 6.45	20 ± 7.07	10 ± 5.77	27 ± 11.09

Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio

La temperatura de almacenamiento (ambiente y 5°C) no tuvo un efecto significativo en la germinación de las semillas de *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia* (Tabla 8), sin embargo el tratamiento pre-germinativo sí generó diferencias significativas en los porcentajes de germinación de *B. copallifera* y *B. glabrifolia*. Cabe señalar que ninguno de los dos factores fue significativo en el porcentaje de germinación alcanzado por *B. bicolor*, cuyo valor promedio fue 32% ± 3.7 ($\bar{x} \pm e. e.$). Debido a limitaciones en el número de semillas disponibles, en *B. bipinnata* sólo fue posible probar el efecto de la temperatura de almacenamiento, que no resultó significativo; la germinación promedio registrada fue de 33 ± 17.8% ($\bar{x} \pm e. e.$)

Tabla 8. ANDEVA del efecto de la temperatura de almacenamiento y el tratamiento pre-germinativo, en la germinación de tres especies del género *Bursera*.

Especie	Temperatura de almacenamiento		Tratamiento pre-germinativo		Interacción	
	F	P	F	P	F	P
<i>B. bicolor</i>	2.88	0.10	0.05	0.94	1.86	0.17
<i>B. copallifera</i>	0.42	0.52	11.36	< 0.001	0.87	0.42
<i>B. glabrifolia</i>	0.71	0.40	12.88	< 0.001	1.86	0.17

En *B. copallifera* el tratamiento con la citocinina causó un incremento notable en el porcentaje de germinación alcanzado, en relación a los obtenidos con los otros tratamientos pre-germinativos (Tabla 9). Además, se observó que en este tratamiento el

periodo transcurrido al inicio de la germinación fue ligeramente menor que en los otros dos, independientemente de las condiciones de almacenamiento (Figuras 4b y 4c), resultado que se confirma con los valores obtenidos del coeficiente de velocidad de Kotowski, que son mayores en dicho tratamiento (Tabla 10)

Tabla 9. Porcentaje de germinación por tratamiento pre-germinativo, de semillas de dos especies del género *Bursera*. Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas (prueba de Tukey, P<0.05)

Especie	Tratamientos pre-germinativos		
	Testigo (x ± e. e.)	E. Ácida (x ± e. e.)	Citocinina (x ± e. e.)
<i>B. copallifera</i>	15 ± 5.4 b	18 ± 5.1 b	52 ± 5.6 a
<i>B. glabrifolia</i>	63 ± 5.5 a	25 ± 4.3 b	67 ± 8.1 a

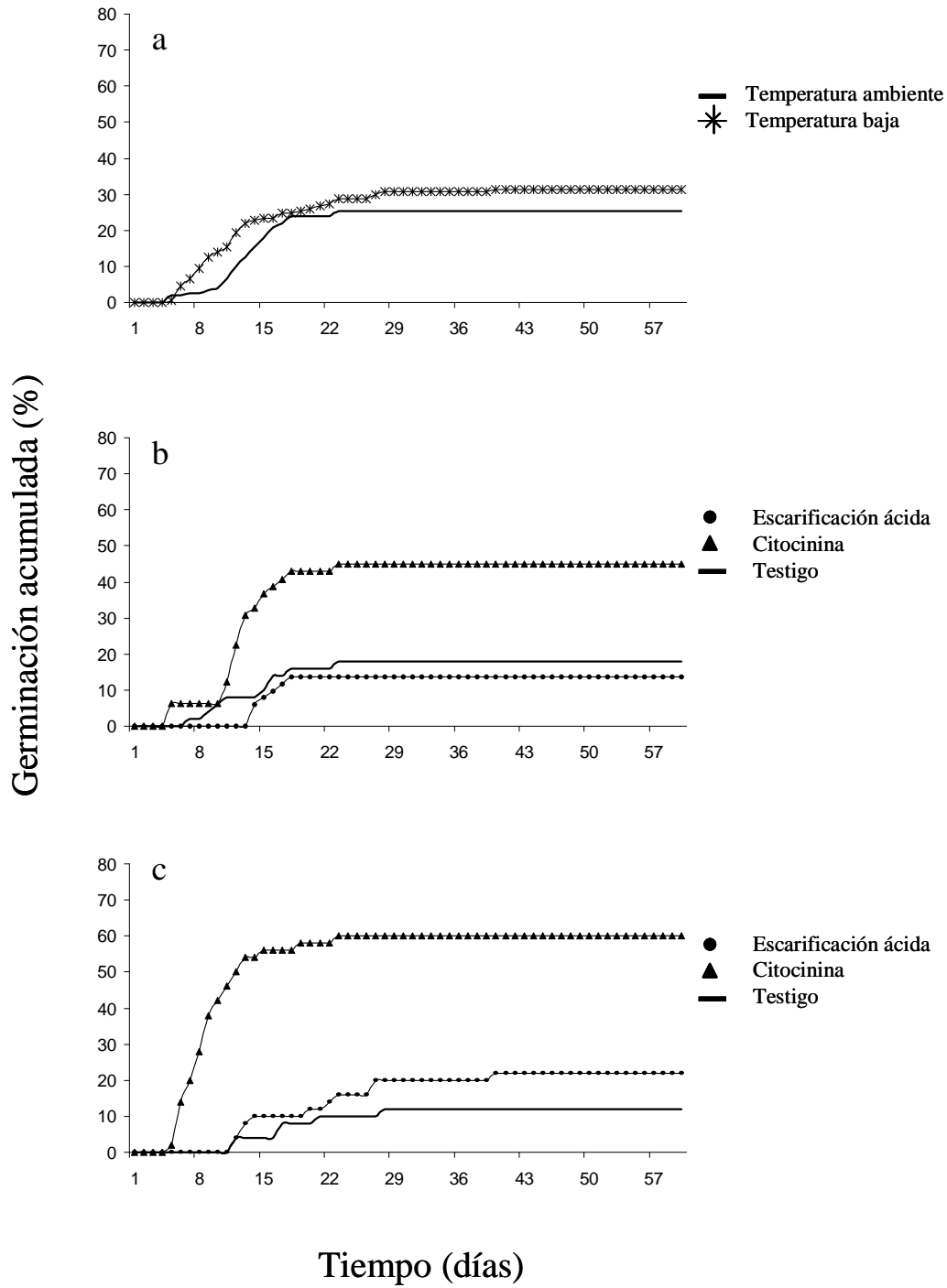


Figura 4. Curvas de germinación acumulada de *B. copallifera*: a) en dos temperaturas de almacenamiento y, en tres tratamientos pre-germinativos: b) semillas almacenadas a temperatura ambiente y c) semillas almacenadas a temperatura baja.

Tabla 10. Valores del coeficiente de velocidad de Kotowski en semillas de tres especies del género *Bursera*, almacenadas durante seis meses bajo dos temperaturas.

Especie	Temperatura	Testigo	E. Ácida	Citocinina
<i>B. bicolor</i>	ambiente	5.45	6.73	10.24
	5°C	2.94	3.83	6.27
<i>B. copallifera</i>	ambiente	7.20	6.48	7.91
	5°C	5.61	4.93	10.42
<i>B. glabrifolia</i>	ambiente	7.92	7.65	8.36
	5°C	6.23	6.43	8.08

En *B. glabrifolia* tanto en el tratamiento en el que se aplicó la hormona como en el testigo mostraron altos porcentajes de germinación. Aunque la interacción entre los factores experimentales no fue significativa (Tabla 8), en las figuras 5b y 5c puede observarse que los porcentajes de germinación acumulada más altos se alcanzaron en la combinación testigo - temperatura ambiente y hormona - temperatura baja; también puede observarse que en semillas tratadas con hormona la germinación se inició antes que en los otros tratamientos especialmente a temperatura baja (Figura 5c), lo que se confirma con los valores del coeficiente de Kotowski (Tabla 10); la germinación se estabilizó aproximadamente a partir del día 18 (Figura 5).

