



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSITUTO DE HORTICULTURA

POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE

Jatropha elbae J. Jiménez Ram.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Presenta:

Michelle Xicotencatl Lozano



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de:

Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez

Dra. Diana Guerra Ramírez



Chapingo, Estado de México, junio de 2017

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE

Jatropha elbae J. Jiménez Ram.

Tesis realizada por **Michelle Xicotencatl Lozano** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Director



Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez

Co-directora



Dra. Diana Guerra Ramírez

Asesor



Dr. Juan Martínez Solís

Asesor



Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE CUADROS	XI
DEDICATORIA	XIII
AGRADECIMIENTOS	XIV
DATOS BIOGRÁFICOS.....	XV
RESUMEN GENERAL.....	XVI
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	18
i. Objetivos Particulares	19
ii. Hipótesis de Investigación	19
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	20
2.1. México: País Megadiverso	20
2.2. Etnobotánica	23
2.2.1. Descripción taxónomica de <i>Jatropha</i> L.	26
2.2.2. Descripción biológica de <i>Jatropha</i>	32
2.2.3. Etnobotánica de <i>Jatropha</i>	32
2.3. Propagación asexual.....	36
2.3.1. Propagación vegetativa de <i>Jatropha</i>	38
2.4. Importancia de las semillas	39
2.4.1. Propiedades físicas de las semillas.....	40
2.4.2. Aceites vegetales	40
2.4.3. Métodos de extracción del aceite	42
2.4.4. Propiedades químicas del aceite.....	43
a. Índice de yodo	43
b. Índice de Saponificación.....	43

c.	Ácidos grasos libres e índice de acidez.....	43
d.	Índice de peróxidos	44
2.4.5.	Perfil de ácidos grasos	45
2.4.6.	Propiedades mecánicas y valor calorífico de los aceites vegetales 48	
a.	Viscosidad	49
b.	Densidad	49
c.	Valor calorífico (Calor de combustión).....	50
2.4.7.	Biodiésel.....	50
a.	Ventajas del Biodiésel	51
2.4.8.	Composición analítica de la semilla y cubierta seminal.....	52
a.	Humedad	53
b.	Proteína Bruta (PB)	54
c.	Extracto Etéreo o Grasa Bruta (EE)	54
d.	Fibra Cruda (FB).....	54
e.	Extracto libre de Nitrógeno (ELN).....	55
f.	Ceniza.....	55
2.4.9.	Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta residual	55
a.	Compuestos fenólicos	55
b.	Antioxidantes	56
c.	Determinación de la capacidad antioxidante	57
d.	Método colorimétrico de Folin-Ciocalteu	58
e.	1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH).....	58
f.	FRAP (Poder Antioxidante para Reducir el Fierro)	59
2.4.10.	Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en <i>Jatropha</i>	59
2.4.11.	Cuantificación de la Toxicidad por Ésteres de Forból	60
2.5.	Conservación de la diversidad genética.....	61
2.5.1.	Diversidad genética.....	62

2.5.2.	Cuantificación de la variación genética	64
2.5.3.	Inter simple sequence repeats (ISSR's)	66
2.5.4.	Aplicación de ISSR en <i>Jatropha</i>	67
2.6.	LITERATURA CITADA.....	68
III.	CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE <i>Jatropha elbae</i> J. Jiménez Ram.	81
	RESUMEN.....	81
	ABSTRACT.....	82
3.1.	INTRODUCCIÓN	83
3.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	84
3.2.1.	Material vegetal.....	84
a.	<i>Jatropha elbae</i> J. Jiménez Ram.	84
b.	<i>Jatropha curcas</i> L.	85
3.2.2.	Revisión de herbario	85
3.2.3.	Descripción de los sitios de colecta.....	86
3.2.4.	Encuesta	91
3.2.5.	Propagación vegetativa.....	91
3.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	92
3.3.1.	Revisión de herbario	92
3.3.2.	Encuesta	93
3.3.3.	Propagación vegetativa.....	96
3.4.	CONCLUSIÓN	97
3.5.	LITERATURA CITADA.....	98
IV.	COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS ACEITES DE <i>Jatropha elbae</i> J. Jiménez Ram. Y <i>Jatropha curcas</i> L.	100
	RESUMEN.....	100
	ABSTRACT.....	101
4.1.	INTRODUCCIÓN	102
4.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	104

4.2.1.	Caracterización morfológica de la semilla.	104
4.2.2.	Extracción del aceite	105
4.2.3.	Propiedades químicas del aceite.	106
a.	Índice de Yodo (IY)	106
b.	Índice de Saponificación (IS)	106
c.	Índice de acidez (IA)	107
d.	Índices de Peróxidos (IP)	108
4.2.3.1.	Perfil de ácidos grasos.	109
4.2.3.2.	Viscosidad y Densidad.	110
4.2.3.3.	Calor de combustión.	110
4.3.	Análisis estadístico	110
4.4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	111
4.4.1.	Caracterización física de la semilla	111
4.4.2.	Extracción y Propiedades fisicoquímicas del aceite	113
4.4.2.1.	Perfil de ácidos grasos.	120
4.4.2.2.	Valor calorífico (Calor de combustión)	121
4.5.	CONCLUSIÓN	121
4.6.	LITERATURA CITADA	122
V.	PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE LA SEMILLA DE <i>Jatropha elbae</i> J. Jiménez Ram. Y <i>Jatropha curcas</i> L.	125
	RESUMEN	125
	ABSTRACT	126
5.1.	INTRODUCCIÓN	127
5.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	129
5.2.1.	Material vegetal.	129
5.2.2.	Composición Analítica de la Pasta Residual	129
a.	Humedad	129
b.	Ceniza	129
c.	Proteína Bruta (PB)	130

d.	Extracto Etéreo (EE).....	131
e.	Fibra Cruda (FB).....	131
f.	Extracto Libre de Nitrógeno (ELN).....	132
5.2.3.	Compuestos Fenólicos y Capacidad Antioxidante	132
a.	Preparación de extractos.....	132
b.	Determinación de Fenoles totales	133
c.	Ensayo DPPH.....	133
d.	Ensayo FRAP	134
5.2.4.	Cuantificación de Ésteres de Forbol.....	134
5.3.	Análisis estadístico.....	135
5.4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	136
5.4.1.	Material vegetal.....	136
5.4.2.	Composición analítica de la semilla y cubierta seminal.....	136
5.4.3.	Capacidad antioxidante de la pasta residual.....	137
5.4.4.	Cuantificación de esteres de forból	137
5.5.	CONCLUSIÓN	138
5.6.	LITERATURA CITADA.....	139
VI.	DIVERSIDAD GENÉTICA DE DOS POBLACIONES DE <i>Jatropha elbae</i> J. Jiménez Ram.....	142
	RESUMEN.....	142
	ABSTRACT.....	143
6.1.	INTRODUCCIÓN	144
6.2.	MATERIALES Y MÉTODOS	146
6.2.1.	Material vegetal.....	146
6.2.2.	Extracción de ADN genómico	146
6.2.3.	Obtención de patrones ISSR.....	147
6.2.4.	Análisis estadístico.....	149
6.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	150
6.3.1.	Análisis de agrupamiento	150

6.3.2.	Análisis de Coordenadas Principales (ACP)	151
6.3.3.	Análisis de Variabilidad Poblacional.....	152
a.	Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)	152
b.	Análisis de la Diversidad Genética	152
c.	Descriptiva de marcadores	154
6.4.	CONCLUSIÓN	156
6.5.	LITERATURA CITADA.....	156

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Provincias biogeográficas (CONABIO, 1997).	22
Figura 2 Distribución de las especies de <i>Jatropha</i> en Puebla (Rodríguez-Acosta et al., 2009).....	27
Figura 3 Ecuación general de la transesterificación de triglicéridos.....	47
Figura 4 Reacción de transesterificación de los triglicéridos	48
Figura 5 Fracciones del análisis inmediato (Sistema Weende)	53
Figura 6 Estructura de los 6 PEs descritos en <i>J. curcas</i> , factores C1–C6 (1A–1F), 12-deoxy-16-hydroxyphorbol (1G) and phorbol 12-myristate 13-acetate (1H) (Haas et al., 2002)	61
Figura 7 Sitios de colecta ubicados en el estado de Puebla.....	86
Figura 8 Semillas de A. <i>J. elbae</i> ; B. <i>J. curcas</i>	104
Figura 9 Dimensiones características: 1. Vista frontal, 2. Vista del perfil y 3. Geometría tridimensional de la semilla de ambas especies.	104
Figura 10 A. Cromatografía en capa delgada. B. Mezcla de reacción del proceso de transesterificación del aceite de <i>J. elbae</i>	109
Figura 11 Viscosidad dinámica o absoluta (20-90 °C) de dos especies de <i>Jatropha</i>	116
Figura 12 Viscosidad cinemática (20-90 °C) de dos especies de <i>Jatropha</i>	116
Figura 13 Espectro de resonancia magnética nuclear. <i>J. curcas</i> : a. Aceite; b. Biodiésel.	118
Figura 14 Espectro de resonancia magnética nuclear. <i>J. elbae</i> : a. Aceite; b. Biodiésel.	119
Figura 15 Espectro de masa de <i>J. elbae</i> para determinar presencia de ésteres de forból.....	138
Figura 16 Dendrograma de dos poblaciones <i>Jatropha elbae</i> construido con la distancia genética de Dice mediante la varianza mínima de Ward	150

Figura 17 Representación bidimensional de 46 individuos de <i>J. elbae</i> mediante el análisis de coordenadas principales usando la distancia de Dice $[(\sqrt{1-s})]$	151
Figura 18 Patrones de bandas resultantes con el iniciador UBC-842 en 48 individuos de <i>Jatropha elbae</i>	155

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 Breve descripción de los climas en México	21
Cuadro 2 Breve descripción de las 48 especies de <i>Jatropha</i> en México	28
Cuadro 3 Uso Medicinal de <i>Jatropha</i> con distribución en México.....	34
Cuadro 4 Características y respuesta del enraizamiento de varios tipos de esquejes	37
Cuadro 5 Diseño experimental completamente al azar para ambas poblaciones (Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero).....	92
Cuadro 6 Etnobotánica de <i>J. elbae</i> en dos localidades de Puebla	95
Cuadro 7 Esquejes que presentaron hojas.....	96
Cuadro 8 . Esquejes que presentaron ramificaciones.....	97
Cuadro 9 Propiedades físicas de la semilla	111
Cuadro 10 Propiedades físicas de las semillas de <i>Jatropha</i> sin testa	112
Cuadro 11 Coeficiente de correlación (r) alométrico en <i>Jatropha</i>	113
Cuadro 12 Porcentaje de aceite y Propiedades químicas de <i>Jatropha</i>	114
Cuadro 13 Viscosidad y Densidad de <i>Jatropha</i>	116
Cuadro 14 Perfil de ácidos grasos del aceite de <i>Jatropha</i> por disolvente (%)	120
Cuadro 15 Valor Calorífico del aceite y los FAME de <i>Jatropha</i>	121
Cuadro 16 Análisis proximal de semillas de <i>Jatropha</i>	137
Cuadro 17 Fenoles totales y Análisis de actividad antioxidante en <i>Jatropha</i> ..	137
Cuadro 18 Lista de iniciadores tipo ISSR utilizados en una muestra de <i>J. elbae</i>	148
Cuadro 19 Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación por PCR para la obtención de los ISSR.....	148
Cuadro 20 Análisis molecular de varianza (AMOVA) en dos poblaciones de <i>J. elbae</i>	152

Cuadro 21 Estimadores de la diversidad genética de dos poblaciones de <i>J. elbae</i>	153
Cuadro 22 Análisis de diversidad genética de Nei de dos poblaciones de <i>J. elbae</i> de Puebla.....	153
Cuadro 23 Polimorfismo y número de bandas generadas con los primers ISSR de 47 accesiones de <i>J. elbae</i>	155

DEDICATORIA

La concepción de este proyecto está dedicada a mis padres y esposo. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir.

También dedico este proyecto a mi hermanita, sobrina y a toda mi familia. Además, a mis amigos y amigas, compañeros inseparables.

A ellos este proyecto, que, sin ellos, no hubiese podido ser.

Y

Y A la memoria de mis abuelos Clara Deolarte Guevara y Miguel Lozano Torres. Agustina Tecuatl Pancoatl y Jacinto Xicotencatl Corona.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento que me otorgaron a través de la beca de estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y en particular al Posgrado de Biotecnología Agrícola del Instituto de Horticultura, por haberme brindado la oportunidad de ampliar y mejorar mis conocimientos.

A mis asesores Dr. Jesús Cuevas, Dra. Diana Guerra, Dr. Juan Martínez y Dra. Gisela Peña. Por permitirme ser parte de su grupo de trabajo. Sus consejos, paciencia, apoyo moral y opiniones sirvieron para que continuar forjándome en este hermoso mundo de la investigación.

A los siguientes laboratorios: Productos Naturales del Departamento de Preparatoria Agrícola, Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia y al Banco Nacional de Germoplasma Vegetal. Por brindarme el apoyo y confianza para usar sus instalaciones en especial a la Dra. Irma Salgado, al Dr. Benito Reyes, a la Dra. Matilde Villa, asimismo al Técnico Académico Ricardo Gaspar Hernández y Tomás Mejía por bríndame su apoyo, asesoría y compartirme sus conocimientos.

*A mi esposo Ernesto
Por sus comentarios, sugerencias y opiniones. Por ser un buen amigo y esposo.*

*A mis padres, hermana y sobrina: María Félix y Jacinto, Alexandra y MaryFer
Por su cariño, comprensión y apoyo sin condiciones, ni medida.*

*A mis amigos
Lucio Caamaño, Jesica Medrano, Anayeli López, Vicente, Silvi, Marce, Cesar, y Xitlali,
por sus consejos, enseñanzas y ayuda.*

*A todos y cada uno de los profesores
Que participaron en mi desarrollo académico durante esta Maestría, sin sus conocimientos no estaría en donde me encuentro ahora.*

*A Dios
Por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi espíritu e iluminar mi mente,
además por haber colocado en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte
y compañía.*

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales:

Nombre: Michelle Xicoténcatl Lozano

Fecha de nacimiento: 15 de agosto de 1986

Lugar de nacimiento: Puebla, Pue.

CURP: XILM860815MPLCZC09

Profesión: Bióloga

Cédula Profesional: 6632212

Desarrollo académico:

Bachillerato: Preparatoria Lázaro Cárdenas del Río, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Licenciatura: Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Desarrollo profesional:

Técnico académico asociado a TC, Jardín Universitario. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

**CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE
Jatropha elbae J. Jiménez Ram.
CONTRIBUTION TO ETHNOBOTANICAL KNOWLEDGE OF
Jatropha elbae J. Jiménez Ram.**

Michelle Xicotencatl-Lozano¹, Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez²

RESUMEN GENERAL

Jatropha tiene alta diversidad genética, sus semillas son utilizadas como alimento y para producción de biodiésel. De *J. elbae*, endémica de México, hay pocos estudios. El objetivo de este trabajo fue contribuir al estado del arte de esta especie. Para explorar los usos en dos municipios del estado de Puebla, se hicieron entrevistas semiestructuradas a 50 personas mayores de 30 años. La discriminación de la diversidad poblacional se midió por 13 ISSR y paquetes estadísticos Info-Gen® y POPGEN 1.32. Para caracterizar la semilla se correlacionaron las dimensiones alométricas y peso. Las propiedades nutraceuticas y tóxicas de las semillas fueron determinadas por métodos químicos y espectroscópicos. El estudio etnobotánico demuestra que el látex de las hojas se utiliza para combatir aftas bucales, mientras que sus semillas son comestibles. La descriptiva de los marcadores y el análisis de la diversidad de 2 poblaciones generó 162 bandas totales de las cuales 99 % son polimórficas. El PIC osciló entre 0.14 a 0.28.

1 Autora

2 Director

GENERAL ABSTRACT

Jatropha has high genetic diversity; its seeds are used as food and for biodiesel production. *Jatropha elbae*, endemic to Mexico, has few studies. The objective of this work was to contribute to the state of the art of this species. To explore the uses of *J. elbae* in two municipalities of the state of Puebla, semi-structured interviews were made to 50 people older than 30 years. Discrimination of population diversity was measured by 13 ISSR and Info-Gen® and POPOGEN 1.32 statistical packages. To characterize the seed, allometric dimensions and weight were correlated. The nutraceutical and toxic properties of the seeds were determined by chemical and spectroscopic methods. The ethnobotanical study shows that leaf latex is used to combat mouth thrush, while its seeds are edible. The descriptive markers and analysis of the diversity of 2 populations generated 162 total bands of which 99 % are polymorphic. The PIC ranged from 0.14 to 0.28. The AMOVA suggests that one of the populations disagrees with the other with respect to the

El AMOVA sugiere que una de las poblaciones discrepa de la otra respecto a los perfiles moleculares promedio (15.49 %), además existe variación dentro de la población (84.51 %). El índice de Shannon osciló entre 0.3387 a 0.3400. Las correlaciones alométricas fueron positivamente significativas entre peso con el largo y ancho y largo-ancho. De acuerdo con el estudio del perfil de ácidos grasos del aceite contenido en las semillas, los ácidos grasos insaturados representan un 74%. El análisis proximal mostró que el contenido de lípidos fue mayor que carbohidratos y proteínas (58.65, 17.13, 16.41%, respectivamente). El contenido fenólico fue de 0.21 mg CE g_{bs}⁻¹ y coincide con su baja capacidad antioxidante. De acuerdo con los resultados, *J. elbae* tiene diversidad poblacional moderada, las semillas son inocuas por su baja toxicidad y representan una materia prima para la extracción de aceite y consumo.

Palabras clave: Etnobotánica, propiedades físicoquímicas, nutraceuticas, diversidad genética, *J. elbae*.

the other with respect to the average molecular profiles (15.49%), and there is also variation within the population (84.51 %). The Shannon index ranged from 0.3387 to 0.3400. The allometric correlations were positively significant between weight with length and width, and length with width. According to the study of the fatty acid profile of the oil contained in the seeds, the unsaturated fatty acids represent 74%. Proximal analysis showed that the lipid content was higher than carbohydrates and proteins (58.65, 17.13, 16.41%, respectively). The phenolic content was 0.21 mg CE g_{bs}⁻¹ and coincides with its low antioxidant capacity. According to the results, *J. elbae* has moderate population diversity, the seeds are harmless due to their low toxicity and represent a raw material for the extraction of oil and consumption.

Key words: Ethnobotany, physicochemical properties, nutraceuticals, genetic diversity, *J. elbae*.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La biodiversidad no se reparte de forma equitativa por el planeta. Un pequeño grupo de países, cuya área supone el 10 % de la superficie de la Tierra, alberga el 70 % del total de especies animales y vegetales. Identificándose sólo 17 países megadiversos. El mayor número de países megadiversos lo alberga el continente americano, siete en total, seguido de Asia, con cinco, África, con tres, y Oceanía, con los dos restantes.

