

FORMACION DE UN BANCO DE GERMOPLASMA
IN-SITU DE CANDELILLA (Euphorbia Antisiphyltica
Zucc.) Y DETERMINACION DEL NUMERO
CROMOSOMICO

ARMANDO RODRIGUEZ GARCIA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN FITOMEJORAMIENTO

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



BIBLIOTECA



Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

SEPTIEMBRE DE 1997

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN FITOMEJORAMIENTO**

COMITE PARTICULAR

Asesor Principal:



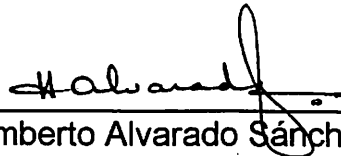
M.C. Fernando Borrego Escalante

Asesor:



M.C. José Luz Chávez Araujo

Asesor:



M.C. Humberto Alvarado Sánchez



Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez
Subdirector de Posgrado

Buenvista, Saltillo, Coahuila. Septiembre, 1997

AGRADECIMIENTOS

Al **Ing. M.C. Fernando Borrego Escalante**, por la oportunidad que me brindó para realizar el presente trabajo, por su atinada y desinteresada dirección y sobre todo por su amistad.

Al **Ing. M.C. José Luz Chávez Araujo** por su participación como sinodal en el presente trabajo, por su amistad, y por todo el apoyo que he recibido de parte de él en mi desarrollo profesional dentro del programa de oleaginosas y sorgo.

Al **Ing. M.C. Humberto Alvarado Sánchez** por su participación como sinodal, sus sugerencias y por su amistad.

Al **Ing. Mauro Hernández Segura**, que gracias a su apoyo pude realizar mis estudios de postgrado en esta Universidad.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, que en 1978 me abrió sus puertas para laborar en ella y de la cual a través del tiempo solo he obtenido satisfacciones.

A **Dios** todo poderoso que me ha brindado la oportunidad de vivir y de salir adelante.

DEDICATORIA

A mis padres:

David Rodríguez Plata (+)

y

María Eva García Vda. De Rdz.

A mi querida esposa :

Diana, con todo mi amor

A mis pequeños hijos:

Arheli y Armando, con mucho cariño

A mis hermanos:

Paco

David

Alfredo

Enrique; con todo respeto

COMPENDIO

Formación de un banco de germoplasma *in-situ* de candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.) y determinación del número cromosómico

POR

ARMANDO RODRIGUEZ GARCIA

MAESTRÍA
FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. SEPTIEMBRE 1997.

Ing. M.C. Fernando Borrego Escalante -Asesor-

Palabras clave: Candelilla, banco, germoplasma, ecotipos, selección, distribución, número cromosómico, por ciento de cera, altura, número de hijuelos, cobertura, (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.)

Este estudio se llevó a cabo bajo los siguientes objetivos : zonificar y coleccionar individuos de candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.) fenotípicamente sobresalientes, establecer las colectas en un banco de germoplasma *in situ*, evaluar y seleccionar ecotipos sobresalientes y determinarles su número cromosómico

La región candelillera abarca una importante zona de la altiplanicie septentrional, localizada cerca de los 1000 msnm. Los estados que incluyen dicha región son Coahuila, Durango, Zacatecas y Chihuahua.

Para las colectas de candelilla se consideró a cada estado una región, ésta dividida en municipios y éstos en comunidades (ejidos); las comunidades se subdividieron en lugares de muestreo (sitios) donde se colectaron alrededor de 10 plantas por cada sitio. Bajo este esquema se muestrearon 468 sitios de nueve municipios y tres estados, obteniéndose un total de 5,270 colectas. Los materiales colectados se establecieron en un banco de germoplasma *in situ* en terrenos de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", el establecimiento se hizo tomando una planta de cada sitio en hileras a una distancia entre plantas e hileras de un metro.

Una vez establecido el banco de germoplasma se llevó a cabo una selección visual aleatoria para alto contenido de cera y otras variables, seleccionándose los mejores ecotipos en los cuales se encontraron valores de contenido de cera de hasta un 3.7 por ciento, detectándose además correlaciones positivas y altamente significativas entre contenido de cera y color de planta.

A los ecotipos de mayor contenido de cera se determinó su número cromosómico a través de mitosis y/o meiosis, encontrándose que todos los

ecotipos, aún y cuando procedían de diferentes regiones, presentaron el mismo número cromosómico de $2n=56$.

ABSTRACT

Formation of germplasm bank *in-situ* of candelilla wax plant (*Euphorbia antisiphillitica* Zucc.) and chromosome number determination

BY

ARMANDO RODRIGUEZ GARCIA

MASTER OF SCIENCE
PLANT BREEDING

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, SEPTIEMBRE 1997.

Ing. M.C. Fernando Borrego Escalante -Advisor-

Key's Words: Candelilla, zone, germplasm, bank, ecotypes, selection, chromosome number, wax percent, high, plants numbers, cover, distribution, (*Euphorbia antisiphillitica* Zucc.).

This study it was carried out with the following objecives. To locate and collect candelilla plants (*Euphorbia antisiphyllitica* Zucc.) of typical phenotypes, to set up collections in an area of germplasms *in-situ*, to evaluate and select the best ecotypes and to determine their chromosome numbers.

The candelilla regions embrace an important zone of the northern high plateau, located near to the 1000 aols. The states that include such an area are Coahuila, Durango, Zacatecas and Chihuahua.

To collect the candelilla each state is considered as a region, that is divided into municipalities and into communities (common), the communities are subdivided into sample area (sites) where around ten plants were collected by site. Under this outline 468 sites in nine municipalities and three states were sample, obtaining a total of 5,270 collected items.

The material collected were established in a germplasm area in land sites of Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", the collections was made by taking one plant, from each site in rows at a distance of one meter between rows and plantas.

Once the area of germplasm was established they carried out a visual selection aleatoria for high content of wax and other variables. They selected the best 90 ecotypes which were found to contain wax up to 3.7%. There was a positive correlation and high significance between wax content and the color of the plant.

For the genotypes that have a high content of wax it was decided to determine their chromosomic number through mitosis /or meiosis. It was found

that all ecotypes even if they were from different areas have the same chromosome number of $2n = 56$.

INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS.....	xiii
INDICE DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	4
Generalidades de la candelilla.....	4
Reproducción.....	4
Crecimiento.....	5
Adaptación a la sequia.....	5
Requerimientos ecologicos.....	6
Precipitación.....	6
Temperatura.....	6
Suelos.....	6
Vientos.....	8
Recolección.....	8
Industrialización.....	9
Extracción.....	10
Sedimentación.....	11
Refinación.....	12
Germoplasma.....	13

Bancos de germoplasma.....	14
Domesticación.....	16
Necesidades de la domesticacion en candelilla.....	19
Citogenética.....	20
Estudios mitóticos.....	20
Cariotipo.....	21
Trabajos afines.....	22
MATERIALES Y METODOS.....	23
RESULTADOS Y DISCUSION.....	29
Distribución.....	29
Colecta.....	31
Selección indirecta.....	35
Estudio cromosómico.....	44
CONCLUSIONES.....	52
RESUMEN.....	54
LITERATURA CITADA.....	57
APENDICE.....	59

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
4.1	Número de muestras colectadas para formar el banco de germoplasma de candelilla.....	34
4.2	Origen de ecotipos seleccionados visualmente del banco de germoplasma para alto contenido de cera.....	37
4.3	Contenido de cera de 41 ecotipos seleccionados visualmente del banco de germoplasma.....	38
4.4	Análisis de correlación entre seis variables en ecotipos sobresalientes de candelilla.....	39
4.5	Variables correlacionadas en candelilla.....	43

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
4.1	Delimitacion latitudinal y longitudinal de la distribución y abundancia de la candelilla (<i>Euphorbia antisiphilitica</i> Zucc.).....	30
4.2	Estados candelilleros.....	32
4.3	Zonas productoras de cera de candelilla.....	33
4.4	Ecotipo número 42, célula meiótica diploide ($2n=2x=56$)....	47
4.5	Ecotipo número 63, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....	47
4.6	Ecotipo número 69, célula meiótica diploide ($2n=2x=56$)....	48
4.7	Ecotipo número 74, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....	48
4.8	Ecotipo número 77, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....	49
4.9	Ecotipo número 79, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....	49

- 4.10 Ecotipo número 82, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....50
- 4.11 Ecotipo número 90, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$).....50
- 4.12 Ecotipo de candelilla, célula mitótica diploide ($2n=2x=56$)...51
- 4.13 Cariotipo de candelilla, utilizando medidas relativas.....51

INTRODUCCION

En México las zonas áridas ocupan 796,806,036 Km² que representan el 40.5 por ciento de la superficie del territorio nacional, comprenden los estados de Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Zacatecas, Durango, San Luis Potosi, Nuevo León, Tamaulipas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Puebla y Tlaxcala; en estos estados se asientan 502 municipios con una población de 7,793,000 habitantes, siendo sus principales actividades la agricultura de temporal, ganadería, minería y la recolección de especies silvestres con potencial alimenticio y/o industrial, encontrándose entre ellas la Lechuguilla, Palma Samandoca, Nopal, Guayule y Candelilla; esta última es soporte económico de aproximadamente 12,000 familias campesinas, distribuidas en las regiones de Coahuila, Durango, Chihuahua, Zacatecas y Nuevo León, que comprenden la región candelillera de nuestro país, que abarca 14 millones de hectáreas, que representan el 28.5 por ciento de las tierras áridas de México.

La explotación de la cera de candelilla siempre ha sido a través de métodos rudimentarios, con los cuales la planta es arrancada con todo y raíz, poniendo en peligro de extinción a la especie debido a que la explotación es más acelerada que la regeneración. Aunado a esto, la falta de un programa adecuado

de reforestación posterior a la extracción de la planta, que evitaría también el aumento de áreas erosionadas producto de la sobreexplotación.

Debido al incremento en la demanda de cera de candelilla a nivel mundial, México exporta la cera a diversos países tales como Estados Unidos, Japón, Australia, Centro y Sudamérica y Europa. Siendo necesario planear estrategias encaminadas a lograr que la candelilla sea explotada racionalmente, estableciendo prácticas de cultivo que permitan un mejor manejo, el establecimiento de un programa de mejoramiento genético, para la formación de variedades que brinden altos rendimientos y que además sean resistentes a factores adversos. Asimismo formar un banco de germoplasma a través de colectas, que incluyan la mayoría de los sitios comprendidos en la región candelillera, que permita no solamente preservar la variabilidad genética existente en las poblaciones naturales, sino también proveer de germoplasma bien identificado a los programas de mejoramiento genético locales o foráneos.

Ante esta situación, se plantea la necesidad de establecer un programa de domesticación en candelilla con el cual se hará posible la explotación intensiva bajo cultivo en áreas adyacentes a los ejidos, de manera tal que los genotipos seleccionados en bancos de germoplasma *in situ*, o bien los formados en algún programa de mejoramiento sea de donde se pueda obtener la mayor cantidad de cera posible.

Considerando lo anterior, los objetivos que se plantean en el presente trabajo son:

- a). Zonificar y coleccionar ecotipos de candelilla fenotípicamente sobresalientes.
- b). Establecer las colectas en un Banco de Germoplasma *in situ*.
- c). Evaluar y seleccionar los ecotipos más sobresalientes en función de su porcentaje de cera, crecimiento y tipo de suelo donde se desarrollan.
- d). Determinación del número cromosómico de los ecotipos más sobresalientes.

Lo anterior permite formular las siguientes hipótesis:

- Existe la posibilidad de formar un banco de germoplasma de Candelilla.
- Existe diferente capacidad de establecimiento de los Ecotipos.
- Existe variabilidad en el contenido de cera entre los Ecotipos.
- Existe variabilidad en el número cromosómico en las poblaciones naturales de Candelilla.

REVISION DE LITERATURA

La candelilla es una especie vegetal que crece en las condiciones más desfavorables de las zonas áridas de nuestro país, su importancia económica radica que como medida de defensa, la planta secreta cera que cubre sus tallos y los protege contra el frío y sequía extrema. Dicha cera es extraída por los campesinos candelilleros para su comercialización, representando esta actividad el soporte económico de muchas familias campesinas.

Generalidades de la Candelilla

Reproducción

La candelilla se reproduce naturalmente mediante semillas, la diseminación de éstas se produce gracias a la fuerza con que se rompe la cápsula que las contiene, lanzándolas a gran distancia.