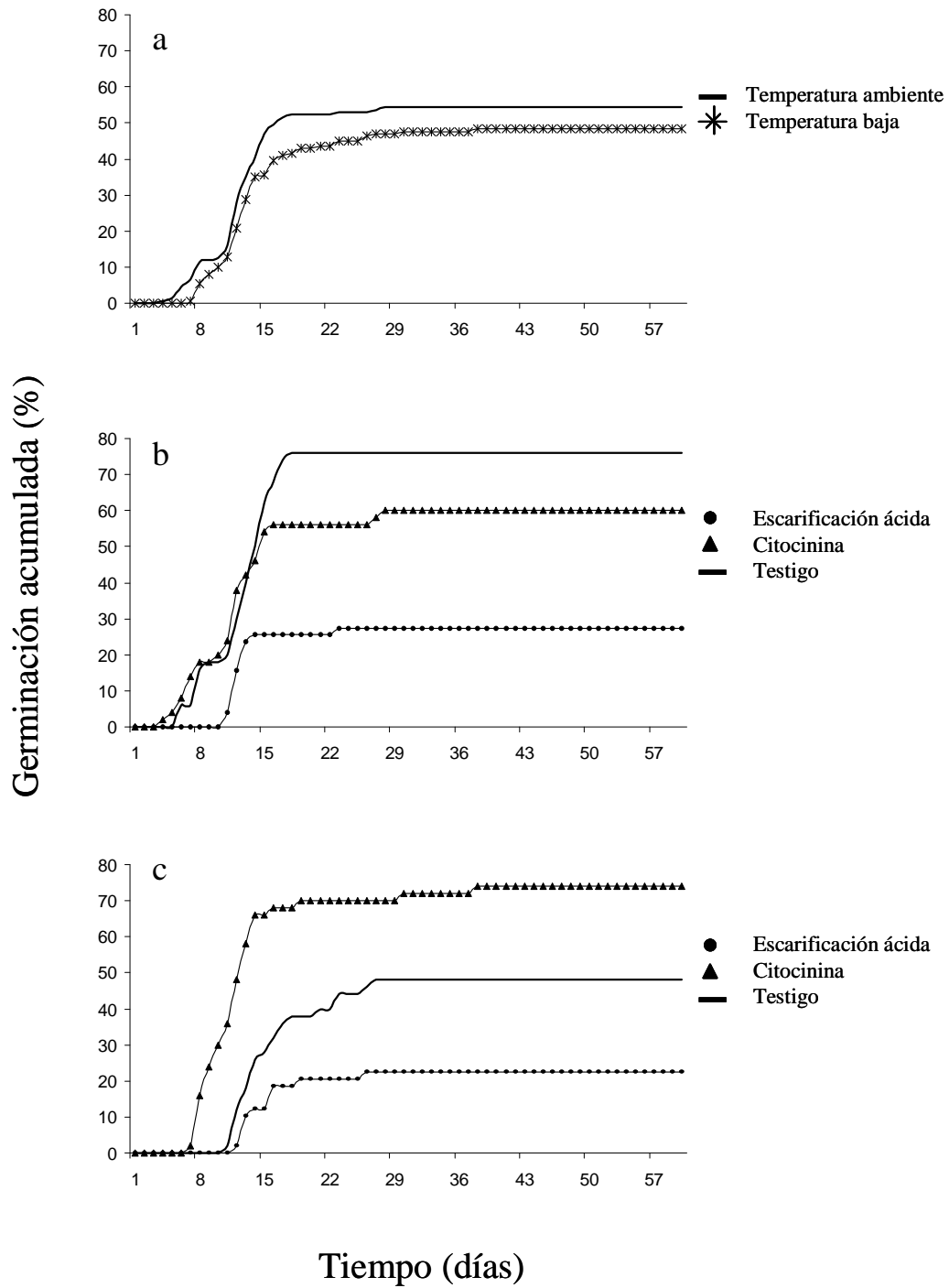


Figura 5. Curvas de germinación acumulada de *B. glabrifolia*: a) en dos temperaturas de almacenamiento y, en tres tratamientos pre-germinativos: b) semillas almacenadas a temperatura ambiente y c) semillas almacenadas a temperatura baja.

Aunque en *B. bicolor* (32%) los factores experimentales no afectaron significativamente la germinación, se observó que las semillas almacenadas a temperatura ambiente alcanzaron un porcentaje de germinación ligeramente mayor y germinaron poco antes que las que permanecieron a temperatura baja (Figura 6a). La velocidad de germinación (10.4) fue mayor en la combinación hormona-temperatura ambiente, pero no fue en este tratamiento en el que se alcanzó una mayor germinación acumulada (~50%) (Tabla 10, Figura 6b). En general, a partir del día 25 la germinación fue ligeramente menor y más lenta en las semillas almacenadas a 5°C que en las almacenadas a temperatura ambiente (Figura 6C).

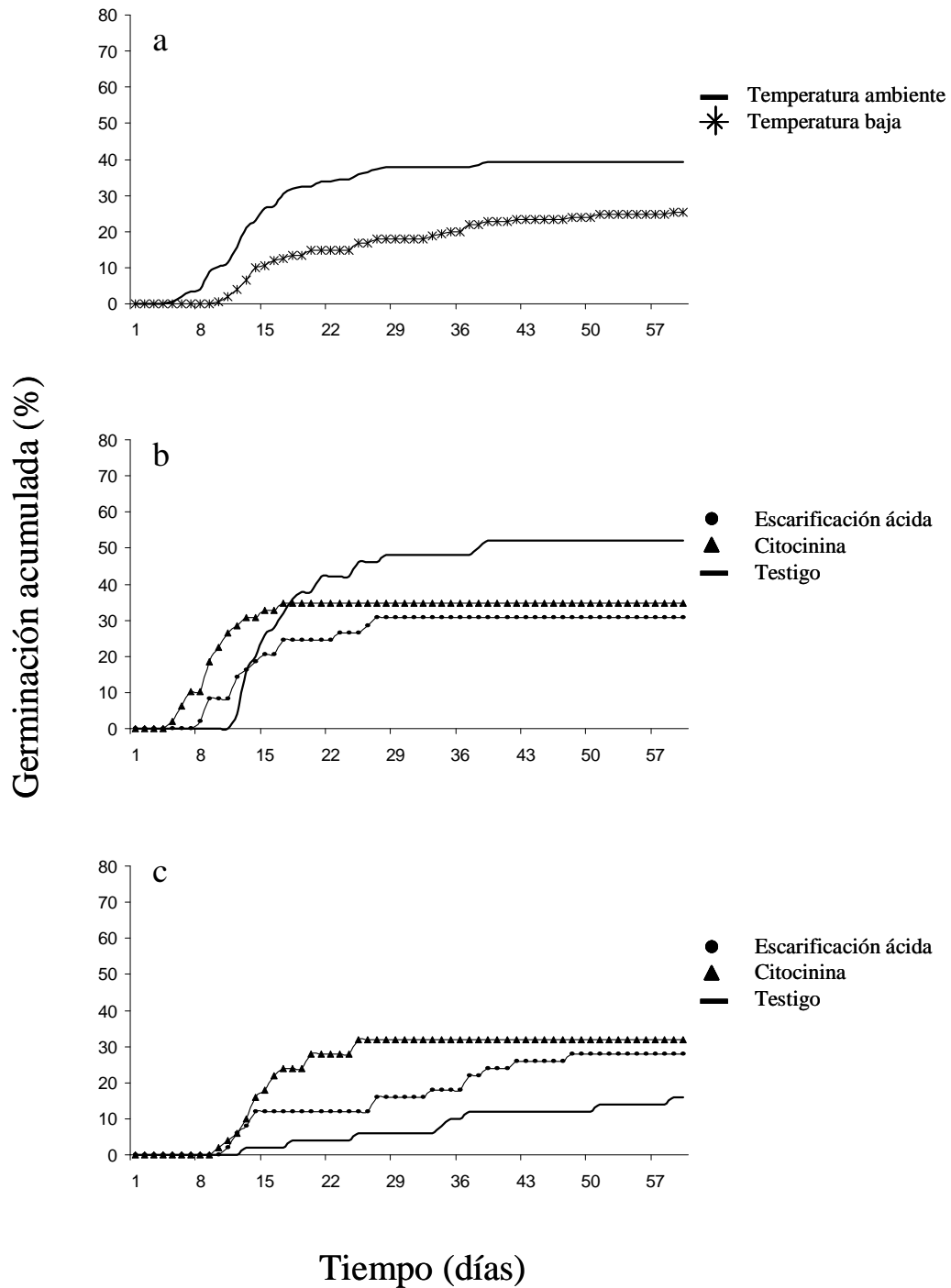


Figura 6. Curvas de germinación acumulada de *B. bicolor*: a) en dos temperaturas de almacenamiento y, en tres tratamientos pre-germinativos: b) semillas almacenadas a temperatura ambiente y c) semillas almacenadas a temperatura baja.

DISCUSIÓN

Germinación de semillas en condiciones controladas

El porcentaje de germinación encontrado en la mayoría de las especies fue muy bajo, y los casos más llamativos fueron los de *B. grandifolia* y *B. fagaroides*, en donde ninguna semilla germinó. Estos resultados se deben, en gran medida, a que la muestra usada incluyó tanto semillas vanas como semillas llenas (con un embrión desarrollado). Al iniciar el estudio no se contaba con ningún indicio de que las semillas vacías o vanas fueran tan comunes y pudieran representar un problema, pues no hay evidencia que pudiera indicar una deficiencia, ya que la apariencia de las semillas (color, tamaño, dureza) es similar. Además, no había reportes previos en la literatura de que en estas especies hubiera problemas de desarrollo del embrión y viabilidad de las semillas.

Las causas de esta producción tan grande de semillas vanas es un problema que excede los alcances de esta investigación, y que resulta interesante investigar en el futuro. Desde un punto de vista evolutivo resulta una paradoja, pues las plantas invierten una gran cantidad de recursos en producir semillas vanas, lo cual resulta un desperdicio de energía que podría disminuir su adecuación. Se ha planteado la hipótesis de que representa una estrategia de protección para sus semillas con embrión ante el ataque de insectos (Ramos-Ordoñez *et al.*, 2008) En el caso del género *Pistacia* y otros géneros de la familia Anacardiaceae –grupo hermano del género *Bursera* – es común la presencia de semillas sin embrión, y se ha sugerido que son resultado de frutos partenocárpicos (Verdú y García-Fayos, 1998). Esta característica puede por tanto ser un carácter que heredaron los clados descendientes del ancestro común de Anacardiaceae y Burseraceae, pero este es un aspecto que debe documentarse más ampliamente en las diversas especies de ambas familias. La partenocarpia y los frutos abortivos se han relacionado con la limitación de polen y de agua en *Pistacea lentiscus* (Verdú y García-Fayos, 1998), por lo que podría ser también una característica modulada por el ambiente y la disponibilidad de recursos.

En otras especies, la producción de frutos vanos se ha atribuido a los problemas genéticos característicos de las poblaciones pequeñas, como la endogamia (Menges,

1991; Chacoff *et al.*, 2004) y la pérdida de variación genética. En el presente caso, hay alguna evidencia indirecta que podría apoyar esta hipótesis, pues las poblaciones de *B. grandifolia* y *B. fagaroides* son mucho más pequeñas que las de *B. copallifera* y *B. glabrifolia* (que tuvieron mayor proporción de semillas llenas) y los individuos se encontraban distantes entre sí en la localidad de colecta. Los de *B. grandifolia* se encontraron en lugares poco accesibles, como laderas muy pronunciadas cercanas al río Tembembe, o en los márgenes del río, como parte de la vegetación ribereña. Esta distribución apoya el establecimiento de programas de uso limitado y protección de estas zonas, para mantener y restablecer las poblaciones. En el caso de *B. fagaroides*, que es una especie usada comúnmente para formar cercas vivas, se evitó coleccionar semillas de individuos usados con este fin, pues podrían tener un alto grado de similitud genética.

Los frutos colectados podrían no haber estado totalmente maduros en algunos casos, ya que en su mayoría se recolectaron directamente de las ramas de los árboles y no del suelo, al que caen cuando están un poco más secos. Hay evidencia de que este pudo ser el caso de *B. grandifolia*, ya que los frutos tenían un color verde al momento de ser recolectados y el pericarpio aun no se había abierto. Por ello se recomienda, en futuros estudios con semillas de esta especie, esperar a que maduren los frutos y estén expuestos (es decir con el pericarpio abierto) en el árbol. Es probable que los frutos de esta especie maduren más tarde en el año que los de las otras especies de estudio.

