



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Biología reproductiva de dos especies del género *Bursera*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

JAZMIN VELÁZQUEZ HERRERA



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. María del Consuelo Bonfil Sanders
2011**



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.

DATOS DEL JURADO

1.-Datos del alumno

Velázquez

Herrera

Jazmín

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO.

Facultad de Ciencias

Biología

096406908

2. Datos del Tutor

Doctora

María del Consuelo

Bonfil

Sanders

3.Sinodal 1.

Dra.

Silvia

Castillo

Argüero

4.Sinodal 2.

M.en C.

Rosa María

Fonseca

Juárez

5.Sinodal 3.

Dr.

David Nahum

Espinoza

Organista

6.Sinodal 4.

Dra.
Mariana
Hernández
Apolinar

7 Datos del trabajo escrito.

Biología reproductiva de dos especies del género *Bursera*.

70 paginas

2011.

Selva baja, Bursera, reproducción, viabilidad, polinización, frutos.

Índice

I.	Introducción		1
II.	Antecedentes		3
	II.1	Antecedentes del género <i>Bursera</i>	4
	II.2	Los estudios de fenología.	6
	II.3	Reproducción – Desarrollo y viabilidad de frutos y semillas	7
	II. 4	Polinización	10
	II. 5	Objetivos	12
III	Métodos		13
	III.1	Zona de estudio.	13
	III.2	Especies de estudio	13
	III.3	Diseño experimental	17
	III.3.1	Fenología reproductiva	17
	III.3.2	Número de anteras y viabilidad de polen	17
	III.3.3	Polinización	18
	III.3.4	Viabilidad de frutos.	19
	III.4	Análisis de datos.	21
	III.4.1	Fenología	21
	III.4.2	Número de anteras y viabilidad de polen	21
	III.4.3	Polinización y estado de los frutos	21
IV	Resultados		22
	IV.1	Fenología	22
	IV.1.1	Fenología reproductiva de árboles macho de <i>Bursera copallifera</i> 2007y 2008	22
	IV.1.2	Variación interindividual de árboles macho y hembra de <i>B. copallifera</i> 2007 y 2008	26
	IV.1.3	Fenología reproductiva de árboles macho y hembra de <i>B. glabrifolia</i> 2007 y 2008	32
	IV. 1.4	Variación interindividual de árboles macho y hembra de <i>B. glabrifolia</i> 2007 y 2008	36
	IV.2	Frecuencia en el número de anteras	42

IV.3	Viabilidad de polen	43
IV.4	Estado de los frutos de <i>B. copallifera</i>	44
IV.4.1	Prueba de flotación	44
IV.4.2	Prueba de rayos X	45
IV.4.3	Prueba de tetrazolio	46
IV.5	Viabilidad de frutos de <i>B. glabrifolia</i>	48
IV.5.1	Prueba de flotación.	48
IV.5.2	Prueba de rayos x	49
IV.5.3	Prueba de tetrazolio	50
V	Discusión y conclusiones	54
VI	Referencias	63

Agradecimientos:

A mi alma Mater: LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, que en su carácter laico y gratuito me brindó el gran privilegio de estudiar en sus aulas con los mejores profesores.

A la Dra. María del Consuelo Bonfíl, gracias por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, por el apoyo moral que me has brindado, por todas las enseñanzas, correcciones, por ser paciente y por tu amistad.

A la Dra. Mariana Hernández Apolinar por ayudarme en toda la realización de este trabajo, por todas las revisiones, por la paciencia, por ser mi maestra y amiga, por la motivación y la confianza.

A la Dra. Beatriz Ludlow Wiechers, quien me ayudo a realizar el estudio de viabilidad del polen. Maestra le agradezco, los conocimientos que me compartió y el tiempo que tan amablemente me brindó.

A la Dra. Silvia Castillo, a la M. En C. Rosa María Fonseca, al Dr. David Nahum Espinoza, por su apoyo en la revisión de este trabajo.

Al Dr. José Jaime Zuñiga, por su apoyo en la elaboración de las pruebas estadísticas.

A Félix Ayala y Salvador Baéz por su gran ayuda en el campo. Chavita quiero corresponder a tu ayuda y poderte brindar mi apoyo, cuando te toque realizar tu trabajo de tesis.

A todo el equipo del Laboratorio de Especializados de Ecología, quienes me han brindado su apoyo. Especialmente a Consuelo, Mariana e Irene Pizanty mujeres excepcionales.

A mi familia:

A Juan Ramón Velázquez, por enseñarme a respetar y amar a la naturaleza y la vida. Gracias papá, por todo el apoyo brindado.

A *Marce* mi madre por todo su apoyo. Por qué siempre te ha interesado lo que hago, por tu solidaridad. Por esperarme siempre que llegaba de la escuela.

A Perla, Cami, Angélica, Salvador y Catita por su apoyo. Especialmente a mi hermana *Perlita* quien siempre me ha brindado su apoyo incondicional, sin el cual no hubiera podido concluir este trabajo. Perla gracias por ser siempre solidaria conmigo, por ser mi amiga y escucharme.

A Salva, por qué tu sonrisa y creatividad me alegran la vida.

Cami, por tu apoyo, por darme la mano y por haber recorrido junto a mí este camino y como dice Benedetti "...y en la calle codo a codo somos mucho más que dos. Gracias por tu amor y amistad".

A *Milu* Lucia Chavira, por qué siempre has sido un gran apoyo, gracias.

A mis amigos:

Mariana, Jaqui, Raúl, Mariano, Alberto Novales (Steve). Pedro y Sinué .

I. Introducción

La Selva Baja Caducifolia

México es considerado un país megadiverso por su gran diversidad biológica, que es producto de su historia geológica y fitogeográfica (Mittermeier 1992). En el país se encuentran representadas casi todas las formaciones vegetales del planeta (Dirzo 1992), entre las que destacan los bosques templados, las comunidades alpinas, la vegetación acuática, los matorrales de afinidad xérica y los bosques tropicales (Rzedowski 1992).

Entre los tipos de vegetación tropical, las selvas subhúmedas son uno de los ecosistemas más representativos del país, por su extensión y su diversidad florística. Su extensión potencial (~340 000 Km²), equivale al 17% de la superficie total del país, lo que constituye la tercera zona ecológica más importante de México (Challenger 1998). En ella se encuentran distintos tipos de vegetación tropical, tal es el caso de selvas altas o medianas subcaducifolias, la selva espinosa y la selva baja caducifolia (SBC).

En particular la selva baja caducifolia (SBC *sensu* Miranda y Hernández-X 1963) o bosque tropical caducifolio (BTC *sensu* Rzedowski 1981) es el tipo de bosque tropical con mayor extensión en México, pues comprende ca. 60% del área total cubierta por bosques tropicales (Trejo 1998). En este trabajo se seguirá la clasificación de Miranda y Hernández X., por lo que en adelante se usará el nombre de selva baja caducifolia, en el entendido de que es un sinónimo de bosque tropical caducifolio o de bosque tropical seco.

Este tipo de vegetación tiene un alto porcentaje de flora endémica, ya que 40% de las especies que se encuentran en ella son exclusivas de México, mientras que en

las selvas tropicales húmedas el endemismo es mucho menor, de ~5% (Trejo 1998).

La SBC se distribuye desde Sonora hasta Chiapas por la vertiente del Pacífico; sus principales entradas incluyen las cuencas de los ríos Balsas y Santiago. También se encuentra en el Bajío, en algunas porciones del valle de Tehuacán-Cuicatlán, así como en áreas aisladas y discontinuas en el Golfo, desde Tamaulipas hasta Yucatán (Trejo 1998). Esta amplia distribución geográfica en el país está definida, por una parte, por la precipitación (entre ~ 400 y 1300 mm por año) que se concentra en una parte del año y, por otra parte, por la temperatura media anual (de 20 a 29 °C), características del clima cálido-subhúmedo Aw (García 1988). Además, este tipo de vegetación se distribuye en zonas con características geológicas y edáficas variables, lo que contribuye a su gran diversidad florístico-fisonómica (Trejo 1998). En general, los suelos son someros y pedregosos, con buen drenaje y con un alto contenido de arena y /o arcilla.

Fisonómicamente, la SBC está dominada por árboles de talla baja a mediana (5 a 15 m), que presentan una fenología muy marcada, asociada a la alta estacionalidad de la precipitación, es decir, presentan follaje en la época de lluvias, luego pierden las hojas y entran en estado de reposo durante la época seca del año. Las familias mejor representadas son Leguminosae, Euphorbiaceae, Cactaceae, Compositae y Burseraceae (Trejo 1998).

Con respecto a su estado de conservación, el área ocupada por las selvas bajas ha registrado una pérdida acelerada en los últimos años en México, debido generalmente a su conversión a tierras de uso agrícola o ganadero (Challenger 1998). Además, por ser sensibles al disturbio pueden, con relativa facilidad, pasar a formar asociaciones secundarias que se caracterizan por ser fisonómica y ecológicamente estables y en las que la regeneración natural se ve limitada (Rzedowski y Calderón 1987).

La magnitud de la perturbación, transformación y eliminación que han sufrido las selvas bajas hace patente la urgencia de llevar a cabo acciones para su conservación. Sin embargo, estos ecosistemas son aún poco conocidos, por lo que es importante generar conocimientos ecológicos y biológicos básicos sobre las comunidades y las especies que las conforman (Murphy y Lugo 1986). Una de las áreas que necesita ser desarrollada es la propagación de especies nativas (Bonfil y Trejo 2010), que resulta esencial para establecer estrategias de conservación y restauración. Los estudios de fenología y de desarrollo y viabilidad de frutos y semillas (i.e. distintos aspectos de la biología reproductiva de las especies) proveen de información básica que puede ser aplicada para establecer programas de restauración, por ejemplo, para la producción de plántulas de especies nativas.

El presente trabajo busca conocer algunos aspectos de la biología reproductiva de *Bursera copallifera* y *B. glabrifolia*, especies dominantes de las selvas bajas de Morelos en buen estado de conservación, pero poco abundantes en sitios perturbados. Se ha estimado que en dicho estado el 78% de los remanentes de la SBC son asociaciones secundarias y sólo el 22% puede considerarse como bosque conservado (Trejo y Dirzo 2000), y en este contexto resulta relevante analizar en forma detallada la fenología reproductiva, la polinización y el desarrollo inicial de las semillas de las dos especies a fin de contribuir a los programas de restauración, tanto en el estado de Morelos como en otras partes de país, ya que son especies con una amplia distribución en México.

II. Antecedentes

II.1. Estudios previos sobre el género *Bursera*

En la familia Burseraceae se encuentran representadas alrededor de seiscientas especies de árboles y arbustos, divididas en veinte géneros (Johnson 1992),

aunque el número de géneros y especies reconocidos varía entre diferentes autores. Se distribuye en las regiones tropicales de África, Asia y América, y se caracteriza por las resinas aromáticas que producen sus tejidos y por su corteza, que frecuentemente es lisa.

México es el centro de diversidad del género *Bursera*, con alrededor de ochenta especies descritas (Rzedowski *et al.*2004), las cuales se agrupan en dos secciones: *Bullockia* y *Bursera*. Las especies de la sección *Bullockia* se distinguen por tener frutos bivalvados, dehiscentes y semillas negras con un pseudoarilo de color naranja que cubre de la mitad a tres cuartas partes de éstas. Su madera es dura y la corteza no es exfoliante. A esta sección pertenecen, entre otras especies, *B. copallifera*, *B. glabrifolia*, *B. bipinnata* y *B. bicolor*. Las especies de la sección *Bursera* tienen frutos trivalvados, semillas de colores claros y cubiertas en su totalidad por un pseudoarilo delgado. La madera es suave y su corteza se exfolia en hojas papiráceas (Johnson 1992). A esta sección pertenecen, entre otras especies, *B. grandifolia*, *B. lancifolia*, *B. longipes* y *B. fagaroides*. Algunas especies del género son perfectamente dioicas, mientras que en otras los individuos masculinos suelen tener una pequeña proporción de flores femeninas y en otras especies además de existir flores unisexuales también parecen existir flores perfectas funcionales (Rzedowski y Kruze 1979).

No obstante que la reproducción es el medio a través del cual se perpetúan las poblaciones y las especies (Janzen 1971) y es el proceso que permite colonizar nuevos territorios (Grant 1989; Berger *et al.* 2006), a la fecha existen pocos estudios sobre la biología reproductiva del género *Bursera*; la mayor parte de la información es de tipo descriptivo y se ha utilizado para su descripción taxonómica. Entre los estudios realizados hasta la fecha sobre el desarrollo de frutos y semillas se encuentran los de Cortés (1998) y Ramos-Ordoñez *et al.* (2008).

Según Fenner (1985) son cuatro las principales causas de mortalidad de los óvulos y semillas antes de la fase de dispersión: limitación de recursos, depredación, desarrollo fallido debido a defectos genéticos y deficiencias en la polinización. En el caso de *Bursera*, se ha encontrado una gran proporción de semillas vanas, sin embrión, así como porcentajes de germinación muy bajos en *B. bipinnata*, *B. fagaroides* y *B. grandifolia*. Aunque en *B. copallifera* y *B. glabrifolia* la proporción de semillas viables fue mayor, la germinación no llegó al 50% (Bonfil et al. 2008).

En observaciones de campo Rzedowski y Ortiz (1988) reportaron que las anteras de *B. medranoana* no presentan polen y Cortés (1998) describió la presencia de semillas apomícticas (producidas por reproducción asexual, en este caso agamospérmica), con embriones formados somáticamente que provienen del tegumento interno. Por su parte Verdú y García – Fayos (1998) reportaron la presencia de frutos partenocárpicos (a los que definen como frutos sin semilla, o sin embrión) en dos especies de la familia *Anacardiaceae* (*Pistacia lentiscus* y *P. terebinthus*), un grupo hermano de la familia *Burceraceae*, y comentan que estos frutos también se presentan en *B. fagaroides* y *B. morelensis*. Ramos Ordoñez (2008) también reportó la presencia de frutos partenocárpicos, definidos de la misma manera, en *B. morelensis*.

Considerando estos antecedentes, en este estudio se analiza en forma detallada la fenología floral y de los frutos, la polinización y la viabilidad de las semillas de dos especies del género *Bursera*: *B. copallifera* y *B. glabrifolia*. Con ello se pretende contribuir al conocimiento ecológico básico de dichas especies, que tienen una distribución muy amplia en México y que son elementos comunes en muchas comunidades de selva baja del país, y en particular en las de Morelos (Hernández et al. 2010), en donde se realizó el trabajo de campo del presente estudio.

Además de las aportaciones al conocimiento básico, este estudio puede contribuir, en el aspecto práctico, a establecer las fechas adecuadas de colecta de semillas para cada especie en la zona de estudio, así como a tener una estimación previa confiable de la proporción de semillas viables que produce cada especie, así como de las variaciones interindividuales que pueden esperarse.

II.2 Los estudios de fenología

La palabra fenología deriva del griego *Phaino*, que significa aparecer o mostrar (Singh y Singh 1992). La fenología es una herramienta que nos permite conocer el ritmo en el que se generan distintos procesos biológicos, los cuales son periódicos y están relacionados con los cambios estacionales, como son el periodo de floración, de fructificación y en el caso de las especies caducifolias la aparición y pérdida de las hojas. Los estudios fenológicos son importantes para comprender algunos aspectos de la reproducción de las plantas, como el inicio del periodo reproductivo, la interacción planta-polinizador, la maduración de los frutos y su posterior dispersión.

La marcada estacionalidad de las lluvias es un factor determinante en la estructura, en la distribución de especies y en el funcionamiento de los bosques tropicales secos (BTS) del mundo (Murphy y Lugo 1986), y la selva baja caducifolia es un tipo de bosque tropical seco. La estacionalidad de las lluvias es un factor ecológico dominante cuando los patrones temporales de actividad biológica, como el desarrollo o la reproducción, se encuentran sincronizados con la disponibilidad de agua. En comunidades de bosques y sabanas tropicales los patrones fenológicos están influenciados por variaciones en los periodos de lluvia o por procesos de competencia, debido a un limitado número de polinizadores o dispersores de semillas (Frankie 1974).

En los SBC el periodo de secas se caracteriza por una intensa actividad fenológica (Singh y Singh 1992), y la actividad de algunos herbívoros, polinizadores y

frugívoros está determinada por la aparición de nuevas hojas, flores y frutos (Justiniano y Todd 2000). Los periodos sin follaje o con poco follaje son favorables para la polinización por viento, así como para la exhibición floral para atraer a los polinizadores (Kolmeyer 1960).

La fenología floral es un elemento clave en las SBC, así como una estrategia. En primer lugar, el tiempo de floración de un individuo precisa estar sincronizado con los demás miembros de la población (Augsper 1981). En segundo lugar, si las plantas son polinizadas por insectos, los periodos de floración deben coincidir con la disponibilidad del polinizador apropiado, y en tercero, las plantas necesitan evadir la competencia de otras especies con quienes comparten al polinizador (Fenner 1985).

Frankie y colaboradores (1974) describieron dos picos de floración en el bosque tropical seco de Costa Rica, uno durante la época de secas y otro al comienzo de las lluvias. Por su parte Singh y Singh (1992) mencionan que existe una gran diversidad en la fenología de las hojas, flores y frutos entre especies del bosque tropical seco de la India. En la India la caída de las hojas inicia después del premonzón, asociada con la disminución de las temperaturas, mientras que el renuevo de las hojas inicia en el periodo de secas, cuando la temperatura aumenta (antes de la llegada del monzón), y la floración coincide con el pico del renuevo de las hojas.

II. 3. Reproducción – Desarrollo y viabilidad de frutos y semillas

La reproducción es un factor fundamental para la subsistencia de las especies (Janzen 1971), ya que es un requisito para que se perpetúe la población o la especie, así como el medio de multiplicación y colonización de nuevos territorios (Grant 1989).

Las plantas con flores pueden reproducirse de dos formas: asexualmente, generalmente por medio de órganos vegetativos, o sexualmente por medio de semillas. Las semillas presentan una serie de ventajas para las plantas, tales como producirse en grandes números, facilitar la dispersión a nuevos sitios, y sobrevivir a condiciones adversas; además, como resultado de la recombinación, la información genética de cada semilla es única (Fenner 1985) lo que contribuye a mantener la diversidad genética de poblaciones y especies. La reproducción sexual de las angiospermas comienza con la maduración del microgametofito y del megagametofito (saco embrionario) a través de una serie de divisiones mitóticas. Una vez maduro, el microgametofito está compuesto por tres células háploides: la célula del tubo polínico o célula vegetativa y de dos gametos masculinos, mientras que el megagametofito está compuesto de dos células llamadas sinérgidas al lado de la ovocélula, de la célula central binucleada y las tres células antípodas (Bold 1961, Cronquist 1971, Raven et al. 1999). Durante la polinización, dos gametos masculinos son transportados a través del tubo polínico hasta el saco embrionario un gameto masculino (n) se fusiona con la ovocélula (n) para formar el cigoto ($2n$). La célula central del saco embrionario con sus dos núcleos polares ($n + n$) se fusiona con el núcleo otro núcleo generativo del grano de polen para originar el endospermo. En el desarrollo posterior, el núcleo endospermico primario se convertirá en el endospermo y el cigoto se desarrollará en el futuro embrión; las otras estructuras que rodean al óvulo ya fertilizado, darán origen a la testa o cubierta seminal, y la pared del ovario al fruto o pericarpo (exocarpo, mesocarpo y endocarpo) (Cronquist 1971; Raven et al. 1999).

La agamosperma es una forma de reproducción asexual, en la cual se producen semillas viables con embriones que se producen de forma somática, sin fecundación. Incluye todos los tipos de apomixis, en la que los embriones y semillas se forman por medios asexuales, por lo que ambos términos pueden considerarse sinónimos (Grant 1989). Existen tres tipos de apomixis: diplosporia, aposporia y la embrionía adventicia.

