



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**Respuesta germinativa *ex situ* de *Beiselia mexicana*
(Copal de piedra)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

PRESENTA

PAMELA BERENICE MARTINEZ MENDEZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARIA FELIX RAMOS-ORDOÑEZ



Los Reyes Iztacala, Estado de México, Mayo 2016.



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.

DEDICATORIAS

A mi familia: A mis papás, José y Azalia, por su amor y confianza, por los desvelos y sacrificios, por apoyarme en la realización de esta meta tan importante, porque este logro es de los tres. Los amo mucho.

A mis hermanos, Cinthia y Juan Carlos, a mis tíos Mary, Vero, Tito y Benito, por cuidarme y apoyarme. Por darme la mano, cuando creí que ya no podía.

A las niñas, Abril, Alma, Brenda, Erika, Gabriela y Rebeca. Por ser mis cómplices y compañeras a lo largo de esta aventura, por su amistad incondicional e infinito apoyo.

A la UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme formado desde el bachillerato, y por darme el privilegio de entrar a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por la oportunidad para convertirme en Bióloga. Por darme aprendizajes más allá de lo académico.

A la Dra. María Félix Ramos-Ordoñez, por haber dirigido este trabajo, por la paciencia, la confianza, las tardes de charlas y explicaciones, los consejos y experiencias, por enseñarme la importancia de la disciplina, incluso por las llamadas de atención en los momentos indicados, sobre todo por enseñarme el maravilloso mundo de las burseráceas.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán y al Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, por las facilidades para la realización de una parte de esta tesis, por su tiempo para revisar el trabajo, y enriquecerlo con sus acertados comentarios.

A la Dra. María del Coro Arizmendi y al Laboratorio de Ecología de UBIPRO, por ser tan amable y atenta, por "adoptarme" en el

laboratorio, por las revisiones al trabajo y sus consejos que mejoraron la tesis.

A la Dra. Isela Rodríguez Arévalo y al Banco de Semillas de la FES-Iztacala, por haber evaluado este trabajo desde el principio y hacer recomendaciones que lo mejoraron, por la amabilidad y las facilidades para el desarrollo de la primera parte de este trabajo.

A la M. en F. Ana Isabel Bieler del Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, por las maravillosas microfotografías de los pirenos.

A la M. en C. Patricia Olguín del Laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, por el tiempo y espacio destinado para los experimentos de germinación y para mantener las plántulas.

Al M en C. César Ordoñez Salanueva, por haber participado en la revisiones a lo largo del trabajo, sus consejos académicos y para la vida.

Al Dr. Manuel Mandujano Piña, por ayudarme a recordar y entender la Bioestadística, con lo cual se me facilitó el tratamiento de mis datos.

Dra. Ana María Contreras González, del Laboratorio de Ecología, de UBIPRO. Por la amabilidad y tiempo para revisar el trabajo, sus recomendaciones y consejos me ayudaron a mejorar el escrito.

A mis amigas y amigos: Alma, Abril, Beca, Brenda, Erika, Gabi, Roger y Jake. Por las aventuras del inicio de la carrera, por las que siguieron en las prácticas de campo y en las clases; sobre todo por las que vienen ahora. A Karen, Caro, Juan Manuel y Jessica, por formar parte de los episodios que vinieron después, pero no por ello menos importantes, por hacer más llevaderas las clases, y por las demás aventuras que vivimos.

NO TE RINDAS

No te rindas, aún estas a tiempo
De alcanzar y comenzar de nuevo,
Aceptar tus sombras,
Enterrar tus miedos,
Librar el lastre,
Retomar el vuelo.
No te rindas que la vida es eso,
Continuar el viaje,
Perseguir tus sueños,
Destabar el tiempo,
Correr los escombros
Y destapar el cielo.

No te rindas, por favor no cedas,
Aunque el frío queme,
Aunque el miedo muerda,
Aunque el sol se esconda y se calle el viento,
Aún hay fuego en tu alma,
Aún hay vida en tus sueños...

Porque esta es la hora y el mejor momento...

MARIO BENEDETTI.

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Semilla y factores que intervienen en la germinación.....	2
<i>Beiselia mexicana</i>	9
Importancia.....	13
Problemática	15
Objetivo general	17
Objetivos particulares	17
Material y Método	18
Respuesta germinativa en condiciones estándar.....	18
Respuesta germinativa en condiciones variables.....	21
Resultados	24
Respuesta germinativa en condiciones estándar.....	24
Respuesta germinativa en condiciones variables.....	28
Discusión	33
Conclusiones	41
Perspectivas	42
Bibliografía	43
Anexo 1	48

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Respuesta bioquímica durante las etapas de imbibición que conducen a la germinación (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013)	4
Figura 2. Respuesta germinativa en el intervalo de temperatura (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado 2013)	7
Figura 3. Tallo de <i>Beiselia mexicana</i> que muestra la base de los peciolos que persisten a la caída de las hojas (Tomadas de Naturalista, CONABIO 2015)	10
Figura 4. <i>Beiselia mexicana</i> . A Inflorescencia masculina, B brote masculino, C flor masculina, D flor masculina con pétalos y la mayoría de los estambres removidos para mostrar disco y pistilo, F flor femenina, G corte transversal de ovario, H corte longitudinal de ovario, J fruto con las divisiones del pericarpio, K columnela central del fruto con un pireno, L pírenos en vista lateral y abaxial, M embrión (Tomada de Forman <i>et al.</i> 1989)	11
Figura 5. Estereofotografía de pireno de <i>Beiselia mexicana</i> , Barra de escala = 1mm	11
Figura 6. Distribución geográfica potencial actual del BTC, propuesta por Rzedowski y Calderón (Tomada de Rzedowski y Calderón, 2013)	14
Figura 7. Árbol de <i>Beiselia mexicana</i> dañado por patógenos, aún se aprecian ramas vivas saliendo del tronco principal (izquierda), y tocón de <i>Beiselia mexicana</i> (derecha) en Aquila, Michoacán (Tomada de Naturalista CONABIO 2015 (izquierda) y cortesía de Boris Vrskovy (derecha))	15
Figura 8. Porcentaje promedio final de germinación de pírenos de <i>Beiselia mexicana</i> en cada combinación de variables (n=5).	25

Figura 9. Emergencia de la radícula de <i>Beiselía mexicana</i> y efecto del ala. a) pireno con ala removida manualmente, la radícula emerge por la zona central del pireno y se orienta hacia el sustrato. b) pireno al que no se removió el ala, la radícula emerge por un costado, usualmente hacia arriba, posteriormente presenta una torsión hacia el sustrato.	26
Figura 10. Curva de germinación acumulada de <i>Beiselía mexicana</i> considerando 24 y 48 h de imbibición.	27
Figura 11. Germinación promedio de <i>Beiselía mexicana</i> considerando solo el pretratamiento con y sin choque térmico.	28
Figura 12. Porcentajes de viabilidad de <i>Beiselía mexicana</i> basados en la observación del embrión (n=102).	29
Figura 13. Pirenos examinados de <i>B. mexicana</i> . Embrión viable (A), embrión inviable o abortado (B) y pireno vano o vacío (C). Los embriones se señalan con la flecha roja.	30
Figura 14. Pirenos de <i>B. mexicana</i> . A y B tienen alta probabilidad de ser inviables y C tiene alta probabilidad de ser viable de acuerdo con el color del endocarpo.	31
Figura 15. Porcentaje de germinación promedio de cada intervalo de luz (LB= luz blanca, LR= luz roja, LRL= luz rojo lejano y O=oscuridad; n=24).	32
Figura 16. Morfología de plántulas de <i>B. mexicana</i> germinadas en luz roja (A), rojo lejano (B) y oscuridad (C).	40

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Combinación de variables incluidas en el modelo experimental.	20
Tabla 2. Combinación de variables empleadas en el diseño experimental (3 repeticiones por conjunto)	23
Tabla 3. Resultados de la prueba de viabilidad por flotación para 2400 pirenos de <i>Beiselía mexicana</i> con un año de almacenamiento.	24
Tabla 4. Resultados de la prueba de efectos de las diferentes variables en el porcentaje de germinación para los pirenos germinados en luz blanca.	33
Tabla 5. Prueba de ANOVA de dos vías, se presentan también las pruebas de efectos para los tratamientos (* = Diferencias significativas, NS= No significativo).	48

RESUMEN

La semilla es la unidad estructural de reproducción, propagación y diseminación de las gimnospermas y angiospermas, su germinación depende de la combinación entre factores internos y externos. Para ciertas especies de plantas, existe muy poca información sobre los requerimientos básicos para la germinación, tal es el caso *Beiselia mexicana* (Burseraceae), una especie arbustiva o arbórea resinosa, microendémica del bosque tropical caducifolio de Aquila, Michoacán; denominada como el taxón basal de la familia Burseraceae y uno de los linajes de angiospermas endémicos de México. Recientemente fue incluida en la NOM-059-SEMARNAT como especie en peligro de extinción debido a su limitada distribución y el bajo número de individuos. La conservación de esta especie requiere la generación de información que ayude a la propagación *ex situ*. El objetivo principal de esta tesis fue determinar los requerimientos básicos de germinación de *Beiselia mexicana* en condiciones controladas considerando la viabilidad en dos tiempos de almacenamiento (12 y 18 meses). Se cuantificaron los porcentajes de germinación considerando la siguiente serie de factores: desinfección de las diásporas, temperatura constante (25°C) y alternante (24-31°C), pretratamiento germinativo (químico y con choque térmico), dos periodos de imbibición y calidad de luz. La respuesta germinativa en ambos periodos de almacenamiento fue muy similar; la desinfección y los periodos de imbibición no presentaron efectos significativos en los porcentajes de germinación; el pretratamiento germinativo químico dañó los embriones y el pretratamiento con choque térmico tuvo un ligero efecto positivo en la velocidad de germinación más no en el porcentaje de germinación; las diásporas son fotoblásticas indiferentes, pero el porcentaje de germinación es mayor en luz blanca; la temperatura alternante, favoreció también la germinación. El 64% de las diásporas analizadas, de acuerdo a las características del embrión, era inviable; encontrando pirenos vanos (sin embrión), como un indicio de partenocarpia, y pirenos con embriones abortados. La imbibición previa, luz blanca y la temperatura alternante cercana a 30°C son las condiciones más favorables para la germinación de *Beiselia mexicana*. Este es el primer trabajo que analiza la respuesta germinativa de *Beiselia mexicana* en condiciones de laboratorio para su propagación *ex situ*.

INTRODUCCIÓN

SEMILLA Y FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA GERMINACIÓN

En la reproducción sexual de las angiospermas, la fertilización de los óvulos ocurre a través del proceso de la doble fecundación, lo cual conlleva a la formación de una semilla. La doble fecundación es una característica sinapomórfica de este grupo, este evento comienza cuando son depositados los núcleos espermáticos en el saco embrionario, estos migran hacia el núcleo de la ovocélula y a los núcleos polares de la célula central, culminando con la fusión de los núcleos. La fusión de un núcleo espermático con el núcleo de la ovocélula (singamia) forma un cigoto diploide que se desarrollará en un embrión, y la fusión del otro núcleo espermático con los núcleos polares de la célula central (triple fusión) genera un endospermo encargado de nutrir al embrión durante el desarrollo (McCauley *et al.* 2013; Márquez, 2013)

Con la semilla, comienza la independencia de la siguiente generación de la planta. Cada semilla posee características estructurales, anatómicas y metabólicas que le permiten enfrentar las condiciones ambientales, permitiendo la multiplicación, dispersión y persistencia de la especie, en el tiempo y el espacio. Una semilla lista para dispersarse está generalmente constituida por un embrión, un tejido de reserva (endospermo) y una cubierta seminal protectora (Bewley, 1997; Márquez, 2013).

Germinación

La germinación conlleva una serie de procesos metabólicos y morfogenéticos cuyo resultado final es la emergencia de la plántula. Esta comprende tres etapas que se superponen parcialmente (Fig. 1; García *et al.*, 2006).

