

## Efecto de la madurez del fruto, peso de la semilla y tiempo de almacenamiento en la viabilidad y germinación de la semilla de candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.)

Effect of fruit maturity, seed weight and storage time on the viability and germination of the seed of candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.)

Alvarado-Vázquez MA, R Foroughbakhch, MA Guzmán- Lucio, A Rocha-Estrada, JL Hernández-Piñero, ML Cárdenas-Ávila, BM Soto-García

**Resumen.** La candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.) es un recurso vegetal muy importante en las zonas áridas del norte de México; sus tallos están recubiertos de una cera con propiedades únicas, que es aprovechada para múltiples usos en las industrias de alimentos, cosméticos, electrónica, etc. Sin embargo, la explotación intensiva de este recurso ha provocado una gran disminución en las poblaciones de candelilla, por lo que es necesario plantear estrategias para su conservación y aprovechamiento sustentable. Una de las necesidades prioritarias para su regeneración es conocer su proceso reproductivo y en particular los factores bióticos y/o abióticos que determinan la viabilidad y germinación de sus semillas. En el presente estudio se evaluaron la germinación y viabilidad de la semilla en relación con el estado de madurez del fruto al momento de la colecta; el peso de la semilla (bajo, medio y alto), y el tiempo de almacenamiento de las mismas (1, 3 y 5 meses). Se colectaron frutos de cuatro localidades, dos en el estado de Coahuila (Las Coloradas y Candela) y dos en el estado de Nuevo León (Icamole 1 e Icamole 2). Se realizaron tres ensayos de germinación correspondientes a los meses de almacenamiento; la viabilidad se determinó mediante la prueba de tetrazolio. El peso promedio de las semillas de candelilla fue de  $0,0029 \pm 0,0010$  g, con valores promedio extremos de  $0,0018 \pm 0,0006$  g en Las Coloradas y  $0,0036 \pm 0,0010$  g en Icamole 2. Las semillas de peso alto obtenidas de frutos rojos y con 1 mes de almacenamiento presentaron el mayor porcentaje promedio de viabilidad ( $66,87 \pm 24,19\%$ ), en tanto que las semillas de peso promedio, obtenidas de frutos rojos y con 5 meses de almacenamiento presentaron el mayor valor promedio de germinación ( $50,00 \pm 9,42\%$ ).

**Palabras clave:** Semillas; Candelilla; Germinación; Viabilidad; Noreste de México.

**Abstract.** Candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.) is a very important plant resource in the arid lands of Northern Mexico. This is because the wax content coating the stem has unique properties which have been useful for multiple applications in the food industry, electronics, cosmetics, etc. However, the intensive exploitation of this resource has caused a great decrease in the populations of this species making necessary to consider strategies for their conservation and sustainable use. One of the primary needs with regeneration purposes is to know their reproductive processes, particularly the biotic and/or abiotic factors that determine the viability and germination of seeds. The present study evaluated the (1) germination and seed viability in relation to the ripeness degree of the fruit at the time of collection, (2) weight of the seed (low, medium and high), and (3) storage time (1, 3, and 5 months). Fruits from four locations, two in the State of Coahuila (Las Coloradas and Candela) and two in the State of Nuevo Leon (Icamole 1 and Icamole 2), were collected. Three germination assays were carried out corresponding to each month of storage. Seed viability was determined by the tetrazolium test. The average weight of the candelilla seeds was  $0.0029 \pm 0.0010$  g, with extreme average values of  $0.0018 \pm 0.0006$  g at Las Coloradas and  $0.0036 \pm 0.0010$  g in Icamole 2. Those seeds with heavier weight obtained from red fruits and with 1 month of storage showed the highest average percentage of viability ( $66.87 \pm 24.19\%$ ). At the same time, seeds with around average weight, obtained from red fruits and five months of storage, showed the highest average germination percentage ( $50.00 \pm 9.42\%$ ).

**Keywords:** Candelilla; Seeds; Germination; Viability; Northeastern Mexico.

## INTRODUCCIÓN

La actividad humana en aras del desarrollo económico y social generalmente trae consigo un deterioro a los ecosistemas (por ejemplo, por deforestación, transformación del paisaje, explotación de recursos naturales, obras hidráulicas, agricultura y ganadería). Como resultado, la restauración ecológica ha cobrado una gran importancia desde hace algunas décadas; en esta actividad, es fundamental considerar las especies nativas. Esto es debido a que las mismas están adaptadas a las condiciones locales, y su uso hace mucho más probable alcanzar los resultados deseados en la restauración. Además, estas especies cumplen funciones vitales en el ecosistema y contribuyen a mantener su equilibrio a través de relaciones bióticas y abióticas que con frecuencia desconocemos.

El uso de especies nativas en actividades de reforestación y/o restauración, sin embargo, frecuentemente presenta el inconveniente de que se conoce muy poco de la biología de las mismas, particularmente en relación a aspectos de biología reproductiva, provocando el fracaso de muchos proyectos de este tipo (Godínez-Álvarez y Flores-Martínez, 1999).

En este sentido es fundamental el conocimiento detallado acerca de los mecanismos o factores que determinan la viabilidad, y facilitan o inhiben la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas. Esto es especialmente muy importante en el caso de las especies nativas porque se sabe que con frecuencia su germinación está finamente sincronizada con factores bióticos y abióticos locales (García y Jurado, 2003; Jurado et al., 2006; Pérez-Sánchez et al., 2011).

La candelilla *Euphorbia antisiphylitica* (Zucc.) es una especie vegetal característica del paisaje árido del norte de México. Ésta es una hierba o arbusto pequeño con múltiples tallos largos y delgados y sin hojas. Las plantas de esta especie secretan una cera de protección que se deposita en gruesas capas sobre la superficie de los tallos y les da su color verde grisáceo característico en condiciones de estrés por falta de agua y altas temperaturas.

Esta cera es utilizada comercialmente en la industria de cosméticos, ceras para calzado, circuitos electrónicos, medicamentos, pinturas, recubrimiento de frutas, aislantes, goma de mascar, jabones, ungüentos, velas, envases desechables, cableado de computadoras, fabricación de papel térmico y modelos dentales, entre otras aplicaciones (Tejeda et al., 2000; Hagenmaier, 2000; Cervantes, 2002; Ascacio-Valdés et al., 2010).