Lo característico de esta especie es que se encuentra formando manchones, debido a que esta planta también se reproduce vegetativamente, ya que los tallos subterráneos originan nuevas plantas (Flores, 1942).

Crecimiento

Flores (1942), menciona que los crecimientos anuales marcados a lo largo del tallo de la planta de candelilla están representados por ligeras estrangulaciones de color obscuro, que alcanzan una longitud que varía de 8 a 13 cm. La altura de la planta o de los tallos dependen mucho del lugar donde se encuentren, por ejemplo en lugares húmedos, la planta presentará una altura máxima, pero con poca cantidad de cera; en cambio en lugares secos, la planta tendrá una altura media, pero con gran cantidad de cera.

Según Alarcón (1945), otro factor que influye en el crecimiento de la planta es la calidad del suelo; además menciona que, ajeno a estos factores, el crecimiento longitudinal de los tallos tiene un límite, una vez llegado al mismo el crecimiento se suspende, y entonces la planta forma nuevos tallos.

Adaptación a la Sequía

Esquivel (1979), menciona que todos los autores coinciden en que la candelilla ha desarrollado dos mecanismos para evitar la pérdida de agua por evaporación, los mecanismos son:

- Reducción de la superficie de evaporación por la eliminación de hojas, ya que éstas permanecen un corto período mientras se desarrolla el segundo mecanismo.

- Producción de cera que recubre la epidermis de los tallos obstruyendo numerosos estomas. La producción de cera está en relación inversa a la humedad ambiental o lluvias; es decir, en época de lluvias la cantidad de cera producida por la planta disminuye.

Requerimientos Ecológicos

Precipitación

La distribución de la precipitación en las zonas áridas del país durante el año, generalmente se presenta con una estación lluviosa en los meses de mayo a octubre; sin embargo en ocasiones, en las regiones más áridas no se presenta ninguna precipitación por períodos de 12 a 18 meses. Flores (1941), afirma que la precipitación pluvial en las regiones áridas apenas pasa los 400 mm anuales. Sin embargo se ha observado que la precipitación en la zona candelillera está comprendida entre los 200 y 300 mm anuales.

Temperatura

El clima de estas regiones es desértico caliente de tipo estepario; en algunas regiones, también se presenta el clima desértico caliente de tipo sahariano, el primero con temperaturas que oscilan entre los 8°C y 44°C y el segundo con temperaturas más extremas.

García (1939) menciona que la candelilla se desarrolla dentro del clima estepario entre las isoyetas 250 y 500, con un estado hidrométrico de 50 mm y según Flores (1941), la candelilla se desarrolla dentro del clima sahariano en la zona de los bolsones, formados por la parte occidente de Coahuila, la oriental de Chihuahua y la norte de Durango y Zacatecas.

Robles (1985), afirma que el clima donde se desarrolla la candelilla es de los más desfavorables que puedan utilizarse para cualquier otro cultivo.

Suelos

Marroquín, *et al.* (1981), mencionan que los suelos donde se desarrolla la candelilla poseen profundidades que varían de cinco a 50 cm; presentan contenidos de piedras y grava entre 15 y 60 por ciento, al igual que de arena, de 20 a 60 por ciento de limo y de 15 a 30 por ciento de arcilla, siendo más frecuentes los migajones arenosos, los migajones arcillo-arenosos, los limosos y arcillosos y los suelos francos.

El pH varía de 7.4 a 8.4; la materia orgánica y el nitrógeno total en los primeros 20 cm de profundidad varían de 0.9 a 0.11 por ciento y de 0.1 a 0.7 por ciento respectivamente.

Los tipos de suelos en los que se desarrolla son bastante variables, encontrándose como predominantes los arenosos en general, todos extremadamente pobres en humus. Sin embargo, los suelos calizos y ricos en potasa son los

mejores para su desarrollo biológico, pero con desmerecimiento de su calidad industrial, ya que en estos suelos la candelilla desarrolla más follaje, presentando muy pobre contenido de cera.

Vientos

Flores (1938), indica que los vientos predominantes durante el año en la región candelillera del estado de Coahuila, provienen del norte y noreste principalmente.

Recolección

Esquivel (1979), describe la forma como se lleva a cabo la recolección; primeramente la planta es arrancada y a la vez sacudida para eliminar la tierra adherida a la raíz, después la planta es acomodada en tercios para ser acarreada, ya sea en vehículo o en animales de trabajo. Posteriormente, la planta se expone al sol con el fin de deshidratarla y que se eleve un poco más el contenido de cera, de esta manera la planta queda lista para el proceso de extracción.

Marroquín *et al* (1981), indica que el método actual de recolección empleado por los campesinos para abastecerse de candelilla, es el que les permite obtener mayores ganancias; sin embargo, no toman en consideración que con este método se está contribuyendo fuertemente a la desaparición de la planta en grandes zonas o, por lo menos, influyendo para que en las zonas donde se ha

realizado la explotación tarden muchos años en recuperarse. La recolección se efectúa en la época de sequía, específicamente en los meses de octubre a junio.

Industrialización

En México, como en el extranjero, se han probado varios tipos de solventes orgánicos para la extracción de la cera de candelilla, los cuales han dado buenos resultados, entre ellos se han probado acetona, benceno, dicloruro de carbón, tetracloruro de carbón, gasolina y tetralin.

También se ha probado la solubilidad de la cera en alcohol absoluto, la cual ha resultado muy baja, sin embargo el alcohol bencina mixto, en proporción de dos a tres por ciento, se reporta como un excelente solvente, esto hace que el alcohol sea un buen disolvente para la purificación.

Existen muchos otros solventes útiles en la extracción; sin embargo, Esquivel (1979), menciona que el solvente utilizado hasta ahora y que siempre se ha manejado desde que se empezó a explotar la candelilla comercialmente, es el ácido sulfúrico. Este solvente se adapta a las necesidades económicas del campesino candelillero, por ser económico, fácil de conseguir y además produce una cera de muy buena calidad.

Investigadores del Centro de Investigaciones en Química Aplicada (CIQA) (1979), describen el proceso de obtención de cera de la siguiente manera.

Extracción

La extracción se lleva a cabo en un sistema especialmente diseñado para esto, donde se utiliza un recipiente rectangular de acero llamado paila, de aproximadamente 600 litros de capacidad; éste se acomoda en el suelo de tal forma que en su base se acondicione un horno primitivo.

El primer paso, es colocar 500 lt de agua en la paila y calentarla a fuego directo; una vez que la temperatura alcanza los 96°C, se acomodan dentro de la paila 200 kg de planta de candelilla, se deja que vuelva a recuperar la misma temperatura y posteriormente se agregan 1.09 lt (2 kg) de ácido sulfúrico concentrado y en seguida se comprime la planta, utilizando las parrillas que trae consigo la paila en el borde superior. La cera empieza a flotar en la superficie del líquido en forma de espuma de color grisáceo, la cual es retirada con una cuchara o espumadera de lámina con perforaciones, que facilitan el escurrimiento del agua y se transfiere a otro recipiente metálico llamado espumador, el cual tiene por objeto recolectar la cera extraída durante el día. El espumador tiene un agujero en la parte inferior que le permite el filtrado del agua que aun queda en el cerote.

La paila se continúa calentando hasta que ya no aparezca nada de espuma en la superficie del líquido. Finalmente se saca de la paila la candelilla que ya ha sido tratada y se coloca en el sol, ya que una vez seca servirá como combustible para el proceso. El tiempo de duración desde que se coloca la candelilla en la paila hasta que se retira, es de aproximadamente una hora,

llamándosele a este ciclo una pailada. Una vez terminado el proceso anterior se coloca una nueva carga de candelilla y se agrega solamente el agua que se perdió por evaporación en la pailada anterior.

Después que se han procesado varias pailadas se acumula en el fondo de la paila una gran cantidad de impurezas, las cuales consisten en tierra, arena, tallos, etc. y es necesario retirarlas, esto se hace después de haber procesado cinco ó 10 pailadas, dependiendo de la cantidad de impurezas acumuladas. El agua contenida en la paila se sigue usando hasta que el contenido de impurezas es intolerable, lo cual sucede después de 30 pailadas, llegado a este punto, el agua se tira, se limpia la paila y se vuelve a llenar con agua limpia.

Sedimentación

En esta etapa el contenido de impurezas de la cera obtenida en la extracción durante todo el día, se reduce considerablemente. La sedimentación se lleva a cabo en un tanque cilíndrico llamado cortador, en el cual se vacía la cera contenida en el espumador y que contiene además de las impurezas, agua acidulada proveniente de la etapa de extracción. Se le agrega una pequeña cantidad de agua adicional y se calienta la mezcla hasta una temperatura de 96°C, usando bagazo seco de candelilla como combustible. Terminada la operación, la mezcla se deja reposar durante toda la noche para permitir que las impurezas se sedimenten en el fondo del cortador. Al enfriarse la cera, se solidifica y flota en la

superficie del agua, el bloque de cera obtenido contiene en su parte inferior una capa de tierra, la cual se desprende fácilmente, raspándola.

Posteriormente se tritura el bloque de cera, para obtener pedazos más pequeños y en esta forma poderlos colocar en costales de ixtle, para transportarlos a la planta refinadora donde recibirá su último tratamiento de purificación.

Refinación

La refinación se realiza en una planta establecida en Saltillo Coah., desde 1955 y donde se concentra todo el cerote producido en los estados productores.

El proceso de refinación consiste en purificar el cerote y darle el color amarillento característico de la cera, además de desalojar todas las impurezas que lleve el cerote.

Según Mathus (1981), menciona que el proceso de refinación se realiza en recipientes metálicos rectangulares con capacidad de 5.5 toneladas, el proceso consiste en fundir el cerote a una temperatura de 100°C para que, por evaporación, se elimine toda la humedad que pudiera tener, se agrega además un poco de ácido sulfúrico haciendo que las impurezas se precipiten al fondo, que es cóncavo.

El vaciado se hace por decantación y el producto en estado líquido es pasado a través de cedazos, logrando una pureza casi total, ya que la cera

refinada presenta menos del uno por ciento de materias extrañas, con excepción de la resina, que es parte de la misma cera. Una vez solidificada la cera, ésta es quebrada y envasada en sacos de 80 kg netos y puestos a la venta tanto para el país como para el extranjero.

Germoplasma

Según Creech y Reitz (1971), el germoplasma es definido como la colección de materiales de plantas, que pueden estar reunidos o no, y que sirven para investigación o como base para el mejoramiento de cultivos. La principal característica es la de ser un reservorio de genes.

Smartt (1978), menciona que los componentes más diversos del germoplasma están en los centros de dispersión primaria y que el germoplasma de los cultivos es derivado de tres fuentes principales:

- a). De las especies silvestres y las formas primitivas de cultivo en los centros primarios de diversidad.
- b). De las plantas migratorias de los centros secundarios de cultivo donde su diversidad puede ser aumentada.
- c). De los productos de las plantas cultivadas.

De acuerdo con Smartt (1978), menciona que aún y cuando los ancestros silvestres son una fuente principal de germoplasma, su uso ha estado restringido por los siguientes factores:

- Las especies silvestres a menudo muestran más dificultad para las cruzas, y los híbridos resultantes son parcial o completamente estériles.
- Puede tenerse dificultad con poliploides iguales y por consecuencia esterilidad.
- Es necesario el conocimiento de taxonomía, filogenia y distribución geográfica de las especies silvestres, antes de que se pueda hacer mejor uso de ellas.
- Las especies silvestres poseen una serie de características indeseables que provocan una disminución en la producción.

Bancos de Germoplasma

La diversidad genética presente en los centros de origen se encuentra amenazada por lo que se ha dado en llamar Erosión Genética, que no es otra cosa más que el efecto de las actividades del hombre en la composición de los cultivos (Chávez, 1990).

De acuerdo con Chávez (1990), los cultivos mejorados presentan una disminución en su base genética, incrementando así su susceptibilidad a enfermedades e insectos, por lo que se hace necesaria la conservación de una

amplia variabilidad genética bajo condiciones controladas, que garantice su existencia. Estas colecciones se denominan Bancos de Germoplasma.

El Banco es una unidad dinámica que posee la mayor diversidad genética posible, expresada por un alto número de biotipos representativos de la especie y de especies afines. Siendo su función la de tener disponible para los fitomejoradores y en cualquier momento, muestras de semilla que involucren un factor genético en particular o bien grupos de factores que se deseen estudiar (Chávez, 1990).