Sin embargo, es poco probable que la inmadurez sea la causa del alto porcentaje de semillas vanas encontrado, pues al momento de realizar la prueba de germinación muchas semillas tenían ya un embrión bien desarrollado y es poco probable que las vanas fueran a desarrollarlo posteriormente. Sin embargo, para comprobarlo sería necesario tomar muestras a lo largo del tiempo y analizar si la proporción de semillas vanas disminuye significativamente conforme transcurre el tiempo después de la colecta.

En condiciones naturales las semillas caen al suelo entre noviembre y enero, y permanecen en el hasta las primeras lluvias (mayo, junio), cuando germinan, por lo que, de haber cierto grado de inmadurez del embrión, su madurez podría completarse en algún punto durante este periodo. La posible inmadurez de las semillas puede sugerir la presencia de latencia fisiológica, morfológica o incluso morfofisiológica (Baskin y Baskin, 2004), lo que deberá establecerse en futuros estudios. La evidencia obtenida en este

trabajo apunta a que, en caso de haber algún tipo de latencia, esta sería fisiológica. No encontramos evidencia de latencia física en *B. grandifolia* y *B. fagaroides*, pues las semillas pudieron absorber agua independientemente de haber sido o no escarificadas (Figura 2), resultado que probablemente pueda extenderse a las otras especies de estudio, que tampoco presentarían latencia física.

Sin embargo, pese a los bajos porcentajes de germinación alcanzados en cuatro especies, se pudo establecer que las condiciones de temperatura variable favorecen la germinación de las semillas (Cuadro 1). Esta situación se produce en condiciones naturales en las zonas en las que se distribuyen naturalmente estas especies (Trejo, 1999; Cervantes *et al.*, 2001; Fenner y Thompson, 2005). El efecto de los tratamientos pre-germinativos no pareció ser importante, aunque la escarificación mecánica mejoró marginalmente el porcentaje de germinación en *B. glabrifolia*. En *B. bicolor* los porcentajes de germinación más altos se alcanzaron en varios tratamientos a temperatura fluctuante; en semillas sin tratar (control) fue de ~ 21% (Figura 1).

Estos primeros resultados permiten concluir que para lograr la germinación de semillas y la obtención de plántulas de las especies de *Bursera* estudiadas (con fines de restauración, por ejemplo) es necesario descartar previamente las semillas vanas por el método de flotación. Por otro lado, se recomienda esperar a recolectar las semillas hacia finales de octubre-noviembre (e incluso posteriormente en *B. grandifolia*) para favorecer un avanzado estado de madurez de las mismas (Johnson, 1992), evitando coleccionar las que no estén expuestas (que aún no se hayan desprendido de su pericarpio). Es conveniente también esperar a que transcurran unas semanas después de la colecta (4-6 semanas) para completar la maduración de los embriones, en caso de que exista latencia fisiológica. Por último se recomienda, independientemente del tratamiento pre-germinativo, colocarlas a germinar en condiciones de temperatura fluctuante y riegos frecuentes (cada tercer día, por ejemplo).

Germinación de semillas en condiciones naturales

En general el porcentaje de germinación aumentó en esta prueba con respecto al obtenido durante la primera prueba, lo que puede atribuirse a que se usaron sólo semillas llenas de las especies *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*. Además, se usaron

semillas almacenadas durante varios meses, lo que pudo contribuir a la madurez de los embriones.

Los resultados mostraron que las condiciones de los sitios resultaron importantes, pues en la SBC conservada se alcanzaron porcentajes de germinación significativamente mayores en dos especies (*B. bicolor* y *B. copallifera*; Cuadro 6). En *B. bicolor* fue en estas condiciones que se alcanzó el mayor porcentaje de germinación (60%) registrado en todas las pruebas. Las semillas de *B. glabrifolia* también aumentaron ligeramente su porcentaje de germinación en Xochicalco (sitio conservado) con respecto al alcanzado en Cuentepec (sitio perturbado), aunque las diferencias no fueron significativas. Estos resultados muestran que las condiciones de las SBC conservadas (cerradas), con una menor radiación y mayor humedad relativa a nivel del suelo (así como un intervalo de variación en la temperatura menor que en un sitio abierto), favorecen la germinación de las semillas de diversas especies del género *Bursera*, lo que podría contribuir a explicar su mayor presencia y dominancia en SBC conservadas que en SBC perturbadas de la zona norte de Morelos, y en general de México (Rzedowski y Kruse, 1979; Piña, 2005; Hernández-Apolinar y Valverde, 2006).

Por otro lado, los tratamientos pre-germinativos (inóculo de *A. brasilense* y placebo) no generaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación alcanzado por *B. bicolor* y *B. copallifera*, aunque se ha reportado que dicha bacteria sintetiza la auxina ácido indolacético-3 acético (AIA) (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000), que tiene un efecto permisivo en la germinación (Khan, 1971), más que sin embargo requiere del ácido giberélico para que se lleve a cabo la germinación (Camacho, 1987).

Germinación de semillas almacenadas 170 días en laboratorio

La temperatura de almacenamiento no fue determinante en el porcentaje de germinación alcanzado en las especies probadas (*B. bicolor*, *B. copallifera*, *B. glabrifolia* y *B. bipinnata*), lo cual muestra que las semillas de estas especies no requieren de una estratificación en frío para germinar, como se ha mostrado en otras especies (Phartyal *et al.*, 2003; Chuanren *et al.*, 2004). En *B. bipinnata* sólo se pudo analizar el efecto de la temperatura (y no el de los tratamientos pre-germinativos) debido al número limitado de semillas, y tampoco fue significativo, lo que corrobora la anterior afirmación. Por otro lado,

resulta claro también que no es necesario almacenar las semillas en frío, al menos en el limitado periodo de almacenamiento que se probó en este trabajo. Por ello, las semillas de las especies de *Bursera* estudiadas podrían almacenarse por este periodo en las condiciones poco tecnificadas que imperan en la mayoría de los viveros rurales de México.

Los tratamientos pre-germinativos no generaron respuestas similares en las tres especies probadas. La aplicación de la citocinina 6-benzilaminopurina incrementó la germinación de *B. copallifera* (Cuadros 8 y 9). En el caso de *B. glabrifolia* el porcentaje de germinación disminuyó con la escarificación ácida, y fue alta en el control y con la hormona. Es posible que el grado de acidez fuera muy alto y llegara a dañar a los embriones, por lo que podrían hacerse otras pruebas con concentraciones diferentes a la aquí usada.

La eficacia de la citosina usada en la germinación de algunas especies ha sido mostrada en los trabajos de Khan (1971), Nargaraja y Farooqi (1989), Phartyal *et al.* (2003) y Chuanren *et al.* (2004). En adición se observó que este tratamiento disminuyó los días transcurridos para el inicio de la germinación en *B. copallifera* y *B. bicolor* (Cuadro 10, Figuras 4 y 6). Sin embargo, la forma en que opera esta hormona no ha sido dilucidada hasta la fecha, y no parece tener un efecto similar en las diversas especies del género.

En *B. glabrifolia* el porcentaje de germinación obtenido en esta prueba superó a los obtenidos en las dos anteriores. Por su parte la germinación de *B. bicolor* no se vio afectada por los factores experimentales, sin embargo su porcentaje de germinación (32% \pm 3.7 e. e.) fue menor al obtenido en campo.

CONCLUSIONES

Este primer estudio de la germinación de semillas de varias especies del género *Bursera* permitió alcanzar las siguientes conclusiones:

- Existe una alta proporción de semillas vanas (sin embrión) en las poblaciones de las seis especies estudiadas, especialmente en *B. fagaroides* y *B. grandifolia*, y no es posible distinguir las semillas vanas de las llenas por su aspecto externo.
- Las poblaciones analizadas de estas dos especies presentan una limitante en su reproducción sexual, importante para su regeneración en condiciones naturales y para su propagación en viveros a partir de semillas.
- La temperatura fluctuante incrementó la germinación de las semillas de cuatro especies (respecto a la registrada a temperatura constante).
- En campo, se alcanzó mayor germinación de tres especies en las condiciones de sombra bajo el dosel de SBC cerrada, que bajo el dosel más abierto de SBC perturbada.
- El almacenamiento en frío no resultó en una mayor germinación, por lo que las semillas pueden ser almacenadas a temperatura ambiente durante los seis meses posteriores a la colecta.
- No existe un tratamiento pre-germinativo efectivo para todas las especies. La evidencia indica que no existe latencia física, a pesar de la dureza del endocarpio de las semillas de *Bursera*.

LITERATURA CITADA

Andrés-Hernández, A. 2001. *Análisis y descripción de estructuras foliáceas de especies del género Bursera que se distribuyen en la cuenca del Balsas*. Tesis de Maestría. FES Zaragoza, UNAM. México, D. F.

Andrés-Hernández y Espinosa-Organista. 2002. *Morfología de plántulas de Bursera Jacq. Ex L. (Burseraceae) y sus implicaciones filogenéticas*. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 70: 5-12.

Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 1998. *Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. San Diego. 666 p.

Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 2004. *A classification system for seed dormancy*. Seed Science Research, 14: 1-16.

Becerra, J. y L. Venable. 1999. *Nuclear ribosomal DNA phylogeny and its implications for evolutionary trends in Mexican Bursera (Burseraceae)*. American Journal of Botany, 86 (7) 1047-1057

Besnier, B. F. 1988. *Semillas. Biología y tecnología*. Mundiprensa. Madrid. 637 p.

Bewley, J. D. y M. Black. 1994. *Seeds. Physiology of development and germination*. Plenum Press. New York. 445 p.

Bold, H. 1961. *The plant Kingdom*. Prentice-Hall. New Jersey. 310 p.

Bonfil, C., Trejo, I. y R. García-Barrios. 2004. *The experimental station "Barrancas del río Tembembe" for ecological restoration in NW Morelos, México*. Memorias del Congreso "Restoration on the Edge Society of Ecological Restoration Conference". 24-26 de agosto. Victoria, British Columbia, Canadá.

Bonfil, C., Mendoza-Hernández, P. y J. A. Ulloa. 2007. *Propagación de siete especies del género Bursera a partir de estacas*. Agrociencia, 41 (1) 103-109.