Por el aprovechamiento de su cera, la candelilla constituye un recurso vegetal muy importante para las comunidades rurales del norte de México, donde cientos de familias dependen de esta especie para su subsistencia (Canales et al., 2006, Martínez-Ballesté y Mandujano, 2013). Sin embargo, la explotación intensiva durante décadas ha causado una notable disminución de las poblaciones silvestres de este recurso vegetal (Barsch, 2004; Villa-Castorena et al., 2010). Esto se debe especialmente a que los colectores arrancan frecuen-

temente las plantas completas (Arato et al., 2014), evitando con ello la regeneración de la misma, por lo que es necesario plantear estrategias para su conservación y aprovechamiento sustentable. Al respecto, se han realizado algunos esfuerzos por parte de dependencias gubernamentales con el fin de recuperar poblaciones de candelilla mediante diversas técnicas de propagación vegetativa, pero no se ha alcanzado el éxito deseado. En cuanto a la reproducción sexual, los estudios realizados son escasos y muestran resultados muy heterogéneos y poco concluyentes (Flores-López, 1995; Hernández-Aguilar, 2008; Flores del Angel et al., 2013).

De ahí que una de las necesidades prioritarias para la recuperación de sus poblaciones es conocer más acerca de su reproducción, y en particular los factores bióticos y/o abióticos que determinan la viabilidad y germinación de sus semillas. En el presente trabajo se puso a prueba la hipótesis de que el (1) estado de madurez del fruto, (2) peso de la semilla y (3) tiempo de almacenamiento afectan la viabilidad y capacidad germinativa de las semillas de candelilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Colecta de frutos.** La colecta de frutos se llevó a cabo en localidades que corresponden al área candelillera del noreste de México. Las localidades muestreadas fueron: (1) Las Coloradas (Ramos Arizpe, Coahuila), (2) Candela (Candela, Coahuila), (3) Icamole 1, y (4) Icamole 2 (García, Nuevo León).

**Clasificación de los frutos de acuerdo a su coloración y obtención de las semillas.** Se utilizó el color del fruto como indicador del estado de madurez del mismo. Los frutos colectados fueron separados por su color en tres grupos: verde, verde-rojo y rojo, donde los colores verde y rojo representan las etapas de menor y mayor madurez, respectivamente. Posteriormente, los mismos fueron (1) colocados en recipientes de plástico, con una cubierta tipo tul y una base absorbente de humedad (papel secante), y (2) puestos al sol para su secado y liberación de las semillas.

**Clasificación de semillas por peso.** Las semillas de los tres grupos de frutos, resultado de la separación por color descrito anteriormente, fueron clasificadas por su peso en tres categorías: a) semillas de peso bajo, b) semillas de peso promedio, y c) semillas de peso alto. Para esto, se determinaron (1) el peso promedio y la desviación estándar de las semillas de cada localidad y estado de madurez del fruto (Tabla 1), y (2) el intervalo de confianza (50%) para las semillas de peso promedio: las semillas con peso inferior y superior a este intervalo se consideraron como de peso bajo y alto, respectivamente. Una vez clasificadas las semillas, se almacenaron en recipientes herméticamente cerrados en un lugar fresco y seco para su posterior utilización en las pruebas de viabilidad y ensayos de germinación.

**Tabla 1.** Peso promedio de la semilla ( $g \pm$  desviación estándar) correspondiente a las localidades y el estado de madurez del fruto al momento de la colecta (color del fruto).

**Table 1.** Mean seed weight ( $g \pm$  standard deviation) for the different study locations and stage of fruit maturity at harvest time (fruit color).

Localidad	Madurez del Fruto			
	Verde	Verde-Rojo	Rojo	Media
Las Coloradas	0,0019 $\pm$ 0,0007	0,0018 $\pm$ 0,0006	0,0015 $\pm$ 0,0004	0,0018 $\pm$ 0,0006 A
Candela	0,003 $\pm$ 0,0009	0,0032 $\pm$ 0,0008	0,0033 $\pm$ 0,0009	0,0032 $\pm$ 0,0009 B
Icamole 1	0,0026 $\pm$ 0,0008	0,0027 $\pm$ 0,0006	0,0031 $\pm$ 0,0008	0,0028 $\pm$ 0,0007 C
Icamole 2	0,0031 $\pm$ 0,0008	0,0040 $\pm$ 0,0009	0,0038 $\pm$ 0,0010	0,0036 $\pm$ 0,0010 D
<b>Total</b>	<b>0,0027 <math>\pm</math> 0,0009</b>	<b>0,0030 <math>\pm</math> 0,0010</b>	<b>0,0030 <math>\pm</math> 0,0011</b>	<b>0,0029 <math>\pm</math> 0,0010</b>
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	

Letras diferentes en línea horizontal indican diferencias significativas entre los colores del fruto ( $p \leq 0,05$ ). Literales diferentes en vertical indican diferencias altamente significativas entre las localidades ( $p \leq 0,01$ ). La comparación de promedios se hizo utilizando la prueba de Tukey. Different letters on horizontal lines indicate significant differences among fruit colours ( $p \leq 0,05$ ). Different bold letters in vertical lines indicate highly significant differences among localities ( $p \leq 0,01$ ). Mean comparisons were made using the Tukey's test.

**Viabilidad de las semillas.** La viabilidad se determinó mediante la prueba de tetrazolio (ISTA, 1985), la cual distingue entre los tejidos viables y muertos del embrión en base a velocidades relativas de respiración, cuando las semillas están hidratadas. Busso et al. (2015) han informado recientemente un método que permite una mejor clasificación del estado fisiológico del embrión de la semilla. Sin embargo, dicho método fue informado posteriormente a la realización de este estudio.

Se realizaron tres ensayos correspondientes a los meses 1, 3 y 5 a partir de la fecha de colecta de los frutos. De esta manera se evaluó la viabilidad de las semillas en los tres periodos de almacenamiento con tres categorías de peso de las semillas y provenientes de frutos con diferente grado de maduración (coloración del fruto). Se utilizaron tres repeticiones de 30 semillas tomadas al azar para cada grupo (color) de semillas, las cuales primeramente se hidrataron con agua destilada durante 12 h y enseguida se les realizó un corte transversal en la testa para exponer al embrión. Después de esto, las semillas de cada repetición se colocaron en tubos de ensayo de 13 x 100 mm y se les agregó 2 mL de cloruro de tetrazolio (2, 3,5-Triphenyltetrazolium chloride, SIGMA-ALDRICH™) a una concentración de 0,5%, durante 48 horas a 24 °C. La interpretación de la prueba se basó en el patrón topográfico del método de tetrazolio para la candelilla (Flores-López, 1995). El porcentaje de viabilidad se determinó mediante la aplicación de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ viabilidad} = \frac{\text{Número de semillas coloreadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$$

**Germinación de las semillas.** Se realizaron ensayos de germinación tomando en cuenta los factores de color del fruto al momento de la colecta, peso de la semilla y tiempo de almacenamiento. Se realizaron tres ensayos para cada uno de los tiempos de almacenamiento. En cada uno de estos ensayos se utilizaron las nueve categorías, producto de la combinación

de las tres etapas de madurez del fruto y las tres categorías de peso de las semillas. Es importante mencionar que debido a limitaciones en la disponibilidad de frutos en las diferentes etapas de madurez del fruto al momento de la colecta, no se contó con frutos rojos de Las Coloradas. En Icamole 1 e Icamole 2, el número de frutos colectados de color verde-rojizos y rojos fue limitado por lo que los ensayos con estas semillas se hicieron solo en uno o dos de los 3 tiempos de almacenamiento. Para los ensayos cada unidad experimental (caja de Petri) constó de 20 semillas y se realizaron 5 repeticiones.

