



"Enseñar la explotación de la
tierra, no la del hombre"

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE *Jatropha*
rzedowskii J. Jiménez Ram.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
ACADÉMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ING. AYDÉ PATRICIA BARRETO BARRETO

Chapingo, México, Junio de 2014



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
DIVISIÓN DE EXÁMENES PROFESIONALES



Instituto de Horticultura

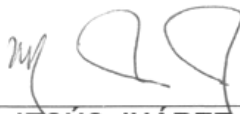
La presente tesis intitulada **“CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE *“Jatropha rzedowski”*** ha sido realizada por la C. Aydé Patricia Barreto Barreto bajo la dirección del Dr. Jesús A. Cuevas Sánchez y asesorada por los CC. Dra. María de Jesús Juárez Hernández y Dr. Baldomero Alarcón Zúñiga. Ha sido revisada y aprobada por el H. Jurado Examinador, como requisito parcial para obtener el título de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



DIRECTOR

DR. JESÚS A. CUEVAS SÁNCHEZ



ASESOR

DRA. M. DE JESÚS JUÁREZ HERNÁNDEZ



ASESOR

DR. BALDOMERO ALARCÓN ZÚÑIGA

Chapingo, México, Junio del 2014

DEDICATORIA

A mí pequeño y gran hijo

Jorge Anzúres Barreto

*Porque llegaste justo en el momento deseado, convirtiéndote en el
motor de mi vida.*

*Porque a tu lado he aprendido a ser mamá, pues no sólo me has
enseñado lo maravilloso que puede ser la vida, si no las fallas que
como persona puedo tener.*

Y a tí

Que me enseñaste a amar,

Y aún cuando estás lejos, siempre estuviste conmigo.

Porque sólo “cierro mis ojos “

Y estás aquí....

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme concluir con una meta más en mi vida.

A la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme seguir con mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al CONACYT, por brindarme la confianza y apoyo para la realización de este proyecto.

Al Dr. Jesús Cuevas Sánchez por la paciencia que me tuvo para concluir mi tesis.

Al Dr. Benito Reyes Trejo y a la Dra. Diana Guerra Ramírez, por su enseñanza para la elaboración de los experimentos.

A mis padres **Leonardo Barreto Ramírez** y **Saturnina Barreto Ramos**. Por respetar mis decisiones y estar conmigo cuando más los necesite.

A mis hermanos Ángela, Edith Luz, Leonardo y Jorge porque siempre tienen una palabra de aliento o de regaño pero siempre están ahí.

A una gran persona que me brindó su cariño y confianza a una gran amiga Alma Rosa Hernández Rojas.

A mis compañeros y amigos, Joaquín y Alejandro por brindarme su amistad y ayuda.

DATOS BIOGRÁFICOS

Aydé Patricia Barreto Barreto

Nació en el municipio de Zacualpan de Amilpas, Morelos, el 23 de julio de 1983.

Hija de Leonardo Barreto Ramírez y Saturnina Barreto Ramos

Realizó sus estudios de nivel medio superior de 2009 – 2001 en el Centro de Bachillerato Tecnológico No. 39, ubicado en el municipio de Temoac, Morelos. Ingreso a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el año 2001 y concluyó la carrera de Ingeniero Agrónomo en Producción en el 2005.

Se desempeñó como Certificadora de calidad de granos almacenados del 2006 - 2008, en Almacenadora Mercader S.A. (Almer), Ubicada en Guadalajara Jalisco. Posteriormente Laboró como técnico en la producción de Tomate Orgánico.

ÍNDICE

DEDICATORIAS.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DATOS BIOGRÁFICOS.....	V
ÍNDICE.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE CUADROS.....	X
RESUMEN.....	XI
ABSTRAC.....	XII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVO GENERAL.....	2
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. HIPÓTESIS.....	4
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
5.1. ASPECTOS DEL GÉNERO <i>Jatropha</i>	5
5.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y SU HÁBITAT.....	5
5.3. IMPORTANCIA DE LA <i>Jatropha</i>	7
5.4. COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES Y GRASAS.....	8
5.5. EXTRACCIÓN DE ACEITES.....	10
5.6. MÉTODOS PARA MEJORAR LOS ACEITES COMO BIOCOMBUSTIBLES.....	11
5.7. TRANSESTERIFICACIÓN.....	12
5.8. BIOCOMBUSTIBLE.....	14
5.9. PROPIEDADES DEL BIODIESEL.....	15
5.10. IMPORTANCIA DE LOS BIOCOMBUSTIBLES.....	17
5.11. GLICERINA.....	18
5.12. CONSERVACIÓN DEL GERMOPLASMA.....	19
5.12.1. CONSERVACIÓN <i>IN SITU</i>	20
5.12.2. CONSERVACION <i>EX SITU</i>	21
5.13. CARACTERIZACIÓN DE LOS RECURSOS FITOGÉNÉTICOS.....	22
5.14. ESTERES DE PHORBOL.....	27
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
6.1. FASE DE CAMPO.....	29
6.2. FASE DE LABORATORIO.....	30
6.2.1. OBTENCIÓN DE LA SEMILLA.....	30

6.2.2. EXPERIMENTO 1. PRUEBAS DE GERMINACIÓN.....	30
6.2.2.1. ANÁLISIS DE PUREZA.....	31
6.2.2.2. ANÁLISIS DE VIABILIDAD.....	31
6.2.2.3. PRUEBAS DE GERMINACIÓN.....	32
6.2.3. EXPERIMENTO 2. CARACTERIZACIÓN DE <i>Jatropha</i> <i>rzedowskii</i>	33
6.2.4. EXPERIMENTO 3. EXTRACCIÓN DE ACEITE.....	34
6.2.4.1. ÍNDICE DE ACIDEZ.....	35
6.2.4.2. DENSIDAD RELATIVA.....	35
6.2.4.3. ÍNDICE DE YODO.....	35
6.2.4.4. CALOR DE COMBUSTIÓN.....	36
6.2.5. EXPERIMENTO 4. OBTENCIÓN DE BIODIESEL.....	36
6.2.5.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	39
6.2.6. EXPERIMENTO 5. MICROHISTOLOGÍA.....	39
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
8. CONCLUSIONES.....	54
9. BIBLIOGRAFÍA.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	pag
FIGURA 1 Distribución geográfica del género <i>Jatropha</i> en el estado de Puebla	6
FIGURA 2 Diagrama de la estrategia experimental de la extracción y transformación del aceite.....	37
FIGURA 3 Efecto de la temperatura sobre la germinación de la semilla.....	39
FIGURA 4. Longitud de la plántula proveniente de la germinación de la semilla a diferentes temperaturas	40
FIGURA 5. Efecto de la temperatura sobre el porciento de germinación de la semilla con y sin testa.....	41
FIGURA 6. Porcentaje de viabilidad en la semilla con la prueba de Tetrazolio al 1 %.....	43
FIGURA 7. Morfología de la planta <i>J. rzedowskii</i>	45
FIGURA 8. Corte micro histológico de la semilla con azul de Nilo.....	46
FIGURA 9 Placa cromatográfica indicando el final de la transesterificación y aspecto de la separación del biodiesel y la glicerina	48

FIGURA 10 Efecto de la temperatura sobre la densidad del biodiesel y el aceite	50
FIGURA 11 Cromatograma de los esteres metílicos de ácidos grasos.....	51
FIGURA 12 Corte micro histológico donde se observa presencia de cristales.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	pag
Cuadro1. Comparación de las tablas del diesel y el biodiesel.....	15
Cuadro 2. Especificaciones internacionales del Biodiesel.....	16
Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable Crecimiento.....	42
Cuadro 4. Comparación de medias para la variable Crecimiento.....	42
Cuadro 5. Parámetros de calidad del aceite extraído de la semilla de <i>J. rzedowskii</i>	47
Cuadro 6. Parámetros de calidad del biodiesel obtenidos de la semilla.....	49
Cuadro 7. Composición de los ácidos grasos de la semilla de <i>J. rzedowskii</i>	52

RESUMEN

La riqueza vegetal de México cada día ha ido en decadencia, debido a la falta de información sobre las particularidades de las plantas, las cuales pueden ser potencialmente útiles y aprovechables, tal es el caso de *J. rzedowskii* perteneciente a la familia de las Euphorbiaceas, la más conocida de esta familia es *J. curcas*, la cual reviste importancia principalmente por su alto contenido de aceite en sus semillas. Por tal motivo se presentan los siguientes objetivos: Contribuir al conocimiento etnobotánico de *Jatropha rzedowskii*, como base para la conservación de su germoplasma y su posible domesticación como fuente de alimentos y biocombustibles.

Se realizó la caracterización *in situ* y *ex situ* de la planta, así como pruebas de germinación de la semilla, obteniendo los valores más altos de germinación a los 30 °C, en semillas sin testa. La obtención de aceite fue por el método de soxhlet aportando un rendimiento promedio del 58 %, similar a lo obtenido con *J. curcas*; la cual es considerada productora fuerte de aceite. Finalmente se hizo la transesterificación del aceite. .

Palabras clave: Biodiesel, aceite, germinación, Caracterización, viabilidad.

ABSTRACT

The plant wealth of Mexico every day has been declining due to lack of information on the characteristics of the plants which can be potentially useful and usable, as in the case of *J. Rzedowskii* belonging to the family Euphorbiaceae. *J. curcas* is known for its high oil content in the seeds. Therefore the following objectives are presented: Contribute to *Jatropha rzedowskii* ethnobotanical knowledge as a basis for germplasm conservation and possible domestication as food and biofuels.

A characterization *ex situ in situ* and plant was performed and germination tests which showed better results at 30 ° C in seeds without testa, oil extraction by soxhlet method with an average yield of 58 % similar to that obtained with *J. curcas*; culminating in the transesterification.

Key words: Biodiesel, Oil, germination, characterization, viability.

1. INTRODUCCIÓN

La interacción entre humanos y plantas, en especial las plantas silvestres, ha dado origen a la comprensión de la diversidad de los usos y costumbres de cada cultura; pues son ellos quienes han logrado con el paso del tiempo la domesticación de los cultivos. Sin embargo, el cambio climático, el crecimiento poblacional y la creciente inseguridad alimentaria son factores principales ante la pérdida de nuestra diversidad genética, amenazando la alimentación en el futuro.

Las plantas representan más del 80 por ciento de la dieta humana; una treintena de cultivos cubren el 95 por ciento de nuestras necesidades de energía alimentaria y sólo cinco de ellos (arroz, trigo, maíz, mijo y sorgo) comprenden el 60 por ciento. Sin embargo el hombre ha seleccionado más de 7 000 especies vegetales desde que aprendió a hacerlo hace miles de años. Y existen hasta 30 000 especies de plantas comestibles en el mundo. (FAO 2008)

Entre toda esta riqueza vegetal, existen especies potencialmente útiles y escasamente aprovechadas; pues a pesar de los esfuerzos realizados por algunos investigadores, existe un gran deterioro en las poblaciones vegetales; por lo que es necesario estudiar las especies nativas de México, en base a la urgente necesidad de desarrollar nuevas fuentes como alternativas de alimento (Cuevas 1988), así como para la conservación de los recursos fitogénéticos, lo cual ha adquirido relevancia en las últimas décadas, acudiendo a estrategias de

conservación *in situ* y *ex situ*, no sólo por la pérdida o disminución de la diversidad genética que conlleva el proceso de erosión, sino por el valor potencial que poseen éstos.

Tal es el caso de *Jatropha rzedowskii* perteneciente a la familia Euphorbiaceae, la cual hasta hace poco fue considerada en peligro de extinción y por lo tanto, poco es lo que se sabe sobre ésta. La más conocida de este género es *J. curcas* usada popularmente para fines medicinales (Adolf *et al.*, 1984) y actualmente considerada como alternativa no sólo para la elaboración de biodiesel, sino como una fuente de alimentos. Por lo que el estudio de *Jatropha rzedowskii*, así como de las diferentes especies del género *Jatropha* es necesario para identificar el potencial que cada una de ellas puede tener y dar lugar a nuevas investigaciones que no sólo benefician al ámbito científico, sino también al sociocultural. Es por esto que la presente investigación plantea los siguientes objetivos:

2. OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento etnobotánico de *Jatropha rzedowskii*, como base para la conservación de su germoplasma y su posible domesticación como fuente de alimento y biocombustible.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

En campo:

Caracterizar *in situ* plantas de dichas especie.

En laboratorio:

Determinar la **cantidad** de aceites contenidos en las semillas

Determinar la **calidad** de los aceites antes mencionados para la elaboración de biocombustibles.

Contribuir a la definición de las alternativas pertinentes a la conservación integral de la diversidad genética de la especie.

Registrar, analizar y difundir los conocimientos empíricos y científicos involucrados en el manejo, aprovechamiento y conservación de la especie.

Contribuir al conocimiento taxonómico de *Jatropha* ssp.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido al crecimiento poblacional, en México y en el mundo hemos descuidado nuestros recursos, especialmente aquellos que para muchos no implican aportaciones económicas y alimenticias; provocando no sólo la erosión genética de diversos *taxa* vegetales, sino la pérdida de varios aspectos culturales vinculados a éstos.