Bradbeer, J.W. 1988. *Seed. Dormancy and germination*. Blackie Academic & Professional. New York. 146 p.

Castellanos, C. 2009. *Propagación vegetativa, establecimiento y crecimiento inicial de cuatro especies del género Bursera*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 84 p.

Camacho, F. 1987. *Dormición de semillas. Aspectos generales y tratamientos para eliminarla*. Tesis de Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, Estado de México. México. 174 p.

Ceccon, E. 2001. *Efectos de la fertilización con nitrógeno en la dinámica de plántulas de árboles de dos bosques tropicales secos secundarios en Yucatán, México*. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.

Cervantes, V., González, M., Nava, N. y G. Hernández. 2001. *Técnicas para propagar especies nativas de selva baja caducifolia y criterios para establecer áreas de reforestación*. UNAM, SEMARNAP, PNR, Las prensas de ciencias. México. 174 p.

Challenger, A. 1998. *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro*. CONABIO, -Instituto de Biología, UNAM-. México. 847 p.

Chacoff N. P., J. M. Morales y M. Vaquera. 2004. *Efectos de la fragmentación sobre la aborción y depredación de semillas en el Chaco Serrano*. Biotropica, 36: 109-117.

Chauhan, J., Tomar, Y., Indrakumar-Singh, N., Ali, S. y Debarati. 2009. Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *Journal of American Science*, 5 (5): 79 - 84

Chuanren, D., Bochu, W., Wanqian, L., Jing, Ch., Jie, L. y Z. Huan. 2004. *Effect of chemical and physical factors to improve the germination rate of Echinacea angustifolia seeds*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 37: 101-105.

- Cronquist, A. 1971. *An introductory botany*. 2 ed. Harper & Row. New York. 882 p.
- Cuatrecasas, J. 1957. 1. Burseraceae. *Prima flora colombiana*, 12 (2) 375-387.
- Daly, D. C. 1993. *Notes on Bursera in South America, including a new species*. *Studies in Neotropical Botany*, 12 (2) 375-387.
- Burseraceae. VII. *Brittonia*, 45: 240-246.
- Desai, B. B., Kotecha, P. M. y D. K. Salunkhe. 1997. *Biology, production, processing and storage*. Marcel Dekker. New York. 627 p.
- Don, R. 2006. *The International Seed Testing Association (ISTA) Handbook on seedling evaluation*. I.S.T.A. 3 ed. Bassersdorf.
- Fenner, M. y K. Thompson. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge Univ. Press. UK. 250.
- García, J. 2008. *Diagnóstico ambiental de las unidades naturales de la estación de restauración ecológica "Barrancas del río Tembembe" con fines de restauración*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- González-Zertuche, L. y A. Orozco-Segovia. 1996. *Método de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: Manfreda brachystachya*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 58: 15-30.
- Guizar, E. y A. Sánchez. 1991. *Guía para el reconocimiento de los principales árboles del alto Balsas*. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 207.
- Harper, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press. U.K. 892 p.
- Hartman, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. y R. L. Geneve 1997. *Plant propagation: principles and practices*. Prentice Hall. New Jersey. 770 p.

Hernández-Apolinar, M., Valverde, T y S. Purata. 2006. *Demography of Bursera glabrifolia, a tropical tree used for folk woodcrafting in southern Mexico: An evaluation of its management plan*. Forest Ecology and Management, 223: 139-151.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 1998. *Cuaderno estadístico municipal. Estado de Morelos: Temixco*. INEGI-Gobierno del Estado de Morelos. 159 p.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 1999. Estado de Morelos, México. Guía turística. INEGI-SECTUR. 205 p.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2001. Anuario estadístico del Estado de Morelos. INEGI-Gobierno del Estado de Morelos. 461 p.

Johnson, M. B. 1992. *The genus Bursera (Burseraceae) in Sonora, Mexico and Arizona, U.S.A*. Desert Plants, 10: 126-143.

Khan, A. A. 1971. *Cytoquinins: Permissive role in seed germination*. Science, 171 (3974) 853- 859.

Landis, T. D., Tinus, R. W. y J. P. Barnett. 1998. *The container tree nursery manual*. (6) Seedling propagation. Agricultural Handbook 674. Washington, D. C. USDA Forest Service. 166 p.

Medrano, F. 2004. *Las comunidades vegetales de México. Propuesta para la unificación de la clasificación y nomenclatura de la vegetación de México*. SEMARNAT, INE. 2 ed. Distrito Federal. 81 p.

Menges, E. S. 1991. *Seed germination percentage increases with population size in a fragmented prairie species*. Conservation Biology, 5: 158-164.

Miranda, F. y E. Hernández-Xolocotzi. 1963. Los tipos de Vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 28: 29- 179.

Montes, L. C. 2006. *Crecimiento y supervivencia de plántulas de Bursera glabrifolia en respuesta a diferentes condiciones ambientales*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 70 p.

Nargaraja, C. y A. A. Farooqi. 1989. *Studies on the seed germination as influenced by various pre-treatments in Bursera*. Indian Perfumer, 33: 48-53.

Nepamuceno, F. y P. de la Garza. 1986. *Análisis radiográfico de semillas forestales en México*. Ciencia forestal, 11 (59)

Ordóñez, M de J. y O. Flores. 1995. *Áreas naturales protegidas*. Serie cuadernos de conservación No. 4. Pronatura, A.C. México, D. F. 43 p.

Ortiz-Pulido, R., y V. Rico-Gray. 2006. *Seed dispersal of Bursera fagaroides (Burseraceae): the effect of linking environmental factors*. The Southwestern Naturalist, 51: 11-21.

Patiño, F., de la Garza, P., Villagomez, Y., Talavera, I. y F. Camacho. 1983. *Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales*. Boletín divulgativo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, 63: 7-181.

Piña, E. 2005. *Análisis de la estructura y composición de la selva baja caducifolia con diferentes grados de conservación en la zona de Xochicalco, Morelos, México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.

Phartyal, S. S., Thapliyal, R.C., Nayal, J. S. y G. Joshi. 2003. *Seed dormancy in Himalayan maple (Acer caesium) I: Effect of stratification and phyto-hormones*. Seed Science & Technology, 31: 1-11.

Ramírez, C. 2003. *Estudio comparativo de la germinación de tres especies de Neobuxbaumia (Cactaceae) que difieren en su nivel de rareza*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 71 p.

Ramos-Ordoñez, M., Márquez-Guzmán, J. y M. del Coro. 2008. *Parthenocarpy and seed predation by insects in Bursera morelensis*. *Annals of Botany* 102: 713 – 722.

Raven, P., Evert, R. y S. Eichhorn. 1999. *Biology of plants*. W.H. Freeman and Company. 6 ed. New York. 944 p.

Ray, G. y B. J. Brown. 1994. *Seed ecology of woody species in a Caribbean Dry Forest*. *Restoration Ecology*, 2(3): 156-163.

Ray, G. y B. J. Brown. 1995. *Restoring Caribbean Dry Forests: Evaluation of tree propagation techniques*. *Restoration Ecology*, 3 (2): 86-94.

Rodríguez L, A. y L. I. Álvarez A. 1992. *Tratamientos para estimular la germinación en semillas con problemas de latencia*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 301 p.

Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México. 432.

Rzedowski, J. 1981. *Flora fanerogámica del valle de México*. Continental. México. 1406 p.

Rzedowski, J. 1991. *Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México*. *Acta Botánica Mexicana*, 14: 3-21.

Rzedowski, J. y H. Kruse. 1979. Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). *Taxón*, 28: 103-116.

Rzedowski, J. y F. Guevara-Fefer. 1992. *Familia Burseraceae. Flora del bajo y de regiones adyacentes*. Fasiculo 3. Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. México. 46 p.

Rzedowski, J. y Calderón. 1996. *Nota sobre Bursera cinerea Engl. (Burseraceae) en el estado de Veracruz*. *Acta Botánica Mexicana*, 37: 33-38.

Rzedowski, J., R. Medina y G. Calderón. 2005. *Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de Bursera (Burseraceae)*. Acta Botánica Mexicana, 70: 85-111.

Sadasivan, L. y C. Neyra. 1985. *Flocculation in Azospirillum brasilense and Azospirillum lipoferum: exopolysaccharides and cyst formation*. Journal of bacteriology. 163 (2): 716 – 723.

Standley, P. C. 1923. *Trees and shrubs of Mexico*. Contr. U.S. Nat. Herb., 23 (3) 542-552.

Standley, P. C. y A. Steyemark. 1946. *Flora de Guatemala*. Part V. Fieldiana Botany, 24: 235-444.

Steenhoudt, O. y J. Vanderleyden. 2000. *Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects*. FEMS Microbiology Reviews, 24: 487-506.

Subsecretaría Forestal y de fauna silvestre (SFFS). 1994. *Inventario forestal periódico*. Memoria Nacional. Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre – Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México. 81 p.

Smith M., Wang, B., y H. Msanga. 2002. *Dormancy and Germination*. En: Vozzo, J. A. (ed). Tropical Tree Seed Manual. USDA Forest Service Agriculture Handbook, 721 pp: 149- 176.

Toledo-Manzur, C. A. 1982. *El género Bursera (Burseraceae) en el estado de Guerrero (México)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.

Trejo, I. 1996. *Características del medio físico de la Selva Baja Caducifolia en México*. Investigaciones geográficas. Boletín del Instituto de Geografía. UNAM (número especial), 4: 95-110.

Trejo, I. 1998. *Distribución y diversidad de las Selvas Bajas de México: Relaciones con el clima y el Suelo*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.

Trejo, I. 1999. *El clima de la selva baja caducifolia en México*. Investigaciones geográficas. Boletín del Instituto de Geografía. UNAM, 39: 40-52.

Trejo, I. 2005. *Análisis de la diversidad de la selva baja caducifolia en México*. (9) En: Sobre diversidad biológica: el significado de las diversidades alfa, beta y gamma. m3m: Monografías Tercer Milenio. Vol. 4. Zaragoza. 242 p.

Trejo, I. y R. Dirzo. 2000. *Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico*. Biological Conservation, 94: 133-142.

Vázquez-Yañez, C.; A. Orozco; M. Rojas; M. Sánchez y V. Cervantes. 1997. *La reproducción de las plantas: semillas y meristemos*. SEP. FCE. CONACYT. México, D.F. 167 p.