Previo a los ensayos de germinación, las semillas fueron expuestas a un tratamiento pregerminativo de escarificación mecánica, establecido específicamente para semillas de candelilla (Hernández-Aguilar, 2008). Las semillas se colocaron sobre una hoja de papel lija de grano fino (No. 100), y fueron frotadas uniformemente (movimiento alternado de arriba hacia abajo y de un lado a otro) con otra hoja de papel lija durante 3 minutos. Posteriormente se desinfectaron las semillas con Hipoclorito de sodio al 20% durante 5 minutos y después se lavaron dos veces por 3 minutos con agua destilada. Finalmente, se depositaron 20 semillas en cada una de las cajas de Petri con papel filtro estéril. El papel filtro se humedeció con agua destilada estéril y las cajas de Petri fueron llevadas a una cámara germinadora BIOTRONETT MARK-III, a una temperatura de 28 °C con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 h de oscuridad.

Se llevó a cabo un registro de la germinación durante 20 días, evaluándose el número de semillas germinadas por día. El porcentaje de germinación total se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$PG = (\text{No. de semillas germinadas en el periodo}) / (\text{No. de semillas sembradas}) \times 100$$

**Análisis estadístico de los datos.** Los resultados de viabilidad y germinación fueron analizados mediante pruebas de ANOVA, y comparación de medias por la prueba de Tukey,

utilizando el software SPSS 15.0. Los datos porcentuales de viabilidad y germinación, previo a su análisis, fueron sometidos a una transformación arcoseno (Zar, 1998). En Tablas y Figuras se informan los datos sin transformar.

## RESULTADOS

**Peso de las semillas.** El peso promedio general de la semilla de candelilla fue de  $0,0029 \pm 0,0010$  g, siendo Icamole 2 la localidad que presentó el mayor peso ( $0,0036 \pm 0,00010$  g), y Las Coloradas la que presentó el menor valor ( $0,0018 \pm 0,0006$  g). Estas diferencias entre localidades fueron altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ), y de acuerdo a la prueba de Tukey no hubo similitud entre ningún par de ellas (Tabla 1).

Las semillas de frutos de color verde presentaron el menor ( $p \leq 0,05$ ) peso promedio ( $0,0027 \pm 0,0009$  g), en tanto que aquellas provenientes de frutos verde-rojos y rojos mostraron un peso promedio similar ( $p > 0,05$ ;  $0,0030$  g) (Tabla 1).

### Viabilidad de la semilla

**Viabilidad y peso de la semilla.** Los resultados obtenidos del análisis de varianza mostraron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) respecto a la viabilidad entre las categorías de peso de las semillas. En la Tabla 2 se muestran los valores promedio para la viabilidad de acuerdo al peso, observándose una relación directamente proporcional entre el peso de la semilla y la viabilidad, es decir, a mayor peso mayor viabilidad. La prueba de Tukey reflejó estas diferencias colocando a cada categoría de peso en grupos diferentes.

**Viabilidad y maduración del fruto.** Los resultados de viabilidad de acuerdo al estado de maduración del fruto se presentan en la Tabla 2, donde se muestra que las semillas obtenidas de frutos de color verde-rojo presentaron el menor porcentaje de viabilidad (38,68%), mientras que los frutos rojos obtuvieron el valor más alto (49,81%). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

**Viabilidad y tiempo de almacenamiento.** La viabilidad en relación al tiempo de almacenamiento de las semillas mostró que existieron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre los tiempos de almacenamiento, y ninguno de ellos fue similar a otro. Las semillas con cinco meses de almacenamiento presentaron la mayor viabilidad promedio con 49,36%, en tanto que las semillas con tres meses de almacenamiento mostraron un valor promedio de 41,97% (Tabla 2).

**Viabilidad y localidad de colecta.** Se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre las cuatro localidades estudiadas respecto a la viabilidad promedio de las semillas, siendo Las Coloradas la localidad que presentó el menor porcentaje (28,19%), y el mayor porcentaje se observó en Icamole 1 con 54,60%. De acuerdo a la prueba de Tukey las localidades de Candela e Icamole 2 no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la viabilidad de las semillas (Tabla 2).

**Análisis general de viabilidad.** La Tabla 3 presenta los resultados del análisis general de viabilidad, incluyendo localidades de colecta, color del fruto al momento de la colecta, peso y tiempo de almacenamiento de las semillas. En ella se puede observar que sin tomar en cuenta la localidad de origen (ecotipo), las semillas de peso alto obtenidas de frutos rojos y con 1 mes de almacenamiento tuvieron la mayor viabilidad promedio (66,87%), seguidas por las semillas de peso alto obtenidas de frutos verde-rojos y 5 meses de almacenamiento (65,83%) y por las semillas de peso alto obtenidas de frutos rojos y 5 meses de almacenamiento (65,00%). Las semillas de menor viabilidad fueron las de peso bajo obtenidas de frutos de color verde y 1 mes de almacenamiento (25,00%).

Al considerar las localidades de colecta, encontramos que los mayores valores de viabilidad de semillas se presentaron en el tratamiento de semillas de peso alto obtenidas de frutos rojos y con 1 mes de almacenamiento de la localidad Icamole 2 (84%), seguida por Icamole 1 con semillas de peso alto obtenidas de frutos de color verde y 5 meses de almacenamiento. El tercer

**Tabla 2.** Valores promedio  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de viabilidad en relación al peso de las semillas, madurez del fruto (color), tiempo de almacenamiento de las semillas y localidad de colecta.

**Table 2.** Seed viability (%; mean  $\pm$  standard deviation) in relation to seed weight; fruit maturity (colour); seed storage time and sampling location.

Viabilidad de la semilla (porcentaje $\pm$ desviación estándar)							
Factores evaluados							
	Peso de semillas	Color de fruto	Tiempo de almacenamiento		Localidad de colecta		
Bajo	31,75 $\pm$ 17,50 A	Verde	45,80 $\pm$ 20,22 A	1 Mes	45,24 $\pm$ 22,55 A	Las Coloradas	28,19 $\pm$ 20,74 A
Medio	48,10 $\pm$ 17,12 B	Verde - rojo	38,68 $\pm$ 20,21 B	3 Meses	41,97 $\pm$ 19,78 B	Candela	48,73 $\pm$ 17,91 B
Alto	55,85 $\pm$ 17,91 C	Rojo	49,81 $\pm$ 18,63 C	5 Meses	49,36 $\pm$ 17,30 C	Icamole 1	54,60 $\pm$ 17,78 C
						Icamole 2	48,18 $\pm$ 15,86 D

\* Letras diferentes entre los niveles de los factores indican diferencias estadísticamente significativas entre los mismos de acuerdo a la prueba de Tukey.

