

## Germination of two varieties of *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. from the Lacandon Jungle, Chiapas

## Germinación de dos variedades de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. de la Selva Lacandona, Chiapas

Karina A. Toledo-González<sup>1\*</sup>; Samuel I. Levy-Tacher<sup>1</sup>;  
Pedro A. Macario-Mendoza<sup>2</sup>; José A. de Nova-Vázquez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur, Departamento de Conservación de la Biodiversidad. Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n. C. P. 29290. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.

<sup>2</sup>El Colegio de la Frontera Sur, Departamento de Agricultura, Sociedad y Ambiente. Av. Centenario km 5.5. C. P. 77014. Chetumal, Quintana Roo, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Altair núm. 200, Colonia del Llano. C. P. 78377. San Luis, San Luis Potosí, México.

\*Corresponding author: katoledo@ecosur.edu.mx; tel.: +52 (967) 674 9000 ext. 1600

### Abstract

**Introduction:** *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. is a fast-growing native species of economic and ecological importance. It is currently the only species in the genus *Ochroma*.

**Objective:** To determine the effect of seven pre-germination treatments applied on seeds of *O. pyramidale* in its typical variety and *O. pyramidale* var. *bicolor* (Rowlee) Brizicky in the Lacandon Jungle.

**Materials and methods:** Seven germination treatments were evaluated: control, soaking in water at room temperature (Soaking<sub>12h</sub> and Soaking<sub>24h</sub>), immersion in boiling water at 100 °C (Boiling<sub>3s</sub> and Boiling<sub>10s</sub>) and immersion in boiling water and soaking in coconut water (Boiling<sub>3s</sub> + Soaking<sub>24h</sub>\* and Boiling<sub>10s</sub> + Soaking<sub>24h</sub>). Coconut water was used as a natural source of cytokinins.

**Results and discussion:** Germination of *O. pyramidale* in its typical variety (62 to 69 %) was statistically higher ( $P = 0.05$ ) with treatments that included immersing the seeds in boiling water. In the case of *O. pyramidale* var. *bicolor*, the highest germination values were obtained by the Boiling<sub>3s</sub> (64 %) and Boiling<sub>3s</sub> + Soaking<sub>24h</sub> (59 %) treatments. The *O. pyramidale* var. *bicolor* seeds were susceptible to the boiling water immersion time, since germination was statistically greater ( $P = 0.05$ ) at 3 s than at 10 s.

**Conclusions:** Treatments that included immersion in boiling water had a greater effect on germination. Coconut water had no significant effect on the variable; therefore, the use of synthetic cytokinins is suggested in order to control the phytohormone dosage and thus verify its effect on germination.

**Keywords:** dormancy; imbibition; seed cover; cytokinins; coconut water.

### Resumen

**Introducción:** *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. es una especie nativa de crecimiento rápido con importancia económica y ecológica. Actualmente, es la única especie del género *Ochroma*.

**Objetivo:** Determinar el efecto de siete tratamientos pregerminativos aplicados en semillas de *O. pyramidale* en su variedad típica y *O. pyramidale* var. *bicolor* (Rowlee) Brizicky en la Selva Lacandona.

**Materiales y métodos:** Se evaluaron siete tratamientos germinativos: testigo (control), remojo en agua a temperatura ambiente (Remojo<sub>12h</sub> y Remojo<sub>24h</sub>), inmersión en agua en ebullición a 100 °C (Ebullición<sub>3s</sub> y Ebullición<sub>10s</sub>) e inmersión en agua en ebullición y remojo en agua de coco (Ebullición<sub>3s</sub> + Remojo<sub>24h</sub>\* y Ebullición<sub>10s</sub> + Remojo<sub>24h</sub>). El agua de coco se utilizó como fuente natural de citocininas.

**Resultados y discusión:** La germinación de *O. pyramidale* en su variedad típica (62 a 69 %) fue estadísticamente mayor ( $P = 0.05$ ) con los tratamientos que incluyeron inmersión de las semillas en agua en ebullición. En el caso de *O. pyramidale* var. *bicolor*, los valores más altos de germinación corresponden a los tratamientos Ebullición<sub>3s</sub> (64 %) y Ebullición<sub>3s</sub> + Remojo<sub>24h</sub> (59 %). Las semillas de *O. pyramidale* var. *bicolor* fueron susceptibles al tiempo de inmersión de agua en ebullición, ya que la germinación fue estadísticamente mayor ( $P = 0.05$ ) a los 3 s que a los 10 s.

**Conclusión:** Los tratamientos que incluyeron inmersión en agua en ebullición tuvieron mayor efecto sobre la germinación. El agua de coco no tuvo efecto significativo sobre la variable; por tanto, se sugiere el uso de citocininas sintéticas, con el fin de controlar la dosis de la fitohormona y así constatar su efecto en la germinación.

**Palabras clave:** latencia; imbibición; episperma; citocininas; agua de coco.

## Introduction

*Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. is a fast-growing pioneer tree native to America (Sandi & Flores, 2010). The species is distributed from southeastern Mexico, Central America, Colombia, Venezuela, Ecuador, Peru, Bolivia and the Antilles to Brazil (Sandi & Flores, 2010). Based on its distribution, the tree has acquired several common names, with balsa, balso, corcho and pochote standing out (Pennington & Sarukhán, 2005; Sandi & Flores, 2010). *Ochroma pyramidale* has ecological importance because it is used for the rehabilitation of degraded areas, while its commercial importance is due to the high strength and low density of the wood, which makes it one of the lightest and most useful for making aircraft parts, toys and handicrafts (González-Osorio, Cervantes, Torres, Sánchez, & Simba, 2010; Sandi & Flores, 2010).

The seeds of the species *O. pyramidale* are orthodox; that is, they are tolerant to dehydration (Ríos-García, Orantes-García, Moreno-Moreno, & Farrera-Sarmiento, 2018; Romero-Saritama, 2016). In addition, they present physical dormancy, so that even when favorable conditions are present, they are unable to germinate (Fang, Enhe, Qinli, & Zhuhong, 2016; Jiménez et al., 2017). This is an adaptive property present in some seeds that allows them to survive in unfavorable conditions (Doria, 2010). Dormancy is common in other tropical species, which causes variation in the percentage and speed of germination in their natural environment and in nursery conditions, generating strong heterogeneity in the growth of individuals (Galán-Larrea, Vargas-Hernández, & Rodríguez-Laguna, 2000). As for the genus *Ochroma*, studies have been carried out on the characteristics of its seeds and their germination, highlighting issues of viability (Ríos-García, Orantes-García, Moreno-Moreno, & Farrera-Sarmiento, 2016), morphophysiological characterization (Romero-Saritama, 2016; Vázquez-Yañes, 1976) and pre-germination treatments (Herrera & Alizaga, 1999; Jiménez et al., 2017; Vázquez-Yañes, 1974, 1975).