- Diplosporia- La célula madre del saco embrionario o gamétopito femenino se desarrolla directamente en un embrión, proceso conocido con el nombre de partenogénesis diploide, el embrión es diploide.
- Aposporia- El saco embrionario tiene su origen en una célula somática de las múltiples que rodean la célula madre del saco embrionario. El embrión es diploide.
- Embrionia adventicia- no se desarrolla saco embrionario. El embrión se desarrolla a partir de las células del esporofito diploide (integumento) (Richards 2003)

La agamosperma puede ocurrir sin polinización, aunque en ocasiones puede requerirla, en ese caso se denomina pseudogamia (Grant 1989).

La floración, polinización, fecundación y fructificación son procesos clave para asegurar la transferencia del material genético de una generación a la siguiente (Verdu y García-Fayos 1998). Para llegar a su estado adulto las plantas pueden enfrentarse a diferentes tipos de peligros (Fenner 1985). Ciertas especies pueden ser propensas a tener una polinización deficiente o fallida, otras a la depredación de los óvulos maduros y algunas presentan dificultad para el establecimiento de las plántulas (Fenner 1985). Para algunos autores como Stephenson (1981), Sutherland (1986) y Charlesworth (1989) el principal proceso que controla el número de óvulos exitosos es la aborción de flores y frutos en los diferentes periodos de su desarrollo. Otro proceso que limita la fertilidad femenina es el desarrollo de frutos sin semilla, que se produce sin fertilización a este fenómeno se le conoce como apomixis (Schwabe y Mills 1981).

Fenner (1985) compara el proceso de regeneración con una carrera de obstáculos, ya que en cada una de las etapas del proceso (fertilización, maduración, dispersión, latencia, germinación y establecimiento de las plántulas), cada individuo tiene que superar los peligros generados por el ambiente, tales como competencia, depredación y enfermedades.

II.4 Polinización

En las angiospermas la polinización es la transferencia de los granos de polen de la antera al estigma y es un pre-requisito para el desarrollo de la semilla y el fruto, y la base del intercambio genético entre plantas y de la recombinación (Shivanna 2003). El transporte del polen de una flor al estigma de otra (fecundación cruzada) puede ser un camino largo o corto y el polen puede ser transportado por medios abióticos, como viento y agua, o bióticos, como insectos u otros animales (Faegri e Inversen 1989). Esta última es una interacción mutualista que se da entre plantas y animales, ya que cada elemento se beneficia en la presencia del otro (Kearns 1998). Los polinizadores más comunes son insectos, sin embargo, la polinización también puede ser llevada a cabo por aves, mamíferos u otros..

Existen diferentes tipos de polinización (Shivanna 2003):

- Autogamia: Transferencia de los granos de polen de la antera al estigma de la misma flor.
- Alogamia: Transferencia de los granos de polen de la antera al estigma de otra flor de la misma o de otra planta (incluye geitonogamia y xenogamia). La geitonogamia es la transferencia de los granos de polen de la antera de una flor al estigma de otra flor de la misma planta, mientras que la xenogamia es la transferencia de los granos de polen de la antera de una flor al estigma de una flor de otra planta.

La viabilidad del polen es la capacidad de los granos de polen para liberar los gametos masculinos en el saco embrionario. El periodo en el que los granos permanecen viables después de haber sido liberados es muy variable entre especies, por lo que se han propuesto tres categorías de clasificación del polen (Fritz y Lukaszewski 1989, Barnabas y Kovacs 1997):

1. Polen de vida corta: pierde la viabilidad en menos de una hora, bajo condiciones de sequía o de humedad. Lo presentan las familias Poaceae, Cyperaceae, Alismataceae, Juncaceae, Commelinaceae, y Asteraceae.
2. Polen de vida media: viabilidad de uno a tres meses; lo presentan la mayoría de las familias, como *Solanaceae*, *Rutaceae*, *Cruciferae*, *Ranunculaceae*, *Liliaceae* y *Amaryllidaceae*.
3. Polen de larga vida: se presenta en algunas gimnospermas (Pinaceae y Ginkgoaceae) y en algunas familias de angiospermas, como Leguminosae, Saxifragaceae y Araceae, en las cuales se mantiene la viabilidad por más de seis meses.

Stanley y Liskens (1974) sugieren que la falta de respiración en el sustrato y(o) la falta de activación de las enzimas y el crecimiento de hormonas son los responsables de la pérdida de viabilidad del polen. De acuerdo con Shivanna y Heslop-Harrison (1981) la pérdida de la membrana es la primera causa de que se pierda la viabilidad del polen, lo que puede ocurrir cuando la planta está sujeta a periodos de desecación, aunque existen especies cuyo polen puede resistirla por largos periodos (Shivanna 2003).

Aunque se han realizado estudios sobre la morfología del polen de algunas especies del género *Bursera*, hasta la fecha no se ha evaluado su viabilidad, con excepción de un trabajo realizado con polen obtenido de anteras de ejemplares de herbario (Ludlow et al. 2007), y una evaluación en *B. morelensis* (Cortés 1998). Es por ello que en este estudio se consideró adecuado realizar un análisis de la viabilidad del polen en las especies de estudio, evaluando su variación entre individuos y especies, con la finalidad de establecer si ésta podría ser una variable que influyera en la baja producción de frutos y/o la producción de frutos vanos reportada previamente en algunas especies del género.

Las deficiencias en la polinización han sido muy bien estudiadas en plantas cultivadas (Mc Gregor 1976). Algunos trabajos han mostrado que en plantas silvestres una polinización deficiente es responsable de una baja producción de semillas (o seed-set, Fenner 1985). En estas circunstancias, se pueden utilizar diversas técnicas que permitan incrementar el éxito en la polinización; tal es el caso de la polinización asistida, es decir el transporte manual del polen directamente al gineceo de las flores.

Debido a que se ha reportado que las semillas de algunas especies de *Bursera* presentan una baja tasa de germinación y una alta proporción de frutos vanos (que han sido llamados partenocárpicos), en este estudio se realizaron ensayos de polinización manual, con el fin de establecer si al llevar el polen directamente al gineceo aumenta la producción de frutos y/o la proporción de semillas viables, con embrión saludable.

II.5 Objetivos

General: Describir parte de la biología reproductiva de dos especies del género *Bursera*: *B. copallifera* y *B. glabrifolia*.

Objetivos particulares:

- a) Describir la fenología floral de *B. copallifera* y *B. glabrifolia*.
- b) Comparar los patrones fenológicos de cada especie en dos años consecutivos (2007 y 2008).
- c) Evaluar la viabilidad del polen de ambas especies.

d) Analizar el efecto de la exclusión de los polinizadores y de la polinización suplementaria en el desarrollo de frutos y semillas.

e) Medir y comparar la proporción de semillas viables y vanas entre ambas especies, así como las variaciones en esta proporción entre los individuos de cada especie.

III. Métodos

III.1 Zona de estudio

El estudio se realizó en la zona arqueológica de Xochicalco, localizada en el municipio de Miacatlán, al noroeste del estado de Morelos (18°48'17" N, 99°16'30"O).

En la zona se presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano [Aw_o (w) (i') g], con una temperatura media anual de 22.9 °C, y una precipitación anual de 1055 mm (Camacho 2004). Los suelos son Rendzinas derivadas de rocas calizas, de color gris a gris oscuro en la superficie (INEGI, 1981), generalmente someros. La vegetación predominante es la selva baja caducifolia SBC (Trejo y Hernández 1996, Piña 2005), que presenta follaje en la época de lluvias, mientras que en la temporada seca pierde las hojas. Las familias con mayor número de especies en la SBC de Xochicalco son Leguminosae, Burseraceae, Compositae, Anacardiaceae, Sapindaceae y Convolvulaceae (Piña 2005).

III. 2 Especies de estudio

El género *Bursera* se distribuye desde el suroeste y sureste de los Estados Unidos hasta el norte de Perú y de Brasil, incluyendo las Antillas y las Galápagos. México es el centro de diversidad de este género, con alrededor de ochenta especies

descritas (Rzedowski *et al.* 2004). Generalmente son árboles y algunas veces arbustos de hojas deciduas, dioicos o polígamo-dioicos, que por lo regular florecen antes o al mismo tiempo que producen las hojas tiernas. Las especies del género producen aceites esenciales del grupo de los terpenos, que les proporcionan aromas característicos (Rzedowski *et al.* 2004).

a) *Bursera copallifera*

B. copallifera se distribuye en los estados de Jalisco, Michoacán, México, Guerrero, Morelos, Puebla y Oaxaca (fig. 1). Los árboles llegan a medir hasta 7 m de altura de 20 a 40 cm de diámetro. La corteza es de color café rojizo a grisácea, resinosa y aromática, en árboles adultos escamosa. Las hojas son imparipinadas, compuestas de 17 a 19 folíolos, con un raquis alado densamente pubescente. El haz presenta una superficie ampollosa verde oscura y el envés es de color amarillento. Catáfilos triangulares agudos o acuminados. Inflorescencias paniculadas con flores aglomeradas. Las flores son tetrámeras, con sépalos libres, lanceolados y agudos, y los pétalos oblanceolados-estipulados, amarillos o amarillos anaranjados. Los frutos son drupas trivalvadas, oblongas, de 8 mm de largo, café rojizos. De su tronco se extrae la resina conocida como copal (Guizar y Sánchez 1991; Andrés, 2001)

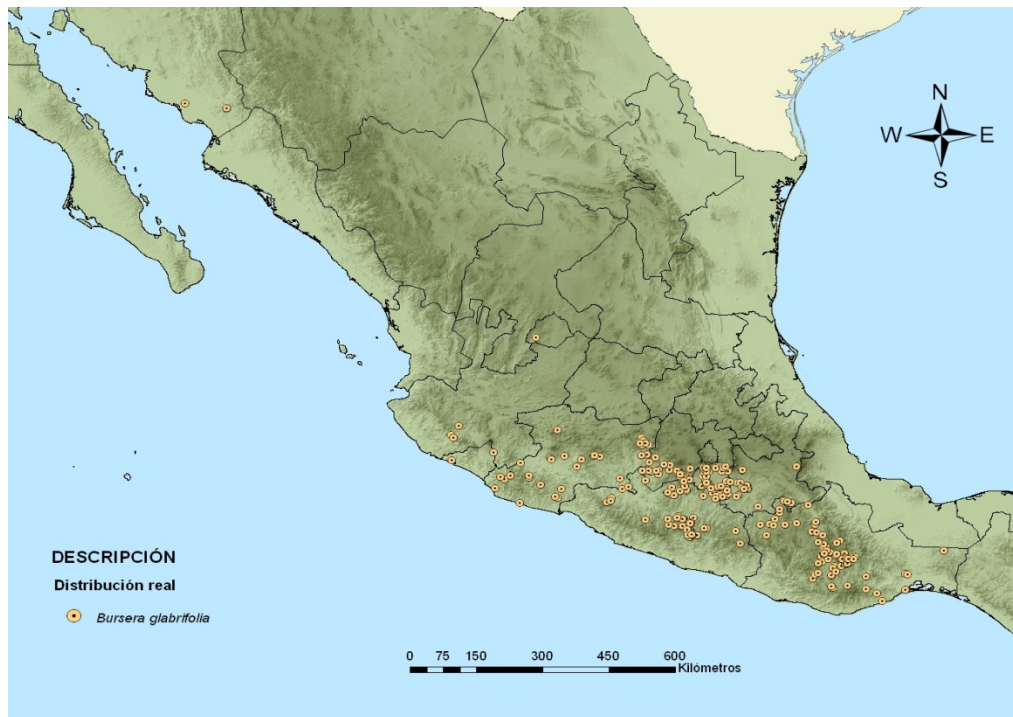


Figura 1. Distribución de *Bursera copallifera* (Cortesía de G. Montaña 2010)

b) *Bursera glabrifolia*

B. glabrifolia es una especie endémica de México, que se distribuye en los estados de Jalisco, Colima, Michoacán, Morelos, Guerrero, Oaxaca y Puebla (fig. 2). Se conoce comúnmente como copal, copalillo, copal blanco y copal hembra. Es abundante en las selvas bajas caducifolias (SBC) y también en áreas de transición con el encinar. Es un árbol de hasta 12 m de alto (aunque puede presentar forma arbustiva), con un tronco de hasta 35 cm de diámetro, de corteza gris, lisa, no exfoliante, con ramas rojizas. Las hojas son imparipinnadas, con raquis alado y 7 o 9 folíolos sésiles o casi sésiles. Se agrupan en fascículos sobre ápices de ramillas cortas (Rzedowski *et al.* 2004).

Las inflorescencias en *B. glabrifolia* son racimosas o paniculadas. Las masculinas generalmente son ramificadas, hasta de 5 cm de largo, con flores tetrámeras, cáliz con lóbulos tubulados a angostamente triangulares (1 a 1.5 mm de largo), anteras oblongas (1 mm de largo) y gineceo vestigial o ausente. Las inflorescencias femeninas generalmente sin ramificar, miden hasta 4 cm de largo, con flores

semejantes a las masculinas, de 2 a 2.5 mm de largo, ovario bilocular con dos estigmas y anteras vestigiales (de ~0.5 mm de largo). El fruto es bivalvado, elipsoide a orbicular, de 9 a 13 mm de largo, por lo general apiculado, glabro, rojizo en la madurez, semilla subesférica a sublenticular, de 5 a 7 mm de largo, con la mitad o 2/3 partes cubiertas por un pseudoarilo amarillo o rojo-anaranjado y la porción superior negra y expuesta (Rzedowski *et al.* 2004).

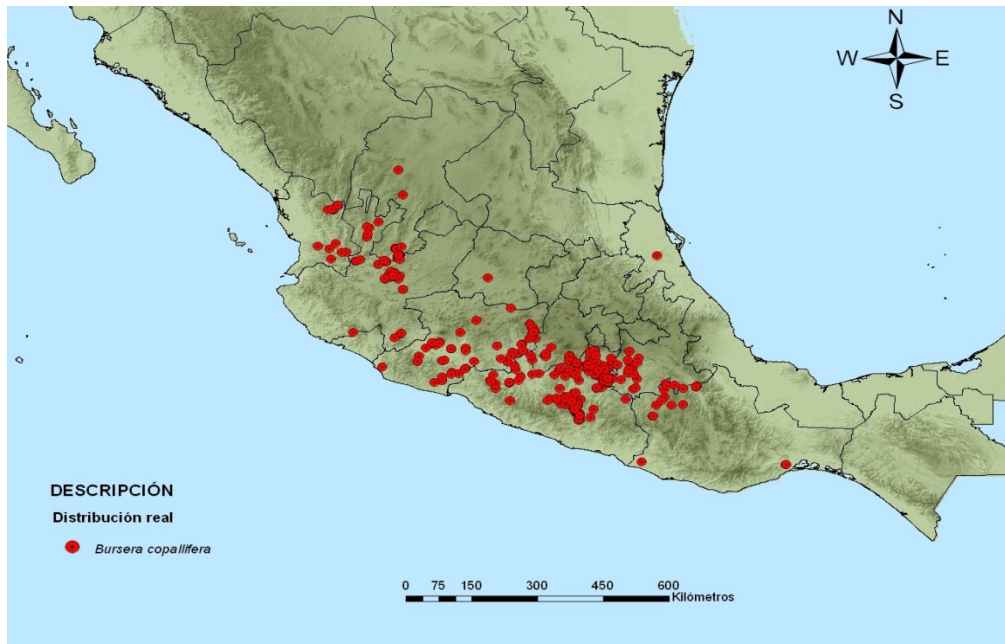


Figura 2. Distribución de *Bursera glabrifolia* (Cortesía de G. Montaña 2010)

III.3 Diseño experimental

III.3.1. Fenología reproductiva – Las estructuras reproductivas se observaron semanalmente durante el periodo de floración (mayo a julio) por dos años consecutivos (2007 y 2008), en diez árboles hembra y diez individuos macho, seleccionados aleatoriamente, de cada especie. Se eligió al azar una rama de cada árbol y se marcó su extremo distal (~50 cm), en el cual se contaron una vez por semana el número de yemas, botones, flores maduras, flores senescentes y frutos inmaduros de cada inflorescencia. Estos valores se usaron para describir los cambios en las estructuras reproductivas desde la fase de yema hasta la de fruto inmaduro. En 2007 las observaciones de fenología reproductiva se llevaron a cabo entre abril y julio, aunque la toma sistemática de datos inició el 21 de mayo, fecha que se registró como la primera semana. En 2008 la toma de datos inició el 11 de mayo y concluyó el 24 de julio.

III.3.2. Número de anteras y viabilidad del polen – Para registrar la frecuencia del número de anteras por flor en cada especie, se colectaron diez flores de siete árboles de *B. copallifera* y de ocho árboles de *B. glabrifolia*, contando las anteras de cada flor.

La fertilidad masculina, medida en términos de la viabilidad del polen, fue determinada por observaciones al microscopio, usando la tinción de Alexander, una prueba citoquímica que evidencia el citoplasma de las células masculinas vivas (López *et al.* 2005). Para evaluarla, se seleccionaron siete árboles en *B. copallifera* y ocho en *B. glabrifolia* durante el periodo reproductivo de 2008, y de cada árbol se colectaron diez flores maduras (en antesis). Se tomaron de seis a 10 anteras por flor, las cuales se envolvieron en toallas de papel secante húmedo, y se transportaron al laboratorio, en donde se mantuvieron en refrigeración durante el periodo de análisis. Posteriormente cada antera se colocó sobre un porta objetos cubriéndola con un cubre objetos, presionando levemente, después de lo cual se agregó una gota del reactivo de Alexander, y se observaron diez campos

por antera al microscopio, con un aumento 40X, contando el número de granos de polen viables e inviables en cada campo.

III.3.3 Polinización – Con el objeto de evaluar si la producción de frutos está limitada por los polinizadores y observar desarrollo de los frutos en relación con la polinización, se realizó un experimento de polinización manual en campo durante el periodo de floración de 2007 con ambas especies. Los tratamientos fueron los siguientes: a) exclusión de polinizadores, b) polinización abierta y c) polinización manual + polinización abierta, cada uno con cinco réplicas por árbol. Las inflorescencias seleccionadas se ubicaron en el extremo distal (~25 cm) de las ramas de la zona media y baja de la copa de diez árboles de cada especie. En *B. copallifera* los tratamientos se aplicaron del 18 de mayo al 7 de julio y en *B. glabrifolia* entre el 27 de mayo y el 23 de junio. A continuación se explica brevemente el procedimiento usado:

a) **Exclusión de polinizadores** - a principios de mayo de 2007, poco antes de que se desarrollaran las inflorescencias, se colocaron cinco bolsas de organza (~35 × 35 cm) por árbol, amarradas por los extremos, lo que impedía la llegada de los insectos a las yemas florales.

b) **Polinización natural** – se permitió el libre acceso de los polinizadores a las inflorescencias, previamente marcadas, de cinco ramas por árbol. Una vez concluido el periodo de floración se colocaron bolsas de organza (similares a las anteriores) con el fin de proteger a los frutos durante su desarrollo y poder recolectarlos cuando estuvieran maduros, evitando su dispersión o consumo por aves.

c) **Polinización manual + polinización abierta** – En este tratamiento se transportó manualmente el polen de las flores masculinas hacia las flores femeninas y, además, se permitió el libre acceso de los polinizadores a cada inflorescencia de la porción distal de cinco ramas por árbol. Para la

polinización manual, se recolectaron las anteras (con granos de polen maduros) de las flores masculinas maduras de al menos seis árboles, evitando los de las inmediaciones de las hembras respectivas. El polen fue colocado directamente de la antera al estigma de las flores femeninas, aplicándolo dos días por semana durante el periodo de floración (mayo - junio); y al término se colocaron bolsas de organza, como en los casos anteriores.

Los frutos maduros obtenidos en cada tratamiento fueron colectados cuando estaban completamente maduros, es decir entre octubre y noviembre de 2007 en el caso de *B. glabrifolia* y entre enero y febrero de 2008 en *B. copallifera*.

III.3.4. Viabilidad de frutos - Se aplicaron dos pruebas indirectas y una directa para evaluar la viabilidad de las semillas: a) flotación, b) radiografías con rayos X y c) aplicación de tetrazolium al embrión de cada semilla. Estas pruebas se aplicaron a los frutos obtenidos de los tres tratamientos antes descritos.