\* Different letters among the variable levels indicate statistically significant differences among them after Tukey's test.

**Tabla 3.** Resultados de las pruebas de viabilidad en función de localidades, color del fruto al momento de la colecta, peso de las semillas y tiempo de almacenamiento de las mismas. Valores promedio  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de viabilidad.

**Tabla 3.** Seed viability as a function of locality, fruit color at harvesting time, seed weight and storage time. Values are mean  $\pm$  standard deviation.

Tiempo de almacenamiento de las semillas	Estado de maduración del fruto	Peso de las semillas	Localidad de Colecta				Total
			Las Coloradas	Candela	Icamole 1	Icamole 2	
1 mes	Verde	Bajo	3,00 $\pm$ 2,73	24,00 $\pm$ 12,94	38,00 $\pm$ 11,51	35,00 $\pm$ 14,14	25,00 $\pm$ 17,47
		Medio	30,00 $\pm$ 12,74	71,00 $\pm$ 7,41	60,00 $\pm$ 6,12	44,00 $\pm$ 8,94	51,25 $\pm$ 18,05
		Alto	61,00 $\pm$ 7,41	67,00 $\pm$ 9,74	54,00 $\pm$ 6,51	47,00 $\pm$ 11,51	57,25 $\pm$ 11,29
		<b>Total</b>	<b>31,33 <math>\pm</math> 25,80</b>	<b>54,00 <math>\pm</math> 23,99</b>	<b>50,66 <math>\pm</math> 12,07</b>	<b>42,00 <math>\pm</math> 12,07</b>	<b>44,50 <math>\pm</math> 21,06</b>
	Verde-Rojo	Bajo	5,00 $\pm$ 5,00	40,00 $\pm$ 13,22	*	*	22,50 $\pm$ 21,15
		Medio	26,66 $\pm$ 2,88	78,33 $\pm$ 7,63	*	*	52,50 $\pm$ 28,76
		Alto	65,00 $\pm$ 10,00	66,66 $\pm$ 2,88	*	*	65,83 $\pm$ 6,64
		<b>Total</b>	<b>32,22 <math>\pm</math> 26,93</b>	<b>61,66 <math>\pm</math> 18,70</b>	*	*	<b>46,94 <math>\pm</math> 27,12</b>
	Rojo	Bajo	*	13,33 $\pm$ 2,88	*	40,00 $\pm$ 11,72	30,00 $\pm$ 16,47
		Medio	*	35,00 $\pm$ 8,66	*	44,00 $\pm$ 11,40	40,62 $\pm$ 10,83
		Alto	*	38,33 $\pm$ 2,88	*	84,00 $\pm$ 6,51	66,87 $\pm$ 24,19
		<b>Total</b>	*	<b>28,88 <math>\pm</math> 12,69</b>	*	<b>56,00 <math>\pm</math> 22,61</b>	<b>45,83 <math>\pm</math> 23,39</b>
3 Meses	Verde	Bajo	8,00 $\pm$ 6,70	42,00 $\pm$ 5,70	51,00 $\pm$ 8,94	29,00 $\pm$ 8,21	32,50 $\pm$ 17,95
		Medio	23,00 $\pm$ 5,70	56,00 $\pm$ 10,83	65,00 $\pm$ 7,07	31,00 $\pm$ 8,21	43,75 $\pm$ 19,25
		Alto	25,00 $\pm$ 6,12	66,00 $\pm$ 11,40	76,00 $\pm$ 6,51	33,00 $\pm$ 16,04	50,00 $\pm$ 24,17
		<b>Total</b>	<b>18,66 <math>\pm</math> 9,72</b>	<b>54,66 <math>\pm</math> 13,55</b>	<b>64,00 <math>\pm</math> 12,70</b>	<b>31,00 <math>\pm</math> 10,72</b>	<b>42,08 <math>\pm</math> 21,55</b>
	Verde-Rojo	Bajo	10,00 $\pm$ 0,00	50,00 $\pm$ 10,00	11,66 $\pm$ 2,88	46,66 $\pm$ 5,77	29,58 $\pm$ 20,27
		Medio	23,33 $\pm$ 7,63	46,66 $\pm$ 5,77	33,33 $\pm$ 10,40	53,33 $\pm$ 5,77	39,16 $\pm$ 13,78
		Alto	25,00 $\pm$ 0,00	40,00 $\pm$ 15,00	45,00 $\pm$ 13,22	40,00 $\pm$ 8,66	35,50 $\pm$ 12,15
		<b>Total</b>	<b>19,44 <math>\pm</math> 8,07</b>	<b>45,55 <math>\pm</math> 10,44</b>	<b>30,00 <math>\pm</math> 16,95</b>	<b>46,66 <math>\pm</math> 8,29</b>	<b>35,41 <math>\pm</math> 15,91</b>
	Rojo	Bajo	*	20,00 $\pm$ 10,00	43,33 $\pm$ 15,27	46,00 $\pm$ 9,61	38,18 $\pm$ 15,53
		Medio	*	25,00 $\pm$ 18,02	50,00 $\pm$ 0,00	62,00 $\pm$ 13,03	48,63 $\pm$ 19,75
		Alto	*	43,33 $\pm$ 5,47	70,00 $\pm$ 10,00	64,00 $\pm$ 8,21	60,00 $\pm$ 13,22
		<b>Total</b>	*	<b>29,44 <math>\pm</math> 15,09</b>	<b>54,44 <math>\pm</math> 15,09</b>	<b>57,33 <math>\pm</math> 12,79</b>	<b>48,93 <math>\pm</math> 18,27</b>
5 Meses	Verde	Bajo	11,00 $\pm$ 4,18	41,00 $\pm$ 10,24	48,00 $\pm$ 5,70	46,00 $\pm$ 5,47	36,50 $\pm$ 16,55
		Medio	57,00 $\pm$ 5,70	48,00 $\pm$ 7,58	65,00 $\pm$ 6,12	42,00 $\pm$ 9,74	53,00 $\pm$ 11,28
		Alto	56,00 $\pm$ 1,18	60,00 $\pm$ 9,35	79,00 $\pm$ 4,18	57,00 $\pm$ 5,70	63,00 $\pm$ 11,16
		<b>Total</b>	<b>41,33 <math>\pm</math> 22,63</b>	<b>49,66 <math>\pm</math> 11,72</b>	<b>64,00 <math>\pm</math> 14,04</b>	<b>48,33 <math>\pm</math> 9,38</b>	<b>50,83 <math>\pm</math> 17,05</b>
	Verde-Rojo	Bajo	10,00 $\pm$ 5,00	43,33 $\pm$ 7,63	*	*	26,66 $\pm$ 19,14
Medio	28,33 $\pm$ 7,63	61,66 $\pm$ 2,88	*	*	45,00 $\pm$ 18,97		