Para Burton (1979), el principal uso de las colecciones germoplásmicas es el de suplementar los genes y el de modificar y mejorar los cultivos y sus híbridos. Menciona además que los requisitos que debe llenar un fitomejorador colector de germoplasma son los siguientes:

- a). Debe saber que los cultivos presentan una o más necesidades específicas.
- b). Cuidar que exista diversidad en el material que ha sido colectado y conocer tales diversidades.
- c). Saber como intercambiar germoplasma con los demás fitomejoradores.
- d) Tener un programa activo de colectas, las cuales se lleven a cabo en sus hábitats naturales, aunque no sea posible hacer una colección sistemática de todos los lugares del mundo.

- e). Debe saber escoger los sitios más idóneos.
- f). Estudiar los manuales botánicos, especímenes de herbario y considerar todas las condiciones ecológicas de los posibles sitios de selección.
- g). Asistir con científicos locales que trabajen el mismo cultivo, a los países donde las colecciones puedan tener un valor invaluable.
- h). Debe tener arreglos con la aduana para introducir el germoplasma, cumpliendo con las reglas establecidas para estas situaciones.
- i). Describir el material y el sitio de colección correctamente.
- j). A través de visitas a los sitios muestreables tratar de obtener la mayor diversidad genética posible.
- k). Debe coleccionar el material suficiente que le permita realizar una evaluación, un incremento, un uso y un almacenamiento.

Domesticación

De acuerdo con Mangelsdorf (1952), el hombre con la práctica de la agricultura ha transformado la superficie de la tierra y ha llevado a cabo grandes cambios en su vegetación, además de procurar siempre aquellas especies vegetales que le son de utilidad, tenemos así que ha procurado que el desarrollo en la

utilización de las plantas vaya en aumento y aun en la actualidad, podremos mencionar lo referido por Kupsow (1980), en relación con el origen de las plantas cultivadas que de acuerdo con él, éste fue evidentemente por una razón económica.

Para Simmonds (1979), existen varias categorías distintas para la utilización de nuevos cultivos, entre ellas:

- Domesticación de plantas silvestres para nuevos cultivos.
- Adaptación en nuevos sitios, de cultivos antiguos.
- Formación de nuevos cultivos a través de la poliploidia.

En relación con lo anterior, Chávez (1990), menciona que para la formación de variedades mejoradas a partir de especies silvestres se deben de desarrollar dos fases importantes, la domesticación y el mejoramiento genético. En base a esto, el CIQA (1979), menciona que al iniciar las pruebas de domesticación de cualquier especie vegetal, se debe de iniciar paralelamente la formación de un banco de germoplasma que es una entidad esencial en cualquier programa de domesticación y mejoramiento.

La domesticación consiste en poner al cuidado del hombre una especie silvestre que cuando se realiza con éxito, proporciona tipos domésticos que son superiores a los que se tenían anteriormente (Chávez, 1990).

Harlan (1976), indica que el uso de ciertos caracteres que presentan las especies silvestres para el mejoramiento, es un aspecto importante en la

domesticación, ya que cuando se incorporan varias características de una planta silvestre a una domesticada, lo que se hace en cierto modo, es domesticar en parte la especie silvestre.

De acuerdo con Chávez (1990), no existe un patrón universal para llevar a cabo la domesticación de cualquier especie vegetal, ya que esto está sujeto a las características de cada tipo de planta, sin embargo se presenta un esquema general de como se puede llevar a cabo la domesticación de una especie:

- a). Estudio ecológico de la especie.
- b).Recolección y selección de plantas sobresalientes.
- c). Identificación botánica de las colectas.
- d). Introduccion de materiales silvestres.
- e). Aplicación de prácticas culturales.
- f). Areas de adaptación.
- g). Selección de plantas prometedoras en base a sus características agronómicas.
- h). Evaluación y propagación de material sobresaliente.
- i). Eventual mejoramiento genético.

Necesidades de la Domesticación en Candelilla

En la actualidad, la explotación de la candelilla se abastece de las existencias naturales y su recolección ha sido de carácter arrasante y descontrolado, poniendo en peligro de extinción a la especie, ya que el método tradicional consiste en arrancar toda la planta desde la raíz, debido a que no se cuenta con las medidas técnicas para la recolección, lo cual ayudaría en gran medida la regeneración de las poblaciones naturales.

De la Cruz (1958), afirma que en muchas zonas se ha abusado de la explotación por lo que casi se han agotado las plantas de candelilla, aunque existen todavía áreas extensas que no han sido explotadas.

En la década pasada, los estados de San Luis Potosí y Nuevo León producían volúmenes importantes de cera de candelilla; las actuales reservas con que cuentan ya no permiten la explotación comercial. Lo mismo le ha sucedido a extensas superficies de los estados productores (Coahuila, Chihuahua, Durango y Zacatecas): de un número mayor de 300 ejidos que hace tiempo vivían del recurso, actualmente lo explotan cerca de 200. Se sabe que el 25 por ciento de éstos, han agotado totalmente el recurso en sus superficies respectivas; y en los ejidos en donde se encuentran pocas reservas de esta especie, los campesinos tienen que recorrer grandes distancias para poder explotar este recurso (De la Cruz, 1958).

Siendo la recolección una de las principales actividades de estas regiones, juega un papel muy importante para el sostenimiento de más de 3670 familias, ocasionando que los bajos ingresos obtenidos por estos ejidatarios y la

forma de recolección, traiga como consecuencia el desaliento y la decepción de muchas familias, causando con ello el abandono de los campos, y posteriormente la migración a las ciudades (De la Cruz, 1958).

Citogenética

El conocimiento completo de las especies a domesticar involucran también, los estudios cromosómicos que son de fundamental importancia en la citogenética y constituyen una herramienta valiosa en la dilucidación de problemas taxonómicos, filogenéticos y evolutivos. Los estudios citogenéticos en plantas son una valiosa herramienta para el fitomejorador, ya que el conocimiento del número cromosómico de determinada especie nos indica en cierto modo su sistema de reproducción, además nos permite programar de una manera más adecuada nuestros cruzamientos entre materiales con diferente nivel de ploidia.

Estudios Mitóticos

Todos los organismos poseen un conjunto definido de cromosomas al que se le denomina Genomio (Brown, 1972).

Los estudios cromosómicos se realizan en cromosomas mitóticos en metafase o en anafase y para este fin se utilizan tejidos somáticos con intensa división celular (Curtis, 1981).

Para estudios en mitosis, generalmente se utilizan ápices radiculares aun cuando cualquier tejido somático en crecimiento activo posee una actividad

mitótica muy alta, que hace útiles a estos órganos como fuentes de material para el estudio cromosómico a través de la mitosis.

Cariotipo

El interés del citogenetista es el de ser capaz de reconocer un cromosoma en particular, el intento por clasificar los cromosomas de un organismo en base a las características físicas, se conoce como análisis cariotípico. Por consiguiente el cariotipo es la descripción física del complemento cromosómico de un organismo. Dicho cariotipo toma en cuenta hasta donde sea posible las siguientes características de los cromosomas:

- a). Número de cromosomas
- b). Número de genomios
- c). Longitudes relativas
- d). Posición de centrómero
- e). Constricciones secundarias
- f). Otras, que pueden ser inducidas

El cariotipo se basa en figuras somáticas, pero las figuras meióticas en paquiteno, diacinesis y metafase I proporcionan características adicionales de valor considerable incluyendo el grado de homología y la distribución de quiasmas, características importantes cuando se manejan híbridos, heterocigotes estructurales y miembros de diferentes especies.

Cuando la identificación es posible, los cromosomas del juego haploide se pueden representar mediante un diagrama en el que se disponen en una serie decreciente por su longitud, con la localización del centrómero de cada cromosoma e indicando y representando el satélite y las constricciones secundarias. Tal representación diagramática del cariotipo se denomina Idiograma (Curtis, 1981).

Trabajos Afines.

Actualmente se cuenta con mucha información relacionada con número, estructura y comportamiento cromosómico, de una gran variedad de plantas incluyendo también las de zonas áridas con potencial, como lo son; Nopal el cual presenta una serie cromosómica que va desde el diploide ($2n=22$) hasta el octaploide de ($2n=88$), esta poliploidía juega un papel importante ya que permite una mayor flexibilidad genética (Caín, 1944).

Fisher *et al.* (1954) menciona que el número básico en zacate Buffel es nueve, encontrándose dentro de esta especie especímenes tetraploides y hexaploides.

En base a lo anterior cabe resaltar el hecho que aun cuando se realizó una exhaustiva revisión, no se encontró nada relacionado con el número cromosómico de candelilla, lo que permitirá ser los primeros en reportar dicho número.

MATERIALES Y METODOS

Los materiales utilizados en el presente trabajo fueron poblaciones de candelilla distribuidas en varios estados de la república donde se desarrolla naturalmente. El estudio se llevó a cabo en cuatro etapas de la manera siguiente:

Primero se determinó la distribución geográfica de las poblaciones naturales de la candelilla, incluyendo todos los municipios y pequeñas regiones candelilleras. Para llevar a cabo esta etapa se hizo una amplia revisión bibliográfica relacionada con la distribución y producción de cera, editada por diferentes fuentes, además fue necesario hacer un recorrido por las diferentes áreas, para constatar la presencia física de las poblaciones naturales y delimitar su distribución.

En la segunda etapa se realizaron las colectas y establecieron los ecotipos provenientes de los diferentes sitios previamente determinados en la etapa anterior. La selección de las plantas en cada uno de los sitios considerados se hizo en base al vigor de éstas y que la población fuera lo más homogénea posible, además se tomaron datos de altura, cobertura y rebrotes. Se incluyeron también datos ecológicos de cada sitio o localidad, como altura sobre el nivel del

mar, exposición, pendiente, tipo de suelo, profundidad y asociación con otras especies.

Para el establecimiento del banco de germoplasma *in situ* se cortaron cinco tallos de cada planta seleccionada (ecotipo), de los cuales cuatro fueron utilizados para el trasplante en el banco, y el quinto se envió al laboratorio para la determinación preliminar del contenido de cera de cada ecotipo seleccionado. La determinación se realizó utilizando 20 g de biomasa de la parte basal de cada tallo, la cual fue picada, sumergida y hervida en una solución de 2.5 ml de ácido sulfúrico diluidos en un litro de agua, por un tiempo de 60 minutos, filtrando posteriormente el extracto para separar la cera y calcular su porcentaje.

Los materiales colectados en los diferentes sitios se establecieron en terrenos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Coah. localizados a una latitud de 25°23' N y una longitud de 101°00' W y a una altura sobre el nivel del mar de 1743m; el tipo de suelo es el Rendzina y Castañozem con un pH de 7.8. El establecimiento se hizo en hileras a una distancia entre plantas e hileras de un metro.

La tercera etapa se llevó a cabo después del establecimiento de los ecotipos en el banco de germoplasma, consistió en la selección visual aleatoria de 90 ecotipos a los cuales se les tomó datos de color, altura de planta, cobertura, número de hijuelos, tipo de suelo y por ciento de cera, seleccionándose

posteriormente aquellos ecotipos con el más alto contenido de cera. los cuales podrán ser utilizados en un programa de mejoramiento genético en el futuro.

Los datos antes señalados se describen a continuación:

Color. Se determinó el color de cada ecotipo seleccionado, utilizando una escala arbitraria del color, a la cual se le dieron valores del uno al cinco, en donde el uno correspondió al color blanco o grisáceo, que se asume tiene mayor contenido de cera, y el número cinco al color verde oscuro, que aparentemente es el que contiene menos cantidad de cera. Los valores intermedios entre estos dos extremos, correspondieron a tonalidades de color que se encontraban entre el blanco y el verde.

Altura de planta. Esta se tomó midiendo el ecotipo desde el ras del suelo hasta la parte terminal de los tallos.

Cobertura. Esta corresponde al área cubierta por su biomasa.

Número de hijuelos. Se refiere al número de hijuelos o rebrotes que presentaba cada ecotipo seleccionado.

Tipo de suelo . Este se determinó usando tres criterios, asignándoles un valor arbitrario a cada uno de ellos, siendo el número uno para el mejor suelo, el cual presentaba un suelo profundo, con materia orgánica disponible para el desarrollo de la planta. El número dos se asignó al suelo con pedregosidad y con poca

materia orgánica, y por último, el número tres correspondió al suelo compuesto básicamente de piedra o caliche.

