

From Forest Nursery Notes, Summer 2009

197. Seed germination of six *Bursera* species from central Mexico. Bonfil-Sanders, C., Cajero-Lazaro, I., and Evans, R. Y. *Agrociencia* 42:827-834. 2008.

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

SEED GERMINATION OF SIX *Bursera* SPECIES FROM CENTRAL MÉXICO

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

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

RESUMEN

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

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

INTRODUCCIÓN

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

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

ABSTRACT

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

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

INTRODUCTION

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

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

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

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

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

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

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

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

MATERIALES Y MÉTODOS

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

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

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

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

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

MATERIALS AND METHODS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

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

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

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

RESULTS AND DISCUSSION

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cuadro 2. Porcentajes de germinación (media ± e.e.) de semillas de cuatro especies de *Bursera* a temperatura constante (25 °C) y fluctuante (18-32 °C).

Table 2. Percentages of germination (mean ± s.e.) of seeds of four *Bursera* species at constant (25 °C) and fluctuating (18-32 °C) temperature.

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

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

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

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

En todas las especies la germinación inició entre

Cuadro 4. Resultados de los análisis de varianza del efecto del almacenamiento a temperatura ambiente (~20 °C) y en refrigeración (5 °C) y del tratamiento pregerminativo (ácido sulfúrico y 6-benzylaminopurina) en la germinación de semillas de tres especies de *Bursera*.

Table 4. Results of the analyses of variance of the effect of storage at room temperature (~20 °C) and in refrigeration (5 °C) and of the pre-germination treatment (sulfuric acid and 6-benzylaminopurine) in the germination of seeds of three *Bursera* species.

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

Cuadro 3. Estimaciones de semillas llenas en seis especies de *Bursera*.

Table 3. Estimations of filled seeds in six species of *Bursera*.

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

N = número total de semillas usadas en cada prueba.

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

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

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

Cuadro 5. Porcentajes de germinación (media ± e.e.) de semillas de tres especies de *Bursera* almacenadas por seis meses y tratadas con ácido sulfúrico o con la citocinina 6-benzylaminopurina.

Table 5. Percentages of germination (mean ± s.e.) of seeds of three *Bursera* species stored for six months and treated with sulfuric acid or with the cytokinin 6-benzylaminopurine.

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

Letras distintas en el mismo renglón representan diferencias significativas (p≤0.05).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

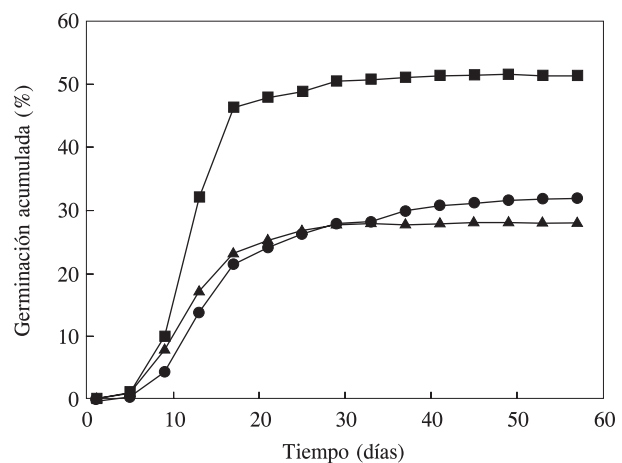


Figura 1. Germinación acumulada (todos los tratamientos) de *B. glabrifolia* (cuadros), *B. copallifera* (triángulos) y *B. bicolor* (círculos).

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

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

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

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

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

CONCLUSIONES

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

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

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

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

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

CONCLUSIONS

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

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

AGRADECIMIENTOS

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

LITERATURA CITADA

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

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

—End of the English version—



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