	<b>Alto</b>		26,66 ± 12,58	51,66 ± 2,88	*	*	39,16 ± 15,94
	<b>Total</b>		21,66 ± 11,72	52,22 ± 9,05	*	*	36,94 ± 18,71
<b>Rojo</b>	<b>Bajo</b>	*	40,00 ± 10,00	*	43,33 ± 2,73	41,87 ± 5,93	
	<b>Medio</b>	*	60,00 ± 10,00	*	57,00 ± 6,70	58,12 ± 7,52	
	<b>Alto</b>	*	63,33 ± 11,54	*	66,00 ± 8,21	65,00 ± 8,86	
	<b>Total</b>	*	54,44 ± 14,24	*	55,33 ± 11,41	55,00 ± 12,24	
<b>T O T A L</b>			28,19 ± 20,74	48,73 ± 17,91	54,60 ± 17,68	48,18 ± 15,96	45,24 ± 20,15

\* No se contó con cantidad suficiente de semillas para la realización del ensayo.

\* The amount of harvested seeds was not enough for making the study.

**Tabla 4.** Valores promedio ± desviación estándar del porcentaje de germinación en relación al peso de las semillas, madurez del fruto (color), tiempo de almacenamiento de las semillas y localidad de colecta.

**Table 4.** Mean ± standard deviation of germination percentage in relation to seed weight, fruit maturity (colour), seed harvesting time and sampling location.

Germinación de las semillas (porcentaje ± desviación estándar)							
Factores evaluados							
Peso de semillas		Color de fruto		Tiempo de almacenamiento		Localidad de colecta	
Bajo	13,62 ± 16,07 A	Verde	20,69 ± 21,13 A	1 Mes	24,12 ± 20,18 A	Las Coloradas	4,50 ± 7,86 A
Medio	18,74 ± 21,80 B	Verde - rojo	9,37 ± 14,77 B	3 Meses	3,42 ± 4,51 B	Candela	20,96 ± 20,04 BC
Alto	19,40 ± 19,96 B	Rojo	20,38 ± 19,08 A	5 Meses	29,41 ± 20,01 C	Icamole 1	17,53 ± 18,42 B
						Icamole 2	23,23 ± 21,87 C

\* Letras diferentes entre los niveles de los factores indican diferencias estadísticamente significativas entre los mismos de acuerdo a la prueba de Tukey.

\* Different letters among the variable levels indicate statistically significant differences among them after the Tukey's test.

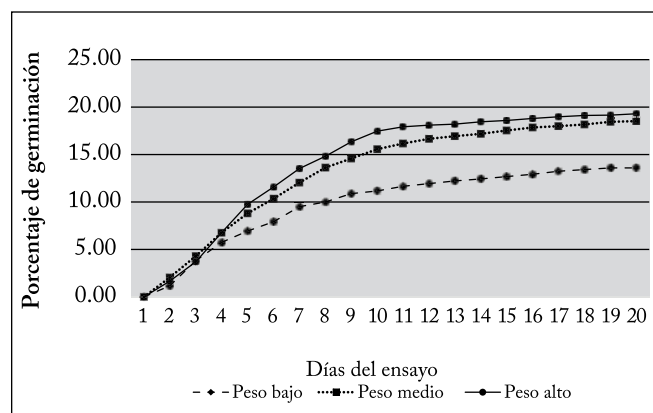
valor más alto se observó en Candela (78,33%) con semillas de peso medio obtenidas de frutos verde-rojizos y con 1 mes de almacenamiento. Los menores valores de viabilidad correspondieron a la localidad de Las Coloradas, particularmente en semillas con 1 mes de almacenamiento, de peso bajo y obtenidas de frutos de color verde (3,00%) y verde-rojo (5,00%).

### Germinación

**Germinación y peso.** El análisis de la germinación en relación al peso de las semillas mostró que las semillas de peso alto mostraron el mayor porcentaje de germinación (19,40%), seguidas por las de peso medio (18,74%). Si bien estos dos grupos no difieren estadísticamente en su porcentaje de germinación (Tabla 4), ambos tuvieron un mayor porcentaje de germinación que las semillas de peso bajo (13,62%).

La Figura 1 muestra la curva de germinación de las semillas de las tres categorías de peso. Aunque los porcentajes de germinación total fueron diferentes entre los tres grupos de peso de las semillas, la forma general de las curvas fue similar. El patrón de germinación presentó una demora inicial de apenas uno a dos días, pero luego se incrementó rápidamente

hasta el día 10 u 11. A partir de esta fecha empezó a disminuir notoriamente el número de semillas germinadas, hasta alcanzar una línea casi asíntota alrededor del día 16.



**Fig. 1.** Porcentaje de germinación promedio acumulado en semillas de candelilla con tres categorías de peso.

**Fig. 1.** Cumulative mean germination percentage of seeds of candelilla as a function of seed weight.

**Germinación y madurez del fruto.** En este aspecto, se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre las semillas provenientes de frutos con diferente estado de maduración (Tabla 4). Las semillas provenientes de frutos de color verde fueron las que presentaron el mayor porcentaje de germinación (20,69%), seguidas de las semillas obtenidas de frutos rojos (20,38%), aunque estadísticamente no hubo diferencia entre ambas categorías de semillas. El grupo de semillas provenientes de frutos verde-rojizos presentó el menor valor (9,37%), y fue significativamente diferente a los otros dos grupos. Lo anterior también se manifestó en la Figura 2, donde se aprecia claramente la similitud en el patrón de germinación de las semillas provenientes de frutos verdes y rojos.

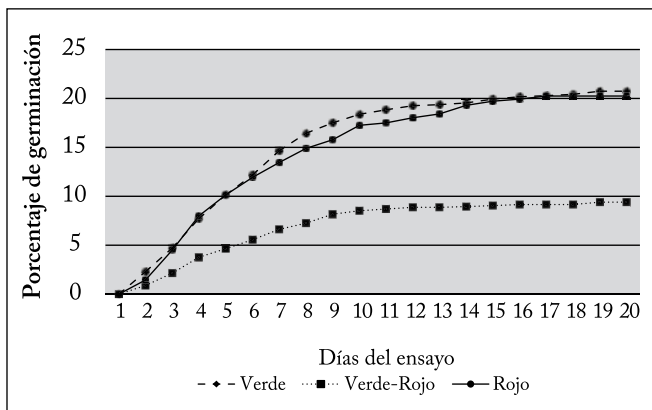


Fig. 2. Porcentaje de germinación promedio acumulado en semillas de candelilla obtenidas de tres estadios de maduración del fruto (coloración).

Fig. 2. Cumulative mean germination percentage of seeds of candelilla as a function of fruit maturity (colour).