La primera etapa es conocida como imbibición, comienza con la entrada de agua a la semilla seca. La tasa inicial de toma de agua por la semilla está determinada por la permeabilidad de sus cubiertas, el área de contacto entre la semilla y el sustrato, las características de los tejidos de la semilla y la conductividad hidráulica del suelo. En esta etapa se inicia la reparación del material genético, las mitocondrias y cualquier otro sistema de membranas, así como los daños ocurridos durante la

etapa de deshidratación, que marca el final del desarrollo de la semilla. Además se reinicia la síntesis de proteínas (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

En la segunda etapa conocida como fase estacionaria, la semilla reduce la toma de agua. En esta fase, se producen los procesos bioquímicos iniciados en la primera fase y se inician nuevos procesos, como la síntesis de ADN y ARN, renovación del sistema mitocondrial, movilización de sustancias de reserva y la elongación de las células de la radícula. La actividad de las moléculas promotoras de la germinación (giberelinas) incrementa la síntesis de enzimas hidrolíticas, como α -amilasa y la ribonucleasa, así como β -amilasa, que permite la utilización de las sustancias de reserva, proporcionando energía al embrión. Las ribonucleasas tienen el papel de hidrolizar los ácidos nucleicos que son utilizados para sintetizar nuevo ARN necesario en la última etapa de la germinación y en el posterior desarrollo de la plántula (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

El resultado de la acumulación y generación de solutos en las células embrionarias produce un decremento de potencial hídrico del embrión, por lo que se favorece la entrada de agua en la siguiente etapa (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Por otro lado, las enzimas proteolíticas y las celulasas degradan las paredes celulares, permitiendo que la radícula rompa la o las cubiertas de la semilla (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

La tercera etapa conocida como elongación y crecimiento del eje embrionario, se presenta solo si el contenido de agua de la semilla excede un nivel crítico determinado, en caso de que los potenciales hídricos externos son más bajos que los requeridos, la semilla se mantendrá en la etapa II. Una vez alcanzado el nivel idóneo de hidratación, hay un repunte en la entrada de agua, asociado con la expansión y crecimiento del embrión, y la protrusión de la radícula a través de la o las cubiertas de la semilla, lo que indica que la germinación ha finalizado (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Las interacciones entre factores propios de la semilla (internos), y los factores ambientales (externos), promueven directamente el éxito en la germinación. Los factores internos como la latencia y la viabilidad están determinados genéticamente,

aunque pueden ser modificados por factores externos como la temperatura, la humedad y la luz, entre otros (Serna, 2012).

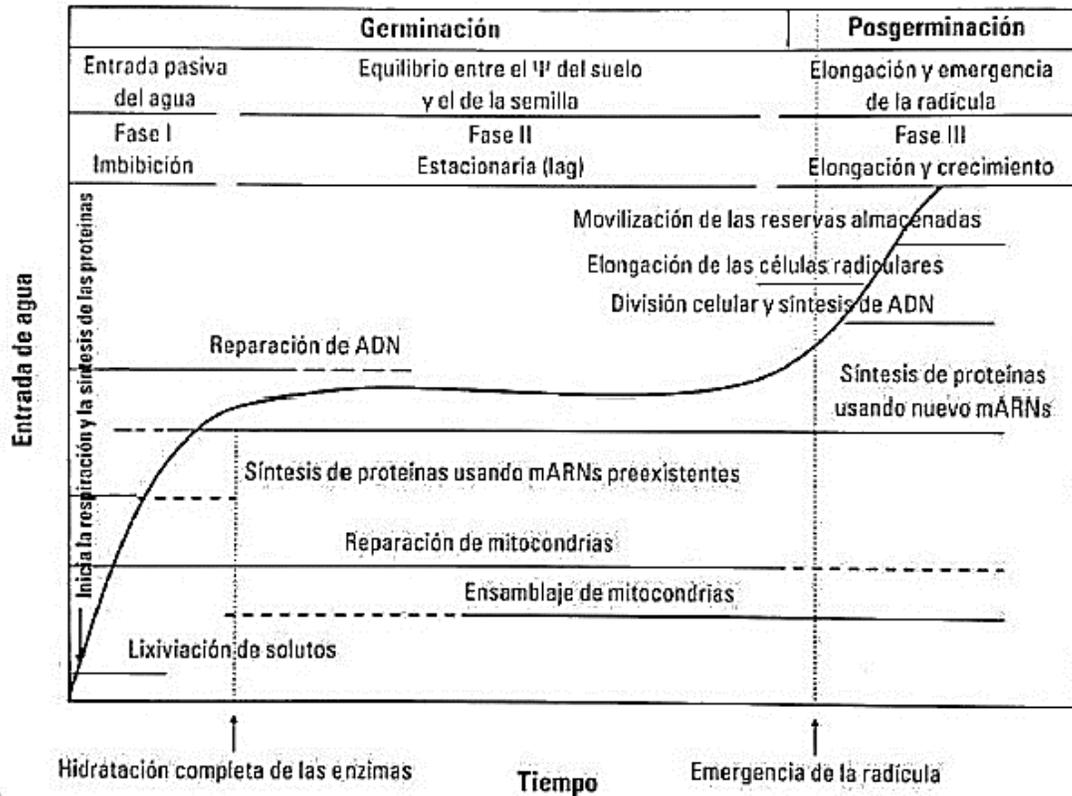


Figura 1. Respuesta bioquímica durante las etapas de imbibición que conducen a la germinación (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Quiescencia y latencia

Las semillas a pesar de estar en estado de reposo, no permanecen totalmente inactivas, son capaces de percibir el ambiente en el que se encuentran, respondiendo a éste de distintas formas (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). Por ejemplo, si una semilla permanece sin germinar debido a la ausencia de humedad, oxigenación, condiciones adecuadas de luz o temperatura, se dice entonces que está en estado quiescente; el cual desaparecerá cuando se presenten las condiciones ambientales básicas (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). Si bien se presentan las condiciones necesarias para la germinación, y las semillas no lo hacen, se encuentran entonces en un bloqueo inherente que determina que

permanezcan en un estado de reposo profundo conocido como latencia (Serna, 2007; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). Su función es mantenerlas en mínima actividad, hasta que las condiciones ambientales sean adecuadas. Se ha observado que el tiempo que dura la latencia es variable de especie a especie (García *et al.*, 2006; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Se han planteado diferentes tipos de latencia dependiendo de su origen; a) latencia primaria innata o endógena: se relaciona con características del embrión que previenen la germinación, tales como inmadurez morfológica ó fisiológica, b) latencia morfofisiológica: la cual aparece desde el momento de la diseminación de las semillas, c) latencia física o exógena es causada principalmente por estructuras que componen a la semilla, como endospermo, paredes del fruto o cubierta seminales, ya sea porque son impermeables al agua, contienen inhibidores o su estructura es tan fuerte que impide el crecimiento (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013; Baskin y Baskin, 2014) y d) latencia secundaria o inducida, en la cual están implicados cambios metabólicos reversibles que no concluyen con la remoción de condiciones ambientales adversas (Serna, 2007). Actualmente se sabe que esta puede presentarse cíclicamente, como parte de ritmos endógenos seguidos tanto por semillas presentes en el suelo, como las almacenadas en condiciones artificiales (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Longevidad

Se define como el tiempo en el cual las semillas mantienen su viabilidad o capacidad para germinar, este depende de la especie y las condiciones de almacenamiento (Serna, 2007).

Agua

El inicio de la germinación depende entre otros factores de la hidratación de la semilla, la condición idónea para la germinación de cualquier especie, es que el agua esté disponible en el suelo a capacidad de campo, esto es, que el suelo ya no pueda retener más agua, para que así ésta por acción de la gravedad, pueda percolarse y acumularse en las capas más profundas del suelo (Orozco-Segovia y

Sánchez-Coronado, 2013). El nivel de hidratación juega un rol muy importante en la reactivación metabólica de la semilla; la mayoría requiere un periodo de imbibición (Baskin y Baskin, 2014)

Temperatura

La temperatura en un punto determinado depende en gran medida de la radiación solar, por lo tanto cualquier cuerpo puede absorber esta energía. Este parámetro determina la distribución de las plantas en los ecosistemas, por lo que su papel en la germinación es relevante (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). En cada especie ocurre la germinación en un intervalo de temperatura determinado, relacionado directamente con el hábitat que ocupan y con el estado de madurez del embrión, así como sus requerimientos para los procesos metabólicos, en particular en los que intervienen enzimas con temperaturas de activación específicas. A dicho intervalo se le conoce como ventana térmica, dentro de este se reconoce la temperatura máxima, mínima y óptima para la germinación (fig. 2) (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Las semillas que son dispersadas en otoño, en la mayoría de los casos, necesitan temperaturas bajas para romper la latencia, por otro lado las semillas dispersadas durante el verano necesitan altas temperaturas (Baskin y Baskin, 2014).

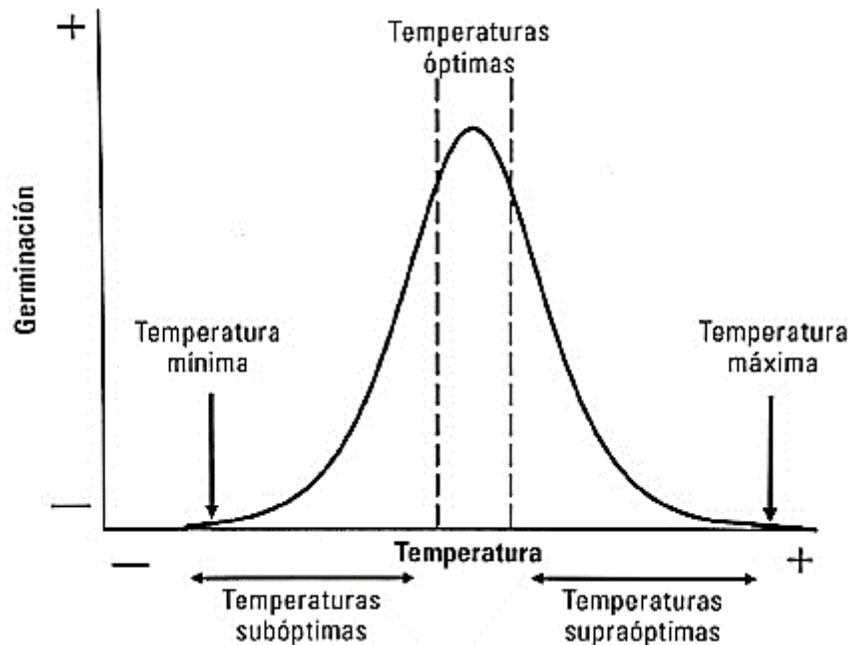


Figura 2. Respuesta germinativa en el intervalo de temperatura (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado 2013).

Luz

Una porción relativamente pequeña de la radiación originada por el sol, alcanza a llegar a la atmósfera terrestre, incluso es mucho menor la que alcanza la superficie. Se conoce que la calidad y distribución espectral de la luz tiene un impacto significativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Hopkins y Hüner, 2008). La radiación electromagnética visible proveniente del sol, está comprendida de los 400 a 800 nm de longitud de onda (λ), y su composición espectral contiene todos los colores que podemos ver al descomponer un haz luminoso (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). Los cambios en la composición espectral se deben a que cualquier objeto que transmite, refleja y absorbe determinada longitud de onda. La calidad espectral de la luz experimenta variaciones a lo largo del día, el año, entre años y de un sitio a otro, pero también presenta cambios relacionados con el dosel y su continuidad (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

La germinación regulada por luz está controlada por una familia de pigmentos fotosensibles llamados fitocromos (F), en especial el fitocromo A y el fitocromo B (Hopkins y Hüner, 2008). Ambos fitocromos funcionan como receptores de las ondas luminosas y las integran a una cadena de transducción que concluye con la activación o inhibición del proceso de germinación (Hopkins y Hüner, 2008; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). En general los fitocromos tienen una forma activa y una inactiva, a la primera se conoce como F_{ri} , la cual absorbe la luz roja lejana (730 ± 10 nm), y a la segunda es conocida como F_r , que absorbe la luz roja (660 ± 10 nm). Una vez que F_{ri} absorbe luz roja lejana se transforma en F_r y viceversa (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Gases

En el ambiente, así como en el suelo, se encuentran el oxígeno, dióxido de carbono y el monóxido de carbono, y cada uno de estos influye en el proceso de germinación (Scott, 2008). El oxígeno es requerido especialmente para que la semilla sea capaz de salir de la quiescencia y en algunos casos promueve que ésta entre en un estado de latencia inducida, ya que la restricción de oxígeno al embrión ocasiona una reducción de su tasa metabólica, la cantidad de oxígeno requerido varía de especie a especie (Baskin y Baskin, 2014).

Tratamientos pregerminativos

En semillas de árboles tropicales y subtropicales, la latencia predominantemente es impuesta por la testa u otros componentes estructurales que provienen del fruto (Smith *et al.* 2010). Particularmente en especies pertenecientes al género *Bursera*, se sabe que el pseudoarilo (tejido producido por alguna capa del fruto y que ayuda en el proceso de dispersión), representa una barrera para la germinación, ya que se ha observado que las semillas con pseudoarilo no germinan, a pesar de encontrarse en condiciones adecuadas. En cambio las semillas que han pasado por el tracto digestivo de las aves o que se les ha retirado el pseudoarilo, germinan, sugiriendo que el pseudoarilo contiene inhibidores de la germinación, como sucede con la pulpa de otros frutos (Ramos-Ordoñez, 2009).

Por lo anterior, se ha desarrollado diversos pretratamientos con métodos y técnicas que permiten vencer los problemas de latencia logrando una germinación más rápida y uniforme, es decir, propagaciones exitosas (Sobrevilla-Solís *et al.*, 2013). Y el principal objetivo de estas técnicas es remover, ablandar, o modificar los componentes de la semilla que impiden su germinación (Smith *et al.*, 2010; Baskin y Baskin, 2014).