Porciento de Cera. En esta parte al igual que en la anterior donde se determinó el contenido de cera, la determinación se realizó utilizando el método del ácido sulfúrico diluido. Sin embargo, antes de realizarla hubo necesidad de hacer una serie de pruebas preliminares para determinar la metodología más adecuada para la cuantificación del porcentaje de cera. Dichas pruebas se hicieron con tres diferentes diluciones de ácido sulfúrico, las cuales fueron de 2.5, 1.5 y 0.5 ml/l, utilizando muestras secas y frescas para la extracción; filtrándose posteriormente las muestras tanto en frío como en caliente para determinar con cual de los procesos (frío o caliente) se obtenía una mayor cantidad de cera. A todas las extracciones se les dio un tiempo de extracción de 60 minutos.

En la cuarta etapa se llevaron a cabo pruebas preliminares para la obtención de la técnica más adecuada para la determinación del número cromosómico, correspondiente a cada uno de los ecotipos sobresalientes.

Las pruebas de laboratorio fueron realizadas para precisar tratamientos de germinación de semilla para la obtención de meristemas radiculares, horas de corte, tiempo de hidrólisis y coloración. Para realizar lo anterior, se obtuvo semilla de candelilla de los ecotipos seleccionados, la cual se puso a germinar en cajas de petri bajo dos condiciones de la siguiente manera: temperatura ambiente y a 30°C usando dos tratamientos, cajas con solo papel filtro, cajas con papel filtro y

vermiculita . Una vez obtenidos los meristemas, éstos se cortaron en un espacio de tres horas, con intervalos de 15 minutos, empezando a cortar desde las 7:00 hasta las 10:00 AM, con la finalidad de encontrar la hora de mayor incidencia de división celular. Una vez realizados los cortes y obtenidos los meristemas, una parte de ellos se fijaron directamente en farmer por un tiempo de 24 h, y la otra parte se colocaron en paradiclorobenceno (pretratamiento) por espacio de tres horas con el fin de romper las fibras del huso acromático, provocando a través de esto la separación de los cromosomas. Los meristemas pretratados se fijaron en farmer al igual que los no pretratados.

La hidrólisis se realizó utilizando HCl 1 N a 60°C, con tiempos de 8 y 10 minutos, esto con el fin de romper la lámina media celular y obtener células individuales. Transcurrido el tiempo de hidrólisis, se colorearon con Feulgen colorante específico para ADN. Fue necesario además, colocar los meristemas en citaza por un tiempo de tres horas para ablandar el material, posteriormente se enjuagó y se colocó en colorante carmín propiónico quedando listo el material para ser procesado.

Las preparaciones cromosómicas se elaboraron utilizando la técnica de amacerado y se hicieron permanentes a través de fijación con CO₂ y bálsamo de Canadá.

La determinación del número cromosómico se realizó en base al análisis de las preparaciones cromosómicas, de las cuales, aquellas que presentaron

células con los cromosomas más separados. se microfotografiaron y dibujaron en cámara clara. esto permitió realizar el conteo exacto de los cromosomas de cada ecotipo.

En algunos ecotipos no fue posible la obtención de semilla para realizar la determinación del número cromosómico a través de células mitóticas, por lo que fue necesario determinarlo a través de células meióticas, que se obtuvieron de botones florales, los cuales fueron fijados en farmer y colocados posteriormente en alcohol al 70 por ciento como conservador. Para la elaboración de preparaciones cromosómicas, se disectaron las anteras florales de donde se obtuvieron células en división meiótica en las cuales se determinó el número cromosómico correspondiente. Las preparaciones obtenidas se fijaron con CO₂ y bálsamo de Canadá, con el fin de preservar el material por tiempo indefinido.

Utilizando todas las variables antes mencionadas, se realizó un análisis de correlación múltiple, con la intención de encontrar alguna asociación entre éstas y el contenido de cera, lo que nos permitirá seleccionar indirectamente para alto contenido de cera.

En vista de que con los materiales de este estudio no fue posible estructurar el cariotipo se recurrió a un material de candelilla diferente a los ecotipos. Se estructuró en base al tamaño de los cromosomas observados en las microfotografías, acomodándolos de los más grandes a los más pequeños.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos sobre los estudios de la distribución geográfica de las poblaciones naturales de la candelilla, colecta y establecimiento de ecotipos, selección de los más sobresalientes y obtención de la técnica para la determinación del número cromosómico se presentan a continuación:

Distribución

Con el fin de que las colectas fueran lo más representativas de la variabilidad que existe dentro de las poblaciones naturales de candelilla, fue necesario determinar la ubicación geográfica donde se encuentran éstas; esto se logró haciendo uso de la información disponible al respecto, así como haciendo recorridos en las zonas y/o regiones donde se desarrolla naturalmente la planta.

Con lo anterior fue posible delimitar la región candelillera, la cual abarca una importante zona de la Altiplanicie Septentrional que se localiza cerca de los 1000 metros sobre el nivel del mar (msnm), colindando al oeste por la Sierra Madre Occidental, al este por la Sierra Madre Oriental y al sur por el estado de Zacatecas y las Colinas de San Luis Potosí. Sin embargo, a la planta de candelilla generalmente se le encuentra entre los paralelos 22°00 hasta los 30°40' latitud Norte y de los meridianos 99° 25' a 105°50' longitud Oeste, Figura 4.1

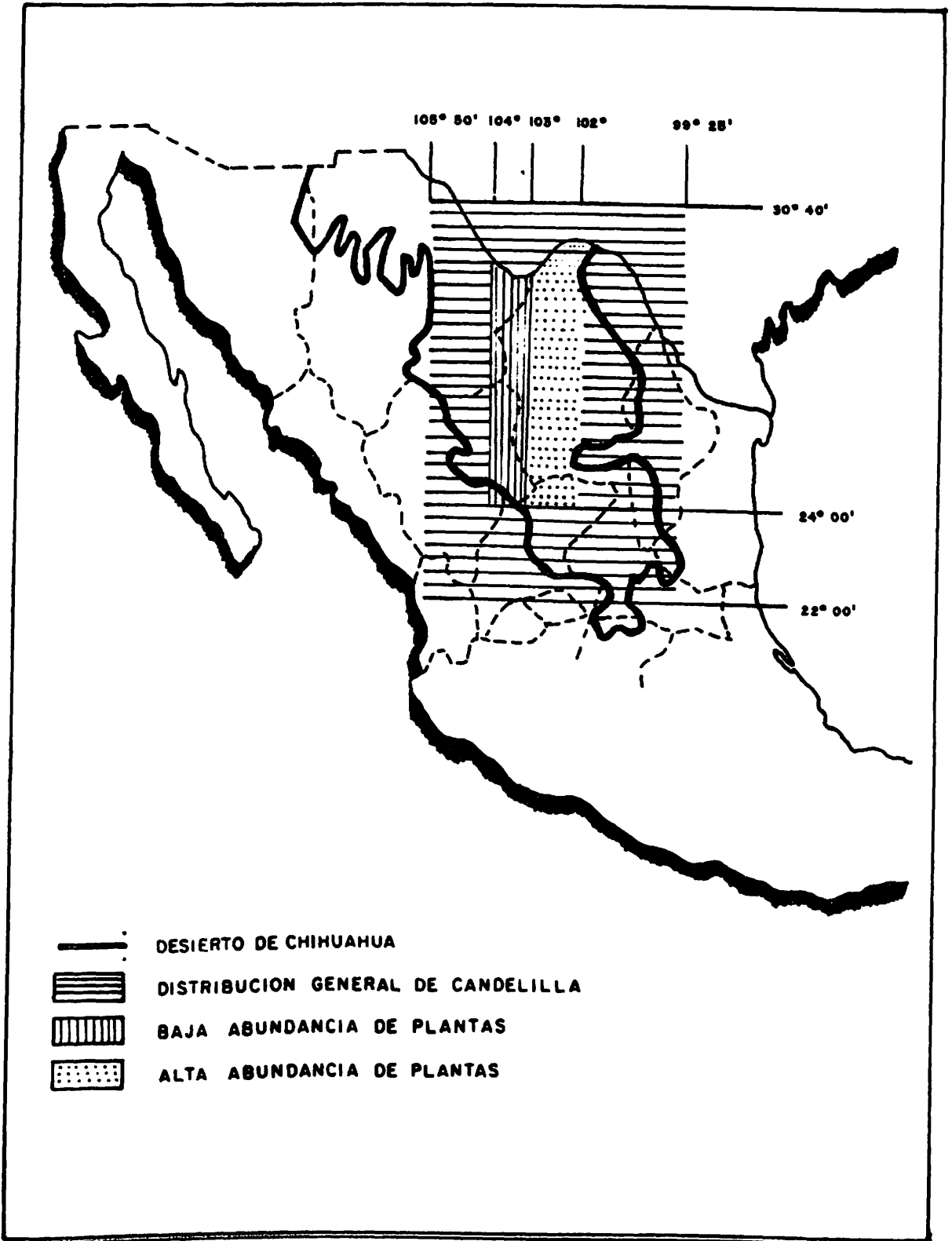


FIG.-4.1 DELIMITACION LATITUDINAL Y LONGITUDINAL DE LA DISTRIBUCION Y ABUNDANCIA DE LA CANDELILLA *Euphorbia antisiphilitica*.

Los lugares más poblados y grandes (manchones) de candelilla se encuentran en un cinturón que se extiende entre los meridianos 102° y 103° longitud W. y de los límites del Río Bravo hasta el paralelo $24^{\circ} 00'$ de latitud N. En México, los estados incluidos en la región candelillera son Coahuila, Durango, Zacatecas y Chihuahua, Figura 4.2. Cada estado constituye una región por sí misma y cada región es dividida en varios municipios, Figura 4.3, donde las comunidades están constituidas por los ejidos, Cuadro 4.1

Colecta

Cada una de las comunidades antes mencionadas fue subdividida en lugares de muestreo, donde en cada uno de ellos se colectaron aproximadamente 10 plantas. Las plantas colectadas se seleccionaron considerando su apariencia fenotípica, tomándose además a cada una de ellas los datos mencionados en materiales y métodos (altura, cobertura y n° de rebrotes). El número de colectas sumó 5270, que provienen de 468 sitios de nueve municipios y de tres estados, Cuadro 4.1

En el estado de Coahuila se seleccionaron cuatro municipios, en los cuales se muestrearon 13 comunidades, en éstas se ubicaron 315 sitios de colecta de donde se obtuvieron 3200 muestras. En el estado de Durango se muestrearon tres municipios con cinco comunidades, y 96 sitios, obteniéndose un total de 960