México ocupa el cuarto lugar entre los países del continente americano que albergan una alta biodiversidad. Su posición geográfica permite la mezcla de elementos de procedencia Neártica y Neotropical, aunados a su fisiografía altamente heterogénea. En lo referente a la diversidad de plantas vasculares, cuenta entre 26 a 30 mil especies, de las cuales, alrededor de 23 mil son nativas. A pesar de esta gran riqueza, estas plantas son poco aprovechadas por falta de estudios ordenados y continuos que brinden los conocimientos científicos necesarios para su utilización y manejo. Por lo tanto, es imperativo el estudio de estas plantas antes de que sea imposible hacerlo.

El género *Jatropha* L. está integrado en su mayoría por árboles y/o arbustos pertenecientes a la familia *Euphorbiaceae*, cuenta con 199 especies, de las cuales 48 se encuentran distribuidas en México, y 31 de ellas son endémicas, con amplia distribución geográfica principalmente en los trópicos, ha sido utilizado para control de erosión de suelos, como cerco, leña, en la medicina tradicional y principalmente para la extracción de aceite susceptible de transformarlo a biodiésel. Por otro lado, en ciertas regiones de México (v.gr. el Totonacapan) hay una gran diversidad genética, donde existen evidencias de la domesticación de accesiones de *Jatropha*, cuya inocuidad ha permitido el uso de sus semillas para consumo humano y animal. En dichas regiones sería factible, la conservación *in situ* y aprovechamiento de estos materiales.

Dada la importancia actual que ha adquirido el cultivo de la *J. curcas* y tomando en cuenta que México alberga un gran número de especies endémicas como es el caso de *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. & R. Torres. en el estado de Puebla, el objetivo general de esta

tesis fue: contribuir al estado del arte de *Jatropha elbae* como base para fomentar su desarrollo antropocéntrico.

i. Objetivos Particulares

- a. Registrar el conocimiento etnobotánico en dos localidades del estado de Puebla.
- b. Evaluar las propiedades nutraceuticas y tóxicas de las semillas de *Jatropha elbae*, mediante métodos químicos y espectroscópicos para resaltar los beneficios de su consumo como alimento.
- c. Evaluar las propiedades fisicoquímicas del biodiésel obtenido a partir del aceite de *J. elbae*, mediante métodos químicos y espectroscópicos para determinar si es posible su para este propósito.
- d. Mensurar la diversidad genética en dos poblaciones de la especie de interés en el estado de Puebla.

ii. Hipótesis de Investigación

- No habrá diferencias estadísticamente significativas en los atributos de *J. elbae* de interés antropocéntrico, en comparación con los de *J. curcas*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. México: País Megadiverso

México es considerado un país megadiverso, ya que forma parte del selecto grupo de naciones poseedoras de la mayor cantidad y diversidad de animales y plantas. Cuenta con alrededor de 200 mil especies, siendo hogar del 10 al 12 por ciento de la riqueza biológica global de cada taxón (SRE, 2013). Por lo tanto, ocupa el segundo lugar en especies de reptiles y está entre los cinco primeros lugares en anfibios, mamíferos y plantas con flores. Además, es rico en especies endémicas y ecosistemas. Resultado de la evolución o diversificación natural y cultural en el país (Saruhkán & Dirzo, 2001 en Espinosa-Organista & Ocegueda-Cruz, 2008).

La fisiografía del territorio mexicano es el resultado de la interacción de cinco placas tectónicas —Norteamericana, del Pacífico, Rivera, de Cocos y del Caribe—, cuya acción conjunta ha originado cordilleras por plegamiento (Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur) o por vulcanismo (Sierra Madre Occidental, Faja Volcánica Transmexicana); las mesetas (Altiplano central) y depresiones (Balsas y Chiapas) quedaron confinadas entre las cordilleras principales.

Los climas en México están determinados por varios factores, entre los que se encuentran: la elevación sobre el nivel del mar, la latitud geográfica, las diversas condiciones atmosféricas y la distribución existente de tierra y agua. Por lo anterior, el país cuenta con una gran diversidad de climas, los cuales de manera muy general pueden clasificarse, según su temperatura, en cálido y templado; y de acuerdo con la humedad existente en el medio, en: húmedo, subhúmedo y muy seco (CONAGUA, 2010) (Cuadro 1).

Cuadro 1 Breve descripción de los climas en México

Clima	Porcentaje del territorio nacional	Temperatura promedio (°C)	Precipitación (mm)
Seco	28.3	18-26	300-600
Muy Seco	20.8	18-22	100-300
Cálido-Húmedo	4.7	22-26	2000-4000
Cálido-Subhúmedo	23	22-26	1000-2000
Templado-Húmedo	2.7	18-22	2000-4000
Templado-Subhúmedo	20.5	10-22	600-1000

Breve descripción de los climas en México

Al conjuntar esas dos características y la distribución de la biota en el país se observan dos regiones biogeográficas muy contrastantes: la región Neártica (templada) y la Neotropical (tropical). Los límites entre una y otra se localizan aproximadamente a partir del paralelo 19° N y Sur, que coincide con el Eje Neovolcánico al norte y sur respectivamente. En la zona templada (Neártica) los ambientes secos son zonas áridas y los húmedos bosques y pastizales. En la región tropical (Neotropical) los ambientes secos están representados por las selvas secas y los matorrales espinosos, y los ambientes húmedos por las selvas altas y medianas perennifolias (INEGI, 2015) (Figura 1).



Figura 1 Provincias biogeográficas (CONABIO, 1997).

En lo referente a la diversidad de plantas vasculares, México posee entre 26 a 30 mil especies (Jiménez-Sierra *et al.*, 2014), de las cuales alrededor de 23 mil son nativas de México y casi la mitad son endémica (LlorenteBousquets & Ocegueda, 2009), siendo 546 géneros monocotiledóneas y 2,117 dicotiledóneas (Villaseñor, 2004).

La gran biodiversidad de México, proporciona muchas opciones para el desarrollo del país. Hasta la fecha, la diversidad de los recursos genéticos, especies, ecosistemas y servicios ambientales no han sido valorados apropiadamente (Sarukhán, Carabias, Koleff, & Urquiza-Haas, 2012)

2.2. Etnobotánica

La necesidad de conocer los usos y clasificar a las plantas de su región, fue una actividad esencial para la supervivencia de los primeros homínidos. Las sociedades humanas han dependido de las plantas y de su conocimiento desde sus inicios, ya que les han proveído de alimento, medicina, refugio, herramientas, utensilios, venenos, bebidas refrescantes y embriagantes, papel, fibras, combustible y ceremonial (Gerique, 2006), por lo tanto, es el resultado de las experiencias multigeneracionales de los grupos humanos con su medio vegetal (Huerta-Casarrubias, 2009).

Aunque su práctica es antigua, el término de Etnobotánica fue utilizado por primera vez en 1896 por el botánico taxónomo, John W. Harshberger, definiéndolo como “el estudio de las plantas utilizadas por los sociedades aborígenes y primitivas. A partir de ahí, y durante el transcurso de todo el siglo XX, el término Etnobotánica ha tenido diferentes acepciones, de acuerdo a las diversas actividades, perspectivas y enfoques de los investigadores (Balick, 1996).

Desde el punto de vista de la Antropología, la Etnobotánica es “el estudio de las interacciones directas entre humanos y plantas”, sin definir si esos usos son por grupos primitivos o por sociedades industriales” (Ford, 1978). Desde la perspectiva en las actividades agrícolas se refiere a la Etnobotánica como el registro, orden, análisis y

publicación de la información de la cultura agrícola del hombre, así como de su manejo, conservación y propagación de especies útiles (García-Valenzuela, 2011). Desde el punto de vista botánico se refiere a la Etnobotánica como el estudio de las plantas en relación a la gente, integrando en este estudio tanto a plantas silvestres como domesticadas (Heiser, 1985).

Estas definiciones pueden verse limitadas cuando se requiere comprender a dichos usos en el contexto donde se desenvuelven y con las interacciones entre los grupos humanos y las plantas. La definición que lograría abarcar los diferentes contextos sería ver a la Etnobotánica, como una rama de la Etnoecología que se encarga de estudiar las relaciones que el ser humano establece con las plantas.(Young, 2007), entendiendo estas relaciones como saberes tradicionales (Huerta-Casarrubias, 2009).

La Etnoecología se define como el estudio interdisciplinar de los sistemas de conocimiento, prácticas, y creencias de los diferentes grupos humanos sobre su ambiente; algunas de esas disciplinas son la Etnobiología, Etnobotánica y la Etnozoología (Reyes-García & Sanz, 2007). Aún que los estudios se orientan principalmente en las áreas conservadas, también es importante el estudio de la vegetación en áreas que han sido alteradas por la humanidad desde jardines de traspatio hasta la vegetación secundaria (Gerique, 2006).

El conocimiento local, considerado por muchos rudimentario y superfluo, hizo su entrada en documentos políticos como Our Common Future (1987) o la Convención de Diversidad Biológica (1992) y empezó a despertar el interés en científicos de varias disciplinas, activistas, políticos y el público en general. Investigadores notables como Berkes y Toledo enfatizaron el valor del conocimiento ecológico local, presentándolo como resultado y estrategia de la adaptación humana al medio (Reyes-García & Sanz, 2007).

En este sentido, los principales retos de la aplicación de la Etnobotánica de acuerdo con Hamilton *et al.* (2005) son: a) Conservación de las especies de plantas (incluyendo

variedades de semillas) y otras formas de diversidad biológica; b) Inventarios botánicos y la evaluación de los estatus de conservación de las especies. c) Sostenibilidad en el suministro de recursos de plantas silvestres, incluyendo productos no maderables. d) Mayor seguridad alimentaria, nutrición y asistencia sanitaria. e) Preservación, recuperación y difusión del conocimiento y la sabiduría botánica local. f) Refuerzo de la identidad étnica y nacional. g) Mayor seguridad en la tenencia de la tierra y la propiedad de los recursos. h) Aserción de los derechos de los pueblos locales e indígenas. i) Acuerdos sobre los derechos de las comunidades en áreas protegidas. j) Identificación y desarrollo de nuevos productos económicos a partir de plantas, como artesanías, alimentos, plantas medicinales, además de plantas con valor energético y plantas hortícolas. k) Contribuciones al desarrollo de nuevos fármacos.

Consecuentemente, el estudiar los elementos de las interrelaciones hombre-planta, los cuales son: a) el medio (las condiciones ecológicas) y b) la cultura, a través de la dimensión tiempo, se puede apreciar, que estos cambian cuanti y cualitativamente: el medio por modificaciones en los componentes de dicho ambiente y por la acción del hombre y la cultura por la acumulación, y a veces por la pérdida, del conocimiento humano (Hernández-Xolocotzi, 1983).

Por lo tanto, la etnobotánica es la llave para la conservación y el desarrollo de la sustentabilidad. El progreso de capacidades en la Etnobotánica aplicada es urgentemente necesario en los países en desarrollo debido a los íntimos vínculos entre la población rural y las plantas locales. Esto no quiere decir que la Etnobotánica aplicada no sea útil en los países desarrollados, el rol de los etnobotánicos en esos países será tratar de relacionar a las personas con las plantas que desconocen para fomentar la conservación, además estos etnobotánicos podrán colaborar con colegas en países en desarrollo (Hamilton *et al.*, 2005).

2.2.1. Descripción taxonómica de *Jatropha* L.

El género *Jatropha* L. pertenece a la familia *Euphorbiaceae*, la cual representa a una de las quince familias con mayor número de especies nativas y endémicas de México con 5 subfamilias (Steinmann, 2002; Villaseñor, 2003; 2004). Dichas subfamilias son: *Phyllanthoideae*, *Oldfieldioideae*, *Acalyphoideae*, *Crotonoideae* y *Euphorbioideae* (Martínez-Gordillo *et al.*, 2002; Steinmann, 2002).

El género *Jatropha* se localiza en la subfamilia *Crotonoideae* representada por 12 tribus, 67 géneros y 1436 especies con dos centros de diversificación importantes: uno en Asia, con 34.32 % de los géneros y otro en América que tiene el 32.8 % de los mismos (Martínez-Gordillo *et al.*, 2002).

El género *Jatropha* pertenece a la tribu *Jatropheae* y comprende 175 especies (Martínez-Gordillo *et al.*, 2002), de las cuales 48 tienen distribución en México siendo 39 de ellas endémicas, representando el 81 % de endemismo (Cuadro 2) (Steinmann, 2002), distribuido en selvas bajas y matorrales xerófilos (Martínez-Gordillo *et al.*, 2002).

De acuerdo con Rodríguez-Acosta *et al.* (2009), Puebla es el segundo estado después de Oaxaca, en donde se distribuyen un total de 11 especies del género *Jatropha*: *J. andrieuxii* Müll. Arg.; *J. ciliata* Sessé ex Cerv.; *J. curcas* L.; *J. elbae* J. Jiménez Ram.; *J. neopauciflora* Pax; *J. oaxacana* J. Jiménez Ram. & R. Torres; *J. pseudocurcas* Müll. Arg.; *J. riojae* Miranda; *J. rufescens* Brandegees; *J. rzedowskii* J. Jiménez Ram.; *J. websteri* J. Jiménez Ram. La mayoría de las especies se encuentra distribuida al sur de la entidad, cuyas condiciones semiáridas tienen un tipo de vegetación de bosque tropical caducifolio y el matorral xerófilo (Figura 2).

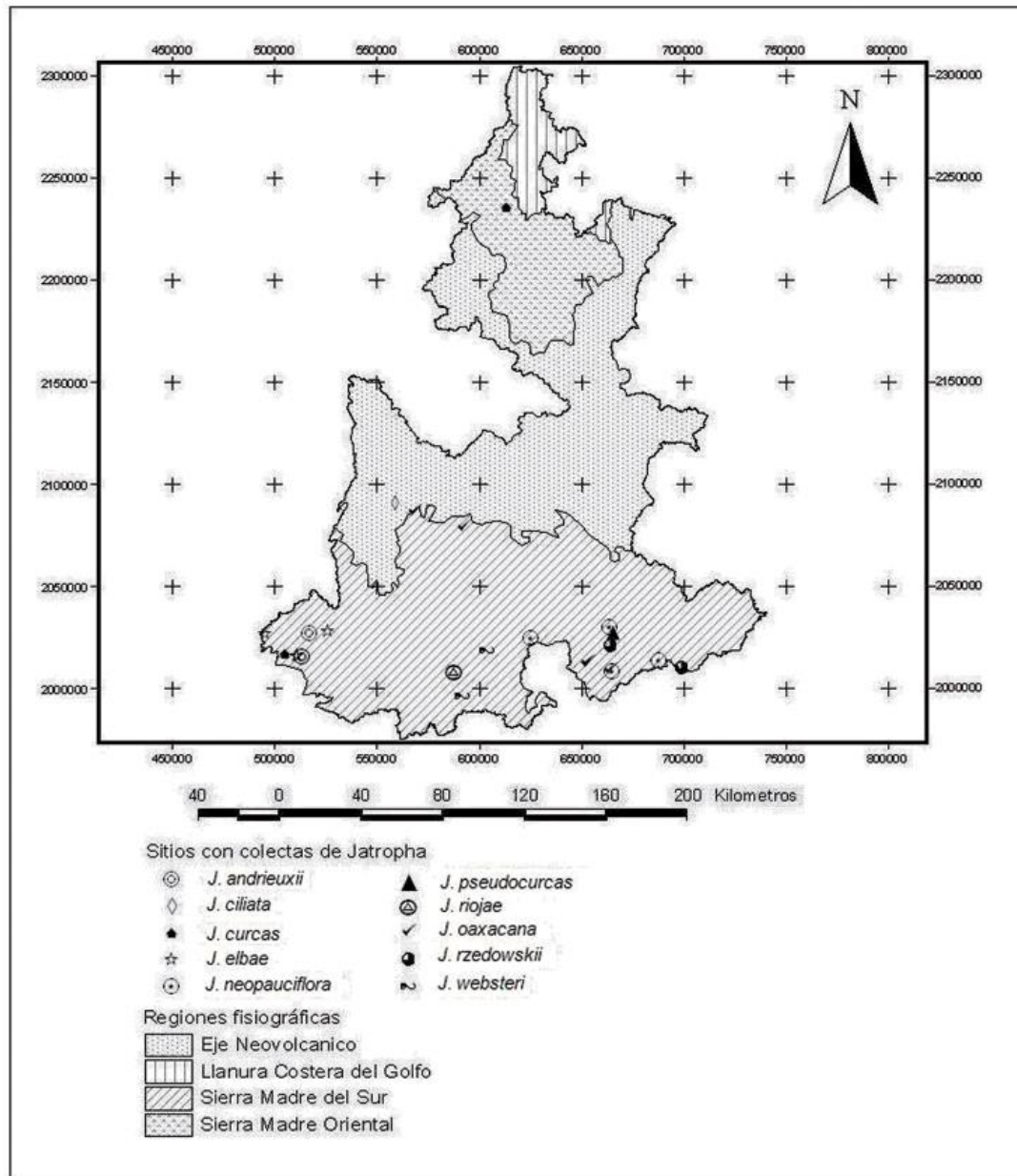


Figura 2 Distribución de las especies de *Jatropha* en Puebla (Rodríguez-Acosta et al., 2009)

Cuadro 2 Breve descripción de las 48 especies de *Jatropha* en México

No	Especie	Distribución	Estatus en México	Tipo de vegetación	Forma de vida	Tipo de clima	Región altitudinal (msnm)	Promedio temperatura anual (°C)	Referencia
1	<i>J. andrieuxii</i> Müll. Arg.	Méx: Gro; Oax; Pue.	E	BTC	S	Cw, Aw, BS	1300-1650	20-29°	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza, Ordóñez, & Briones-Salas, 2004; Rodríguez-Acosta <i>et al.</i> , 2009)
2	<i>J. ciliata</i> Sessé ex Cerv.	Méx: DF; EdoMex; Pue; Oax	E	BTC; BTCL	S	Aw, Am, Cw	200-2000	5-29	(Meave, 1998; Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza, Ordóñez, & Briones-Salas, 2004;)
3	<i>J. elbae</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Gro; Pue.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	900-1100	20-29°	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza, Ordóñez, & Briones-Salas, 2004; Rodríguez-Acosta <i>et al.</i> , 2009)
4	<i>J. neopauciflora</i> Pax.	Méx: Oax; Pue.	E	MX, BTC	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	1140-1900	5-29	
5	<i>J. oaxacana</i> J. Jiménez Ram. & R. Torres	Méx: Oax; Pue.	E	MX, BTC	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	1000-2000	5-29	
6	<i>J. pseudocurcas</i> Müll. Arg.	Méx: Chis., Jal; Oax; Tab; Ver; Pue.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	1895	20-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Rodríguez-Acosta <i>et al.</i> , 2009)
7	<i>J. riojae</i> Miranda	Méx: Pue.	E	SD	S	SD	SD	SD	
8	<i>J. rufescens</i> Brandegees	Méx: Oax; Pue.	E	MX	S	BW, BS	SD	12-26	
9	<i>J. rzedowskii</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Gro., Mich., Oax; Pue., Ver.	E	MX, BTC	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	900-1000	5-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza, Ordóñez, & Briones-Salas, 2004; Rodríguez-Acosta <i>et al.</i> , 2009)
10	<i>J. websteri</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Gro; Pue.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	1125-1220	20-29	
11	<i>J. alamanii</i> Müll. Arg.	Méx: Oax	E	BTCL; MX	S	Cw BS, BW	1-550	6-28	
12	<i>J. bartlettii</i> Wilbur	Méx: Jal., Col., Nay.	E	BTC; BTCL MX	T	Aw; Am, Cw; BS, BW	800-1500	12-29	(Dehgan & Webster, 1979; Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)
13	<i>J. bullockii</i> E. J. Lott	Méx: Jal.; Col.	E	BTC; MX	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	800-1200	5-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)