Los pretratamientos se clasifican en:

- Mecánico. Este consiste en raspar cada semilla con papel lija, o cortando el extremo de cada semilla opuesta a la radícula.
- Con agua o choque térmico. Se sumerge la semilla en agua caliente, durante un determinado tiempo, después se sumerge en agua fría.
- Calor seco. Se aplica calor seco de 60°C - 80°C durante 24 horas.
- Químico. Se coloca la semilla en diferentes tipos de ácido (clorhídrico o sulfúrico comúnmente) por lo general de 15 - 30 minutos. Después se le debe enjuagar varias veces (Smith *et al.*, 2010).

Beiselia mexicana

El copal de piedra, también conocido como pacueca, tecomaca y alacrana (este último aplica solo para la inflorescencia), es un árbol o arbusto resinífero de 8-10 m de alto, tronco de hasta 1 m de diámetro, de corteza coriácea y coloración rojiza a marrón muy oscuro, armada lateralmente con protuberancias puntiagudas en la base de los peciolo, estos últimos son de 7 mm de largo aproximadamente, los cuales persisten a la caída de las hojas (fig. 3; Forman *et al.*, 1989). La corteza más vieja del árbol y/o arbusto se torna de color gris. Las hojas son estipuladas, imparipinnadas y deciduas; la hoja terminal presenta un peciolo que es más extendido dorsoventralmente en la base, las hojas laterales son sésiles (no presentan peciolo), y con márgenes dentados. (Forman *et al.*, 1989).

Son plantas dioicas, con inflorescencia axilar, pseudorracemosa. La especie presenta flores masculinas cimosas compuestas de 1-3 fascículos, y flores femeninas solas, repartidas a lo largo de eje (fig. 4; Forman *et al.*, 1989). El fruto es

dehiscente, presenta un exocarpo delgado con abundantes tricomas glandulares y 11-13 líneas de dehiscencia, cuando el fruto madura las líneas de dehiscencia se abren dejando ver de 10 a 12 pirenos separados por tabiques mesocárpicos, al centro del fruto se observa una columnela amplia (Forman *et al.*, 1989 y Ramos-Ordoñez *et al.*, 2015). Los pirenos, o diásporas son alados y aplanados de color negro, la cubierta del pireno deriva de la epidermis interna del fruto, mientras que el ala deriva de la capa más interna del mesocarpo, el ala es una membrana porosa y con contenido lipídico, ésta no posee una función de dispersión ya que no ofrece resistencia al aire, y la mayoría de las veces el pireno cae con el resto del fruto. (fig. 5; Ramos-Ordoñez *et al.*, 2015).

El embrión es recto de color blanco, los cotiledones son planos y enteros. La germinación es epigea, el hipocótilo es elongado y las primeras hojas son simples (Forman *et al.*, 1989). De acuerdo con los datos reportados por Forman y colaboradores (1989) y las colectas realizadas para este trabajo, la floración de *B. mexicana* inicia en junio con la temporada de lluvias y la maduración de los frutos es asincrónica, la cual ocurre entre octubre y diciembre, temporada en que los árboles pierden las hojas hasta la siguiente temporada de lluvias.



Figura 3. Tallo de *Beiselia mexicana* que muestra la base de los peciolas que persisten a la caída de las hojas (Tomadas de Naturalista, CONABIO 2015).

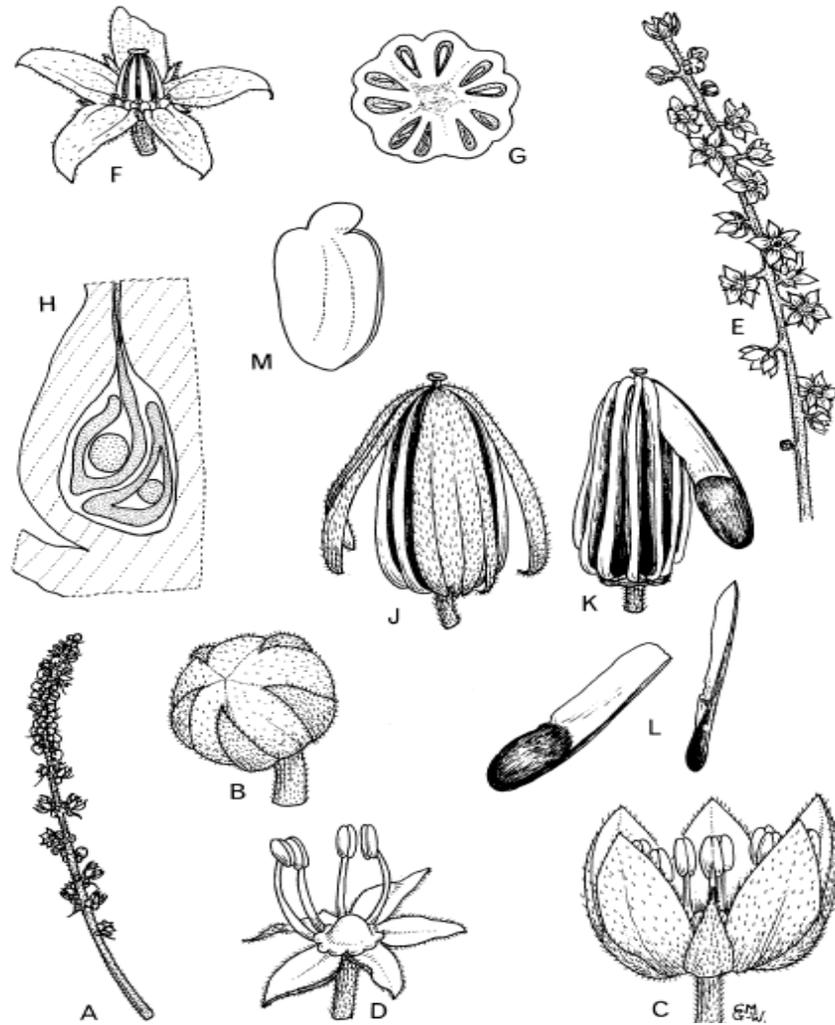


Figura 4. *Beiselia mexicana*. **A** Inflorescencia masculina, **B** brote masculino, **C** flor masculina, **D** flor masculina con pétalos y la mayoría de los estambres removidos para mostrar disco y pistilo, **F** flor femenina, **G** corte transversal de ovario, **H** corte longitudinal de ovario, **J** fruto con las divisiones del pericarpio, **K** columnela central del fruto con un píreno, **L** pírenos en vista lateral y abaxial, **M** embrión (Tomada de Forman *et al.* 1989).



Figura 5. Estereofotografía de píreno de *Beiselia mexicana*, Barra de escala = 1mm

Beiselia mexicana, pertenece a la familia *Burseraceae* y es la única especie representante del género (*Beiselia*). Es una especie con endemismo estrecho, descrita en una sola localidad en el bosque tropical caducifolio (BTC) de la localidad de Aquila, Michoacán (Forman *et al.*, 1989). Se considera que es una especie relictica con características morfológicas primitivas de la familia *Burseraceae*. Cabe resaltar que no existen estudios poblacionales, y el la única colecta documentada, fue hecho por N.P. Taylor y S.G. Knees en 1987 y reportada en Forman *et al.* (1989). Solamente se tienen siete colectas en herbarios, pero hay una producción de la especie para satisfacer la demanda de los coleccionistas de suculentas. A pesar de lo anterior, las poblaciones naturales no están sujetas a extracción aunque sí expuestas a desaparecer por actividades agropecuarias, minería desregulada, obras de infraestructura, incendios forestales y el desconocimiento (COFEMER, 2015; Naturalista CONABIO, 2015). En el mismo sitio, Forman y colaboradores (1989) reportan la presencia de algunas especies de *Bursera*, *Mammillaria*, *Philodendron*, *Tillandsia*, y *Opuntia*. A la fecha se han reportado dos poblaciones con menos de 20 individuos cada una, los árboles son gregarios, pero no forman grandes colonias (Taylor y Knees en Forman *et. al* 1989; Medel Añorve J. com. pers.). La especie se encuentra restringida a crestas rocosas calizas que van de los 360-680 msnm, la temporada de lluvias ocurre de Junio a Octubre con rangos de temperatura 20.7 a 40.5°C y en temporada de secas el rango de temperatura es de 16.9 a 40.1°C. La precipitación anual registrada es de 598 mm (COFEMER, 2015; Medel Añorve J. com. pers.; SMN, 1981-2010).

Las relaciones filogenéticas de *Beiselia* son claras y se reconoce como el taxón basal de la familia *Burseraceae* (Weeks *et al.*, 2005; Thulin *et al.*, 2008; Becerra *et. al.*, 2012). Thulin y colaboradores (2008), realizaron un análisis filogenético a 46 especies de *Burseraceae*, ubicando a *B. mexicana* en la base de la familia y proponiendo la tribu Beiselieae. Así mismo, Sosa y De-Nova (2012), identificaron las áreas de endemismo de angiospermas mexicanas, tomando en cuenta familias, géneros o grupos infragenéricos, con el fin de priorizar regiones para la conservación, identificando a *B. mexicana* como especie perteneciente de uno de los linajes de angiospermas microendémicos de México.

IMPORTANCIA

En el mundo se reconocen al menos 12 000 especies de plantas productoras de resinas. Estas plantas aromáticas forman parte de diferentes familias, entre ellas la familia Burseraceae, representativa de los trópicos subhúmedos y secos de América, Asia y África, dividida en 20 géneros, con más de 700 especies (Weeks *et al.*, 2005; Daly *et al.*, 2011; De la Cerda-Lemus, 2011). Las especies de este género son conocidas comúnmente como copales, cuajotes, tecomacas y copalli, entre otros (Purata, 2008). A nivel mundial los géneros más importantes económica y culturalmente son: *Boswellia* (incienso), *Commiphora* (mirra) y *Bursera* (copal) (Purata, 2008). En México los géneros conocidos son: *Protium* (1 especie), *Beiselia* (1 especie) y *Bursera* (aprox. 105 especies) (Cházaro *et al.*, 2010; Becerra *et al.*, 2012; Stevens, 2015).

Dentro del bosque tropical caducifolio (BTC) o selva baja caducifolia, las burseráceas representan uno de los componentes florísticos y estructurales principales (Trejo y Dirzo, 2000; Rzedowski y Calderón, 2013). Se tiene registrado que solo en el estado de Michoacán hay al menos 38 especies arbóreas de la familia Burseraceae (Cué-Bar *et al.*, 2006). A pesar de esto el futuro para este tipo de vegetación es incierto, ya que el hábitat es ocupado principalmente para la agricultura y el establecimiento de viviendas, en 2005 se calculaba que existía menos del 2% del bosque en comparación con su extensión durante la época precolombina (Dick y Wright, 2005). De acuerdo con datos de la FAO (2012), se estima que la tasa de pérdida anual para este tipo de bosque es del 1.1 al 2% (Rivera-Ortiz, 2014). Las zonas donde se ha perdido el BTC casi en su totalidad son la región de Bajío y áreas aledañas de Jalisco, la parte central de Veracruz, la Depresión Central de Chiapas, la Huasteca potosina y la tamaulipeca (fig. 6; Rzedowski y Calderón, 2013).



Figura 6. Distribución geográfica potencial actual del BTC, propuesta por Rzedowski y Calderón (Tomada de Rzedowski y Calderón, 2013).

El uso de los copales y cuajotes mexicanos (incluyendo a *Beiselia*), se remonta a la época prehispánica, el primer antecedente registrado en México es un manuscrito azteca escrito por el indígena Martín de la Cruz; en el cual llaman al copal “tzihuac copalli”. El uso de estos abarca su resina, madera y corteza. La resina es usada principalmente en rituales religiosos de grupos indígenas y en ceremonias católicas. La madera de algunas especies es utilizada para elaborar los popularesalebrijes en el valle central de Oaxaca. En la meseta Tarasca, Michoacán se elaboran cucharas. De las ramas del lináloe se manufacturan las cajas de Olinalá, igualmente de las ramas se obtiene por medio de la destilación de las resinas el aceite aromático. También son empleados en la fabricación barniz y pegamento (Rico-Gray, 1991; Cházaro *et al.*, 2010).

En la localidad de Aquila el copal de piedra es utilizado en ceremonias religiosas, como remedio medicinal para tratar dolores lumbares y reumáticos, enfermedades bronco respiratorias, problemas circulatorios, tuberculosis y para reforzar el sistema

inmunológico; utilizan principalmente la resina y corteza. La resina aplicada de forma directa en el área afectada como compresa, o se aspiran los vapores, la corteza es hervida y tomada como infusión o agua de uso (Rojas R. com. pers.; Corona *et. al.*, 2015).

En portales de ventas de cactáceas y suculentas vía internet, se oferta a *B. mexicana* de edades menores a los cuatro años en precios de van de los 29 a 44 euros, la rara belleza de su tronco y ramas, hacen de ella una especie codiciada por coleccionistas europeos y norteamericanos, mientras que en México es casi desconocida (Cházaro *et al.*, 2010; Corona *et. al.*, 2015).