In the community of Lacanha Chansayab, located in the Lacandon Jungle, Lacandon peasants or small-scale farmers recognize two variants of the genus *Ochroma*, *chac chujum* (*Ochroma pyramidale* in its typical variety) and *sac chujum* (*Ochroma pyramidale* var. *bicolor* [Rowlee] Brizicky). These variants are distinguished in the field by the colour of their petioles and the size of their fruit. Morphological differences include the size, colour and shape of structures such as the stem, crown, flower, fruit, petioles, and upper face and underside of the leaf and seeds. However, at present, it is known that the genus *Ochroma* is monophyletic, so the morphological differences that the species presented led taxonomists and botanists to propose different

## Introducción

*Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. es un árbol pionero de crecimiento rápido, nativo del continente americano (Sandi & Flores, 2010). La especie se distribuye desde el sureste de México, Centroamérica, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia y las Antillas, hasta Brasil (Sandi & Flores, 2010). Con base en su distribución, el árbol ha adquirido varios nombres comunes, entre los que destacan: balsa, balso, corcho y pochote (Pennington & Sarukhán, 2005; Sandi & Flores, 2010). *Ochroma pyramidale* tiene importancia ecológica, pues se utiliza para la rehabilitación de áreas degradadas; mientras que su importancia comercial se debe a la alta resistencia y baja densidad de la madera, lo que la hace una de las más livianas y útiles para elaborar partes de aviones, juguetes y artesanías (González-Osorio, Cervantes, Torres, Sánchez, & Simba, 2010; Sandi & Flores, 2010).

Las semillas de la especie *O. pyramidale* son ortodoxas; es decir, son tolerantes a la deshidratación (Ríos-García, Orantes-García, Moreno-Moreno, & Farrera-Sarmiento, 2018; Romero-Saritama, 2016). Además, presentan latencia física, por lo que, a pesar de estar en condiciones favorables son incapaces de germinar (Fang, Enhe, Qinli, & Zhuhong, 2016; Jiménez et al., 2017). Esta es una propiedad adaptativa presente en algunas semillas que les permite sobrevivir en condiciones desfavorables (Doria, 2010). La latencia es común en otras especies tropicales, la cual provoca variación en el porcentaje y velocidad de germinación en su medio natural y en condiciones de vivero, generando fuerte heterogeneidad en el crecimiento de los individuos (Galán-Larrea, Vargas-Hernández, & Rodríguez-Laguna, 2000). En cuanto al género *Ochroma*, se han realizado estudios sobre las características de las semillas y su germinación, destacando los temas sobre la viabilidad (Ríos-García, Orantes-García, Moreno-Moreno, & Farrera-Sarmiento, 2016), caracterización morfofisiológica (Romero-Saritama, 2016; Vázquez-Yañes, 1976) y tratamientos pregerminativos (Herrera & Alizaga, 1999; Jiménez et al., 2017; Vázquez-Yañes, 1974, 1975).

En la comunidad de Lacanha Chansayab, ubicada en la Selva Lacandona, los campesinos lacandones reconocen dos variantes del género *Ochroma*, *chac chujum* (*Ochroma pyramidale* en su variedad típica) y *sac chujum* (*Ochroma pyramidale* var. *bicolor* [Rowlee] Brizicky). Estas variantes se distinguen en campo por el color de sus peciolos y el tamaño del fruto. Dentro de las diferencias morfológicas se encuentran el tamaño, el color y forma de estructuras como el tallo, copa, flor, fruto, peciolos, haz y envés de la hoja y semillas. No obstante, en la actualidad, se conoce que el género *Ochroma* es monofilético, por lo que, las diferencias morfológicas que la especie presentaba, daba lugar a

species and varieties for the genus. Both varieties are used by traditional Mayan Lacandons for the early recovery of their acahuals.

This study aimed to determine the effect of seven pre-germination treatments applied on seeds of *O. pyramidale* in its typical variety and *O. pyramidale* var. *bicolor* in the Lacandon Jungle. The species presents dormancy and it is known that, in the Lacandon Jungle, the seeds of the *O. pyramidale* varieties begin to germinate after slash-and-burn; therefore, it is expected that the application of treatments will increase the germination percentage of the seeds, mainly in those where temperatures of 100 °C are applied.

## Materials and methods

### Study area

The Lacandon Jungle covers approximately one million hectares, including 53 % of the Usumacinta River basin (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca [SEMARNAP], 2000); it is located in the extreme east of the state of Chiapas in southern Mexico (16° 05' - 17° 15' N; 90° 25' - 91° 45' W) (Mendoza & Dirzo, 1999). The dominant vegetation is high evergreen forest (Pennington & Sarukhán, 2005). The collection site is located in the Lacanha Chansayab locality, within the area comprising the Lacandon Jungle, at geographic coordinates 16° 45' 59" N and 91° 07' 59" W. The germination treatments were evaluated in the Germplasm Laboratory of the "Dr. Faustino Miranda" Botanical Garden, operated by the Secretariat of the Environment and Natural History (SEMAHN) and located in Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

### Seed collection

The fruits of *chac chujum* (*Ochroma pyramidale*) and *sac chujum* (*O. pyramidale* var. *bicolor*) were collected in Lacanha Chansayab (16° 45' 59" N and 91° 07' 59" W) in April 2014. Ten trees of each variety were selected, obtaining 10 fruits from each individual. The trees selected for harvesting the fruits had the following characteristics: diameter at chest height (DBH) greater than 60 cm, upper height of 18 m, abundance of ripe fruit and good phytosanitary status. The fruits were placed in the sun for drying, in order to encourage dehiscence. Subsequently, the seeds were obtained and mixed to homogenize the sample. The seeds were stored and kept in an airtight container in dark conditions, temperature of 4 to 5 °C and humidity of 4.5 to 8 %, to protect them from humidity, direct sunlight, insects and fungal or bacterial diseases.