14	<i>J. chamelensis</i> Pérez-Jim.	Méx: Jal.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	0-200	5-29	
15	<i>J. contrerasii</i> J. Jiménez Ram. & Martínez Gordillo	Méx: Gro.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	1200-1500	5-29	(Dehgan & Webster, 1979; Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)
16	<i>J. conzattii</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Oax	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	1000-1500	5-29	
17	<i>J. cordata</i> (Ortega) Müll. Arg.	Méx: Chih., Dgo., Jal.; Mich., Sin., S.L.P. Zac.	E	BTCL, BTC; MX	T	Aw; Am, Cw; BS, BW	800-1500	12-29	
18	<i>J. dehganii</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Jal.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	SD	20-29	
19	<i>J. fremontii</i> Standl.	Méx: Oax	E	MX	S	BW, BS	400-600	12-26	
20	<i>J. galvanii</i> J. Jiménez Ram. & L.M. Contr. Jim.	Méx: Gro., Jal.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	400-800	20-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)
21	<i>J. giffordiana</i> Dehgan & G. L. Webster	Méx: B.C. S	E	MX	S	BW, BS	0-200	12-26	
22	<i>J. hintonii</i> Wilbur	Méx:	E	SD	S	SD	SD	SD	
23	<i>J. krusei</i> J. Jiménez Ram. y M. Martínez-Gordillo	Méx: Gro.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	SD	20-29	
24	<i>J. malacophylla</i> Standl.	Méx: BC; BCS; Chih; Dgo; Oax, Pue., Sin; Son. Ver.,	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	100-800	20-29	
25	<i>J. macrorhiza</i> Benth. var. <i>macrorhiza</i>	Méx: Chih., Son.	E	MX	H	BW, BS		12-26	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002)
26	<i>J. moranii</i> Dehgan & G. L. Webster	Méx: BCS	E, PR	MX	S	SD	SD	SD	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)
27	<i>J. multifida</i> L.	A, Méx: Ver.	C	BTC; BQ; BTP; P	SD	SD	SD	SD	(Steinmann, 2002)
28	<i>J. octandra</i> Cerv.	Méx:	E	SD	SD	SD	SD	SD	(Steinmann, 2002)
29	<i>J. ortegae</i> Standl.	Méx: Gro., Nay., Oax., Sin.	E	SD	T	Cw	0-200		(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015;)
30	<i>J. peltata</i> Cerv. (<i>J.</i> <i>platyphylla</i> Müll. Arg.)	Méx: Jal., Mich., Nay., Pue., Sin.;	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	800-1200	20-29	

31	<i>J. pereziae</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Mich.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	SD	20-29	
32	<i>J. purpurea</i> Rose	Méx: B.C., Sin., Son.	E	MX	S	BW, BS	SD	12-26	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002)
33	<i>J. standleyi</i> Steyerl.	Méx: Col., Gro., Nay; Oax.	E	BTC	SD	Aw, Am, Cw	0-200	5-29	
34	<i>J. stephanii</i> J. Jiménez Ram. & M. Martínez Gordillo	Méx: Mich.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	500-1000	20-29	
35	<i>J. sympetala</i> S. F. Blake & Standl.	Méx: Col., Jal., Oax.	E	BTC	T	Aw, Am, Cw	0-200	20-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza <i>et al.</i> , 2004)
36	<i>J. vernicosa</i> Brandegees	Méx: B.C.S., Oax., Pue.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	200-500	20-29	
37	<i>J. tehuantepecana</i> J. Jiménez Ram. & A. Campos Vilb.	Méx: Oax.	E	BTP	T	Am	1000-1500	8-20	
38	<i>J. tlalcozotitlanensis</i> J. Jiménez Ram.	Méx: Gro.	E	BTC	S	Aw, Am, Cw	SD	20-29	
39	<i>J. Jaimejimenezii</i> V. W. Steinm.	Méx	SD	SD	SD	SD	SD	SD	(García-Mendoza <i>et al.</i> , 2004; Steinmann, 2002)
40	<i>J. curcas</i> L.	CA y SA; Méx: Sin-Chis. y Ver-Yuc;	C	BTC; BTCL	T-S	Aw, Am, Cw	840-1900	5-29°	
41	<i>J. cardiophylla</i> (Torr.) Müll. Arg	NA; Méx: Mor.; N. L.; Son.	C	BTC; BTCL MX	S	Aw; Am, Cw; BS, BW	125-600	12-29	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; García-Mendoza <i>et al.</i> , 2004)
42	<i>J. cathartica</i> Terán & Berland.	NA; Méx: Mor.; N. L.; Tamps.	C	BTC; BTCL; MX	S	Aw; Am, Cw; BS, BW	0-1000	12-29	
43	<i>J. cinerea</i> (Ort.) Müll. Arg. (<i>J. canescens</i> (Benth.) Müll. Arg.)	NA; Méx: B.C.S.; Col. Jal.; Sin.; S. L.P.; Son.	C	MX; BTC	S	Aw, Am, Cw, BS, BW	0-800	5-29	
44	<i>J. cuneata</i> Wiggins & Rollins	NA; Méx: B.C., Sin., Son.,	C	MX	S	BS, BW	0-400	12-26	
45	<i>J. dioica</i> Sessé	NA; Méx: B. C., Chih., Coah., D. F., Dgo., Gro., Gto., Hgo., Méx. Mich., N. L., Pue., Qro., S. L. P., Tamps., Zac.,	C	MX	S	BS, BW	100-1800, 2800	12-26	(Martínez-Gordillo <i>et al.</i> , 2002; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015;)

46	<i>J. gaumeri</i> Greenm.	CA; Méx: Cam., Q. Roo., Yuc.	C	BTP; BTC	T	Aw, Am, Cw	100-200	8-29	
47	<i>J. gossypifolia</i> L.	SA; Méx: Col., Jal., Nay., Oax., Pue., Q. Roo Sin., Ver.,	C	BTC	H	Aw, Cw, BS, BW	100-600	17-29°	
48	<i>J. macrorhiza</i> Benth. var. <i>septemfida</i> Egelm	NA	C	SD	SD	SD	SD	SD	(Steinmann, 2002)

SD=Sin datos;

Distribución mundial:

CA=Centroamérica; NA=Norteamérica; SA=Sudamérica, A=África. Méx=México, BC=Baja California; BCS=Baja California Sur; Chis=Chiapas; Chih=Chihuahua; Co=Colima, Coah=Coahuila, DF=Distrito Federal; Dgo=Durango; EdoMex=México; Gto=Guanajuato; Gro=Guerrero; Hgo=Hidalgo; Jal=Jalisco; Mich=Michoacán; Mor=Morelos; Nay=Nayarit; Oax=Oaxaca; Pue=Puebla; Qro=Querétaro; Q. Roo=Quintana Roo; Sin=Sinaloa; Son=Sonora; Tab=Tabasco; Tamps=Tamaulipas; Tlax=Tlaxcala; Ver=Veracruz; Yuc=Yucatán.

Estatus en México:

E=endémica a México; C=cosmopolita; Pr=Peligro de extinción.

Forma de vida:

S=arbusto; T=árbol; H=hierba

Tipo de Vegetación:

BTP=Bosques tropicales perennifolios; BTC=Bosque tropical subcaducifolio, bosque tropical caducifolio, bosque espinoso; BTCL=Bosque de Quercus, Bosque de Coníferas; MX=Matorral xerófilo

Tipo de Clima:

1) Climas secos: BS seco estepario; BW seco desértico

2) Climas templados-Subhúmedo: Cw=templado con lluvias en verano

3) Clima cálido-húmedo: Aw, Am

2.2.2. Descripción biológica de *Jatropha*

De acuerdo con Martínez-Gordillo *et al.* (2002) el género *Jatropha* consta de árboles, o arbustos, ocasionalmente hierbas, monoicos o dioicos; glabros o pubescentes con tricomas simples; exudado claro o coloreado.

Hojas: se encuentran alternas, enteras, dentadas o palmatilobadas, frecuentemente glandulares; nervadura palmada o rara vez pinnada; pecíolo presente, ocasionalmente glandular; estípulas presentes o ausentes, algunas veces glandulares.

Flor: Las *inflorescencias* en racimos o panículas, terminales o axilares, largamente pedunculadas, bracteadas, las flores estaminadas en los nudos distales y las pistiladas en los proximales. *Flor* estaminada corto-pedicelada; cáliz 5-lobado, imbricado; pétalos 5, connatos, imbricados o contortos; disco entero o segmentado; estambres 8-10, filamentos libres o connatos un medio o un tercio de su longitud, dehiscencia longitudinal; pistilodio presente. *Flor* pistilada generalmente en los nudos proximales de la inflorescencia, corto pedicelada; cáliz 5-lobado; disco presente; ovario (1-2-) 3-locular, óvulos 1 por lóculo; estilos 3, libres o connatos.

Fruto: es una cápsula, crustáceo a leñoso; columela persistente. *Semillas*: ovoides, subglobosas; carúncula presente, en ocasiones incospicua.

Polinización: se lleva a cabo principalmente por insectos (entomofilia).

2.2.3. Etnobotánica de *Jatropha*

El nombre *Jatropha* es derivado de la palabra griega “*jatros*” cuyo significado es “doctor” y “*trophe*” “comida” el cual es asociado con usos medicinales. La mayoría de los estudios etnobotánicos se han enfocado en especies que tienen distribución fuera de México (África, India, América del Sur, Antillas), reportando varios usos medicinales, constituyentes químicos y actividades biológicas como *J. curcas* L., *J. elliptica* (Pohl) Oken, *J. gossypifolia* L., *J. mollissima* (Pohl) Baill. (Félix-silva, Giordani, Silva-Jr., Zucolotto, & Fernandes-Pedrosa, 2014), *J. chevalieri* Beille, *J. gaumeri* Greenm., *J. glandulifera* Roxb., *J. grossidentata* Pax et. Hoffm., *J. integerrima* Jacq., *J. macrantha* Müll. Arg., *J. mahafalensis* Jum and H. Perrier, *J. multifida* Linn., *J. nana* Dalz, *J.*

podagrica Hook, *J. pohliana* Muell. Arg., *J. tanjorensis* Ellis and Saroja, *J. unicastata* and *J. weddelliana* Baillon (Sabandar, Ahmat, Jaafar, & Sahidin, 2013).

Las especies de *Jatropha* son famosas por el efecto purgante del aceite obtenido de sus semillas, sólo se ha reportado en *J. integerrima* que sus hojas además de tener efecto purgante va acompañado de vómito, causando deshidratación (Mongkolvisut *et al.*, 2006). El látex, la corteza del tallo, las hojas y las raíces de *J. curcas*, *J. gossypifolia*, *J. multifida* son empleadas para contrarrestar enfermedades relacionadas: con la piel (picazón, cicatrización de heridas) (Sabandar *et al.*, 2013). Mientras que *J. gaumeri* se utiliza para ayuda a pacientes con úlcera o aftas en la cavidad oral (León-Pérez, 2013). *J. dioica* evita la caída del cabello (Wong-Paz *et al.*, 2010). *J. multifida*, *J. curcas*, *J. gossypifolia* se han utilizado para curar enfermedades venéreas y urinarias (Sabandar *et al.*, 2013). Otros usos reportados son para el tratamiento de la artritis (reumatismo), la disentería, problemas inflamatorios, antidiabetes y malaria (Wong-Paz *et al.*, 2010; Misra & Misra, 2010; Nwauzoma & Dappa, 2013).

Los reportes etnobotánicos para las especies con distribución en México se describen en el Cuadro 3, como se observa, en forma general se utilizan como antimicrobianas.

Cuadro 3 Uso Medicinal de *Jatropha* con distribución en México

Especie	Medicinal	Autor	Parte utilizada	Autor	Preparación	Autor	Otros usos	Autor
<i>J. curcas</i> L.	Malaria / Antimicrobiano		hojas / látex	(Asase, Oteng-Yeboah, Odamtten, & Simmonds, 2005)			reforestación / hibridación con 20 spp.	(Dehgan & Webster, 1979; Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015;)
<i>J. elbae</i> J. Jiménez Ram.	Diabetes		corteza	(Edwin, Siddaheswar Balakrishnan, & Dharam Chandra, 2008)				
<i>J. neopauciflora</i> Pax.	Antimicrobiano Tratamiento contra erupciones y daños en la piel o dolor de dientes			(Fresnedo-Ramírez & Orozco-Ramírez, 2013)				
<i>J. cinerea</i> (Ort.) Müll. Arg. (<i>J. canescens</i> (Benth.) Müll. Arg.)	Cicatrizante de heridas en la piel y aftas. Elimina las enfermedades del cuero cabelludo.		tallo, hojas, raíz, látex		infusión	(BDMTM, 1999)		
<i>J. dioica</i> Sessé	Hemorroides, úlcera péptica, gastritis, asma, caída del cabello, manchas en la piel, acné, sangrado de encías y dolor de dientes. Diabetes	(Edwin <i>et al.</i> , 2008; Wong-Paz <i>et al.</i> , 2010; Martínez <i>et al.</i> , 2014)	raíz, corteza, látex, tallos	(Wong-Paz <i>et al.</i> , 2010)	et cataplasmas, baños,	(Wong-Paz <i>et al.</i> , 2010)	curtir la piel	(Hernández-Sandoval, González Romo, & González Medrano, 1991)

<i>J. gaumeri</i> Greenm.	Antinflamatorio; Fuegos en la boca, enfermedades gastrointestinales		látex	(Sabandar <i>et al.</i> , 2013)				
<i>J. gossypiifolia</i> L.	Veterinario. Tratamiento contra la malaria. Antinflamatorio, analgésico, antihemorrágico. Dolor de dientes, purgativo, lepra, tratamientos diarrea, disentería		hojas, látex, semillas, raíz	(Asase <i>et al.</i> , 2005; Sabandar <i>et al.</i> , 2013; Félix-silva <i>et al.</i> , 2014;)	infusión, maceración	(Félix-silva <i>et al.</i> , 2014)	ornamental, pesticida, insecticida, usos religiosos	(Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015; Félix-Silva <i>et al.</i> , 2014)
<i>J. podagrica</i> Hook.	Antibiótico, Malaria	(Sabandar K, 2013)					ornamental insecticida	/ (Córdova Téllez <i>et al.</i> , 2015)

2.3. Propagación asexual

En la naturaleza, existen dos métodos de propagación: asexual (multiplicando vegetativa de sus partes) y sexual (a través de la generación de semillas). La propagación sexual proporciona la variedad genética que las plantas necesitan a fin de poder adaptarse al siempre cambiante medio ambiente, pero esto llega con alto costo. Los padres invierten la mayoría de su energía en la producción de semillas necesarias para ser dispersadas (Kent, 2000).

La producción asexual es mucho menos costosa para la planta, produciendo individuos idénticos a los padres lo cual incrementa su adaptación al ambiente específico. La propagación vegetativa es la forma de reproducción de las plantas más común. En general se refiere a la fragmentación, la separación de la planta madre en varias partes, regenerándose estas partes como nuevos individuos (Kent, 2000), esto es gracias a la totipotencialidad de la célula (Sadhu, 1989).

De acuerdo con Sadhu, (1989) las ventajas más importantes de la propagación vegetativa a nivel comercial son:

1. La producción de semillas no viables por la planta. Como algunas variedades de plátano, higo, naranja, uva y la gardenia; perpetuando su permanencia. La polinización cruzada que se da de manera natural en las plantas produce heterogeneidad perdiendo las características únicas (tamaño, forma color, calidad, composición química, entre otras). Como en el mango, lichi, manzana, pera, etc.
2. Costos de propagación, la propagación vegetativa significa la manera más fácil, rápida y económica de obtener individuos nuevos en comparación con la propagación sexual, debido a que muchas especies tienen un crecimiento lento tomando algún tiempo en tener el tamaño adecuado.

Existen dos principales desventajas: 1. La rápida dispersión de enfermedades -bacterias y virus-, ya que cuando una planta se infecta con un virus a menudo a través de los insectos chupadores como los áfidos o mediante el uso de herramientas, puede transmitirse rápidamente dentro del sistema de la planta. De tal manera que si se obtiene

un esqueje (estaca, yema, etc.) éste también llevará consigo la enfermedad. 2. La estrechez genética de las poblaciones propagadas vegetativamente suele convertirse en un problema, pues este tipo de reproducción no permite la recombinación genética que favorece la evolución y adaptación de las especies. En caso de implementarse masivamente este método, debe ser una norma, la búsqueda constante de clones élite con características deseables pero provenientes de diferentes ambientes, que permitan llevar a su vez la variabilidad genética de sus sitios de origen (Rojas González, García Lozano, & Alarcón Rojas, 2004).

La propagación asexual se clasifica de acuerdo con la parte de la planta que es tomada como esqueje -tallo, hoja, botón de hoja o raíz-, o por el tipo de madera -herbácea, madera suave, semidura o dura-. Para considerar una planta nueva en desarrollo, los esquejes deben de tener un sistema de desarrollo de raíces. De acuerdo a lo maderable del tallo de la planta se deben considerar algunas características para el éxito del esqueje en la propagación de la planta, las cuales se describen en el Cuadro 4 (Newman, 2014).