La flotación permite separar a las semillas "llenas" de las vanas (Bonfil et al. 2008). Consiste en colocar a las semillas en un recipiente con agua durante ~ 3 min, separando las semillas que flotan (vanas, con aire en el interior) de las que se hunden, más pesadas, porque generalmente tienen un embrión desarrollado. Las semillas (contenidas en los frutos) de *B. glabrifolia* se separaron por este método en diciembre de 2007 y las de *B. copallifera* marzo de 2008.

Con los rayos X es posible observar si las semillas están llenas, vanas, plagadas o presentan un desarrollo anormal. Para obtener las placas, los frutos se colocaron en micas adheribles, separando y marcando los provenientes de cada bolsa de organza, con el fin de evaluar los resultados de cada uno de los tratamientos descritos en el apartado anterior. Posteriormente se sometieron a rayos X en un equipo Facxitron X-ray (pertenece al vivero de San Luis Tlaxmanialco, de la Comisión de Recursos Naturales de la Secretaría del Medio Ambiente del D. F.),

durante 45 segundos con un potencial de 30 Kb. En cada placa se contó el número de frutos en cada una de las siguientes categorías: con embrión, vanos y anormales. Aunque el embrión no se podía distinguir con claridad, era evidente la diferencia en la imagen de los frutos “llenos” (con embrión y una semilla desarrollada) y “vacíos” o sin un embrión bien desarrollado (color claro en el interior).

Con la prueba de tetrazolium es posible evaluar la viabilidad de la semilla al determinar si los tejidos del embrión están vivos, débiles o muertos. Se basa en la reacción del tetrazolio con los iones de hidrógeno liberados por las enzimas (deshidrogenazas) involucradas en la respiración, que da como resultado la producción de un pigmento rojo (López 2005). Los embriones vivos se tiñen de rojo, mientras que otros, presumiblemente muertos, no se tiñen. Para realizar esta prueba se abrieron las semillas, con ayuda de una prensa pequeña, hasta dejar expuesto el embrión. Posteriormente se colocaron en un contenedor con solución de tetrazolio, dejando el eje embrionario en contacto con la solución durante dos horas, después de lo cual se contabilizan las semillas en cada categoría (viva o muerta; los embriones que sólo tiñeron débil y parcialmente se consideraron inviables). En cada caso se mantuvieron separados los frutos de cada tratamiento descrito en el apartado anterior, para poder contabilizarlos.

III.4. Análisis de datos.

III.4.1 Fenología

Con el fin de describir el periodo reproductivo de *B. copallifera* y de *B. glabrifolia*, se elaboraron gráficas de fenología reproductiva por especie, sexo (*i. e.* hembras y machos) y año de estudio (*i. e.* 2007 y 2008). Adicionalmente, se describió, de la misma forma, la fenología de cada árbol, con el fin de examinar con más detalle la variación interindividual en ambos años; sólo se incluyeron los individuos que presentaron una floración abundante.

III.4.2. Número de anteras y viabilidad de polen.

Se elaboraron gráficas de la frecuencia del número de anteras por especie y por individuo, con el fin de registrar la variación que existe entre especies e individuos. Los datos de viabilidad de polen se analizaron por un análisis de varianza de dos vías (especie y árbol o individuo) anidado (flores anidado en árbol), en el que el factor árbol se consideró un efecto aleatorio. Los datos de porcentaje de polen viable fueron previamente transformados usando la función arcoseno. Se usó el programa STATISTICA (StaSoft, 98).

III.4.3. Polinización y estado de los frutos

Con los datos de la proporción de frutos viables se realizaron análisis de varianza de dos vías (tratamiento y árbol/individuo), transformando previamente los datos con la función arcoseno. Los tratamientos fueron: a) exclusión, b) polinización natural y c) manual + natural. Se realizó un anova para analizar cada uno de los métodos de evaluación de viabilidad empleados (flotación, rayos X y tinción con tetrazolio). En caso de obtenerse un efecto significativo, las diferencias se analizaron mediante la prueba de diferencias significativas mínimas (LSD). Todos los análisis se realizaron con el programa STATISTICA (StaSoft, 98).

IV. Resultados

IV.1 Fenología reproductiva de árboles hembras y machos de *B. copallifera* durante los períodos 2007 y 2008.

1.1. Árboles macho.

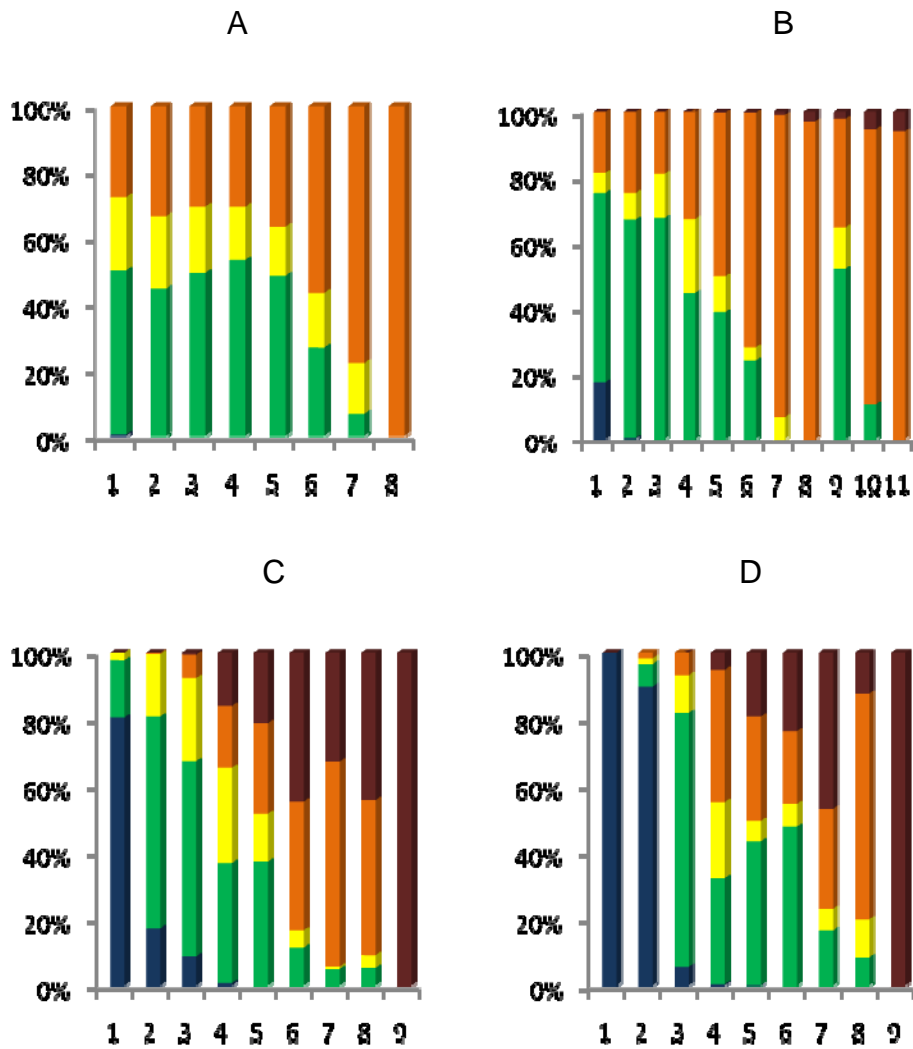
A) Período 2007 - La floración de los individuos macho antecedió ligeramente a la de los árboles hembra (fig. 5 A y C) , pues desde la primera semana de registro se presentaron flores maduras en los machos, mientras que éstas eran muy poco abundantes en las hembras (fig. 3 A y C). Durante las primeras cinco semanas en los machos no se presentaron variaciones importantes en las proporciones de botones, flores maduras y flores senescentes, siendo para el primer caso de alrededor del 50%, para el segundo de 15 a 20% y para el tercero entre 20 y 30%. El 29 de junio fue la última fecha en la que se observaron botones y flores maduras y el 7 de julio solamente se registraron flores senescentes (Figura 5 A).

B) Período 2008 - Al igual que en 2007, los árboles macho iniciaron su ciclo reproductivo antes que las hembras (fig. 5). Desde la primera semana de registro (11 de mayo) se registraron yemas (63), botones (211), flores maduras (22) e incluso flores senescentes, mientras que todas las hembras presentaban sólo yemas (91, equivalente a 100%) (fig. 3 C y D). Se presentaron botones y flores maduras entre la segunda y la sexta semanas (fig.5). En la novena y décima semanas hubo un ligero repunte porque algunos árboles presentaron botones tardíos (20), que se produjeron en respuesta a la herbivoría de flores y hojas. La proporción de flores maduras fue similar (5 a 15%), durante las primeras seis semanas, excepto en la cuarta en que aumentó ligeramente (~20%). Posteriormente no se presentaron flores maduras, excepto en los árboles que registraron botones tardíos. Se registró la presencia de frutos inmaduros (3) en estos individuos en la octava semana (seis de julio, fig 5 B.)

1.1 .2 Árboles hembra

C) Período 2007. En los árboles hembra se registraron yemas en la primera y segunda semanas (fig. 5); el mayor porcentaje (80%) se registró durante la primera semana de observación y en la segunda ya representaban menos del 20%, pues la mayoría se había transformado en botones. Se registraron también proporciones muy bajas de flores maduras e incluso senescentes (fig. 3 C). La mayor presencia de botones (40 a 60%) y flores maduras se registró entre la segunda y la quinta semana; en este periodo la proporción de flores maduras se mantuvo en ~20%; posteriormente, entre la sexta y la octava semana, fue menor de 5%. Se observó la aparición de frutos a partir de la tercera semana, aunque con una proporción muy baja (~1%); a partir de la cuarta semana su presencia se incrementó consistentemente hasta la novena semana, en que representaron el 100%. Por tanto, el periodo de floración (botones y flores maduras) de los árboles hembra de *B. copallifera* abarcó nueve semanas (del 21 de mayo al 23 de julio, fig. 5 C), aunque el periodo de mayor producción de flores abarcó tres semanas, del 27 de mayo al 16 de junio (fig 3 C).

D) Período 2008. En los árboles hembra se presentaron yemas del 11 al 23 de mayo (primeras tres semanas 91, 53, 15 respectivamente fig. 5 D). Los botones fueron abundantes durante cuatro semanas (de la 3 a la 6), con un máximo en la tercera semana (332 equivalente al 75%) y proporciones muy bajas en las semanas dos (4) y siete (20) (fig. 3D). La proporción de flores maduras fue baja y aproximadamente constante (5-10%) durante las ocho semanas de registro, excepto en la cuarta en que fue mayor a 20% (al igual que en los machos). Los frutos inmaduros se registraron entre la cuarta y la novena semanas; en esta última representaron el 100% (equivalente a 195) de las observaciones. En general, el periodo reproductivo de las hembras de *B. copallifera* tuvo una duración de siete semanas del 11 de mayo al 6 de julio y el de los machos fue un poco más amplio del 11 de mayo al 12 de julio (fig. 5).



■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro

1 = 21 mayo 3= 9 junio 5 = 23 junio 7 = 7 julio
 2 = 27 mayo 4=16 junio 6 = 29 junio 8 = 16 julio

1 = 11 mayo 3=25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4= 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 4. Fenología reproductiva de árboles macho (A) y hembra (C) de *B. copallifera* en 2007 y macho (B) y hembra (D) de *B. copallifera* en 2008.

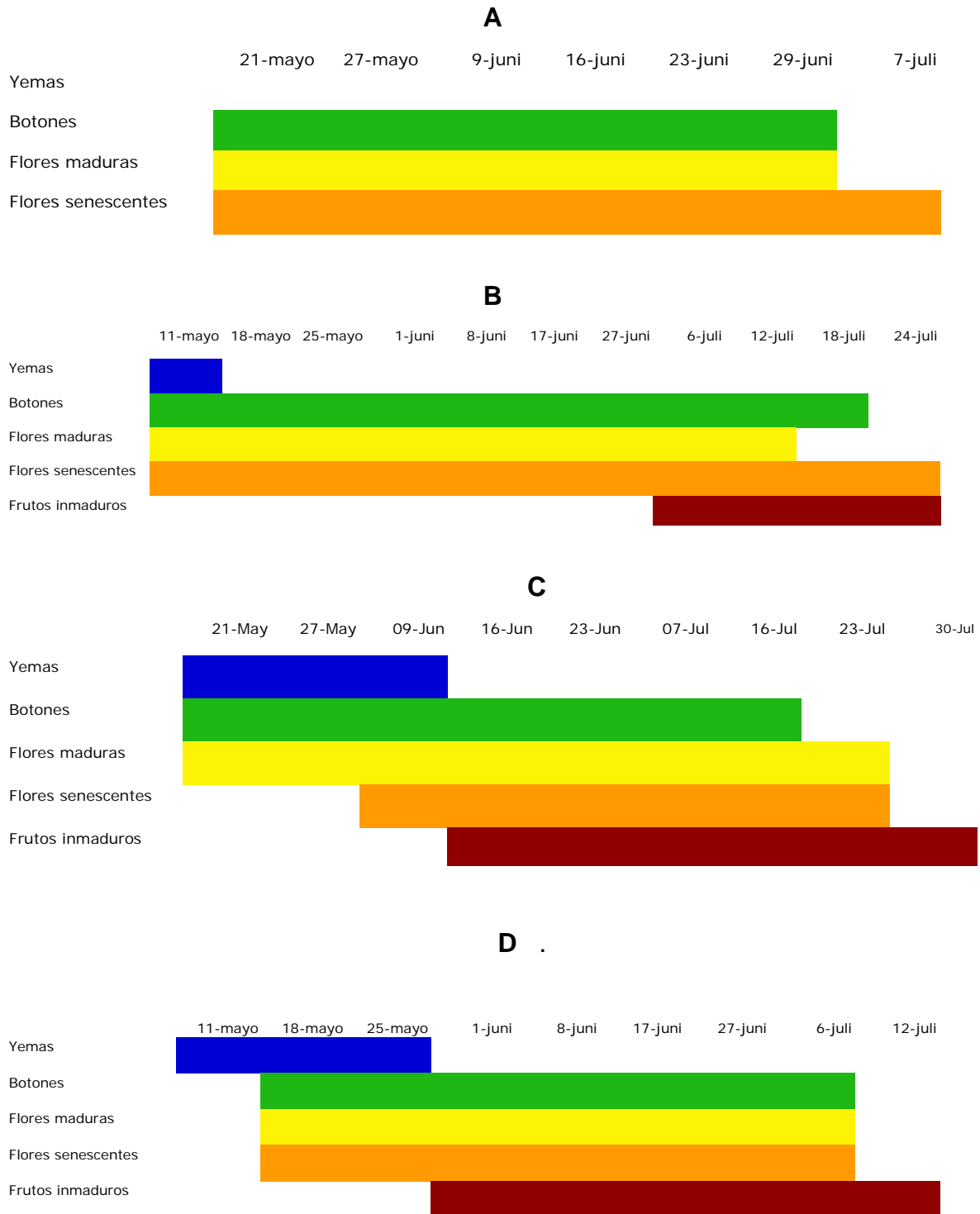


Figura 5. Fenograma de estructuras reproductivas de árboles A) macho y C) hembra de *B. copallifera* 2007 y B) macho y D) hembra de *B. copallifera* en 2008.

IV.1.2 Variación interindividual de árboles macho y hembra de *B. copallifera* en los periodos 2007 y 2008.

2.1. Árboles macho

Periodo 2007. La floración de los individuos macho de *B. copallifera* inició antes de la primera toma sistemática de datos, ya que para el 21 de mayo, cuando se inició el registro, todos los individuos presentaban flores y ninguno yemas, por lo que probablemente el periodo total de floración registrado tuvo una duración mayor a cinco semanas en todos los individuos (fig. 4).

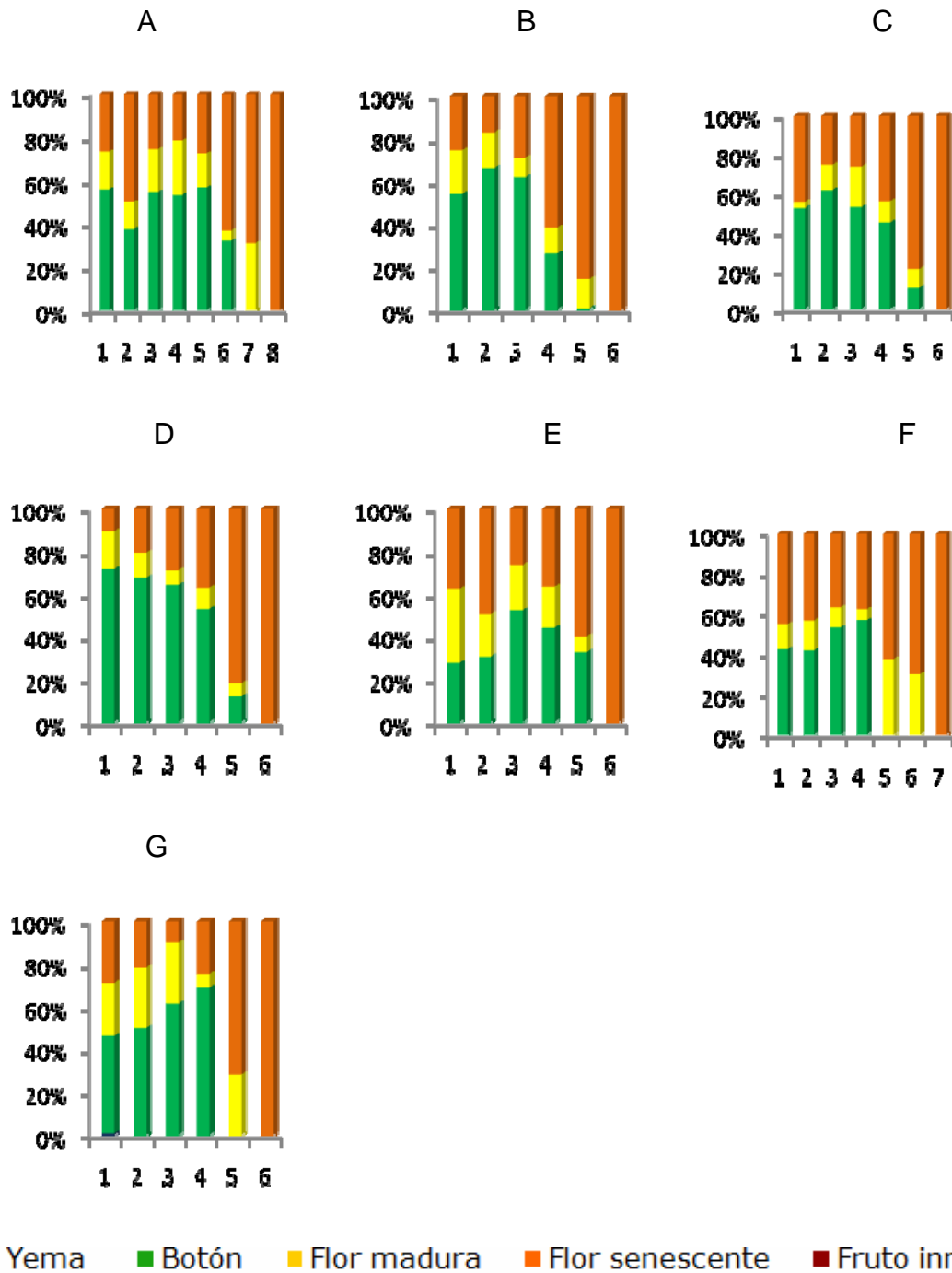
No se observó una alta variabilidad entre individuos, ya que en general la proporción de botones fue mayor que la de flores maduras. En las primeras cuatro semanas esta proporción fue de ~50%, (excepto en dos individuos, fig. 4) y después de la quinta semana disminuyó o fue nula, aunque en cuatro de siete árboles se presentaron flores maduras hasta la sexta o séptima semanas.