### Germination

Germination treatments were evaluated in February 2015 when the seeds had been stored for 10 months.

que los taxónomos y botánicos propusieran diferentes especies y variedades para el género. Las dos variedades son utilizadas por los lacandones mayas tradicionales para la pronta recuperación de sus acahuals.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de siete tratamientos pregerminativos aplicados en semillas de *O. pyramidale* en su variedad típica y *O. pyramidale* var. *bicolor* en la Selva Lacandona. La especie presenta latencia y se conoce que, en la Selva Lacandona, las semillas de las variedades de *O. pyramidale* empiezan a germinar después de la roza, tumba y quema, por lo que, se espera que la aplicación de tratamientos incrementa el porcentaje de germinación de las semillas, principalmente en aquellos donde se apliquen temperaturas de 100 °C.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La Selva Lacandona abarca una superficie aproximada de un millón de hectáreas que incluye 53 % de la cuenca del Río Usumacinta (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca [SEMARNAP], 2000); se localiza en el extremo este del estado de Chiapas, al sur de la república mexicana (16° 05' - 17° 15' N; 90° 25' - 91° 45' O) (Mendoza & Dirzo, 1999). La vegetación dominante es selva alta perennifolia (Pennington & Sarukhán, 2005). El sitio de colecta se ubica en la localidad Lacanha Chansayab, dentro del área comprendida como la Selva Lacandona, en las coordenadas geográficas 16° 45' 59" N y 91° 07' 59" O. Los tratamientos de germinación se evaluaron en el Laboratorio de Germoplasma del Jardín Botánico "Dr. Faustino Miranda" de la Secretaría de Medio Ambiente e Historia Natural (SEMAHN), ubicado en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

### Colecta de semillas

Los frutos de *chac chujum* (*Ochroma pyramidale*) y *sac chujum* (*O. pyramidale* var. *bicolor*) se colectaron en la localidad Lacanha Chansayab (16° 45' 59" N y 91° 07' 59" O) en el mes de abril de 2014. Se seleccionaron 10 árboles de cada variedad, obteniendo 10 frutos de cada individuo. Los árboles seleccionados para la recolección de los frutos tuvieron las siguientes características: diámetro a la altura del pecho (DAP) mayor de 60 cm, altura superior de 18 m, abundancia en frutos maduros y buen estado fitosanitario. Los frutos fueron puestos al sol para su secado, con el fin de propiciar la dehiscencia. Posteriormente, las semillas se obtuvieron y se mezclaron para homogeneizar la muestra. Las semillas se almacenaron y conservaron en un recipiente hermético en condiciones de oscuridad, temperatura de 4 a 5 °C y humedad de 4.5 a 8 %, para resguardarlas de la humedad, la luz solar directa, los insectos y las enfermedades fúngicas o bacterianas.

Seeds from a previous year were used because balsa trees fructify from March to June. Table 1 shows the seven treatments chosen for their low cost. The treatments, with the exception of the control, were divided into three groups in order to break the dormancy of the seed through the permeability of the seed coat: 1) imbibition of the seed by water immersion; 2) thermal impact by boiling water at 100 °C and 3) thermal impact (100 °C) plus immersion in coconut water in a state of tender maturity. This water has been used in other species (Patiño, Mosuera, & Tulio, 2011; Quinto, Martínez-Hernández, Pimentel-Bribiesca, & Rodríguez-Trejo, 2009) because it contains nutrients and cytokinins that favor seed germination.

The experimental units were 90 x 15 mm Petri dishes, where 25 seeds were planted on filter paper and cotton. The dishes were introduced into a precision germinator (Seedburo, Equipment Company), programmed to illuminate 24 hours with 90 % relative humidity and a constant temperature of 27 °C. The number of germinated seeds was counted three times per week in a 56-day period. Due to the experiment's logistical limitations, the number of seeds evaluated for germination was not adjusted in accordance with the rules of the International Seed Testing Association (ISTA). Rojas-Rodríguez and Torres-Córdoba (2009) report that some *Ochroma* seeds continue to germinate until 54 days; for this reason, germination was evaluated until that time. The emergence of the

## Germinación

Los tratamientos de germinación se evaluaron en febrero del 2015 cuando las semillas tenían 10 meses de almacenamiento. Se utilizaron semillas de un año anterior, debido a que los árboles de balsa fructifican de marzo a junio. El Cuadro 1 muestra los siete tratamientos elegidos por su bajo costo. Los tratamientos, con excepción del testigo, se dividieron en tres grupos con la finalidad de romper la latencia de la semilla mediante la permeabilidad de la testa: 1) imbibición de la semilla por medio de la inmersión en agua; 2) impacto térmico mediante agua en ebullición a 100 °C y 3) impacto térmico (100 °C) más inmersión en agua de coco en estado de madurez tierno. Esta agua se ha utilizado en otras especies (Patiño, Mosuera, & Tulio, 2011; Quinto, Martínez-Hernández, Pimentel-Bribiesca, & Rodríguez-Trejo, 2009), debido a que contiene nutrientes y citocininas que favorecen la germinación de semillas.

Las unidades experimentales fueron cajas de Petri de 90 x 15 mm, donde se sembraron 25 semillas sobre papel filtro y algodón. Las cajas se introdujeron en una germinadora de precisión (Seedburo, Equipment Company), programada para iluminar las 24 h con 90 % de humedad relativa y temperatura constante de 27 °C. El número de semillas germinadas se contabilizó tres veces por semana en un periodo de 56 días. Debido a las limitaciones logísticas del experimento,

**Table 1. Pre-germination treatments used for the experimental management of seeds of two varieties of balsa (*Ochroma pyramidale*).**

**Cuadro 1. Tratamientos pregerminativos utilizados para el manejo experimental de semillas de dos variedades de balsa (*Ochroma pyramidale*).**

Treatment / Tratamiento	Description / Descripción	Replicates / Repeticiones	Seeds per replicate / Semillas por repetición
Control	Control / Testigo	4	25
Soaking <sub>12h</sub> / Remojo <sub>12h</sub>	Soaking in water (12 h) at room temperature / Remojo en agua (12 h) a temperatura ambiente	4	25
Soaking <sub>24h</sub> / Remojo <sub>24h</sub>	Soaking in water (24 h) at room temperature / Remojo en agua (24 h) a temperatura ambiente	4	25
Boiling <sub>3s</sub> / Ebullición <sub>3s</sub>	Boiling at 100 °C for 3 s / Ebullición a 100 °C por 3 s	4	25
Boiling <sub>10s</sub> / Ebullición <sub>10s</sub>	Boiling at 100 °C for 10 s / Ebullición a 100 °C por 10 s	4	25
Boiling <sub>3s</sub> + Soaking <sub>24h</sub> / Ebullición <sub>3s</sub> + Remojo <sub>24h</sub>	Boiling (3 s) and soaking in coconut water (24 h) / Ebullición (3 s) y remojo en agua de coco (24 h)	4	25
Boiling <sub>10s</sub> + Soaking <sub>24h</sub> / Ebullición <sub>10s</sub> + Remojo <sub>24h</sub>	Boiling (10 s) and soaking in coconut water (24 h) / Ebullición (10 s) y remojo en agua de coco (24 h)	4	25



radicle defined the germinated seeds (Vázquez, Orozco, Rojas, Sánchez, & Cervantes, 1997). The Petri dishes were watered every other day and two applications of Captan (N-[trichloromethylthio]cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide) diluted at 5 % (fungicide) were made for fungal control; the first one was on March 9 and the second on April 8, 2015.