Cuadro 4 Características y respuesta del enraizamiento de varios tipos de esquejes

			Tipo de madera		
			Suave	Semidura	Dura
Descripción del esqueje	Tallo suculto de plantas no leñosas		Madera nueva y tierna en especies leñosas	Madera parcialmente madura durante la temporada de crecimiento	Tallos deshojados latentes u hojas de plantas perennes
Tiempo del año	Todo el año		De primavera a inicios de verano	De verano a principios de otoño	De finales de otoño a principios de primavera
Longitud del esqueje	<15 cm		5-15 cm	5-15 cm	5-75 cm
Ejemplo	<i>Begonia, Coleus, Chrysanthemum,</i>		<i>Pyracantha, Myrtho</i>	<i>Citrus, Camelia, Rhododendron</i>	Uva, higo, álamo
Respuesta del enraizamiento	Formación fácil y rápida de raíces. Más susceptible de enfermedades		Presentan raíces a partir de la 2 o 6 semana.	Presencia de raíces a partir de la 2 a la 12 semana	Las raíces se forman después de callos

2.3.1. Propagación vegetativa de *Jatropha*

En la literatura existe mucha información acerca de la propagación vegetativa de *J. curcas*, especie cosmopolita, debido al uso que se le da al aceite de la semilla para la obtención de biodiésel. Los esquejes de *J. curcas* se pueden extraer de ramas leñosas, con uno o dos años, siendo ramas próximas a la base del tronco, de grosor medio, cáscara lisa, color ceniza brillante, entrenudos cortos y yemas salientes las más preferidas, no sirviendo las ramas con extremidades secas, cáscara rugosa y de color castaño (Enciso Garay & Castillo Echeverría, 2010).

Algunas investigaciones relacionadas con el enraizamiento de esquejes de *Jatropha* fueron publicados por Rojas González *et al.*, (2004); Ali *et al.*, (2007); Feike, Weis, Claupein, & Mueller, (2007); Kochhar, Shrivastava & Banerjee, (2008); Singh, & Kochhar, (2008); Camellia Noor, Kathiravan, Ponnuswamy, & Vanitha, (2009); Thohirah, Abdullah, & Khidir Mohd, (2009); Enciso Garay & Castillo Echeverría, (2010); Severino *et al.*, (2011); Aung, (2012); Nguema Ndoutoumou, Bouanga, Massounga, & Boussiengu Boussiengu, (2013); Sahoo, Behera, & Nayak, (2014) dichos autores mencionan que las mejores características para el establecimiento de los esquejes son las siguientes: largo entre los 15 a 40 cm; de la parte de la rama que está entre la media y basal; diámetro entre 1-3 cm. Es importante resaltar que, en todos los experimentos de propagación por esquejes, se utilizó el ácido indol-3-Butírico (IBA) para mejorar la producción de raíces.

Hay varios factores que pueden influir en la formación de raíces adventicias en esquejes, tales como la fuerza del genotipo de la planta madre, la posición de los polos en las ramas utilizadas, la longitud de corte, la presencia de hojas y brotes, el grado de lignificación de corte, época del año en el que se recogió el material, la composición en el sustrato, el uso de reguladores de crecimiento, edad de la rama, entre otros (De Lima *et al.*, 2010).

2.4. Importancia de las semillas

Una semilla generalmente es un óvulo maduro y fecundado, que se forma después de un proceso de desarrollo y maduración. La semilla representa la etapa inicial del ciclo de vida de las angiospermas. Tiene características estructurales, anatómicas y metabólicas que le permiten enfrentar al medio ambiente, constituyendo un puente generacional, permitiendo la multiplicación, dispersión y persistencia en el tiempo y en el espacio de las especies, permitiendo la renovación de los individuos dentro de los ecosistemas (Orozco-Segovia & Sánchez-Coronado, 2013).

La semilla al llegar a la madurez se distingue en ella las partes siguientes: 1) cubierta seminal, la cual se forma a partir de uno o de los tegumentos que rodean al óvulo; 2) perispermo, tejido diploide procedente de la nucela que se presenta en diversas cantidades; 3) endospermo, tejido generalmente triploide que resulta de la fusión de uno de los núcleos espermáticos con los núcleos polares, mismo que se presenta en diversas cantidades y 4) embrión, que se origina de la fertilización de la oosfera por uno de los núcleos espermáticos y que se desarrollará en una planta después de la germinación de la semilla, además de los cotiledones, que son hojas embrionarias, con o sin capacidad fotosintética (Niembro Rocas, 1988).

Desde un punto de vista antropocéntrico, las semillas constituyen la materia prima para la preparación de alimentos para el consumo humano y para la domesticación de los animales. No obstante, en la industria se utilizan para la producción de aceites comestibles provenientes de girasol (*Helianthus annuus* L.), coco (*Cocos nucifera* L.), cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) y no comestibles, para la manufactura de pinturas, barnices, piel sintética, hule, linóleo extraído de las semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.). En perfumería, de las semillas de jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) C.K. Schneid.) (González, Cedillo, & Díaz, 2007) y *J. curcas*. se puede obtener glicerina útil para la fabricación de jabones, shampoo y cosméticos (Kumar & Sharma, 2008). También tienen usos medicinales y de joyería.

2.4.1. Propiedades físicas de las semillas

Una semilla posee un embrión, un tejido de reserva y una cubierta seminal protectora. El color, forma, tamaño y peso son características sumamente variables entre las semillas y en muchos casos son importantes para la identificación de la especie (Márquez-Guzmán, 2013).

Las propiedades físicas podemos agruparlas en aquéllas que caracterizan el tamaño y la forma (dimensiones características, diámetro geométrico, área superficial específica), entre otras propiedades, las cuales son útiles para el diseño de equipos de clasificación y control de calidad, el área superficial es importante para el diseño de equipos de transporte y deshidratación (Sirisomboon, Kitchaiya, Pholpho, & Mahuttanyavanitch, 2007)

2.4.2. Aceites vegetales

Los aceites vegetales son lípidos constituidos principalmente por triglicéridos, en los que predominan ácidos grasos insaturados esterificados a la glicerina (Zielińska & Nowak, 2014). En un aceite, los triglicéridos constituyen entre 93-98 % y el resto corresponde a diglicéridos, monoglicéridos fosfoglicéridos y ácidos grasos libres. Las diferencias químicas y físicas de los triglicéridos dependen del tipo de ácidos grasos que esterifican al glicerol. Cuando predominan los ácidos grasos saturados, estos lípidos se conocen como grasas, mientras que los ácidos grasos insaturados dan origen a los aceites (Kevin & David, 2003).

Entre los ácidos grasos saturados que esterifican al glicerol se encuentran los ácidos insaturados láurico (C-12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C-16:0), esteárico (C-18:0), araquídico (C-20:0), behénico (C22:0) y lignocérico (C-24:0). Los ácidos grasos monoinsaturados más importantes son: oleico (C-18:1) y erúcico (C-22:1) y los ácidos grasos polinsaturados son: linoleico (C-18:2), linolénico (C-18:3), eicosapentaenoico (EPA) (C-20:5) y docosahexaenoico (DHA) (C-22:6) (Kelly & Kuang, 2007).

La composición de ácidos grasos difiere de una muestra a otra y por lo tanto de una especie a otra, dependiendo de la zona de producción del aceite; entre los factores principales que afectan a la composición de ácidos grasos se encuentran los siguientes: latitud, condiciones climáticas, tipo de suelo, temporada de crecimiento, grado fisiológico, sanidad vegetal, condiciones microbiológicas, la localización de semillas dentro de los frutos, y la variación genética de la planta (Lucie & Pokorny, 2002; FAO & OMS, 2013).

Las principales fuentes de aceites y grasas son las semillas oleaginosas y los tejidos animales, terrestres y marinos. Las frutas y las hortalizas contienen muy bajas concentraciones de lípidos, con algunas excepciones como el aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces (Badui Dergal, 2006). Entre las oleaginosas, la soya es la que suministra la mayor cantidad de aceite, seguida de la palma, la canola, la *Jatropha*, el ajonjolí, el algodón, el cacahuate, el cacao, el cártamo, el coco, el girasol, el maíz y el palmiste (Legaz, 2010).

Clasificación de los aceites vegetales

De acuerdo al Departamento de Agricultura de Estados Unidos, los aceites vegetales pueden clasificarse en tres categorías, de acuerdo a su producción uso y volumen: aceites mayores, aceites menores y aceites no comestibles. Los aceites mayores son destinados para consumo humano o animal y juegan un papel importante en la economía en las regiones donde se producen, entre éstos se incluyen los aceites de *Glycine max* (L.) Merr. (soya), *Palmae* Juss. (palmas), *Helianthus annuus* L. (girasol), *Brassica napus* L. (canola o colza), *Gossypium* L. (algodón), *Cocos* L. (coco), *Olea* L. (olivo), *Sesamum indicum* L. (ajonjolí), *Arachis hypogaea* L. (cacahuate), *Linum usitatissimum* L. (lino), *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb (almendra). Los aceites menores son para uso industrial; entre los que destacan la semilla *Hyoscyamus niger* L. (niger), *Papaver rhoeas* L. (amapola), *Theobroma cacao* L. (semilla de cacao), *Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn. (karité), *Triadica sebifera* (L.) Small (sebo vegetal chino), *Swietenia macrophylla* King (mahogany de Etiopia), *Mangifera indica* L. (semilla de mango), *Vitis* L. (semilla de uva), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (semilla de sandía), *Persea americana* Mill. (aguacate) y *Prunus armeniaca* L. (semilla de albaricoque) (Honary, 2010).

La tercera categoría comprende a los aceites no comestibles, extraídos exclusivamente para uso industrial para la manufactura de diversos productos como jabones, cosméticos, pinturas, barnices, resinas, plásticos y agroquímicos. Asimismo, son utilizados como lubricantes industriales. Las principales fuentes de extracción de estos aceites son *Jatropha curcas* (piñoncillo), *Calophyllum inophyllum* L., *Sterculia feotida* L., *Madhuca indica* J. F. Gmel. (mahua), *Pongamia glabra* Vent. (koroch), *Pongamia pinnata* (L.) Merr. (karanja), *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss) Müll. Arg. (Rubber), *Azadirachta indica* A. Juss. (neem), *Camelina sativa* (L.) Crantz, *Lesquerella fendleri* (A. Gray) S. Watson, *Nicotiana tabacum* L. (tabaco), *Ricinus communis* L. (castor), *Simmondsia chinensis* (Link) c. K. Schneid (Jojoba), entre otros (Mayorga & Mejía, 2005).

2.4.3. Métodos de extracción del aceite

De manera general los aceites se obtienen por prensado y uso de disolventes. La extracción por prensado, es preferida para plantas de procesamiento pequeñas, debido a la baja inversión requerida. También es común combinar los dos procesos de extracción para obtener mayores rendimientos. Mediante la extracción mecánica es posible recuperar alrededor de 90-95 % del aceite presente en semillas, mientras que en la extracción con disolventes se alcanza hasta un 99 % de recuperación (Erick Van der Putten, Ywe, & Jongh, 2009).

En la extracción por disolventes se utiliza comúnmente hexano y el material a extraer debe estar laminado o molido, para permitir mayor área de contacto. La tecnología básica de extracción consta de cuatro etapas principales: extracción, remoción del disolvente del aceite, destilación y recuperación del disolvente. Los disolventes recuperados por destilación pueden ser reutilizados (Ofori-Boateng, Keat Teong, & Jitkang, 2012). La eficiencia de la extracción depende del equilibrio entre el disolvente y la micela (mezcla de aceite y disolvente) fuera del material oleaginoso. Entre los parámetros que afectan el desempeño de los extractores por disolventes, se encuentran el tiempo de contacto, tamaño de partícula, temperatura del extractor y número de etapas (Brossard-González, Ferrari, Pighinelli, & Park, 2010).

2.4.4. Propiedades químicas del aceite

Los índices químicos están relacionados con las propiedades físicas-químicas específicas de los lípidos. Son ampliamente utilizados en la industria de la grasa y el aceite, porque son útiles para describir las características de las mezclas de lípidos utilizadas. La estructura de los aceites y grasas naturales se ve afectada por la especie de planta utilizada y las condiciones de crecimiento, así como la manipulación y procesamiento (Sanderson & Nichols, 2002).

a. Índice de yodo

La insaturación de una grasa se expresa cuantitativamente como índice de yodo y depende del número medio de uniones dobles por molécula y el peso molecular de la grasa. Es una medida directa de la cantidad de dobles enlaces y se expresa en miligramos de yodo absorbido por gramo de muestra. La determinación puede ser llevada a cabo con el reactivo de Wijs, el cual es añadido en exceso a la muestra, permitiendo reaccionar durante 30 min a 25 °C, el reactivo en exceso es tratado con yoduro de potasio para convertirlo a su yodo equivalente y es titulado con tiosulfato de sodio e indicador de almidón hasta que el color azul desaparece (O'Keefe & Pike, 2010).

b. Índice de Saponificación

Se define como el número de miligramos de KOH que se requiere para saponificar 1 g de una grasa o aceite. Molecularmente, un mol de grasa o aceite requiere tres moles de KOH para su saponificación completa porque hay tres enlaces éster en una molécula, así pues, las grasas y aceites de peso molecular alto tienen índices de saponificación más bajos que los de peso molecular bajo; por lo tanto, el índice de saponificación tiene una correlación inversa con el peso molecular (O'Keefe & Pike, 2010). Este índice indica la longitud de la cadena o el tamaño molecular de un ácido graso y cuantifica la sustancia alcalina necesaria para saponificar el aceite, es decir, para convertirlo en jabón.

c. Ácidos grasos libres e índice de acidez

Los aceites se descomponen desde el momento en que son aislados de su ambiente natural, la presencia de ácidos grasos libres es un indicador de la actividad de la lipasa

u otra acción hidrolítica. La rancidez hidrolítica ocurre como resultado de la separación de una molécula de triglicérido en el enlace éster con la formación de ácidos grasos libres (AGL), los cuales confieren a los aceites olores, sabores y características indeseables (Jiménez, Aguilar, Zambrano, & Kolar, 2001).

Los sabores resultantes del desarrollo de los AGL dependen de la composición del aceite, la liberación de ácidos grasos de cadena corta, como butírico, caproico y caprico, causan particularmente olores y sabores desagradables, mientras que los ácidos grasos de cadena larga, palmitoleico, oleico, linoleico, entre otros; producen sabores a cera o jabonosos (S. Nielsen, 2010). Por lo tanto, muchos de los aceite de cadena larga pueden ser utilizados en la industria como lubricantes, bioenergético y como alimento animal como el aceite de canola, o palma, soja (F. Gunstone, 2004).

El valor ácido es la cantidad de hidróxido de potasio requerida para neutralización y los AGL utilizan hidróxido de sodio para neutralización, pueden ser expresados en términos de valor ácido multiplicando el porcentaje de AGL por 1.99. Los AGL son calculados con base en el ácido oleico para la mayoría de los aceites y para el aceite de coco y grano de palma es calculado con base en el ácido láurico o palmítico, respectivamente (S. Nielsen, 2010).

d. Índice de peróxidos

Los lípidos se arrancian como consecuencia de la oxidación. Los hidroperóxidos son los productos primarios entre el oxígeno y los ácidos grasos insaturados. Los hidroperóxidos no tienen olor ni sabor, pero colapsan rápidamente para formar aldehídos, los cuales tienen olor y sabor desagradables. Por lo tanto, la concentración de peróxidos, generalmente es expresada como índice de peróxidos, siendo esta una medida de la oxidación y la rancidez en sus primeras etapas (Gray, 1978; Dridi *et al.*, 2016;).

Este índice mide la concentración de sustancias, en términos de miliequivalentes de oxígeno activo por cada gramo de muestra, que oxidan el yoduro de potasio a yodo. La susceptibilidad de los ácidos grasos a la oxidación está directamente dependiente del

grado de insaturación. Los ácidos grasos, como el ácido docohexanoico es uno de los más oxidables y el ácido palmítico uno de los menos oxidables (Richard, Kefi, Barbe, Bausero, & Visioli, 2008).

La rancidez es acelerada por exposición al calor, luz, la humedad y por la presencia de trazas de metales de transición como cobre, níquel, fierro, así como colorantes y pigmentos naturales residuales. La oxidación de las grasas o aceites es lenta y se conoce como periodo de inducción; al final de este periodo, se alcanza una cantidad de peróxido que provoca un aumento de la velocidad oxidativa, y el aceite empieza a tener un olor y sabor rancio. El índice de peróxidos es uno de las pruebas químicas más ampliamente usadas para la determinación de la calidad de aceites o de su grado de rancidez, así también ha mostrado buena correlación con resultados organolépticos de sabor (Jiménez *et al.*, 2001).

2.4.5. Perfil de ácidos grasos

El análisis de composición de ácidos grasos mediante cromatografía de gases/masas es una de las primeras técnicas analíticas indispensables, rápida y precisa para determinar los ácidos grasos en las semillas oleaginosas. Esta información beneficia el desarrollo de productos, control de procesos y la comercialización de nuevos productos, porque los resultados del análisis proveen información sobre los tipos de ácidos grasos individuales, la cantidad y niveles de saturación-insaturación, así como la identificación de isómeros geométricos en los ácidos grasos insaturados. También provee datos para determinar las proporciones de fuentes de aceites y proceso de un producto mezclado, esta información aplica por igual para aceites refinados y sin refinar (Seppänen-Laakso, Laakso, & Hiltunen, 2002).

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Éstas son separadas, detectadas, e incluso cuantificadas todos los componentes individuales de una muestra problema, disponiendo para la identificación de cada uno de ellos el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Por otro lado, la espectrometría de masas puede identificar de

manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente (Gutiérrez & Droguet, 2002).

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC (“Gas Chromatography”) y MS (“Mass Spectrometry”) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas. En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas (Gutiérrez & Droguet, 2002; Dodds, M.R., Rea, & Kennish, 2005).

El procedimiento de cromatografía de gases involucra el proceso de transesterificación, que consiste en la obtención de ésteres metílicos a partir de los triglicéridos. Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME: Fatty Acid Methyl Esters) se inyectan en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria (Gutiérrez & Droguet, 2002).

Los componentes aislados pasarán dentro del espectrómetro de masas, el cual procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, produce el espectro de masas de la sustancia. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria del ordenador para compararse con los

espectros de una colección de espectros (o librería) y proceder a su identificación (Gutiérrez & Droguet, 2002). Los ésteres de ácidos grasos salen en el orden de saturación. La separación de los ácidos grasos está basada en la longitud de la cadena, grado de saturación, así como la geometría y posición de los dobles enlaces (Dodds *et al.*, 2005).

Proceso de transesterificación

La transesterificación consiste en la reacción entre un triglicérido (compuesto por una molécula de glicerol esterificada por tres moléculas de ácidos grasos), contenido en el aceite vegetal o grasa animal y un alcohol ligero (metanol o etanol), obteniéndose como productos glicerina y ésteres derivados de los tres ácidos grasos de partida, es decir, biodiésel (FAME). En general se suele usar metanol como alcohol de sustitución, en cuyo caso el biodiésel estará compuesto por ésteres metílicos (Ganduglia, 2009) (Figura 3).