B) Período 2008. En los árboles macho la producción de yemas florales fue en general sincrónico, aunque en algunos árboles (F y H) inició poco antes de la primera semana de registro (fig. 5). A partir de la segunda semana se presentaron todas las fases fenológicas. La presencia de flores maduras fue variable entre individuos: aunque en la mayoría tuvo una duración de 3-4 semanas, el intervalo fue de dos (árbol A), a siete-ocho semanas (árbol H). En un árbol (A) se registró la presencia de algunos frutos inmaduros a partir de la quinta semana. (Estos también se observaron en 2007, pero fue hasta 2008 que se presentaron en un árbol marcado para seguimiento de fenología). En general la floración terminó en la semana seis, con algunas excepciones (fig. 5 F, G y H).

2.2 Árboles hembra

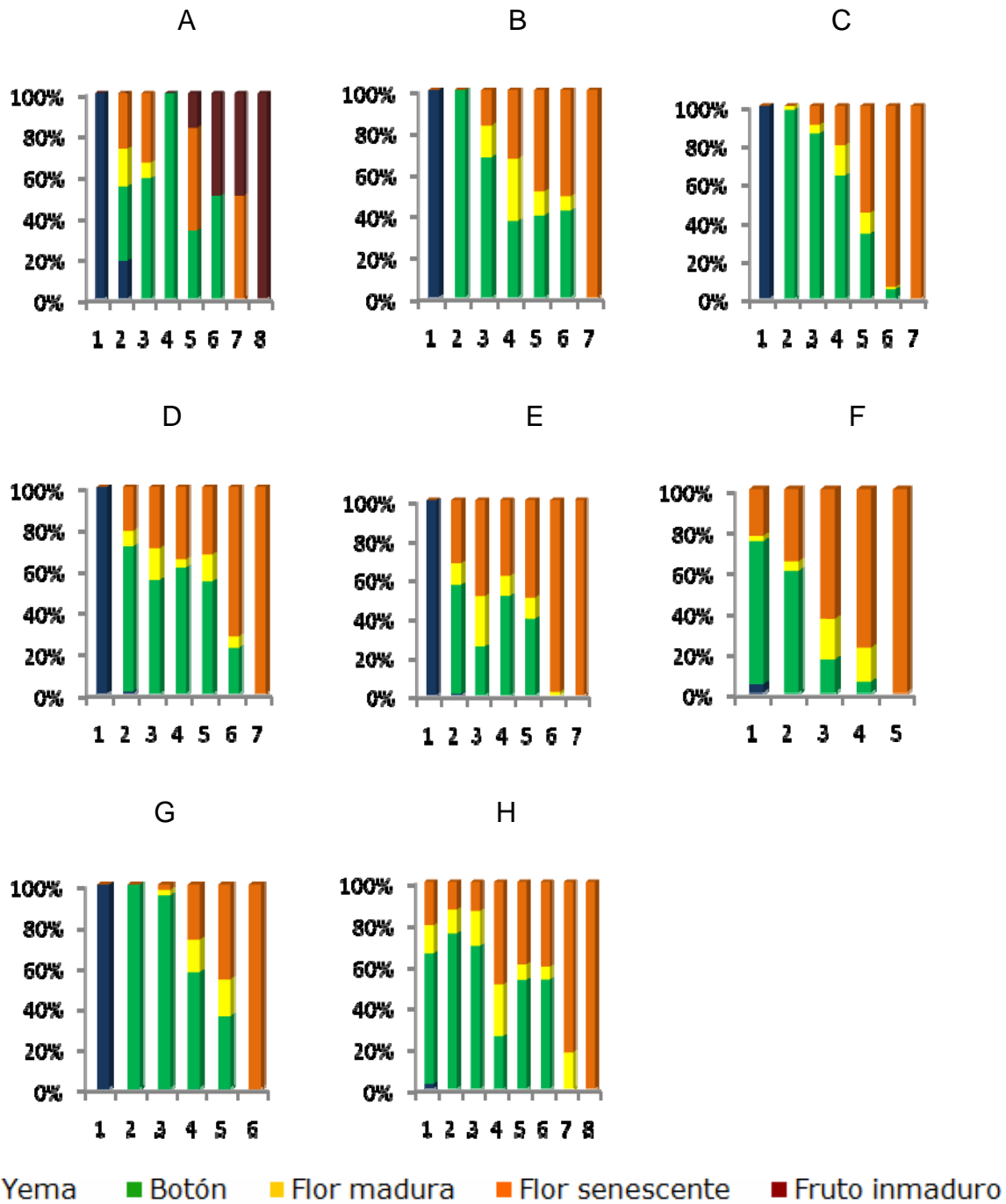
C) Periodo 2007. El inicio de la floración en general fue asincrónico. La mayoría de los árboles presentaron sólo yemas durante la primera semana (fig. 6), con excepción de dos, que ya habían iniciado la floración antes de la primera semana de registro. Entre la segunda y la tercera semana la mayoría de los árboles presentaba botones y flores, y sólo en uno la floración inició hasta la cuarta semana (16 de junio). El periodo en que se presentaron botones inmaduros y en anthesis fue variable: entre tres (árboles A y E), y seis semanas (probablemente siete, árboles H e I). La mayoría de los árboles registraron frutos a partir de la cuarta semana; posteriormente su importancia creció, pero en general su proporción fue alta a partir de la sexta semana (29 de junio).

D) Período 2008. El registro fenológico de los árboles hembra inició el 11 de mayo, con una excepción (árbol G) que se inició en la cuarta semana (1 de junio). En general se presentaron sólo yemas durante la primera y hasta la segunda semana de registro (fig. 7). En el árbol E se rompió el estado de yema durante la segunda semana y se observaron hojas pero no se registraron botones si no hasta la tercera semana. La floración fue asincrónica, en un caso (F) comenzó a mediados de mayo mientras que en cuatro individuos comenzó en la tercera y cuarta semana de registro (25 de mayo – 1 de junio). El periodo de floración varió entre una (D) y seis (A) semanas aunque, más comúnmente abarcó tres o cuatro semanas. Los frutos fueron abundantes en general a partir de la quinta semana.



1=21 mayo 3=9 junio 5= 23 junio 7= 7 julio
 2=27 mayo 4=16 junio 6= 29 junio 8= 16 julio

Figura 6. Fenología reproductiva de árboles macho de *B. copallifera* durante 2007



1 = 11 mayo 3=25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4= 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 7. Fenología reproductiva de árboles macho de *B. copallifera* durante 2008.

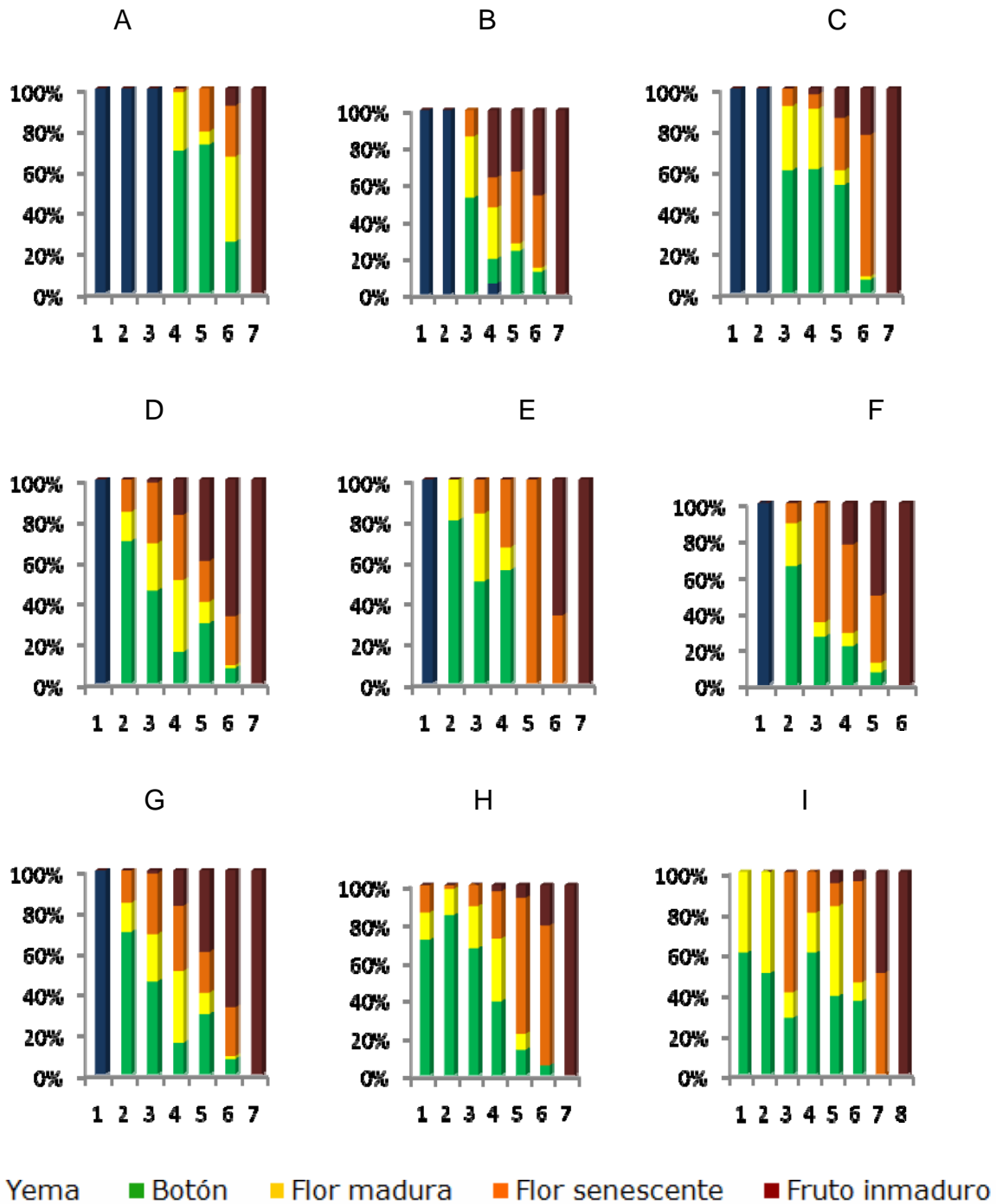
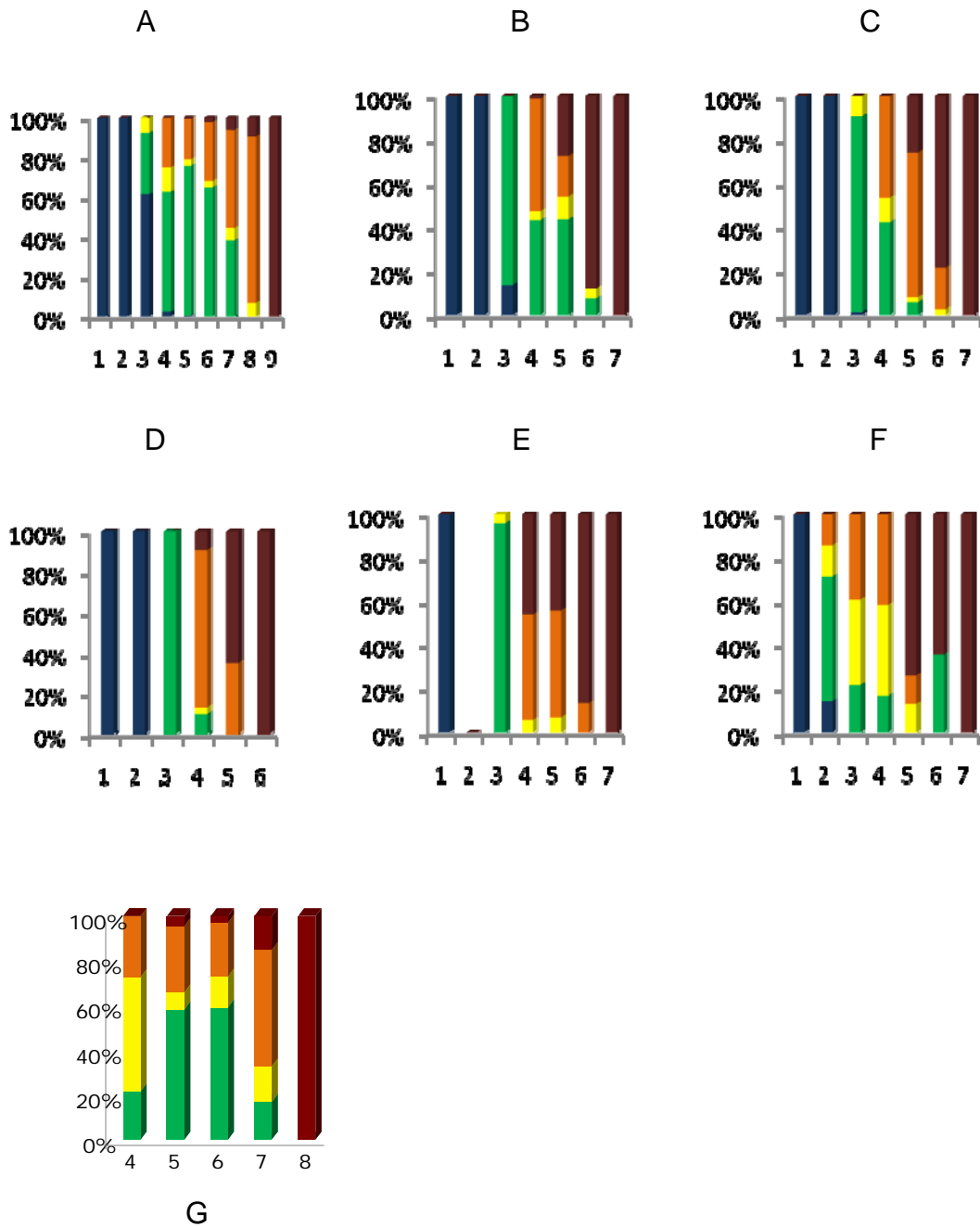


Figura 8. Fenología reproductiva de árboles hembra de *B. copallifera* durante 2007



■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro

1 = 11 mayo 3 = 25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4 = 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 8. Fenología reproductiva de árboles hembra de *B. copallifera* durante 2008.

I.V.1.3. Fenología reproductiva de árboles macho y hembra de *B. glabrifolia* de los períodos 2007 y 2008.

3.1 Árboles macho

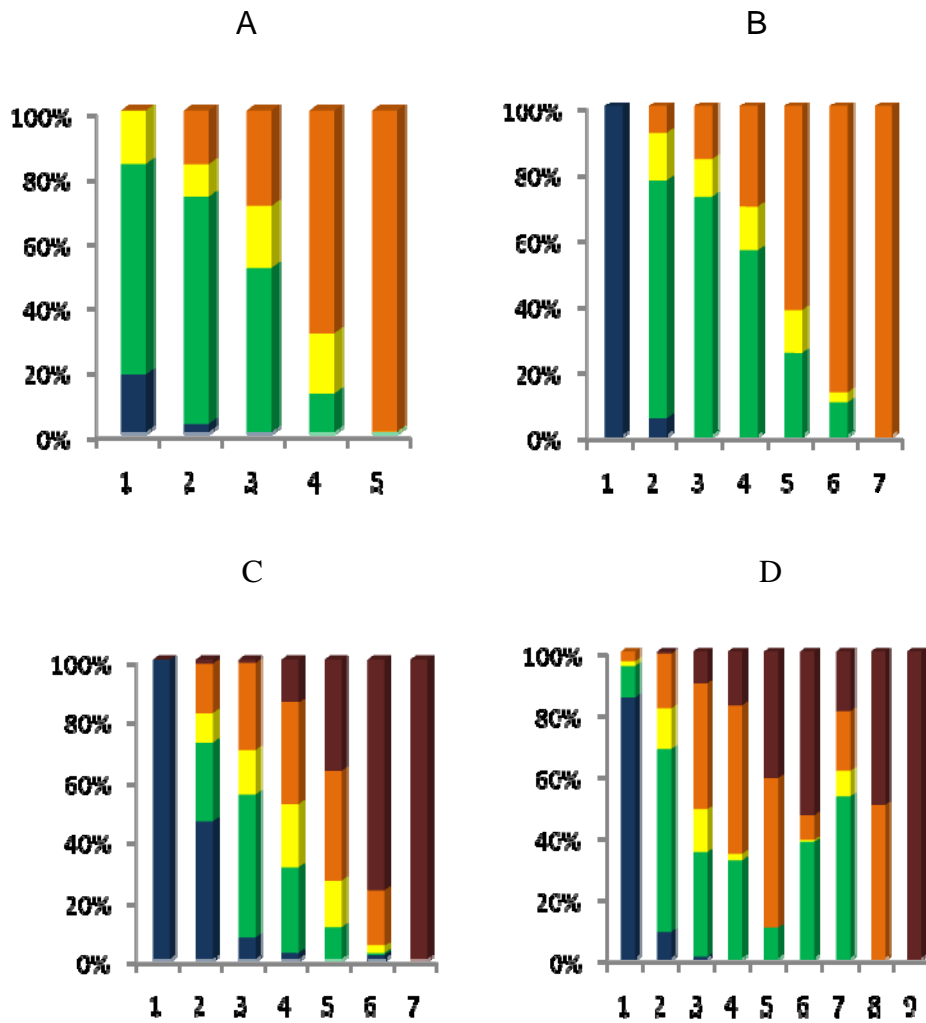
A) Período 2007. *B. glabrifolia* - Al igual que en *B. copallifera*, la floración de los árboles macho antecedió ligeramente a la de las hembras (fig. 10 A y C), ya que desde la primera semana se presentó una gran cantidad de botones (226) e incluso algunas flores maduras (57); las yemas tuvieron una proporción del 20% (62), y durante la segunda semana sólo se registraron unas cuantas (fig. 9 A). El periodo de floración tuvo una duración de cuatro semanas (fig. 10 A); durante las tres primeras la proporción de botones fue similar y se mantuvo en 50 - 70%, y ya para la cuarta disminuyó a menos del 10% (equivalente a 112). La porción de flores maduras no varió mucho durante las cuatro semanas, y se mantuvo entre 10 y 20% aproximadamente. Durante la quinta semana sólo se registraron flores senescentes(649).

B) Período 2008. En este año la floración de los árboles hembra se adelantó ligeramente a la de los machos (fig. 10 D y B); desde la primera semana de registro se presentaron algunos botones, e incluso flores maduras y senescentes, mientras que los machos sólo presentaban yemas (81) (fig. 9 B y D). En la segunda semana tanto hembras como machos presentaron una alta proporción de botones (700) y, en menor medida, de flores maduras (126). En los machos los botones fueron abundantes durante tres semanas (semana 2- 700, semana tres - 1706 y semana 4 - 757) y las flores maduras tuvieron una proporción constante ~20%(equivalente a 126, 295,201,80 respectivamente) durante cuatro semanas (de la 2 a la 5). A partir de la séptima semana ya no se registraron botones ni flores maduras, por lo que el periodo de floración abarcó cinco semanas (fig. 10 B).

3.2 Árboles hembra

C) Período 2007. En los árboles hembra se presentó mayor variación, con excepción de la primera semana (21 de mayo), en que todos se encontraban en fase de yema (112), y la última (semana 7), en que todas las flores se habían transformado en frutos inmaduros (579) (fig. 9 C). El periodo de floración, por tanto, abarcó cinco semanas (del 27 de mayo al 29 de junio fig. 10 C), aunque las flores fueron abundantes sólo durante cuatro (de la 2 a la 4 con un número de 21, 120, 283, 214 respectivamente fig. 9 C). En la segunda semana (27 de mayo) se registraron sobre todo yemas y botones ~45% y 20% (equivalentes a 56 y 21 respectivamente); en la tercera se incrementó la presencia de botones y de flores maduras (~50% (390) y 20% (120) respectivamente). En la quinta semana (23 junio) los botones disminuyeron (10% equivalente a 154) y la proporción de flores senescentes y de frutos inmaduros se incrementó de forma continua hasta la sexta semana (fig. 9 C).

