

## VARIACIÓN EN CARACTERÍSTICAS DE SEMILLA EN NOCHEBUENA SILVESTRE (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)

### VARIATION IN CHARACTERISTICS OF SEED IN WILD POINSETTIA (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)

**Jaime Canul-Ku<sup>1\*</sup>, Faustino García-Pérez<sup>1</sup>, Edwin Javier Barrios-Gómez<sup>1</sup>, Felipe de Jesús Osuna-Canizalez<sup>1</sup>, Sergio Ramírez-Rojas<sup>1</sup>, Carlos H. Avendaño-Arrazate<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Campo Experimental Zacatepec, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. km 0.5 Carr. Zacatepec-Galeana. Zacatepec, Morelos, C.P. 62780. México.

Correo-e: canul.jaime@inifap.gob.mx; garcia.faustino@inifap.gob.mx; barrios.edwin@inifap.gob.mx; osuna.felipe@inifap.gob.mx; ramirez.sergio@inifap.gob.mx; avedano.carlos@inifap.gob.mx

<sup>2</sup>Campo experimental Rosario Izapa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

\*Autor responsable.

---

### RESUMEN

Existe la necesidad de generar información sobre características de semilla de nochebuena. El objetivo fue caracterizar mediante variables cuantitativas basadas en semilla y cotiledón en colectas de nochebuena silvestre de Morelos, Guerrero y Nayarit, y determinar la relación que guardan entre ellas. El diseño experimental fue completamente al azar y se realizó análisis multivariado de componentes principales, discriminante canónico y de conglomerados para conocer la variación. Se utilizaron 50 semillas por colecta y se registraron: el diámetro polar, diámetro ecuatorial mayor y menor, relación diámetro

polar diámetro ecuatorial de semilla, así como el peso de 100 semillas; además se midió la longitud y ancho de cotiledón. El análisis de componentes principales mostró que con los tres primeros componentes se explicó el 87 % de la varianza total, se formaron dos grupos y las variables que permitieron ésta agrupación fueron tamaño de cotiledón, diámetro ecuatorial mayor y peso de semilla. En el análisis discriminante canónico la primera variable canónica explicó el 73 % y la segunda el 22 %; las variables de mayor poder discriminatorio fueron ancho del cotiledón, diámetro ecuatorial mayor y peso de 100 semillas. El discriminante canónico y de conglomerados permitió la agrupación de las colectas en cuatro grupos. Las plantas de nochebuena silvestre colectadas en áreas de distribución natural en Morelos, Guerrero y Nayarit en

México, presentaron amplia variación genética en características de semilla. Existe potencial en semillas silvestres de nochebuena, es necesario estudiar, preservar y aprovecharlo en programas de mejoramiento genético de nochebuena en México.

**Palabras clave:** *Caracterización, componentes principales, discriminante canónico, cotiledón.*

## ABSTRACT

There is a need to generate information on seed characteristics of poinsettia. The goal of this study was to characterize through quantitative variables, based in seed and cotyledon in accessions of wild poinsettia from Morelos, Guerrero and Nayarit, and to determine relations among them. Experimental design was completely randomized and multivariate analysis of principal components, canonic and conglomerate discriminator was used. Fifty seeds per accession were used to register polar diameter, large and short equatorial diameter, the rate of polar to equatorial diameter and 100 seeds weight; additionally, length and width of cotyledon was measured. Principal component analysis showed that with first three components 87 % of total variation was explained, two groups were formed and the variables allowing this grouping were size of cotyledon, larger equatorial diameter and seed weight. In the canonic discriminate analysis, first canonic variable explained 73 % and 22 % the second; variables with more discriminate power were width of cotyledon, larger equatorial diameter and 100 seeds weight. Canonic discriminate and conglomerate allowed grouping of accessions in 4 groups. Wild poinsettia plants collected in natural distribution areas from Morelos, Guerrero and Nayarit showed wide genetic variation in seed characteristics. There is potential in seeds of wild poinsettia, which needs to be studied, preserved and used in genetic improvement programs of poinsettia in México.