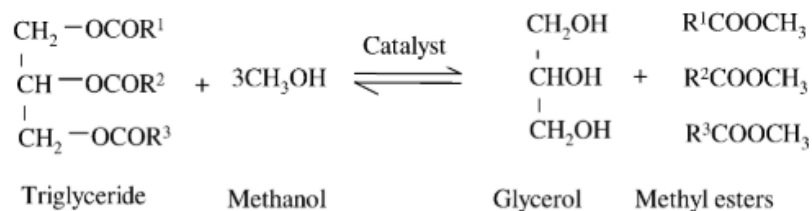


Figura 3 Ecuación general de la transesterificación de triglicéridos

Comúnmente los aceites vegetales y grasas animales son ésteres de ácidos monocarboxílicos saturados e insaturados con el glicerol, estos ésteres son llamados triglicéridos (Leung, Wu, & Leung, 2010). Mediante la transesterificación, las largas y ramificadas cadenas de moléculas de triglicéridos se transforman en monoésteres de ácidos grasos y glicerina. El proceso de transesterificación consiste de una secuencia de tres reacciones reversibles consecutivas, las cuales son: la conversión de triglicéridos a diglicéridos, de diglicéridos a monoglicéridos y de monoglicéridos a glicerol y esteres metílicos (Meher, Vidya Sagar, & Naik, 2006) (Figura 4).

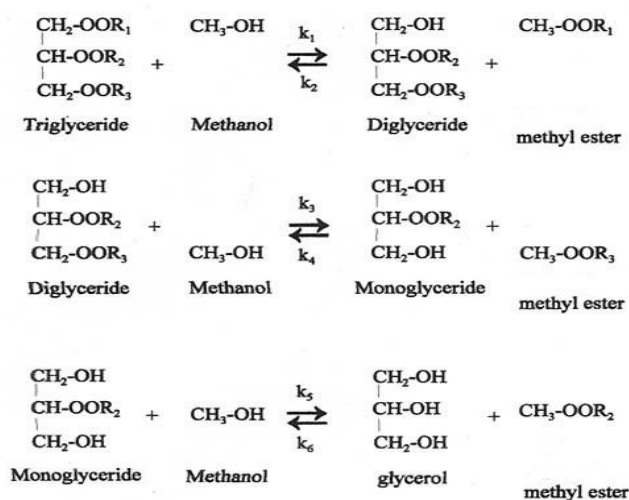


Figura 4 Reacción de transesterificación de los triglicéridos

El rendimiento de la esterificación es independiente del tipo del alcohol utilizado. Por lo tanto, la eventual selección de uno de estos alcoholes: metanol, etanol, propanol y butanol, se basará en las consideraciones de precio y rendimiento. El metanol se utiliza comercialmente por su bajo precio. Los hidróxidos alcalinos son los más eficaces catalizadores en la transesterificación, en comparación con los catalizadores ácidos. El hidróxido de potasio y de sodio son los catalizadores alcalinos comúnmente utilizados. La transesterificación alcalina de aceites vegetales es posible sólo si el índice de acidez del aceite es inferior a 4. Porcentajes más altos de ácidos grasos libres en el aceite reducen el rendimiento del proceso de transesterificación (Ramadhas, Jayaraj, & Muraleedharan, 2005).

2.4.6. Propiedades mecánicas y valor calorífico de los aceites vegetales

Entre las propiedades físicas más importantes para la selección de los biocombustibles o biolubricantes se encuentran: la viscosidad, densidad y el calor de combustión (Rodríguez-Martínez, Lafargue-Pérez, Sotolongo-Pérez, Rodríguez-Poveda, & Assuca-Nascimento, 2012).

a. Viscosidad

Considerando los sistemas hidráulicos y mecánicos de un motor diésel, la viscosidad es la principal diferencia entre las propiedades del aceite vegetal puro y el diésel. La viscosidad del aceite vegetal puro es muchas veces mayor que la del diésel a temperatura ambiente. Esto hace que sea más difícil que el aceite vegetal puro fluya desde el tanque de combustible hacia el motor para su entrada en los inyectores. La elevada viscosidad, junto con un punto de ignición mucho mayor, hacen que sea más difícil arrancar el motor con aceite vegetal puro frío y se logra una combustión eficiente satisfactoria hasta que el motor está caliente (Erick Van der Putten *et al.*, 2009).

La viscosidad del aceite se define normalmente de dos formas, ya sea basado en la viscosidad absoluta o la viscosidad cinemática. La viscosidad absoluta es la resistencia al flujo y a la deformación debido a la fricción interna. Por el contrario, la viscosidad cinemática es la resistencia al flujo y al cizallamiento debido a la gravedad, es decir, que tiene que ver con densidad del fluido. Por lo tanto, la viscosidad cinemática del aceite se puede obtener dividiendo la viscosidad absoluta y su densidad correspondiente (Diamante & Lan, 2014).

Se ha establecido que el tipo de triglicéridos y la temperatura, tienen una fuerte influencia; en consecuencia, a mayor temperatura aplicada al aceite presentará una menor viscosidad (Diamante & Lan, 2014).

b. Densidad

Los responsables de las diferencias en sus propiedades físicas en los aceites vegetales son los triacilglicerolos y una variedad de compuestos menores, las variaciones en el tipo y cantidad de estos compuestos (Ceriani, Paiva, Goncalves, Batista, & Meirelles, 2008). La densidad de los aceites vegetales disminuye linealmente con el incremento de la temperatura (Rodenbush, Hsieh, & Viswanath, 1999). Así mismo, es dependiente del peso molecular de los ácidos grasos presentes en el aceite, se ha reportado que un alto contenido de ácido oleico produce valores más altos de densidad en comparación con el ácido linoleico y linolénico (Davis, Dean, Faircloth, & Sanders, 2008).

c. Valor calorífico (Calor de combustión)

El valor calorífico es la cantidad de calor producido por la combustión de 1 Kg de aceite o de combustible al oxidarse en forma completa. El proceso de combustión es importante debido a que la producción mundial de energía se hace por combustión de petróleo, biocombustibles, carbón y gas natural (Lackner, Palotás, & Winter, 2013).

La combustión es una reacción exotérmica, en la cual la energía liberada por la oxidación de los componentes presentes como moléculas de hidrogeno, carbono y oxígeno se convierte en dióxido de carbono y agua (Kates & Luck, 2009). Este valor aumenta con la longitud de los ácidos grasos presentes en las moléculas de triglicéridos (Levine *et al.*, 2013).

El calor de combustión guarda una relación con la presencia de ácidos grasos insaturados como oleico, linoleico y linolénico produciendo valores de calor de combustión más elevados, en comparación con los ácidos grasos saturados (Sokoto, Hassan, Dangoggo, Ahmad, & Uba, 2011). El calor de combustión aumenta linealmente con el incremento de la temperatura.

2.4.7. Biodiésel

El uso de la energía es uno de los requisitos más fundamentales para la existencia humana. Es un factor crítico para el desarrollo social y económico, y un producto viable que mejora el bienestar humano. Por lo tanto, es necesaria la diversificación de las fuentes de energía, especialmente mediante la explotación de los recursos de biomasa, que son capaces de satisfacer un aumento del suministro de energía sin efecto sobre la canasta de alimentos (Sokoto *et al.*, 2011).

El interés en el biodiésel continúa aumentando en todo el mundo. Esto se debe principalmente a: (1) las preocupaciones sobre las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) y el cambio climático global, (2) el deseo de fuentes de energía renovables/sostenibles, y (3) el interés en el desarrollo de suministros de combustible.

En los últimos años, varios países se han embarcado en vías legislativas y/o reglamentarias que fomentan un mayor uso del biodiésel (Berchmans & Hirata, 2008; Hoekman, Broch, Robbins, Cenicerros, & Natarajan, 2012).

El combustible biodiésel se puede producir por transesterificación virtualmente de cualquier materia prima de triglicéridos. Esto incluye cultivos oleaginosos, grasas animales y lípidos de algas. La literatura contiene cientos de referencias de producción de biodiésel a partir de una amplia variedad de materias primas (Hoekman *et al.*, 2012).

a. Ventajas del Biodiésel

El biodiésel es biodegradable y no tóxico, con bajos perfiles de emisión de CO₂ y azufre comparadas con el diésel. Además, proporciona una mayor lubricidad de los motores de combustión interna (Marchetti & Errazu, 2008). En lo que respecta a la seguridad, el punto de ignición es más alto lo cual hace al biodiésel más seguro de manejar, transportar y almacenar (Calero *et al.*, 2015).

La extracción de un aceite vegetal se puede llevar a cabo por acción mecánica o química, aunque generalmente se usa alguna combinación de ambas técnicas. Los subproductos (residuos) de la extracción que se obtienen es la pasta (torta) residual en ocasiones se aprovechan como alimento para el ganado, un ejemplo de ello es la pasta de *Jatropha* que tiene entre 58 % a 60 % de proteína cruda y un nivel de aminoácidos esenciales que le dan un importante valor como alimento para animales, por lo que se estima que pueda ser vendido a un precio de hasta el 80 % de la pasta de soya (Díaz, 2011).

También puede utilizarse como abono verde (fertilizante) por ser un producto muy rico en proteínas (Heller, 1996), además el poder calorífico de las cáscaras de la semilla por ejemplo de *Jatropha* (16MJ/kg) es casi igual al de los pellets de madera (18 MJ/kg) por lo que se pueden vender como pellets de cáscara para la producción de energía en las comunidades rurales como un complemento del programa de estufas eficientes (Díaz, 2011).

Por otro lado, del proceso de transesterificación se obtiene glicerol el cual puede ser utilizado como sustrato para la fermentación para obtener un producto de alto valor agregado como el 1,3- propanodiol (1,3-PD), el cual por sus notables propiedades tiene importantes aplicaciones y promisoriamente puede llegar a sustituir muchas materias primas y aditivos en la industria de los polímeros, pinturas, lubricantes, entre otros (Mayorga & Mejía, 2005).

2.4.8. Composición analítica de la semilla y cubierta seminal

Análisis Proximal (Sistema de Weende)

Los alimentos deben ser analizados para conocer su valor nutritivo. Este análisis es una herramienta que ha proporcionado la ciencia para conocer los materiales destinados a la alimentación. Este consiste en un fraccionamiento de los distintos compuestos químicos, aunque por cuestiones de práctica analítica no llegan a corresponderse con las fracciones químicas verdaderas, razón por la cual se llama proximal, ya que se creó para obtener una clasificación muy amplia y con un nivel máximo de los componentes de alimentos (Greenfield & Southgate, 2006; Sosa de Pró, 1979). Este análisis se denomina Esquema y/o Sistema- de Weende y fue establecido en 1859, el cual es un sistema de análisis de alimentos legalmente establecido, que permite hacer comparaciones entre los resultados obtenidos para una misma muestra (Caravaca *et al.*, 2005) (Figura 5).

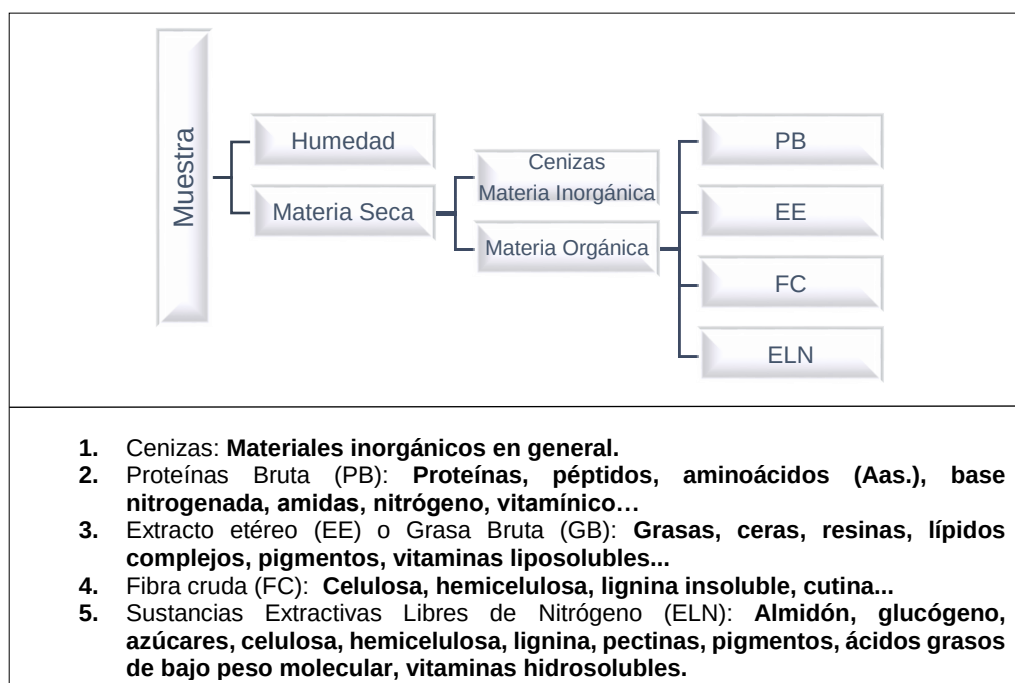


Figura 5 Fracciones del análisis inmediato (Sistema Weende)

El sistema consiste en la determinación analítica del agua (humedad), las cenizas, las grasas brutas (extracción con éter), las proteínas brutas y la fibra bruta. El extracto libre de nitrógeno (ELN), que representa más o menos los azúcares y almidones, se calcula por la diferencia en lugar de medirlo mediante análisis (Sosa de Pró, 1979; Greenfield & Southgate, 2006).

a. Humedad

Los valores del agua siguen siendo un componente esencial de las bases de datos de composición de alimentos, porque el contenido de agua es uno de los elementos más variables, especialmente en los alimentos vegetales. Esta variabilidad afecta a la composición del alimento debido a que influye enormemente en la estabilidad del almacenamiento puesto que favorece el desarrollo de microorganismos y la actividad enzimática (Greenfield & Southgate, 2006; Sosa de Pró, 1979).

b. Proteína Bruta (PB)

La calidad de las proteínas en el aspecto nutritivo la define su solubilidad y la composición de sus aminoácidos esenciales. Todas las proteínas de origen vegetal son deficientes en algún aminoácido esencial, por ejemplo, la proteína de la soya, que es considerada la mejor proteína vegetal, es deficiente en metionina, la proteína del ajonjolí es deficiente en lisina. En general, las proteínas de mejor calidad son las de origen animal (Greenfield & Southgate, 2006; Sosa de Pró, 1979). Los valores de las «proteínas brutas» se han calculado multiplicando el nitrógeno total (N) por un determinado factor (Greenfield & Southgate, 2006).

c. Extracto Etéreo o Grasa Bruta (EE)

Los lípidos son un grupo de compuestos de muy diferentes clases y se definen como sustancias insolubles en agua que pueden ser extraídas de las células por disolventes orgánicos de baja polaridad como éter dietílico, hexano cloroformo, etc. Por lo tanto, el extracto etéreo puede contener grasas y aceites, pero también puede haber cualquier compuesto que pertenezca a los lípidos, ya sea que posea o no valor nutritivo, por ejemplo, las vitaminas liposolubles A, D, E, K, los carotenos, fosfolípidos, lipoproteínas y glucolípidos. También pueden estar presentes otros compuestos como las clorofilas, las ceras, las parafinas y las xantofilas que carecen de valor nutritivo. Sin embargo, estas últimas tienen importancia en la producción avícola porque se emplean en la pigmentación de la piel del pollo y de la yema de huevo (Sosa de Pró, 1979).

d. Fibra Cruda (FB)

Los carbohidratos constituyen la fuente de energía más abundante para la alimentación de los animales domésticos. El carbohidrato que más se produce en el planeta es la celulosa, conformando con la hemicelulosa y las sustancias pépticas a los llamados carbohidratos estructurales (Sosa de Pró, 1979). La fibra cruda se debe considerar como la fracción del análisis proximal que mide una parte de los carbohidratos estructurales (Greenfield & Southgate, 2006).

e. Extracto libre de Nitrógeno (ELN)

Los alimentos cuyo contenido de ELN es muy elevado son los clasificados como alimentos energéticos, entre ellos, están las melazas cuyos contenidos del ELN oscila entre 80 a 85 %, los granos de cereales contienen de 60 a 80 %, y las raíces y tubérculos, así como algunas frutas tienen fracciones superiores al 50 %, Dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente constituido principalmente por carbohidratos solubles (lípidos, azúcares, almidones, nitrógeno no proteico, entre otros), así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados (Sosa de Pró, 1979).

f. Ceniza

La fracción del análisis proximal que mide la mayor parte de los minerales de un alimento es la fracción llamada ceniza. La forma química que presentan los elementos inorgánicos en las cenizas, puede ser muy diferente de la forma que se presentan en el alimento original, así los elementos inorgánicos unidos a compuestos orgánicos son vertidos en la incineración a compuestos inorgánicos(Sosa de Pró, 1979).

2.4.9. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la pasta residual

a. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Se trata de compuestos que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta (Naczk & Shahidi, 2004).

Químicamente los compuestos fenólicos poseen en común un anillo aromático (benceno) con uno o más sustituyentes hidroxilo (ésteres, ésteres de metilo, glicósidos, etc.). Las sustancias fenólicas tienden a ser hidrosolubles debido a que frecuentemente se encuentra como glicósidos y usualmente se localizan en la vacuola (Harborne, 1973). Se

han identificado más de 8,000 polifenoles en varias especies de plantas (Pandey & Rizvi, 2009).

Por su naturaleza química heterogénea, algunos fenólicos están constituidos por seis carbonos (C6), los del ácido benzoico por siete (C6-C1), los fenilpropanoides por nueve carbonos (C6-C3) y finalmente, los flavonoides (C6-C3-C6) por quince átomos de carbono. Los compuestos fenólicos son biosintetizados a partir de dos rutas metabólicas, la ruta del ácido shiquímico y la ruta acetato-malonato. La ruta del ácido shiquímico produce la mayoría de los compuestos fenólicos vegetales, mientras que la vía malónico, que es una fuente importante de compuestos fenólicos en hongos y bacterias, es menos significativo en las plantas superiores (De la Rosa, Alvarez-Parrilla, & González-Aguilar, 2010)

En los alimentos, los polifenoles pueden contribuir a la amargura, astringencia, color, sabor, olor y estabilidad oxidativa. Estudios epidemiológicos asociados a meta-análisis, sugieren fuertemente que el consumo a largo plazo de dietas ricas en polifenoles vegetales ofrecen cierta protección contra el desarrollo de cánceres, enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis y enfermedades neurodegenerativas (D'Archivio *et al.*, 2007).

b. Antioxidantes

Se le llama antioxidante a una molécula sintética o natural capaz de inhibir la oxidación de otras moléculas. Es una sustancia que se opone a la oxidación o que inhibe las reacciones promovidas por oxígeno o peróxidos. Son utilizadas como conservantes en diversos productos como grasas, aceites, productos alimenticios y jabones para retardar el desarrollo de la rancidez, en la gasolina y otros productos para retardar la formación de goma y otros productos indeseables, y en el caucho para retardar el envejecimiento (Huang, Ou, & Prior, Ronald, 2005).