Verdú, M. y P. García-Fayos. 1998. *Ecological causes, function and evolution of abortion and parthenocarpy in Pistacea lentiscus (Anacardiaceae)*. Canadian Journal of Botany 76: 134-141.

Vleeshouwers, L.M.; H. J. Bouwmeester y C. M. Karsen. 1995. *Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology*. Journal of Ecology, 83: 1031-1037.

Vozzo, J. A. (ed). 2002. *Tropical Tree Seed Manual*. USDA Forest Service Agriculture Handbook, 721: 899

Woodson, E. y R. Schery. 1970. *Flora de Panamá (Burseraceae)*. Annals of the Missouri Botanical Garden, 57: 5-27.

Programa Estadístico Utilizado

StatSoft, Inc. (1998). STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE SEIS ESPECIES DE *Bursera* DEL CENTRO DE MÉXICO

SEED GERMINATION OF SIX *Bursera* SPECIES FROM CENTRAL MÉXICO

Consuelo Bonfil-Sanders^{1*}, Isabel Cajero-Lázaro¹ y Richard Y. Evans²

¹Departamento de Ecología y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510, México D. F., México (cbonfil@gmail.com). ²Department of Plant Sciences, University of California, Davis, CA 95616. USA.

RESUMEN

A pesar de que la tasa de deforestación de los bosques tropicales secos en México es alta, muy pocas especies nativas se propagan en viveros locales, lo que limita su restauración. Muchas especies de *Bursera* son elementos dominantes de estos bosques, pero su propagación es difícil por la germinación reducida de las semillas. En este trabajo se evalúa la germinación de semillas de seis especies de *Bursera* (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. fagaroides*, *B. glabrifolia* y *B. grandifolia*) del noroeste de Morelos, México. En un primer ensayo se encontró una alta proporción de semillas vanas en *B. bipinnata*, *B. fagaroides* y *B. grandifolia*. La germinación fue mayor con temperatura fluctuante que con temperatura constante. La germinación de semillas almacenadas de estas tres especies durante seis meses a temperatura ambiente y en refrigeración (5 °C) no difirió significativamente y fue del 30 al 60% en *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*. Una solución de benzyladenina (150 ppm) aumentó la germinación de una de las tres especies (*B. copallifera*). En campo, las semillas de *B. bicolor* y *B. copallifera* presentaron porcentajes de germinación similares a los registrados a temperatura fluctuante.

Palabras clave: Bosques tropicales secos, *Bursera*, germinación de semillas, restauración.

INTRODUCCIÓN

Ante la magnitud de la deforestación de los bosques tropicales secos más extensos de México –las selvas bajas caducifolias–, es urgente la propagación de sus especies nativas. Alrededor de 70% del área de selva baja se ha perdido en las últimas décadas, y 50% del área cubierta por este tipo de vegetación está formada por bosques perturbados (Trejo y Dirzo, 2000).

En México se distribuyen alrededor de 80 de las 100 especies de *Bursera* identificadas, la mayoría de las cuales son elementos conspicuos de muchos

ABSTRACT

Although the deforestation rate of the dry tropical forests in México is high, very few native species are propagated in local nurseries, which limits their restoration. Many *Bursera* species are dominant elements of these forests, but their propagation is difficult because of the reduced germination of their seeds. In this work an evaluation is made of seed germination of six species of *Bursera* (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. fagaroides*, *B. glabrifolia* and *B. grandifolia*) of the northwestern region of Morelos, México. In a first assay, a high proportion of empty seeds was found in *B. bipinnata*, *B. fagaroides* and *B. grandifolia*. Germination was higher with fluctuating temperature rather than with constant temperature. The germination of stored seeds of these three species during six months at room temperature and in refrigeration (5 °C) did not differ significantly and was from 30 to 60% in *B. bicolor*, *B. copallifera* and *B. glabrifolia*. A solution of benzyladenine (150 ppm) increased germination of one of the three species (*B. copallifera*). In the field, the seeds of *B. bicolor* and *B. copallifera* presented germination percentages similar to those registered at fluctuating temperature.

Key words: Dry tropical forests, *Bursera*, seed germination, restoration.

INTRODUCTION

Considering the magnitude of the deforestation of the most extensive dry tropical forests of México –the low tropical deciduous forests– the propagation of their native species is urgent. Approximately 70% of the area of low tropical deciduous forest has been lost in the past decades, and 50% of the area covered by this type of vegetation consists of disturbed forests (Trejo and Dirzo, 2000).

Approximately 80 of the 100 identified *Bursera* species are distributed in México, and most are conspicuous elements of many tropical forests (Rzedowski *et al.*, 2005), although they are often replaced by species that are more tolerant to disturbance in disturbed sites. The propagation of the *Bursera* species is highly relevant for the restoration of populations, such as those of *B. glabrifolia*, which have

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: Noviembre, 2007. Aprobado: Septiembre, 2008.

Publicado como NOTA en *Agrociencia* 42: 827-834. 2008.

bosques tropicales (Rzedowski *et al.*, 2005), aunque suelen ser reemplazadas por especies más tolerantes al disturbio en los sitios perturbados. La propagación de las especies de *Bursera* es muy relevante para restablecer poblaciones que, como las de *B. glabrifolia*, han sido diezmadas para elaborar artesanías (Purata *et al.*, 2004). Desafortunadamente, en México pocas especies de selva baja se propagan actualmente, y sólo unas cuantas especies de *Bursera* se propagan por estacas (Bonfil *et al.*, 2007).

Los reportes sobre la germinación de semillas de *Bursera* son escasos y variados (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999), pero destacan los de baja germinación (Andrés-Hernández y Espinosa-Organista, 2002). Bajo condiciones naturales, la germinación es frecuentemente menor que en laboratorio o invernadero (Ray y Brown, 1995; Ortiz-Pulido y Rico-Gray, 2006). No encontramos estudios publicados que evalúen el efecto de diferentes tratamientos pre-germinativos en *Bursera*, con excepción de uno realizado con *B. penicillata* (DC.) Engl. (Nargaraja y Farooqi, 1989).

En este trabajo se analiza la germinación de semillas de seis especies de *Bursera*: *B. bicolor* (Willd. ex Schtdl.) Engl., *B. bipinnata* (DC.) Engl., *B. copallifera* (Sessé & Moc. ex DC.) Bullock, *B. fagaroides* (H.B.K.) Engl., *B. glabrifolia* (H.B.K.) Engl., y *B. grandifolia* (Schtdl.) Engl., comunes en Morelos, México. En particular, se compara la germinación bajo condiciones de temperatura constante vs. temperatura fluctuante, así como el efecto del almacenamiento y algunos tratamientos pre-germinativos en la germinación de semillas de tres de las especies. En ellas se compara también la germinación en campo con la registrada en condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre septiembre y octubre de 2002 se recolectaron frutos de cinco especies de *Bursera* (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. glabrifolia* y *B. fagaroides*) al norte de Cuatepec, NO de Morelos, México (18° 51' 39" N, 99° 25' 15" W), y de *B. grandifolia* en la rivera del río Tembembe, cerca de Cuatepec. Los frutos se obtuvieron de al menos cinco árboles por especie, y se dejaron secar en un invernadero durante cuatro semanas. Se conservaron sólo las semillas de apariencia sana (sin orificios, deformaciones o manchas), y se mezclaron los lotes de cada especie.

Se realizó una primera prueba de germinación 30 días después de la recolecta. Se probaron dos tratamientos pregerminativos y dos temperaturas en semillas de las seis especies. Los tratamientos pregerminativos fueron: a) inmersión en ácido clorhídrico (pH 1.5, sol. 0.03 N) durante 15 min, b) escarificación mecánica con lija (realizada manualmente, ~40 s por semilla) y, c) testigo control, sin tratar. Las semillas se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% (10 min) y se colocaron en cajas de Petri en

been over harvested for the elaboration of handcrafts (Purata *et al.*, 2004). Unfortunately, in México few species of the low tropical deciduous forest are now being propagated, and only a few species of *Bursera* are propagated by cuttings (Bonfil *et al.*, 2007).

Reports of seed germination of *Bursera* are scarce and varied (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999), but most report low germination (Andrés-Hernández and Espinosa-Organista, 2002). Under natural conditions, germination is often lower than in the laboratory or greenhouse (Ray and Brown, 1995; Ortiz-Pulido and Rico-Gray, 2006). We did not find published studies that evaluate the effect of different pre-germination treatments in *Bursera*, with the exception of one made with *B. penicillata* (DC) Engl. (Nargaraja and Farooqi, 1989).

In this work, an analysis is made of seed germination in six *Bursera* species common in Morelos, México: *B. bicolor* (Willd. ex Schtdl.) Engl., *B. bipinnata* (DC.) Engl., *B. copallifera* (Sessé & Moc. ex DC.) Bullock, *B. fagaroides* (H.B.K.) Engl. In particular, a comparison is made of germination under conditions of constant temperature vs. fluctuating temperature, as well as the effect of storage and some pre-germination treatments on seed germination of three of the species. A comparison is also made in these species of germination in the field with germination under controlled conditions.

MATERIALS AND METHODS

Between September and October of 2002, fruits from five *Bursera* species were collected (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, *B. glabrifolia* and *B. fagaroides*) to the north of Cuatepec, NW of Morelos, México (18° 51' 39" N, 99° 25' 15" W), and of *B. grandifolia* on the banks of the river Tembembe, near Cuatepec. The fruits were obtained from at least five trees per species, and were left to dry in a greenhouse during four weeks. Only the seeds with a healthy appearance (without holes, deformations or spots) were conserved, and the lots within each species were mixed.