### Statistical analysis

A randomized block experimental design was used with four replicates. The data were normalized using Arc sen (Rodríguez-Sosa, Valdés-Roblejo, & Rodríguez-Lías, 2012) in order to meet the assumptions of homogeneity of variance (Levene's test). Subsequently, the data were interpreted using an analysis of variance ( $P = 0.05$ ), which allows more than two means to be contrasted. In addition, a Tukey multiple comparison test ( $P = 0.05$ ) was performed to know the difference between the groups. The analysis was performed with the SPSS statistical program version 15.0 (IBM SPSS Statistics, 2009).

### Results and discussion

For the two varieties of the genus *Ochroma*, the effect of the treatments on seed germination was statistically different (Table 2). The treatments that favored germination were those that included immersing the seeds in boiling water. In the case of the *O. pyramidale* typical variety, the four treatments that included thermal impact generated the greatest germination and were statistically similar ( $P = 0.05$ ), while for *O. pyramidale* var. *bicolor*, the Boiling<sub>3s</sub> and Boiling<sub>3s</sub> + Soaking<sub>24h</sub> treatments were the best (Figure 1). The percentages are similar to those reported by Herrera and Alizaga (1999), who obtained 68 % germination with water at 80 °C for 3 min. Vázquez-Yañes (1976) mentions that germination of the genus *Ochroma* is favored by high temperatures because the seeds have adapted to the occurrence of fire in the areas where they grow.

**Table 2. Representation of analysis of variance statistical test of pre-germination treatments evaluated in *Ochroma pyramidale* seeds.**

**Cuadro 2. Representación de prueba estadística de análisis de varianza de los tratamientos pregerminativos evaluados en semillas de *Ochroma pyramidale*.**

Germination percentage/ Porcentaje de germinación	Sum of squares/ Suma de cuadrados	Degrees of freedom/ Grados de libertad	Root mean square/ Media cuadrática	F	Significance/ Significancia
Inter-groups/Inter-grupos	38 878.857	13	2 990.681	35.443	.000
Intra-groups/Inter-grupos	3 544.000	42	84.381		
Total	42 422.857	55			

el número de semillas evaluadas para la germinación no se ajustó de acuerdo con las reglas de la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA). Rojas-Rodríguez y Torres-Córdoba (2009) reportan que algunas semillas de *Ochroma* siguen germinando hasta los 54 días, por esta razón, la germinación se evaluó hasta dicho momento. La emergencia de la radícula definió las semillas germinadas (Vázquez, Orozco, Rojas, Sánchez, & Cervantes, 1997). Las cajas Petri se regaron cada tercer día y se realizaron dos aplicaciones de Captan (N-[trichloromethylthio]cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide) diluido al 5 % (fungicida) para el control de hongos; la primera fue el día 9 de marzo y la segunda el 8 de abril del 2015.

### Análisis estadístico

El diseño experimental fue bloques al azar con cuatro repeticiones. Los datos fueron normalizados utilizando la función Arc sen (Rodríguez-Sosa, Valdés-Roblejo, & Rodríguez-Lías, 2012) con el fin de cumplir los supuestos de homogeneidad de varianzas (prueba de Levene). Posteriormente, los datos se interpretaron mediante un análisis de varianza ( $P = 0.05$ ), el cual permite contrastar más de dos medias. Además, se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey ( $P = 0.05$ ) para conocer la diferencia entre los grupos. El análisis se realizó con el programa estadístico SPSS versión 15.0 (IBM SPSS Statistics, 2009).

### Resultados y discusión

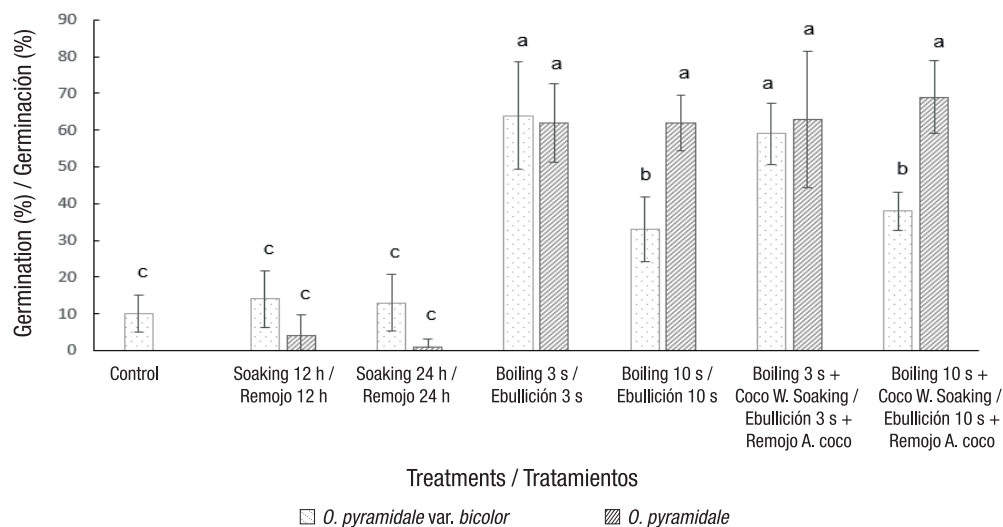
Para las dos variedades del género *Ochroma*, el efecto de los tratamientos sobre la germinación de las semillas fue estadísticamente diferente (Cuadro 2); los tratamientos que favorecieron la germinación fueron los que incluyeron inmersión de las semillas en agua en ebullición. En el caso de *O. pyramidale* variedad típica, los cuatro tratamientos que incluyeron impacto térmico generaron la mayor germinación siendo estadísticamente similares ( $P = 0.05$ ), mientras que para *O. pyramidale* var. *bicolor*, los tratamientos Ebullición<sub>3s</sub>