Biológicamente dentro de la célula se da un proceso de oxidación en el cual la célula genera la cantidad requerida de radicales libres, ya que una cantidad podría dañar los

lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos. La formación de radicales libres es inducida por factores internos y externos (fumar, estrés, alcohol, etc.). Los antioxidantes tienden a disminuir la concentración de radicales libres o inhibir su formación (Rácz, Papp, Balogh, Fodor, & Héberger, 2015).

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante dado que éstos no sólo contribuyen a preservar las características organoléptica y la calidad nutricional de los productos que consumimos sino porque ayudan de manera primordial a preservar la salud de los consumidores lo cual hace de suma importancia la detección de la actividad antioxidante de una manera rápida y sencilla (Flores-Maltos, Sandoval-Cortés, Valdivia-Urdiales, & Aguilar-González, 2010).

c. Determinación de la capacidad antioxidante

Los antioxidantes desactivan a los radicales por dos mecanismos: uno es la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y el segundo es la transferencia de electrones simples (SET). Ambos mecanismos llegan a presentarse juntos dependiendo de la estructura del antioxidante y de sus propiedades, solubilidad, etc. (Prior, Wu, & Schaich, 2005). El primero se lleva a cabo cuando los antioxidantes y el sustrato compiten por los radicales libres, mientras que el segundo se controla a través de un cambio de color cuando el oxidante se reduce (Tabart, Kevers, Pincemail, Defraigne, & Dommes, 2009).

Los métodos que usan la reacción (1): Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno (ORAC), Parámetro Total Antioxidante de Captura Radical (TRAP), Capacidad total de Captura del Oxidante (TOSC), Quimioluminiscencia (CL), Foto Quimioluminiscencia (PCL), Decoloración del β -Caroteno por $\text{LOO}\bullet$, Oxidación de Lipoproteínas de Baja Densidad (LDLO). Los ensayos de este tipo, tienen preferencia puesto que el radical peróxido es el radical libre que con mayor frecuencia intervienen en la oxidación de lípidos en alimentos y en los sistemas biológicos (Prior *et al.*, 2005).

Los antioxidantes con el mecanismo de la transferencia de electrones simples tienen la capacidad de reducir un compuesto reacción (2), tales como metales, carbonilos y

radicales. Los métodos de análisis se basan en la desprotonación y el potencial de ionización del grupo funcional depende del pH. Además, los ensayos de este tipo se consideran lentos (Prior *et al.*, 2005).

Los métodos que usan este tipo de acción son: Poder Antioxidante para Reducir el Hierro (FRAP) y el Ensayo de Reducción del Cobre (CUPRAC). Existen métodos que aprovechan los dos tipos de reacción tales como: capacidad de captura del antioxidante del radical ABTS●+ (TEAC o ensayo ABTS), ensayo con 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH●) y Folin-Ciocalteu (Prior *et al.*, 2005).

d. Método colorimétrico de Folin-Ciocalteu

Estima la cantidad de fenoles totales, se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles (García, Fernández, & Fuentes, 2015).

e. 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)

Es una especie de radical orgánico estable. El ensayo oxidativo de DPPH se utiliza ampliamente en la cuantificación de la capacidad de captación de radicales (RSC). La capacidad de los reactivos biológicos para captar el radical DPPH, se puede expresar como la magnitud de la capacidad antioxidante. La solución de alcohol de DPPH es de color púrpura intenso con un pico de absorción a 517 nm, que desaparece con la presencia del eliminador de radicales en el sistema reactivo y cuando el electrón impar de nitrógeno en el DPPH se aparea. Comparado con otros métodos, el ensayo DPPH tiene muchas ventajas, tales como buena estabilidad, sensibilidad, sencillez y viabilidad (Deng, Cheng, & Yang, 2011).

f. FRAP (Poder Antioxidante para Reducir el Fierro)

Es el método descrito como la medida de la capacidad de reducción de hierro en plasma. A pH bajo, el complejo férrico-tripiridil-triazina (FeIII-TPTZ) es reducido a la forma ferrosa (FeII) con el desarrollo de un color azul intenso a una máxima absorción de 593 nm. La reacción es inespecífica y cualquier medio de reacción que tenga potencial redox menos positivo en las condiciones de reacción, que el medio de reacción en FeIII/FeII-TPTZ impulsará la reducción de FeIII-TPTZ. Las condiciones de ensayo favorecen la reducción del complejo y, por tanto, el desarrollo de color, siempre que un reductor (antioxidante) esté presente (Benzie & Strain, 1996).

2.4.10. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en *Jatropha*

Como se ha mencionado, los compuestos bioactivos derivados de las plantas han recibido una atención considerable debido a su potencial terapéutico como actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, anticancerígena y antioxidante (Rathee *et al.*, 2009).

Análisis fitoquímicos han demostrado que *J. curcas* contiene fenoles, flavonoides, saponinas y compuestos alcaloides. Varias partes de la planta muestran fenoles, flavonoides y saponinas, pero en específico las hojas y el látex contienen altos compuestos fenólicos, seguido de la corteza y la raíz (Manpong, Douglas, Douglas, Pongamphai, & Teppaitoon, 2011), pero no se ha investigado si la semilla presenta compuestos fenólicos.

Se han estudiado los compuestos fenólicos en otras especies del género *Jatropha*, como es el caso de *J. gossypifolia* reportando la presencia de flavonoides en hojas (Narwade, Wagnmare, Ladda, & Rathod, 2010). Mientras en la raíz de *J. dioica* han observado poca reacción en la prueba para fenoles y taninos (Rodriguez-Martínez *et al.*, 2012), al contrario, Igbinosa *et al.* (2011) en *J. curcas* mencionan una concentración abundante de flavonoides y taninos en la corteza.

2.4.11. Cuantificación de la Toxicidad por Ésteres de Forból

La semilla y/o pasta residual de *J. curcas* presenta varios factores antinutricionales (fitatos, inhibidores de la tripsina, saponinas, taninos y lectinas) además de factores tóxicos (curcina y ésteres de forbol (PEs)). Estos factores excluyen a la pasta residual de ser usada como comida para animales y otras aplicaciones. Los PEs son considerados los constituyentes más tóxicos (Makkar, Becker, Sporer, & Wink, 1997; Makkar, Becker, & Schmook, 1998).

El termino ésteres de forbol (PEs) es usado hoy en día para describir a los compuestos que se distribuyen en las familias Euphorbiaceae y Thymelaeaceae; los PEs son diterpenos con estructura esquelética tigliane, es decir, es una estructura basada en un esqueleto tetracíclico de carbón (Haas & Mittelbach, 2000; Haas, Sterk, & Mittelbach, 2002). Se le designo tigliane porque fue descrito por primera vez en la especie *Croton tiglium* L, perteneciente a la familia Euphorbiaceae (Hecker, 1968).

La estructura básica del tigliane consta de 4 anillos designados A, B, C y D, los cuales están hidrolizados en diferentes posiciones, y la unión de los esteres a varios ácidos tiene como resultado la formación de diferentes compuestos de PEs, C. La colocación del grupo -OH hace que el forbol sea activo (β) o inactivo (α) (Goel, Makkar, Francis, & Becker, 2007) Seis PEs han sido caracterizados en *J. curcas* (Haas *et al.*, 2002) (Figura 6).

Los efectos biológicos de estos compuestos incluyen la promoción de tumores, la proliferación celular, la activación de plaquetas sanguíneas, la mitogénesis de linfocitos, la inflamación (eritema de la piel), la producción de prostaglandinas y la estimulación de la desgranulación en neutrófilos (Haas & Mittelbach, 2000).

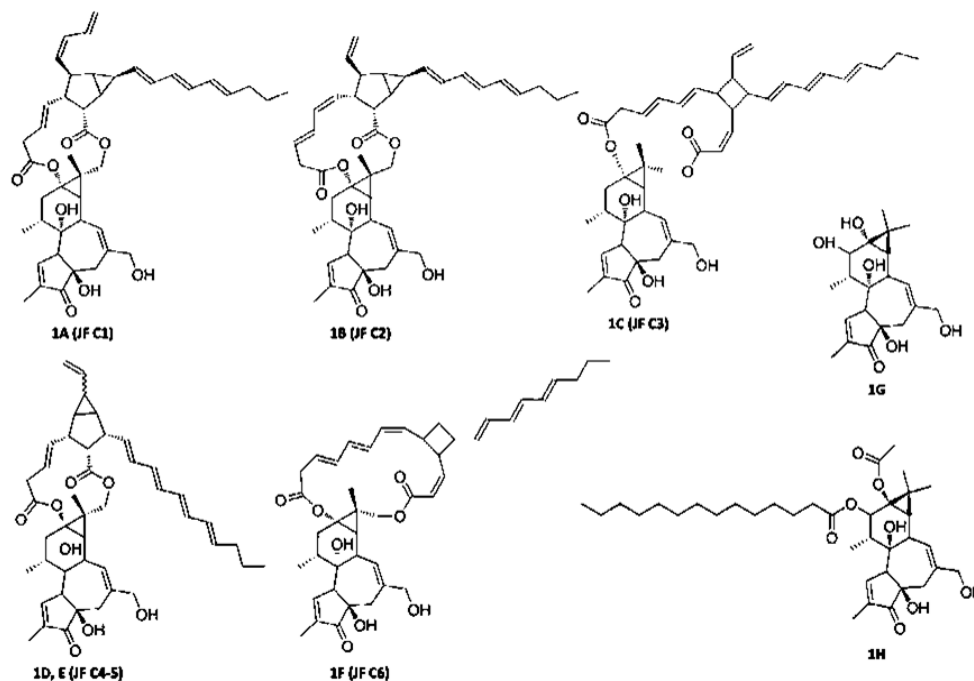


Figura 6 Estructura de los 6 PEs descritos en *J. curcas*, factores C1–C6 (1A–1F), 12-deoxy-16-hydroxyphorbol (1G) and phorbol 12-myristate 13-acetato (1H) (Haas *et al.*, 2002)

La concentración de PEs varía de 2 a 3 mg/g en la torta y entre 2 a 8 mg/g en el aceite de diferentes procedencias de *J. curcas*. Destacando la variedad no tóxica proveniente del estado de Veracruz con un reporte de 0.27 mg/mL de PEs y las otras variedades tóxicas con 2.49 mg/mL provenientes de Tanzania, India, Senegal, Nicaragua, entre otras. Makkar *et al.*, (1997) y He *et al.*, (2011), reporta de igual forma que accesiones fuera de México, provenientes de Tanzania, Madagascar tienen entre 0.12 mg/g a 0.515 mg/g.

2.5. Conservación de la diversidad genética

Es el término dado a la variedad de vida en la Tierra y los patrones que tiene, resultado de los millones de años de evolución (CBD, 1992). La biodiversidad en el planeta está siendo agotada rápidamente directa o indirectamente a consecuencia de la actividad humana y lamentablemente se desconoce exactamente el número de especies que

existen (Frankham, 2003) y la capacidad que éstas pueden tener desde el punto de vista antropocéntrico.

Esa variedad es estudiada por la diversidad contenida, es un concepto que se aplica en varios niveles biológicos: desde los ecosistemas del mundo, las especies que habitan en un ecosistema, hasta la diversidad genética en una población o en una especie (Neyra González & Durand Smith, 1998).

Desde 1992 en la Cumbre de la Tierra en Río de Janeiro, diferentes países incluido México, con mayor responsabilidad por ser un país megadiverso, firmaron una estrategia integral para el desarrollo sostenible, satisfaciendo las necesidades presentes y asegurando las futuras en el acuerdo llamado Convenio sobre la Diversidad Biológica. Dicho acuerdo establece tres objetivos principales: la conservación de la biodiversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios derivados del uso del recurso genético (CBD, 1992).

Por tanto, el conocimiento de los recursos genéticos es una necesidad fundamental para aprovechar y conservar los recursos bióticos. Las especies del género *Jatropha* cubren propósitos tan diversos como la alimentación, diferentes usos medicinales y la producción de combustibles (Kumar & Sharma, 2008), sin embargo, aún son muchos los factores que se desconocen, en la dinámica de regeneración de las poblaciones de este recurso natural.

Uno de los retos más importantes en los próximos años, será el mantenimiento de los recursos naturales, renovables y no-renovables, para garantizar la sustentabilidad y seguridad alimentaria, así como la energética de las naciones, principalmente aquellas que se encuentran en desarrollo (Conabio, 2000).

2.5.1. Diversidad genética

La diversidad genética es el resultado de las disimilitudes que existen entre las frecuencias de cada uno de los alelos de los individuos de una especie (Neyra González

& Durand Smith, 1998). Debido a lo anterior, la diversidad genética puede conceptualizarse jerárquicamente en tres niveles: la diversidad de alelos del mismo gen o locus que existe dentro de una especie, el conjunto de diferencias genéticas que caracterizan a las poblaciones de una especie y a nivel del genoma completo que caracteriza a cada una de las especies (Halffter, 1992).

Los principales procesos que cambian las frecuencias alélicas de las poblaciones son la mutación, la selección natural direccional, el flujo de genes, la deriva genética y la endogamia (Hartl & Clark, 1989 en Vargas, Jesús, Basilio Bermejo, & Ledig, 2004).

La primera fuerza evolutiva o de cambio es la *mutación*, es un cambio heredable en el ADN. Las mutaciones ocurren con una frecuencia baja, por lo cual es una fuerza relativamente poco importante en el corto plazo. Sin embargo, en el largo plazo es una fuerza muy importante porque es la fuente de toda variación genética (Furnier, 2004).

En esencia, la *selección natural* es la reproducción diferencial de unas variantes genéticas respecto de otras. Podemos definirla más rigurosamente como el proceso que resulta del cumplimiento de las tres condiciones siguientes: (1) variación fenotípica entre los individuos de una población, (2) supervivencia o reproducción diferencial asociada a la variación, y (3) herencia de la variación. Si en una población de organismos se dan estas tres condiciones, entonces se sigue necesariamente un cambio en la composición genética de la población por selección natural (Barbadilla, 2010).

El *flujo de genes* es el resultado de la migración donde muchos individuos de una población se mueven en masa de una localización geográfica a otra. Aunque la migración es la principal causa del flujo genético también puede ser el resultado de la dispersión de la población. La migración tiene un impacto similar a la mutación ya que los nuevos alelos son introducidos en un grupo genético local por los migrantes. (Donalson, Daly, Ermini, & Bevitt, 2015).

La *deriva genética* se refiere a los cambios en las frecuencias de los alelos en una población debido a fluctuaciones aleatorias. Por tanto, la deriva genética puede conducir a la fijación de alelos deletéreos, neutros o benéficos, pero el efecto está muy influenciado por el tamaño de la población. La pérdida de alelos y la fijación debido a la deriva genética ocurren más rápidamente en poblaciones pequeñas. Por lo tanto, en la naturaleza, tanto el tamaño de la población como la geografía pueden influir en la deriva genética y, en consecuencia, en la composición genética de una población (Donalson *et al.*, 2015). La deriva génica es un proceso aleatorio que es particularmente importante en poblaciones pequeñas, debido a que en este tipo de poblaciones los procesos tienen un efecto mucho más fuerte (Furnier, 2004).

Los efectos de la deriva génica son muy evidentes en un proceso de *efecto fundador* (*cuello de botella*). Esto ocurre cuando una nueva población se funda por pocos individuos y, debido a los procesos aleatorios, estos fundadores no representan toda la diversidad de la población original, por lo tanto, esta nueva población será diferente de la población original (Furnier, 2004).

La endogamia es el cruzamiento entre individuos relacionados y disminuye mucho el gran poder de recombinación. En muchas especies que normalmente practican el entrecruzamiento aleatorio, la endogamia puede causar la pérdida de vigor (depresión endogámica) debido a que incrementan los niveles de homocigosis en una población (Hartl & Clark, 1989 en Furnier, 2004).

2.5.2. Cuantificación de la variación genética

La mensura de los patrones y niveles de la variación poblacional se lleva a cabo a través de marcadores morfológicos y moleculares. Los marcadores morfológicos son los caracteres de un individuo que se expresan en un ambiente específico. Los estudios que utilizan caracteres morfológicos están generalmente limitados a solamente un locus y muchos caracteres de gran importancia adaptativa, como tasas de crecimiento o reproducción, están afectados fuertemente por el ambiente. Este tipo de marcadores

fueron los primeros que se utilizaron en los estudios de biología poblacional de plantas (Furnier, 2004).

Los marcadores moleculares son una serie de métodos de análisis que se basan en la detección de polimorfismos en proteínas y ADN. Especialmente, los marcadores basados en ADN presentan la ventaja de revelar un gran número de caracteres, muy por encima de los que se obtienen con las isoenzimas, a partir de la información genética disponible en un organismo (Semagn, Bjornstad, & Ndjiondjop, 2006). Por esta razón se han utilizado para resolver problemas en ecología y genética de poblaciones, específicamente, en la evaluación de la diversidad botánica (Azofeifa-Delgado, 2006)

Estas herramientas y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés: “Polymerase Chain Reaction”) han revolucionado los métodos de análisis en las últimas décadas. Actualmente se han desarrollado marcadores inespecíficos que generan información sin previo conocimiento de las secuencias de genes de las especies que se quieren estudiar. Entre las técnicas más utilizadas encontramos a los RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams, Kubelik, Livak, Rafalski, & Tingey, 1990); los AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms) (Williams *et al.*, 1990) y los ISSR (Inter- simple sequence repeats) (Zietkiewicz, Rafalski, & Labuda, 1994) que utilizan iniciadores inespecíficos para amplificar regiones al azar en el genoma, obteniendo un patrón variable de bandas que representan las regiones amplificadas.

Cada una de estas técnicas posee ventajas y desventajas; por ejemplo, los RAPD's son fáciles y rápidos de desarrollar por el tipo de secuencias arbitrarias de los iniciadores, generan información sin previo conocimiento de las secuencias de genes de las especies que se quieren estudiar, son muy polimórficos, pero poseen baja reproducibilidad y poca especificidad, debido a las bajas temperaturas de alineación de los iniciadores (Hansen, Halldén, & Säll, 1998). Los AFLP's son altamente reproducibles, presentan gran número de loci polimórficos y al igual que los RAPD's no se necesita del conocimiento previo de la secuencia de DNA, pero esta técnica resulta ser muy laboriosa y presenta un alto costo operacional y de implementación (Semagn *et al.*, 2006).