Es necesario estudiar a las especies silvestres con la finalidad de desarrollar nuevas fuentes de alimentación; así como evitar la pérdida de ecotipos silvestres que puedan representar una fuente de complejos genéticos, para

lograr el mejoramiento de las especies cultivadas, pues a pesar de la gran diversidad vegetal, son aún pocos los estudios realizados para encontrar la utilidad alimenticia, medicinal, de protección al suelo mediante la generación de nuevos recursos (Bautista, 2007).

4. HIPÓTESIS

La cantidad y calidad de los aceites contenidos en las semillas de *J. rzedowskii* son estadísticamente similares a los contenidos en las semillas de *J. curcas*.

Por su alto contenido de aceites y la composición de los mismos, *J. rzedowskii* es viable para la producción de biocombustibles.

J. rzedowskii puede implementarse como cultivo (y quizá lograr su domesticación) para su mejor aprovechamiento.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. ASPECTOS DEL GÉNERO *Jatropha*

Jatropha L. es un género de la familia Euphorbiaceae que cuenta con 175 especies, 48 de ellas se encuentran en México, de las que el 77 % son endémicas (Jiménez 1985,1986, 1992). Las Euphorbiaceae presentan una gran amplitud morfológica, aunque la mayoría de los géneros pueden ser reconocidos por las flores unisexuales, la presencia de un disco, el gineceo trímero, el fruto dehiscente con 1 a 3 semillas ovoides o globosas; vegetativamente son arbustos o árboles caracterizados por un exudado transparente o coloreado que emana cuando la planta sufre algún daño, sus hojas son alternas. Se les conoce comúnmente como piñoncillo, piñón o pistache mexicano por la forma de sus semillas

5.2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT

La distribución del género *Jatropha* en Puebla se concentra al sur de la entidad; esto como consecuencia de las condiciones semiáridas propias de esta región que constituye una de las características ambientales en donde se desarrollan la mayoría de las especies del género.

El tipo de vegetación donde se registran más especies es el bosque tropical caducifolio o en acuerdo con Miranda y Hernández (1964) selva baja

caducifolia, a veces identificada como parte del matorral xerófilo. (Jerzy Rzedowski, 1986).

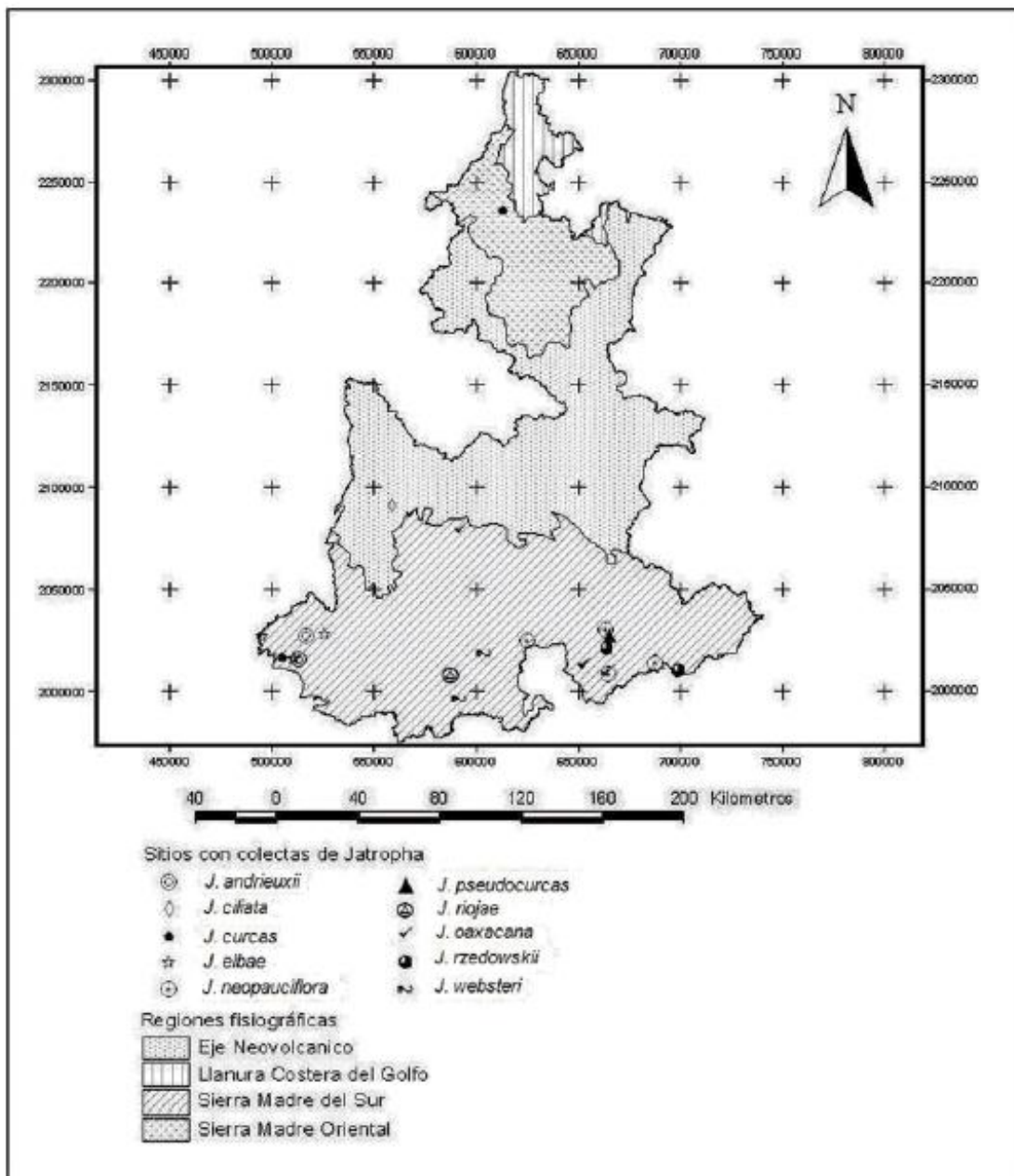


Figura 1. Distribución geográfica del género *Jatropha* en el edo. de Puebla.

5.3. IMPORTANCIA DE *Jatropha*

La extracción de aceites a partir de cultivos oleaginosos como cártamo, soya, y otros como el maíz que normalmente forman parte de la dieta básica del ser humano para elaboración de biocombustibles, ha sido desarrollada en diversos países de manera exitosa pero con la desventaja de sufrir el desabastecimiento y encarecimiento en el mercado de dichos alimentos. Debido a lo anterior, se han encaminado las investigaciones hacia plantas que no sean de importancia económica ni alimenticia como tal.

El género *Jatropha* ha alcanzado gran importancia debido principalmente a la extracción de aceites de sus semillas para la elaboración de biocombustibles, porque presenta grandes bondades medicinales y porque en algunos casos es de uso alimenticio.

Las plantas medicinales se han utilizado como una fuente de medicamentos para tratar enfermedades desde tiempos inmemoriales. Durante mucho tiempo, las plantas han sido fuente de nuevas medicinas y compuestos de drogas, los cuales han hecho grandes contribuciones a la salud humana. Su función es relevante en el desarrollo de nuevos fármacos y puede llegar a ser la base en el desarrollo de la medicina para el tratamiento de algunas enfermedades (Prasad *et al.*, 2012).

Las plantas medicinales como *J. curcas* han desempeñado un papel importante en el tratamiento de diversas enfermedades, como infecciones bacterianas y fúngicas (Prasad *et al.*, 2012). Todas las partes de *J. curcas* (hojas, cortezas,

semillas, etc.) han sido utilizadas en la medicina tradicional y para fines veterinarios por mucho tiempo (Dalziel, 1995). Debido a sus propiedades medicinales se han realizado muchos estudios dirigidos a conocer la composición química de cada una de las partes de esta planta. Se han identificado flavonoides, diterpenos, esteroides, triterpenos, cumarinas, sapogeninas, deoxipreusomerinas, ácidos orgánicos, iridoides, saponinas, taninos entre otros (Pabón y Hernández, 2012; Prasad *et al.*, 2012).

5.4. COMPOSICIÓN DE LAS GRASAS Y LOS ACEITES

Las grasas y los aceites están compuestos principalmente por triglicéridos, tres moléculas de ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol. El largo de la cadena de los ácidos grasos y su organización en la estructura del glicerol varía ampliamente, aunque la mayoría de los aceites comestibles son aquellos que tienen 16 y 18 carbonos. Los ácidos grasos que forman los triglicéridos varían de un aceite a otro.

Los niveles de los ácidos grasos presentes en los aceites pueden variar en algunos aspectos, dependiendo de la dieta que reciba el animal o, en el caso de los aceites vegetales, de acuerdo a las condiciones que se presentan durante la etapa de crecimiento. Tanto las grasas como los aceites, son una combinación de ácidos grasos, ya sea saturados (C14:0, 16:0, etc.) y no saturados (C18:1, 18:2, 18:3). No existe ninguna grasa o aceite que sea únicamente saturada o no saturada. Algunas grasas como el sebo, los aceites de palma y coco, tienen

concentraciones más altas de ácidos grasos saturados cuando se les compara con otros aceites. Estos se conocen como grasas saturadas, a pesar de que contienen un porcentaje de ácidos grasos no saturados. Una manera práctica de describir estas denominadas grasas saturadas, es que se encuentran solidas a temperatura ambiente.

Los ácidos grasos C18, como el ácido esteárico, oleico, linoléico y linolénico son sólo cuatro ejemplos de esta clase. El ácido esteárico no contiene enlaces dobles en su cadena de carbono principal.

El ácido oleico posee un enlace doble y por lo tanto es monoinsaturado. Los ácidos linoléico y linolénico, que tienen respectivamente dos y tres enlaces dobles, son denominados poli insaturados. Un aceite que contiene una gran cantidad de grasas saturadas es muy estable en una gran variedad de usos alimenticios. Los aceites mono y poli insaturados son por naturaleza menos estables pero a menudo se hacen estables mediante un proceso que se llama hidrogenación (que los convierte en saturados o bien parcialmente saturados). De una forma u otra todos los aceites pueden ser modificados en grados variables durante el procesamiento para acrecentar la estabilidad, aumentar la solidificación, o mejorar la claridad o funcionalidad. Esto significa que para cada aceite, existe una innumerable variedad de potenciales productos finales.

5.5. EXTRACCIÓN DE ACEITE

Debido a su gran diversidad desarrollada principalmente en las zonas tropicales, el contenido de aceite varía de acuerdo al tipo de clima en el que se desarrolle la planta y de la especie de la que se esté hablando. En países como Brasil, el aceite extraído de las semillas resulta tóxico por su contenido de esteres de forbol, mientras que en México, existen materiales que producen semillas comestibles (no tóxicas), principalmente en la Sierra Norte de Puebla y Veracruz. (Cruz y Victoria, s/f), aspecto que, según Cuevas (comunicación personal) constituye una evidencia de su domesticación en dicha región.

La extracción es una técnica de separación y purificación para aislar una sustancia de una mezcla sólida o líquida en la que se encuentra, mediante el uso de un disolvente.

La extracción puede clasificarse dependiendo del estado físico de los materiales: sólido-líquido o líquido- líquido. Por sus características la extracción puede ser continua y discontinua.

En la extracción líquido –líquido, el compuesto se encuentra disuelto en un disolvente A y para disolverlo se utiliza un disolvente B, inmiscible en el primero. Cuando se usa un embudo de separación, las dos fases A y B se agitan entre sí, con lo que el compuesto se distribuye entre las dos fases de acuerdo con sus solubilidades en cada uno de los dos líquidos. Cuando las dos fases se separan en dos capas, se dará un equilibrio tal en la concentración del soluto en cada capa.

Existen otros procesos para la extracción del aceite de manera más simple y sencilla, los cuales son el de sedimentación y el que se basa en cocinarlo en agua.

Sedimentación:

Este método es el más fácil para la obtención de aceite, pero se necesitan algunos días. De modo que el sedimento sea mínimo, con un 20-25 % del volumen total. Es un método bastante limpio y barato ya que ningún material se tiene que comprar, sólo se necesita un recipiente para contener el aceite extraído.

Cocción con agua:

Se realiza mientras el aceite llega al punto de ebullición junto con el agua, hasta el 20 % del total, esto se logra dejando la temperatura constante durante treinta a sesenta minutos, y a medida que se enfría la mezcla el aceite se asienta para poder separarlo del agua.

5.6. MÉTODOS PARA MEJORAR LOS ACEITES COMO BIOCOMBUSTIBLES

Se han considerado diferentes métodos para reducir la viscosidad de los aceites vegetales; como la dilución, la micro-emulsificación, la pirólisis y la transesterificación (Demirbas, 2009).

Dilución del aceite vegetal. Las diluciones de los aceites vegetales con disolventes, se realiza para disminuir la viscosidad, así como también algunos problemas de rendimiento del motor, como la coquización del inyector y más depósitos de carbón, (Demirbas, 2009).