**Germinación y tiempo de almacenamiento de la semilla.** Las semillas con 1 mes de almacenamiento tuvieron un porcentaje de germinación de 24,12%. En las semillas con 3 meses de almacenamiento, sin embargo, este valor disminuyó a 3,42%, y en las semillas con 5 meses el valor se incrementó a 29,41% (Tabla 4). Estos valores fueron estadísticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). En cuanto a las curvas de germinación, se observó similitud entre las líneas correspondientes a 1 y 5 meses, en tanto que para los 3 meses la curva se alejó bastante del patrón típico de germinación, y después de los 7 días ya no se observaron semillas germinadas (Fig. 3).

**Germinación y localidad de colecta.** La localidad que obtuvo el menor porcentaje de germinación fue Las Coloradas (4,50%), seguida de Icamole 1 (17,53%) y Candela (20,96%), mientras que Icamole 2 obtuvo el mayor valor con 23,23% (Tabla 4). Estos porcentajes de germinación difirieron significativamente ( $p \leq 0,01$ ). El porcentaje promedio de germinación entre las localidades de Candela *versus* Icamole 1 e Icamole 2 fue similar ( $p > 0,05$ ). Los patrones de germinación fueron

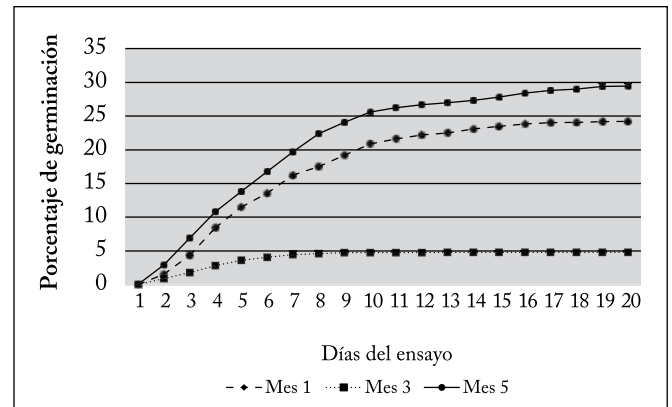


Fig. 3. Porcentaje de germinación promedio acumulado en semillas de candelilla almacenadas durante 1, 3 y 5 meses después de la colecta.

Fig. 3. Cumulative mean germination percentage of seeds of candelilla as a function of storage time (i.e., 1, 3 or 5 months after harvesting).

similares entre las localidades estudiadas. La excepción fue la localidad de Las Coloradas donde la respuesta germinativa no fue más allá del día 10 del ensayo (Fig. 4).

**Análisis general de germinación.** En la Tabla 5 se presentan los resultados completos de los ensayos de germinación incluyendo localidades, peso de la semilla, madurez del fruto y tiempo de almacenamiento de las semillas. Sin considerar la localidad de colecta, la mayor germinación se presentó en las semillas de peso promedio, provenientes de frutos rojos y con 5 meses de almacenamiento ( $50,00\% \pm 9,42\%$ ), en tanto que las semillas de menor germinación (menos de 5%) correspondieron a todos los tratamientos que tuvieron en común 3 meses de almacenamiento, sin importar el color del fruto o el peso de la semilla.

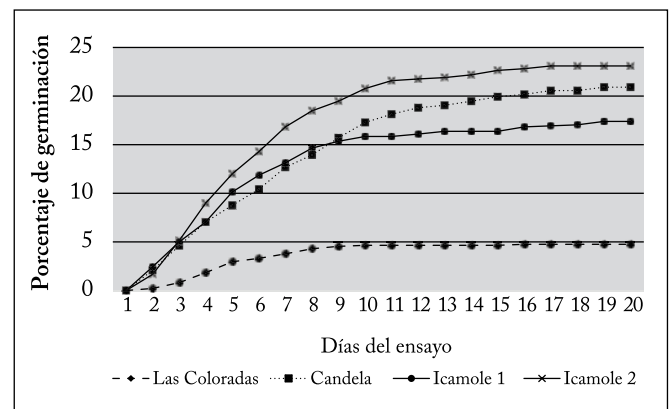


Fig. 4. Porcentaje de germinación acumulado diario en las cuatro localidades de estudio.

Fig. 4. Cumulative daily germination percentage at the four study locations.

**Tabla 5.** Resultados de los ensayos de germinación en función de localidades, color del fruto al momento de la colecta, peso de las semillas y tiempo de almacenamiento de las mismas. Valores promedio  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de germinación.**Tabla 5.** Germination percentages as a function of locality, fruit color at sampling time, and seed weight and storage time. Values are mean  $\pm$  standard deviation.