PROBLEMÁTICA

En 2005 Boris Vrskovy, reconocido coleccionista eslovaco de plantas de ambientes áridos y semiáridos, visitó la localidad donde *Beiselia mexicana* se distribuye. Él encontró que los árboles se encuentran deteriorados, y observó que las ramas las dañan aves y roedores, y la madera de los árboles adultos está dañada e infestada por hongos y bacterias (fig. 7). Recientemente (principios de diciembre de 2015), Boris volvió a la localidad y encontró que aproximadamente el 30% del sitio fue talado para su uso en la ganadería (com. pers.).



Figura 7. Árbol de *Beiselia mexicana* dañado por patógenos, aún se aprecian ramas vivas saliendo del tronco principal (izquierda), y tocón de *Beiselia mexicana* (derecha) en Aquila, Michoacán (Tomada de Naturalista CONABIO 2015 (izquierda) y, cortesía de Boris Vrskovy (derecha))

La conservación de *Beiselia mexicana* no se ha desarrollado principalmente por la falta de conocimiento que hay sobre ella, además es importante mencionar, que el sitio donde crece *Beiselia* es visitado sobre todo por coleccionistas y turismo extranjero, a reserva de que no compartan la localización exacta, esto debido principalmente a la inseguridad social de la zona, lo que incluye la nula o baja posibilidad de realizar estudios *in situ* (Ramos-Ordoñez M.F. com. pers.). Durante 2012 y 2013, *Beiselia* fue localizada y estudiada con la finalidad de someter su inclusión a la Norma 059 SEMARNAT; en 2013 se hizo la colecta de semillas utilizadas en este trabajo, y a principios de 2014 se sometió la solicitud a la NOM (Ramos-Ordoñez M.F. com. pers.), en diciembre de 2015 el Diario Oficial de la Federación publicó el Anexo Normativo III, sometiendo a consulta pública las modificaciones a la NOM-059-SEMARNAT-2010, en donde ya se encuentra *Beiselia mexicana* como especie en peligro de extinción (P). Sin embargo, de acuerdo con Medel Añorve J. responsable de la propuesta, en los censos realizados en 2013 en las dos poblaciones, no logró encontrar individuos juveniles o plántulas de *Beiselia* (com. pers.), es decir, los individuos contabilizados son adultos, sugiriendo que es altamente probable que no exista recambio en la población, y que la pérdida de estas dos poblaciones con tan pocos individuos adultos, implicaría la pérdida de la especie en su ambiente.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los requerimientos para la germinación de *Beiselia mexicana*, en condiciones controladas, para su propagación *ex situ* con fines de conservación de la especie.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la viabilidad de las semillas de *Beiselia mexicana* tras 12 y 18 meses de almacenamiento.
- Determinar si el ala de *Beiselia mexicana* tiene algún efecto en la germinación.
- Determinar el periodo de imbibición con el cual se presenta mayor porcentaje de germinación.
- Evaluar el efecto del tratamiento químico pregerminativo y choque térmico con agua en los pirenos
- Determinar si la desinfección de los pirenos tiene algún efecto en la germinación.
- Determinar el tipo de luz óptima para la germinación de *B. mexicana* utilizando luz blanca, roja, rojo lejano y oscuridad.
- Evaluar el porcentaje de germinación utilizando temperatura constante y alternante.
- Determinar si existen diferencias morfológicas externas entre los pirenos viables y no viables de *B. mexicana*.

MATERIAL Y MÉTODO

Debido a la falta de información sobre las características de germinación en *Beiselia mexicana*, la dificultad de conseguir la muestra y su cantidad, este trabajo se dividió en dos fases que permitieron optimizar la metodología y la obtención de resultados confiables para el uso y manejo de muestras que se colecten en el futuro. La primera fase tuvo como objetivo la estandarización de las pruebas de germinación, mientras que en la segunda, las variables estándar para este tipo de experimentos (temperatura, imbibición, pretratamiento y calidad de luz), se sometieron a variaciones con el fin de encontrar las condiciones más favorables para su germinación *ex situ*.

Los pirenos utilizados pertenecen a la temporada de fructificación 2013, colectados entre octubre y diciembre en las únicas dos poblaciones registradas con las siguientes coordenadas:

Población 1: 103°28'37.83"O; 18°36'53.16"N, Cerro El Cenizo

Población 2: 103°29'6.71"O; 18°36'56.14"N, Cerro Mirador de la Virgen

Estos fueron colectados, directamente de 30 árboles y del mantillo, cabe mencionar que los pirenos suelen caer unidos al fruto cuando se mueve ligeramente el árbol, por lo que es difícil mantener aislada la colecta a nivel de individuo. Una parte de los pirenos se entregó al Banco de Semillas de la FES Iztacala para su almacenamiento y estudio, el resto se almacenó en condiciones de obscuridad y temperatura ambiente en el laboratorio de Ecología, UBIPRO, FES Iztacala.

Respuesta germinativa en condiciones estándar

Se usaron 2400 diásporas con 12 meses de almacenamiento. Para determinar la función del ala en la respuesta germinativa, se realizaron pruebas a pirenos con ala y pirenos a los que se les retiró el ala manualmente.

Viabilidad y efecto de la imbibición: las pruebas viabilidad e imbibición mediante flotación se realizaron a la par. Para lo cual en dos recipientes se colocó 1200

pirenos (en cada uno), se les agregó aproximadamente 100 ml agua destilada, y se dejaron en imbibición, un lote por 24 horas y un lote por 48 horas. De estos se separaron los pírenos no viables (los que flotaron) de los viables (los que se hundieron al fondo del recipiente). Se sembró una muestra de los pírenos que flotaban para verificar su viabilidad (López *et al.*, 2005), sin embargo, solo los pírenos que precipitaron se utilizaron para los experimentos de germinación.

Desinfección: Previo a la aplicación de los tratamientos, todos los pírenos se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% durante 10 min (Bonfil-Sanders *et al.*, 2008).

Escarificación química: se hizo un experimento inicial con ácido clorhídrico siguiendo el método de Bonfil-Sanders *et al.*, (2008), para ello sólo se utilizaron 50 pírenos que precipitaron mediante la prueba de flotación. Sin embargo, se encontró que los pírenos no germinaron, por lo que fueron abiertos, y se descubrió que los embriones estaban quemados, por lo que esta prueba se descartó.

Choque térmico: este consistió en sumergir 600 pírenos en agua a 40°C durante 20 minutos (modificado de Sobrevilla-Solis *et al.*, 2013).

Los pírenos se sembraron en cajas Petri con algodón estéril, en cada una se colocaron 30 pírenos y se hicieron cinco repeticiones por cada variable o tratamiento (modificado de Bonfil-Sanders *et al.*, 2008). Todas las cajas se colocaron en una germinadora Lumistel™ ICP 18, a temperatura constante de 30°C y fotoperiodo de 12 h con luz blanca en el Banco de Semillas de la FES Iztacala. Se añadió la cantidad de agua suficiente para saturar de agua el algodón, posteriormente se agregó agua cada tercer día para evitar la desecación de las semillas. La combinación de variables se muestra en la Tabla 1. Las observaciones se realizaron cinco veces a la semana durante 40 días. Se obtuvo el porcentaje de germinación en cada lote. El éxito en la germinación se consideró una vez que emergió la radícula. Las plántulas obtenidas se llevaron a sustrato (tierra negra pasteurizada, perlita y arena inerte (2:1:1, volumen) (Bonfil-Sanders *et al.*, 2008)

Análisis de datos. Se aplicó prueba de normalidad a los datos referentes a los porcentajes de germinación, sin embargo los datos no fueron normales, por lo que se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, posteriormente se usó la prueba Mann-Whitney para comparar entre bloques. Los análisis de realizaron en el programa JMP v.11.0.0. En los gráficos se presentan los valores promedio acompañados de la desviación estándar.

Tabla 1. Combinación de variables incluidas en el modelo experimental.

Ala	Imbibición	Pretratamiento	N
Presente	24 h	Con choque térmico	30 x 5
		Sin choque térmico	30 x 5
	48 h	Con choque térmico	30 x 5
		Sin choque térmico	30 x 5
Ausente	24 h	Con choque térmico	30 x 5
		Sin choque térmico	30 x 5
	48h	Con choque térmico	30 x 5
		Sin choque térmico	30 x 5

Respuesta germinativa en condiciones variables

Se emplearon en total 5400 diásporas. Al tiempo de realizar esta prueba, los pirenos contaban con 18 meses de almacenamiento.

Viabilidad y efecto de la imbibición: Las pruebas de viabilidad e imbibición por flotación se efectuaron con el mismo procedimiento y criterio de selección de la parte anterior, en esta ocasión no se contempló la presencia o ausencia del ala debido a que no hubo diferencia en estos tratamientos.

Adicionalmente, debido a la cantidad tan grande de pirenos no viables resultado de la prueba de viabilidad por flotación, se seleccionaron 31 frutos de apariencia completa y sin malformaciones o daños para determinar el contenido de sus pirenos. En todos los casos, se separaron los pirenos del fruto de forma manual utilizando una pinza de disección, se procedió a la apertura del pireno por la línea lateral con la ayuda de un micromotor MDC Dental® (Modelo Escort-III) con pieza de mano de baja velocidad y disco de diamantado NTI® (modelo 358.514.220), equipo de uso dental (Ramos-Ordoñez *et al.* sometido). Se clasificaron de acuerdo al criterio de Baskin y Baskin (2014): una semilla considerada viable es la que posee un embrión turgente de color blanco brillante, mientras que una semilla inviable no posee embrión o si lo presenta, éste se encuentra abortado es decir, está deteriorado (colapsado o cubierto de hongos) y se torna color marrón o negro.

Desinfección: Previo a la siembra, se tomó la mitad del grupo de pirenos para ser desinfectado en hipoclorito de sodio al 10% (10 min); la mitad restante quedó sin desinfección (modificado de Bonfil-Sanders *et al.*, 2008)

Choque térmico: consistió en colocar los pirenos en agua a 40°C durante 20 minutos (modificado de Sobrevilla-Solis *et al.*, 2013).

Los pirenos se sembraron en cajas Petri con sustrato de tierra negra pasteurizada, arena de río 1:1 (modificado de Bonfil-Sanders *et al.*, 2008), se les agregó agua

hasta saturar el sustrato. Para las diferentes calidades de luz: blanca, rojo y rojo lejano se emplearon cajas de acrílico plexiglass, de acuerdo a la longitud de onda deseada, y para oscuridad se cubrieron con papel aluminio.

Las cajas se llevaron al Laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, UNAM y se colocaron en una incubadora Thermo Scientific modelo 818 para temperatura constante a 25°C, y en una cámara de ambiente controlados con temperatura alternante de 24-31°C. Para cada una de las variables a probar se utilizaron 30 pirenos con tres repeticiones. La combinación de variables fue: dos periodos de imbibición (24 y 48 h en agua destilada), con y sin tratamiento pregerminativo (choque térmico), temperatura constante (25°C) y alternante (24-31°C) y fotoperiodo de 16/8 h con diferentes tipos de luz, luz blanca (LB), roja (LR), rojo lejano (LRL) y oscuridad (O). El resumen de variables se presenta en la Tabla 2. Las observaciones se realizaron dos veces a la semana durante 30 días para las semillas en luz blanca. En el caso de los pirenos bajo luz roja, rojo lejano y oscuridad el número de pirenos germinados se contabilizó al finalizar los 30 días para evitar que durante la revisión existiera variación en la calidad de luz. Se obtuvo el porcentaje de germinación en cada lote. El éxito en la germinación se consideró una vez que emergió la radícula.

Análisis de datos. Debido a que el objetivo principal era obtener la mejor combinación de variables, el análisis estadístico se aplicó solo en los pirenos germinados con luz blanca ya que en los otros lotes los porcentajes de germinación fueron muy bajos. Los datos fueron analizados mediante la prueba de ANOVA de dos vías con previo análisis de homogeneidad y normalidad (prueba de Bartlett y prueba de Shapiro-Wilk respectivamente, $P=0.05$). Los análisis se realizaron en el programa JMP v.11.0.0. En los gráficos se presentan los valores promedio acompañados de la desviación estándar.

Tabla 2. Combinación de variables empleadas en el diseño experimental (3 repeticiones por conjunto)

Desinfección	Imbibición (Horas)	Pretratamiento	Temperatura	Tipo de luz	N
Con	24	Sin choque térmico	24-31°C	LB LR LRL O	30x3
			25°C		30x3
		Con choque térmico	24-31°C		30x3
			25°C		30x3
	48	Sin choque térmico	24-31°C		30x3
			25°C		30x3
		Con choque térmico	24-31°C		30x3
			25°C		30x3
Sin	24	Sin choque térmico	24-31°C	30x3	
			25°C	30x3	
		Con choque térmico	24-31°C	30x3	
			25°C	30x3	
	48	Sin choque térmico	24-31°C	30x3	
			25°C	30x3	
		Con choque térmico	24-31°C	30x3	
			25°C	30x3	

RESULTADOS

Respuesta germinativa en condiciones estándar

La viabilidad de los pirenos almacenados durante 12 meses, mediante la prueba de viabilidad por flotación, mostró que de un total de 2400 pirenos el 59% era viable (Tabla 3). Por medio de la prueba de germinación, el porcentaje de germinación final registrado de los 2400 pirenos, fue de 28.7 % (± 4.26).