**Key words:** *Characterization, principal components, canonic discriminate, cotyledon.*

## INTRODUCCIÓN

México como centro de origen de la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) presenta muchas áreas geográficas donde se pueden localizar plantas silvestres, desde las partes altas hasta casi al nivel del mar, en lugares accidentados y en terrenos planos. Es una planta arbustiva que alcanza una altura cercana a 5 metros, presenta flores femeninas simples, sin pétalos ni sépalos, rodeado por flores masculinas que están encerrados en una estructura denominada ciatio (Ecke *et al.*, 2004), y de cada flor surge una glándula que funciona como atrayente de polinizadores. Los genotipos silvestres presentan características únicas y sobresalientes, ya que el medio geográfico los ha hecho evolucionar de diferente forma y esto ha conducido a diferencias morfológicas.

En nochebuena silvestre, hay poco conocimiento sobre la variación genética que existe en características morfológicas de fruto, hoja, bráctea y semilla. Aún más, la capacidad para producir semilla, el mecanismo de propagación, la viabilidad y duración de la fertilidad de las flores masculinas y femeninas, el potencial de germinación, así como la velocidad de la misma.

La variación en tamaño y forma de la semilla están bajo el control de diferentes factores, entre los que destacan la constitución genética de la especie, el ambiente bajo las cuales han evolucionado y su interacción (Tenorio-Galindo *et al.*, 2008). Además, pueden existir diferencias dentro y entre individuos de una misma población, aunque el tamaño real depende de la posición en el fruto de la planta madre y las condiciones de vida o cultivo (Carrillo *et al.*, 2009).

El conocimiento de la variación genética de la semilla es fundamental para determinar la amplitud de la diversidad genética presente en los materiales silvestres de nochebuena; así como la distribución de dicha variación, la cual permitirá definir acciones orientadas a la conservación y uso sostenible de los recursos genéticos, particularmente en México, ya que como centro de origen de la nochebuena, es de esperarse haya amplia diversidad en características de morfología de semilla y por lo tanto, la posibilidad de encontrar genes de importancia para la solución de los problemas actuales de plagas y enfermedades y de los tipos abióticos.

El mantenimiento de la diversidad genética depende de la cantidad de descendencia en la siguiente generación, la capacidad de los progenitores de dejar progenies viables y fértiles, la forma de reproducción y la capacidad de adaptación de la especie. La nochebuena silvestre se propaga por semilla, probablemente no existe limitantes para mantener la variación a través del tiempo, puesto que los frutos son dehiscentes, abren al madurar y liberan la semilla; sin embargo, se desconocen las características de la misma y su forma de dispersión.

La caracterización es la descripción de los diferentes atributos de una planta y se realiza para la identificación y separación entre especies, en estudios de filogenia y en estudios de diversidad. Los caracteres que se emplean pueden ser de distribución continua o discreta (González-Andrés, 2001).

La preocupación por conocer el origen de la nochebuena y por ende la diversidad genética del germoplasma en México ha conducido a la realización del presente trabajo, con el objetivo de caracterizar accesiones de nochebuena silvestre en función de la semilla, las cuales servirán como material vegetal base en el programa de mejoramiento genético que se

desarrolla en el INIFAP, Campo Experimental "Zacatepec", Morelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de colecta

Se colectó semilla durante el periodo de marzo a abril de 2010 en los estados mexicanos: Morelos, Guerrero y Nayarit. En Morelos, 13 accesiones se obtuvieron en la reserva ecológica el Texcal, ubicada en el municipio de Jiutepec (Pagaza y Fernández, 2004), a los 18° 56' LN y 99° 09' LW, a una altitud promedio de 1516 metros sobre el nivel del mar (msnm); en Guerrero se llevó a cabo la recolección de ocho muestras en la barranca el Salto del Niño, Tehuilotepic, municipio de Taxco de Alarcón (Lee, 2000) situado a los 18° 32' LN y 99° 34' LW, y una altitud de 1588 msnm; y en Nayarit, las cuatro muestras fueron del área geográfico denominado Cerro Alto, de la localidad de Tecuitata, municipio de San Blas, localizado a los 21° 28' LN y 105° 08' LW, con una altitud de 697 msnm.

### Colecta de muestras de semilla

En cada colecta se seleccionaron plantas con tallos de entrenudos cortos; brácteas atractivas, de buen tamaño y de color rojo, además de la sanidad general (Canul et al., 2010). Los frutos se cosecharon en madurez fisiológica y debido a que es dehiscente fueron puestos en bolsas de papel para terminar su secado, ya que con el calor las suturas de la cápsula se abren y liberan la semilla.