Tiempo de almacenamiento de las semillas	Estado de maduración del fruto	Peso de las semillas	Las Coloradas	Localidad de Colecta			Total	
				Candela	Icamole 1	Icamole 2		
1 mes	Verde	Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	17,00 $\pm$ 4,47	27,00 $\pm$ 7,58	40,00 $\pm$ 20,00	21,00 $\pm$ 18,03	
		Medio	1,00 $\pm$ 2,23	27,00 $\pm$ 10,36	58,00 $\pm$ 24,39	47,00 $\pm$ 19,87	33,25 $\pm$ 26,96	
		Alto	27,00 $\pm$ 9,76	27,00 $\pm$ 14,40	35,00 $\pm$ 23,97	52,00 $\pm$ 5,70	35,25 $\pm$ 17,35	
		Total	9,33 $\pm$ 13,99	23,66 $\pm$ 10,33	40,00 23,14	46,33 $\pm$ 16,19	29,83 $\pm$ 21,87	
	Verde-Rojo	Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	17,00 $\pm$ 11,51	*	*	8,50 $\pm$ 11,79	
		Medio	3,00 $\pm$ 6,78	9,00 $\pm$ 6,51	*	*	6,00 $\pm$ 6,99	
		Alto	11,00 $\pm$ 5,47	8,00 $\pm$ 7,58	*	*	9,50 $\pm$ 6,43	
		Total	4,66 $\pm$ 6,67	11,33 $\pm$ 9,15	*	*	8,00 $\pm$ 8,57	
	Rojo	Bajo	*	19,00 $\pm$ 6,51	*	30,00 $\pm$ 7,90	24,50 $\pm$ 8,95	
		Medio	*	24,00 $\pm$ 11,40	*	33,00 $\pm$ 8,36	28,50 $\pm$ 10,55	
		Alto	*	24,00 $\pm$ 13,87	*	43,00 $\pm$ 31,74	33,50 $\pm$ 25,17	
		Total	*	22,33 $\pm$ 10,49	*	35,33 $\pm$ 18,94	28,83 $\pm$ 16,43	
	3 Meses	Verde	Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 6,70	3,00 $\pm$ 4,47	3,00 $\pm$ 2,73	2,25 $\pm$ 4,12
			Medio	2,00 $\pm$ 2,73	0,00 $\pm$ 0,00	4,00 $\pm$ 4,18	3,00 $\pm$ 4,47	2,25 $\pm$ 3,43
			Alto	7,00 $\pm$ 5,70	3,00 $\pm$ 2,73	5,00 $\pm$ 6,12	4,00 $\pm$ 4,41	4,75 $\pm$ 4,72
Total			3,00 $\pm$ 4,55	2,00 $\pm$ 4,14	4,00 $\pm$ 4,70	3,33 $\pm$ 3,61	3,08 $\pm$ 4,22	
Verde-Rojo		Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	8,00 $\pm$ 5,70	4,00 $\pm$ 2,23	3,00 $\pm$ 4,41	
		Medio	4,00 $\pm$ 4,18	2,00 $\pm$ 2,73	7,00 $\pm$ 4,47	3,00 $\pm$ 2,73	4,00 $\pm$ 3,83	
		Alto	6,00 $\pm$ 6,41	1,00 $\pm$ 2,23	6,00 $\pm$ 5,47	2,00 $\pm$ 4,47	3,75 $\pm$ 4,55	
		Total	3,33 $\pm$ 4,08	1,00 $\pm$ 2,07	7,00 $\pm$ 4,92	3,00 $\pm$ 3,16	3,58 $\pm$ 4,22	
Rojo		Bajo	*	1,00 $\pm$ 2,07	8,00 $\pm$ 8,36	1,00 $\pm$ 2,23	3,33 $\pm$ 5,87	
		Medio	*	3,00 $\pm$ 4,47	9,00 $\pm$ 6,51	0,00 $\pm$ 0,00	4,00 $\pm$ 5,73	
		Alto	*	1,00 $\pm$ 1,23	7,00 $\pm$ 4,47	3,00 $\pm$ 4,47	3,66 $\pm$ 4,41	
		Total	*	1,66 $\pm$ 3,08	8,00 $\pm$ 6,21	1,33 $\pm$ 2,96	3,66 $\pm$ 5,26	
5 Meses		Verde	Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	44,00 $\pm$ 20,73	30,00 $\pm$ 3,53	27,00 $\pm$ 5,70	25,25 $\pm$ 19,15
			Medio	5,00 $\pm$ 7,07	47,00 $\pm$ 14,40	27,00 $\pm$ 14,83	43,00 $\pm$ 18,23	30,50 $\pm$ 21,39
			Alto	6,00 $\pm$ 6,51	52,00 $\pm$ 10,36	29,00 $\pm$ 8,21	40,00 $\pm$ 6,12	31,75 $\pm$ 18,86
	Total		3,66 $\pm$ 5,81	47,66 $\pm$ 14,98	28,66 $\pm$ 9,34	36,66 $\pm$ 12,90	29,16 $\pm$ 19,70	
	Verde-Rojo	Bajo	0,00 $\pm$ 0,00	30,00 $\pm$ 18,78	*	*	15,00 $\pm$ 20,13	
		Medio	0,00 $\pm$ 0,00	45,00 $\pm$ 10,60	*	*	22,50 $\pm$ 24,74	



	Alto	9,00 ± 10,24	50,00 ± 14,57	*	*	29,50 ± 24,65
	Total	3,00 ± 7,02	41,66 ± 16,43	*	*	22,33 ± 23,25
Rojo	Bajo	*	23,00 ± 10,95	*	33,00 ± 6,70	28,00 ± 10,05
	Medio	*	47,00 ± 4,47	*	53,33 ± 12,54	50,00 ± 9,42
	Alto	*	42,00 ± 8,36	*	24,00 ± 9,61	33,00 ± 12,73
	Total	*	37,33 ± 13,21	*	36,66 ± 15,54	37,00 ± 14,17
TOTAL		4,50 ± 7,86	20,96 ± 20,04	17,53 ± 18,42	23,23 ± 21,87	17,25 ± 19,55

\* No se contó con cantidad suficiente de semillas para la realización del ensayo.

\* The amount of harvested seeds was not enough for making the study.

Las semillas de Icamole 1 con peso medio, frutos de color verde y 1 mes de almacenamiento obtuvieron el mayor porcentaje de germinación (58,00%). En Icamole 2 hubo dos valores de germinación sobresalientes: el primero de ellos (53,33%) en semillas de peso promedio, frutos rojos y 5 meses de almacenamiento, y el segundo (52,00%) correspondió a semillas de peso alto, frutos verdes y 1 mes de almacenamiento. Las Coloradas fue la localidad con menores valores de germinación en todos los tratamientos, destacando solo un valor de 27% en semillas de peso alto obtenidas de frutos verdes y 1 mes de almacenamiento.

## DISCUSIÓN

**Peso de la semilla.** El peso promedio por semilla fue de 0,0029 g, el cual es ligeramente menor al reportado por Flores del Angel et al. (0,0032 g; 2013). Chapa-Romo (1959) también informó un peso de 0,0037 g por semilla. Esto se puede deber al hecho de que Flores del Angel et al. (2013) consideraron solamente semillas de testa café, las cuales se consideran completamente maduras (Flores-López, 1995), y por lo tanto pueden tener un mayor peso. En el presente trabajo se observó una variación significativa en el peso promedio de las semillas entre localidades (0,0018-0,0036 g), lo cual fue también reportado por Flores del Angel (2013). Estos autores reportaron semillas con un peso promedio por localidad que varió de 0,0020 a 0,0043 g. Esta variación pudo ser el resultado de diferentes condiciones climáticas, genotipos e incluso la madurez del fruto al momento de la colecta (Flores del Angel et al., 2013). Esto último coincide con los resultados del presente estudio, donde se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en el peso de las semillas respecto al color del fruto.

**Viabilidad de la semilla.** El porcentaje promedio de viabilidad obtenido en el presente estudio fue de 45,24%, el cual es menor que el reportado por Flores del Angel et al. (2013) quienes informaron un promedio de 53,16% (y hasta 86,00%) en semillas de color café. Esta diferencia puede ser debida a que en el presente estudio no se consideró el color de la testa de la

semilla como indicador de madurez de la misma, sino el color del fruto. Por otra parte, las semillas de peso alto tuvieron mayores porcentajes de viabilidad (de hasta 73,97%) en relación a las de bajo peso (de 31,75-60,57%). Las semillas de frutos rojos (maduros) tuvieron mayor viabilidad (49,81%) que las semillas de frutos inmaduros. Esto es congruente con los resultados de Hernández-Aguilar (2008), quien informó que las semillas de color café (semillas maduras y por lo tanto de mayor peso) presentaron el mayor porcentaje de viabilidad (77,60-92,00%). García-García (1988) y Peña Contreras (1998) afirmaron que el color de las semillas indica el nivel de madurez de las mismas. Flores-López (1995) también señaló que las semillas de color café pálido fueron las más viables. La localidad de colecta y el tiempo de almacenamiento de las semillas son factores que afectan significativamente la viabilidad (Hernández-Aguilar, 2008). En el presente estudio la mayor viabilidad se observó a los 5 meses (49,36%), y hubo una variación de 28,19% a 54,60% en la viabilidad entre las localidades.