La prueba de Kruskal-Wallis para el grueso de los datos mostró diferencias significativas entre los porcentajes de germinación (K-W = 16.32, P= 0.023), sin embargo no todas las variables contribuyeron a esta diferencia como se describe a continuación.

El mayor porcentaje promedio se registró en los pirenos con ala, embebidos por 24 h y con pretratamiento de choque térmico (72%) y el menor porcentaje promedio en pirenos con ala, embebidos por 48 h sin pretratamiento de choque térmico (49%) (fig. 8).

Tabla 3. Resultados de la prueba de viabilidad por flotación para 2400 pirenos de *Beiselia mexicana* con un año de almacenamiento.

Núm. de pirenos	Ala	Periodo de imbibición (h)	Viabiles (%)	No viables (%)	Sembrados no viables
600	Presente	48	35.17	64.83	60
600	Ausente	48	75.33	24.67	45
600	Presente	24	57.67	42.33	45
600	Ausente	24	70.33	29.67	15
Total 2400			51%	49%	

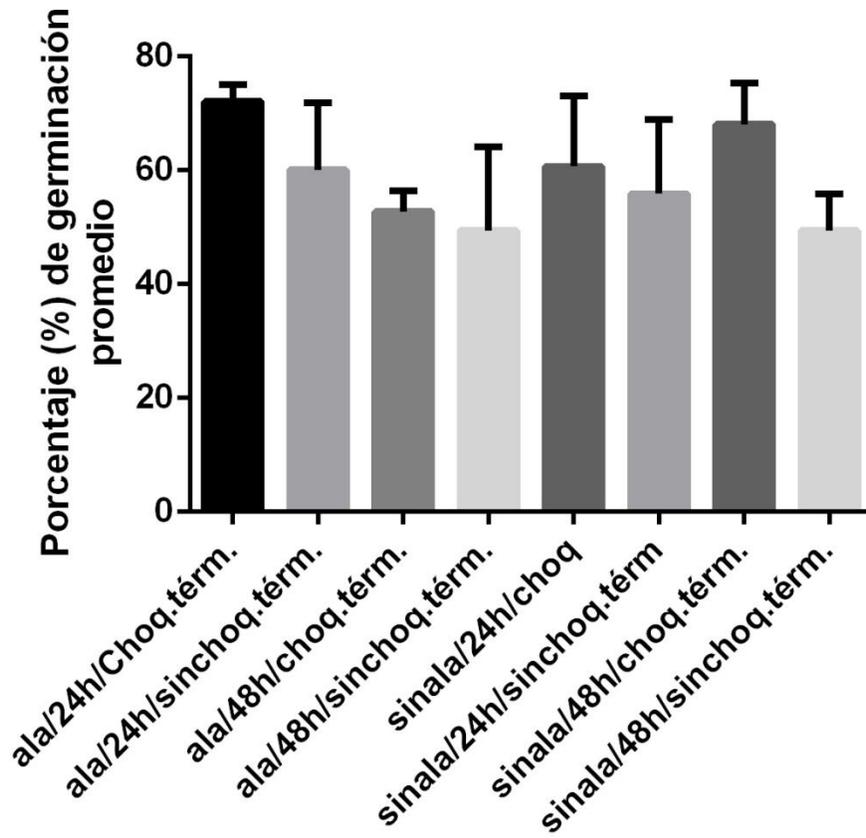


Figura 8. Porcentaje promedio final de germinación de pirenos de *Beiselia mexicana* en cada combinación de variables (n=5).

La influencia del ala en la germinación no fue determinante. La prueba de Mann-Whitney no mostró diferencias entre las medias de los porcentajes de germinación entre tratamientos ($U=195.5$, $P=0.4545$), sólo se observó que el ala impide físicamente a la radícula llegar al sustrato (Fig. 9).

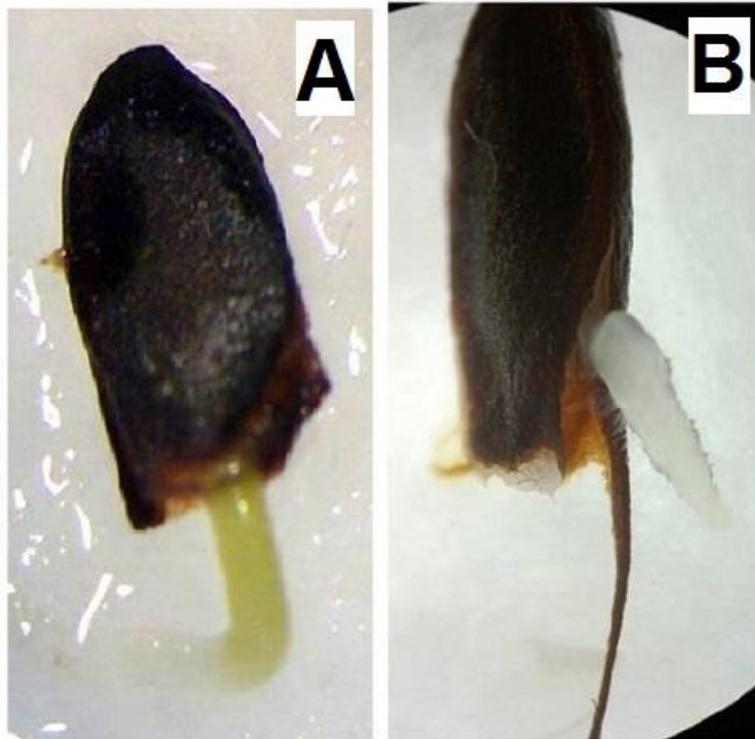


Figura 9. Emergencia de la radícula de *Beiselia mexicana* y efecto del ala. a) pireno con ala removida manualmente, la radícula emerge por la zona central del pireno y se orienta hacia el sustrato. b) pireno al que no se removió el ala, la radícula emerge por un costado, usualmente hacia arriba, posteriormente presenta una torsión hacia el sustrato.

En cuanto a la imbibición se encontró el mayor porcentaje promedio en pirenos embebidos por 24 h ($62.13 \pm 11.68\%$) en comparación con los de 48 h ($54.83 \pm 11.47\%$) ($U=130.5$, $P=0.0295$).

Los primeros pirenos en germinar fueron los embebidos durante 48 horas, los cuales iniciaron la germinación en el día 6, y terminaron en el día 30 y 31 (rango = 46.67 - 55%). Por su parte, los pirenos embebidos durante 24 horas comenzaron a germinar hasta el día 8, y terminaron a los 30 (rango = 35 - 59.33%).

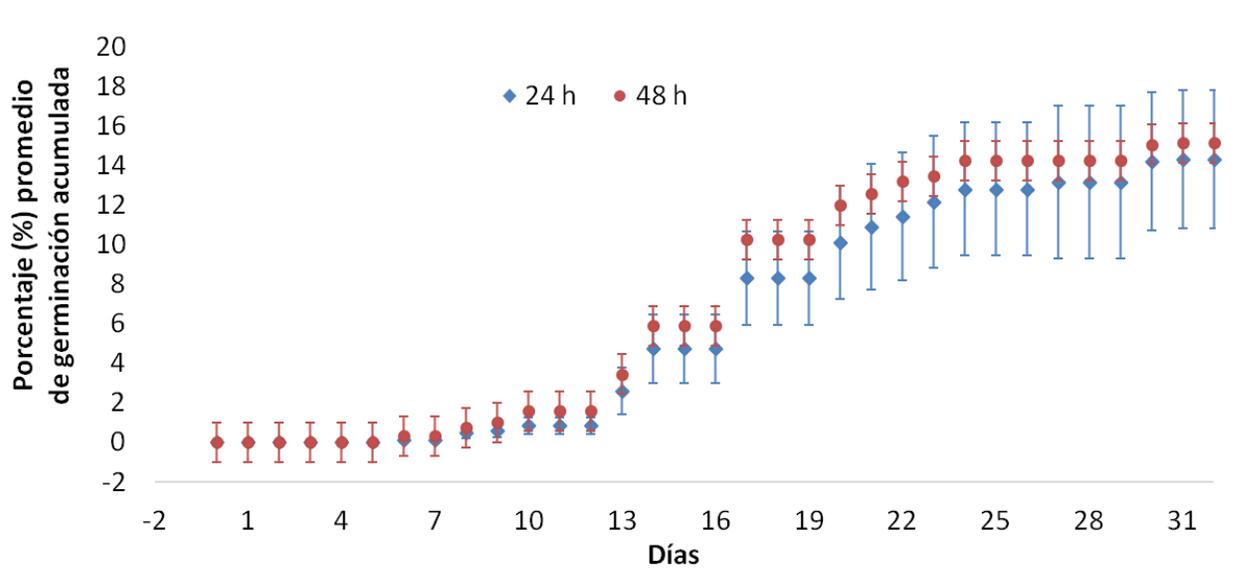


Figura 10. Curva de germinación acumulada de *Beiselia mexicana* considerando 24 y 48 h de imbibición.

Los pirenos sometidos al choque térmico presentaron mayor porcentaje promedio de germinación ($68.33 \pm 10.26\%$), y en los pirenos sin choque térmico se registró un porcentaje promedio de germinación el $53.33 \pm 11.88\%$. ($U=108.5$, $P=0.059$) (fig. 11).

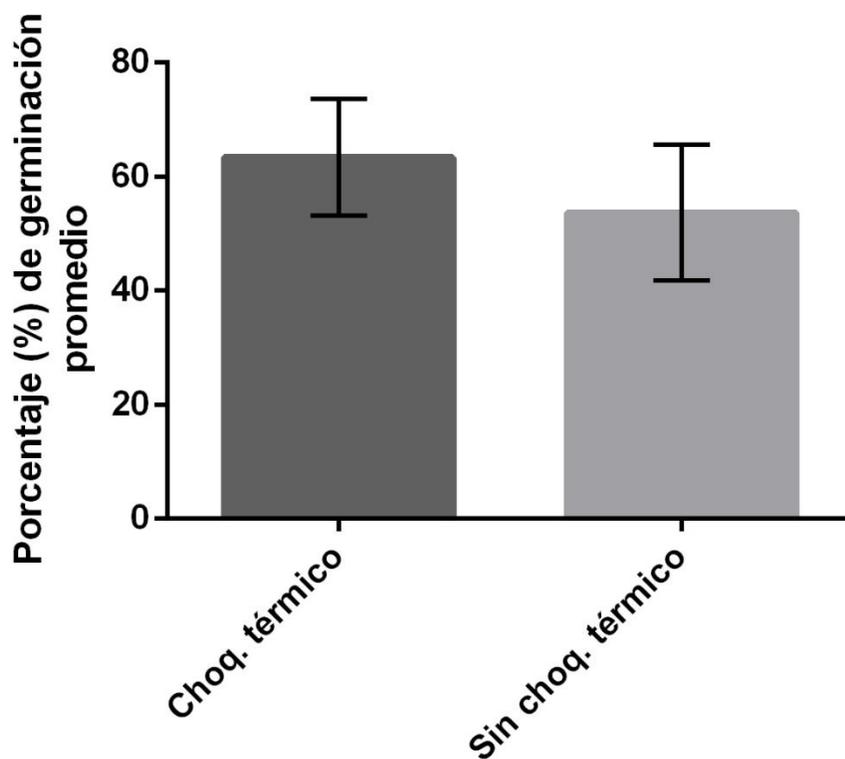


Figura 11. Germinación promedio de pirenos de *Beiselia mexicana* considerando solo el pretratamiento con y sin choque térmico.

Respuesta germinativa en condiciones variables

La viabilidad de los pirenos tras 18 meses de almacenamiento, mediante la prueba de germinación fue de 31.01% (± 6.16) (N = 5400 pirenos).

Viabilidad del pireno de acuerdo a las características del embrión y la cubierta del pireno.

De los 31 frutos se obtuvieron en total 102 pirenos, de los cuales solo el 36% (n=37) se clasificó como viable, es decir, los embriones eran blancos, turgentes y completos, y no mostraban daño por hongos o microorganismos (Fig. 12). El porcentaje restante (64%) de los pirenos se clasificó como inviable, en la mitad de éstos (32%) el embrión se encontraba abortado en alguna etapa de desarrollo o tenía hongos, mientras que en la otra mitad no se apreciaba rastro alguno de que el

embrión hubiera existido, únicamente se veía el óvulo abortado (Figs.13 y 14). Cabe destacar que de 14 pirenos con cubierta marrón, solo uno tenía embrión, sugiriendo que el color del pireno puede ser indicativo de su viabilidad (fig. 14).



Figura 12. Porcentajes de viabilidad de *Beiselia mexicana* basados en la observación del embrión (n=102).