D) Período 2008. En los árboles hembra se presentaron algunos botones desde la primera semana (37), pero dominaron en la segunda (337) y posteriormente su proporción fue variable. Las flores maduras fueron abundantes sólo durante la segunda (75) y tercera semanas (123) (fig. 9 D). Se registró una alta herbivoría de botones y flores, lo que produjo un ligero repunte de la floración tardío (30), en la semana siete. Se registraron frutos inmaduros a partir de la tercera semana (4), pero su presencia aumentó a partir de la semana cinco (107). Entre la octava y la novena semana se registraron solamente flores senescentes y frutos inmaduros, por lo que el periodo de floración total abarcó siete semanas (fig. 10), con una presencia efectiva de flores maduras breve, de tres semanas aproximadamente (si se excluye el leve repunte en la séptima semana).



■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro

1 = 11 mayo 3 = 25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4 = 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 9. Fenología reproductiva de árboles macho (A) y hembra (C) en 2007 y macho (B) y hembra (D) en 2008.

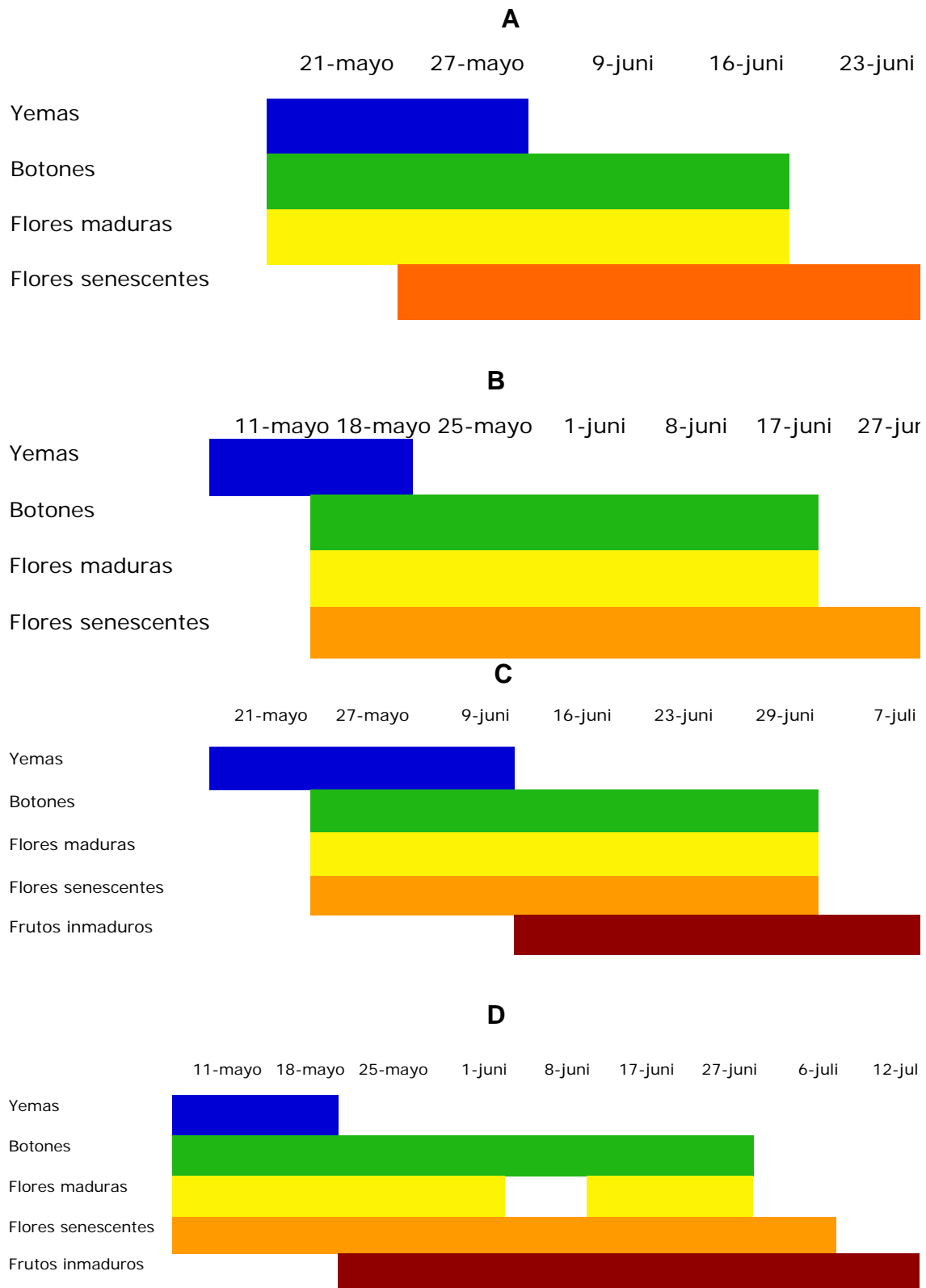


Figura 10. Fenograma de estructuras reproductivas de árboles A) macho y C) hembra de *B. glabrifolia* 2007 y B) machos y D) hembras de *B. glabrifolia* 2008.

IV.1.4 Variación interindividual de árboles macho y hembra de *B. glabrifolia* de los períodos 2007 y 2008.

4.1 Árboles macho

A) Período 2007. El periodo reproductivo en árboles macho fue asincrónico. Dos individuos presentaron yemas hasta la segunda e incluso la tercera semana (B y A, Fig. 11), mientras que otros tres (D, E y F) tuvieron una proporción mínima (~30-20%) de yemas en la primera semana, en la que presentaron una alta proporción de botones y algunas flores maduras; sólo un individuo inició la floración antes del primer registro.

La proporción de flores maduras fue variable entre individuos. En la mayoría la floración inició entre la primera y segunda semana (C, D, E, F y G), y duró entre tres y cuatro semanas, aunque hubo casos en que sólo se presentó durante una o dos semanas (A y B). En un individuo (G) no se presentaron flores durante la segunda semana pero sí en la primera y la tercera.

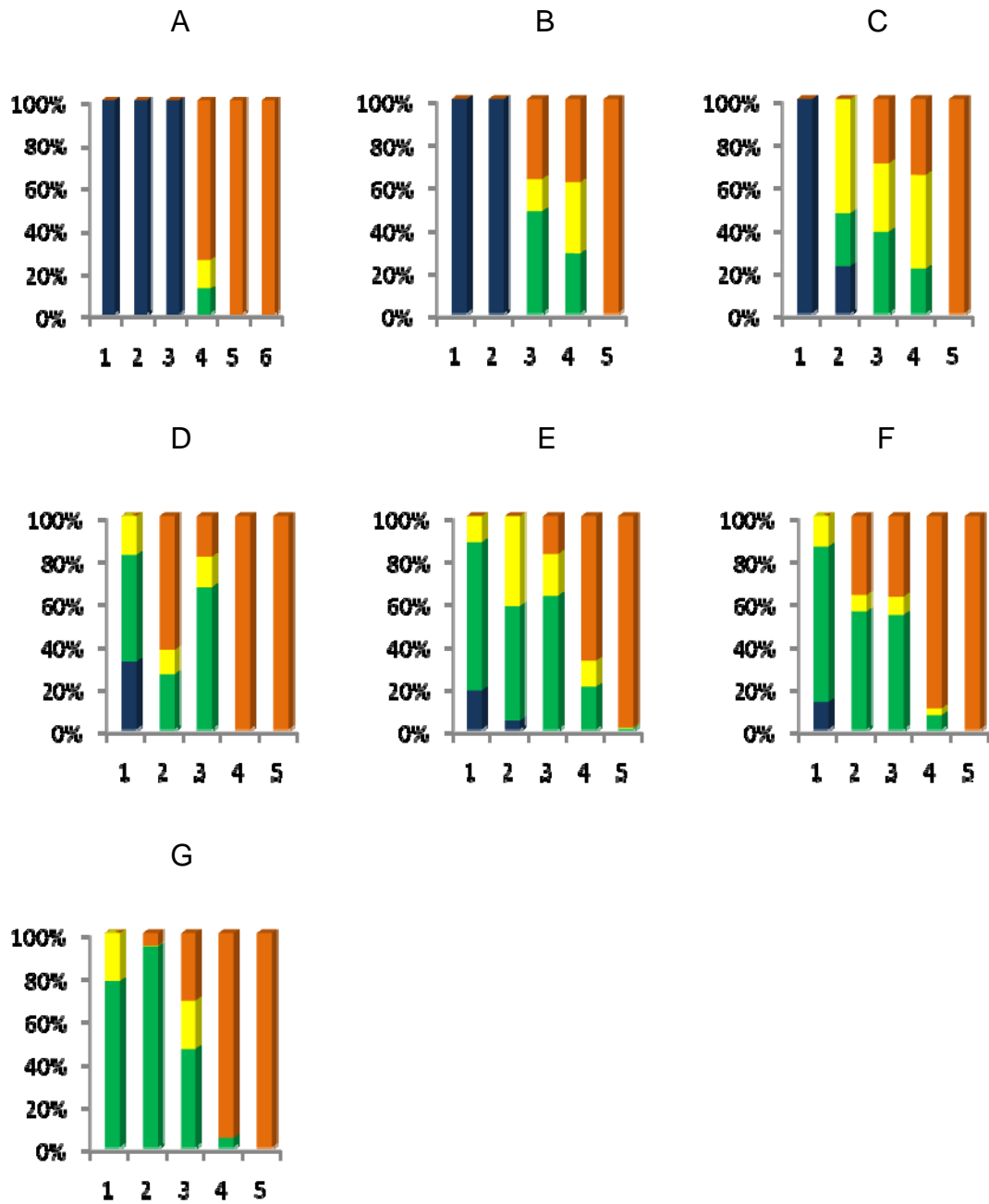
B) Periodo 2008. La floración inició a partir de la segunda semana de registro (18 de mayo, con excepción de dos árboles, Figura 12), por lo que puede considerarse sincrónica. Los botones inmaduros se presentaron entre dos (H) y cinco (G) semanas, pero más comúnmente durante 3-4 semanas. Un árbol (B) presentó herbivoría severa, que eliminó casi todas sus flores después de la cuarta semana, y en la sexta produjo nuevamente botones tardíos. La proporción de botones siempre fue mayor que la de flores maduras. El periodo de floración fue de cuatro semanas, excepto en dos árboles en que fue de dos semanas (B y H).

4.2. Árboles hembra.

C) Periodo 2007. El inicio de la floración en general fue asincrónico. En la mayoría de los árboles inició en la segunda semana (Figura 13), aunque también ocurrió en la tercera (B-C) e incluso en la cuarta semana (A). Los botones inmaduros

aparecieron durante un periodo de dos a tres semanas, pero en algunos individuos hasta cinco semanas inclusive (F-H). La fase de flores maduras fue corta y variable, abarcando entre dos y cuatro semanas. La fructificación inició entre la segunda y la quinta semanas. Un árbol (C) no presentó frutos.

D) Período 2008. El periodo de floración en las hembras de *B. glabrifolia* inició entre la segunda y la tercera semana; sólo en un árbol inició en la primera semana de registro (fig. 14 G). El tiempo y la proporción de botones inmaduros y de flores maduras varió entre plantas, pero en general los botones se presentaron entre dos y tres semanas (con un máximo de cinco), al igual que las flores maduras (aunque en un individuo sólo se observaron durante una semana). En algunos árboles aparecieron botones y flores maduras más tarde como resultado de la herbivoría. La fructificación inició a partir de la tercera semana, aunque en algunos árboles fue mas tardía (árbol A). La presencia de las estructuras reproductivas no fue constante en algunos árboles debido al ataque de herbívoros.

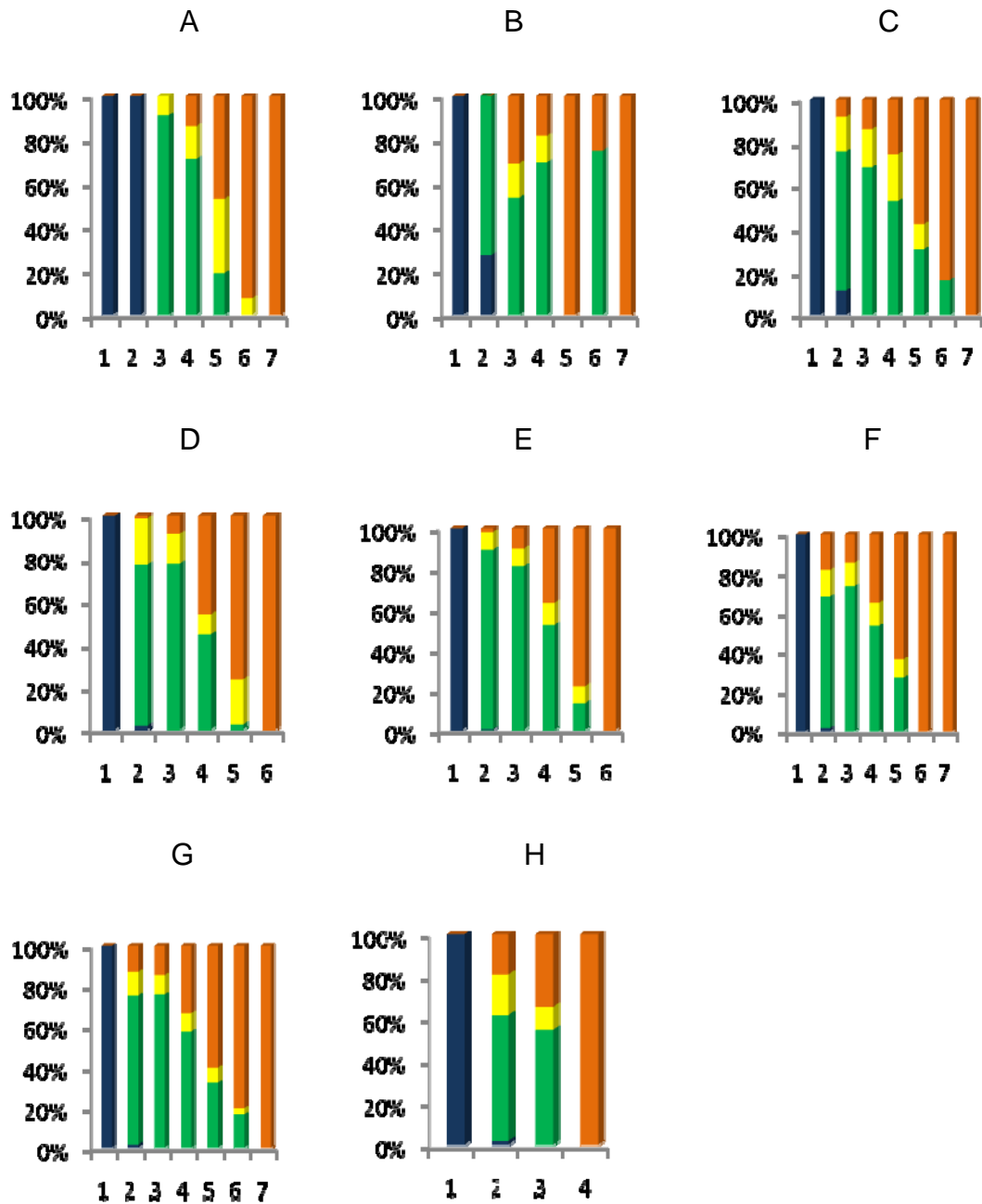


■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro

1=21 mayo 3=9 junio 5= 23 junio 7= 7 julio

2=27 mayo 4=16 junio 6= 29 junio 8= 16 julio

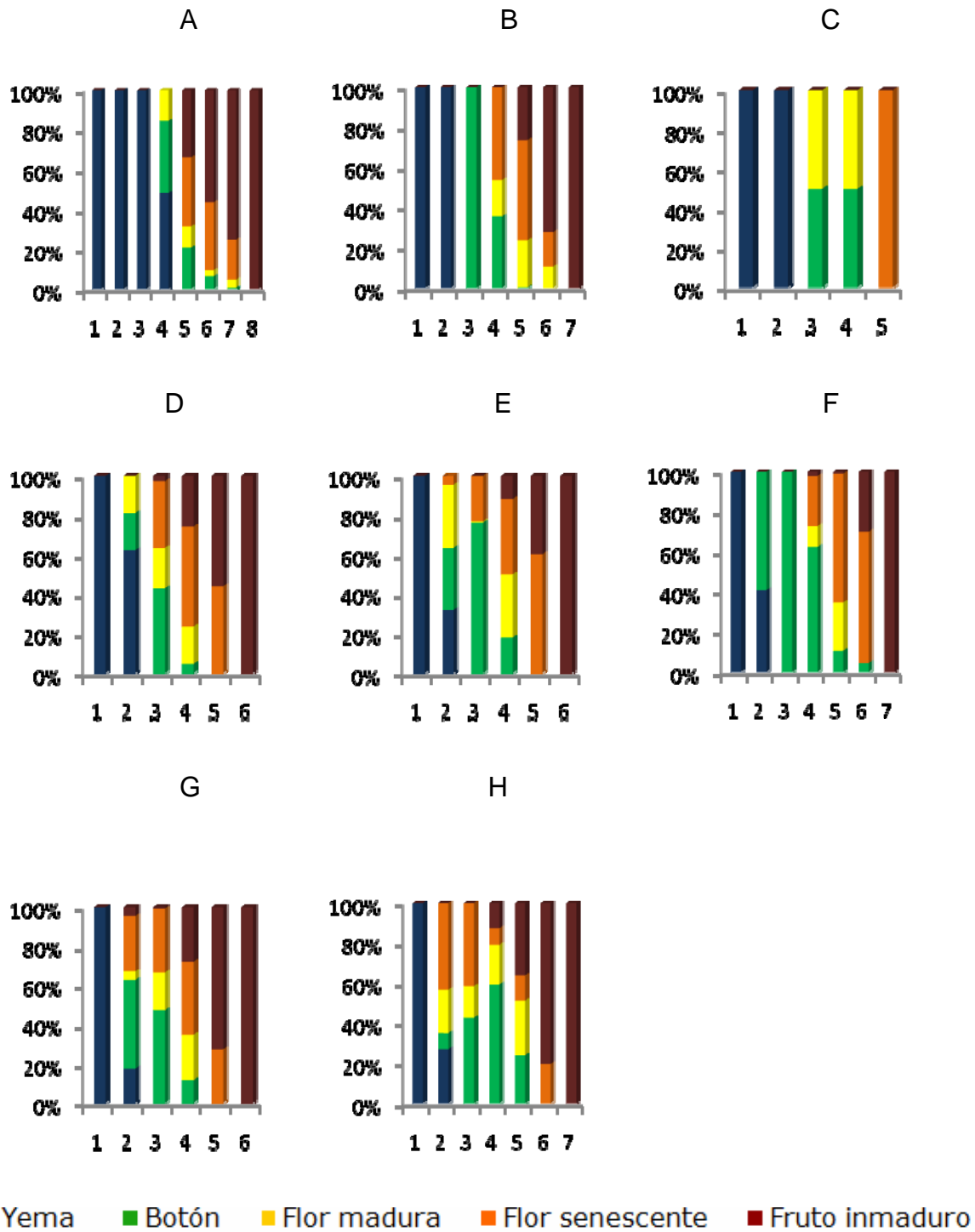
Figura 11. Fenología reproductiva de árboles macho de *B. glabrifolia* durante 2007.