**Germinación de la semilla.** Los porcentajes de germinación alcanzados en este estudio (50,00%) son menores a los reportados por Villa-Castorena et al. (2010) y Flores del Angel et al. (2013). Estos autores informaron porcentajes de germinación del 62% y 60%, respectivamente. Por su parte, Flores-López (1995) y Hernández-Aguilar (2008) reportaron datos de germinación de acuerdo a la coloración de la testa, teniendo el porcentaje más bajo las semillas grises (22%) y blancas (30%), mientras que las café alcanzaron un 60%. En nuestro estudio se observó que al analizar la germinación, considerando de manera individual los factores de peso de la semilla, color de fruto, tiempo de almacenamiento y localidad de colecta, los valores promedio de germinación no llegaron al 30% (Tabla 2). Esto es debido a que al considerar un solo factor, aún en el mejor nivel del mismo, tendremos el efecto de las variables no consideradas, y ciertos niveles de las mismas muy probablemente afectarán negativamente la germinación. Sin embargo, al combinar niveles específicos de cada uno de estos factores se incrementaron significativamente los porcentajes de germinación. Esto fue igualmente válido para la viabilidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos inferir que las semillas de mayor viabilidad y germinación serán aquellas de peso medio o superior, provenientes de frutos maduros y con al menos 5 meses de almacenamiento, sin considerar la localidad de colecta (Tablas 3 y 5). Además de esto, y de acuerdo a la literatura (Hernández Aguilar, 2008; Flores López, 1995) se sugiere considerar también el color de la testa de las semillas, preferentemente aquellas de color café.

Por otra parte, es necesario evaluar más tiempos de almacenamiento de las semillas a fin de conocer el momento en el que se maximiza la viabilidad y la germinación, lo que contribuirá a incrementar la reproducción de la especie. Además, es importante evaluar más ecotipos en diferentes condiciones de experimentación, ya que las semillas de diferentes localidades pueden tener diferentes requerimientos ambientales para su germinación.

## REFERENCIAS

- Arato, M., S. Speelman y G.V. Huylenbroeck (2014). The contribution of non-timber forest products towards sustainable rural development: The case of candelilla wax from the Chihuahuan Desert in Mexico. *Natural Resources Forum* 38: 141-153.
- Ascacio-Valdés, J.A., A. Aguilera-Carbó, J.L. Martínez-Hernández, R. Rodríguez-Herrera y C.N. Aguilar (2010). *Euphorbia antisyphilitica* residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers* 64: 528-532.
- Barsch, F. (2004). Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*): utilization in Mexico and international trade. *Medicinal Plant Conservation* 9: 46-50.
- Busso, C.A., Y. Torres y I. Ithurrart (2015). The TTC Technique might not appropriately test the physiological stage of plant tissues. *Russian Journal of Plant Physiology* 62: 551-556.
- Canales, G.E., V. Canales y E.M. Zamarrón (2006). Candelilla, del desierto mexicano hacia el mundo. CONABIO. *Biodiversitas* 69: 1-5.
- Chapa-Romo, M.T. (1959). Estudio monográfico de la candelilla *Euphorbia* sp. Tesis profesional Ingeniero Agrónomo. Universidad de Coahuila. Escuela Superior de Agricultura Antonio Narro. 82 p.
- Cervantes, R.M. (2002). Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México. Temas selectos de Geografía de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 125-137.
- Flores del Angel, M.L., R. Foroughbakhch, A. Rocha-Estrada, M.L. Cárdenas-Ávila, M.A. Guzmán-Lucio, Y.L. Hernández-Aguilar y M.A. Alvarado-Vázquez (2013). Morphology, viability and germination of candelilla seeds (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.). *Phyton, International Journal of Experimental Botany* 82: 161-167.
- Flores-López, C. (1995). Viabilidad de las semillas, emergencia de plántulas y plantaciones de Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) en Ramos Arizpe, Coahuila. Tesis Ingeniero agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila, México. 131 p.
- García-García, R. (1988). Respuesta Vegetativa de la Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) bajo diferentes sistemas de cosecha y poda estacional en la Sierra la Pardita, Zacatecas. Tesis Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 92 p.
- García, J.F. y E. Jurado (2003). Influence of plant cover on germination in matorral in northeastern Mexico. *Forest Ecology and Management* 177: 11-16.
- Godínez-Álvarez, H. y A. Flores-Martínez (1999). Germinación de semillas de 32 especies de plantas de la costa de Guerrero: Su utilidad para la restauración ecológica. *Polibotánica* 11: 1-19.
- Hagenmaier, R.D. (2000). Evaluation of a polyethylene-candelilla coating for Valencia oranges. *Postharvest Biology and Technology* 19: 147-154.
- Hernández-Aguilar, Y.L. (2008). Morfología, Viabilidad y germinación de la semilla de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.). Tesis Químico Bacteriólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. 90 p.
- ISTA (International Seed Testing Association) (1985). The germination test. *Proceedings of the International Seed Testing Association* 13: 421-463.
- Jurado, E., J.F. García, J. Flores y Eduardo Estrada (2006). Leguminous seedling establishment in Tamaulipan thornscrub of north-eastern Mexico. *Forest Ecology and Management* 221: 133-139.
- Martínez-Ballesté, A. y M.C. Mandujano (2013). The consequences of harvesting on regeneration of a non-timber wax producing species (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) of the Chihuahuan Desert. *Economic Botany* 67: 121-136.
- Peña-Contreras, A.R. (1998). Utilidad de algunas metodologías de análisis la interacción genotipo-ambiente en la medición de la tasa de recuperación en el crecimiento de la candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) bajo diferentes condiciones ecológicas. Tesis Maestría en Ciencias con especialidad en Fitomejoramiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 78 p.
- Pérez-Sánchez, R.M., E. Jurado, L. Chapa-Vargas y J. Flores (2011). Seed germination of southern Chihuahuan Desert plants in response to elevated temperatures. *Journal of Arid Environments* 75: 978-980.
- Tejeda-Godínez, C., M.C. Zamora-Martínez y L. Sánchez-Rojas (2000). Nonwood forest products in Mexico: Current status and perspectives. Proceedings of the forest products study group Workshop, held at the Forest Products society annual meeting, June 23, 1998, Merida Yucatán, México, pp. 35-50.
- Villa-Castorena, M., E.A. Catalán-Valencia, M.A. Inzunza-Ibarra, M. de L. González-López y J.G. Arreola-Ávila (2010). Producción de plántulas de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) mediante estacas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 16: 37-47.
- Zar, J.H. (2010). Biostatistical Analysis. Fifth edition. Pearson Prentice-Hall. Upper Saddle River, New Jersey, USA. 944 p.