Micro emulsión de aceites. Alcoholes de cadena corta, como el etanol o metanol se utilizan para micro emulsiones, con el objetivo de reducir la alta viscosidad de los aceites vegetales (Demirbas, 2009).

Cracking catalítico y pirólisis. El material de pirolisis puede ser el aceite vegetal. El combustible líquido producido a partir de la pirolisis tiene componentes químicos similares a los combustibles derivados del petróleo (Demirbas, 2009).

5.7. TRANSESTERIFICACIÓN

La transesterificación se lleva acabo principalmente entre un aceite y un alcohol en presencia de un catalizador, para obtener los mono-alquil esteres y glicerol, los cuales se separan y purifican. El principal producto de este proceso es el biodiesel.

La transesterificación fue conocida a principios de 1846 cuando Rochieder describió la preparación de glicol por etanólisis de aceite de ricino. Bagby y Schwab descompusieron térmicamente aceite de soya y de girasol, usando aire y nitrógeno. Hanna (1999), estudiaron el efecto de mezclar etanol para reducir la viscosidad de los metil ésteres (biodiesel) de cebo de res.

La reacción de transesterificación con alcohol consiste en reacciones reversibles consecutivas. El primer paso es la conversión de triglicéridos a diglicéridos, mientras es seguido por la conversión de di glicéridos a monoglicéridos y de monoglicéridos a glicerol produciendo una molécula de metil éster de cada glicérido por paso.

Especialmente el metanol es el alcohol de mayor uso, por ser el de menor costo en comparación a los alcoholes empleados para este proceso, como el etanol e isopropanol.

La reacción es reversible, por lo cual se utiliza exceso de alcohol para desplazar el equilibrio hacia la producción de ésteres. La reacción estequiométrica requiere 1 mol de un triglicérido y 3 moles de alcohol; sin embargo, se usa alcohol en exceso para aumentar la producción de ésteres alquílicos y permitirles separar el glicerol de la fase formada. Los aceites vegetales pueden ser transesterificados calentándolos con un gran exceso de metanol anhidro y catalizador

La reacción de transesterificación puede ser catalizada por bases, ácidos o enzimas. Los triglicéridos son ésteres de cadenas largas, ácidos carboxílicos combinados con glicerol. Los ácidos carboxílicos $\{R-C(=O)-O-H\}$ pueden ser convertidos dentro de los metil ésteres $\{R-C(=O)-O-CH_3\}$ por la acción de un agente de transesterificación.

Las bases pueden catalizar la reacción quitando un protón del alcohol, haciéndolo más reactivo, mientras que los ácidos pueden catalizar la reacción,

por donación de un protón para el grupo carbonilo, haciéndolo más reactivo.

5.8. BIOCOMBUSTIBLES

El biodiesel es un biocombustible líquido que se obtiene a partir de lípidos naturales como aceites vegetales o grasas animales; limpias o usadas, mediante procesos industriales de transesterificación.

Es un combustible compuesto de esteres mono alquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de lípidos renovables, como aceites vegetales; empleado en motores de ignición y compresión, y además en calderas de calefacción. El porcentaje de esteres presentes en el biodiesel está establecido en estándares internacionales (ASTM) y de Europa (EN) (Cuadro 1).

Este biocombustible es identificado como FAME (por sus siglas en inglés Fatty Acid Methyl Ester) o también es llamado éster metílico.

El término bio- hace referencia a su naturaleza renovable y biológica en contraste con el combustible diesel tradicional derivado del petróleo; por su parte, Diesel (1980) alude a su uso en motores de este tipo. El biodiesel sustituye como combustible limpio y renovable a los derivados del petróleo, concretamente al diesel y lo hace con ventaja ecológica ya que reduce las emisiones de gases que provocan el efecto invernadero

Cuadro 1. Comparación de las propiedades del biodiesel y diesel.

Propiedades	Biodiesel	Diesel
Metil éster	95.5-> 98%	
Carbono (% peso)	77	86.5
Azufre (% peso)	0.0024	0.05 max
Agua (ppm)	0.05%max	162
Oxígeno(% peso)	11	0
Hidrógeno(% peso)	12	13
Número de cetano	48-55	48-55
PCI (KJ/Kg)	37700	41860
Viscosidad cinemática(40 °C)	1.9-6.0	1.3-4.1
Punto de Inflamación (°C)	100-170	60-80
Punto de ebullición (°C)	182-338	188-343
Gravedad específica (Kg/L) (60 °C)	0.88	0.85
Relación aire/combustible	13.8	15

5.9. PROPIEDADES DEL BIODIESEL

Las características del biodiesel son las siguientes:

Se obtiene a partir de recursos renovables (plantas y animales)

Combustible limpio.

Es biodegradable.

No tóxico.

Alto índice de lubricidad.

Libre de azufre y aromáticos.

El biodiesel es un combustible oxigenado, por eso tiene una combustión completa en comparación al diesel derivado del petróleo y produce menos gases contaminantes. Tiene un punto de inflamación relativamente alto (150 °C) que le hace menos volátil que el diesel del petróleo y es más seguro de transportar.

Las propiedades del biodiesel varían según la materia prima a partir de la cual se le obtuvo (aceites vegetales nuevos o usados de distinto origen o grasas animales). Es por ello, que las normas indican un rango admisible en el valor de las propiedades como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Especificaciones internacionales del Biodiesel (Hoekman et al.,2012)

Parámetro	Biodiesel(B100)				Mezcla B6-B20	
	U.S.A (ASTM D6751-08)		Europa (EN 14214)		U.S.A.(ASTM D7467-08)	
	Límite	Método	Límite	Método	Límite	Método
Agua y Sedimento (V%,máx.)	0.05	D2709	0.05	EN12937	0.05	D2709
Contaminación total (mg/Kg,max)			24	EN12662		
Viscosidad cinemática a 40°C (mm2/S)	1.9-6.0	D445	3.5-5.0	EN 3104/ 3105	1.9-4.1	D445
Punto de inflamación, vaso cerrado (°C, min.)	93	D93	101	EN 3679	52	D93
Metanol (p%,max)	0.02 ^a	EN 14110	0.2	EN14110		
No. Cetano (min.)	47	D613	51	En5165	40	D613
Punto de niebla (°C)	Report ^d	D2500	Country specific ^d		Report ^d	D2500
Cenizas sulfatadas (p%,max.)	0.02	D874	0.02	EN3987		
Cenizas totales (p%,max.)					0.01	D482
Gp I metales Na+K 8mg/Kg, max)	5	EN14538	5	EN14108/ 14109		
GpII metales Ca+Mg (mg/Kg, max.)	5	EN14538	5	EN14538		
Azufre Total (ppm,max)	15 ^b	D5453	10	EN20846	15	D5453
Fosforo (ppm/,max.)	10	D4951	4	EN 14107		
No. Acidez (mgKOH/g,max.)	0.5	D664	4	EN14104	0.3	D664
Residuo de Carbón (p%,max.)	0.05	D4530	0.30 ^e	EN14105	0.35 ^e	D524
Glicerina libre (p%,max.)	0.02	D6584	0.02	En14105		
Glicerina total (p%,max)	0.24	D6584	0.25	EN14105		
Monoglicerido (p%,max.)			0.8	EN14105		
Diglicerido (p%,max.)			0.2	EN14105		
Triglicerido (p%,max.)			0.2	EN14105		
Destilación (T 90 °C,max.)	36°C	D1160			343	D86

Corrosión a la lámina de cobre (3h a 50°C,max.)	No.3	D130	No.1	EN2160	No.3	D130
Estabilidad de oxidacion (h a 110°C,min.)	3	EN141112	6	EN14112	6	EN14112
Linoleato de metilo (p%,max)			12	EN14103		
Ésteres metílicos poliinsaturados (p%,max.)			1	prEN15799		
Contenido de ester (p%,min.)			96.5	EN14103	6-20 Vo. %	D7371
Índice de Yodo (gI27100g,max.)			120	EN14111		
Densidad (Kg/m3)			860-900	EN3675	520	D6079
Lubricidad a 60°C,WSD,microns(max)						

^a Una alternativa, punto de inflamación puede ser >130°C

^b Para mezclar con "ULSD" (Diesel ultra bajo en azufre) Para otros combustibles, el aumento de los niveles de azufre está permitido.

^c atmosférica equivalente a T-90 puntos.

^d propiedades a bajas temperaturas no están bien definidas, sino que debe ser acordado por el proveedor de combustible o el comprador.

^e Este límite se basa en la fracción inferior a 10% del combustible.

5.10. IMPORTANCIA DE LOS BIOCOMBUSTIBLES

Aunque la producción de los biocombustibles no es un hecho reciente, si lo es el creciente protagonismo que ha alcanzado como alternativa energética; esto debido al progresivo agotamiento de las reservas de petróleo, que trae consigo el alza del nivel de precios de los combustibles llamados fósiles. Debido a esto, está naciendo en todo el mundo la agroindustria de los biocombustibles, los cuales son combustibles líquidos, renovables, que reducen la sustancias tóxicas en las emisiones de los vehículos, además de que retiran enormes cantidades de gases de efecto invernadero de la atmósfera; además de dar trabajo a las zonas rurales más pobres y dar autonomía y diversificación en el suministro de energía para el transporte.

Actualmente *Jatropha curcas* es uno de los cultivos más usados como fuente de materia prima para la producción de biodiesel como combustible renovable

(Fairless 2007; Cifuentes y Fallot 2009; Verma y Gaur 2009;). Por lo tanto, se ha despertado gran interés por el desarrollo de proyectos en países tropicales y subtropicales debido a la adaptabilidad de esta especie en terrenos marginales y semi áridos (Sujatha *et al.* 2005; King 2009).

Tanto los combustibles fósiles como los biocombustibles, tienen origen biológico. Toda sustancia susceptible de ser oxidada puede otorgar energía. Si esta sustancia procede de plantas, al ser quemada devuelve a la atmósfera dióxido de carbono que la planta tomó del aire anteriormente. Las plantas mediante la fotosíntesis, fijan energía solar y dióxido de carbono en moléculas orgánicas. El petróleo es energía proveniente de fotosíntesis realizada hace millones de años y al provenir de las plantas que vivían en el pasado remoto, su cantidad es limitada. En el caso de los biocombustibles, la sustancia al ser quemada proviene de fotosíntesis reciente, por eso se afirma que la utilización de biocombustibles no tiene impacto neto en la cantidad de dióxido de carbono que hay en la atmósfera. Algunos la consideran energía renovable en el sentido de que el ciclo de plantación y cosecha se podría repetir indefinidamente, teniendo en cuenta que no se agoten los suelos ni se contaminen los campos de cultivo.

5.11. GLICERINA

Al realizar la reacción de transesterificación, se obtiene como subproducto la glicerina, por lo que recuperar la glicerina es importante, ya que ésta tiene numerosas aplicaciones en diferentes procesos industriales, por ejemplo, se emplea principalmente en la fabricación y conservación de una gran cantidad de

productos ya sea cosméticos, fármacos, alimentos o bebidas. La glicerina obtenida de la producción del biodiesel forma parte de la rentabilidad del biodiesel, ya que también se puede producir a partir del glicerol una reacción de eterificación con isobutileno y con una resina de intercambio iónico para producir éteres de butilo de glicerol, el cual podría ser utilizado como aditivo oxigenado para el combustible diesel (Huber *et al.*, 2006)

5.12. CONSERVACIÓN DEL GERMOPLASMA

Las estrategias de conservación de germoplasma son de gran importancia en los programas de mejoramiento genético y gestión de las especies de interés económico, social y ambiental. Existen diferentes formas de conservación: 1. La conservación *in situ* en la cual la especie de interés se conserva en su sitio de origen (Maxted *et al.*, 1997); esta forma de conservación mantiene las combinaciones genéticas específicas y una continua evolución, por lo que permite conservar la especie, su entorno y las interacciones entre ellas (Baena 2003). 2. La conservación *ex situ* que consiste en la conservación de muestras genéticamente representativas de las especies o cultivos, que se mantienen viables a través del tiempo, fuera de su hábitat natural o lugar de cultivo, en ambientes controlados y con el apoyo de tecnologías adecuadas (Frankel y Solulé, 1992). Esta otra forma de conservación permite el almacenamiento de germoplasma utilizando varias estrategias como bancos de semillas, bancos genéticos *in vitro*, colecciones de campo y jardines botánicos (Carneiro, 2000).

Ambas estrategias permiten la conservación de especies vulnerables a procesos de erosión genética (Carneiro, 2000).

5.12.1. CONSERVACIÓN *in situ*

La conservación de los recursos fitogenéticos ha adquirido relevancia en las últimas décadas, acudiendo a estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*, no sólo por la pérdida o disminución de la diversidad genética que conlleva el proceso de erosión sino también por el valor potencial que poseen estos recursos.