■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro

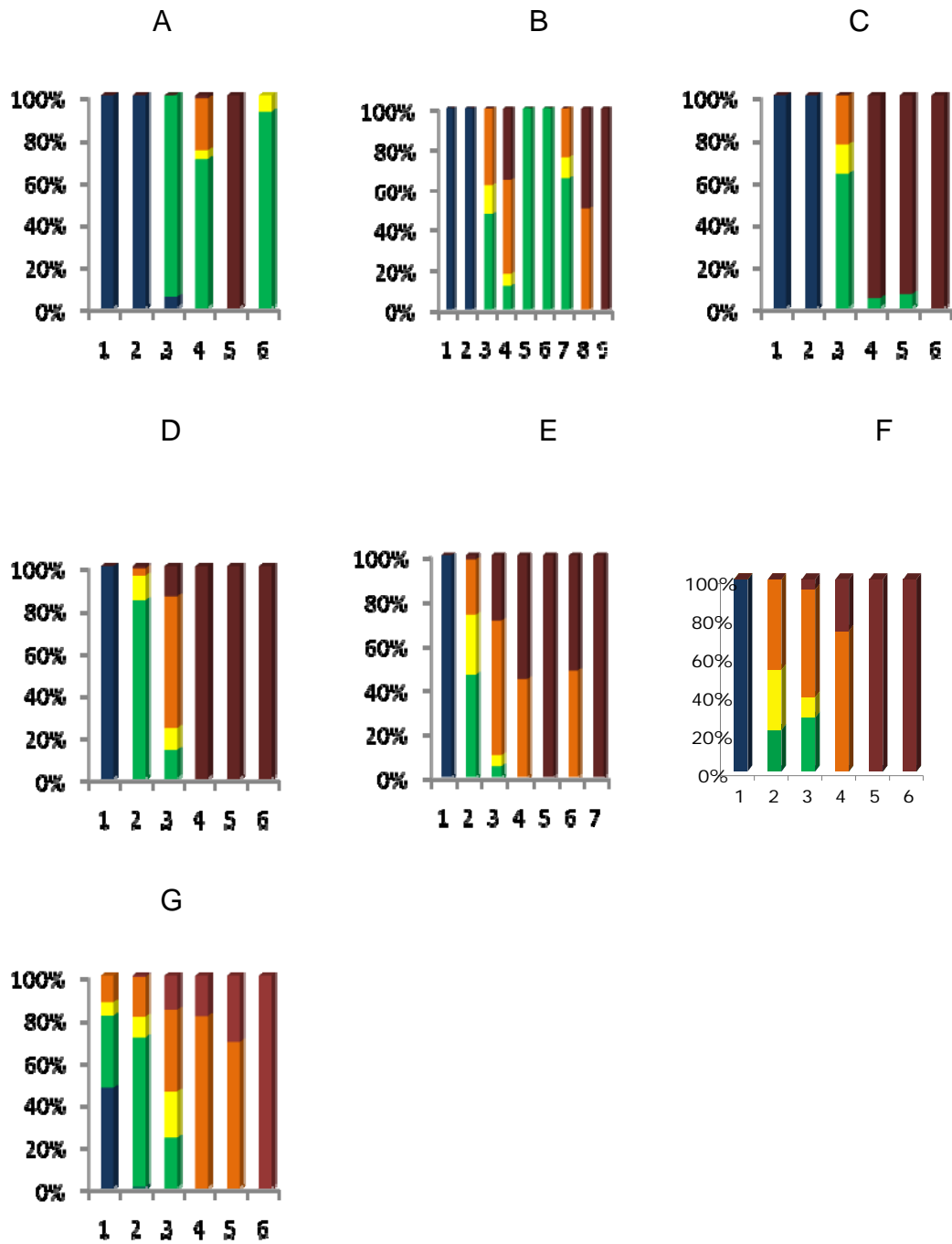
1 = 11 mayo 3 = 25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4 = 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 12. Fenología reproductiva de árboles macho de *B. glabrifolia* durante 2008



1=21 mayo 3=9 junio 5= 23 junio 7= 7 julio
 2=27 mayo 4=16 junio 6= 29 junio 8= 16 julio

Figura 13. Fenología reproductiva de hembras de *B. glabrifolia* durante 2007



■ Yema ■ Botón ■ Flor madura ■ Flor senescente ■ Fruto inmaduro
 1 = 11 mayo 3 = 25 mayo 5 = 8 jun 7 = 27 jun 9 = 12 jul 11 = 24 jul
 2 = 18 mayo 4 = 1 junio 6 = 17 jun 8 = 6 jul 10 = 18 jul

Figura 14. Fenología reproductiva de árboles hembra de *B. glabrifolia* durante 2008.

IV.2 Número de anteras por flor.

Se registró variación en el número de anteras por flor. En *B. copallifera* fue entre siete y nueve, siendo este último valor predominante (80%), seguido de ocho (<20%); muy pocas flores tuvieron siete anteras (~5%) (fig. 15). En *B. glabrifolia* la variación fue mayor, ya que se registraron desde seis hasta once anteras por flor; la mayor frecuencia fue de nueve (~50%), seguida por ocho (29%) y siete (12%); el resto de los valores tuvieron una frecuencia menor al 5%. En general podemos decir que en ambas especies nueve fue el número de anteras más frecuente, siendo más constante en *B. copallifera*.

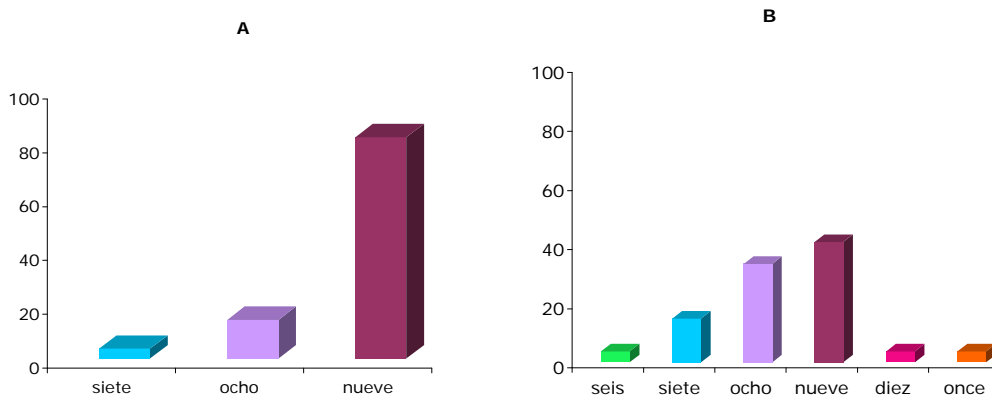


Figura 15. Número de anteras en *B. copallifera* y en *B. glabrifolia*

El número de anteras por flor varió entre individuos de la misma especie. En *B. copallifera* en todos los individuos predominaron las flores con nueve anteras y en tres las flores con ocho anteras fueron relativamente frecuentes (20-30%), mientras que las flores con siete anteras fueron poco frecuentes (fig. 16 A). En *B. glabrifolia*, a pesar de que siguieron siendo predominantes, las flores con nueve anteras tuvieron una frecuencia menor; incluso en un árbol se presentaron más flores con ocho que con nueve anteras, y los valores de ocho y siete anteras fueron relativamente frecuentes (fig. 16 B). Sólo en un individuo se registraron flores con diez y once anteras, y en dos, seis.

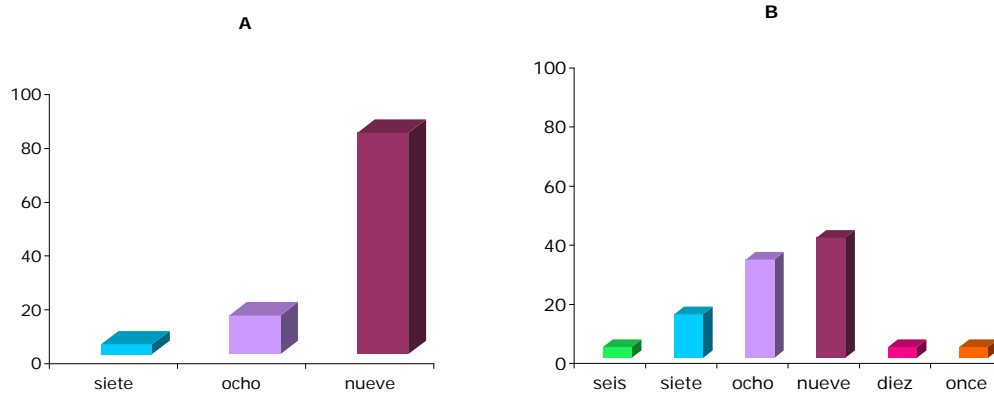


Figura 16. Número de anteras en *B. copallifera* y en *B. glabrifolia*

IV.3. Viabilidad de polen

El análisis de varianza anidado mostró que no existen diferencias significativas en la viabilidad del polen entre especies, ni entre las flores de un mismo árbol (Cuadro 1). Sin embargo, si hay un efecto significativo del árbol ($P = 0.001$), debido a que en ambas especies las flores de algunos árboles en particular tienen proporciones de polen viable significativamente más altas a las de otros individuos.

Cuadro 1. Resultado del Análisis de varianza de la viabilidad de polen de *B. copallifera* y *B. glabrifolia*.

	Efecto	SC	g. l.	CM	F	P
Intersección	Fijo	48.28	1	48.21	188.26	0.0001
Especie	Fijo	0.015	1	0.015	0.026	0.8124
Árbol (especie)	Aleatorio	3.297	13	0.254	0.059	0.0001
Flor (Árbol)	Aleatorio	3.390	68	0.049	5.082	0.5072
Error			54	0.049	0.998	

La proporción promedio de polen viable de *B. copallifera* fue de 0.34 y la de *B. glabrifolia* 0.32, es decir, ambas especies presentaron alrededor de un tercio del polen viable. La proporción promedio de polen viable por flor fue de 0.30 en *B. copallifera* y de 0.34 en *B. glabrifolia*.

En cuanto a la variabilidad entre individuos (árboles), en *B. copallifera* la mayor proporción de polen viable por árbol fue de alrededor de 0.5 (0.53 y 0.46 en los individuos 1 y 3 respectivamente), y la menor de 0.17 (individuo 5). Estas cifras fueron muy similares en *B. glabrifolia*, con valores máximos de 0.56 y 0.46 (individuos 7 y 5 respectivamente) y mínimo de 0.08 (individuo 1) (fig. 17).

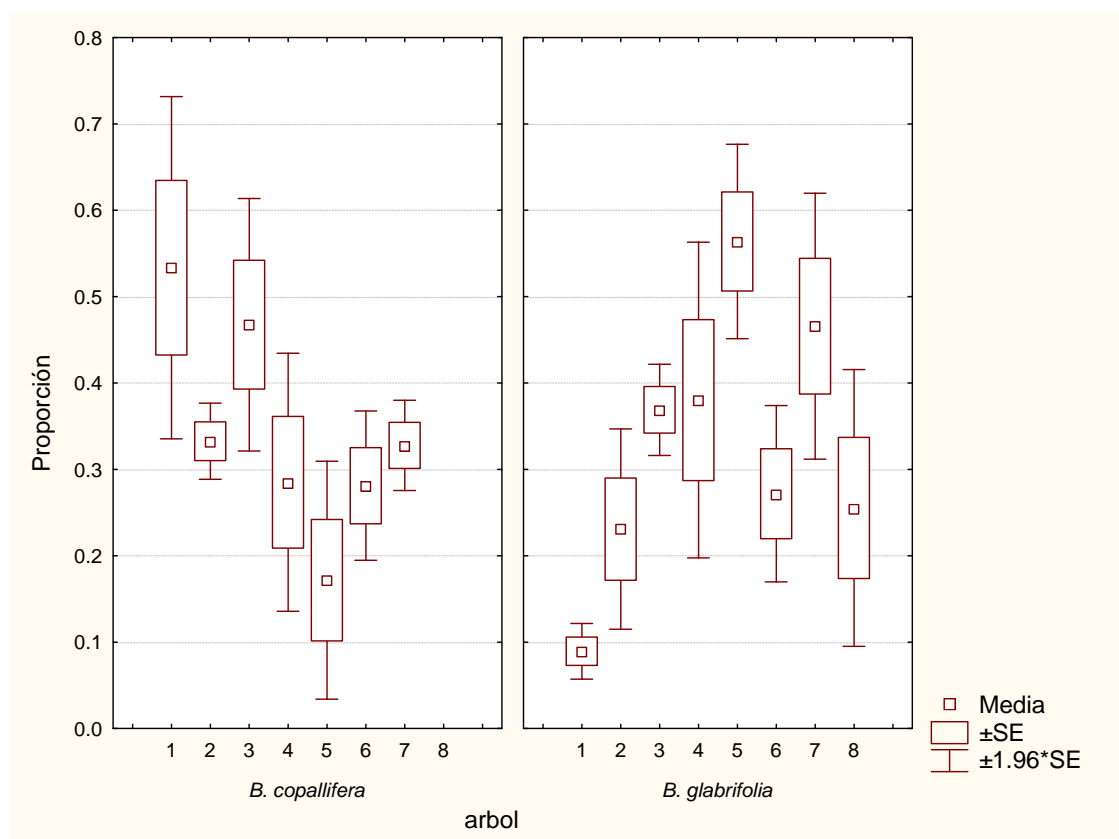


Figura 17. Variaciones entre individuos (árboles) en la viabilidad de polen de *B. copallifera* y *B. glabrifolia*.

IV.4. Producción de frutos.

IV.4.1 *B. copallifera*.

La producción anual de frutos maduros fue similar entre los dos tratamientos de polinización (total - tratamiento 1 - 975 y tratamiento 2 -761, incluye frutos viables e inviables).

a) Prueba viabilidad por flotación

No se presentaron diferencias significativas en la proporción de frutos llenos entre individuos ($F = 1.1738$, g. l. 7 $P = 0.41$). El promedio de frutos llenos en el control (\pm d. e.) fue de $78.3\% \pm 11.17$, mientras que en el tratamiento de polinización suplementaria fue de $78.6\% \pm 7.5$. El efecto del tratamiento (polinización suplementaria) tampoco fue significativo, aunque la interacción individuo \times tratamiento resultó marginalmente significativa ($F = 2.118$, g. l. 7, $P = 0.054$). Esto se debe a que en uno de los individuos (árbol 3) la proporción de frutos llenos fue mayor con polinización inducida (97%) que en el control (71%), mientras que este efecto no fue claro en el resto de los árboles (fig. 18).

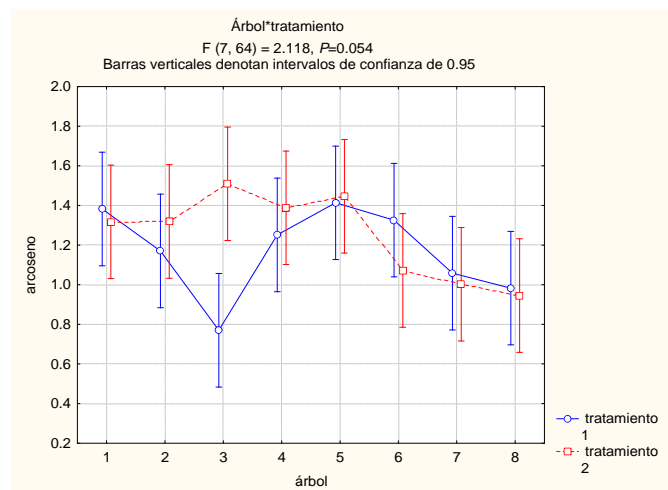


Figura 18. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de flotación) de *B. copallifera*. (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida).

b) Prueba de viabilidad por rayos X

No se presentaron diferencias significativas en la proporción de frutos viables entre árboles ($F = 0.75$, g. l. = 7, $P = 0.63$), ni por el efecto del tratamiento ($F = 0.75$, g. l. = 1, $P = 0.16$). El promedio de frutos llenos (\pm d. e.) en el control fue de $72.1\% \pm 11.7$ mientras que en el tratamiento de polinización suplementaria fue de $67\% \pm 5.6$. La interacción árbol \times tratamiento tampoco fue significativa ($F = 0.85$, g. l. = 7, $P = 0.09$).

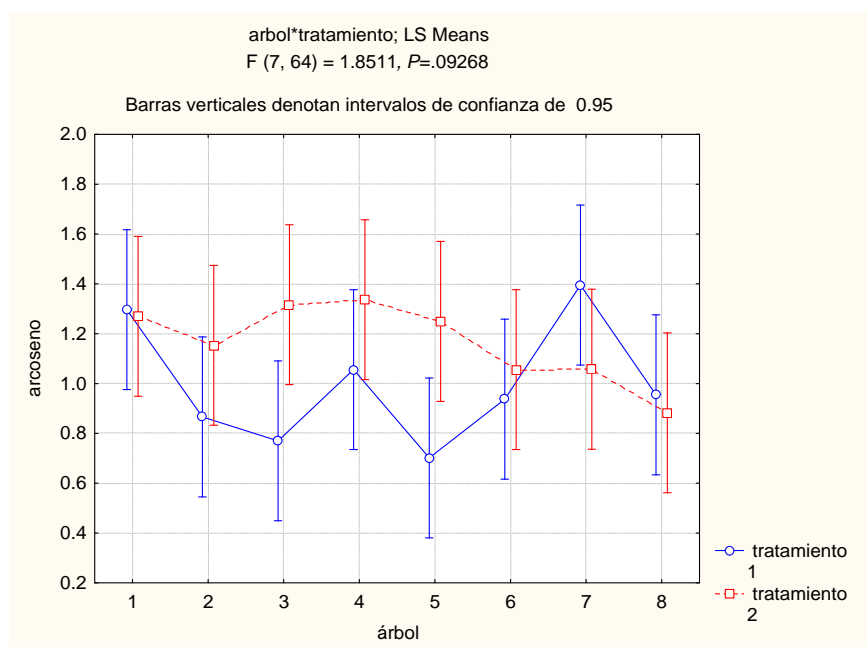


Figura 19. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de rayos x) de *B. copallifera*. (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida)

c) Prueba de viabilidad por el método de tinción con tetrazolio

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de frutos viables entre individuos ($F = 1.04$, g. l. 7, $P = 0.47$), ni entre tratamientos ($F = 3.65$, g. l. 1, $P = 0.09$). El promedio de frutos llenos (\pm d. e.) en el control (polinización natural) fue similar ($68.4\% \pm 11.7$), al de la polinización suplementaria ($71\% \pm 6.4$). Al igual

que en la prueba de rayos X, la interacción árbol x tratamiento tampoco fue significativa ($F = 1.64$, g. l. 7, $P = 0.13$) y presentó un patrón similar. Los individuos 2, 3, 4 y 5 tuvieron una mayor proporción de frutos viables en el tratamiento 2 (polinización inducida) mientras que el árbol siete la tuvo en el tratamiento 1 (polinización natural, fig. 20).

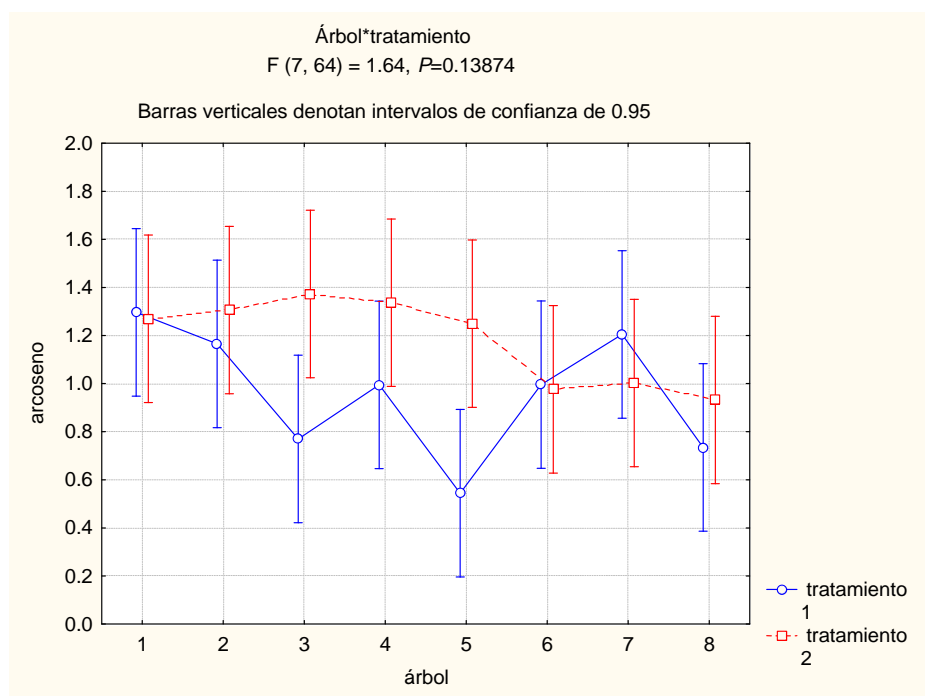


Figura 20. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de tetrazolio) de *B. copallifera*. (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida).