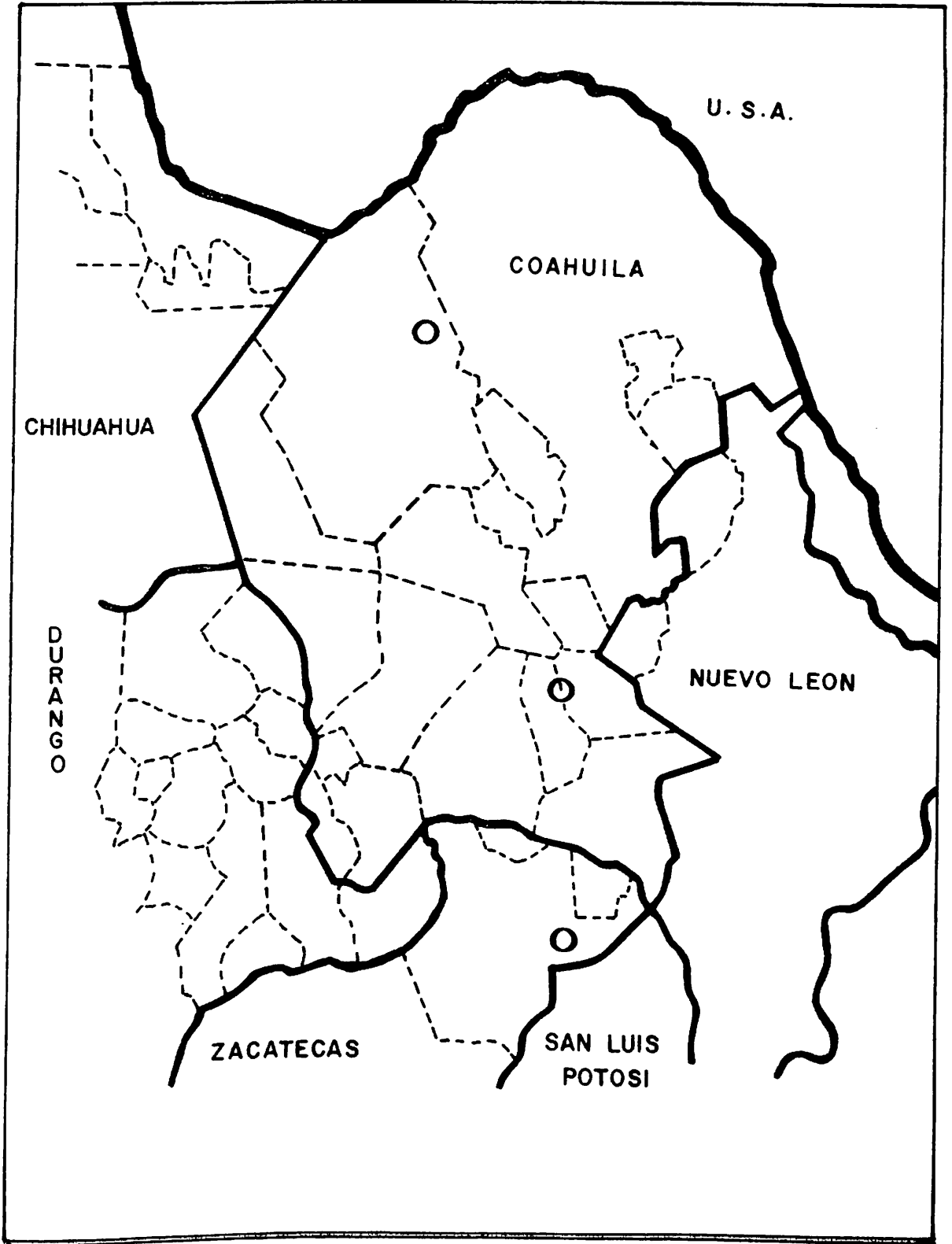


FIG. 4.2 ESTADOS CANDELILLEROS.

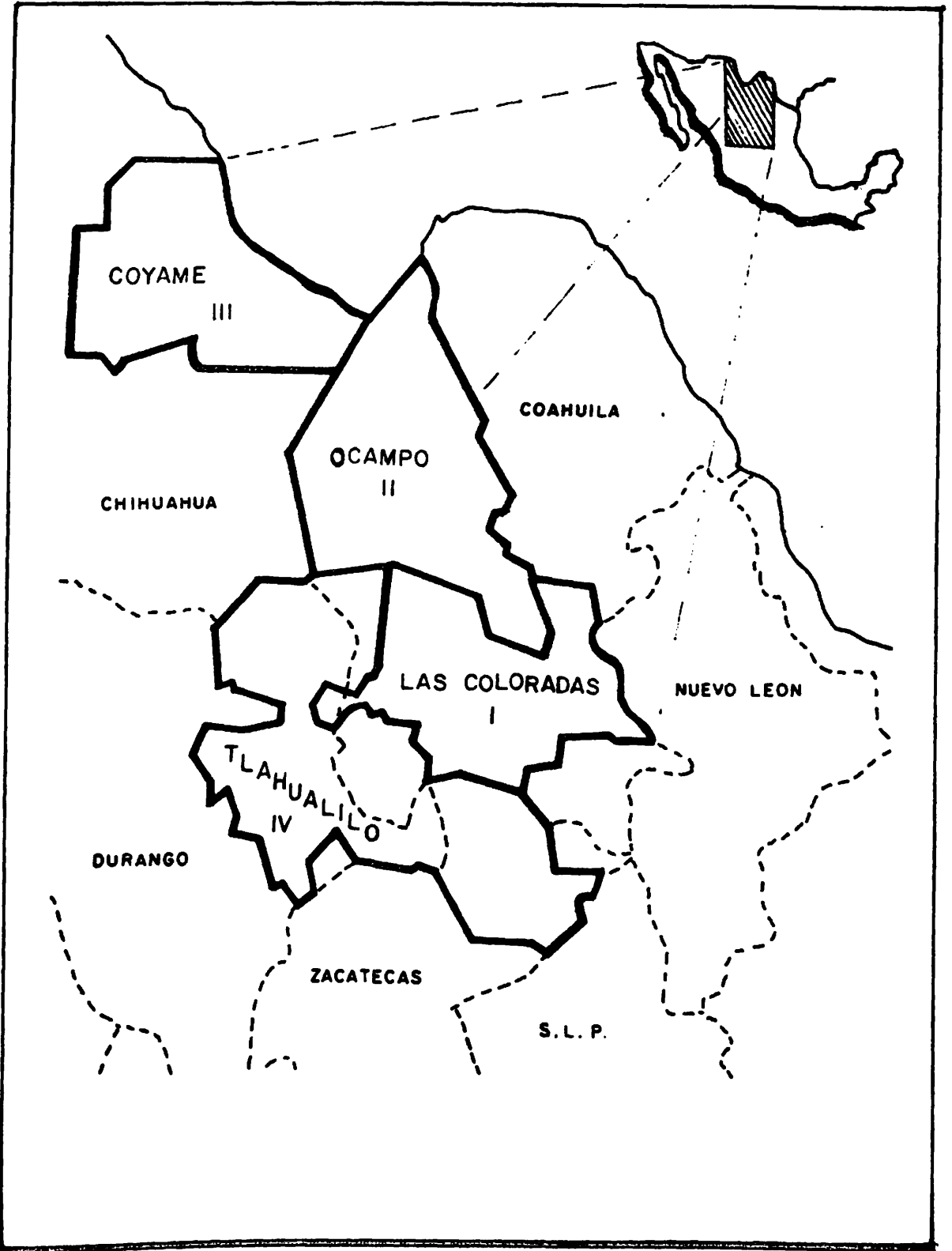


FIG.- 4.3 ZONAS PRODUCTORAS DE CERA DE CANDELILLA.

CUADRO 4.1 Número de muestras colectadas para formar el Banco de Germoplasma de Candelilla

Estado	Municipio	Comunidad	Número de Sitios	Número de Ejemplares	
COAHUILA	Ramos Arzpe	Nuevo Yucatán	25	250	
		La Luz Segunda	25	250	
		Coloradas	25	300	
		Laureles	30	300	
	Gral. Cepeda	Nueva Población			
		S. de la Paila	25	250	
		S. de la Paila	25	250	
	Parras	S.A. del Cable	25	250	
		Tanque Menchaca	25	250	
		La Constancia	25	250	
		El Amparo	30	300	
		El 4 de Marzo	30	300	
	Cuatrociénegas	Palomas	25	250	
	DURANGO	Lerdo	San Diego	9	90
Graceros			25	250	
S.P. del Gallo		Los Angeles	12	120	
Cuencamé		Cerrito Colorado	25	250	
		Vista Hermosa	25	250	
ZACATECAS		Concepción del Oro	Cedros	10	250
	Vergel		10	250	
	Sabana		10	250	
	Mazapil	Durazno	9	90	
		Mesillas	12	120	
		Reforma	6	150	
	3	9	24	493	5470

muestras. En el estado de Zacatecas se seleccionaron dos municipios donde se muestrearon 57 sitios de seis comunidades, dando un total de 1110 muestras.

El total de muestras colectadas y trasplantadas fue de 5270, sin embargo se presentó una mortalidad aproximada al 10 por ciento, causada probablemente por la inadaptabilidad de los materiales debido a las diferencias climáticas que presentan los estados con relación al lugar donde quedó establecido el banco de germoplasma.

Los materiales colectados en los diferentes sitios se establecieron en terrenos de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", en Buenavista, Coah. El establecimiento se hizo en hileras a una distancia entre plantas e hileras de un metro.

En base a lo anterior, el banco quedó constituido por 4970 muestras que sobrevivieron a los cambios ambientales a que fueron sometidas (Cuadro 4.1). Este banco de germoplasma reviste por lo tanto una gran importancia para cualquier programa de candelilla ya que representa un banco de genes con el cual se puede afrontar cualquier contingencia catastrófica (plagas, enfermedades, etc.) que se presente, por lo que es necesario conservarlo en su totalidad.

Selección Indirecta

De los 4970 ecotipos de candelilla establecidos en el banco de germoplasma y que conformaron el material de estudio de este trabajo, se

seleccionaron visualmente los mejores 90 ecotipos los cuales representan a los tres estados productores con sus sitios mas sobresalientes. Cuadro 4.2. cabe mencionar que la selección aleatoria en campo, sólo se basó en el aspecto fenotípico de las plantas seleccionadas sin considerar su origen, pudiéndose asegurar, en base a los resultados obtenidos, que este tipo de selección indirecta para contenido de cera, resulta eficiente siempre y cuando se tenga bien definido el criterio de selección, el cual consiste básicamente en considerar la coloración grisácea que presentan las plantas, característica presumible que tiene una relación directa con un mayor contenido de cera.

En base a los resultados obtenidos en el laboratorio con respecto a contenido de cera, se seleccionaron 41 ecotipos que presentaron los valores más altos Cuadro 4.3. Cabe mencionar que los valores aquí obtenidos difieren marcadamente de los obtenidos por Degollado (1989) en pruebas preliminares donde obtuvo valores de hasta un 11 por ciento de contenido de cera, mientras que en este estudio el análisis de las 90 muestras arrojó valores máximos de 3.75 por ciento de cera, dando diferencias muy considerables que pudieron ser debidas a errores de determinación, es decir, a la forma de como se analizaron las muestras en ambos trabajos, ya que Degollado consideró muestras secas para el análisis, aunado a la vez el poco tiempo que tenían los materiales de haber sido colectados, lo cual pudo haber influido en la presencia de un mayor contenido de cera. Por el contrario en las muestras de la presente investigación se analizaron utilizando materia fresca, lo cual pudo afectar el contenido de cera y

CUADRO 4.2 Origen de Ecotipos seleccionados visualmente del Banco de Germoplasma para alto contenido de cera

Estado	Municipio	Ejido	Nº plantas por ejido	
Coahuila	Ramos Arizpe	La Luz Segunda	3	
		Laureles	5	
	Gral. Cepeda	Paila	21	
		Parras	Menchaca	9
			Fco. del Barrial	5
			La Constancia	7
			El Amparo	2
El 4 de Marzo	4			
Cuatrociénegas	Palomas	9		
Durango	Lerdo	San Diego	1	
		Graceros	1	
	Cuencamé	Cerrito Colorado	1	
Zacatecas	Concepción del Oro	Cedros	6	
		Sabana	6	
	Mazapil	Mesillas	2	
		Reforma	1	
3	8	17	90	

CUADRO 4.3 Contenido de cera de 41 Ecotipos seleccionados visualmente del Banco de Germoplasma

GENOTIPO	ORIGEN		% de Cera
	Ejido	Municipio	
89	LA LUZ SEGUNDA	RAMOS ARIZPE	3.75
47	CEDROS	CONCHA DEL ORO	3.7
90	LA LUZ SEGUNDA	RAMOS ARIZPE	3.65
41	CEDROS	CONCHA DEL ORO	3.6
64	LA CONSTANCIA	PARRAS	3.5
66	CABLE	PARRAS	3.3
2	PAILA	GENERAL CEPEDA	3.25
56	SABANA	CONCHA DEL ORO	3.25
74	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	3.25
51	SABANA	CONCHA DEL ORO	3.2
77	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	3.2
62	LA CONSTANCIA	PARRAS	3.15
70	CABLE	PARRAS	3.05
79	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	3.05
44	CEDROS	CONCHA DEL ORO	3
84	LAURELES	RAMOS ARIZPE	3
43	CEDROS	CONCHA DEL ORO	2.95
57	SABANA	CONCHA DEL ORO	2.95
60	LA CONSTANCIA	PARRAS	2.95
69	CABLE	PARRAS	2.95
71	CABLE	PARRAS	2.95
39	CEDROS	CONCHA DEL ORO	2.85
67	LA CONSTANCIA	PARRAS	2.85
80	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	2.85
34	T. DE MENCHACA	PARRAS	2.8
68	CABLE	PARRAS	2.8
10	PAILA	GENERAL CEPEDA	2.75
58	FCO. DEL BARRIAL	PARRAS	2.75
9	PAILA	GENERAL CEPEDA	2.7
42	CEDROS	CONCHA DEL ORO	2.7
82	LAURELES	RAMOS ARIZPE	2.7
52	SABANA	CONCHA DEL ORO	2.7
38	SAN DIEGO	LERDO	2.65
40	MESILLAS	MAZAPIL	2.65
59	REFORMA	MAZAPIL	2.65
73	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	2.65
78	PALOMAS	CUATROCIENEGAS	2.65
63	LA CONSTANCIA	PARRAS	2.6
65	LA CONSTANCIA	PARRAS	2.6
17	PAILA	GENERAL CEPEDA	2.5
55	SABANA	CONCHA DEL ORO	2.5

por consecuencia los resultados obtenidos. Al respecto Vélez (1988). menciona que la recolección de la planta debe efectuarse en las épocas de primavera e invierno. Además, los campesinos, una vez que cortan o arrancan la planta la dejan secar por espacio de un mes lo cual puede influir en el contenido de cera.