La conservación *in situ* implica la protección de las áreas, ecosistemas y hábitats donde las plantas de interés han desarrollado sus características distintivas, y esta protección se consigue a través de medidas legislativas e incentivos. Es la técnica preferida para las plantas silvestres; su gran ventaja es que la dinámica evolutiva de la especie se mantiene. Puede ser relevante particularmente para especies silvestres en ecosistemas naturales; se presenta en algunos ecosistemas alterados que pueden mantener genotipos y constituir fuentes importantes de germoplasma.

García y García (1992) mencionan que los datos ecológicos y geográficos, junto con el conocimiento de la biología de las especies son necesarios para determinar los requisitos mínimos y óptimos para las reservas *in situ*. En particular, información afín para determinar las necesidades del número de

poblaciones, área, sitios, especies, comunidades asociadas y factores sucesionales necesarios para la colecta.

A pesar de lo anterior la conservación *in situ* presenta algunas desventajas como son:

- a) La conservación de los ecosistemas y biomasa no aseguran el cambio continuo de adaptación, excepto si la base genética es suficientemente amplia.
- b) La falta de tratados taxonómicos de muchos géneros y de estudios eco geográficos, limitan la definición de las necesidades de conservación.
- c) La tierra puede ser costosa de adquirir, aún cuando muchos de los esfuerzos *in situ* se encuentran en tierra pública.
- d) Las regulaciones para el control de las reservas puede estar construida por una vía en la que no se prevenga la colecta de germoplasma sensible. (Ingram y William, 1984)

Los obstáculos principales son los gastos ligados a los incentivos y a la aplicación de la ley y las dificultades sociales y políticas que puedan surgir, sobre todo para la ordenación de las tierras cultivables.

5.12.2. CONSERVACIÓN *Ex Situ*

La conservación *ex situ* consiste en el mantenimiento de algunos componentes de la biodiversidad fuera de sus hábitats naturales.

Este tipo de conservación incluye tanto el almacenamiento de los recursos genéticos en bancos de germoplasma, como el establecimiento de colecciones de campo y el manejo de especies en cautiverio. El objetivo primordial de la conservación *ex situ* es mantener la supervivencia de las especies en su medio natural, por lo que debe ser considerada como un complemento para la conservación de especies y recursos genéticos *in situ*, sobre todo cuando tratamos con especies críticamente amenazadas.

Tipos de conservación *ex situ*:

Bancos de germoplasma en donde se conservan las especies para la alimentación y la agricultura.

Centros con especies que se dividen en centros de fauna (zoológicos, centros de rescate, museos) y centros de flora (jardines botánicos, viveros). Opciones a las que recientemente se ha incluido el uso de la llamada crio conservación en la que se utiliza Nitrógeno líquido (-196 °C) y la conservación *in vitro*

5.13. CARACTERIZACIÓN DE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS

La caracterización son grandes desafíos para los sistemas agrícolas del mundo, desafíos que no pueden afrontarse sin la recolección, prevención y uso sostenible de los recursos fitogenéticos.

Para llevar a cabo la exploración del material en peligro de extinción y poder utilizarlo a futuro es necesario precisar los mapas de distribución, el grado de amenaza y hasta donde sea posible la variación presente (Frankel, 1975).

Adicionalmente a su conservación, aprovechar adecuadamente un recurso genético depende de su correcta caracterización.

El valor de las colecciones de recursos fitogenéticos reside en la utilización que de ellas se haga para producir nuevos cultivares, domesticar nuevas especies y desarrollar nuevos productos, para el beneficio de las actividades productivas. Las colecciones deben proveer a los mejoradores de variantes genéticas, genes o genotipos, que les permitan responder a los nuevos desafíos planteados por los sistemas productivos, siendo para ello imprescindible conocer las características del germoplasma conservado.

Para la caracterización y evaluación se utilizan descriptores, que son caracteres considerados importantes y/o útiles en la descripción de una muestra. Los estados de un descriptor son los diferentes valores que puede asumir el descriptor, pudiendo ser un valor numérico, una escala, un código o un adjetivo calificativo.

Los descriptores para la caracterización deben reunir las siguientes características: ser fácilmente observables, tener una alta acción discriminante y baja influencia ambiental, lo que permite en algunos casos registrar la información en los sitios de colecta.

Usualmente se utilizan características morfológicas, fenológicas y de adaptación, aunque también la caracterización puede realizarse mediante el uso de marcadores bioquímicos y moleculares. Normalmente la caracterización se realiza en ensayos de plantas aisladas o pequeños surcos, debiendo utilizarse un número de plantas que respete la estructura genética de las accesiones. Los principales tipos de datos de caracterización son: características de plantas, hojas, flores, frutos, semillas y partes subterráneas (Paterniani y Goodman, 1976; Spagnoletti Zeuli y Qualset 1987; Abadie *et al.*, 1997, Furman *et al.*, 1997). Durante esta etapa también es posible realizar una evaluación preliminar o primaria de las accesiones, o sea registrar la información sobre algunos descriptores de heredabilidad intermedia que permitan obtener una aproximación al valor agronómico de los materiales (ej: fechas de floración, resistencia a plagas, tolerancia a estreses). Muchos rasgos agronómicos de interés para el mejoramiento tienen una complejidad genética excesiva para poder distinguirlos en la caracterización preliminar (Crossa *et al.*, 1995). Esos datos se suelen poner de manifiesto en la fase de evaluación del germoplasma para conocer características agronómicas útiles, muchas de las cuales pueden estar sometidas a fuertes interacciones entre el genotipo y el medio ecológico (Hinthum, 1995; Abadie y Ceretta, 1997). Ello los hace adaptados a sitios específicos, y normalmente requieren ser tomados en diferentes localidades.

En la descripción de colecciones se distinguen normalmente dos aspectos: la caracterización y la evaluación. “La caracterización tiene sobre todo el objetivo

de identificación de las entradas (*v.gr.* muestras de semillas a conservar) y se refiere principalmente a atributos cualitativos que pueden considerarse invariables o no afectados por el ambiente (color de la flor, forma de la semilla, composición isoenzimática, etc.)” (Sevilla, 1995). En otras palabras, cuando se habla de caracterizar, generalmente se hace referencia a la caracterización primaria de los materiales y por lo tanto, se enfatiza en la descripción de características morfológicas.

La evaluación, que es un tipo de caracterización secundaria, persigue fundamentalmente determinar caracteres de tipo cuantitativo y de interés agronómico que normalmente se ven influenciados por las condiciones ambientales (precocidad, contenido en proteína, resistencia a plagas y enfermedades, etc.).

La uniformización de los descriptores utilizados es un requisito para que la caracterización tenga valor universal. El uso de listas de descriptores bien definidos y rigurosamente probados simplifican considerablemente todas las operaciones que tienen que ver con el registro de datos, actualización, modificación, recuperación de información, intercambio, análisis y transformación de datos.

La guía de descriptores de una especie es un conjunto de caracteres (normalmente morfológicos, pero pueden ser de otro tipo) que tiene el objetivo de racionalizar el trabajo de toma de datos en campo durante la caracterización y evaluación. Una guía permite además compartir la información recabada entre equipos de personas que observan las plantas en condiciones diferentes. La

guía se elabora respetando las reglas para elaboración de guías de descriptores y considerando antecedentes para especies o géneros similares o de uso similar (Sevilla y Holle, 1995). Primeramente se debe elaborar una guía prueba. Se toman los datos de esta primera guía que generalmente es extensa. Del análisis de los datos surge un número más restringido de descriptores, que permiten estimar la variación genética, discriminar grupos y diferenciar las accesiones individuales.

En términos generales, la caracterización y evaluación preliminar pueden realizarse al mismo tiempo que la regeneración o multiplicación, lo que no sucede con la evaluación agronómica avanzada. (Painting *et al.*, 1993). En el caso particular de las especies silvestres, la caracterización y evaluación preliminar son requisitos previos para conocer la adaptación y potencial productivo, estudios de diversidad, aspectos de la biología y modo reproductivo y de propagación de la especie.

Además de proporcionar un mejor conocimiento del germoplasma disponible, la caracterización y evaluación bien realizadas presentan algunas ventajas adicionales (Valls, 1989). Permiten identificar duplicados, simplificando los trabajos siguientes, racionalizando los trabajos relativos a las colecciones activas y de base, evitando duplicación de actividades y haciendo un uso más eficiente de los recursos humanos y financieros;

Identifican “gaps” en las colecciones, que facilitan la planificación de nuevas colectas e introducciones. Permite el establecimiento de colecciones núcleos que, por definición, comprenden, con un mínimo de redundancia, la diversidad

genética reunida en una especie cultivada y en las especies silvestres relacionadas.

5.14. ESTERES DE PHORBOL

La toxicidad de las semillas puede ser causada por varios componentes, incluyendo lectinas, saponinas, inhibidores de proteasas, ácido curcalónico y esteroides de phorbol. De los cuales, las lectinas y los inhibidores de proteasas son vulnerables a tratamientos térmicos y los esteroides de phorbol y las saponinas presentan mayor resistencia a altas temperaturas (160 °C) (Aregheore *et al.*, 2003). De estos, en el caso de *Jatropha* el que más contribuye a la toxicidad de la semilla, el aceite y la torta son los esteroides de phorbol (WinK *et al.*, 1997)

La frecuente exposición a los esteroides de phorbol puede estimular la formación de tumores cancerígenos (Hirota *et al.*, 1988), debido a que éstos activan la proteína quinasa (PKC), la cual juega un papel importante en la transducción de señales, la diferenciación y el control del crecimiento celular (King *et al.* 2009). Según (Goel *et al.*, 2007) durante el proceso normal de transducción de señales la PKC es activada por diacilglicerol el cual es rápidamente hidrolizado. Sin embargo los esteroides de phorbol actúan como análogos del diacilglicerol y son activadores fuertes de la PKC, que es difícilmente metabolizada por las células. Esto desencadena la proliferación de células amorfas o hiperplasia, que es comúnmente conocido como tumores cancerígenos.

A pesar del contenido de esteres de phorbol y del daño que esto pueda ocasionar a las personas, la semilla de *J curcas* es rica en ácidos grasos, lo que hace que el aceite extraído sea apto para la producción de biodiesel. Además, según se ha indicado, Vera *et al.*, 2013 que en algunos lugares de México como el Totonacapan, existen genotipos no tóxicos que han permitido el consumo de sus semillas durante milenios.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se dividió en dos fases: la de campo y la de laboratorio, los experimentos se efectuaron en el laboratorio de Química del Departamento de Preparatoria Agrícola y el Laboratorio del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo, que se localiza en el kilometro 38.5 carretera México-Texcoco. Geográficamente se encuentra situada a 19°29' de latitud norte y una longitud Oeste de 98°53'; la elevación es de 2,250 msnm.

6.1. FASE DE CAMPO

Para llevar a cabo la exploración del material en peligro de extinción y poder utilizarlo a futuro es necesario precisar los mapas de distribución, el grado de amenaza y hasta donde sea posible la variación presente (Frankel, 1975).

Se obtuvo información referente a los lugares en donde *Jatropha rzedowskii* ha sido colectada mediante la revisión de fichas técnicas contenidas en los ejemplares botánicos herborizados que se encuentran en el herbario, MEXU, de la Universidad Autónoma de México.

Con base en lo anterior, se seleccionó el Valle de Tehuacán - Cuicatlán, específicamente el municipio de Coxcatlan Puebla, donde se colectaron los frutos para la obtención de semilla, así como los ejemplares para herbario, los cuales serán depositados en el herbario CHAPA de la Universidad Autónoma Chapingo.

Coxcatlán es uno de los 217 municipios del estado de Puebla. Se ubica en el sureste de esta entidad, en el límite con el estado de Oaxaca, a una latitud N 18° 12' 30.6" y latitud W 97° 07' 40.8"

Se realizaron 45 encuestas para determinar los usos que la gente de la región en estudio le adjudican o le adjudicaban a la especie *J. rzedowskii*. Lamentablemente el 99 % de las personas encuestadas no la conoce ni le dan un uso específico.

6.2. FASE DE LABORATORIO

6.2.1. Obtención de la semilla

La extracción de las semillas del fruto fue de forma manual. El secado de las semillas fue un factor importante debido a que no se tenía que tener pérdidas por hongos y enfermedades; de esta manera se colocaron las semillas en frascos herméticos con silica gel y posteriormente se colocaron en bolsas de papel dentro de una estufa a 28 °C durante cinco días.

6.2.2. Experimento 1. Pruebas de germinación.

Los análisis realizados a la semilla, previos a los ensayos de germinación y conforme a lo acordado por la Asociación Internacional para el ensayo de semillas (ISTA) fueron:

Análisis de pureza y análisis de viabilidad.

6.2.2.1. Análisis de Pureza

El análisis de pureza tiene como finalidad determinar la composición en peso de las partes que componen la muestra que es objeto de ensayo. Esta muestra se extendió sobre una cartulina blanca y manualmente se separaron los distintos componentes de la semilla (semillas puras, materia inerte y semillas extrañas).

Para realizar el análisis de pureza se empleó el siguiente equipo:

Pinzas y espátula para manipular, separar y mover el material inerte sobre una superficie contrastante, balanza analítica para pesar la semilla y sus impurezas.