Cuadro 2. Producción total de frutos de *B. copallifera* en el tratamiento 1 (polinización natural) y en el tratamiento 2 (polinización natural más inducida) y porcentaje promedio de frutos viables en las diferentes pruebas: Flotación, rayos X y Tetrazolium.

	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Número total de frutos producidos por tratamiento	975	761

Flotación (%)	78.3	78.6
Rayos X (%)	72.1	67
Tetrazolium (%)	68.4	71

IV.4.2 Producción de frutos de *B. glabrifolia*

La producción anual de frutos maduros fue similar entre los dos tratamientos de polinización. En el tratamiento 1 (polinización natural) la producción de frutos fue de 761 y en el tratamiento 2 de 988.

a) Prueba de viabilidad por flotación

Se presentaron diferencias significativas entre individuos ($F = 4.13$, g. l. 7, $P = 0.043$), pero no por el efecto del tratamiento ($F = 0.26$, g. l. 1, $P = 0.87$); el porcentaje promedio (\pm d. e.) de frutos llenos en el control fue de $63.3\% \pm 8.8$, mientras que en el tratamiento de polinización suplementaria fue de $53\% \pm 7.5$. El efecto de la interacción árbol \times tratamiento fue marginalmente significativo ($F = 2.07$, g. l. 7, $P = 0.059$). Se consideran relevantes los individuos 1 y 8 debido a que en el árbol 1 la proporción de frutos llenos fue significativamente mayor con polinización manual que con polinización natural (0.87 vs 0.41), mientras que en el árbol 8 la proporción de frutos llenos fue significativamente mayor con polinización natural que con polinización manual (0.87 vs 0.40) (fig. 21).

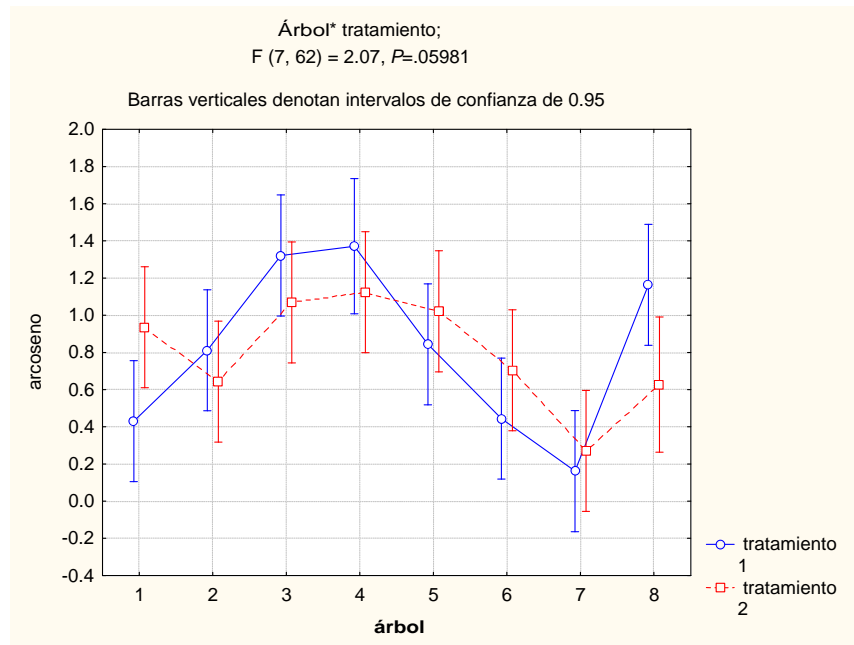


Figura 21. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de flotación de *B. glabrifolia*. (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida)

b) Prueba de viabilidad por rayos X

No se presentaron diferencias significativas entre individuos ($F = 2.77, g. l. 7, P = 0.1$), ni entre tratamientos ($F = 0.57, g. l. = 1, P = 0.47$). La interacción árbol \times tratamiento tampoco fue significativa ($F = 1.24, g. l. = 7, P = 0.29$) (fig. 22). El porcentaje promedio de frutos llenos ($\pm d. e.$) en el control fue de $66.5 \% \pm 8.9$, mientras que en la polinización suplementaria fue de $56.5\% \pm 7.2$.

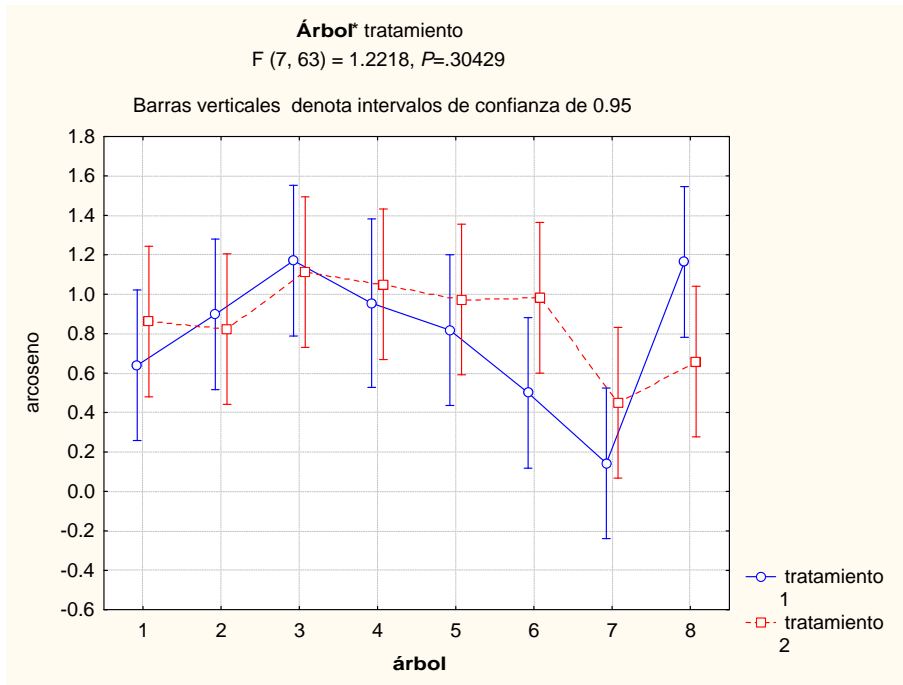


Figura 22. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de rayos X) de *B. glabrifolia*. (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida)

c) Prueba de viabilidad por el método de tetrazolio.

No se presentaron diferencias significativas entre individuos ($F = 2.69$, g. l. 7, $P = 0.10$), entre tratamientos ($F = 0.40$, g. l. =1, $P = 0.54$), ni en la interacción entre ambos ($F = 7.64$, g. l. = 7, $P = 0.10$, fig. 21). El promedio de frutos llenos (\pm d. e.) en el control fue de $69.3\% \pm 9.09$) mientras que en el tratamiento de polinización suplementaria fue de $62.5\% \pm 7$.

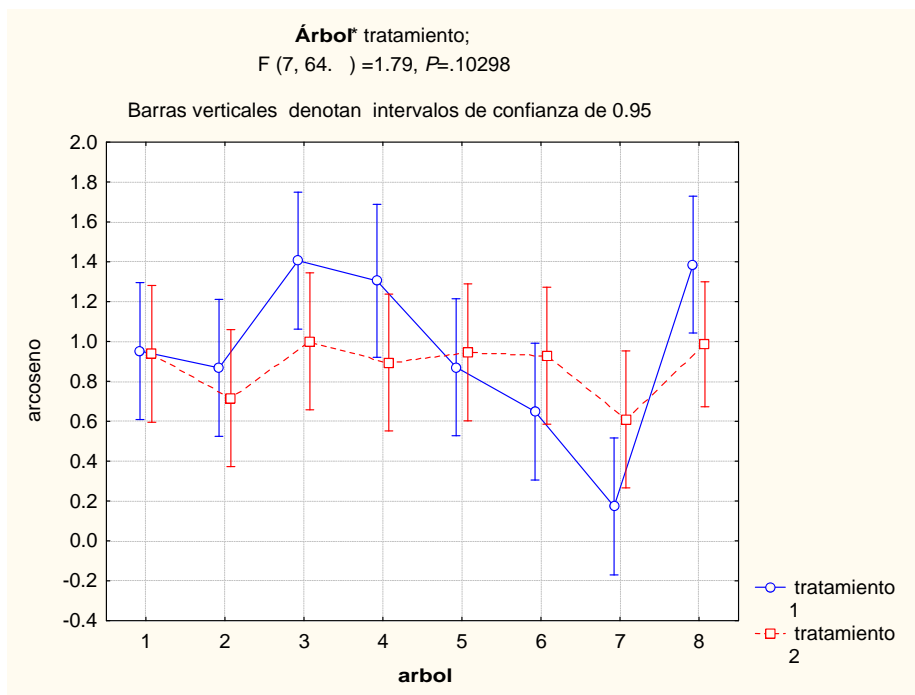


Figura 23. Arcoseno de la proporción de frutos llenos (estimado mediante la prueba de tetrazolio) de *B. glabrifolia* (Tratamiento 1 polinización natural – Tratamiento 2 polinización inducida)

Cuadro 3. Producción total de frutos de *B. glabrifolia* en el tratamiento 1 (polinización natural) y en el tratamiento 2 (polinización natural más inducida) y la proporción promedio de frutos viables en las diferentes pruebas: Flotación, RX y Tetrazolium.

	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Número total de frutos producidos por tratamiento	761	988
Flotacion	63.3%	53%
RX	66.5%	56.5%
Tetrazolium	69.3%	62.5%

V. Discusión

V.I. Fenología reproductiva

Muchas especies del género *Bursera* son deciduas y generalmente florecen a finales de la época de secas o cuando emergen las nuevas hojas. (Johnson 1992). Este mismo comportamiento se observó en la floración de *B. copallifera* y de *B. glabrifolia* en los dos años de registro al comenzar al final de la época de secas, y se disparó una vez que comenzaron las lluvias. Este comportamiento fenológico difiere ligeramente del de *B. morelensis*, que inicia su periodo de floración después del comienzo de las primeras lluvias (Ramos Ordoñez et al. 2008). En muchas especies el periodo de floración está determinado por una respuesta genéticamente programada a un estímulo ambiental, tal como la longitud del día o la temperatura (Fenner 1985), y en las tres especies de *Bursera* antes mencionadas inicia alrededor de la primera quincena de mayo, con ligeras variaciones entre especies y entre años.

El periodo reproductivo de árboles hembra y macho de *B. copallifera* y *B. glabrifolia* presentó algunas diferencias en los dos años de estudio. En ambos los machos iniciaron la floración poco antes que las hembras (entre una y tres semanas antes). Lloyd y Webb (1977) consideran que el retraso de las hembras respecto a los machos es habitual en especies leñosas dioicas, aunque Jordano (1998) manifiesta que esto no puede ser considerado una pauta general. Este fenómeno suele atribuirse al costo reproductivo, que suele ser mayor en las ramas productoras de frutos en especies no dioicas y en las hembras en las especies dioicas (Lovett-Doust y Lovett-Doust 1988).

Cuando se inició el registro en 2007 la floración de todos los individuos macho de *B. copallifera* ya había comenzado, lo que sugiere que es de tipo sincrónico. El periodo reproductivo tuvo una duración de más de siete semanas, muy similar al del siguiente año, que duró ocho semanas y también fue sincrónico. Este patrón

ha sido reportado para diferentes especies del bosque tropical seco como *Plumeria rubra* y *Guazuma ulmifolia* (Borchert et al. 2004). Se ha sugerido que la sincronía en el evento reproductivo es una estrategia para evadir la competencia por polinizadores (Frankie et al. 1974) aunque también puede representar una desventaja, ya que podría incrementar la competencia por los recursos disponibles (Ramirez y Berry 1995).

Tanto en 2007 como en 2008 la floración de los árboles hembra de *B. copallifera* fue ligeramente asincrónica (con una diferencia entre individuos de cuatro semanas en el primer año y de dos semanas en el segundo), lo que puede contribuir a una mejor distribución temporal de los recursos para la futura maduración de los frutos (Ramírez y Berry 1995). La duración del periodo de floración fue comúnmente de tres-cuatro semanas, pero en algunos árboles alcanzó hasta siete-ocho semanas el primer año y seis en el segundo.

Durante las observaciones del periodo reproductivo de 2008 se registró la presencia de unos cuantos frutos en un individuo macho de *B. copallifera*, lo que ya se había observado el ciclo anterior pero no se registró. Rzedowski et al. (2004) reportan que algunas especies del género *Bursera* son dioicas polígamo-dioicas y en menor medida hermafroditas, incluso algunas especies son ocasionalmente hermafroditas como es el caso de *B. fagaroides*. Es posible que este sea el caso de *B. copallifera*.

En *B. glabrifolia* el periodo reproductivo fue más corto que en *B. copallifera*, tanto en machos como en hembras. En ambos años se registraron diferencias en el tipo y comienzo de la reproducción: en 2007 la floración de los machos duró tres a cuatro semanas (o un poco más), y no fue muy sincrónica (con una diferencia de cuatro semanas entre la fecha de inicio del primero y el último árbol), mientras que en 2008 fue más sincrónica y tuvo una duración ligeramente mayor (cinco semanas). En las hembras fue también asincrónico con una diferencia menor (de dos semanas tanto en 2007 como en 2008) y abarcó de dos a cuatro semanas el

primer año (en la quinta la proporción de flores maduras fue ya muy baja), mientras que en 2008 fue muy corto en la mayoría de los árboles (una a tres semanas), pero probablemente se modificó (ya sea acortándose o alargándose) como resultado de la herbivoría de flores. Algunos árboles hembra prácticamente no presentaron flores maduras entre la cuarta y sexta semanas, y en uno se produjo un ligero repunte en la semana siete, probablemente en respuesta a la herbivoría. El periodo efectivo de reproducción fue por tanto de tres semanas. La floración de los árboles macho de las dos especies en ambos años fue más abundante y persistente, fenómeno que se ha observado en otras especies deciduas, como *Ilex aquifolium* (Obeso 1996.). La herbivoría de flores tiernas, botones y flores afectó a ambas especies y sexos, pero fue mayor en las flores femeninas de *B. glabrifolia* durante el segundo año de observación.

La aparición de frutos inmaduros en ambas especies inició a partir de la cuarta semana de registro en 2007, aunque el periodo de maduración de los frutos fue muy diferente: en *B. glabrifolia* la maduración inició en octubre y terminó en noviembre, y en *B. copallifera* comenzó en diciembre y terminó hasta febrero (se consideraron frutos maduros todos aquellos que presentaban el mesocarpo de color rojo oscuro, que estaban perdiendo turgencia y con el exocarpo abierto). Asimismo, los periodos entre la floración y la aparición de frutos maduros difirieron, siendo de seis meses en la primera especie y de entre ocho y diez meses en *B. copallifera*. En ambos años la presencia de frutos en *B. copallifera* se registró a partir de la tercera semana de observación, al igual que en *B. glabrifolia* (dos o tres semanas después de la presencia de botones). En *B. morelensis* los frutos maduran entre siete y ocho meses después de la floración y los frutos inmaduros son evidentes una semana después de la floración (Ramos-Ordoñez et al., 2008), al igual que en las especies de estudio.

En *B. copallifera* los dos periodos de registro se observó la presencia de algunos frutos pegados al árbol parental antes de la floración, los cuales provienen del año anterior, y son frutos que no terminaron su desarrollo. Cortés (1998) observó un

fenómeno similar en *B. medranoana*, en donde observó algunos frutos que permanecieron adheridos al árbol madre por once meses.

Aunque en este trabajo se hicieron observaciones sistemáticas de la fenología de ambas especies durante dos años, no se realizaron registros anteriores a la época reproductiva, por lo que estrictamente no se conoce el proceso fenológico completo de las especies de estudio, a pesar de que se abarcó la mayor parte del proceso de floración y formación de frutos inmaduros (> 90%). Es necesario por tanto que en futuros estudios se ponga más atención en comenzar a realizar observaciones varias semanas antes del inicio de la floración, es decir antes de la segunda semana de mayo, que fue la fecha en que se inició el registro en este estudio. También es recomendable, para realizar estudios fenológicos en el futuro, que se amplíe el tamaño de muestra (incluyendo más de una rama por individuo) y se tomen registros de otros datos del árbol, como su tamaño (altura, diámetro, cobertura) y su entorno (árbol aislado, en un manchón de vegetación, o dentro del bosque), así como datos del medio físico (p. ej. temperatura y humedad relativa), para entender si existe alguna relación entre los procesos fenológicos, el clima y el tamaño del individuo.

V.II. Número de estambres

El número de estambres en las flores masculinas se considera un carácter taxonómico para la identificación de las especies, aunque las descripciones previas de *B. copallifera* y *B. glabrifolia* realizadas por Guizar y Sánchez (1991) y Rzedowski *et al.* (2004) no hacen mención de esta característica. En este estudio se registró un número variable de estambres, variación que en gran medida está asociada a los árboles individuales, y que es mayor en *B. glabrifolia* que en *B. copallifera*. En esta última especie dominan claramente las flores con nueve estambres, pero muchos árboles (6/8, Figura 14) presentaron también algunas flores con ocho, y en menor medida con siete. En *B. glabrifolia*, aunque también el número más frecuente de estambres fue nueve, se presentó una frecuencia alta

de flores con ocho y un poco menor con siete estambres, e incluso en un árbol se registraron flores con diez y hasta once estambres. Rzedowski *et al.* (2004) han descrito números fijos de estambres en algunas especies de *Bursera* tal es el caso de *B. aptera* y *B. bipinata* que presentan seis; *B. asplenifolia* y *B. biflora* ocho. Los mismos autores también mencionan, que, existen otras especies con un número variable (en *B. gumífera* entre ocho y 10, en *B. arida* de seis a ocho y en *B. espareae* ocho o 10), al igual que en las dos especies de estudio.

V.II. Viabilidad del polen.

Este estudio mostró que no existe variación en la viabilidad del polen entre especies (la proporción promedio de polen viable en ambas especies fue de alrededor de un tercio), ni entre flores de un mismo árbol, pero sí entre individuos. Ludlow *et al.* (2007) analizaron el polen de ejemplares de herbario de 18 especies del género *Bursera*, y encontraron que el 60% del polen de nueve especies presenta malformaciones, lo que interpretaron como polen estéril.

En *B. copallifera* la mayor proporción de polen viable fue de alrededor de 0.5, y la menor de 0.17, valores similares a los encontrados en *B. glabrifolia* (0.56 y 0.08 respectivamente, fig. 15). Estas diferencias entre individuos deberán ser explicadas en estudios posteriores, para poder establecer si se debe a factores ambientales, genéticos o a variaciones a lo largo del ciclo de vida de un árbol.

La baja viabilidad de polen encontrada en ambas especies sugiere que este factor podría estar ligado al desarrollo de frutos y semillas sin embrión y a la baja germinación de las semillas que presentan muchas especies, por lo que es importante desarrollar más estudios al respecto. A pesar de esta posible recompensa, en *B. copallifera* y *B. glabrifolia* el número de visitas no se ve reflejado en un alto número de frutos maduros.

Las observaciones de campo mostraron que las especies de estudio son visitadas por una gran cantidad de polinizadores, principalmente abejas, avispas y escarabajos. Cortés (1998) observó que *B. medranoana* y *B. morelensis* también son polinizadas por abejas y avispas, y que esto puede explicar la gran cantidad de néctar que producen.