A first germination test was made 30 days after collection. Two pre-germination treatments were tested along with two germination temperatures on seeds of the six species. The pre-germination treatments were: a) immersion in 0.03 N hydrochloric acid (pH 1.5) for 15 min, b) mechanical scarification with sandpaper (applied manually, ~40 s per seed) and c) control group, without treatment. The seeds were disinfected by immersion in sodium hypochlorite at 10% (10 min) and were placed in Petri dishes in a medium composed of pasteurized black earth, perlite and inert sand (2:1:1, volume), with 20 seeds per dish; each dish was covered with a plastic film. Five dishes per treatment were randomly placed in a germination chamber at constant temperature (25 °C, photoperiod 12 h), and another five were placed in another chamber with fluctuating temperature (18-32 °C every 12 h,

un medio compuesto por tierra negra pasteurizada, perlita y arena inerte (2:1:1, volumen), con 20 semillas por caja; cada caja se cubrió con una película plástica. Se colocaron al azar cinco cajas por tratamiento en una cámara de germinación a temperatura constante (25 °C, fotoperiodo de 12 h), y otras cinco en otra con temperatura fluctuante (18-32 °C cada 12 h, mismo fotoperiodo). Las semillas se regaron cada tercer día con agua destilada y se les aplicó semanalmente una solución de Captan al 5% durante el primer mes, como fungicida. Las cajas se cambiaron de posición semanalmente durante los 60 días de observación para evitar posibles variaciones en las condiciones dentro de la cámara. Cada tercer día se registró la germinación, definida como la emergencia de una radícula de 5 mm. Los datos de porcentaje de germinación (previamente transformados con la función arcoseno) se analizaron mediante Análisis de Varianza de dos vías (factores: temperatura y tratamiento pre-germinativo).

Posteriormente se realizaron dos pruebas subsecuentes para estimar, de forma indirecta, la viabilidad de las semillas de las seis especies. En la primera, se analizaron 90-100 semillas por especie mediante imágenes de rayos X (Faxitron N, Model 43804N), las que permitieron diferenciar a las semillas llenas de las vanas (sin embrión). En la segunda, se analizaron por flotación en agua más de 300 semillas por especie (dependiendo de la disponibilidad), para separar las semillas vanas (vacías) de las que se hundieron (llenas) (Landis *et al.*, 1998).

Debido a que tres especies (*B. bipinnata*, *B. fagaroides* y *B. grandifolia*) presentaron una proporción muy baja de semillas llenas, los siguientes experimentos sólo se realizaron con las otras tres especies. Para analizar el efecto de las condiciones de almacenamiento, las semillas llenas (por el método de flotación) de *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*, se dividieron en dos grupos: uno se almacenó a temperatura ambiente (promedio ~20 °C) en un cuarto en bolsas de papel y el otro en un refrigerador a 5 °C, durante 170 días. Al final de este periodo, las semillas de cada condición de almacenamiento se separaron en tres grupos, un control y dos con tratamientos pregerminativos: a) escarificación en ácido sulfúrico concentrado (85%) por 20 min y, b) inmersión durante 12 h en una solución de 6-benzylaminopurina (Sigma Chemical Co.) a 150 ppm. Esta citocinina incrementó la germinación de semillas de *B. penicillata* (Nargaraja y Farooqi, 1989). Las semillas del grupo control y las expuestas a la citocinina se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5%, y luego con sulfato de cobre al 2% (10 min cada uno); las expuestas al ácido no se desinfectaron porque los microorganismos son eliminados por el ácido. Posteriormente se colocaron en cajas de Petri con el medio descrito antes, usando 10 semillas por caja y cinco repeticiones por tratamiento (dos condiciones de almacenamiento × tres tratamientos pregerminativos). Se usó una cámara de germinación con temperatura fluctuante (32 °C con luz y 18 °C en oscuridad, 12/12 h). La germinación se registró y los datos se analizaron como en el primer experimento.

La germinación en campo se evaluó en semillas de *B. bicolor*, *B. copallifera* y *B. glabrifolia*, que previamente se habían separado

same photoperiod). The seeds were watered every third day with distilled water, and a 5% solution of Captan was applied weekly during the first month, as fungicide. The position of the dishes was changed weekly during the 60 days of observation to avoid effects of possible variations in the conditions within the chamber. Germination, defined as the emergence of a radicle of 5 mm, was recorded every third day. The data of germination percentage (previously transformed with the arcsine function) were analyzed through two way Analysis of Variance (factors: temperature and pre-germination treatment).

Next, two tests were made to indirectly estimate the viability of the seeds of the six species. In the first test, 90-100 seeds per species were analyzed by means of X-ray images (Faxitron N, Model 43804N), which made it possible to differentiate the filled seeds from the empty ones (without embryo). In the second more than 300 seeds per species (depending on the availability) were analyzed by flotation in water, to separate the empty seeds from the ones that sink (filled) (Landis *et al.*, 1998).

Given that three species (*B. pinnata*, *B. fagaroides* and *B. grandifolia*) had a very low proportion of filled seeds, the following experiments were only carried out with the other three species. To analyze the effect of the storage conditions, the filled seeds (by the flotation method) of *B. bicolor*, *B. copallifera* and *B. glabrifolia* were divided into two groups: one stored at room temperature in paper bags and the other in a refrigerator at 5 °C, during 170 days. At the end of this period, the seeds of each storage condition were separated into three groups, one control group and two pre-germination treatments: a) scarification in concentrated sulfuric acid (85%) for 20 min, and b) immersion for 12 h in a 150 ppm solution of 6-benzylaminopurine (Sigma Chemical Co.). This cytokinin increased seed germination of *B. penicillata* (Nargaraja and Farooqi, 1989). The seeds of the control group and those exposed to the cytokinin were disinfected with a solution of 5% sodium hypochlorite, and then with 2% copper sulphate (10 min each); the seeds exposed to the acid were not disinfected because the microorganisms are eliminated by the acid. Next, they were placed in Petri dishes with the previously described medium, using 10 seeds per dish and five replicates per treatment (two storage conditions × three pre-germination treatments). A germination chamber with fluctuating temperature was used (32 °C with light and 18 °C in darkness, 12/12 h). Germination was recorded and the data were analyzed as in the first experiment.

Germination in the field was evaluated in seeds of *B. bicolor*, *B. copallifera* and *B. glabrifolia*, which had been previously separated by flotation and stored at room temperature during ~eight months. Ten seeds (without treatment) were placed in plastic mesh bags (18×11 cm), with 13 bags per species per site (except for *B. glabrifolia*, with five bags due to the limited availability of the seeds). The bags were buried at a depth of 5 cm at the end of May of 2003, in two sites: a conserved forest and a disturbed forest near Cuentepec; both with a northeastern exposure. Three weeks later the percentage of germination was registered. The results were analyzed with ANOVA.

mediante flotación y se habían almacenado a temperatura ambiente durante ~ ocho meses. Se colocaron 10 semillas (sin tratar) en bolsas de malla plástica (18×11 cm), con 13 bolsas por especie por sitio (excepto para *B. glabrifolia*, con cinco bolsas debido a la disponibilidad de semillas). Las bolsas se enterraron a 5 cm de profundidad a finales de mayo de 2003, en dos sitios: un bosque conservado y uno perturbado cerca de Cuentepec; ambos con exposición noreste. Tres semanas después se registró el porcentaje de germinación. Los resultados se analizaron mediante Análisis de Varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera prueba la germinación de *Bursera fagaroides* y *B. grandifolia* fue 0%. En las otras cuatro especies, la capacidad germinativa fue menor a 18%, y no fue afectada por los tratamientos pregerminativos (Cuadro 1). Sólo en *B. glabrifolia* hubo un incremento en la germinación (14% vs. 5-6%) por la escarificación mecánica. La temperatura tuvo un efecto significativo (Cuadro 1); en todas las especies las semillas en temperatura fluctuante alcanzaron mayores porcentajes de germinación que en constante (Cuadro 2).

Los bajos porcentajes de germinación obtenidos fueron, en parte, resultado de una alta proporción de semillas vanas. En *B. grandifolia*, *B. fagaroides* y *B. bipinnata* el porcentaje de semillas llenas fue muy bajo (Cuadro 3), mientras que en *B. copallifera* y *B. bicolor* esta cifra fue superior a 45%. Los resultados obtenidos por flotación y rayos X fueron similares, excepto en *B. glabrifolia*, en la cual la primera probablemente subestimó este porcentaje.

Adicionalmente, una prueba de remojo por 24 h realizada en 10 semillas intactas y 10 escarificadas de *B. fagaroides* y *B. grandifolia* mostró que son permeables, pues aumentó el peso tanto de las semillas sin tratar como de las escarificadas, sin diferencias significativas entre ambas, por lo que no existe latencia física (Baskin y Baskin, 2004).

Las semillas de todas las especies presentaron infestación por hongos en los experimentos de germinación,

RESULTS AND DISCUSSION

In the first test, the germination of *Bursera fagaroides* and *B. grandifolia* was 0%. In the other four species, the germinative capacity was lower than 18%, and was not affected by the pre-germination treatments (Table 1). Only in *B. glabrifolia* there was an increase in germination observed (14% vs. 5-6%) from the mechanical scarification. The temperature had a significant effect (Table 1); in all the species the seeds in fluctuating temperature reached higher percentages of germination than with constant temperature (Table 2).

The low percentages of germination obtained were, in part, a result of a high proportion of empty seeds. In *B. grandifolia*, *B. fagaroides* and *B. bipinnata*, the percentage of filled seeds was very low (Table 3), whereas in *B. copallifera* and *B. bicolor* this figure was greater than 45%. The results obtained through flotation and X-rays were similar, except in *B. glabrifolia*, in which flotation probably underestimated this percentage.

Additionally, a test of soaking for 24 h carried out on 10 intact seeds and 10 scarified seeds of *B. fagaroides* and *B. grandifolia* showed that they are permeable, given that the weight of both the untreated and scarified seeds increased, without significant differences between the two. Thus there is no physical latency (Baskin and Baskin, 2004).

The seeds of all of the species suffered fungal infection in the germination experiments, notably in *B. grandifolia* and less extensively in *B. bipinnata* and *B. fagaroides*. The fungi initiated in the seeds, rather than in the propagation medium, and could not be eliminated with the disinfection. However, some of the infested seeds germinated.

The storage conditions did not cause significant variation in the percentages of germination in the three species tested (Table 4); the seeds can be stored in a cool dry room at room temperature (~20 °C) for at least six months, without need of refrigeration. In *B.*

Cuadro 1. Resultados de los análisis de varianza del efecto de la escarificación (escarificación ácida vs. mecánica), y la temperatura (constante vs. fluctuante) en la germinación de semillas de cuatro especies de *Bursera*.