The lowest germination percentage was recorded in the control, Soaking<sub>12h</sub> and Soaking<sub>24h</sub> treatments, being statistically similar (Figure 1). The low germination percentages in the control treatment agree with those obtained by Herrera-Quirós and Alizaga-López (1999) and Jiménez et al. (2017). This contrasts with the study by Ríos-García et al. (2016), who evaluated the viability of seeds at 0, 3, 6, 9 and 12 months of storage, without application of treatments, and obtained approximately 97.3 % germination at 0 months and 66 % at 12 months. However, although Ríos-García et al. (2016) did not use pre-germination treatments, they did use coconut powder and agrolite (1:2) in the substrate. Ayala-Sierra and Váldez-Aguilar (2008) also evaluated the effectiveness of coconut coir dust substrate combined with perlite and vermiculite (70:20:10) in six commercial species and concluded that germination was favorable compared to substrates combined with peat moss. Coconut coir dust is likely to have increased the germination percentage in *O. pyramidale* seeds, as observed in the coconut water treatments evaluated by Patiño et al. (2011) and Quinto et al. (2009).

In both varieties, the Soaking<sub>12h</sub> and Soaking<sub>24h</sub> treatments generated low germination percentages (Figure 1). These results are similar to those obtained by Rodríguez-Sosa et al. (2012), who evaluated nine pre-germination water immersion treatments at different intervals (3 to 27 h) in *Colubrina ferruginosa* Brong seeds. These researchers obtained that, after 12 h, the treatments presented a similar germination percentage as the control (39.7 %), decreasing as the immersion was prolonged (15 h = 38.5 % and 27 h = 22 %).

y Ebullición<sub>3s</sub> + Remojo<sub>24h</sub> fueron los mejores (Figura 1). Los porcentajes son similares a los reportados por Herrera y Alizaga (1999), quienes obtuvieron 68 % de germinación con agua a 80 °C por 3 min. Vázquez-Yañes (1976) menciona que la germinación del género *Ochroma* es favorecida por las altas temperaturas, debido a que las semillas se han adaptado a la presencia del fuego en las áreas donde crecen.

El menor porcentaje germinativo se registró en los tratamientos control (testigo), Remojo<sub>12h</sub> y Remojo<sub>24h</sub>, siendo similares estadísticamente (Figura 1). Los bajos porcentajes germinativos en el tratamiento control concuerdan con los obtenidos por Herrera-Quirós y Alizaga-López (1999) y Jiménez et al. (2017). Lo anterior contrasta con el estudio de Ríos-García et al. (2016), quienes evaluaron la viabilidad de las semillas a 0, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento, sin aplicación de tratamientos, y obtuvieron, aproximadamente, 97.3 % de germinación a 0 meses y 66 % a los 12 meses. No obstante, aunque Ríos-García et al. (2016) no utilizaron tratamientos pregerminativos, sí emplearon polvillo de coco y agrolita 1:2 en el sustrato. Ayala-Sierra y Váldez-Aguilar (2008) también evaluaron la efectividad del sustrato de polvillo de coco combinado con perlita y vermiculita (70:20:10) en seis especies comerciales, y concluyeron que la germinación fue favorable en comparación con los sustratos combinados con *peat moss*. Es probable que el polvillo de coco haya aumentado el porcentaje germinativo en las semillas de *O. pyramidale*, como lo observado en los tratamientos con agua de coco evaluados por Patiño et al. (2011) y Quinto et al. (2009).



**Figure 1. Germination of two varieties of *Ochroma pyramidale* under seven treatments. The standard deviation of the mean is represented above the bars. Treatments by variety that do not share the same letter are statistically different according to Tukey's test. ( $P = 0.05$ ).**

**Figura 1. Germinación de dos variedades de *Ochroma pyramidale* bajo siete tratamientos. Sobre las barras se representa la desviación estándar de la media. Los tratamientos por variedad que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P = 0.05$ ).**

The boiling treatments had similar germination percentages (Figure 1) with the exception of the Boiling<sub>10s</sub> and Boiling<sub>10s</sub> + Soaking<sub>24h</sub> treatments for *O. pyramidale* var. *bicolor*. At a physiological level, it is possible that the seed coat will have greater permeability as a result of high temperatures (immersion in boiling water), thereby favoring germination. The exposure time of the seeds to the high temperatures (100 °C) and growth phytohormones (cytokinins) present in the coconut water favorably influenced germination capacity. According to the results, the seeds must be subjected to high temperatures to increase the germination percentages, as indicated by Herrera and Alizaga (1999), Jiménez et al. (2017) and Vázquez-Yañes (1974, 1975). With respect to coconut water, the soaking of the seeds should be done after immersion in boiling water; in case of only applying the soaking, the seeds will not absorb the cytokinins effectively, due to the impermeability of the *Ochroma* seed coat. This is corroborated in the study by Jiménez et al. (2017), who obtained a low germination percentage (20.51 %) when they soaked the seeds in coconut water for 12 hours. By contrast, Quinto et al. (2009) evaluated three coconut water-based pre-germination treatments in non-dormant seeds using three stages of fruit maturity (young, mature and dry). The treatments favored the germination of *Swietenia macrophylla* King, *Cedrela odorata* L. and *Tabebuia rosea* (Bentol) DC, obtaining a higher percentage with coconut water from young fruit (40.3, 30.7 and 31.7 %, respectively), despite the fact that the seeds had a viability of 94, 96 and 99 %, respectively. According to Quinto et al. (2009), the amount of nutrients and the specific composition of the coconut will depend on the maturity of the fruit; the lower the maturity, the higher the concentration of nutrients, as well as phytohormones, including cytokinins.

Figures 2 and 3 show the germinative performance of each of the varieties over 56 days; in *O. pyramidale*, germination is logarithmic, and in *O. pyramidale* var. *bicolor* it is exponential.