V.I.I. Viabilidad de frutos y semillas

Aunque Grant (1989) define a la partenocarpia como una forma de reproducción asexual en la que se desarrollan frutos con semillas viables, varios autores han definido a los frutos partenocárpicos como frutos de origen asexual sin semillas (o sin embrión), y han descrito este tipo de frutos en al menos una especie de *Bursera* (Ramos-Ordóñez et al. 2008), y en dos especies del género *Pistacia*, arbustos de la familia Anacardiaceae, que se considera una familia hermana de Burseraceae (Traveset 1193, Verdú y García Fayos 1998, 2000). Por su parte, Bonfil et al. (2008) encontraron una alta proporción de frutos vanos (i. e., sin embrión) en seis especies de *Bursera* del estado de Morelos.

El mecanismo por el cual se desarrollan estos frutos vacíos, sin embargo, no es aún claro. Por ejemplo, no se sabe si la presencia del polen en el estigma de la flor es necesaria para que se dispare su desarrollo (o ésta no es necesaria, si son frutos de origen asexual), ni si la falta de embrión se debe a una polinización incompleta o defectuosa o a alguna otra causa. Por otro lado, desde el punto de vista evolutivo resulta difícil explicar por qué un grupo de plantas dedican recursos al desarrollo de frutos que resultan costosos y no van a aumentar su adecuación. Se ha propuesto la hipótesis de que los frutos sin semilla contribuyen a disminuir la depredación pre-dispersión por insectos o por aves, ya que estos depredadores prefieren consumir las semillas de los árboles o arbustos que tienen una alta proporción de frutos llenos, que tienen un mayor valor alimenticio (Verdú y García Fayos 2000). Sin embargo, no hay suficiente evidencia experimental para corroborar dicha hipótesis; en *P. lentiscus* sólo se encontró evidencia

experimental de estas diferencias en el consumo de las aves en una población con alta densidad de árboles hembra, y una alta variabilidad en la proporción de frutos llenos entre árboles, pero no en otra con una densidad menor de hembras.

En este estudio, el tratamiento de exclusión de polinizadores mostró que tanto *B. copallifera* como *B. glabrifolia* necesitan de la presencia de polen en el estigma para producir frutos, ya que en los tratamientos de exclusión de polinizadores no se desarrollaron frutos. Esto constituye evidencia de que se requiere de la polinización para que se dispare el proceso de desarrollo de los frutos, incluyendo a los llamados “frutos partenocárpicos” por los autores antes citados. Es tal vez entonces una polinización deficiente o un problema en un proceso de desarrollo posterior a la polinización lo que lleva al desarrollo de los frutos sin semilla (o semillas vanas). Los frutos de *Bursera* son drupas cuyas semillas están rodeadas por un endocarpo muy duro (stony endocarp) que funciona como cubierta de la semilla. La testa es una capa delgada contigua al endocarpo en *B. copallifera* (Healy 2007), y no puede distinguirse a simple vista, por lo que es difícil delimitar el fruto de la semilla sin ayuda de un buen microscopio. Sin embargo la falta de desarrollo del óvulo implica que ni el embrión ni la semilla se desarrollan, por lo que el término correcto en este caso es fruto sin semilla o fruto vano.

En el estudio de Ramos Ordóñez et al. (2008) se reporta el desarrollo de un 2.26% de frutos (fruit set, o proporción frutos/flores) en un experimento de exclusión de polinizadores en *B. moreletii*, de los cuales sólo el 1.54% creció al tamaño final, y ninguno tuvo semillas (es decir, se consideraron frutos partenocárpicos). Sin embargo, es posible que algún polinizador haya logrado “introducirse” por una pequeña apertura en la exclusión y eso llevara al desarrollo de unos cuantos frutos, pues de acuerdo con nuestras observaciones, si no hay polinización no hay desarrollo de frutos. En este estudio se registró también el desarrollo de unos cuantos frutos en el tratamiento de exclusión, pero una inspección cuidadosa mostró que en esos casos se había producido una pequeña rotura en la tela de organza, que muy probablemente permitió la entrada de algún polinizador. En las

bolsas que permanecieron bien cerradas y sin roturas no se produjeron frutos. Verdú y García Fayos (1998) también reportan que la supervivencia de flores no polinizadas del arbusto *Pistacea lentiscus* es negligible, i. e., para que se desarrollen los frutos (incluidos los partenocárpicos) es necesaria la presencia de polen.

Por otro lado, Ramos Ordóñez *et al.* (2008) afirman que las semillas de *B. morelensis* claramente tienen un origen sexual a través del proceso de auto cruzamiento. En ese punto estaríamos de acuerdo, es decir consideramos que todas las semillas llenas, con un embrión desarrollado, tienen un origen sexual, pero el mecanismo que lleva a la producción de “frutos sin semilla” o “semillas sin embrión”, de acuerdo con los resultados obtenidos, requiere al menos del estímulo de la presencia de polen en el estigma. Quedan por establecer las causas y procesos que llevan al desarrollo de una semilla sin embrión, y si su origen es o no claramente asexual.

En el presente estudio no fue posible calcular el “fruit set” (o proporción frutos/flores) debido a que todas las bolsas tuvieron una longitud similar a lo largo de las ramas en que se colocaron, pero en algunos casos en ese tramo se encontraba una inflorescencia y en algunos casos dos, dato que no se registró, por lo cual no fue posible establecer la relación entre número de flores y frutos; por ello se recomienda poner atención en excluir siempre una sola inflorescencia (o dos) en futuros estudios, para poder hacer este cálculo. Sin embargo, considerando que la variación en el número de inflorescencias fuera al azar y similar entre los tratamientos, no se encontró una mayor producción de frutos en el tratamiento de polinización suplementaria en ninguna de las dos especies, lo que sugiere que la producción de frutos no está limitada por la escasez de polinizadores. Ramos Ordoñez *et al.* (2008) coinciden en que no existe una limitación de polinizadores en *B. morelensis*.

Por otro lado, se exploró la posibilidad de que la producción de semillas vanas, sin embrión, disminuyera si había mayor disponibilidad de polen. En general los resultados muestran que esto no fue así, ya que la viabilidad de los frutos producidos sólo con polinización manual y los que recibieron además polinización suplementaria difirió muy poco con cualquiera de los métodos de evaluación usados. En *B. copallifera* sólo fue 3% mayor cuando fue evaluada con tetrazolium, mientras que en *B. glabrifolia* la viabilidad promedio de frutos siempre fue ligeramente mayor (7-10%) en el caso de polinización natural que en el de polinización suplementaria, sin diferencias significativas. Las diferencias en la viabilidad de frutos entre polinización natural y polinización manual en *B. morelensis* fueron también pequeñas, de alrededor del 6% (42.5% vs ~36%, Ordóñez et al. 2008), pero los resultados no son comparables, porque en dicho estudio las flores con polinización manual no tuvieron, además, acceso a polinizadores como en este caso, en que fue suplementaria a la natural.

Por otro lado, algunas observaciones hechas en el campo pueden contribuir a mejorar los experimentos de polinización manual. Es probable que el momento en que se hace la transferencia de polen influya en los resultados, pues alrededor del medio día el polen no se desprende fácilmente de la antera, lo que puede deberse a que su movilidad se ve afectada por la temperatura y/o la humedad relativa, que van cambiando conforme transcurre el día. Por otro lado, las flores de *B. copallifera* son muy pequeñas y es probable que el estigma de las flores pueda recibir al polen incluso cuando la inflorescencia no ha abierto (sin las flores y sus pétalos completamente abiertos). Esta observación está asociada al hecho de que se observaron estilos con sus estigmas expuestos antes de que la inflorescencia abriera, lo que al parecer no sucede con las flores relativamente más grandes de *B. glabrifolia*, que son también más fáciles de polinizar manualmente.

Con respecto a las variaciones entre individuos (árboles) en la proporción de frutos llenos, las variaciones tampoco fueron significativas en ninguna de las dos especies, excepto cuando fueron evaluadas mediante la prueba de flotación en *B.*

glabrifolia. Esto se debe en parte a la variación presente entre las muestras obtenidas de un mismo individuo, y en parte a que la detección de diferencias significativas es mucho más restrictiva cuando se utiliza un análisis de varianza con un factor de efectos aleatorios que cuando se usa uno de efectos fijos. Inicialmente en este estudio las variaciones se analizaron considerando a los individuos como un efecto fijo y las diferencias resultaron significativas, pero dado que los árboles fueron elegidos aleatoriamente de una población se decidió cambiar por uno de efectos aleatorios.

Aunque la evaluación de la proporción de semillas llenas y vanas (mediante flotación y rayos X) difieren de una evaluación de viabilidad, que sólo puede hacerse mediante una tinción con tetrazolium, las diferencias entre las diferentes estimaciones no fueron muy grandes (Cuadro 2 y 3), por lo que para efectos prácticos de la propagación en viveros, o cuando no se pueda realizar una prueba en laboratorio con tetrazolium, es una buena aproximación. En este caso, la estimación de viabilidad con tetrazolium resultó en valores menores a los obtenidos con rayos X o flotación, pero en el caso de *B. glabrifolia* la estimación con tetrazolium aumentó ligeramente el valor de esta estimación, lo que muestra que los sesgos no siempre son en el mismo sentido. En un estudio previo realizado con *B. copallifera* se encontró que una proporción muy baja de las semillas que flotaron (entre 0 y 6%), fueron capaces de germinar (Healy 2007), lo que podría explicar el resultado obtenido en este estudio con *B. glabrifolia*.

Finalmente, es necesario señalar que las observaciones realizadas difieren de las registradas por Ramos Ordoñez et al. (2008) respecto a la apariencia de los frutos sin semilla (o partenocárpicos) de *B. morelensis*, los cuales de acuerdo con dichos autores pueden ser distinguidos en el campo porque no se produce una dehiscencia total del exocarpo (i. e., una o más valvas permanecen sin abrirse) y cuando se expone el pseudoarilo, pierde su color rojo y se torna café. En nuestro caso, inicialmente se separaron los frutos maduros, con apariencia sana y totalmente expuestos, en los que se hubieran abierto todas las valvas, de los

frutos parcialmente cerrados o con otro color o tamaño o alguna malformación. El análisis posterior mostró que en estos últimos no había un embrión, pero en los primeros había una mezcla de frutos con embrión y sin embrión (i.e., con y sin semilla), que solo pudieron distinguirse posteriormente mediante el uso de rayos X o tetrazolium. Por ello, concluimos que no es posible decidir, con base en su apariencia externa, si un fruto tiene o no un embrión bien desarrollado, aunque es claro que los frutos con apariencia poco sana no lo tienen.

En conclusión, las causas y mecanismos por los cuales se desarrollan los frutos sin semilla (o semillas sin embrión) en el género *Bursera* no es aún claro, y queda por aclararse si son producto de la reproducción asexual o de una reproducción sexual deficiente o defectuosa. Sin embargo, sí es claro que es un fenómeno que se presenta ampliamente en diversas especies del género, y por lo que probablemente es el resultado del arrastre filogenético, como afirman Verdú y García-Fayos (1998), ya que se presenta en diversas especies de Burseraceae y de Anacardiaceae, familias hermanas, por lo que pudo estar presente ya en el ancestro común de ambas familias. Por otro lado, si en la magnitud de la producción de frutos vanos intervienen factores ambientales y/o bióticos, además de los genéticos, es de esperarse que se encuentren variaciones entre poblaciones de la misma especie e incluso entre años en una misma población, dependiendo de la disponibilidad de recursos como el agua, los nutrientes, o incluso la magnitud del ataque de herbívoros o granívoros. Estas son tareas pendientes para futuros estudios del género.

Literatura consultada

- Augspurger, C. 1981. *Reproductive synchrony of a tropical shrub: experimental studies on effects of pollinators and seed predators on Hybanthus prunifolius (Violaceae)*. Ecology 62: 775-88
- Bawa, K.S. 1974 *Evolution* 28: 85-92
- Barnabas, B. and Kovacs, M. 1997. *Storage pollen grains, and improvement*. Shivana K.R. Shivanna, Sawheney (eds) Cambridge University, Press, New York.
- Bold, H. 1961. *The Plant Kingdom*. Ed. Prentice-Hall. New Jersey.
- Becerra. J. 2005 *Timing the origin and expansion of the Mexican tropical Dry forest*. PNAS 102: 10919-10923.
- Camacho Rico, F. 2004. *Estructura y composición de la vegetación del fondo de la barranca del río Tembembe, Morelos, México*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Bonfil, C. I. Cajero y R. Evans. 2008. Germinación de semillas de seis especies de Bursera del centro de México. *Agrociencia* 42: 827-834.
- Bonfil, C. e I. Trejo. 2010. Plant propagation and the ecological restoration of Tropical Deciduous Forests. *Ecological Restoration* 28: 369-376.
- Borchert, R., S.A. Meyer, R.S. Felger, y L. Porter- Bolland. 2004. *Environmental control of the flowering periodicity in Costa Rican and Mexican tropical dry forest*. *Global Ecology and Biogeography* 13: 409-425.
- Challenger, A. 1998. *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: presente pasado y futuro*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F.
- Cortés, A. 1998. *Biología reproductiva de Bursera medranoana Rzedowski & Ortíz (Burseraceae), una especie de origen híbrido*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.

- Cronquist, A. 1971. *An introductory botany*. 2 ed. Harper & Row. New York.
- Cuatrecasas, J. 1957. 1. Burseraceae. *Prima flora Colombiana* 12 (2) :375-387.
- Dirzo, R. 1992. *Diversidad florística y estado de conservación de las selvas tropicales de México*. En Sarukhán y Dirzo (comp.). México ante los retos de la biodiversidad. CONABIO México.
- Faegri, K. y J. Inversen. 1989. *Text book of pollen analysis*. 4th edition. Hafner Pub. & Co. New York.
- Frankie, G.W., H.G. Baker y P.A. Opler. 1974 *Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forest in the lowlands of Costa Rica*. Ecology 62: 881-919.
- Fenner, M. 1985. *Seed Ecology*. Chapman and Hall. Great Britain.
- Forman, L., E. Brandham., M. Harley y J. Lawrence, 1988. *Beiselia mexicana (Burseraceae) and its affinities*. Kew Bulletin 44 (1): 1-31
- Fritz, S.E. and A.J. Lukaszewski. 1989. En Shivanna, K. 2003. *Pollen Biology and biotechnology*. Science Pub. Inc. USA.
- García, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. Offset Larios, 4a. Ed. México.
- Grant, V. 1989. *Especiación vegetal*. Noriega, México.
- Guizar, A., y V. Sánchez. 1991. *Guía para el reconocimiento de los principales árboles del alto Balsas*. Universidad Autónoma Chapingo.
- Hernández-Pérez E., M. González-Espinosa, I. Trejo y C. Bonfil. 2010. *Distribución del género Bursera en el estado de Morelos (México) y su relación con el clima*. Revista Mexicana de Biodiversidad (en prensa).
- Janzen, D. 1971. *Seed predation by animals*. Annual Review in Ecology and Systematics 2: 465-492.

- Jonson, M. 1992. *The Genus Bursera (Burseraceae) in Sonora Mexico and Arizona*, U.S.A. *Desert Plants* 10 (3): 126-146
- Johri. B.M. 1984. *Embriology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Alemania. 830p.
- Jordano, P. 1998. *Polinización y variabilidad de la producción de frutos y semillas en Pistacia lentiscus (Anacardiaceae)*. *Anales Jardín Botánico de Madrid* 45: 213-231.
- Justiniano, J., and T. Fredericksen. 2000. *Phenology of tree species in Bolivian Dry Forest*. *Biotropica* 32 (2): 276 – 281.
- Koelmeyer, K.O. 1960. The periodicity of leaf change and flowering in the principal communities of Ceylon. II. Phenology of tropical dry mixed ever green forest. *Ceylon* 4, 308-364.
- Lloyd.D., and C. Webb. 1977. *Secondary sex characters in plants*. *Botanical Review* 43: 177-216
- López C.M.L, J .Márquez. y G. Murguía. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Lovett-Dust, J and L. Lovett-Dust. 1988. *Modules of reproduction in a dioecious clonal shrub, Rhus typhina*. *Ecology* 69: 741-750
- Ludlow, B., J. Jiménez y V. Aguilar. 2007. *Malformaciones y su impacto biológico en el género Bursera*. Resúmenes de XVII Congreso Mexicano de Botánica. Zacatecas, México.
- Mc Gregor, S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. In: *Agricultural Handbook*, No 496, Agricultural Research Service, Washington, USA.
- Miranda, F. y E. Hernández –Xolocotzi. 1963. *Los tipos de vegetación y su clasificación*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 28: 29-179.
- Martínez, M. 1959. *Plantas útiles de la flora Mexicana*. Ediciones Botas, México.
- Mittermeir, R.A. y C.G. Mittermier. 1992. *La importancia biológica de México*

- Monasterio, M., y G. Sarmiento. 1976. *Phenological strategies of plants species in the tropical savanna and semideciduous forest of Venezuelan Llanos*. Journal of Biogeography 3 : 325-356.
- Murphy, P y A. García Lugo. 1986. *Ecology of tropical dry forests*. Annual Review of Ecology and Systematics 17: 67-88.
- Piña, E. 2005. *Análisis de la estructura y la 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.
- Ramírez, N. 2002 *Reproductive phenology, life-forms, and habitats of a Venezuelan Central Plain*. American Journal of Botany 89: 836-842.
- Ramos-Ordóñez, M., Marquez, J. y M.C. Arizmendi. 2008. *Parthenocarpy and seed predation by insects in Bursera morelensis*. Annals of Botany 102: 713-722
- Raven, P., R. Evert y S. Eichhorn. 1999. *Biology of plants*. W.H Freeman and Co. 6 ed. New York.
- Richards, A.J. 2003 *Apomixis in flowering plants: an overview*. Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences 358: (1434): 1085-1093
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México.
- Rzedowski, J. 1981. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Continental. México.
- Rzedowski, J y G. Calderón. 1987. El bosque tropical caducifolio de la región mexicana del Bajío. Trace 12.
- Rzedowski, J. y H. Kruze. 1979. *Algunas tendencias evolutivas en Bursera (Buseraceae)*. Taxon 28: 103-116.
- Rzedowski, J y E. Ortiz. 1988. *Estudios quimiotaxonómicos de Bursera (Burseraceae) II. Una especie nueva de origen híbrido de la Barranca de Tolantongo, estado de Hidalgo*. Acta Botánica de México. 1: 11-19

- Rzedowski, J. 1991. *El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar*. Acta Botánica de México 15: 47-64.
- Rzedowski, J., R. Medina, y G. Calderón. 2004. *Las especies de Bursera (Burseraceae) en la cuenca del río Papaloapan (México)*. Acta Botánica Mexicana 66: 23-151.
- Shivanna, K. 2003. *Pollen Biology and biotechnology*. Science Pub. Inc. USA.
- Shivanna, K., J. Heslop – Harrison 1981. *Membrana state and pollen viability*. Ann Bot. 47: 759 -770
- Singh, J. and K. Singh. 1992. *Phenology of seasonally dry tropical forest*. Current Science 63: 11, 684-689
- Stanley, R.E and M.F. Liskens. 1974. *Pollen Biology, Biochemistry and Management*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. New York.
- Tobón, W. 2005. *Evaluación del crecimiento y establecimiento de plántulas de Conzattia multiflora para la restauración de las selvas bajas de Morelos*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Traveset. A. 1993. Deceptive fruits reduce insect seed predation in *Pistacia terebinthus* L. Evolutionary Ecology 7: 357-361.
- Obeso, J.R. 1996. *Fruit and seed production in European Holly, Ilex aquifolium L. (Aquifoliaceae)*. Anales del Jardín Botánico de Madrid 54: 533-539
- Trejo, I. y J. Hernández. 1996. *Identificación de la selva baja caducifolia en el estado de Morelos, México, mediante imágenes de satélite*. Investigaciones Geográficas. Boletín Instituto de Geografía. Número especial 5: 11-18
- Trejo, I. 1998. *Distribución y diversidad de selvas bajas de México. Relaciones con el clima y el suelo*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Trejo, I. y R. Dirzo. 2000. *Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local análisis in Mexico*. Biological Conservation 94: 133-142.

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

Verdú, M. y P. García-Fayos. 2000. *The effect of deceptive fruits on pre-dispersal seed predation by birds in Pistacia lentiscus*. Plant Ecology: 245-248