Table 1. Results of the analyses of variance of the effect of scarification (acid vs. mechanical scarification), and temperature (constant vs. fluctuating) on the germination of seeds of four *Bursera* species.

Especie	Escarificación		Temperatura		Interacción	
	F	P	F	P	F	P
<i>B. bicolor</i>	2.56	0.098	9.43	0.005	3.82	0.036
<i>B. bipinnata</i>	1.63	0.217	18.02	<0.001	0.14	0.869
<i>B. copallifera</i>	0.38	0.687	18.35	<0.001	1.89	0.173
<i>B. glabrifolia</i>	3.24	0.056	10.05	0.004	0.15	0.864

Nota: La germinación de las semillas de *B. fagaroides* y *B. grandifolia* fue nula.

Cuadro 2. Porcentajes de germinación (media \pm e.e.) de semillas de cuatro especies de *Bursera* a temperatura constante (25 °C) y fluctuante (18-32 °C).**Table 2.** Percentages of germination (mean \pm s.e.) of seeds of four *Bursera* species at constant (25 °C) and fluctuating (18-32 °C) temperature.

Especie	Germinación (%)	
	Temperatura	
	Constante	Fluctuante
<i>B. bicolor</i>	5.27 \pm 0.36 a	17.94 \pm 0.22 b
<i>B. bipinnata</i>	0.93 \pm 0.13 a	11.06 \pm 0.18 b
<i>B. copallifera</i>	0.17 \pm 0.08 a	6.79 \pm 0.18 b
<i>B. glabrifolia</i>	3.91 \pm 0.27 a	13.38 \pm 0.06 b

Letras distintas en el mismo renglón indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). N = 300 semillas por especie en cada condición de temperatura.

notable en *B. grandifolia* y menos extensiva en *B. bipinnata* y *B. fagaroides*. Los hongos se originaron en las semillas, más que en el medio de propagación, y no pudieron eliminarse con la desinfección. Sin embargo, algunas semillas infestadas germinaron.

Las condiciones de almacenamiento no hicieron variar significativamente los porcentajes de germinación en las tres especies probadas (Cuadro 4); las semillas pueden ser almacenadas en un cuarto fresco y seco a temperatura ambiente (~ 20 °C) al menos por seis meses, sin necesidad de refrigeración. En *B. copallifera* la citocinina aumentó la germinación, pero no tuvo efecto en *B. glabrifolia* (Cuadros 4 y 5). La escarificación ácida no afectó a *B. copallifera*, pero disminuyó la germinación de *B. glabrifolia*. El porcentaje promedio de germinación de *B. bicolor* fue 32%, sin diferencias entre tratamientos pregerminativos.

En todas las especies la germinación inició entre

Cuadro 4. Resultados de los análisis de varianza del efecto del almacenamiento a temperatura ambiente (~ 20 °C) y en refrigeración (5 °C) y del tratamiento pregerminativo (ácido sulfúrico y 6-benzylaminopurina) en la germinación de semillas de tres especies de *Bursera*.**Table 4.** Results of the analyses of variance of the effect of storage at room temperature (~ 20 °C) and in refrigeration (5 °C) and of the pre-germination treatment (sulfuric acid and 6-benzylaminopurine) in the germination of seeds of three *Bursera* species.

Especie	Germinación (%)					
	Tipo de almacenamiento		Tratamiento pre-germinativo		Interacción	
	F	P	F	P	F	P
<i>B. bicolor</i>	2.88	0.10	0.06	0.94	1.87	0.18
<i>B. copallifera</i>	0.42	0.52	11.37	<0.001	0.88	0.43
<i>B. glabrifolia</i>	0.72	0.41	12.88	<0.001	1.86	0.18

Cuadro 3. Estimaciones de semillas llenas en seis especies de *Bursera*.**Table 3.** Estimations of filled seeds in six species of *Bursera*.

Especie	Semillas llenas			
	Flotación		Rayos X	
	N	(%)	N	(%)
<i>B. bicolor</i>	1167	56.0	94	46.8
<i>B. bipinnata</i>	369	4.9	100	12.0
<i>B. copallifera</i>	3088	67.7	99	64.6
<i>B. glabrifolia</i>	367	25.1	100	61.6
<i>B. grandifolia</i>	404	2.0	100	0.0
<i>B. fagaroides</i>	1162	3.3	97	0.0

N = número total de semillas usadas en cada prueba.

copallifera the cytokinin increased germination, but it had no effect in *B. glabrifolia* (Tables 4 and 5). The acid scarification did not affect *B. copallifera*, but decreased germination of *B. glabrifolia*. The average percentage of germination of *B. bicolor* was 32%, without differences among pre-germination treatments.

In all of the species germination began between 2 and 8 days after sowing, and later increased until, in most of the cases, it was stabilized between days 23 and 27, although in *B. bicolor* some seeds did not germinate until day 40 (Figure 1). In *B. copallifera* most of the seeds treated with the cytokinin germinated between days 5 and 15, thus this hormone seems to produce an earlier and more synchronized germination.

In the field, *B. bicolor* had the highest germination percentage (32.7% \pm 2.0). Among sites, germination was higher under the conserved forest canopy than in the disturbed (more open) forest in two species (46.2 vs. 19.2% in *B. bicolor* and 17 vs. 10% in

Cuadro 5. Porcentajes de germinación (media \pm e.e.) de semillas de tres especies de *Bursera* almacenadas por seis meses y tratadas con ácido sulfúrico o con la citocinina 6-benzylaminopurina.**Table 5.** Percentages of germination (mean \pm s.e.) of seeds of three *Bursera* species stored for six months and treated with sulfuric acid or with the cytokinin 6-benzylaminopurine.

Especie	Germinación (%)		
	Tratamiento Pregerminativo		
	Control	Ácido	Citocinina
<i>B. bicolor</i>	33.7 \pm 7.0 a	29.4 \pm 3.7 a	33.3 \pm 8.6 a
<i>B. copallifera</i>	15.0 \pm 5.4 a	18.0 \pm 5.1 a	52.0 \pm 5.6 b
<i>B. glabrifolia</i>	63.0 \pm 5.5 b	25.0 \pm 4.3 a	67.0 \pm 8.1 b

Letras distintas en el mismo renglón representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

2 y 8 días después de la siembra, y posteriormente se incrementó hasta que, en la mayoría de los casos, se estabilizó entre los días 23 y 27, aunque en *B. bicolor*, algunas semillas germinaron hasta el día 40 (Figura 1). En *B. copallifera* la mayoría de las semillas tratadas con la citocinina germinaron entre los días 5 y 15, por lo que esta hormona parece producir una germinación más temprana y sincronizada.

En campo, la mayor germinación correspondió a *B. bicolor* ($32.7\% \pm 5.9$), seguida por *B. glabrifolia* ($17.8\% \pm 4.1$) y *B. copallifera* ($13.5\% \pm 2.0$). Entre sitios, la germinación fue mayor bajo el dosel del bosque conservado que en el perturbado (más abierto), en dos especies (46.2 vs. 19.2% en *B. bicolor* y 17 vs. 10% en *B. copallifera*; $p=0.023$ y $p=0.036$, respectivamente). La diferencia entre sitios no fue significativa en *B. glabrifolia*.

Destaca el alto porcentaje de semillas vanas en todas las especies. Este fenómeno explica la escasa germinación encontrada en *B. grandifolia*, *B. fagaroides* y *B. bipinnata*, pero incluso en las otras tres especies la proporción de semillas vanas fue relativamente alta ($40-53\%$, Cuadro 3). Es posible que factores genéticos, como la endogamia, estén relacionados con la producción de semillas vanas y los bajos porcentajes de germinación encontrados en algunas especies (Menges, 1991; Chacoff *et al.*, 2004); estos fenómenos serían relativamente más importantes en *B. fagaroides*, *B. grandifolia* y *B. bipinnata* –con árboles dispersos en la zona de estudio– y menos prevalentes en *B. copallifera* y *B. glabrifolia*, cuyas poblaciones son mucho más grandes en los bosques del NO de Morelos. Estas últimas registraron los mayores porcentajes de semillas llenas (Cuadro 3) y de germinación (Cuadro 5).

Se ha sugerido que es mejor recolectar los frutos de *Bursera* cuando ya está avanzada su madurez y han perdido el pericarpio (Johnson, 1992); en nuestro caso los de *B. grandifolia*, y en menor medida los de *B. fagaroides*, aun tenían un pericarpio de color verdoso. Sin embargo, éste se desprendió durante el periodo de secado en el invernadero.

El incremento en la germinación a temperatura fluctuante en relación a la registrada a temperatura constante (Cuadro 2), puede relacionarse con que las semillas de *Bursera* permanecen en el suelo durante 5-7 meses desde que son dispersadas (entre noviembre y enero) hasta que germinan (al iniciar las lluvias, mayo-junio). Es común que la germinación a temperatura fluctuante sea mayor que a temperatura constante en muchas especies (Fenner y Thompson, 2005), lo que simula mejor las condiciones naturales.

En general, los porcentajes de germinación obtenidos fueron bajos (Cuadro 5). Se ha reportado una baja

B. copallifera; $p=0.023$ and $p=0.036$, respectively). The difference among sites was not significant in *B. glabrifolia*.

The high percentage of empty seeds in all of the species is noteworthy. This phenomenon explains the low germination found in *B. grandifolia*, *B. fagaroides* and *B. bipinnata*, but even in the other three species the proportion of empty seeds was relatively high ($40-53\%$, Table 3). It is possible that genetic factors, such as endogamy, are related to the production of empty seeds and the low percentages of germination found in some species (Menges, 1991; Chacoff *et al.*, 2004); these phenomena would be relatively more important in *B. fagaroides*, *B. grandifolia* and *B. bipinnata* –with scarce trees in the study area– and less prevalent in *B. copallifera* and *B. glabrifolia*, whose populations are much larger in the forests of the NW of Morelos. The latter had the highest percentages of filled seeds (Table 3) and of germination (Table 5).

It has been suggested that it is better to collect the fruits of *Bursera* when their maturity is farther advanced and they have lost the pericarp (Johnson, 1992); in our case those of *B. grandifolia*, and to a lesser degree those of *B. fagaroides*, still had a green colored pericarp. However, this came off during the drying period in the greenhouse.