Una vez separada cada una de las fracciones de semilla se procedió a hacer el pesado, obteniendo el peso de cada fracción. Se calculó el porcentaje que representa sobre el total obtenido de la suma de los pesos de todas las fracciones.

El porcentaje de la semilla pura se calculó de la siguiente manera

Porcentaje de pureza = peso de la semilla pura/ peso de la muestra original X 100

6.2.2.2. Analisis de viabilidad.

Para determinar la viabilidad se utilizó una solución de cloruro de tetrazolio al uno por ciento.

Se removió la testa de la semilla y se realizó un corte transversal, colocando dos repeticiones por cada muestra , esto debido a la poca disponibilidad de la

misma. Posteriormente se colocaron en cajas petri de plástico con papel filtro a las cuales se les agregó una solución de Cloruro de tetrazolio al 1.0% por 24 h a temperatura ambiente. Se consideraron viables aquellas semillas con coloración de sus estructuras vitales para establecimiento de una plántula normal y sus resultados se expresaron en porcentaje.

6.2.2.3.Prueba de germinación.

El experimento se realizó con semillas con y sin testa, tres tratamientos de temperatura de 25 °C, 30 °C y temperatura ambiente (28 °C) y tres repeticiones para cada tratamiento. Se utilizaron dos semillas por unidad experimental bajo el diseño experimental completamente al azar con comparación de medias mediante la prueba de Tukey. Las variables evaluadas fueron: días a germinación, altura de la plantula y porcentaje de germinación.

Días a germinación: Se determinaron los días transcurridos hasta que la semilla germinó, se consideró semilla germinada cuando la semilla presentaba un crecimiento de la raíz principal. Se consideró como no germinada toda semillas que no presentó crecimiento radical.

Porcentaje de germinación: Esta variable se calculó contando las semillas germinadas en relación a las semillas colocadas inicialmente en el experimento.

Altura de plántula: Se midió a los diez días de siembra. Esto se realizó con la ayuda de una regla de plástico.

6.2.3. Experimento 2. Caracterización *ex situ* de *J. rzedowskii*

Durante la exploración en campo se tomaron los datos correspondientes a los diferentes descriptores que se utilizaron para la caracterización. Estos descriptores fueron aplicados a la planta, al tallo, hoja, flor y también a la inflorescencia, siendo éstos:

Altura de la planta. Se midieron las alturas comprendidas entre la base del tallo y la extremidad de la rama más alta en cada planta.

Altura a la primera bifurcación. Se midió desde la base del tallo a la primera bifurcación.

Color de tallos. Se tuvieron tres parámetros, café, gris, verde.

Número de tallos. Se contaron los tallos principales y secundarios de las plantas.

Largo de tallos. Se midieron los tallos principales y secundarios.

Diámetro de la base del tallo principal. Se midió la base del tallo a una distancia de 3 cm de la base del tallo.

Número de hojas/planta/tallo. Se contaron las hojas de cada planta y de cada tallo.

Ancho y largo de hoja. Se midió con un vernier o regla, según el caso.

Color de la hoja. Se tuvieron tres parámetros: el color verde claro, verde oscuro y rojizo.

Distancia entre nudos. Se realizó con la ayuda del vernier.

Número de nervaduras. Mediante un microscopio se observaron el numero de nervaduras presentes en las hojas.

Color de pétalos. Se tuvieron 2 parametros el color amarillo y blanco.

Número de pétalos. Se contaron los pétalos de cada flor.

Número de frutos por racimo. Se contaron los frutos presentes en cada racimo.

Color del fruto. Se tuvieron dos parámetros verde o amarillo

Peso de la semilla. Se utilizó una balanza granataria en la cual se pesó la semilla con testa y sin testa.

Largo y ancho de la semilla. Con un vernier se midió el largo y el ancho de la semilla.

6.2.4. Experimento 3. Extracción de aceite

Con base en el método de soxhlet se utilizaron 5. 251 g de semilla molida (30 semillas), que se colocaron en un cartucho de filtro que posteriormente se introdujo a la cámara de Soxhlet y se agregaron 300 ml de hexano, esto se realizó por triplicado durante 18 horas (tiempo óptimo para la extracción).

Se sometieron a un tratamiento de secado con Sulfato de Sodio Anhidro. Finalmente se filtró y se concentró el aceite en un rotavapor,

6.2.4.1 Índice de acidez

Se efectuó con 0.5069 g de muestra, a la cual se le agregó 10 ml de alcohol y dos gotitas de fenoftaleina ; se mantuvo en agitación vigorosa a 50 °C y se tituló con una solución valorada de KOH al 0.01 N, hasta que la muestra permaneció en color rosa durante varios minutos. Se registró el volumen gastado de KOH.

6.2.4.2. Densidad relativa

Se utilizó un viscosímetro Stabinger Anton para SVM 3000 en el cual se colocaron 3 ml de aceite con una jeringa para evitar la entrada de aire. Inmediatamente se tomaron las lecturas a diferentes temperaturas (10°-90°C).

Se obtuvo de manera automática la viscosidad dinámica y la cinemática.

6.2.4.3. Índice de Yodo

En un matraz de 250 ml se pesaron 0.2 g de aceite, a los que se les agregó 10 ml de Cloruro de Metilo y 10 ml de reactivo de Wijs, se mezcló y se dejó reposar durante 30 min en la oscuridad. Después se añadió 10 ml de yoduro de potasio. Se tituló el yodo liberado con una solución valorada de tiosulfato de sodio al

0.1N hasta que la solución se tornó amarilla. Posteriormente se añadió 1 ml se solución de almidón como indicador. (Todo esto se hizo por triplicado).

Se tituló el reactivo de Wijs con la disolución valorada de tiosulfato de sodio al 0.1 N, sin añadir aceite. Ésta se empleó como blanco.

6.2.4.4. Calor de combustión

Se utilizó un calorímetro Pair 6400. Se pesó 1 g de aceite en la cápsula de portamuestra metal el cual se pone en contacto con el alambre filamentado conectado a los electrodos.

Se colocó dentro de la bomba , a la cual se le agregó 1 ml de agua destilada . se cerró y se purgó con oxígeno. La cámara se alimentó con treinta atmósferas de oxígeno.

6.2.5. Experimento 4. Obtención de biodiesel

Se pesó en un matraz de bola de 50 ml, 0.08 g de Hidróxido de potasio (KOH) y se adicionaron 3 ml de metanol (CH₃OH), se agitó vigorosamente para disolver el KOH; en seguida se colocaron 5 ml de aceite de *J. rzedowskii* y se mantuvo bajo reflujo durante 2 horas. El proceso de obtención del biodiesel se observa en la Figura 2.

Al terminar, se observó el fin de la reacción por cromatografía de capa delgada, en la cual se utilizó metanol. Acetato de etilo y cloruro de metileno (9:1:0.1)

En la placa de sílica se colocaron 3 gotas de aceite con cloruro de metileno y 3 gotas de biodiesel obtenido, ésta se colocó dentro de la solución (9:1:0.1).

Al biodiesel, al igual que al aceite, se le realizaron las mismas pruebas de calidad descritas en el experimento de extracción de aceite.

Después de unos minutos se pasó a la cámara de revelado; la cámara contenía yodo resublimado.

El biodiesel se dejó reposar durante toda la noche en un embudo de separación.

El resultado final se lavó tres veces con ácido cítrico y con agua a 60 °C(5ml / lavado).

Se realizó una cromatografía de capa fina del aceite y el biodiesel.

La muestra a analizar se depositó cerca de un extremo de una lámina de aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria), entonces, la lámina se colocó en un vaso de precipitado que contiene un disolvente (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolvente asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra del disolvente y el adsorbente.

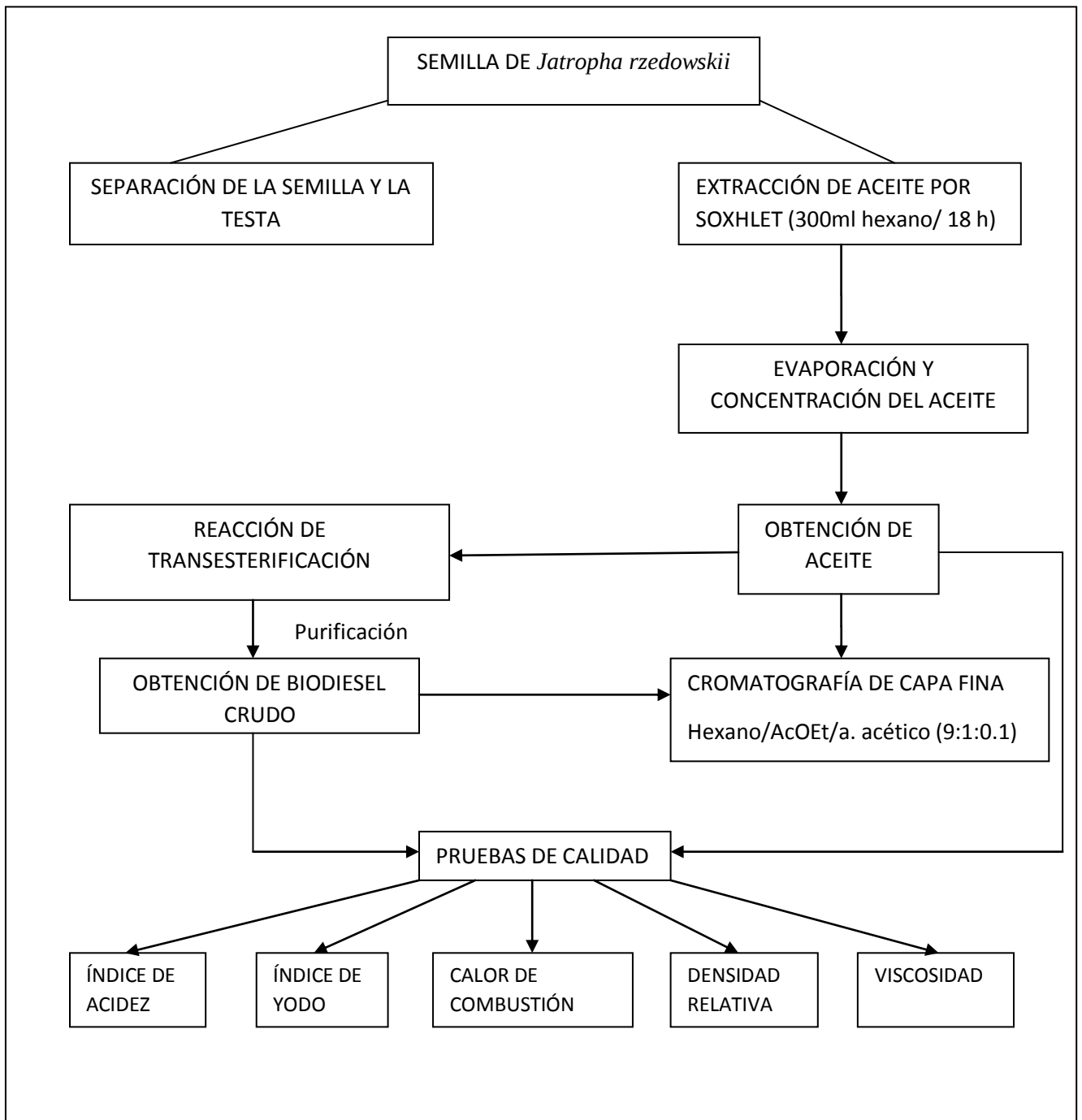


FIGURA 2. Diagrama de la estrategia experimental de extracción y transformación de aceite.

6.2.5.1. Cromatografía de gases.

Se depositó una gota de biodiesel en un vial, el cual fue llevado al Laboratorio de Cromatografía LSA del Instituto de Química, UNAM. (Certificado ISO 9001:2008 RSGC 238), para realizar la determinación de ácidos grasos del aceite de *J. rzedowskii*.

6.2.6. Experimento 5. Microhistología.

Se realizaron cortes de 30 y 40 μm a partir de semillas previamente hidratadas, con un vibratomo, para proceder de forma inmediata a la tinción con safranina y verde rápido (Jensen, 1962), éstos para emplearlos como patrón; así como aquellos que se procesaron bajo la reacción con Azul de Nilo (Ruzin, 1999).

Una vez elaboradas las preparaciones se observaron en un microscopio Axio Imagen D1; a su vez, las semillas se analizaron en un Stereo Discovery V8, ambos marca Carl Zeiss. Todas las imágenes fueron electrónicamente procesadas mediante el software Adobe PhotoShop 8.0.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La respuesta en germinación en las semillas sin testa, se presentó a los tres días, después de haber instalado el experimento, caso contrario para las semillas con testa que germinaron a los 24 días. Los tratamientos donde se observó que la germinación de la semilla se presentó en pocos días fueron a 25° y 30 °C como se muestra en la Figura 3.