### Caracterización de semilla

En las 25 colectas se cuantificó en tres repeticiones el peso (g) de 100 semillas en una balanza analítica; asimismo, utilizando una muestra de 50 semillas por cada colecta se midieron con un vernier digital, el diámetro polar (mm), el diámetro ecuatorial mayor y el diámetro ecuatorial menor (mm). Además, se calculó la relación

diámetro polar diámetro ecuatorial mayor y diámetro polar diámetro ecuatorial menor con la finalidad de definir la forma de la semilla. Finalmente, se midió el largo (mm) y ancho de cotiledón (mm).

### Análisis estadístico

Se efectuó un análisis de componentes principales con el procedimiento PRINCOMP (SAS, 2000) haciendo uso de la matriz de correlaciones y datos estandarizados con media cero y varianza uno. Para identificar las variables que mejor discriminan las colectas se realizó análisis discriminante canónico. Por último, se llevó a cabo el análisis de conglomerados con el método de varianza mínima de Ward utilizando como distancia la Euclidiana. Todos los análisis se realizaron mediante el software SAS Versión 8 (2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de componentes principales

Con los tres primeros componentes principales (CP) se logró explicar el 87 % de la varianza total contenida en el germoplasma de nochebuena de los estados de Morelos, Guerrero y Nayarit. El CP1 contribuyó con el 60 % de la variación y los caracteres de mayor determinación fueron el tamaño del cotiledón, el peso de 100 semillas y el diámetro ecuatorial mayor de la semilla. El CP2 explicó el 17 % de la variabilidad, la relación diámetro polar diámetro ecuatorial mayor fue la de mayor valor y el CP3 aportó 9 % y fue explicado por el diámetro polar de la semilla (Cuadro 1).

Cuadro 1. Vectores, valores propios y varianza explicada por los tres primeros componentes principales (CP) en nochebuena silvestre colectadas en el estado de Morelos, Guerrero y Nayarit.

Carácter	CP1	CP2	CP3
Diámetro polar (mm)	0.269	0.129	0.662
Diámetro ecuatorial mayor (mm)	0.356	-0.263	0.194
Diámetro ecuatorial menor (mm)	0.335	-0.288	0.219
Relación diámetro polar diámetro ecuatorial mayor	-0.175	0.529	0.160
Relación diámetro polar diámetro ecuatorial menor	-0.133	0.379	0.529
Peso de 100 semillas (g)	0.355	-0.283	0.133
Largo cotiledón 1 (mm)	0.342	0.340	-0.200
Ancho cotiledón 1 (mm)	0.371	0.224	-0.169
Largo cotiledón 2 (mm)	0.346	0.314	-0.251
Ancho cotiledón 2 (mm)	0.371	0.245	-0.138
Valores propios	6.04	1.78	0.93
Varianza explicada (%)	60.44	17.89	9.37
Varianza acumulada (%)	60.44	78.32	87.69

En la Figura 1 se presenta la distribución espacial de las 25 colectas en el plano determinado por los CP 1 y 2. En el sentido de las manecillas del reloj, en el primero y segundo cuadrante se separaron de manera clara las colectas del estado de Nayarit, las cuales se caracterizan por tener cotiledones de tamaño grande, el mayor peso de semilla y mayor diámetro ecuatorial de semilla. En el mismo sentido, en los cuatro cuadrantes se localizan las colectas de Morelos y Guerrero formando un grupo de manera compacta, aunque las accesiones MOR11 y GRO4, presentaron el

menor tamaño de cotiledón y el valor mínimo en diámetro ecuatorial mayor, respectivamente.

### Análisis discriminante canónico

Con las tres primeras variables canónicas se explicó el 100 % del total de la variación; sin embargo, la tercera variable no fue estadísticamente significativa. La primera variable canónica explicó el 73 %; mientras que, la segunda el 22 %, de tal modo que con dos explican el 96 % (Cuadro 2).