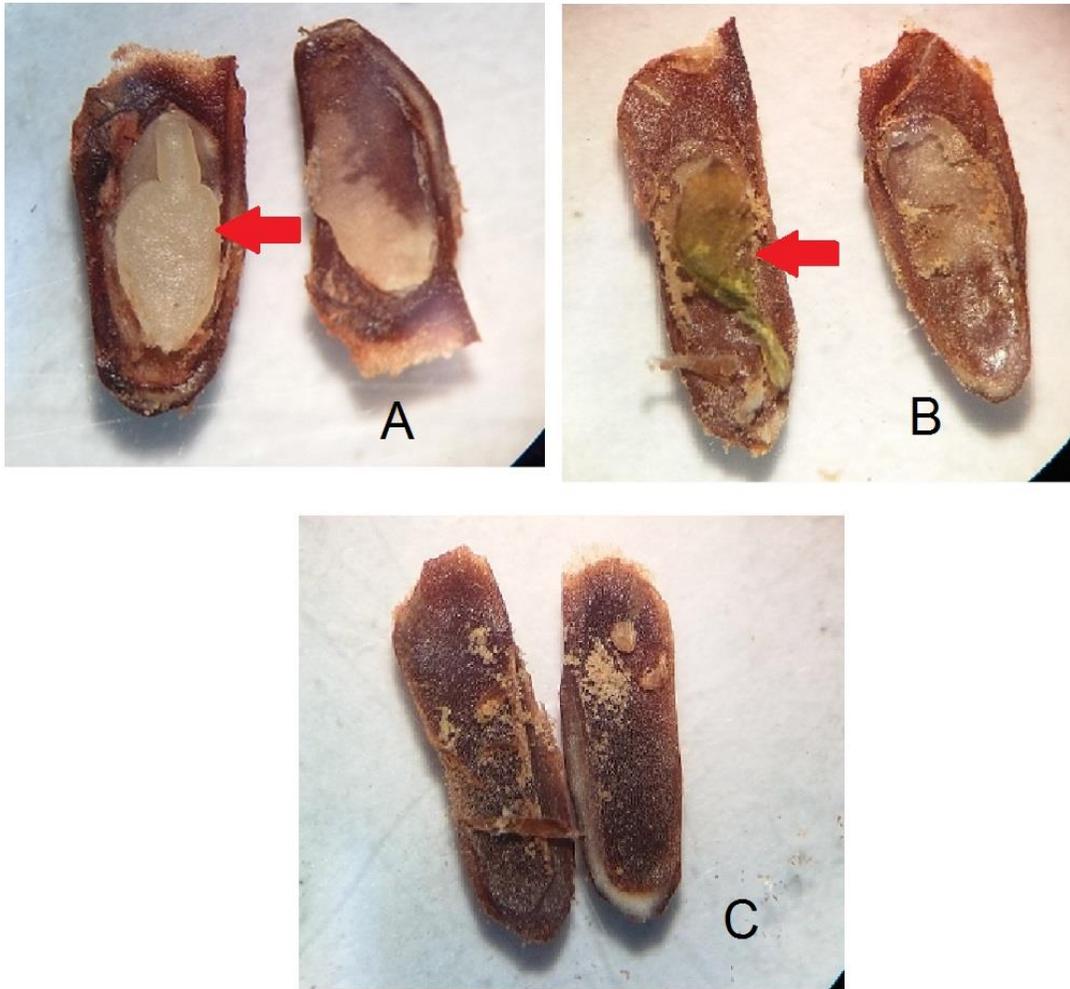


Figura 13. Pirenos examinados de *B. mexicana*. Embrión viable (A), embrión inviable o abortado (B) y pireno vano o vacío (C). Los embriones se señalan con la flecha roja.

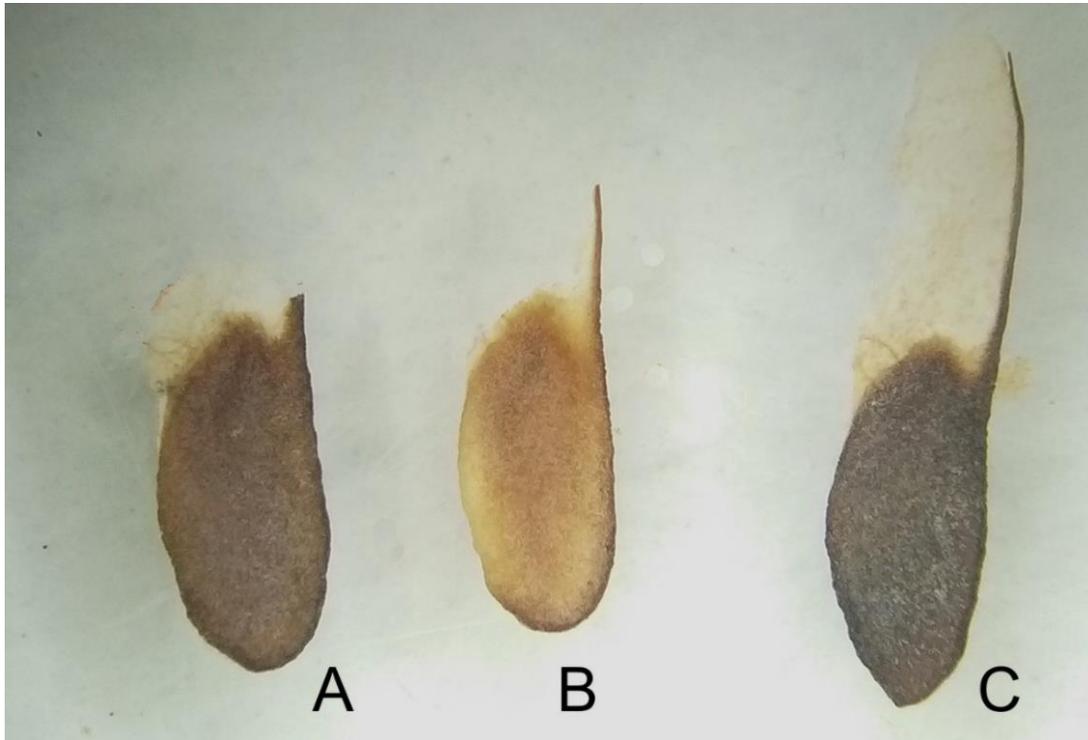


Figura 14. Pirenos de *B. mexicana*. A y B tienen alta probabilidad de ser inviables y C tiene alta probabilidad de ser viable de acuerdo con el color del endocarpo.

La germinación ocurrió en todos los intervalos de luz y en oscuridad, por lo tanto las diásporas se clasifican como fotoblásticas indiferentes. El mayor porcentaje de germinación se presentó en luz blanca (LB) con el 42.95%, y menor en el resto de los tratamientos: luz roja (LR) con 28.47%, rojo lejano (LRL) con 25.97% y oscuridad (O) con 27.4% (Fig. 15). Como ya se había mencionado anteriormente, para la prueba de ANOVA de dos vías, solo se usaron los porcentajes de luz blanca.

La prueba de ANOVA mostró encontraron diferencias significativas, debidas a la interacción de las variables ($F= 6.8897$, $P<0.0001$, tabla 5 anexo 1).

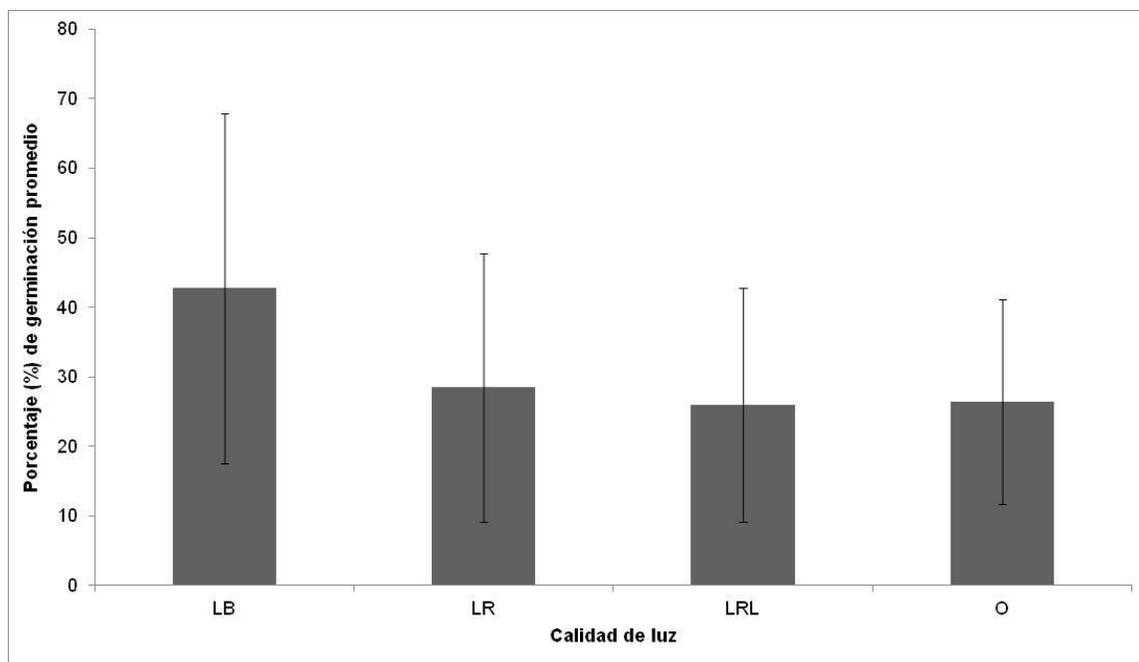


Figura 15. Porcentaje de germinación promedio de cada intervalo de luz (LB= luz blanca, LR= luz roja, LRL= luz rojo lejano y O=oscuridad; n=24).

El porcentaje de germinación para pirenos no desinfectados mínimo fue de 23.83% y el máximo de 79.51%. Para pirenos desinfectados, el porcentaje mínimo de germinación fue 21.2% y el máximo de 65.46%. Este factor no tuvo una influencia significativa en los porcentajes de germinación (Tabla 4).

Se observó el desarrollo de hongos en la cubierta de algunos pirenos tanto desinfectados como no desinfectados, sin embargo estos no afectaron la germinación.

La respuesta germinativa promedio de acuerdo al periodo de imbibición fue la siguiente; para 24 h fue de 48.33 ± 27.71 % y para 48 h fue de 46.67 ± 21.75 %. El periodo de imbibición no tuvo un efecto directo sobre los porcentajes de germinación (Tabla 4).

Para pirenos en temperatura alternante el promedio de germinación fue de 47.12 ± 21.14 % y en pirenos en temperatura constante el promedio de germinación fue 38.75 ± 28.23 % sin diferencias en estos tratamientos.

La interacción del choque térmico y la temperatura alternante resultó significativa, propiciando mayores porcentajes de germinación (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de la prueba de efectos de las diferentes variables en el porcentaje de germinación para los pirenos germinados en luz blanca (Diferencias significativas marcadas con *).

Variables	GI	F	P	Resumen
Desinfección	1	1.1548	0.2893	Ns
Imbibición	1	1.3061	0.2602	Ns
Temperatura	1	3.2562	0.0791	Ns
Pretratamiento	1	27.5953	<0.0001	*
Pretratamiento-Temperatura (con choque térmico - temp. alternante)	1	6.2502	0.0169	*

DISCUSIÓN

Tiempo de almacenamiento y viabilidad.

Los porcentajes finales de germinación registrados en este trabajo, para pirenos de *Beiselia mexicana* almacenados durante 12 meses (28%) y 18 meses (31%) fueron muy similares a los obtenidos por Ramos-Ordoñez en mayo de 2014 para la misma especie (6 meses de almacenamiento, datos no publicados); quién obtuvo $35.43 \pm 9.2\%$ de germinación con una temperatura alternante, como la usada para este trabajo, como único factor controlado. Morgan y Shibu (2013) encontraron resultados semejantes en la germinación de semillas de *Bursera graveolens*, almacenadas durante 2, 5, 6 y 12 meses de almacenamiento, en todos los casos no superaron el 30% en los porcentajes de germinación de germinación.

Este trabajo registró en ambos tiempos de almacenamiento para las semillas de *B. mexicana*, mayor porcentaje de germinación en comparación con el 20% reportado

por Forman y colaboradores (1989) para la misma especie, estos autores atribuyen el bajo porcentaje de germinación a que los embriones se encontraban aún en periodo de latencia, ya que los pirenos que utilizaron tenían cinco semanas de haber sido colectados, sin embargo, no hicieron pruebas posteriores para corroborar dicha aseveración, de igual forma, no mencionan haber aplicado algún pretratamiento. En este trabajo es probable que la imbibición y/o el pretratamiento con choque térmico revertieran la latencia de una mayor cantidad de embriones promoviendo porcentajes de germinación mayores (Baskin y Baskin, 2014) a los de Forman y colaboradores.