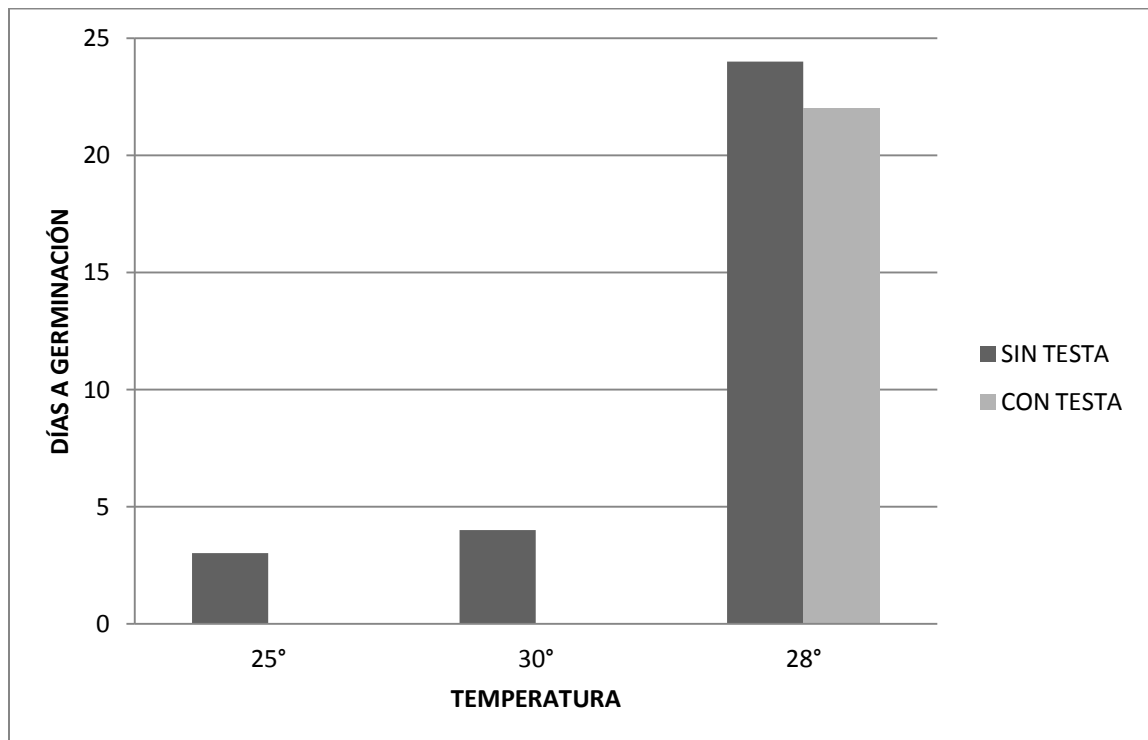


Figura 3. Efecto de la temperatura sobre la germinación de la semilla.

La temperatura es un factor importante para la germinación y posteriormente para el crecimiento y desarrollo de las plántulas, ya que se obtuvo mejor resultado a los 30°C, esto coincide con el trabajo realizado con *J. curcas* (Bautista ,2010)

En la Figura 4 se observa que, a mayor temperatura mayor longitud de plantula para semillas sin testa, pues el único tratamiento que alcanzo mayor longitud de plantula fue a temperatura de 30 °C. Sin embargo para semillas con testa el testigo (28 °C) superó los resultados obtenidos en el tratamiento de semilla sin testa.

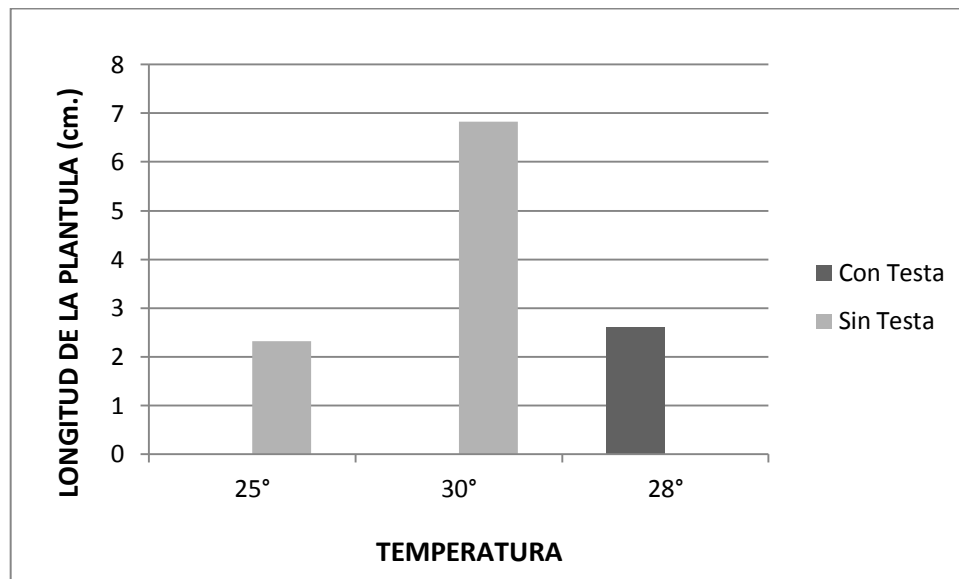


FIGURA 4. Longitud de la plantula proveniente de la germinacion de la semilla a diferentes temperaturas.

Aun cuando el mejor de los tratamiento fue el testigo para semillas con testas las repeticiones presentan diferencias significativas de $\alpha \leq 0.05$ en cuanto a la longitud de las plántulas; esto muy probablemente se deba a la diferencia de luz captada por las plántulas.

Comparando la semilla con testa y sin testa en el experimento de germinación se observa en la Figura 5 que se obtuvo mejor resultado al remover la testa de las semillas, lo cual muy probablemente se deba que la testa dificulta la

absorción de agua (imbibición) durante la germinación. Esto como tratamiento pregerminativo practicado para aumentar el proceso de germinación (Stumpf, 1994).

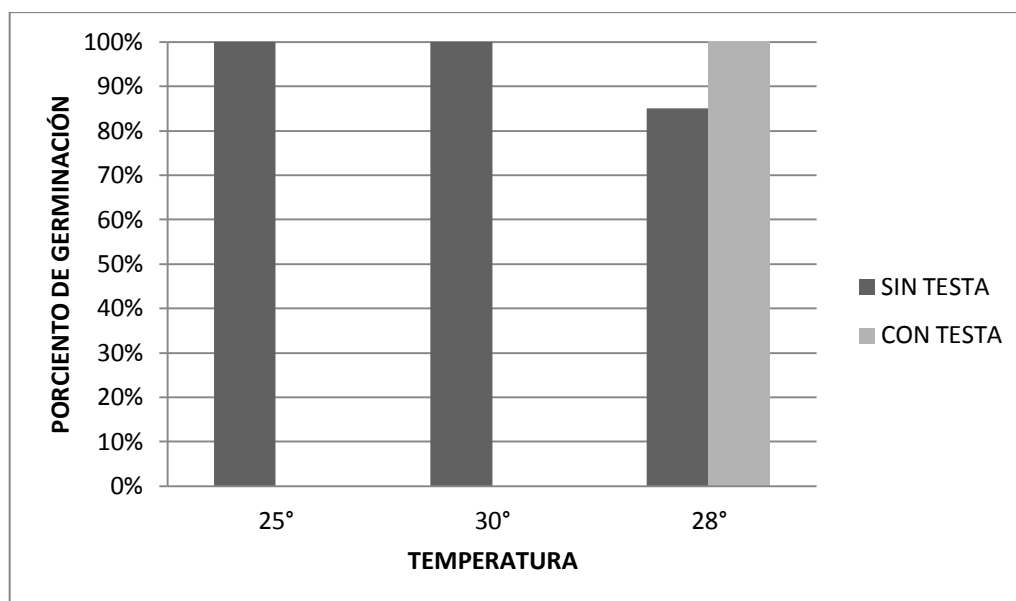


FIGURA 5. Efecto de la temperatura sobre el porcentaje de germinación de las semillas con y sin testa.

La respuesta en germinación que se obtuvo fue, para semillas con testa del 100 a 28° sin embargo para semillas sin testa disminuyó, siendo los mejores tratamientos de 25 °C y 30 °C, probablemente se debe a las condiciones físicas de la semilla y a las condiciones de temperatura a las que fueron expuestas en el experimento, ya que algunos de los tratamientos (28 °C de semillas sin testa) tuvieron presencia de hongos, lo que detuvo su germinación.

El análisis de varianza mostró una diferencia mínima significativa de 0.05 entre la longitud de la plántula con los diferentes tratamientos (25, 30 y 28 °C). como se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable longitud de la plántula (cm.)

FL	GL	SC	CM
Trat	2	435.3144444	217.6572222
Rep	5	143.8283333	28.7656667
Sem	2	22.0577778	11.0288889
Trat*Rep	10	99.2922222	9.9292222
Trat*Sem	4	0.6377778	0.1594444
Rep*Sem	10	0.0355556	0.2035556
Error	20	2.3222222	0.1161111
Total	53	705.4883333	
CV= 8.460020			$\alpha \leq 0.05$

En el Cuadro 4 se observa que todos los tratamientos son estadísticamente diferentes con una diferencia mínima significativa de 0.2874 con un α de 0.05 (Tukey) para semillas sin testa. Para el caso de semilla con testa el mejor de los tratamientos fue a temperatura ambiente (28 °C). ya que a temperatura de 30 y 25 °C no germinaron por lo que no hubo datos para esta variable..

Cuadro 4. Comparación de Medias para la variable longitud e la plántula de la especie *Jatropha rzedowskii*

Tratamiento	Semilla sin testa Longitud de la plántula (cm)	Semilla con testa Longitud de la plántula (cm)
30	7.8667 A	-
25	3.1278 B	-
28	1.0889 C	1.3111 A
DMS _(0.05)	0.2874	

Estos resultados muestran que las semillas de *Jatropha rzedowskii* responden adecuadamente en cuanto a velocidad y uniformidad de germinación a temperaturas de 30°C después de los 3 días en semillas sin testa; al igual que *J. curcas* que germina a temperatura de 30°C (Añez *et al* 2005).

La aplicación de tetrazolio para la verificación del estado de la semilla de *Jatropha rzedowskii* permitió constatar que, de manera conjunta, se obtuvo el 76.5 % de viabilidad probablemente debido al estado de la semilla al momento de la colecta. En la Figura 6 se observa el porciento de viabilidad por muestra de semilla en el cual existen marcadas diferencias de viabilidad.

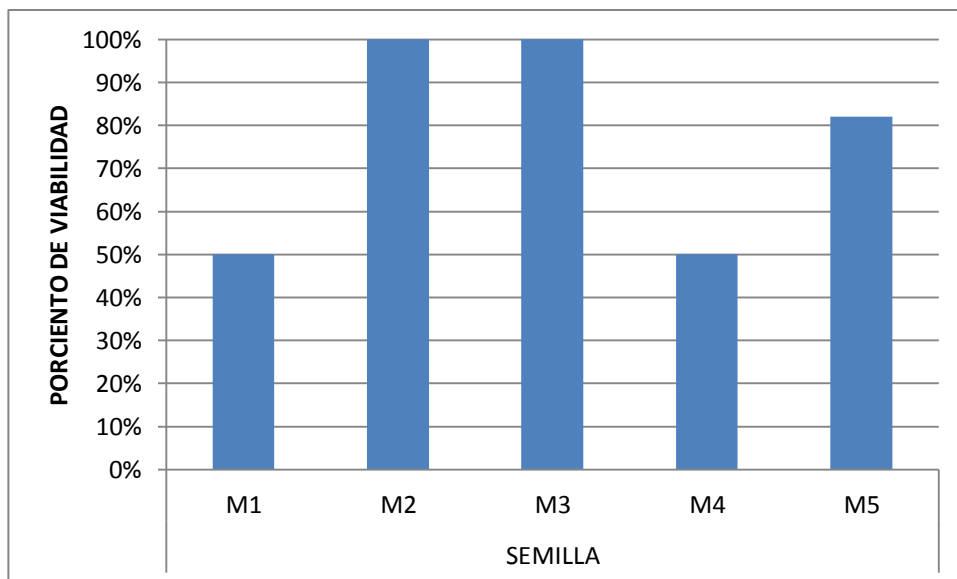


FIGURA 6. Porcentaje de viabilidad en la semilla con la prueba de tetrazolio al 1 %. Donde M1, M2, M3, M4 y M5 representan cada una de las muestras de semilla.

CARACTERIZACIÓN

J. rzedowskii es endémica del valle de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla y Oaxaca), encontrándose entre los 900 y 1000 m.s.n.m., en clima semi-seco cálido con estación seca larga Bs₁ y suelo derivado de lutita, arenisca y conglomerado. Algunas especies asociadas son: *Ceiba parvifolia*, *Polaskia chichipe*, *Bursera spp.*, *Hechtia sp.*, *Manihot pauciflora*, *Opuntia depressa* y *Cnidoscolus tehuacanensis*.