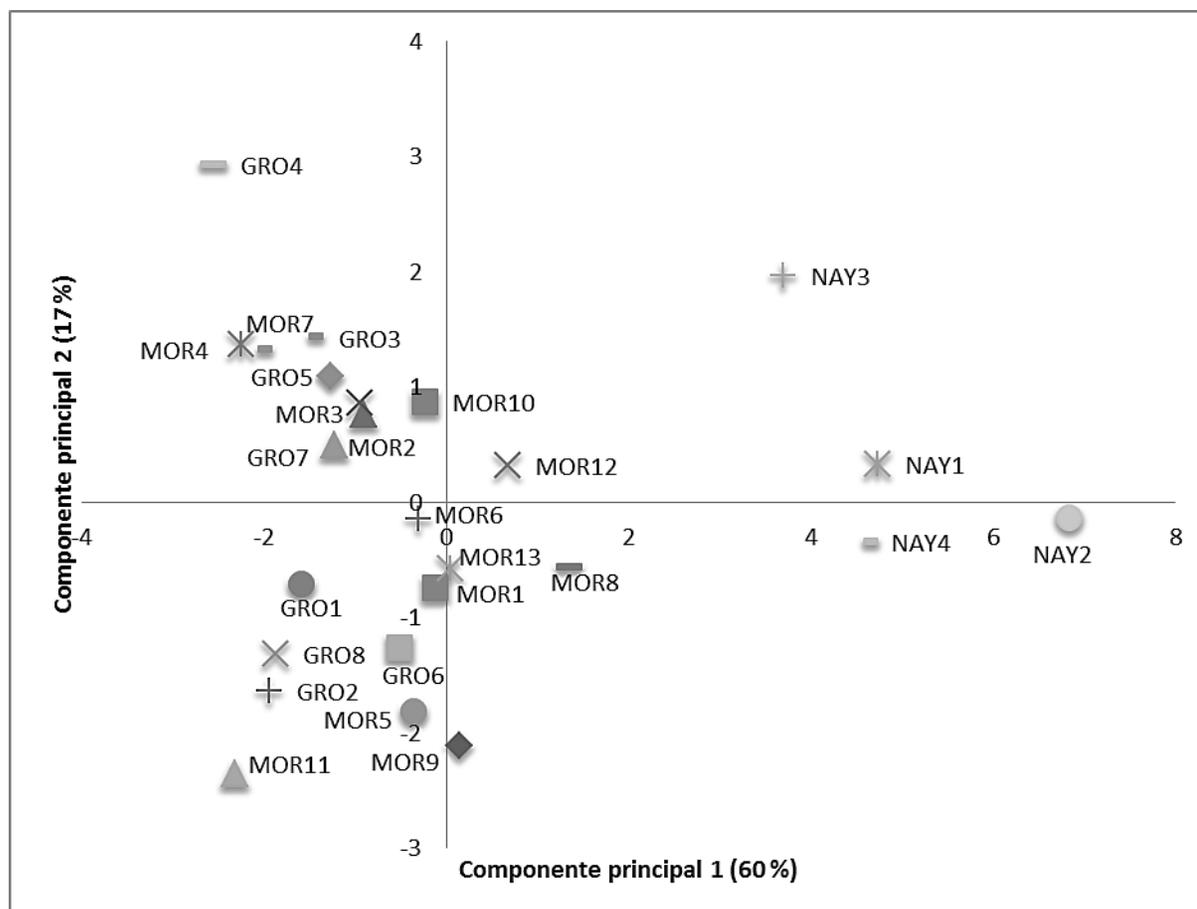


Figura 1. Distribución de 25 colectas de nochebuena silvestre colectada en los estados de Morelos (MOR), Guerrero (GRO) y Nayarit (NAY) con base en los componentes principales 1 y 2.

Cuadro 2. Valor propio de las variables canónicas y proporción de sus variaciones en nochebuena silvestre colectadas en el estado de Morelos, Guerrero y Nayarit.

Variable canónica	Valor propio	Diferencia	Proporción	Acumulada	Probabilidad
1	19.79	13.70	73.75	73.75	0.0001
2	6.09	5.14	22.70	96.45	0.0008
3	0.95		3.55	100.00	0.1924

El criterio aplicado para identificar a los caracteres discriminantes fueron los coeficientes canónicos estandarizados. Así, la primera variable canónica se integró por el ancho del cotiledón, diámetro ecuatorial mayor y peso de 100 semillas. En cambio, la segunda variable estuvo conformada por la relación diámetro polar diámetro ecuatorial menor (Cuadro 3).