Diversos autores como Kupsow (1980) y Simmonds (1979) coinciden que durante el proceso de domesticación de una planta, es necesario tener el adecuado conocimiento acerca del comportamiento de las plantas de interés bajo condiciones naturales, y su respuesta a diferentes sistemas de producción. Siendo además necesario estudiar algunas características vegetativas de las plantas *in-situ*, como son altura, cobertura, número de hijuelos, color de la planta, entre otras, las cuales de manera directa o indirecta influyen en la producción positiva o negativamente, lo que permitirá en un futuro realizar una selección indirecta para alto contenido de cera considerando estas características.

A los 90 ecotipos seleccionados del banco de germoplasma, se les tomaron datos de seis variables, siendo éstas altura, cobertura, número de hijuelos, color de la planta, tipo de suelo y por ciento de cera.

En el Cuadro 4.4, se presentan la correlación simple realizada entre las seis variables antes mencionadas, donde podemos apreciar que se obtienen valores muy cercanos a la no significancia en cuanto a la correlación, debido probablemente al tamaño de la muestra.

CUADRO 4.4 Análisis de correlación entre seis variables en Ecotipos sobresalientes de candelilla

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	SUELO	CERA	COLOR
ALTURA	1	0.364**	0.400**	0.045	-0.049	0.336**
COBERTURA		1	0.078	-0.003	-0.011	0.411**
HIJUELOS			1	0.041	-0.173	0.454**
SUELO				1	0.296**	-0.029
CERA					1	-0.286
COLOR						1

*, **: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente

Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01

De acuerdo con los valores obtenidos (Cuadro 4.4), se observa que la variable altura presenta una correlación positiva y altamente significativa con las variables cobertura, número de hijuelos y color de la planta, lo que nos indica claramente que las plantas con mayor altura presentan una mayor cobertura, asimismo un mayor número de hijuelos. Esto último coincide en cierto grado con lo observado por Degollado en 1989, ya que él observó una correlación positiva y significativa entre altura y número de tallos, la cual básicamente tiene su origen con la formación de hijuelos y por consecuencia el incremento en la cobertura de la planta y su peso. Con respecto al color, indica que las plantas más altas presentan una coloración de tonos claros, que de acuerdo con el criterio de selección utilizado en el presente trabajo, se espera que presenten un alto contenido de cera, situación que discutiremos más adelante.

Las variables cobertura y número de hijuelos, presentaron una correlación positiva y altamente significativa con color de planta (Cuadro 4.4). La cual viene a corroborar lo mencionado anteriormente, de que las plantas más altas presentan una mayor cobertura producto de su gran capacidad de rebrote, presentando además una coloración de tonos claros, los cuales indican alto contenido de cera, lo que nos permite concluir que la selección fenotípica para contenido de cera a través de la coloración de la planta resulta positiva. Lo mencionado anteriormente se puede apreciar de una manera más clara al interpretar la correlación negativa y altamente significativa, observada entre la variables por ciento de cera y color de la planta, (Cuadro 4.4). La cual nos indica

08184

claramente que dichas variables presentan un grado de asociación negativo, donde al disminuir el contenido de cera, la coloración de la planta se torna verde, y en forma contraria, al aumentar el contenido de cera, la coloración de las plantas es más clara.

Por último, en el Cuadro 4.4 se observa una correlación positiva y altamente significativa entre suelo y por ciento de cera, esto puede indicar que los diferentes ecotipos pueden responder adecuadamente a condiciones más o menos favorables de suelo, independientemente de las condiciones climáticas que prevalezcan donde se encuentren establecidos.

Además del análisis de correlación practicado a los 90 ecotipos seleccionados fenotípicamente, también se realizaron correlaciones considerando los 41 que presentaron el más alto contenido de cera, analizándose además en forma separada, todos los ecotipos tomando en cuenta su origen, Concepción del Oro, Zacatecas, Ramos Arizpe, Parras de la Fuente y Cuatro Ciénegas Coahuila, Cuadro A.1, A.2, A.3, A.4, y A.5

Los resultados de las correlaciones mencionados anteriormente se resumen en el Cuadro 4.5, donde podemos apreciar que las variables que presentaron mayor número de correlaciones fueron, altura (7), cobertura (11), color (3) y por ciento de cera (5), de las cuales las de mayor importancia en nuestra investigación fueron las de color y por ciento de cera que se utilizaron indirectamente para seleccionar para alto contenido de cera y que nos permiten

CUADRO 4.5 Variables correlacionadas en candelilla

Ecotipos Correlacionados	Variables				
	Altura	Cobertura	Hijuelos	Suelo	Color
DEL 1 AL 90	Cobertura (+) **	Color (+) **	Color (+) **	Cera (+) **	Cera (-) **
	Hijuelos (+) **				
	Color (+) **				
DEL 1 AL 43		Color (+) *			Suelo (-) *
		Suelo (-) *			Cera (-)
RAMOS ARIZPE		Color (+)			Cera (-)
PARRAS	Cobertura (+)	Color (-)	Suelo (+) *		Cera (-) *
		Cera (+) *			
CUATROCIENEGAS	Color (+)	Hijuelos (-) *			
	Suelo (-)				
	Cera (-)				
CONCEPCION DEL ORO		Hijuelos (+)	Color (+) *	Cera+F57 (-)	
		Color (+) *			
		Suelo (-)			
		Cera (-)			
	7	11	3	2	5

comprobar la tendencia negativa de estas variables a través de todos los análisis practicados y la eficiencia de la selección indirecta para alto contenido de cera.

Estudio Cromosómico

De cada uno de los 41 ecotipos seleccionados, se tomó una parte que fue trasplantada en el invernadero, con la finalidad de producir semilla para utilizarse en estudios citogenéticos para determinar el número cromosómico de dichos ecotipos.

Para la determinación del número cromosómico fue necesario realizar pruebas preliminares, encaminadas a determinar la técnica más adecuada para la elaboración de laminillas cromosómicas. En estas pruebas, como se había mencionado en el Capítulo de Materiales y Métodos se consideraron diferentes variables, como tratamientos para lograr que la semilla germinara para obtener meristemas radiculares, horas de corte, tiempo de hidrólisis y coloración.

En base a las pruebas mencionadas anteriormente se encontró que utilizando solamente papel filtro en cajas petri a una temperatura de 30°C por espacio de ocho días, logra germinar adecuadamente la semilla. Las horas de cortes nos permitieron encontrar que la mayor incidencia de división celular se da entre las 8:00 y las 9:00 am. Además, el uso del pretratamiento paradiclorobenceno favoreció la individualización de los cromosomas lo que permitió llevar a cabo adecuadamente los conteos cromosómicos en los materiales que sí lograron germinar. En relación con esto, podemos mencionar

que es recomendable también el uso de la colchicina, ya que de acuerdo con García (1977) también provoca el mismo efecto. Por último, en la hidrólisis se observó que utilizando un tiempo de 10 minutos a 60°C en HCl 1 N, es suficiente para obtener buenos resultados al momento de la coloración con Feulgen.

Utilizando la técnica antes descrita se determinó el número cromosómico a los siguientes ecotipos:

Ecotipo	Origen
42	Cedros, Concepción Del Oro.
63	San Antonio Del Cable, Parras De La Fuente
69	San Antonio Del Cable, Parras De La Fuente
74	Palomas, Cuatrociénegas Coahuila.
77	Palomas, Cuatrociénegas Coahuila.
79	Palomas, Cuatrociénegas Coahuila.
82	Laureles, Ramos Arizpe.
90	La Luz Segunda, Ramos Arizpe.

El número cromosómico encontrado en los ocho ecotipos enumerados anteriormente fue de $2n=56$, no encontrándose diferentes niveles de ploidía entre los materiales, aún y cuando los ecotipos analizados provenían de diferentes orígenes, por lo que se puede asegurar que el número básico en candelilla es de $n=28$; dicho número fue corroborado a través de otra técnica al analizar los

ecotipos 42 y 69 ya que éstos, debido a que presentaron problemas de germinación fue necesario utilizar células meióticas provenientes de las anteras florales, en las cuales dada su naturaleza se determinó el número haploide o gamético de cada ecotipo, el cual resultó ser $n = 28$, número cromosómico constante en todos los ecotipos analizados; esto resulta contrario a lo que se ha encontrado en otras especies de plantas de zonas áridas con potencial, tal es el caso de guayule, nopal, gobernadora etc. en las cuales se han observado diferentes niveles de ploidía, esto puede ser debido probablemente a su origen filogenético.

En las Figuras de la 4.4 a la 4.11 se observan claramente los cromosomas correspondientes a cada ecotipo. Aún cuando se logran apreciar claramente los cromosomas a pesar de su tamaño (muy pequeño) no fue posible realizar mediciones de los mismos, ni llevar a cabo la estructuración de los cariotipos correspondientes a cada material, permitiéndonos solamente llevar a cabo los conteos. Sin embargo en otro material de candelilla establecido en el banco de germoplasma pero diferente a los ecotipos estudiados, se logró estructurar el cariotipo, utilizando medidas relativas de cada cromosoma, y ordenándolos principalmente en base a éstas, sin poder distinguir adecuadamente posición de centrómero, Figuras 4.12 y 4.13

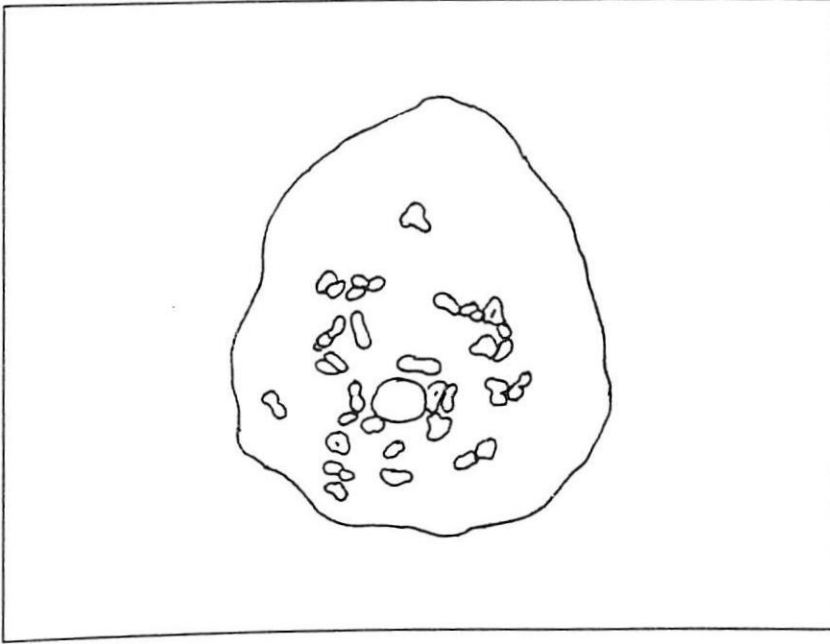


Figura 4.4. Ecotipo Número 42 célula meiótica diploide
($2n=2x=56$)