Haber alcanzado solo entre el 28 y 31% de germinación promedio final, es un porcentaje bajo en comparación con otras especies arbóreas (*Ternstroemia brasiliensis* y *Tabebuia cassinoides*) del BTC en las que se alcanza hasta el 98% en condiciones contraladas durante 25 días de observación, sin embargo, en esta especie puede sugerirse que no presentan un número considerable de semillas vanas (Baskin y Baskin, 2014). En cambio, los bajos porcentajes de germinación en la familia *Burseraceae* ya habían sido reportados por Bonfil-Sanders y colaboradores (2008) y Andrés y Espinosa (2002); quienes atribuyen los bajos porcentajes de germinación a que existe un gran número de “semillas vanas” en frutos madurados en condiciones de almacenamiento. En este trabajo se registró que el 32% de los pirenos vanos, mediante la observación del embrión y de la cubierta del pireno. Por lo tanto se puede sugerir que esta cantidad de pirenos vanos pudieron ocasionar los porcentajes de germinación en *B. mexicana*, que son bajos en comparación con otras especies caducifolias. Basándose en lo anterior este trabajo propone que las características externas del pireno, como son el color negro y su dureza, debieran permitir realizar una mejor selección de pirenos al momento de la siembra.

Retomando la producción de frutos sin semilla o “semillas vanas”, este fenómeno es atribuible principalmente a dos causas; el grado de maduración del embrión al momento de realizar la colecta; y a un fenómeno llamado partenocarpia reportado en 28 especies del orden Sapindales de las cuales, 11 pertenecen a la familia *Burseraceae* (Ramos-Ordoñez, 2009).

En la partenocarpia existe la producción de frutos, pero no se producen semillas, principalmente por factores que promueven el desarrollo del ovario y la restricción de la maduración del óvulo. Los factores internos que pueden ocasionar dicho proceso son poliploidía, errores en la expresión genética y concentración hormonal. Los factores externos se relacionan con la escasez de recursos, estrés hídrico y térmico, y daños a estructuras reproductoras (Ramos-Ordoñez *et al.* 2008; Ramos-Ordoñez y Arizmendi, 2011).

En el género *Bursera*, se ha reportado la producción de frutos con pirenos vanos, en los que la cubierta no posee tejido lignificado o capas de cristales de oxalato de calcio, lo que les vuelve vulnerables (Ramos-Ordoñez, 2009). En cambio cuando los frutos contienen pirenos con embriones viables, la cubierta protectora contiene cristales de oxalato de calcio y varias capas de tejido lignificado. El anterior mecanismo puede considerarse un escape a la depredación, un ahorro energético para la planta madre; y al escalonar la producción de frutos, asegurar el éxito reproductivo de la especie (Ramos-Ordoñez, 2009).

Basándose en trabajos realizados, así como en las observaciones hechas a los embriones, y en las características de la cubierta del pireno, este trabajo propone a *B. mexicana* como una especie que presenta partenocarpia, ya que además de pirenos viables (*sensu* Baskin y Baskin, 2014), también se encontraron pirenos con cubierta blanda presumiblemente por la ausencia de capas de tejido lignificado y de cristales de oxalato de calcio; en el interior se observaba el óvulo colapsado de menos de 0.2 mm de diámetro unido a una de las paredes del pireno.

Esta es la primera vez que se describen características del pireno asociadas a la partenocarpia en *B. mexicana*, por lo que es necesario hacer más estudios para averiguar el origen de pirenos vanos, y su función en la dinámica poblacional de la planta.

Ala

Este trabajo demostró que los porcentajes de germinación de pirenos con ala no difirieron significativamente de los que no la presentaban, solo se observó que la

radícula hacia una torsión para lograr llegar al sustrato. La importancia en determinar la respuesta germinativa con respecto a la presencia del ala es porque, esta última es análoga al pseudoarilo de *Bursera*, y cuando está completo interfiere de manera negativa en la germinación de las especies, ya que contiene sustancias inhibitorias (Ramos Ordoñez, 2009). Con base en lo anterior, se puede descartar la presencia de sustancias inhibidoras de las germinación en el ala de *B. mexicana*.

El ala no representó un impedimento para la germinación, pero podría representar un obstáculo para el establecimiento de la plántula, ya que en los casos en los que la radícula se torció, quedó expuesta y no logró llegar al sustrato, no pudo captar agua, ocasionando la pérdida de la plántula.

Se propone que para estudios futuros, se contabilice el número de plántulas que mueren a causa de este fenómeno, para determinar en qué medida afecta la tasa de establecimiento.

Desinfección

Durante un estudio ecológico de germinación las semillas se encuentran expuestas a varios tipos de organismos patógenos y no patógenos, pero no se sabe con certeza si estos deben ser removidos. En la mayoría de los estudios, los investigadores remueven principalmente hongos que están en la cubierta de las semillas, para evitar que estos dañen o impidan el proceso de la germinación (Baskin y Baskin, 2014).

En este estudio se probó el efecto de la desinfección con hipoclorito de sodio en la germinación de los pirenos de *B. mexicana*, se encontró que la desinfección no influye en los promedios de los porcentajes de germinación. Además, se observó que hubo desarrollo de hongos en las cubiertas de los pirenos desinfectados, sin que afectaran la germinación, incluso en varios casos, se observó que las colonias de hongos permitieron que la cubierta del pireno se adhiera al sustrato, facilitando la emergencia de los cotiledones. Bonfil-Sanders y colaboradores (2008), reportaron la aparición de hongos de las semillas de *Bursera*, sin poderlos eliminar, a pesar que habían sido desinfectadas previamente con hipoclorito de sodio al 10%, y les aplicaban semanalmente una solución anti-fúngica; sin embargo, los autores

encontraron que las colonias no interfirieron en la germinación. Cabe mencionar que Soriano (2012) propone la actividad fúngica como un factor que contribuye al debilitamiento de la cubierta de la semilla en el área cercana al micrópilo con lo que se facilita la entrada de agua y la germinación.

Imbibición

Después de la imbibición, la germinación de los pirenos comenzó en la primera semana, tras la siembra; y para la semana cuatro, el número de pirenos que germinaban bajo considerablemente. Lo anterior contrasta con lo reportado por Forman y colaboradores (1989), ya que su registro de germinación para misma especie, comenzó hasta la semana 3 y continuo más allá de la semana 10.

Las observaciones permiten asumir que los periodos de imbibición a los que estuvo sometida *B. mexicana* durante este estudio, influenciaron en su estado de quiescencia, con lo que se reinició más rápidamente la actividad metabólica (Serna, 2007).

La imbibición como factor que favorece la respuesta germinativa, fue reportada por Morgan y Shibu (2013) quienes registraron un porcentaje promedio en *Bursera graveolens* de 28.70% con imbibición por 24 h; ligeramente superior al del grupo control (24.07%) en la germinación.

Temperatura y pretratamiento

La respuesta germinativa de *B. mexicana*, mostró afinidad a las temperaturas cálidas ya que los pirenos sometidos en alternancia de temperatura (24-31°C) tuvieron un mayor porcentaje de germinación. Esto concuerda con lo reportado por Baskin y Baskin (2014) en general para las especies arbóreas del BTC, que alcanzan altos porcentajes de germinación en temperaturas cercanas a los $26.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$. Por su parte, Andrés y Espinosa (2002), también reportan afinidad a temperaturas elevadas (25-35°C) para germinar en especies del género *Bursera*. Además, Serna (2007) menciona que la temperatura es uno de los factores externos determinantes en la germinación, por su capacidad de influir en las enzimas que

regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas tras el reinicio metabólico; y sobre todo, porque en la naturaleza raramente se encuentran temperaturas constantes en largos periodos de tiempo. La temperatura utilizada en este trabajo está dentro de los rangos de la localidad de origen que en temporada de secas va de los 16.9 a 40.1°C y en temporada de lluvias de 20.7 a 40.5°C, explicando la respuesta germinativa positiva.

El pretratamiento de choque térmico propició mayores porcentajes de germinación, pero solo en los pirenos que se incubaron en temperaturas cercanas a los 30°C, ya que aquellos que fueron sometidos a temperatura constante (25°C), menos de la mitad logró germinar. La respuesta favorable al pretratamiento con choque térmico, fue reportada por Morgan y Shibu (2013) en *Bursera graveolens*. Los autores antes mencionados sometieron las semillas al choque térmico (50°C a 70°C) más un periodo de imbibición, con lo se favorecieron positivamente los porcentajes de germinación.

Hopkins y Hüner (2008) mencionan que en las plantas las reacciones enzimáticas y/o metabólicas responden a un rango de temperatura óptimo, por debajo o por encima de este no hay una respuesta favorable. Por lo tanto, se sugiere que la baja respuesta germinativa de los pirenos con choque térmico en temperatura constante, se relaciona con la activación de ciertas enzimas o procesos metabólicos de *B. mexicana*, que tras su activación por el choque térmico (40°C) requieren temperaturas cercanas o superiores a los 30°C para seguir funcionando. Esto refuerza la afinidad de la planta a los sitios con temperaturas cálidas y fluctuantes.

Calidad de luz

La germinación de *B. mexicana* ocurrió en todos los intervalos de luz, las especies que responden de esta forma son clasificadas como fotoblásticas indiferentes (Serna, 2007). Los fitocromos que son los reguladores de la germinación, en este tipo de semillas se activan por una reacción dependiente de la temperatura, en la que el fitocromo Pfr es revertido a fitocromo Pr en la llamada reversión oscura

(Hopkins y Hüner, 2008). Esta respuesta por parte de *B. mexicana* se sustenta en la distribución de ésta en su hábitat. Generalmente se encuentra creciendo entre grietas de crestas rocosas, donde la disponibilidad de luz es baja o nula, por lo que la activación de la germinación por una vía no fotoquímica, les facilita su propagación. El anterior argumento se apoya en lo reportado por Fenner (1985), quien menciona que las especies cuyo requerimiento de luz no está especificado en alguna longitud de onda, tienen una respuesta afín a las variaciones de temperaturas en un rango determinado.

A pesar de estar de que las semillas están preparadas para germinar en cualquier intervalo de luz, se observó que la calidad de luz está relacionada directamente con el vigor del crecimiento de las plántulas (Hopkins y Hüner, 2008). Todos aquellos pirenos germinados en luz roja (LR), rojo lejano (LRL) y oscuridad (O) produjeron plántulas con la morfología distintiva de etiolación (Fig. 16), esto es, con hipocótilo muy largo, cotiledones pequeños y aclorofílicos, y solo raíces primarias pequeñas (Hopkins y Hüner, 2008), cabe mencionar, que todas estas plántulas no sobrevivieron al trasplante.

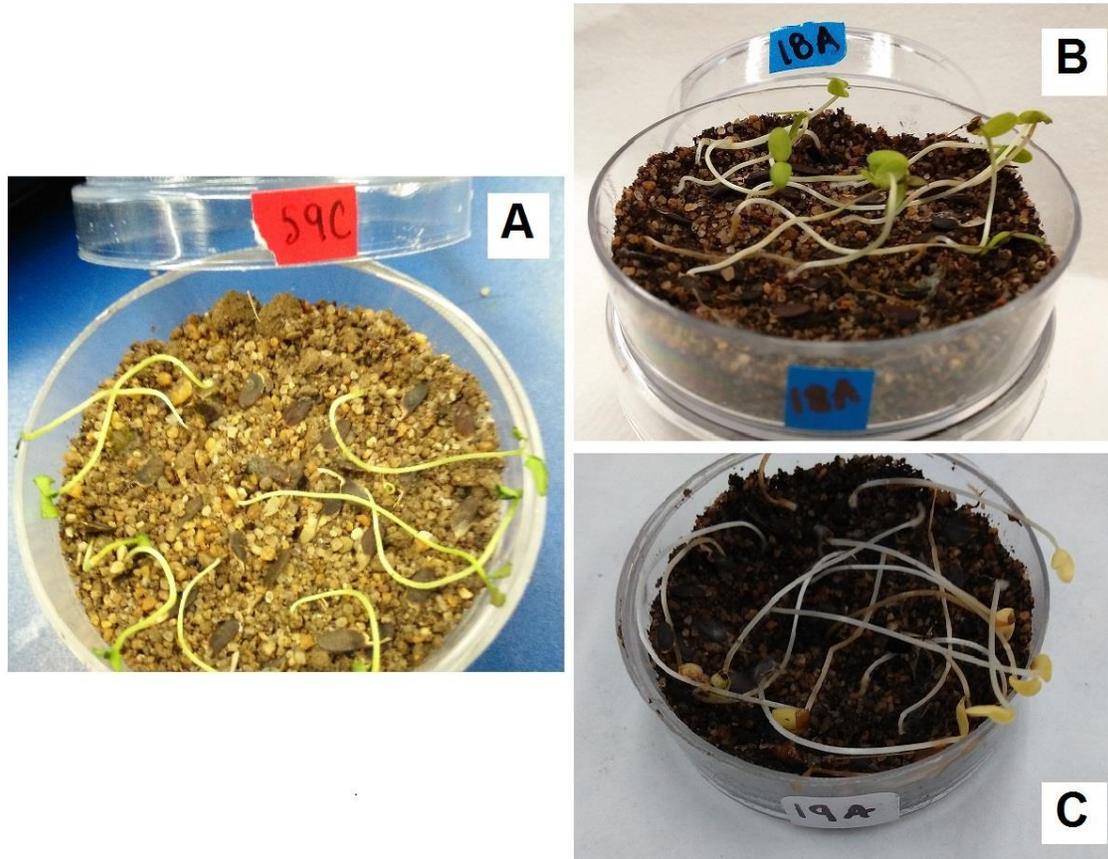


Figura 16. Morfología de plántulas de *B. mexicana* germinadas en luz roja (A), rojo lejano (B) y oscuridad (C).