Con base en la primera y segunda variable canónica las colectas se integraron en cuatro grupos bien definidos. El primer grupo comprende accesiones procedentes de Nayarit, que se caracterizan por tener mayor ancho de cotiledón (31 mm), mayor

peso de 100 semillas (17.43 g) y mayor diámetro ecuatorial (7.03 mm). El segundo grupo se conforma por ocho colectas de Morelos y Guerrero y se identificaron por la mayor relación diámetro polar diámetro ecuatorial menor (1.31) y menor peso de 100 semillas (11.52 mm). El tercer grupo se formó con seis colectas de Morelos y uno de Guerrero, las cuales presentaron el menor promedio de diámetro ecuatorial mayor (5.9 mm); mientras que, el cuarto grupo integrado por tres colectas de Morelos y tres de Guerrero se caracterizaron por menor tamaño de cotiledón (22.4 mm) (Figura 2).

Cuadro 3. Vectores de los coeficientes canónicos estandarizados en nochebuena silvestre colectadas en el estado de Morelos, Guerrero y Nayarit.

Carácter	CAN1	CAN2
Diámetro polar (mm)	1.243	-0.691
Diámetro ecuatorial mayor (mm)	2.520	0.940
Diámetro ecuatorial menor (mm)	-0.855	0.042
Relación diámetro polar diámetro ecuatorial mayor	1.015	-0.875
Relación diámetro polar diámetro ecuatorial menor	0.022	-1.322
Peso de 100 semillas (g)	-1.654	0.243
Largo cotiledón 1 (mm)	0.953	-0.011
Ancho cotiledón 1 (mm)	2.239	-0.519
Largo cotiledón 2 (mm)	-1.279	0.411
Ancho cotiledón 2 (mm)	1.543	-0.043

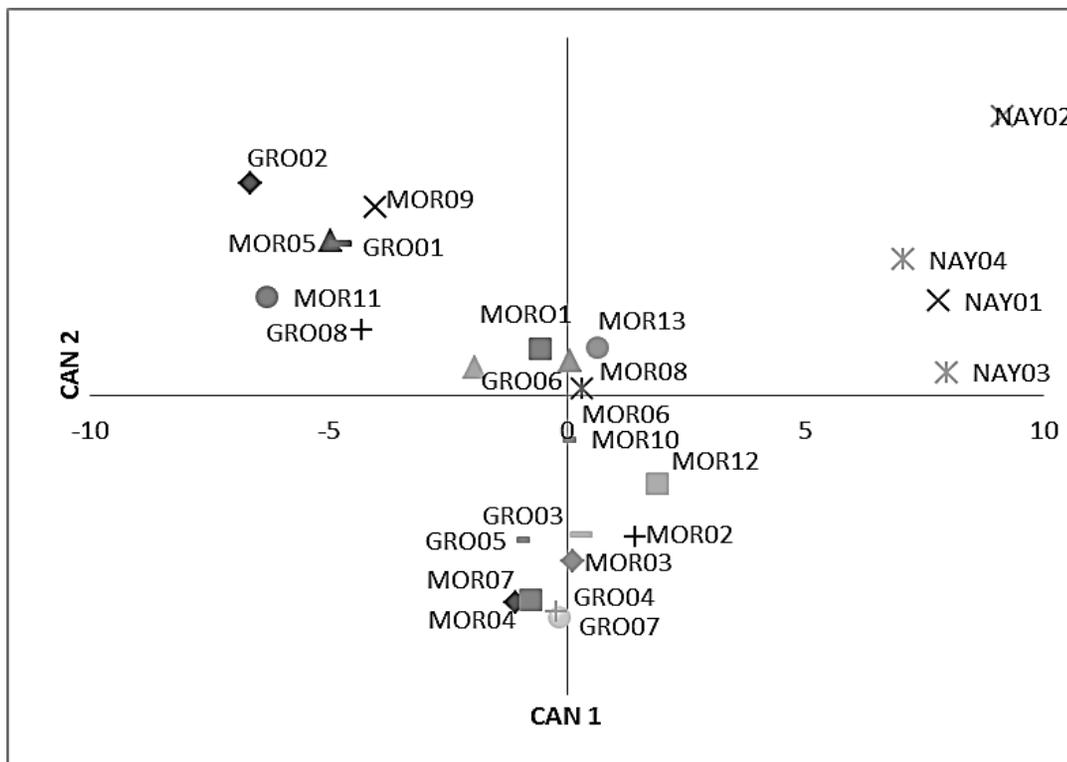


Figura 2. Distribución de 25 colectas de nochebuena silvestre colectada en los estados de Morelos (MOR), Guerrero (GRO) y Nayarit (NAY) con base en las funciones canónicas 1 y 2.