The increase in germination at fluctuating temperature relative to that registered at constant temperature (Table 2) may be related to the fact that the seeds of *Bursera* remain in the soil for 5-7 months from the time that they are dispersed (between November and January) until they germinate (at the

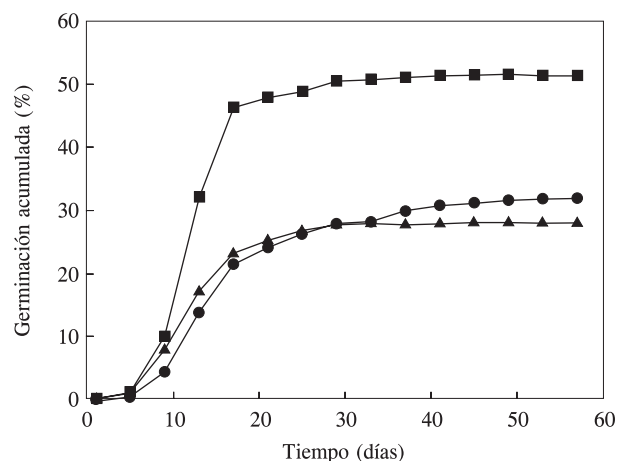


Figura 1. Germinación acumulada (todos los tratamientos) de *B. glabrifolia* (cuadros), *B. copallifera* (triángulos) y *B. bicolor* (círculos).

Figure 1. Accumulated germination (all of the treatments) of *B. glabrifolia* (squares), *B. copallifera* (triangles) and *B. bicolor* (circles).

germinación en algunas especies tropicales deciduas, incluyendo a *B. simaruba*, lo que se atribuye a una rápida pérdida de viabilidad de las semillas durante el almacenamiento (Ray y Brown, 1994). En nuestro caso el almacenamiento hasta por 170 días no produjo un decremento notable en la germinación. No se encontró latencia física en las semillas de dos especies, y es poco probable que exista un tipo de latencia generalizado.

Los porcentajes promedio de germinación en condiciones naturales de *B. bicolor* y *B. copallifera* fueron similares a los de la germinación en temperatura fluctuante (32.7% y 32% en *B. bicolor*, 13.5% y 15% en *B. copallifera*, respectivamente), pero éste no fue el caso en *B. glabrifolia*, que presentó mayor germinación en condiciones controladas que en el campo (63% y 17.8% respectivamente, Cuadro 5). La mayor germinación de *B. copallifera* y *B. glabrifolia* en el sitio más conservado probablemente se deba a que la disponibilidad de agua es mayor que en el sitio perturbado. Diversos autores (Ray y Brown, 1995; Ortiz Pulido y Rico Gray, 2006) indican que la sombra es esencial para la germinación y el establecimiento de plantas en bosques tropicales secos, particularmente de *Bursera*.

De las tres especies en las que se probó la aplicación exógena de la citocinina, sólo en *B. copallifera* se produjo un incremento en la germinación, como se ha reportado en *B. penicillata*, que se cultiva en la India (Nargaraja y Farooqi, 1989). Sin embargo, el papel de las citocininas en el rompimiento de la latencia y la movilización de reservas aun no se conoce bien (Bewley y Black, 1994; Baskin y Baskin, 2001).

La siembra directa de semillas en el campo es un método poco recomendable para la reintroducción de *Bursera*, sobre todo en los sitios donde el dosel es abierto; la plantación de árboles producidos en vivero parece una mejor alternativa. Sin embargo, en al menos tres de las especies la alta proporción de semillas vanas seguirá siendo una barrera para su propagación, por lo que es necesario realizar estudios de la biología reproductiva del género.

CONCLUSIONES

Las seis especies de *Bursera* estudiadas presentaron una alta proporción de semillas vanas; en *B. fagaroides* y *B. grandifolia* fue cercana al 100%. Bajo condiciones de temperatura fluctuante se incrementó la germinación de las cuatro especies que germinaron (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*, y *B. glabrifolia*). La germinación de semillas almacenadas durante seis meses a temperatura ambiente y en refrigeración no difirió. La citocinina benziladenina

onset of the rains, May-June). It is common that germination at fluctuating temperature is higher than at constant temperature in many species (Fenner and Thompson, 2005), which better simulates natural conditions.

In general, the germination percentages obtained were low (Table 5). A low germination has been reported in some tropical deciduous species, including *B. simaruba*, which is attributed to a rapid loss in viability of the seeds during storage (Ray and Brown, 1994). In our case the storage for up to 170 days did not produce a notable decrease in germination. Physical dormancy was not found in the seeds of two species, and it is not likely that there exists a generalized type of dormancy. The average germination percentages of *B. bicolor* and *B. copallifera* under natural conditions were similar to those in germination chambers with fluctuating temperatures (32.7% and 32% in *B. bicolor*, 13.5% and 15% in *B. copallifera*, respectively), but this was not the case in *B. glabrifolia*, in which germination was higher under controlled conditions than in the field (63% and 17.8%, respectively, Table 5). The higher germination percentage of *B. copallifera* and *B. glabrifolia* in the most conserved site is probably due to the greater availability of water than in the disturbed site. Diverse authors (Ray and Brown, 1995; Ortiz Pulido and Rico Gray, 2006) indicate that shade is essential for the germination and establishment of plants in dry tropical forests, particularly of *Bursera*.

Of the three species in which the exogenous application of cytokinin was tested, an increase in germination was produced only in *B. copallifera*, as has been reported in *B. penicillata*, which is cultivated in India (Nargaraja and Farooqi, 1989). However, the role of the cytokinins in the interruption of dormancy and the mobilization of reserves is not yet fully understood (Bewley and Black, 1994; Baskin and Baskin, 2001).

The direct sowing of seeds in the field is not an advisable method for the reintroduction of *Bursera*, especially in sites where the canopy is open; the planting of trees produced in nurseries seems to be a better alternative. However, in at least three of the species, the high proportion of empty seeds will continue to be an obstacle for their propagation, therefore it is necessary to carry out studies of the reproductive biology of the genus.

CONCLUSIONS

The six species of *Bursera* under study had a high proportion of empty seeds; in *B. fagaroides* and *B. grandifolia*, it was nearly 100%. The germination of four species (*B. bicolor*, *B. bipinnata*, *B. copallifera*,

incrementó la germinación de *B. copallifera* y la es-carificación ácida redujo la de *B. glabrifolia*. Se reco-mienda hacer plantaciones y no la siembra directa de semillas de *Bursera* en los proyectos de repoblación de bosques tropicales secos.

AGRADECIMIENTOS

F. Camacho, P. E. Mendoza, E. Piña, I. Trejo y J. Ulloa participaron en la recolecta de semillas. R. T. Campos, L. López-Esquivel y M. Hernández-Apolinar ayudaron en el trabajo de laboratorio. T. Valverde y dos revisores anónimos hicieron sugerencias útiles que mejoraron el manuscrito original. A la Universidad Nacional Autónoma de México, por financiar los proyectos PAPIIT IN-231802 y SDEI-PTID-02 "Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano".

LITERATURA CITADA

- Andrés-Hernández, A., y D. Espinoza-Organista. 2002 Morfología de plántulas de *Bursera Jacq ex L.* (Burseraceae) y sus implicaciones filogenéticas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 70: 5-12.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2001. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego, CA, Academic Press. 666 p.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14: 1-16.
- Bewley, J. D., and M. Black. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York, Plenum Press. 445 p.
- Bonfil, C., P. E. Mendoza, and J. Ulloa. 2007. Root and callus development in cuttings of seven species of the genus *Bursera*. *Agrociencia*. 41: 103-109.
- Chacoff N. P., J. M. Morales y M. Vaquera. 2004. Efectos de la fragmentación sobre la aborción y depredación de semillas en el Chaco Serrano. *Biotropica*. 36: 109-117.
- Fenner, M., and K. Thompson. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge Univ. Press. 250 p.
- Johnson, M. B. 1992. The genus *Bursera* (Burseraceae) in Sonora, Mexico and Arizona, U.S.A. *Desert Plants*. 10: 126-143.
- Landis, T. D., R. W. Tinus, and J. P. Barnett. 1998. *The container tree nursery manual*. Vol. 6, Seedling propagation. *Agriculture Handbook* 674. Washington, D.C., USDA Forest Service. 166 p.

and *B. glabrifolia*) was increased by conditions of fluctuating temperature. Germination was not different among seeds stored for six months at room temperature or in refrigeration. The cytokinin benzyladenine increased the germination of *B. copallifera* and acid scarification reduced that of *B. glabrifolia*. It is recommended to carry out planting with nursery-grown trees and not direct sowing of seeds of *Bursera* in the restoration projects of dry tropical forests.

—End of the English version—



- Menges E. S. 1991. Seed germination percentage increases with population size in a fragmented prairie species. *Conservation Biology*. 5: 158-164.
- Nargaraja, C., and A. A. Farooqi. 1989. Studies on the seed germination as influenced by various pre-treatments in *Bursera*. *Indian Perfumer*. 33: 48-53.
- Ortiz-Pulido, R., and V. Rico-Gray. 2006. Seed dispersal of *Bursera fagaroides* (Burseraceae): the effect of linking environmental factors. *The Southwestern Naturalist*. 51: 11-21.
- Purata S., M. Chibnik, B. Brossi, y A. López. 2004. Figuras de madera de *Bursera glabrifolia* H.B.K. (Engl.) en Oaxaca, México. In: Alexiades, N. N., and P. Shanley (eds). *Productos forestales, medios de subsistencia y conservación. Estudios de caso sobre sistemas de manejo de productor forestales no maderables*. CIFOR. América Latina, Indonesia. pp: 415-437.
- Ray, G. J., and B. J. Brown. 1994. Seed ecology of woody species in a Caribbean dry forest. *Restoration Ecology*. 2: 156-163.
- Ray, G. J., and B. J. Brown. 1995. Evaluation of tree propagation techniques. *Restoration Ecology*. 3: 86-94.
- Rzedowski, J., R. Medina-Lemos, y G. C. Rzedowski. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana*. 70: 85-111.
- Trejo, I., and R. Dirzo. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national analysis in Mexico. *Biological Conservation*. 94: 133-142.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer-Silva, M. Gual-Díaz, y C. Sánchez Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO-Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.