Arbusto ramificado de 0.60 a 2.00 m de altura, sus tallos son lisos (presenta cicatrices por la ausencia de las hojas) se ramifican desde la base; alcanzan un diámetro que va de los 2.3 a los 9.5 cm, exudan un látex translúcido, tienen un color grisáceo cuando son viejos y color rojizo moreno cuando son jóvenes, estos últimos cubiertos de polvo blanquecino. Sus hojas son verde oscuro fasciculadas, enteras y trilobuladas que miden 1 a 1.5 cm de largo, ápice redondeado y base cuneada presentan nervadura principal de la cual se derivan 6 nervaduras secundarias, visibles. Sus Flores son dialipétalas, rosáceas de cinco pétalos, enteras de color blanco-amarillo con ovario ínfero. Las flores pueden salir solitarias o en racimo en las bifurcaciones de los tallos jóvenes. Los frutos son drupas, que se encuentran solitarios nunca en racimos que inicialmente son verdes, y conforme se acerca su maduración cambia a un color café. Redondos con diámetro de 0.8 a 1.4 cm. Tienen forma redonda de pericarpio grueso una semilla por fruto la cual es alta en contenido de aceite. Tarda aproximadamente 5 a 10 días en germinar a los 30 °C y con un proceso

de escarificación. En la figura 7 se muestran partes de la planta como parte de su descripción morfológica.

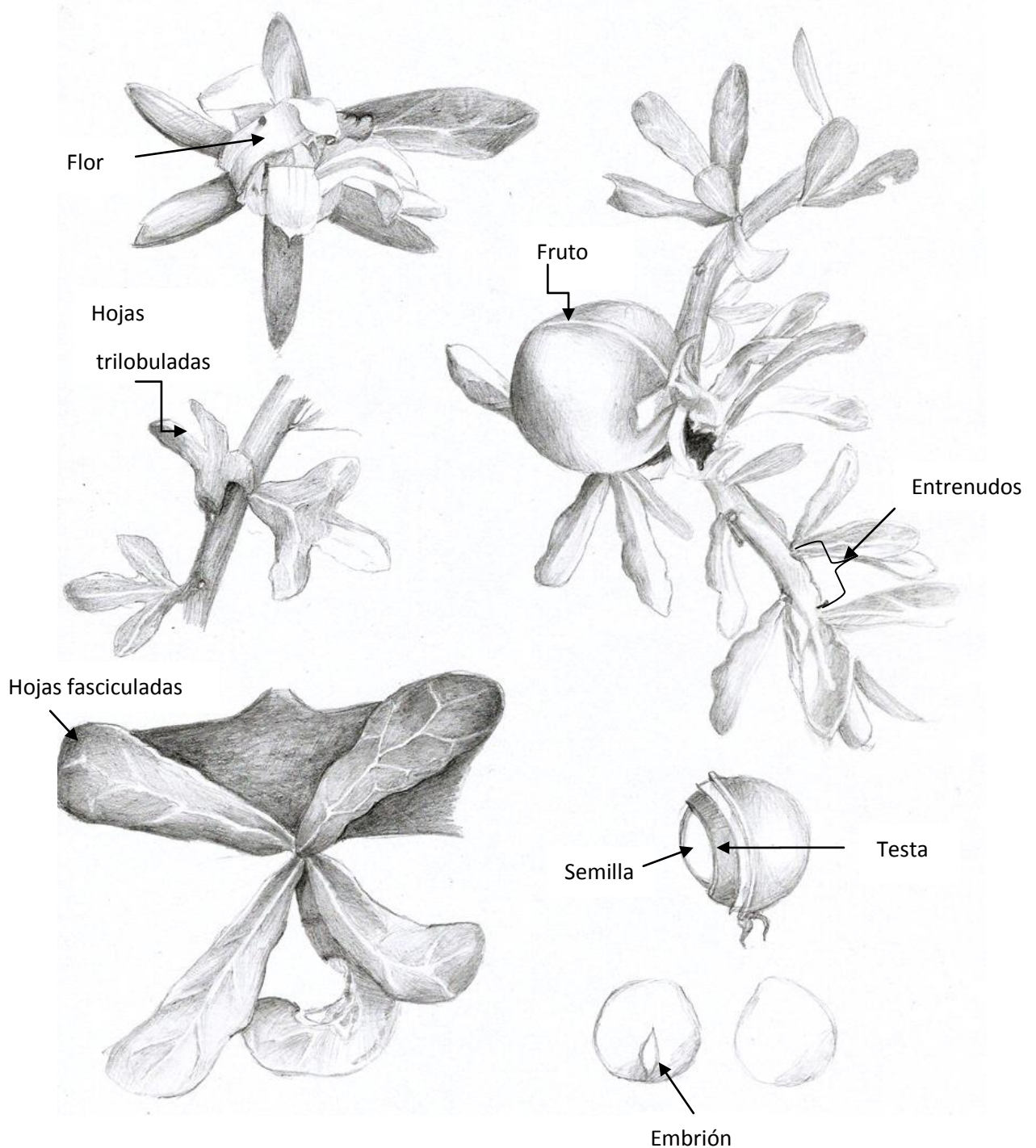


Figura 7. Partes de la planta de *Jatropha rzedowskii*. Imagen elaborada para la descripción de *Jatropha rzedowskii* por Leonardo Felipe Barreto B.2014.

ACEITES

El % de rendimiento de aceite extraído se obtuvo por medio de una relación de peso del extracto y la cantidad de materia utilizada por 100 g. Por lo que el % de rendimiento de la semilla de *J. rzedowskii* es del 58 %. Realizando la comparación con otras semillas destinadas para la elaboración de bioenergéticos tales como la *Jatropha curcas* cuyo contenido de aceite es de 30 - 58 %, Mahua 35 - 42 % y Neem 40 - 50 % (Karmaka *et al.*, 2010), el rendimiento obtenido del aceite de *J. rzedowskii* es mucho mayor a todas las mencionadas.

Respecto a lo anterior, es interesante observar la imagen de la Figura 8, en la que en la mayoría de las células de la semilla de *J. rzedowskii* se encontró gran cantidad de aceite, ya que éstas tendieron a colorearse. La prueba de azul de nilo menciona que las células tiñen de rojo si hay presencia de aceites.

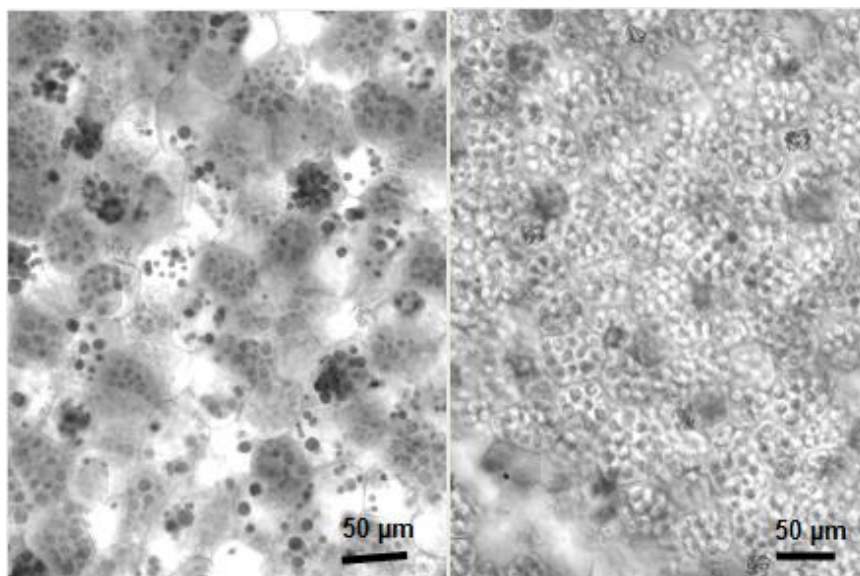


Figura 8 . Corte microhistologico de la semilla con azul de nilo.

Con la finalidad de cumplir con los estándares de calidad de los aceites para su transformación a biodiesel, se determinó el índice de acidez, así como la densidad e índice de yodo como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Parámetros de calidad del aceite extraído de la semilla de *Jatropha rzedowskii*

PROPIEDADES	ACEITE CRUDO
ÍNDICE DE ACIDEZ	1.06%
ÍNDICE DE YODO	135.67
VISCOSIDAD mPa.S (40°)	28.565
VISCOSIDAD mm ² /S	31.628
DENSIDAD RELATIVA 40°C	0.9031
CALOR DE COMBUSTIÓN	39,470,724.30 J/kg

Según los resultados, el aceite de *J.rzedowskii* tiene un bajo contenido de acidez, por lo que no se tuvo problema alguno para la transesterificación, ya que entre más bajo sea el índice de acidez (menor al 3 %) mejor se facilita la obtencion de biodiesel.

CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Para comprobar que la reacción se llevó a cabo satisfactoriamente al comparar el aceite con el producto de reacción, se realizó un seguimiento por cromatografía de capa fina (Figura 9). Siendo las manchas de mayor valor de R_f las que corresponden a los esteres metílicos de ácidos grasos (biodiesel) y las de menor R_f las que corresponden al aceite.

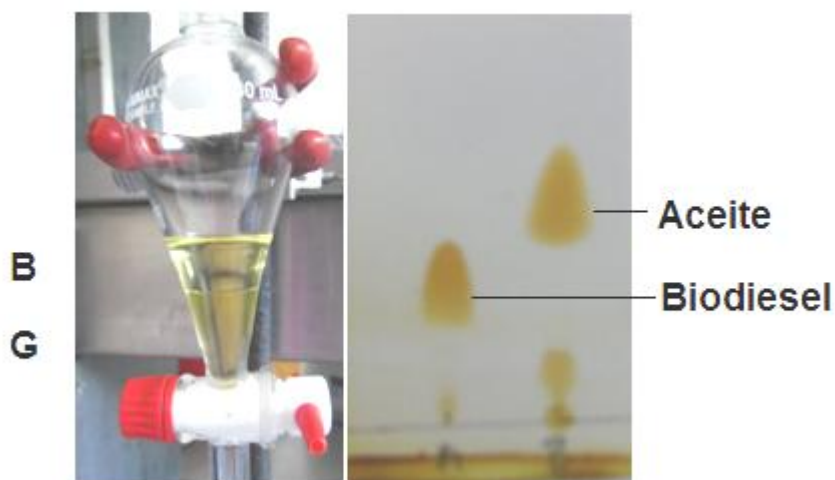


Figura 9. Placa cromatográfica indicando el final de la transesterificación y aspecto de la separación del biodiesel y la glicerina, tomada en el laboratorio de Productos Naturales de Preparatoria agrícola.

Al finalizar la cromatografía, se realizó el porcentaje de biodiesel obtenido del aceite el cual fue de 76.5%.

En el Cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos de los análisis realizados al biodiesel, siendo el índice de yodo el parámetro que excede los límites, ya que la norma indica que el valor máximo para este parámetro es de 120 g de I₂/100 g de biodiesel.

Cuadro 6. Parámetros de calidad del biodiesel obtenido de la semilla de *Jatropha rzedowskii*

PROPIEDADES	BIODIESEL
ÍNDICE DE ACIDEZ	0.45%
ÍNDICE DE YODO	131.20
VISCOSIDAD mPa.S (40°)	3.4171
VISCOSIDAD mm ² /S	3.9356
DENSIDAD RELATIVA 40°C	0.8682
CALOR DE COMBUSTIÓN	35,080,714.74 J/Kg

Se observa también que en las pruebas de calidad obtenidas para el biodiesel son mucho menores que las del aceite común. Según las especificaciones internacionales para el biodiesel B100 (ASTM D6751-08 y EN 14214) se indica que el valor máximo de acidez recomendado es de 0.5 mg de KOH/g de biodiesel y de 0.3 mg de KOH/g de biodiesel, respectivamente; por lo que el

valor obtenido en el biodiesel del aceite de *Jatropha rzedowskii* (0.45 mg de KOH/g de biodiesel) es menor al valor recomendado.

Como se muestra en la figura 10 la densidad del biodiesel con respecto a la del aceite bajó en diferentes temperaturas, no logrando obtener resultados a los 90°C en el biodiesel.