### Análisis de conglomerados

Con base en el criterio de agrupamiento cúbico y la pseudoestadística  $T^2$  de Hotelling las colectas se separaron en cuatro grupos, uno formado por colectas procedentes de Nayarit; y los otros tres grupos integrados por materiales tanto de Morelos como de Guerrero (Figura 3). Cada grupo está constituido por las mismas colectas de los grupos formados mediante el análisis discriminante canónico (Figura 2).

Existen diferencias estadísticas significativas en el tamaño de la semilla de nochebuena silvestre, variación que probablemente se debe a que la especie ha evolucionado de manera diferente en cada área, donde las condiciones ambientales como clima, suelo, relieve y ubicación geográfica impactan significativamente. Las colectas de Morelos y Guerrero son

similares en las características evaluadas posiblemente por su cercanía geográfica y la relación social que ha habido entre sus pobladores. En México, como centro de origen, se espera gran diversidad en tamaño de semilla y constituye un recurso fitogenético con potencial para ser utilizado en programas de mejoramiento genético.

En especies de frijoles silvestres y domesticados se encontró que el tamaño de semilla de los domesticados fueron tres veces mayores que el de los silvestres (Celis-Velazquez *et al.*, 2010). Además, la producción de semillas de tamaños variables por la planta, por lo general tienden a permanecer y perpetuar a la especie durante buen tiempo en su medio natural (Ayala-Cordero *et al.*, 2004).

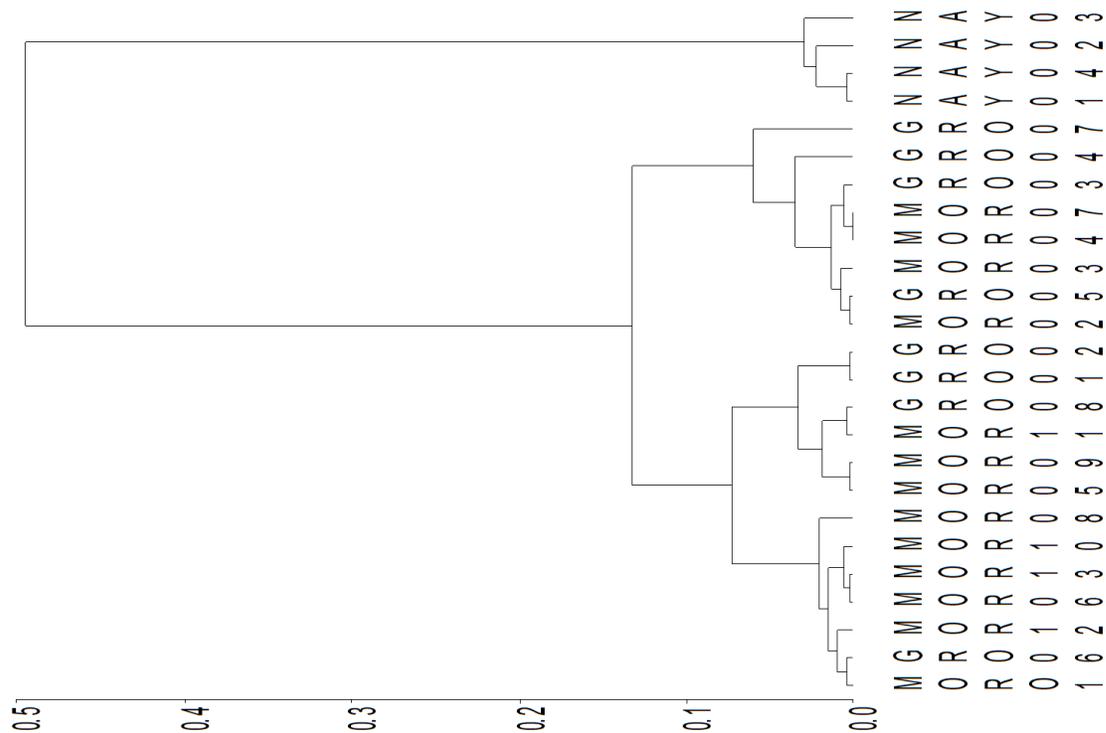


Figura 3. Dendrograma de 25 colectas de nochebuena silvestre colectada en los estados de Morelos (MOR), Guerrero (GRO) y Nayarit (NAY).