2.5.3. Inter simple sequence repeats (ISSR's)

Los primeros estudios que emplearon marcadores ISSR se publicaron en 1994 (Gupta, Chyi, Romero-Severson, & Owen, 1994; Zietkiewicz *et al.*, 1994). Estos estudios iniciales se centraron en las especies cultivadas y demostraron la naturaleza hipervariable de los marcadores ISSR (Wolfe, 2000)

Los ISSR se derivaron de los SSR o microsatélites, son quizá los más ampliamente distribuidos a lo largo de diversos genomas eucariotas y procariotas (Jun-Gang, Yu-Ping, Yu, Yan-Hui, & Zhi-Gang, 2014). Son secuencias pequeñas de (2 a 10 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, las cuales se asume que están distribuidas azarosamente por todo el ADN. Estas secuencias pueden o no estar asociadas con genes, son loci altamente mutables que pueden estar presentes en muchos sitios del genoma. Dado que la repetición por sí misma no codifica para formar ninguna proteína, y debido a que las secuencias de ADN repetitivo pueden recombinarse y expandirse más frecuentemente que otros tipos de secuencias, estas regiones son a menudo altamente variables y consecuentemente útiles para medir el polimorfismo entre especies o variedades muy relacionadas (Azofeifa-Delgado, 2006).

Las repeticiones de microsatélite utilizadas como iniciador para ISSR pueden ser di-nucleótidos, tri-nucleótidos, tetranucleótidos o penta-nucleótidos. Los iniciadores usados pueden ser o no anclados en el extremo 3' o 5' con 1 a 4 bases degeneradas extendidas a los lados de las secuencias (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

Comparando la longitud, los iniciadores de ISSR (15 a 30 nucleótidos) con los iniciadores de RAPD's (10 nucleótidos) le confiere la posibilidad de utilizar altas temperaturas en los ciclos de la PCR. No obstante, la temperatura del alineamiento dependerá del contenido de GC del iniciador utilizado, oscilando entre 45 a 65°C Los productos amplificados son usualmente de 200-2000 pb de largo y susceptibles de ser detectados por electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida (Semagn *et al.*, 2006).

Al igual que los RAPD, la herencia dominante y la homología de los productos de amplificación concomitantes son las principales limitaciones de los ISSR, es decir, este tipo de marcador presenta la desventaja de que sólo se obtiene la presencia o ausencia de las bandas, dificultando la posibilidad de distinguir entre los individuos heterocigóticos e individuos homocigóticos dominantes. Para cada locus, el alelo positivo es la presencia de la banda y domina sobre el alelo nulo o ausencia de la banda. Estos últimos son los individuos homocigóticos recesivos. (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Semagn *et al.*, 2006) La ventaja es que tienen el 99 % de reproducibilidad comparado con los RAPD, además de que son más costeables que los AFLP's.

Basándose en los estudios publicados utilizando marcadores ISSR, está claro que estos marcadores ISSR tienen un gran potencial para estudios de poblaciones naturales (Wolfe, 2000).

2.5.4. Aplicación de ISSR en *Jatropha*

J. curcas es la especie que tiene los avances más recientes en estudios moleculares debido a que es la más cosmopolita. Los métodos convencionales han demostrado que la caracterización morfológica es útil para establecer relaciones a nivel de género-especie, pero son insuficientes para definir la diversidad genética y la relación entre accesiones. Razón por la cual, la utilización de marcadores moleculares ha ido en aumento en los últimos años (Ovando-Medina, Espinosa-García, Núñez-Farfán, & Salvador-Figueroa, 2011).

Son los RAPD, seguido de los ISSR y SRR, y por último, los AFLP los cuatro marcadores moleculares más frecuentemente usados. Los principales objetivos de los estudios de marcadores moleculares son: a) explorar su utilidad para elucidar las relaciones filogenéticas en el género *Jatropha*, y b) estudiar la variabilidad presente en las accesiones de *J. curcas* de diferentes orígenes. La meta a largo plazo es contribuir al mejoramiento del germoplasma asistido por marcadores. Pocos son los informes con un enfoque de genética poblacional (Ovando-Medina *et al.*, 2011).

Los iniciadores ISSR más utilizados por diferentes autores han sido los primeros 100 iniciadores de la serie UBC del set número 9 desarrollados por la University of British Columbia, Canadá, de los cuales 7 a 40 han producido polimorfismo, obteniéndose de 7 a 21 bandas por iniciador, y con un número total de entre 300 a 2000 bandas polimórficas (Basha & Sujatha, 2007; Basha, Francis, Makkar, Becker, & Sujatha, 2009; Tatikonda *et al.*, 2009; Cai, Sun, Ambrosi *et al.*, 2010; Wu, & Peng, 2010; Grativol, Da Fonseca Lira-Medeiros, Hemerly, & Ferreira Gomes, 2011; Mavuso, Ovando-Medina *et al.*, 2011; Sunil *et al.*, 2011; Tanya, Taeprayoon, Hadkam, & Srinives, 2011; Wu, Chen, Huang, & Lin, 2016;).

2.6. LITERATURA CITADA

- Ali, M. S., Alam, I., Choudhary, S. C., Kumar, R., Kumar, D., & Chakraborty, A. K. (2007). Vegetative propagation in *Jatropha curcas* L. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 4(2), 755–759.
- Ambrosi, D. G., Galla, G., Purelli, M., Barbi, T., Fabbri, A., Lucretti, S., Sharbel, T. F. & Barcaccia, G. (2010). DNA markers and FCSS analyses shed light on the genetic diversity and reproductive strategy of *Jatropha curcas* L. *Diversity*, 2(5), 810–836. <https://doi.org/10.3390/d2050810>
- Asase, A., Oteng-Yeboah, A. A., Odamtten, G. T., & Simmonds, M. S. J. (2005). Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.020>
- Aung, S. Y. (2012). The cultivation and production of *Jatropha curcas* L. (Monywa Township , Sagaing division). *Yangon Institute of Education Research Journal*, 4(1), 1–9.
- Azofeifa-Delgado, A. (2006). Uso de marcadores moleculares en Plantas: aplicaciones en frutales del Trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221–241. <https://doi.org/10.15517/am.v17i2.5163>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. (D. S. Badui, Ed.), *Química de los alimentos* (Cuarta). México: Pearson, Addison Wesley. p. 738.
- Balick, M. J. (1996). Transforming ethnobotany for the new millennium. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. <https://doi.org/10.2307/2399968>
- Barbadilla, A. (2010). Genética de Poblaciones. Retrieved May 3, 2017, from <http://bioinformatica.uab.es/divulgacio/genpob.html>
- Basha, S. D., Francis, G., Makkar, H. P. S., Becker, K., & Sujatha, M. (2009). A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different

- countries. *Plant Science*, 176(6), 812–823.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.03.008>
- Basha, S. D., & Sujatha, M. (2007). Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. *Euphytica*, 156(3), 375–386.
<https://doi.org/10.1007/s10681-007-9387-5>
- BDMTM. (1999). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Retrieved April 12, 2017, from <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7875>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Berchmans, H. J., & Hirata, S. (2008). Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids. *Bioresource Technology*, 99(6), 1716–1721. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.03.051>
- Brossard-González, C. O., Ferrari, R. A., Pighinelli, A. L., & Park, K. J. (2010). Evaluación preliminar del etanol anhidro como solvente en la extracción de aceite de semillas de jatrofa (*Jatropha curcas* L.). *Grasas Y Aceites*, 61(3), 295–302. <https://doi.org/10.3989/gya.087209>
- Cai, Y., Sun, D., Wu, G., & Peng, J. (2010). ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. *Biomass and Bioenergy*, 34(12), 1739–1750. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.001>
- Calero, J., Luna, D., Sancho, E. D., Luna, C., Bautista, F. M., Romero, A. A., Verdugo-Escamilla, C. (2015). An overview on glycerol-free processes for the production of renewable liquid biofuels, applicable in diesel engines. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 1437–1452. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.11.007>
- Camellia Noor, N. A., Thohirah, L. A., Abdullah, N. A. P., & Khidir Mohd, O. (2009). Improvement on rooting quality of *Jatropha curcas* using Indole Butyric Acid (IBA). *Agriculture*, 5(4), 338–343.
- Caravaca, R. F. P., Castel, G. J. M., Guzmán, G. J. L., Delgado, P. M., Mena, G. Y., Alcalde, A. M. J., & González, R. P. (2005). *Bases de la producción animal. Manual Universitarios*. No. 61 (1a.). Sevilla, España.: Universidad de Sevilla. España. p.512.
- CBD. (1992). *Convenio sobre la Diversidad Biológica. Organización de las Naciones Unidas*. p.32.
- Ceriani, R., Paiva, F. R., Goncalves, C. B., Batista, E. A. C., & Meirelles, A. J. A. (2008). Densities and Viscosities of vegetable oils of nutritional value. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 53(8), 1846–1853. <https://doi.org/10.1021/jc800177e>
- Conabio. (2000). *Estrategia nacional sobre biodiversidad de México. Arteriosclerosis thrombosis and vascular biology*, p.103.

- CONABIO. (1997). Provincias biogeográficas de México. Retrieved April 8, 2017, from http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/rbiog4mgw.xml?_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no
- CONAGUA. (2010). Clima en México. Retrieved April 8, 2017, from http://smn1.conagua.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=103&Itemid=80
- Córdova Téllez, L., Bautista Ramírez, E., Zamarripa Colmenero, A., Rivera Lorca, J. A., Vázquez Pérez, A., Sánchez Sánchez, O., Martínez Herrera, J. & Cuevas Sánchez, J. A. (2015). *Diagnóstico y plan estratégico de Jatropha spp. en México* (1a.). DF, México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI). p. 120.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore Di Sanità*, 43(4), 348–361. <https://doi.org/Vol. 43, no. 4: 348-361>
- Davis, J. P., Dean, L. O., Faircloth, W. H., & Sanders, T. H. (2008). Physical and chemical characterizations of normal and high-oleic oils from nine commercial cultivars of peanut. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(3), 235–243. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1190-x>
- De la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. (2010). *Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability* (1st ed.). Iowa, UK: Wiley-Blackwell. p.366.
- De Lima, R. L. S., Liv, S. S., Pereira, W. E., De Lucena, A. M. A., Gheyi, H. R., & Arriel, N. H. C. (2010). Comprimento das estacas e parte do ramo para formação de mudas de pinhão-mansão. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 14(83), 1234–1239. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662010001100014>
- Dehgan, B., & Webster, G. L. (1979). *Morphology and infrageneric relationships of genus Jatropha (Euphorbiaceae)* (1a ed.). California, USA: University of California Press. p.69.
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430–1435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>
- Diamante, L. M., & Lan, T. (2014). Absolute viscosities of vegetable oils at different temperatures and shear rate range of 64.5 to 4835 s⁻¹. *Journal of Food Processing*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/234583>
- Díaz, S. Á. A. (2011). *Determinación de la factibilidad técnica y económica del cultivo de Jatropha curcas L. en una área de la zona citrícola de Nuevo León, México*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN. p.64.
- Dodds, E. D., M.R., M. R., Rea, L. D., & Kennish, J. M. (2005). Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: flame ionization detection vs. electron impact mass spectrometry. *Lipids*, 40(4), 419–428.

- Donalson, P., Daly, A., Ermini, L., & Bevitt, D. (2015). Genetic Diversity. In D. B. Peter Donaldson, Ann Daly, Luca Ermini (Ed.), *Genetic of Complex Disease* (1st., pp. 1–34). Garland Science.
- Dridi, W., Toutain, J., Sommier, A., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F., & Cansell, M. (2016). Characterization of lipid oxidation in plant oils by micro-calorimetry. *Food Chemistry*, 197, 709–713. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.040>
- Edwin, J., Siddaheswar Balakrishnan, J., & Dharam Chandra, J. (2008). Diabetes and herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 7(1), 97–106.
- Enciso Garay, C., & Castillo Echeverría, F. (2010). Vegetative propagation of *Jatropha curcas* L. by cutting. *Investigación Agraria*, 12(2), 69–73.
- Espinosa-Organista, D., & Ocegueda-Cruz, S. (2008). Primera Parte: La perspectiva biogeográfica y ecosistémica. In *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. (1a., pp. 33–65). DF, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Retrieved from <http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/conocimientoActual.html>
- FAO, & OMS. (2013). Documento de debate sobre una propuesta para la enmienda de la norma del CODEX sobre aceites vegetales especificados para girasol (CODEX STAN 210 - 1999) (No. 5).
- Feike, T., Weis, K., Claupein, W., & Mueller, J. (2007). *Propagation of physic nut (Jatropha curcas L.) on Leyte Island, Phylippines* (Confernce on International Agricultural Research for Development). *Tropentag 2007 University of Kassel-Witzenhausen and University of Göttingen*, October 9-11, 2007.
- Félix-silva, J., Giordani, R. B., Silva-Jr., A. A., Zucolotto, S. M., & Fernandes-Pedrosa, M. D. F. (2014). *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): A review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant. *Hindawi Publishing Corporation*, 2014, 1–34. <https://doi.org/10.1155/2014/369204>
- Flores-Maltos, D., Sandoval-Cortés, J., Valdivia-Urdiales, B., & Aguilar-González, C. (2010). Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos. *Investigación y Ciencia, Universidad Autónoma de Aguascalientes.*, 49, 20–25.
- Ford, R. I. (1978). *The Nature and Status of Ethnobotany* (1st.). Michigan, USA: University of Michigan, Museum of Antropology. p.428.
- Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 22–29. [https://doi.org/10.1016/S1631-0691\(03\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00023-4)
- Fresnedo-Ramírez, J., & Orozco-Ramírez, Q. (2013). Diversity and distribution of genus *Jatropha* in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(3), 1087–1104. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9906-7>
- Furnier, G. R. (2004). Métodos para medir variación genética en las plantas. In H. Vargas, J. Jesús, V. . Basilio Bermejo, & F. T. Ledig (Eds.), *Manejo de recursos genéticos*

- forestales* (2a.). México: Colegio de Postgraduados, Montecillo, México y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco.
- Ganduglia, F. (2009). *Manual de biocombustibles*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural en Latinoamérica y el Caribe (ARPEL). p.230. <https://doi.org/ISBN13: 978-92-9248-121-6>
- García-Mendoza, A., Ordóñez, M. de J., & Briones-Salas, M. (2004). *Biodiversidad de Oaxaca* (1a ed.). DF, México: Instituto de Biología, UNAM. Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza, World Wildlife Fund. p.605.
- García-Valenzuela, M. A. (2011). *Etnoecología de los agaves (Agavaceae) en la comunidad Ngiwa (Popoloca) de los Reyes Metzontla, Puebla, México*. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Colegio de Postgraduados.
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu, Universidad de Valencia. p.9.
- Gerique, A. (2006). An introduction to ethnoecology and ethnobotany theory and methods. *Springer Texts in Statistics*, p.21.
- Goel, G., Makkar, H. P., Francis, G., & Becker, K. (2007). Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *International Journal of Toxicology*, 26(4), 279–288. <https://doi.org/10.1080/10915810701464641>
- González, E. A., Cedillo, P. E., & Díaz, G. L. (2007). *Morfología y anatomía de las plantas con flores* (1a.). Chapingo, Texoco, México: Universidad Autónoma de Chapingo. p. 200.
- González, J., Klee, R., Valle, F., & Artiga, A. (n.d.). *Evaluación de parámetros de deterioro de aceites comestibles Salvadoreños en el Freído*. El Salvador. p. 8.
- Grativol, C., Da Fonseca Lira-Medeiros, C., Hemerly, A. S., & Ferreira Gomes, P. C. (2011). High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Molecular Biology Reports*, 38(7), 4245–4256. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0547-7>
- Gray, J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A Review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 539–546.
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. T. (2006). *Datos de composición de alimentos: Obtención, gestión y utilización*. (B. A. Burlingame & U. R. Charrondiere, Eds.) (2nd.). FAO. p.312.
- Gunstone, F. (2004). *Rapessed and canola oil: Production, processing, properties and uses*. (F. Gustone, Ed.) (1st ed.). USA and Canada: Balckwell Publishing, CRC Press LLC. p.240.
- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., & Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 89(7–8), 998–1006. <https://doi.org/10.1007/BF00224530>

- Gutiérrez, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter, Universidad Politécnica de Catalunya*, 122, 35–41.
- Haas, W., & Mittelbach, M. (2000). Detoxification experiments with the seed oil from *Jatropha curcas* L. *Industrial Crops and Products*, 12, 111–118.
- Haas, W., Sterk, H., & Mittelbach, M. (2002). Novel 12-deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. *Journal of Natural Products*, 65(10), 1434–1440. <https://doi.org/10.1021/np020060d>
- Halfpeter, G. (1992). *La Diversidad Biológica de Iberoamérica I. La Diversidad Biológica De Iberoamérica I*. Instituto de Ecología, A. C. Secretaría de Desarrollo Social. p. 204. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.01638.x>
- Hamilton, A. C., Shengji, P., Kessy, J. F., Khan, A. A., Shinwari, Z. K., & Lagos-Witte, S. (2005). *The purposes and teaching of applied ethnobotany* (People and Plants Working Paper No. 11). *People and Plants working paper 11* (Vol. 59). Goldalming, UK. p.77. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2005\)059\[0200:TPATOA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2005)059[0200:TPATOA]2.0.CO;2)
- Hansen, M., Halldén, C., & Säll, T. (1998). Error rates and polymorphism frequencies for three RAPD protocols. *Plant Molecular Biology Reporter*, 16, 139–146. <https://doi.org/10.1023/A:1007485919390>
- Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis* (1a.). London, Great Britain: Chapman and Hall. p.278.
- Hartl, D. L., & Clark, A. G. (1989). *Principles of population genetics* (Second edi). Sunderland, Massachussetts: Sinauer Associates. p.682.
- He, W., King, A. J., Khan, M. A., Cuevas, J. A., Ramiamanana, D., & Graham, I. A. (2011). Analysis of seed phorbol-ester and curcumin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10), 1183–1190. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.006>
- Hecker, E. (1968). Cocarcinogenic Principles from the Seed Oil of *Croton tiglium* and from Other Euphorbiaceae. *Cancer Research*, 28(11), 2338–2348.
- Heiser, B. C. (1985). Ethnobotany of the naranjilla (*Solanum-Quitoense*) and its relatives. *Economic Botany*, 39, 4–11. <https://doi.org/10.1007/bf02861168>
- Heller, J. (1996). *Physic nut. Jatropha curcas* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Physic nut. Jatropha curcas* L. (1st ed.). Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRE). p.66.
- Hernández-Sandoval, L., González Romo, C., & González Medrano, F. (1991). Plantas útiles de Tamaulipas. *Anales Del Instituto de Biología. Serie Botánica.*, 62(1), 1–38.
- Hernández-Xolocotzi, E. (1983). El concepto de Etnobotánica. Cuadernos de Divulgación, Instituto Nacional de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos, 5, 6–9.