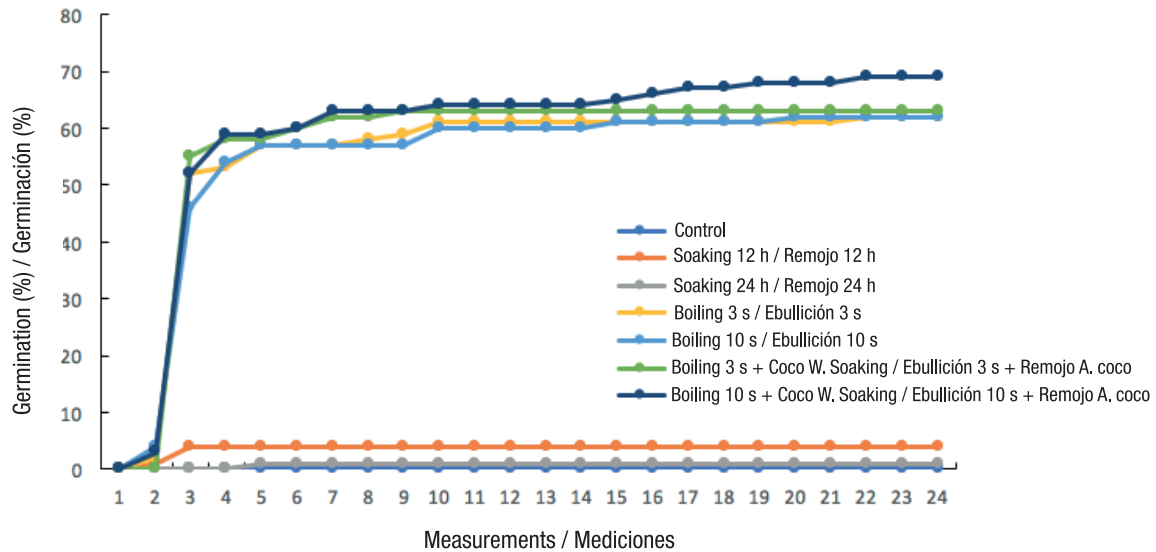
In the *Ochroma pyramidale* typical variety, the boiling treatments produced the highest germination values (Figures 1 and 2), being statistically similar ( $P > 0.05$ ). However, there was an increase in the germination percentage (7 %) of the Boiling<sub>10s</sub> + Soaking<sub>24h</sub> treatment (69 %) with respect to the treatment of the same temperature exposure time but which did not have soaking in coconut water (Boiling<sub>10s</sub> = 62 %). Regarding *Ochroma pyramidale* var. *bicolor*, apparently, the seeds can germinate without application of germination treatments (Figures 1 and 3); however, the highest germination values were obtained by Boiling<sub>3s</sub> ( $64 \pm 14.6$  %;  $F_{1,13} = 35.44$ ,  $P < 0.001$ ). It is important to mention that *O. pyramidale* var. *bicolor* seeds were susceptible to the boiling (100 °C) water immersion time since there were differences in germination, being statistically

En ambas variedades, los tratamientos Remojo<sub>12h</sub> y Remojo<sub>24h</sub> generaron bajos porcentajes germinativos (Figura 1). Estos resultados son similares a los obtenidos por Rodríguez-Sosa et al. (2012), quienes evaluaron nueve tratamientos pregerminativos de inmersión en agua a diferentes intervalos (3 a 27 h) en semillas de *Colubrina ferruginosa* Brong. Estos investigadores obtuvieron que, después de 12 h, los tratamientos presentaban porcentaje de germinación similar que el testigo (39.7 %), reduciéndose según se prolongaba la inmersión (15 h = 38.5 % y 27 h = 22 %).

Los tratamientos de ebullición presentaron porcentajes germinativos similares (Figura 1) con excepción de los tratamientos Ebullición<sub>10s</sub> y Ebullición<sub>10s</sub> + Remojo<sub>24h</sub> para *O. pyramidale* var. *bicolor*. A nivel fisiológico, es posible que, el episperma de la semilla presentara mayor permeabilidad a consecuencia de las temperaturas altas (inmersión en agua en ebullición), favoreciendo la germinación. El tiempo de exposición de las semillas a las altas temperaturas (100 °C) y las fitohormonas (citocininas) de crecimiento presentes en el agua de coco influyeron favorablemente en la capacidad germinativa. De acuerdo con los resultados, las semillas deben ser sometidas a altas temperaturas para incrementar los porcentajes germinativos, tal como lo señalan Herrera y Alizaga (1999), Jiménez et al. (2017) y Vázquez-Yañes (1974, 1975). Con respecto al agua de coco, el remojo de las semillas debe hacerse después de la inmersión en agua en ebullición; en caso de solo aplicar el remojo, las semillas no absorberán las citocininas de manera eficaz, debido a la impermeabilidad de la testa de *Ochroma*. Lo anterior puede corroborarse en el estudio de Jiménez et al. (2017), quienes obtuvieron un bajo porcentaje germinativo (20.51 %) cuando remojaron las semillas en agua de coco durante 12 horas. En contraste, Quinto et al. (2009) evaluaron tres tratamientos pregerminativos a base de agua de coco, en semillas sin latencia, utilizando tres estados de madurez del fruto (tierno, socato y seco). Los tratamientos favorecieron la germinación de *Swietenia macrophylla* King, *Cedrela odorata* L. y *Tabebuia rosea* (Bentol) DC, obteniendo mayor porcentaje con el agua de coco tierno (40.3, 30.7 y 31.7 %, respectivamente), a pesar de que las semillas tenían una viabilidad de 94, 96 y 99 %, respectivamente. De acuerdo con Quinto et al. (2009), la cantidad de nutrientes y la composición específica del coco dependerá de la madurez del fruto; a menor madurez, mayor concentración de nutrientes, así como de fitohormonas, entre ellas las citocininas.

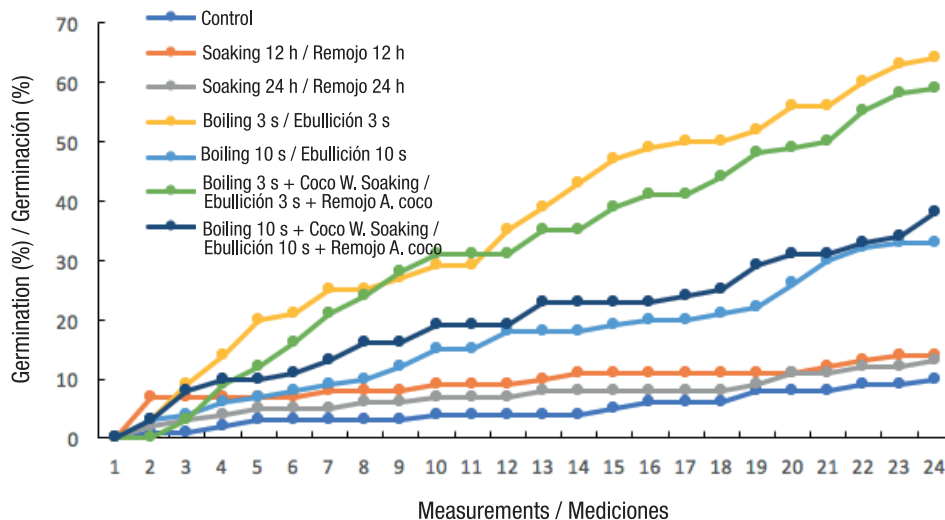
En las Figuras 2 y 3 se puede observar el desempeño germinativo de cada una de las variedades, a través de los 56 días; en *O. pyramidale*, la germinación es logarítmica, y en *O. pyramidale* var. *bicolor* es exponencial.