El tamaño de cotiledón y peso de semilla presentaron diferencias entre colectas, respuesta que se ha reportado en otras especies como *C. annuum* silvestre (Hernández-Verdugo *et al.*, 2010). Las colectas de Nayarit mostraron los mayores promedios, esto puede representar una ventaja sobre las de Morelos y Guerrero, sobre todo en condiciones ambientales restrictivos, en virtud de que la proporción adecuada de cotiledón puede favorecer la germinación y emergencia de la plántula por la cantidad de reservas que contiene (Celis-Velazquez *et al.*, 2010).

La relación diámetro polar diámetro ecuatorial no presentó diferencias significativas y los valores variaron de 1.14 a 1.22; Vargas *et al.* (2003) mencionan que valores cercanos a uno indican que el largo y ancho en las semillas son muy

semejantes y que por lo tanto, la forma de la semilla es cuadrada.

Los métodos estadísticos multivariados aplicados, de componentes principales, discriminante canónico y conglomerados, lograron separar las colectas procedentes de Nayarit de las de Morelos y Guerrero. Con el discriminante canónico y conglomerados es evidente la formación de cuatro grupos, en donde se mantiene separado las de Nayarit y existe traslape entre los de Morelos y Guerrero. Este resultado coincide con los de Urbaniak (2010) en especies de *Chara*, los análisis discriminantes canónicos y de conglomerados basados en caracteres morfológicos dividieron las especies en dos agregaciones. En *Crataegus* Núñez-Colín *et al.* (2008) señalan que la hoja fue útil en definir y comparar fuentes de germoplasma analizándolos con la técnica de

componentes principales y discriminante canónico.

El análisis multivariado de componentes principales corroboró la diferencia que existe entre las colectas de Nayarit respecto a las de Morelos y Guerrero, ya que se separaron en dos grupos y las variables que permitieron esta agrupación fueron el tamaño de cotiledón, tamaño y peso de la semilla. En 14 colectas de chile de agua el análisis de componentes principales determinó que las variables de mayor contribución fueron peso de mil semillas, peso volumétrico y longitud de plántula (Carrillo *et al.*, 2009).

En este trabajo la contribución de las primeras dos variables canónicas fue mayor (96 %) en comparación con otros estudios, ya que en cultivares de papa la primera y segunda función discriminante canónica juntos explicaron el 84.5 % de la variabilidad total registrada en los datos (Miller *et al.*, 2004), de manera similar en el análisis de cuatro especies de *Chara* spp utilizando caracteres morfológicos las dos primeras funciones canónicas representaron el 81 % del total de la variación (Urbaniak, 2010). Mientras que, en *Telopea* spp los primeros dos ejes mostraron el 78 % de la variabilidad (Offord, 2006).

Sin embargo, coincide con los Blas *et al.* (2008) en estudios de diversidad de cuatro especies silvestres de *Arracacia*, donde las tres primeras variables canónicas explicaron toda la variación, tan es así que el primero explicó más del 92 % de la variabilidad total.

Los caracteres de mayor contribución y poder discriminatorio para la separación de las colectas fueron el ancho de cotiledón, peso de 100 semillas y diámetro ecuatorial mayor tanto en componentes principales como en discriminante canónico. Asimismo, la colecta Nay03 se ubicó en el extremo del dendrograma y está muy disperso en la Figura 1, con base en los CP 1 y 2. En general, la clara separación de las colectas

de Nayarit se debe a la ubicación geográfica, tipo de clima y la altitud, la diferencia es de aproximadamente 800 m.

La respuesta morfológica diferencial que producen las plantas de nochebuena silvestre, así como otras especies relacionadas, seguramente está influenciada por factores genéticos, ambientales y su interacción y además, ligada a la latitud, altitud, tipo de suelo, relieve, temperatura, humedad relativa, tipo de vegetación, usos, aprovechamiento y el grado de intervención humana. Además, el establecimiento de especies fuera de su lugar de origen puede traducirse en una expresión fenotípica diferente, la cual puede ser incorporada a programas de mejoramiento genético con la finalidad de solucionar problemas actuales.

El estudio de la variación en tamaño de semilla es primordial para el establecimiento y desarrollo de la nueva planta. También es de utilidad para la conservación y aprovechamiento racional de la especie, dado que son localizadas las áreas donde aún todavía permanecen en estado silvestre. Por otro lado, el conocimiento de estas características facilitará la selección de plantas que pueden funcionar como los progenitores de las nuevas variedades que actualmente demanda el mercado de plantas ornamentales.