El uso actual de los copales, incluyendo al copal de piedra en la medicina tradicional, rituales y ceremonias, los posiciona como recurso biológico de los pueblos de México (Purata, 2008).

El manejo adecuado de los árboles de copal, ya sea para aprovechar su resina, frutos o madera, o simplemente para evitar la pérdida de biodiversidad, requiere la generación de información, siendo los requerimientos básicos para la germinación de los más importantes; ya que cada plántula, representa a un individuo que potencialmente será un adulto, además aporta material para la generación de información relacionada con otros aspectos biológicos y ecológicos de la especie.

CONCLUSIONES

La viabilidad de los pirenos tras 12 y 18 meses de almacenamiento, fue muy similar, sin embargo está fuertemente influenciada por la cantidad de pirenos vanos. *Beiselia mexicana* se propone como una especie que presenta partenocarpia, es decir, el fruto se desarrolla sin que necesariamente contenga semillas. Las diferencias morfológicas de la cubierta de los pirenos de *B. mexicana*, son indicativas de su viabilidad, los pirenos con cubierta de color negro y de apariencia lustrosa tienen más probabilidad de contener un embrión viable.

La presencia de ala no afecta en los porcentajes de germinación, sin embargo es necesario determinar su efecto en el proceso de establecimiento.

En cuanto a los periodos de imbibición, se determinó que favorecen eficientemente la respuesta germinativa de *B. mexicana*, ya que germinaron al menos tres semanas antes que el tiempo registrado por Forman y colaboradores (1989).

El pretratamiento químico con ácido clorhídrico para *B. mexicana*, se descarta por completo, ya que destruye el embrión. Se recomienda en su lugar el pretratamiento de choque térmico, con la reserva de usarse en temperatura cercana a 30°C.

La desinfección de las semillas no es determinante en los porcentajes de germinación.

Beiselia mexicana es una especie fotoblástica indiferente, las observaciones permiten proponer que la calidad de luz está relacionada con el vigor del crecimiento de la plántula, siendo más favorable la luz blanca.

Finalmente, la imbibición previa, luz blanca y la temperatura alternante cercana a 30°C son las condiciones más favorables para la germinación de *Beiselia mexicana*.

PERSPECTIVAS

Con las plántulas obtenidas durante este trabajo, se están realizando diversas investigaciones que permitirán conocer más a fondo la biología de la especie.

Una de las líneas de investigación está identificando la presencia de aceites esenciales en los tricomas foliares, de esta forma se podrán comprobar los efectos medicinales que le atribuyen en el lugar de origen.

Durante la época de secas, se observó que las plántulas de *B. mexicana*, pierden las hojas, por lo tanto, la otra línea de investigación que inició, fue la identificación de las secuencias genéticas que pueden controlar o participar desde la etapa de plántula la pérdida de hojas.

Esta tesis pretende sentar las bases para la elaboración de un plan de manejo *ex situ*. Incluso para que sea incluida en los planes de reforestación con árboles nativos, con lo cual se garantizaría la sobrevivencia del copal de piedra.

BIBLIOGRAFIA

- Andrés, H. A. R y D. Espinosa. 2002. Morfología de plántulas de *Bursera* Jacq ex L. (*Burseraceae*) y sus implicaciones filogenéticas. Boletín de la Sociedad Botánica de México. Sociedad Botánica de México. 70: 5-12.
- Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 2014. Seeds. Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. 2° ed. Academic Press, Elsevier. 1476 p.
- Becerra, J. X.; K. Noge; S. Olivier y D. L. Lawrence. 2012. The monophyly of *Bursera* and its impact for divergence times of Burseraceae. International Association for Plant Taxonomy. 61 (2):333-343
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and Dormancy. The Plant Cell. 9: 1055-1066.
- Bonfil-Sanders, C.; I. Cajero y R. Evans. 2008. Germinación de semillas de seis especies de *Bursera* del centro de México. Agrociencia 42: 827-834.
- Cházaro, B. M.; B. L. Mostul y F. García Lara. 2010. Los copales mexicanos (*Bursera spp.*) *Bouteloua*.7: 57-70.
- Comisión Federal de Mejora Regulatoria (COFEMER). 2015. Solicitud de inclusión a la NOM-059-SEMARNAT de la especie *Beiselia mexicana* Forman. Recurso en línea: <http://www.cofemersimir.gob.mx/expediente/17979/mir/38451/anexo/1732780>.
- Corona, G. D.; D. Flores; L. C. Gómez; L. A. López y Y. Reyes. 2015. Big botanical rarity *Beiselia mexicana*. Cartel presentado en el Foro Verde. Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Cué-Bär, M. E.; J. L. Villaseñor; L. Arredondo; G. Cornejo y G. Ibarra. 2006. La flora arbórea de Michoacán, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 78:47-81.

- Daly, D.; M. M. Harley; M. C. Martínez-Habibe y A. Weeks. 2011. Burseraceae. In: Kubitzki, K. (ed.). Flowering plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. The families and genera of vascular plants. Berlin. 10: 76-104.
- De la Cerda-Lemus, M. E. 2011. La familia Burseraceae en el estado de Aguascalientes, México. Acta Botánica Mexicana. 94: 1-25.
- Dick, C. W. y S. J. Wright. 2005. Tropical mountain cradles of dry forest diversity. PNAS. 102 (31): 10757-10758.
- Fenner, M. 1985. Seed ecology. Ed. Chapman and Hall. 151 p.
- Forman, L. L.; P. E. Brandham; M. M. Harley y T. J. Lawrence. 1989. *Beiselia mexicana* (Burseraceae) and its affinities. Kew Bulletin 44:1-31.
- García, B. F. J.; C. J. Roselló y S. M. P. Santamarina. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial UPV Universidad Politécnica de Valencia. 182 p.
- Hopkins, G. W. y N. A. Hüner. 2008. Introduction to plant physiology. 4th edition, Wiley. 503 p.
- López, C. M. L., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. 2 ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 178 p.
- Márquez, G. J. 2013. La semilla 137-149 pp. En: Biología de angiospermas. Márquez Guzmán Judith, Collazo Ortega Margarita, Martínez Gordillo Martha, Orozco-Segovia Segovia Alma, Vázquez Santana Sonia (Eds.) Facultad de Ciencia: Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Nacional Autónoma de México.
- McCauley, R.; K. Jiménez y J. Márquez. 2013. La doble fecundación. 118-123 pp. En: Biología de angiospermas. Márquez Guzmán Judith, Collazo Ortega Margarita, Martínez Gordillo Martha, Orozco-Segovia Segovia Alma, Vázquez Santana Sonia (Eds.) Facultad de Ciencia: Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Morgan, M. y J. Shibu. 2013. Increasing Seed Germination of *Bursera graveolens*, a Promising Tree for the Restoration of Tropical Dry Forest. *Tree Planter's Notes*. 56(1): 74-83
- Naturalista, Comisión Nacional para el Conocimientos y uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2015. Recurso en línea. <http://naturalista.conabio.gob.mx/taxa/283269-Beiselia-mexicana> (visto en enero de 2015).
- Orozco-Segovia, A. y M. E. Sánchez-Coronado. 2013. La germinación. 219-222 pp. En: *Biología de angiospermas*. Márquez Guzmán Judith, Collazo Ortega Margarita, Martínez Gordillo Martha, Orozco-Segovia Segovia Alma, Vázquez Santana Sonia (Eds.) Facultad de Ciencia: Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Purata, S. E. (Ed.) 2008. *Uso y manejo de los copales aromáticos: resinas y aceites*. CONABIO/RAISES. México. i-60, 60 p.
- Ramos-Ordoñez M. F; M. C. Arizmendi y V. Flores-Enríquez. *Extracción y Morfología del embrión de *Bursera bipinnata**. Sometido a *Acta Botánica Mexicana*.
- Ramos-Ordoñez, M. F.; J. Márquez-Guzmán y M. C. Arizmendi. 2008. *Parthenocarpy and Seed Predation by insects in *Bursera morelensis**. *Annals of Botany*. 102: 713- 722.
- Ramos-Ordoñez, M. F. 2009. *Dispersión biótica de semillas y caracterización de frutos de *Bursera morelensis* en el Valle de Tehuacán, Puebla*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 103 p
- Ramos-Ordoñez, M. F. y M. C. Arizmendi. 2011. *Parthenocarpy, attractiveness and seed predation by birds in *Bursera morelensis**. *Journal of Arid Enviroments*. 75: 757-762.
- Ramos-Ordoñez, M. F.; M. C. Arizmendi y J. G. Márquez. 2015. *Síndrome de dispersión de semillas de *Beiselia mexicana* basado en sus características estructurales*. *Memorias del V Congreso Mexicano de Ecología*. Sociedad Científica Mexicana de Ecología A.C. México. 430 p.

- Rico-Gray, V.; A. Chemás y S. Mandujano. 1991. Uses of tropical deciduous forest species by the Yucatecan Maya. *Agroforestry Systems*. 14: 149-161.
- Rivera-Ortiz, F. A. 2014. Genética de la conservación, pérdida y caracterización del hábitat de la guacamaya verde (*Ara militaris*) en México. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 146 p.
- Rzedowski, J. y G. Calderón. 2013. Datos para la apreciación de la flora fanerogámica del Bosque Tropical Caducifolio de México. *Acta Botánica Mexicana*. 102: 1-23.
- Scott, P. 2008. *Physiology and Behavior of plants*. Ed. Wiley 305 p.
- Serna, N. L. 2007. Caracterización morfológica de la semilla y germinación de *Mammillaria densispina* (J.M. Coult) Orcutt (*Cactaceae*). Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 52 p.
- Serna, N. L. 2012. Germinación y propagación vegetativa de *Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) console (*Cactaceae*) en San Rafael Coxcatlan Puebla. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 50 p.
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). 1981-2010. Normales Climatológicas: Michoacán de Ocampo, municipio de Aquila.
- Smith, M. T.; B. S. P. Wang y H. P. Msanga. 2010. Germinación y Dormancia. Pp 157-182. En *Manual de Semillas de Arboles Tropicales*. Bozzo J. A. (Ed.) Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América, Servicio Forestal.
- Sobrevilla-Solis, J. A.; H. M. López; A. L. E. López y L. B. Romero. 2013. Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. Ex Willd). *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*. 2(12): 83-95.
- Soriano, F. D. 2007. Caracterización de la semilla y germinación de *Mammillaria densispina* (J.M. Coult) Orcutt (*Cactaceae*). Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 52 p.

- Soriano, F. D. 2012. Germinación y uso de reservas en semillas de especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 130 p.
- Sosa, V. y J. A De-Nova. 2012. Endemic angiosperm lineages in Mexico: Hotspots for conservation. *Acta Botanica Mexicana*. 100: 293-315.
- Stevens, P. F. 2015. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, Abril 2015. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Thulin, M.; B. A. Beier; G. Razafimandimbison y H. Banks. 2008. *Ambilobea*, a new genus from Madagascar, the position of *Aucoumea*, and comments on the tribal classification of the frankincense and myrrh family (Burseraceae). *Nordic Journal of Botany* 26: 218-229.
- Trejo, I y R. Dirzo. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*. 94:133-142.
- Weeks, A.; D. C. Daly y B. B. Simpson. 2005. The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (*Burseraceae*) based on nuclear and chloroplast sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 35: 85-101.

ANEXO 1. Tabla con los valores obtenidos mediante la prueba estadística de ANOVA

Prueba de ANOVA de dos vías, donde se presentan las pruebas de efectos para los tratamientos (* = Diferencias significativas, NS= No significativo).

Fuente	GL	Suma de cuadrados	F	P	Resumen
Modelo	8	1527.6937	6.8897	<0.0001	*
Error	40	1053.2424			
Total	48	2580.9362			
<i>Prueba de los Efectos</i>					
Desinfección	1	32.00758	1.1548	0.2893	NS
Imbibición	1	36.20202	1.3061	0.2602	NS
Temperatura	1	90.25217	3.2562	0.0791	NS
Pretratamiento (Choque térmico)	1	764.85744	27.5953	<0.0001	*
Imbibición-Temp.	1	2.20580	0.0796	0.7794	NS
Imbibición-Pretrat.	1	94.25552	3.4007	0.0730	NS
Pretram.- Temp.	1	173.23516	6.2502	0.0169	*
Imbibición- Pretrat.- Temp.	1	39.35881	1.4200	0.2408	NS