En *Ochroma pyramidale* variedad típica, los tratamientos de ebullición produjeron los valores más altos de



**Figure 2. Germination of *Ochroma pyramidale* typical variety under seven pre-germination treatments. Twenty-four measurements were made during the 56 days of evaluation.**

**Figura 2. Germinación de *Ochroma pyramidale* variedad típica bajo siete tratamientos pregerminativos. Durante los 56 días de evaluación se realizaron 24 mediciones.**



**Figure 3. Germination of *Ochroma pyramidale* var. *bicolor* under seven pre-germination treatments. Twenty-four measurements were made during the 56 days of evaluation.**

**Figura 3. Germinación de *Ochroma pyramidale* var. *bicolor* bajo siete tratamientos pregerminativos. Durante los 56 días de evaluación se realizaron 24 mediciones.**

higher ( $P = 0.05$ ) at 3 s ( $\text{Boiling}_{3s} = 64\%$  and  $\text{Boiling}_{3s} + \text{Soaking}_{24h} = 59\%$ ) than at 10 s ( $\text{Boiling}_{10s} = 33\%$  and  $\text{Boiling}_{10s} + \text{Soaking}_{24h} = 38\%$ ). In addition, as in the typical variety, germination increased 5 % with the  $\text{Boiling}_{10s} + \text{Soaking}_{24h}$  treatment, compared to the treatment with the same temperature exposure time but not soaked in coconut water ( $\text{Boiling}_{10s}$ ).

## Conclusions

This study allows knowing the best management of *Ochroma pyramidale* seeds at low cost. Although the genus

germination (Figuras 1 y 2), siendo estadísticamente similares ( $P > 0.05$ ). No obstante, hubo un incremento en el porcentaje germinativo (7 %) del tratamiento  $\text{Ebullición}_{10s} + \text{Remojo}_{24h}$  (69 %) con respecto al tratamiento del mismo tiempo de exposición de temperatura pero que no tuvo remojo en agua de coco ( $\text{Ebullición}_{10s} = 62\%$ ). En cuanto a *Ochroma pyramidale* var. *bicolor*, aparentemente, las semillas pueden germinar sin aplicación de tratamientos germinativos (Figuras 1 y 3); sin embargo, los valores más altos de germinación corresponden a  $\text{Ebullición}_{3s}$  ( $64 \pm 14.6\%$ ;  $F_{1,13} = 35.44$ ,  $P < 0.001$ ). Es importante mencionar que las semillas de



has only one species and all those previously identified above are synonymous, the germination percentages of the two varieties evaluated were different. These differences are associated with the type of treatment and germinative performance over time (logarithmic and exponential). The highest germination percentage, for both varieties, was obtained with water immersion treatments (100 °C) under different exposure times; *O. pyramidale* var. *bicolor* had higher germination with 3 s immersion. Coconut water did not produce the expected germination (higher percentage in both varieties and statistical differentiation with respect to treatments without coconut water); for this reason, it is suggested that synthetic cytokinins be used in future experiments to control the phytohormone dose and thus verify its effect on germination.

### Acknowledgments

We would like to thank the following: CONACyT for the scholarship granted to the first author to carry out the study; Emerit Meléndez López and his colleagues at the Seed Bank Department located in the “Dr. Faustino Miranda” Botanical Garden operated by the Ministry of the Environment and Natural History (SEMAHN) for allowing us to carry out the experiment in their facilities; Jorge Castellanos Albores for his collaboration in the statistical analyses; the peasants of Lacanha Chansayab, located in Lacandon Jungle, for allowing us to collect the fruits in their properties; Moises Ismael Toledo González and Antonio Sánchez González for their support in the field; and Rodolfo Cabrera Hernández for his suggestions concerning the writing of this paper. Finally, we thank the reviewers for their help in improving the final version of the manuscript.

### End of English version

### References / Referencias

- Ayala-Sierra, A., & Valdez-Aguilar, A. (2008). El polvo de coco como sustrato alternativo para la obtención de plantas ornamentales para trasplante. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(2), 161–167. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v14n2/v14n2a9.pdf>
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74–85. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr11110.pdf>
- Fang, Y., Enhe, Z., Qinli, W., & Zhuhong, M. (2016). Germination and dormancy-breaking of *Daphne giraldii* Nitsche (Thymelaeaceae) seeds from northwestern China. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 22(1), 99–113. doi: 10.5154/r.rchscfa.2015.04.015
- Galán-Larrea, R., Vargas-Hernández, J., & Rodríguez-Laguna, R. (2000). Tratamientos para estimular y

*O. pyramidale* var. *bicolor* fueron susceptibles al tiempo de inmersión de agua en ebullición (100 °C), ya que hubo diferencias en la germinación, siendo estadísticamente mayor ( $P=0.05$ ) a los 3 s (Ebullición<sub>3s</sub> = 64 % y Ebullición<sub>3s</sub> + Remojo<sub>24h</sub> = 59 %) que a los 10 s (Ebullición<sub>10s</sub> = 33 % y Ebullición<sub>10s</sub> + Remojo<sub>24h</sub> = 38 %). Además, al igual que en la variedad típica, la germinación incrementó 5 % con el tratamiento Ebullición<sub>10s</sub> + Remojo<sub>24h</sub>, respecto al tratamiento con el mismo tiempo de exposición a la temperatura pero que no tuvo remojo en agua de coco (Ebullición<sub>10s</sub>).

### Conclusiones

Este estudio permite conocer el mejor manejo de las semillas de *Ochroma pyramidale* a bajo costo. Aunque el género solo tiene una especie y todas las identificadas anteriormente son sinonimias, los porcentajes de germinación entre las dos variedades evaluadas si fueron diferentes. Dichas diferencias están asociadas con el tipo de tratamiento y el desempeño germinativo en el tiempo (logarítmica y exponencial). El mayor porcentaje de germinación, para ambas variedades, se obtuvo con los tratamientos de inmersión en agua (100 °C), bajo distintos tiempos de exposición; *O. pyramidale* var. *bicolor* tuvo mayor germinación con la inmersión de 3 s. El agua de coco no produjo la germinación esperada (mayor porcentaje en ambas variedades y diferenciación estadística con respecto a los tratamientos sin agua de coco); por tal razón, se sugiere que en los próximos experimentos se utilicen citocininas sintéticas, para controlar la dosis de la fitohormona y así constatar su efecto en la germinación.