## CONCLUSIONES

Las plantas de nochebuena silvestre colectadas en áreas de distribución natural en los estados de Morelos, Guerrero y Nayarit en México presentaron diferencias en tamaño de semilla, por lo que se infiere que hay amplia variación genética.

Los caracteres de mayor contribución y poder discriminatorio para la separación de las colectas fueron el ancho de cotiledón, peso de 100 semillas y diámetro ecuatorial mayor tanto en

componentes principales como en discriminante canónico.

Los métodos estadísticos multivariados de componentes principales, discriminante canónico y conglomerados, lograron separar las colectas procedentes de Nayarit de las de Morelos y Guerrero.

## LITERATURA CITADA

- Ayala Cordero, G.; Terrazas, T.; López Mata, L. y C. Trejo. 2004. Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus benecki*. *Interciencia* 29: 692-697.
- Blas, R.; Ghislain, M.; Herrera, M. and J. Baudoin. 2008. Genetic diversity analysis of wild *Arracacia* species according to morphological and molecular markers. *Genetic Resource and Crop Evolution* 55:625-642.
- Canul Ku, J.; García Pérez, F.; Ramírez Rojas, S. y F. Osuna Canizalez. 2010. Estrategias para el mejoramiento genético de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). *Investigación Agropecuaria* 7: 44-54.
- Carrillo, E.; Mejía C., J.; Carballo C., A.; García de los S., G.; Aguilar R., V. y T. Corona. 2009. Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annum* L.) de los Valles Centrales de Oaxaca. *Agricultura Técnica en México* 35: 257-266.
- Celis-Velázquez, R.; Peña-Valdivia, C.; Luna-Cavazos, M. y J. Aguirre R. 2010. Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 27: 61-87.
- Ecke, P.; Faust, J. E.; Higgins, A. and J. Williams. 2004. *The Ecke Poinsettia Manual*. 1er edition. Ball publishing. Batavia, Illinois 60510. 287 p.
- González-Andrés, F. 2001. La caracterización morfológica. pp. 199-217. In: *Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. González-Andrés, F.; Pita-Villamil, M.J. (eds.). I.N.E.A. Valladolid, España.
- Hernández-Verdugo, S.; López-España, R.; Porras, F.; Parra-Terraza, S.; Villarreal-Romero, M. y T. Osuna-Enciso. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia* 44: 667-677.
- Lee, I. 2000. Phytoplasma casts a magic spell that turns the fair poinsettia into a Christmas showpiece. Online. *Plant Health Progress* doi: 1094/PHP-2000-0914-01-RV.
- Miller, J. C.; Tai, G. C.; Ouellette, B. and J. P. Miller. 2004. Discriminating russet norkotah intracultural selections using canonical and cluster analysis. *Amer. J. of Potato Res.* 81:203-207.
- Núñez-Colín, C. A.; Nieto-Angel, R.; Barrientos-Priego, A. F.; Sahagún-Castellanos, J.; Segura, S. and F. González-Andrés. 2008. Variability of three regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from central and southern México. *Genetic Resource and Crop Evolution* 55:1159-1165.
- Offord, C. A. 2006. Analysis of characters and germplasm of significance to improvement of Australian native waratahs (*Telopea* spp., family Proteaceae) for cut flower production. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:1263-1272.
- Pagaza C., E; y R. Fernández N. 2004. La familia bombacaceae en la cuenca del río Balsas, México. *Polibotánica* 17: 71-102.
- SAS, I. I. 2000. *The SAS system for windows, version 8e*. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary, USA.
- Tenorio-Galindo, G.; Rodríguez-Trejo, D. y G. López-Ríos. 2008. Efecto del tamaño y color de la semilla en la germinación de *Cecropia obtusifolia* Bertol (Cecropiaceae). *Agrociencia* 42: 585-593.
- Urbaniak, J. 2010. Analysis of morphological characters of *Chara baltica*, *C. hispida*, *C. horrida* and *C. rudis* from Europe. *Plant Syst. Evol.* 286:209-221.
- Vargas, E.; Castro, E.; Macaya, G. y O. Rocha. 2003. Variación del tamaño de frutos y semillas de 38 poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) del Valle Central de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 51: 707-724.