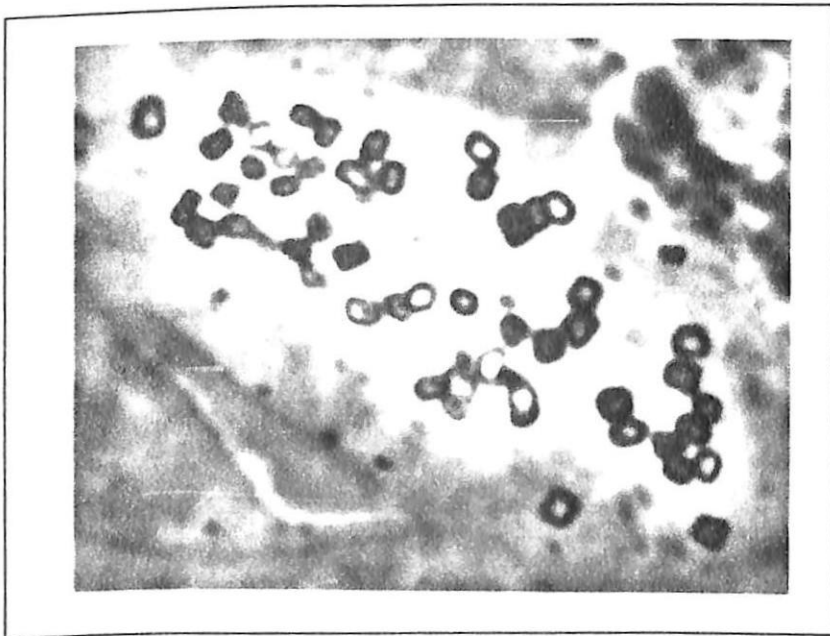


Figura 4.5. Ecotipo Número 63 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

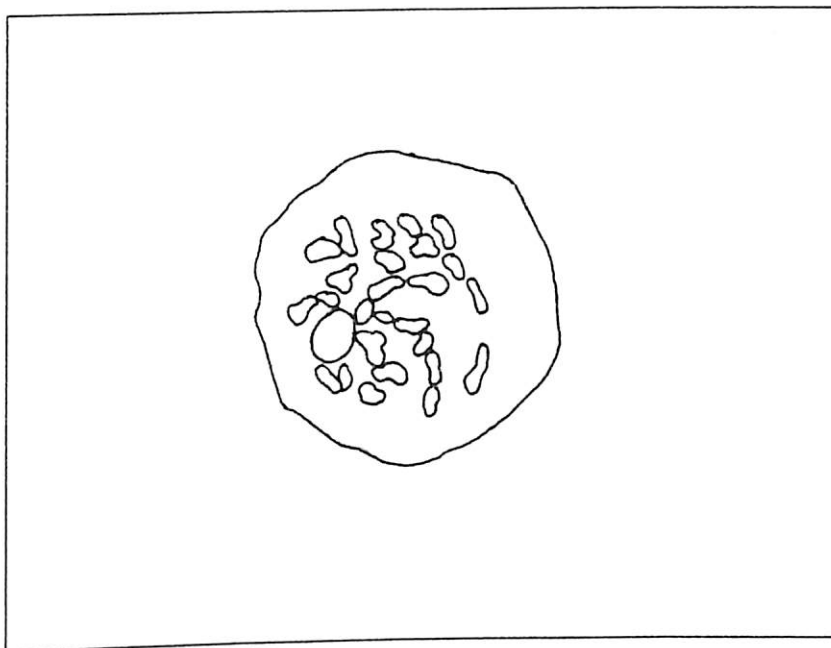


Figura 4.6. Ecotipo Número 69 célula meiótica diploide
($2n=2x=56$)

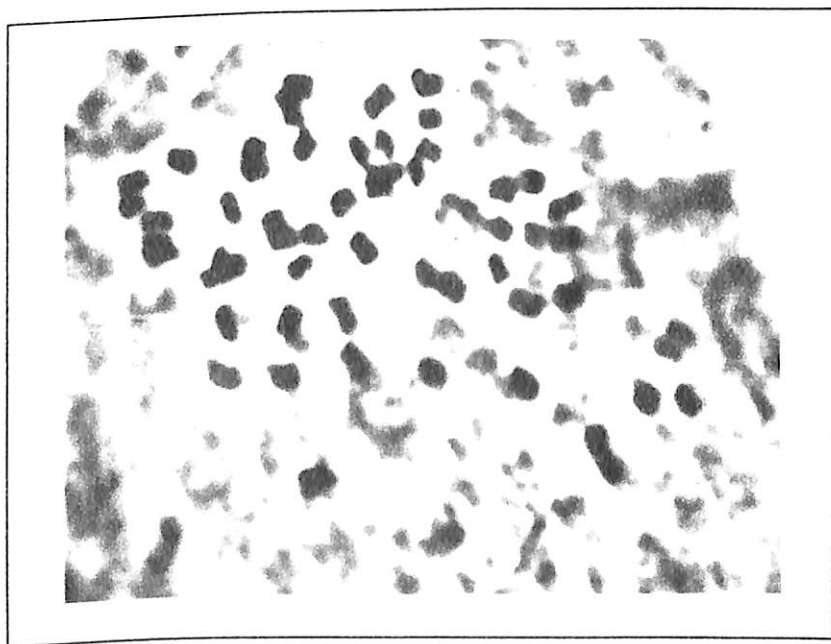


Figura 4.7. Ecotipo Número 74 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

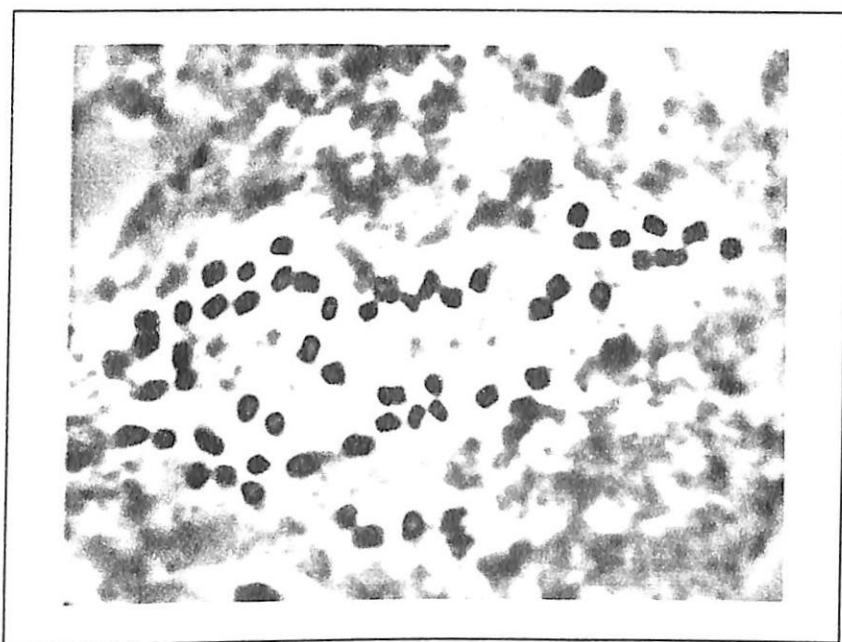


Figura 4.8. Ecotipo Número 77 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

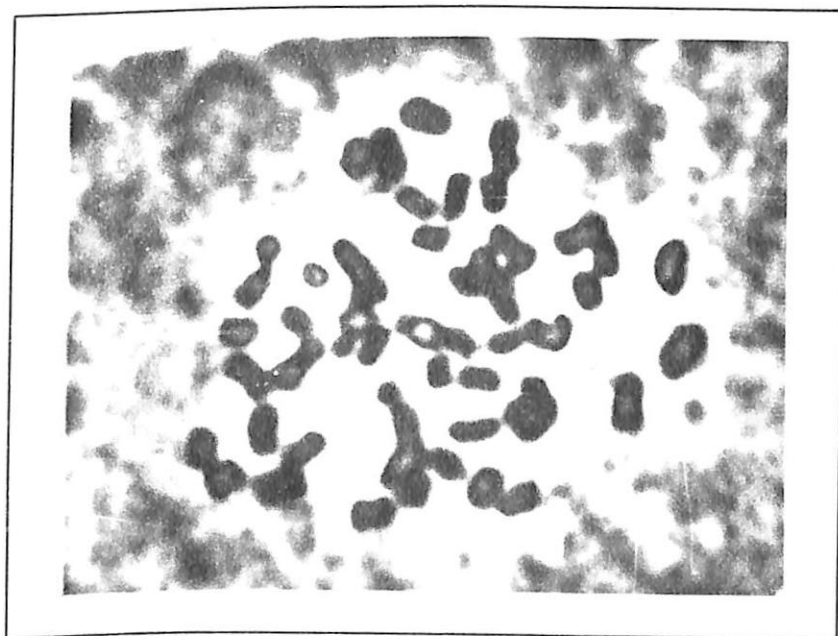


Figura 4.9. Ecotipo Número 79 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

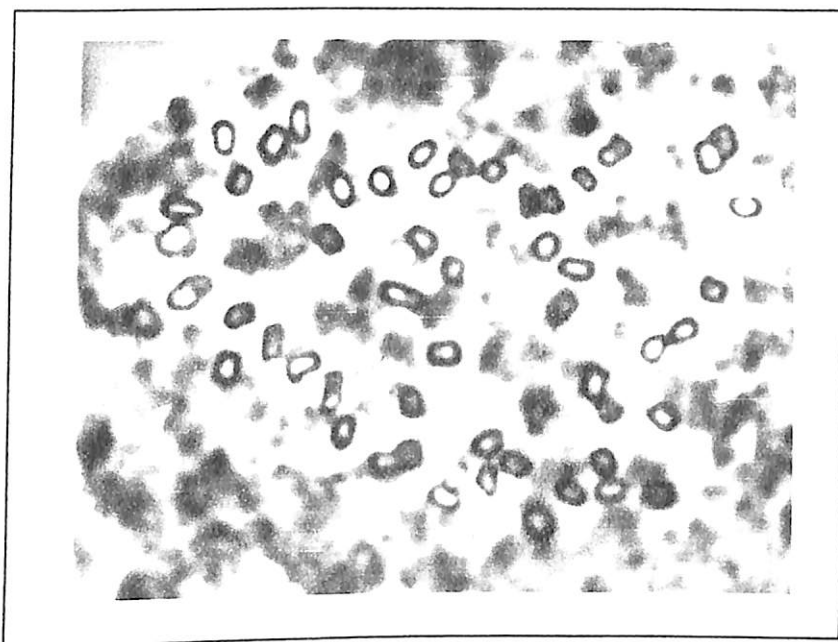


Figura 4.10. Ecotipo Número 82 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

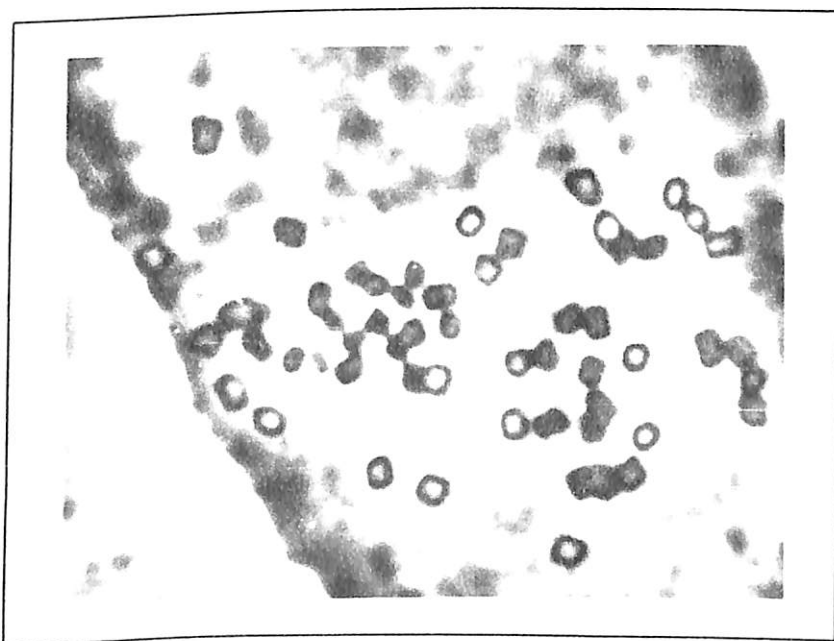


Figura 4.11. Ecotipo Número 90 célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