### Agradecimientos

A CONACyT por la beca otorgada al primer autor para la realización del estudio. Al Biol. Emerit Meléndez López y colaboradores del Departamento de Banco de Semilla ubicado en el Jardín Botánico “Dr. Faustino Miranda” de la Secretaría de Medio Ambiente e Historia Natural (SEMAHN) por permitirnos realizar el experimento en sus instalaciones. Al Dr. Jorge Castellanos Albores por su colaboración en los análisis estadísticos. A los campesinos de la localidad Lacanha Chansayab, ubicada en la Selva Lacandona, por permitirnos recolectar los frutos en su terreno. Al Lic. Moises Ismael Toledo González e Ing. Antonio Sánchez González por el apoyo en campo. Al M. Sc. Rodolfo Cabrera Hernández por las sugerencias al escrito. Finalmente, agradecemos a los revisores, por sus aportes para mejorar la versión final del manuscrito.

### Fin de la versión en español

- homogeneizar la germinación en semillas de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 6(1), 21–28. Retrieved from [https://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?seccion=numero&id\\_revista\\_numero=21](https://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?seccion=numero&id_revista_numero=21)
- González-Osorio, B., Cervantes, X. M., Torres, E. N., Sánchez, C. F., & Simba, L. (2010). Caracterización del cultivo de balsa (*Ochroma pyramidale*) en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 3(2), 7–11. Retrieved from [http://uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C1\\_2n22010.pdf](http://uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C1_2n22010.pdf)
- Herrera, Q. J., & Alizaga, L. R. (1999). Ruptura de la latencia en semillas de balsa (*Ochroma pyramidale*). *Tecnología en Marcha*, 13(2), 34–40.
- IBM SPSS Statistics (2009). Software estadístico IBM SPSS Statistics versión 15.0. USA: Author.
- Jiménez, R. E., Garcías, F. L., Carranza, P. M., Carranza, P. H. M., Morante, C. J., Martínez, C. M., & Cuásquer, F. J. (2017). Germinación y crecimiento de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. en Ecuador. *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 243–250. doi: 10.17268/sci.agropecu.2017.03.07
- Mendoza, E., & Dirzo, R. (1999). Deforestation in Lacandonia (southeast Mexico): evidence for the declaration of the northernmost tropical hot-spot. *Biodiversity and Conservation*, 8(12), 1621–1641. doi: 10.1023/A:1008916304504
- Patiño, T. C., Mosquera, G. F., & Tulio, G. R. (2011). Efecto inductor del agua de coco sobre la germinación de semillas y brotamiento de los cormos de la hierba de la equis *Dracontium grayumianum* G. Zhu & Croat. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 133–142. Retrieved from <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/12943/28143>
- Pennington, T. D., & Sarukhán, J. (2005). Árboles tropicales de México. *Manual para la identificación de las principales especies* (3.ª ed.). México: UNAM – Fondo de Cultura Económica.
- Quinto, L., Martínez-Hernández, P. A., Pimentel-Bribiesca, L., & Rodríguez-Trejo, D. A. (2009). Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(1), 23–28. Retrieved from [https://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?seccion=numero&id\\_revista\\_numero=39](https://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?seccion=numero&id_revista_numero=39)
- Ríos-García, C. A., Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R. A., & Farrera-Sarmiento, O. (2016). Viabilidad y germinación de semillas de Jopi (*Ochroma pyramidale*) (Cav. ex Lam.) Urb. (Malvaceae). *Lacandonia*, 10(2), 7–11. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/313746805\\_Viabilidad\\_y\\_germinacion\\_de\\_semillas\\_de\\_Jopi\\_Ochroma\\_pyramidale\\_Cav\\_ex\\_Lam\\_Urb\\_Malvaceae](https://www.researchgate.net/publication/313746805_Viabilidad_y_germinacion_de_semillas_de_Jopi_Ochroma_pyramidale_Cav_ex_Lam_Urb_Malvaceae)
- Ríos-García, C. A., Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R. A., & Farrera-Sarmiento, O. (2018). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(13), 103–109. doi: 10.19136/era.a5n13.1161
- Rodríguez-Sosa, J. L., Valdés-Roblejo, Y., & Rodríguez-Lías, R. (2012). Seed treatments to improve the germination of *Colubrina ferruginosa* Brong. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18(1), 27–31. doi: 10.5154/r.rchscfa.2010.01.001
- Rojas-Rodríguez, F., & Torres-Córdoba, G. (2009). Árboles del valle central de Costa Rica: reproducción balsa. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 6(17), 64–66. Retrieved from <http://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/391/324>
- Romero-Saritamá, J. M. (2016). Caracterización morfofisiológica de semillas de especies leñosas distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur de Ecuador. *Ecosistemas*, 25(2), 93–100. doi: 10.7818/ECOS.2016.25.2.12
- Sandi, C., & Flores, E. M. (2010). *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. In J. A. Vozzo (Ed.), *Manual de semillas de árboles tropicales* (pp. 571–573). Estados Unidos: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos Servicio Forestal.
- Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP). (2000). Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Montes Azules. Retrieved from [http://centro.paot.org.mx/documentos/ine/progbio\\_montes\\_azules.pdf](http://centro.paot.org.mx/documentos/ine/progbio_montes_azules.pdf)
- Vázquez-Yañes, C. (1974). Studies on the germination of seeds of *Ochroma lagopus* Swartz. *Turrialba*, 24(2), 176–179. Retrieved from <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A0773e/A0773e02.html>
- Vázquez-Yañes, C. (1975). The use of a thermogradient bar in the study of seed germination in *Ochroma lagopus* Sw. *Turrialba*, 25(3), 328–330. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/>
- Vázquez-Yañes, C. (1976). Notas sobre la morfología y la anatomía de la testa de las semillas de *Ochroma lagopus* Sw. *Turrialba*, 26(3), 310–311. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/>
- Vázquez, Y. C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M. E., & Cervantes, V. (1997). *La reproducción de las plantas: semillas y meristemas*. México: México: Fondo de Cultura Económica. Retrieved October 18, 2018, from <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>