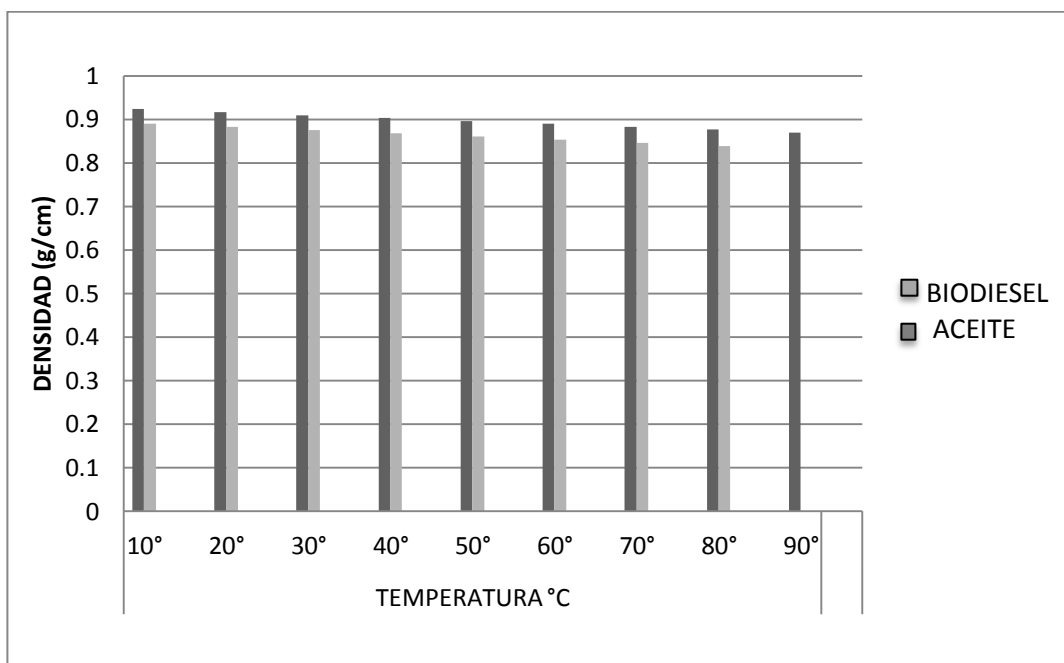


Figura 10. Efecto de la temperatura en la densidad del biodiesel y el aceite.

CROMATOGRAFÍA DE GASES



Laboratorio de Cromatografía
LSA del Instituto de Química, UNAM
Certificado ISO 9001:2008 RSGC 238

Informe de Resultados

7 de abril de 2014

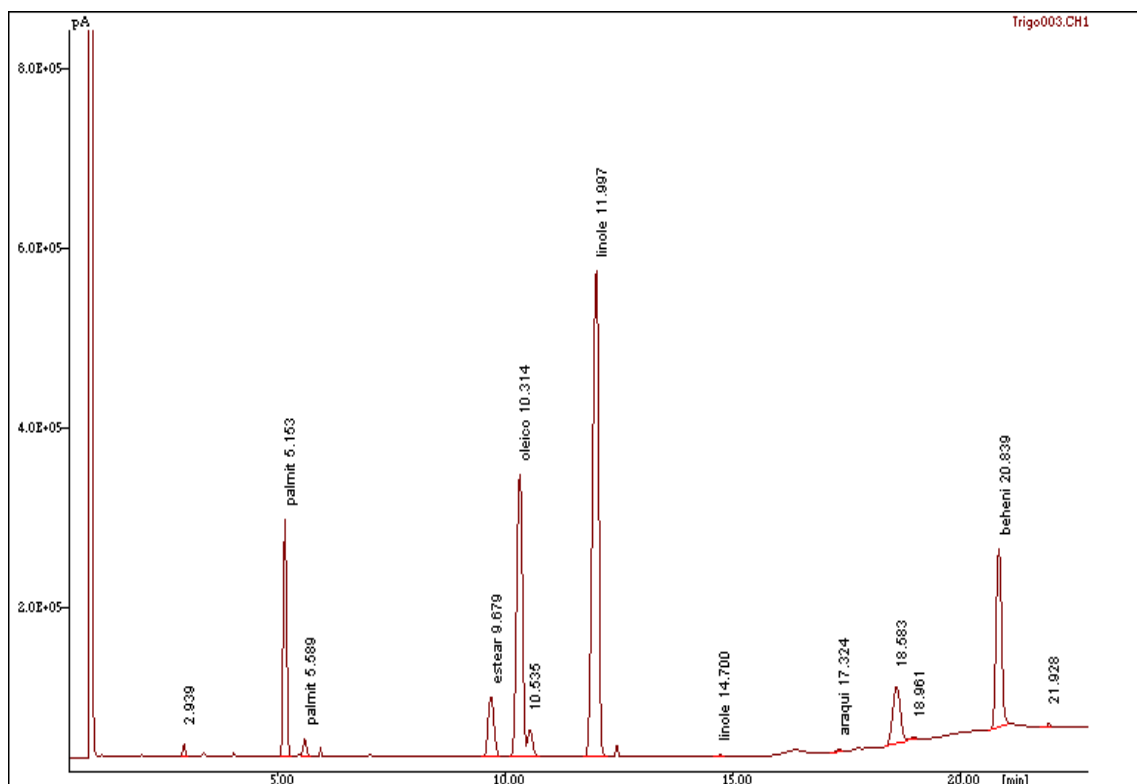


Figura 11. Cromatograma de los ésteres metílicos de ácidos grasos.

Para determinar el porcentaje de ácidos grasos presentes en el aceite de *J. rzedowskii* se analizaron los compuestos volátiles de la muestra en un cromatografo de gases Agilent 6890 en una columna AT FAME 30 m X 0,25 mm x 0.25 μ m. A una temperatura de la columna de 180 ° C, 15 min rampa 10 °C/ min hasta 230 °C. Con flujo 1.8 ml/ min hidrogeno split 100. La temperatura del inyector fue de 250°C a 275°C.

Los ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de *J rzedowskii*, el 63.895 % de los ácidos grasos del aceite son insaturados y 36.105 % saturados. De los cuales el ácido linoléico y oléico son los que se encuentran en mayor proporción con 41.462 % y 22.253 % respectivamente, aunque también tiene un alto contenido de ácido behénico 13.073 % (Cuadro 7).

Cuadro 7. Composición de los ácidos grasos de la semilla de *J. rzedowskii*.

Acidos grasos	Nombre sistematico	Estructura	%
Linoléico	Cis-9-cis-12 Octadecadienoico	18:2	41.462
Oléico	Cis-9-octadecenoico	18:1	22.253
Behénico	docosanoico		13.073
Palmítico	hexadecanoico	16:0	8.704
Estearico	Octadecenoico	18:0	4.981
Palmitoléico	Cis-9-octadecenoico	16:1	0.647
Araquidónico	Cis-5-cis-8-cis11-cis14 eicosatetraenoico	20:4	0.127

Este último ácido se caracteriza en apariencia por estar constituido con cristales o polvos color blanquecino. Es por esto que en las pruebas micro histológicas se observó presencia de cristales dentro de la semilla, como se muestra en la Figura 12.

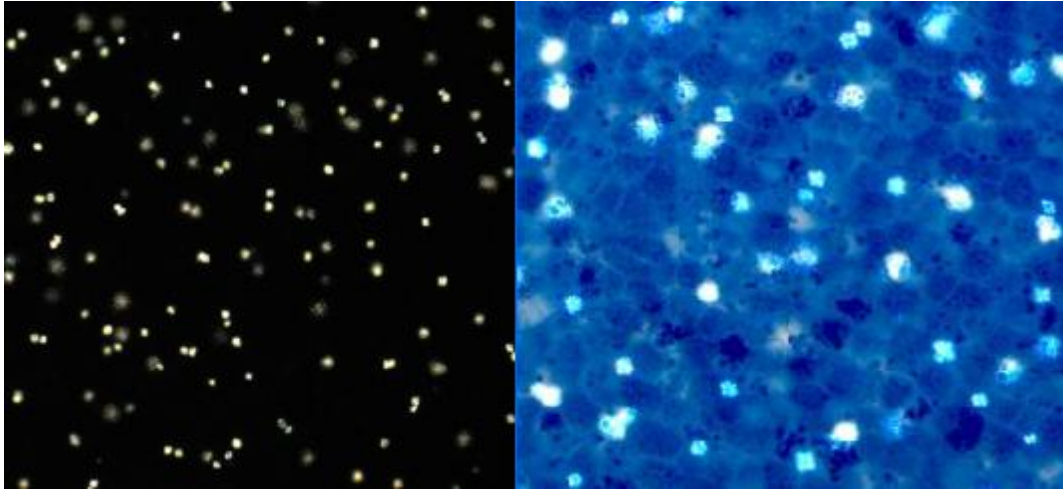


Figura 12. Corte micro histológico de la semilla de *J. rzedowskii* donde se aprecia la presencia de cristales.

8. CONCLUSIONES

La condiciones óptimas en las que se realizó mejor el proceso de germinación fue a los 30 °C con el proceso de escarificación. La separación de la testa es un proceso que da mejores resultados, ya que induce el proceso de germinación.

Con base a los resultados de esta investigación, se deduce que la semilla de *Jatropha rzedowskii* presenta altos contenidos de aceite, cualidad para ser apta para la elaboración de biodiesel, ya que sus características resultaron óptimas para llevar a cabo la reacción de transesterificación. Por lo que representa una opción viable para que en el futuro se implemente su cultivo (y probable domesticación) para la obtención de biocombustible.

.

La especie de *J. rzedowskii* es una planta que, debido a sus características puede ser inducida como cultivo; sin embargo, es necesario realizar estudios más a fondo para que se incremente el número de frutos por planta.

9. BIBLIOGRAFÍA.

Añez, L. M. M.; Coelho, M. F. B., Albuquerque, M. C. F. & Dombroski, J. L. D. 2005. Caracterizacáo morfológica dos frutos, das sementes e do desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica*.150p.

Baena, M,; Jaramillo, S; Montoya, J. 2003. Material de apoyo a la citación en conservación *in situ* de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas. Instituto Internacional de Recursos Fitogénéticos, Cali, Colombia. 130 p.

Cifuentes, M.; Fallot, A. 2009. *Jatropha curcas* como biocombustible: estado actual del cultivo en Mesoamérica. Recursos Naturales y Ambiente CATIE. CR. 56-57: 165-169

Cuevas S.; J.A. 1988. Recursos Fitogénéticos: Base conceptual para su estudio y Conservación. Unidad de Estudios Etnobotánicos Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo.115 p.

Dalziel, J. 1995. The Useful Plants of West-Tropical Africa. Crown Agents for Oversea Governments and Administration, London, 147 p.

Demirbas, A. 2009. Biorefineries:Current Activities and Future Developments. Energy Conversion and Management, 50:2782-2801.

FAO. 2008. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Biocombustibles: perspectivas, riegos y oportunidades. FAO, Rome, Italy.13p.

Frankel, OH, Brown, AHD 1984. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: Holden JHW, Williams JT (eds). Crop genetic resources: conservation and evaluation. Allen and Unwin, London, UK pp: 249-257.

García R., M. A.; García C. J.M. 1992. “Contribución al estudio etnobotánico del Nanche (*Byrsonima* Spp.) distribución geográfica y alternativas para su conservación de su plasma germinal”. Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. (67): 73-82.

Graham, L. 2009. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. Journal of Experimental Botany, 60(10):, 2897-2905.

Goel,G., H. Makkar, G. Francis y K. Becker. 2007. Phorbol esters: structure, biological activity and toxicity in animals. International Journal of Toxicology, 26:279-288.

Hirota, M., M. Suttajit, H. Sugori, Y. Endo, K. Shudo, V. Wongochai, E. Heckcer y H. Fujiki 1988. A new tumor promoter from the seed oil of *Jatropha curcas* L., an intramolecular diester of 12-Deoxy-16hidroxyphorbol. Cancer research journal, 48:5800-5804.

Hoekman K.S.;Broch,A.;Robbins,C.;Ceniceros,E.; Natarajan M. 2012Review of biodiesel composition, properties, and specifications. Renewable and Sustainable energy reviews (16):143-169.

Hubert, G., Iborra, S.; Corma, A., 2006. Synthesis of transportation fuels from biomass: Chemistry, Catalysts, and Engineering. Chemical reviews, 106 (9):4044-4098.

Jensen, W.A. 1962. Botanical Histochemistry. Principles and Practice. Freeman. San Francisco. 275 p.

King,G.A.; Wright, W. M. 2007. Rudolph Diesel Meets the Soybean:"Greasing" the Wheels of Chemical Education. Journal of Chemical Education. 84(2): 202-206.

King, A; He, W; Cuevas, J. Freudenberger; Pabón, L; Hernández, P. 2012. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Universidad de la Salle. Bogota, Col. 17(2): 194-209.

Painting, K., M. Perry, R. Denning y W. Ayad. 1993. Guía para la Documentación de Recursos Genéticos. IBPGR. Roma, 309 p.

Paterniani, E, Goodman, MM 1977. Races of maize in Brazil and adjacent areas. México, DF, CIMMYT. 95p.

Ruzin, S.E. 1999. Plant Microtechnique and Microscopy. Oxford University. Press New York. 230p.

Sevilla, R., Holle, M 1995. Recursos Genéticos Vegetales. Universidad Nacional Agraria La Molina, Peru. 208 p.

Spagnoletti Zeuli PL, Qualset CO 1987. Geographical diversity for quantitative spike characters in a world collection of durum wheat. Crop Sci. 27:235-241.

Valls, José F. M. 1989. Caracterizaco morfologica, reproductive e bioquímica de germoplasma vegetal. In curso de Tecnologia de Sementes para Bancos de Germoplasma, CENARGEN, Brasilia,Brasil, 23 p.

Wink, M., C. Koschmieder, M. Sauerwein y F. Sporer. 1997. Phorbol Esters of *J. curcas*-Biological Activities and Potential Applications, Instituto para la farmacologia botanica de la Universidad de Heidelberg, Alemania.