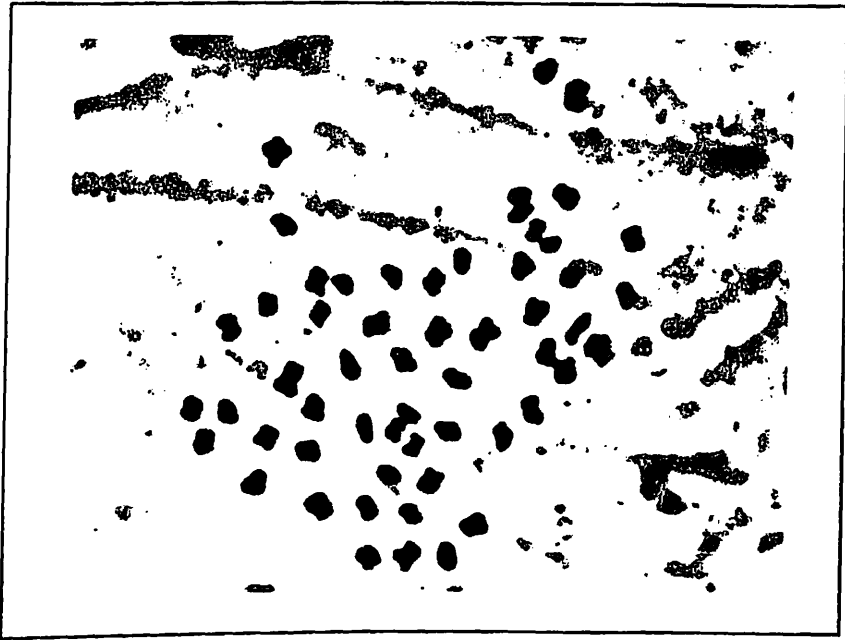


Figura 4.12. Ecotipo de candelilla célula mitótica diploide
($2n=2x=56$)

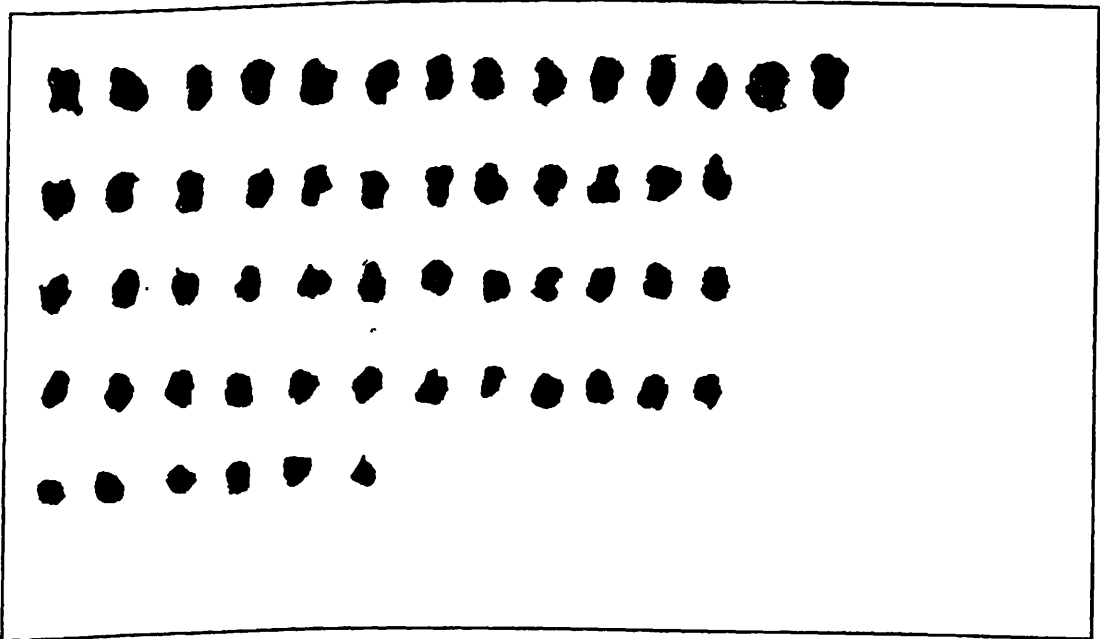


Figura 4.13. Cariotipo de Candelilla Utilizando medidas relativas

CONCLUSIONES

- De los ecotipos seleccionados del banco de germoplasma para alto contenido de cera, el Estado de Coahuila está representado por el 77.77 por ciento, Durango el 5.55 por ciento y el estado de Zacatecas con un 16.66 por ciento.
- Se cuenta actualmente con una muestra representativa muy importante, de la variabilidad genética existente en candelilla a través del banco de germoplasma.
- Existe variabilidad genética para contenido de cera.
- La selección indirecta para alto contenido de cera, a través del color de la planta puede ser de utilidad en el mejoramiento genético, ya que se observó una correlación positiva y altamente significativa entre ambas variables.
- Se encontró correlación positiva y significativa entre algunas variables morfológicas con color de planta.
- La técnica citogenética para la determinación del número cromosómico no es específica, sino que la convencional funciona con ciertas adecuaciones.

- Se determinó en el presente trabajo que en candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) el número cromosómico haploide es de $n=28$, por lo tanto el diploide es de $2n=56$.
- En candelilla es muy probable que no existan diferentes niveles de ploidia.

RESUMEN

En México las zonas áridas ocupan 796,806,036 Km² que representan el 40.5 por ciento de la superficie del territorio nacional. Con una población de 7,793,000 habitantes, siendo sus principales actividades la recolección de especies silvestres con potencial alimenticio y/o industrial, encontrándose entre ellas la candelilla que es soporte económico de aproximadamente 12,000 familias campesinas, distribuidas en las regiones de Coahuila, Zacatecas, Durango, Chihuahua y Nuevo León, que comprenden la region candelillera de nuestro país.

Debido al incremento en la demanda de cera de candelilla a nivel mundial, es necesario planear estrategias encaminadas a lograr que la candelilla sea explotada racionalmente, estableciendo prácticas de cultivo que permitan un mejor manejo, el establecimiento de un programa de mejoramiento genético y un banco de germoplasma a través de colectas, que incluyan la mayoría de los sitios comprendidos en la región candelillera, que permita preservar la variabilidad existente en las poblaciones naturales.

Este estudio se llevó a cabo bajo los siguientes objetivos: zonificar y coleccionar individuos de candelilla fenotípicamente sobresalientes, establecer las

LITERATURA CITADA

- Alarcón M.,A. 1945. La candelilla, su explotación, industrialización e importancia económica en el estado de Chihuahua. Tesis profesional E.N.A. Chapingo, México.
- Brown, W.N. 1972. Text book of cytogenetics. The C.U. Mosby. Co Saint Louis, 346.
- Burton, V.S. 1979. Handling cross-pollinated germplasm efficiently. Crop Sci. (19): 686-690. Georgia, USA.
- Cain, S.A. 1944. Foundations of plant geography. Harper and Brother., New York.
- Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). 1979. Sistema Agroindustrial Candelilla un informe ejecutivo sobre la factibilidad técnico económica de su modernización. Saltillo, Coah., México.
- Chávez A., J.L. 1990. Mejoramiento de Plantas 1, UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. Mexico.
- Creech, J.L. and L.A. Reitz 1971. Plant germplasm now and for tomorrow. Advances in Agronomy (23): 1-49. Beltsville, Maryland.
- Cruz C., J.A. De la 1958. Contribución al estudio de la candelilla. Tesis profesional. Universidad de Coahuila, ESAAN. Saltillo, Coah.
- Curtis P., J. 1981. Manual para la elaboración de preparaciones cromosómicas en plantas. Patronato Universitario A.C., de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Mexico.
- Degollado V., M.A. 1989. Estudios sobre domesticación de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.), banco de germoplasma, métodos de extracción de cera y regresión lineal múltiple. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.
- Esquivel W., M. 1979. Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc), Estudio Monográfico, U.A.N.L. F.C.B., Monterrey, N.L., México.

- Fisher, W.D. E.C. Bashaw and E.C. Hoit 1954. Evidence for apomixis in *Pennisetum ciliare* and *Cenchrus setigerus*, Agronomy Journal 46:401-404. College of Texas.
- Flores C., E. 1938. La candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*). Tesis de Licenciatura. ENA Chapingo. México.
- Flores C., E. 1941. La candelilla (*Euphorbia cerifera* Alc), Resúmenes, 1^{er} Congreso Forestal. México, D.F.
- García C., M. 1939. Estudio económico-comercial de la candelilla. D.A.P.P. México, D.F.
- García V., A. 1977. Manual de técnicas de Citogenética, 2a Edición. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Harlan, J.R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. Crop. Sci. (16):329-333. University of Illinois. USA.
- Kupsow, A.J. 1980. Theoretical basis of the plant domestication. Theoretical and applied genetics. (57): 65-74. Moscow (USSR).
- Mangelsdorf, P.C. 1952. Evolution under domestication. American Nat. 86: 65-67 USA.
- Mathus M., J.G. 1981. Aprovechamiento de la cera de candelilla en México. Memorias, Primera reunión sobre ecología, manejo y domesticación de las plantas útiles del desierto. Monterrey, N.L., México.
- Marroquín J., S.G.; L. Baroja; R. Velázquez y J.A. de C. 1981. Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Publicación especial N°2, 2a edición. INIF-SARH. México, D.F.
- Robles S., R. 1985. Producción de oleaginosas y textiles. 2a edición. Editorial Limusa. México, D.F.
- Simmonds, N.W. 1979. Principles of crop improvement. Longman, London.
- Smartt, J. 1978. The genomes of *Arachis hipogaea*, citogenetic studie of putative genome donors. Crop. Science (27): 665-675. USA.
- Vélez S., F. 1988. Desarrollo de la candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*) bajo diferentes métodos de poda estacional en la localidad Sierra de la Paila, Coahuila. Tesis profesional, UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.

APENDICE

Cuadro A.1. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candelilla.

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	-0.1184	0.2561	-0.0453	-0.141	0.0424
COBERTURA		1	-0.0812	0.3449*	-0.3108	-0.0545
HIJUELOS			1	0.1967	0.2266	0.0097
COLOR DE P.				1	-0.3486	-0.253
SUELO					1	0.0946
% DE CERA						1

* **: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.

Cuadro A.2. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candrilla localidad Ramos Arizpe, Coah

	ALTURA	COBERTUR	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	0.1195	-0.2168	-0.184	0	-0.0648
COBERTURA		1	-0.0171	0.6558	0	-0.5914
HIJUELOS			1	0.3794	0	0.3149
COLOR				1	0	-0.5625
SUELO					1	0
% DE CERA						1

*, **, ***: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
 Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.

Cuadro A.3. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candelilla. Localidad Parras Coah

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	0.4759	0.1349	0.2585	-0.1693	-0.109
COBERTURA		1	-0.175	-0.4645	-0.2064	0.5607
HIJUELOS			1	0.1698	0.6521*	-0.3035
COLOR				1	0.0318	-0.5489
SUELO					1	-0.1216
% DE CERA						1

* , ** : Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
 Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.

Cuadro A.4. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candleilla. Localidad Cuatrociénegas, Coah.

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	0.2971	-0.1085	0.3714	-0.5086	-0.5057
COBERTURA		1	-0.7583	0.1263	-0.2744	0.0592
HIJUELOS			1	-0.2231	0.0829	-0.2243
COLOR				1	0.0693	0.1137
SUELO					1	0.2857
% DE CERA						1

*, **: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
 Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.

Cuadro A.4. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candellilla. Localidad Cuatrociénegas, Coah.

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	0.2971	-0.1085	0.3714	-0.5086	-0.5057
COBERTURA		1	-0.7583	0.1263	-0.2744	0.0592
HIJUELOS			1	-0.2231	0.0829	-0.2243
COLOR				1	0.0693	0.1137
SUELO					1	0.2857
% DE CERA						1

*, **: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
 Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.

Cuadro A.5. Análisis de correlación entre seis variables evaluadas en ecotipos sobresalientes de candellilla. Localidad Concepción del Oro, Zac

	ALTURA	COBERTURA	HIJUELOS	COLOR	SUELO	% DE CERA
ALTURA	1	-0.0215	-0.0108	-0.1548	-0.0829	0.09
COBERTURA		1	0.5419	0.6445	-0.3603	-0.5363
HIJUELOS			1	0.6471	-0.0859	-0.1906
COLOR				1	-0.1648	-0.3237
SUELO					1	0.2372
% DE CERA						1

* , **: Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente
 Valores de comparación: 0.2050 al 0.05 y 0.2673 al 0.01.