- Hoekman, S. K., Broch, A., Robbins, C., Cenicerros, E., & Natarajan, M. (2012). Review of biodiesel composition, properties, and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 143–169. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.143>
- Honary, L. (2010). Industrial oil types and uses. In *Industrial Crops and Uses* (Singh, B.). Oxfordshire, UK.: CAB International. p.500.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, Ronald, L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Huerta-Casarrubias, E. A. (2009). *Estudio etnobotánico y poblacional con una propuesta de propagación de la Cola de León (Sphaeropteris horrida (Liebm.) RM Tryon) en la región de Chicahuales, Municipio de Chipalcingo, Guerrero*. Universidad Autónoma de México. p. 87.
- Igbinosa, O. O., Igbinosa, I. H., Chigor, V. N., Uzunugbe, O. E., Oyedemi, S. O., Odjadjare, E. E., Igbinosa, E. O. (2011). Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 2958–2971. <https://doi.org/10.3390/ijms12052958>
- INEGI. (2015). *Regiones naturales y biogeografía de México. Tecnología educativa*. DF, México. Retrieved from <http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/internet/regionesnaturalesbiogeografiamexico.pdf>
- Jiménez-Sierra, C., Sosa-Ramírez, J., Cortés-Calva, P., Breceda Solís-Cámara, A., Íñiguez-Dávalos, L., & Ortega-Rubio, A. (2014). México país megadiverso y la relevancia de las áreas naturales protegidas. *Investigación y Ciencia*, 60, 16–22.
- Jiménez, M. E., Aguilar, M. del R., Zambrano, M. de la L., & Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 45(2), 89–92.
- Jun-Gang, G., Yu-Ping, S., Yu, L., Yan-Hui, B., & Zhi-Gang, Z. (2014). Sex identification and genetic variation of Saccharina (Phaeophyta) gametophytes as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 635–646. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0089-1>
- Kates, J. E., & Luck, E. W. (2009). *Motores diesel y de gas de alta compresión* (2a.). Exeter, Reino Unido: Reverté. p.550.
- Kelly, L., & Kuang, C. (2007). Fatty Acid Classification and Nomenclature in Fatty Acids. In C. C. Kuang (Ed.), *Foods and their Health Implications* (2a.). Macel Dekker, Inc. p.15
- Kent, M. (2000). *Advanced Biology* (1st ed.). Malaysia: OXFORD University Press. p.650.
- Kevin, S., & David, S. N. (2003). The nomenclature, structure, and properties of food lipids. In Z. E. Zdzislaw, E. Z. Sikorski, & A. Kolakowska (Eds.), *Chemical and*

- Functional Properties of Food Lipids* (p.400). CRC Press. Retrieved from CRC Press
- Kochhar, S., Singh, S. P., & Kochhar, V. K. (2008). Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant-*Jatropha curcas*. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1136–1143. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.02.014>
- Kumar, A., & Sharma, S. (2008). An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products*, 28(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.01.001>
- Lackner, M., Palotás, B. A., & Winter, F. (2013). *Combustion: From Basics to Applications*. Wiley VCH. Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527667185>
- León-Pérez, F. (2013). El látex (Pamolché): alternativa terapéutica en úlceras de la cavidad oral. *Fomix Campeche*, 29–32.
- Leung, D. Y. C., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy*, 87(4), 1083–1095. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.10.006>
- Levine, F., Kayea III, R. V., Wexler, R., Sadvary, D. J., Melick, C., & Scala, J. La. (2013). Heats of combustion of fatty acids and fatty acid esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(2), 235–249. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2367-0>
- LlorenteBousquets, J., & Ocegueda, S. (2009). Estado del conocimiento de la biota. In J. Sarukhán, P. Koleff, J. Carabias, J. Soberón, R. Dirzo, J. Llorente-Bousquets, J. De la Maza (Eds.), *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad: conocimiento actual, evaluación y perspectivas de sustentabilidad*. (1a., Vol. I, pp. 283–322). DF, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad.
- Lucie, P., & Pokorny, J. (2002). Plant Lipids and Oils. In Z. E. Zdzislaw, E. Sikorski, & A. Kolakowska (Eds.), *Chemical and Functional Properties of Food Lipids* (4a., p. 400). CRC Press.
- Makkar, H., Becker, K., & Schmook, B. (1998). Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(1), 31–36. <https://doi.org/10.1023/A:1008054010079>
- Makkar, H., Becker, K., Sporer, F., & Wink, M. (1997). Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3152–3157. <https://doi.org/10.1021/Jf970036j>
- Manpong, P., Douglas, S., Douglas, P. L., Pongamphai, S., & Teppaitoon, W. (2011). Preliminary investigation of gallic acid extraction from *Jatropha curcas* Linn. Leaves using supercritical carbon dioxide with methanol co-solvent. *Journal of Food Process Engineering*, 34(5), 1408–1418. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00506.x>

- Marchetti, J. M., & Errazu, A. F. (2008). Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. *Biomass and Bioenergy*, 32(9), 892–895. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.01.001>
- Márquez-Guzmán, J. (2013). Tema IV: Procesos reproductivos. In J. Márquez-Guzmán, M. Collazo-Ortega, M. Martínez-Gordillo, A. Orozco-Segovia, & S. Vázquez-Santana (Eds.), *Biología de angiospermas* (1a., p. 602). DF, México: Facultad de Ciencias: Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez-Gordillo, M., Ramírez-Jiménez, J., Cruz Duran, R., Garcia, R., Cervantes, A., & Mejía Hernández, R. (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales Del Instituto de Biología*, 73(2), 155–281. Retrieved from <http://189.254.13.173:8080/jspui/handle/987654321/5266>
- Martínez, N., Almaguer, G., Vázquez-Alvarado, P., Figueroa, A., Zúñiga, C., & Hernández-Ceruelos, A. (2014). Análisis fitoquímico de *Jatropha dioica* y determinación de su efecto antioxidante y quimioprotector sobre el potencial genotóxico de ciclofosfamida, daunorrubicina y metilmetanosulfonato evaluado mediante el ensayo cometa. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromaticas*, 13(5), 437–457.
- Mavuso, C., Wu, Y. P., Chen, F. C., Huang, B. H., & Lin, S. J. (2016). Genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. accessions cultivated in Taiwan using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Agroforestry Systems*, 90(3), 417–431. <https://doi.org/10.1007/s10457-015-9864-0>
- Mayorga, A., & Mejía, W. A. (2005). Aprovechamiento integral del glicerol residual en la industria del biodiesel: Caso 1,3-Propanodiol (1,3-Pd). *Tecciencia*, 80–93.
- Meave, J. A. (1998). Estudio ecológico-florístico de los enclaves de vegetación xerofítica inmersos en una selva baja caducifolia en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. CONABIO. p. 300.
- Meher, L. C., Vidya Sagar, D., & Naik, S. N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
- Misra, M., & Misra, A. (2010). *Jatropha*: the biodiesel plant biology, tissue culture and genetic transformation—a review. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, 1(1), 11–24. Retrieved from http://ijopaasat.in/yahoo_site_admin/assets/docs/Misra-1.321150505.pdf
- Mongkolvisut, W., Sutthivaiyakit, S., Leutbecher, H., Mika, S., Klaiber, I., Möller, W., Rösner, H., Beifus, U., Conrad, J. (2006). Integerrimides A and B, cyclic heptapeptides from the latex of *Jatropha integerrima*. *Journal of Natural Products*, 69(10), 1435–1441. <https://doi.org/10.1021/np0602012>
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 95–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>

- Narwade, V. T., Wagnmare, A. A., Ladda, R. G., & Rathod, G. M. (2010). Detection of Flavonoids from *Jatropha gossypifolia* L. var. Elegans Muell. Arg. *Journal of Ecobiotechnology*, 2(6), 14–16.
- Newman, J. P. (2014). *Container nursery production and business management manual*. (L. Ribera, Ed.) (3th ed.). Canada: University of California, Division of Agriculture and Natural Resource. p.345.
- Neyra González, L., & Durand Smith, L. (1998). Biodiversidad. In *La diversidad biológica de México: estudio de país* (Vol. 166, pp. 37–49). <https://doi.org/10.3989/arbor.2000.i653.1000>
- Nguema Ndoutoumou, P., Bouanga, E. B., Massounga, Y. C., & Boussiengui Boussiengu, G. (2013). Étude comparée de trois méthodes de multiplication de *Jatropha curcas* L. dans les conditions climatiques. *Journal of Applied Biosciences*, 65, 4989–4998.
- Niembro Rocas, A. (1988). Semillas de árboles y arbustos: Ontogenia y estructura (1a ed.). México: Editorial LIMUSA. p. 285.
- Nielsen, S. (2010). *Food Analysis* (4a.). New, York, USA.: Springer Science+Business Media. p.602. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>
- Nwauzoma, A. B., & Dappa, M. S. (2013). Ethnobotanical studies of Port Harcourt Metropolis, Nigeria. *International Scholarly Research Notices, Hindawi*, 2013, 1–11.
- O’Keefe, S., & Pike, O. (2010). Fat Characterization. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (4a., p. 602). New, York, USA.: Springer Science+Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>
- Ofori-Boateng, C., Keat Teong, L., & Jitkang, L. (2012). Comparative exergy analyses of *Jatropha curcas* oil extraction methods: Solvent and mechanical extraction processes. *Energy Conversion and Management*, 55, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2011.11.005>
- Orozco-Segovia, A., & Sánchez-Coronado, M. E. (2013). Tema VI: Germinación. In J. Márquez-Guzmán, M. Collazo-Ortega, M. Martínez-Gordillo, A. Orozco-Segovia, & S. Vázquez-Santana (Eds.), *Biología de angiospermas* (1a., p. 602). DF, México: Facultad de Ciencias: Coordinación de la Investigación Científica. Universidad Autónoma Nacional de México.
- Ovando-Medina, I., Espinosa-García, F. J., Núñez-Farfán, J. S., & Salvador-Figueroa, M. (2011). State of the art of genetic diversity research in *Jatropha curcas*. *Scientific Research and Essays*, 6(8), 1709–1719. <https://doi.org/10.5897/SRE10.994>
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–8. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Rácz, A., Papp, N., Balogh, E., Fodor, M., & Héberger, K. (2015). Comparison of antioxidant capacity assays with chemometric methods. *Analytical Methods*, 7(10), 4216–4224. <https://doi.org/10.1039/c5ay00330j>
- Ramadhas, A. S., Jayaraj, S., & Muraleedharan, C. (2005). Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. *Fuel*, 84(4), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2004.09.016>
- Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., & Kohli, K. (2009). Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Allergy Drug Targets*, 8(3), 229–235. <https://doi.org/10.2174/187152809788681029>
- Reyes-García, V., & Sanz, N. M. (2007). Etnoecología: punto de encuentro entre naturaleza y cultura. *Ecosistemas*, 16(3), 46–55. <https://doi.org/10.7818/re.2014.16-3.00>
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacological Research*, 57(6), 451–455. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002>
- Rodenbush, C. M., Hsieh, F. H., & Viswanath, D. S. (1999). Density and viscosity of vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76(12), 1415–1419. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0177-1>
- Rodríguez-Acosta, M., Vega-Flores, K., De Gante-Cabrera, V. H., & Jiménez-Ramírez, J. (2009). Distribución del género *Jatropha*. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, 28, 37–48.
- Rodriguez-Martínez, C., Lafargue-Pérez, F., Sotolongo-Pérez, J. A., Rodríguez-Poveda, A., & Assucaio-Nascimento, J. C. (2012). Determinación de las propiedades físicas y carga crítica del aceite vegetal *Jatropha curcas* L. *Ingeniería Mecánica*, 15(3), 170–175.
- Rojas González, S., García Lozano, J., & Alarcón Rojas, M. (2004). *Propagación sexual de plantas. Conceptos básicos y experiencias con especies amazónicas* (1a.). Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), Programa Nacional de Transfer. p.56.
- Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jaafar, F. M., & Sahidin, I. (2013). Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*, 85, 7–29. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>
- Sadhu, M. K. (1989). *Plant propagation* (1st ed.). Daryaganj, New Delhi: New Age International (P) Ltd. Publishers. p. 280.
- Sahoo, P. K., Behera, L. K., & Nayak, S. K. (2014). Vegetative propagation of physic nut (*Jatropha curcas* L.) through stem cuttings. *Journal of Applied and Natural Science*, 6(2), 467–472.

- Sanderson, K., & Nichols, D. S. (2002). The nomenclature, structure, and properties of food lipids. In E. Zdzislaw, E. Sikorski, & A. Kolakowska (Eds.), *Chemical and Functional Properties of Foods Lipids*. (p. 400). CRC Press.
- Sarukhán, J., Carabias, J., Koleff, P., & Urquiza-Haas, T. (2012). Acciones estratégicas para su valoración, preservación y recuperación. In *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. (1a ed., p. 91). DF, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).
- Semagn, K., Bjornstad, A., & Ndjondjop, M. N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25), 2540–2568. <https://doi.org/10.5897/AJB2006.000-5110>
- Seppänen-Laakso, T., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2002). Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Analytica Chimica Acta*, 465, 39–62. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00397-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00397-5)
- Severino, L. S., Lima, R. L. S., Lucena, A. M. A., Freire, M. A. O., Sampaio, L. R., Veras, R. P., Medeiros, K., Sofiatti, V. & Arriel, N. H. C. (2011). Propagation by stem cuttings and root system structure of *Jatropha curcas*. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 3160–3166. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.04.031>
- Shrivastava, S., & Banerjee, M. (2008). In vitro clonal propagation of physic nut (*Jatropha curcas* L.): Influence of additives. *International Journal of Integrative Biology*, 3(1), 73–79. Retrieved from <http://ijib.classicrus.com/trns/219621370238643.pdf>
- Sirisomboon, P., Kitchaiya, P., Pholpho, T., & Mahuttanyavanitch, W. (2007). Physical and mechanical properties of *Jatropha curcas* L. fruits, nuts and kernels. *Biosystems Engineering*, 97(1999), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.02.011>
- Sokoto, M. A., Hassan, L. G., Dangoggo, S. M., Ahmad, H. G., & Uba, A. (2011). Influence of fatty acid methyl esters on fuel properties of Biodiesel produced from the seeds oil of *Curcubita pepo*. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 19(1), 81–86. <https://doi.org/10.4314/njbas.v19i1.69348>
- Sosa de Pró, E. (1979). *Manual de Procedimientos analíticos alimentos de consumo animal* (1a.). Chapingo, Texoco, México: Universidad Autónoma de Chapingo. p.74.
- SRE. (2013). México : País Megadiverso. *NOTISEM*, p. 2013. DF, México. Retrieved from <https://embamex.sre.gob.mx/dinamarca/images/pdf/meganota.pdf>
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la Familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, 61, 61–93.
- Sunil, N., Sujatha, M., Kumar, V., Vanaja, M., Basha, S. D., & Varaprasad, K. S. (2011). Correlating the phenotypic and molecular diversity in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy*, 35(3), 1085–1096. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.11.030>
- Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommes, J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113(4), 1226–1233. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.013>

- Tanya, P., Taeprayoon, P., Hadkam, Y., & Srinives, P. (2011). Genetic diversity among *Jatropha* and *Jatropha*-Related Species Based on ISSR Markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(1), 252–264. <https://doi.org/10.1007/s11105-010-0220-2>
- Tatikonda, L., Wani, S. P., Kannan, S., Beerelli, N., Sreedevi, T. K., Hoisington, D. A., Devi, P. & Varshney, R. K. (2009). AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. *Plant Science*, 176(4), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.01.006>
- Van der Putten, E., Ywe, F., & Jongh, J. (2009). *Manual de Jatropha. Fuels From Agriculture in Communal Technology*. p.175.
- Villaseñor, J. L. (2003). Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*, 28(3), 160–167.
- Villaseñor, J. L. (2004). Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 75, 105–135.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531–6535.
- Wolfe, A. D. (2000). ISSR resource website. Retrieved May 3, 2017, from <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html#Introduction>
- Wong-Paz, J. E., Castillo-Inungaray, M. L., López-López, L. I., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillon, G. V., & Aguilar, C. (2010). *Jatropha dioica*: fuente potencial de agentes antimicrobianos. *Acta Química Mexicana*, 2(4), 1–5.
- Young, K. J. (2007). *Ethnobotany*. (W. G. Hopkins, Ed.) (1st ed.). New York, USA: Chelser House. p.112.
- Zielińska, A., & Nowak, I. (2014). Fatty acids in vegetable oils and their importance in cosmetic industry. *Chemik*, 68(2), 103–110.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176–183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

III. CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO DE *Jatropha elbae*

J. Jiménez Ram.

RESUMEN

Uno de los objetivos actuales de la Etnobotánica es colaborar en la mitigación de la pérdida de biodiversidad generada por las presiones del humano al medio ambiente, a través de recabar información sobre la relación entre las plantas y el hombre, logrando contribuir a la conservación y propagación de las plantas. El género *Jatropha* es multipropósito gracias a sus constituyentes químicos y actividad biológica perdiéndole varios usos: medicinal, usando desde la raíz, tallo, hojas hasta el látex. Por otro lado, se ha utilizado para reforestar, curtir piel, ornamental, comestible, combustible, etc. En lo referente a la propagación vegetativa los esquejes de *Jatropha* más adecuados son los que tienen de largo entre 15-40 cm de largo y entre 1 a 3 cm de diámetro y haciendo uso de Ácido Indol-3-Butírico (IBA) para acelerar la producción de raíz. Es pertinente resaltar que la mayoría de estos estudios se han enfocado en especies con distribución cosmopolita considerando así la pertinencia de innovar en este tipo de investigación en especies con endemismo en México, debido a que cuenta con 81 % de las especies en ese estatus. *J. elbae* es endémica a México con distribución restringida a los estados: Puebla, Oaxaca y Guerrero. En esta investigó el uso de esta especie en dos localidades del estado de Puebla mostrando que el mayor uso es medicinal combatiendo las aftas bucales internas, y comestible, no reportando algún malestar estomacal. En lo referente a la propagación vegetativa, fueron esquejes de 20 cm de longitud, los diámetros caulinares variaron de 0.3-1.0 cm -distal-, de 1.1-2.5 -media-, de 2.6-3.0 cm -basal-, observando la parte media quien presento mayor desarrollo de hojas (40 %) seguida de la parte distal (37 %) y por último la basal (23 %), no existiendo diferencia entre los esquejes de ambas localidades.

Palabras clave: Etnobotánica, propagación vegetativa, Puebla, *J. elbae*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Autora: Biol. Michelle Xicotencatl Lozano

Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez

Codirectora: Dra. Diana Guerra Ramírez

ETHNOBOTANICAL KNOWLEDGE IN *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram.

ABSTRACT

One of the current objectives of ethnobotany is to collaborate in the mitigation of the loss of biodiversity generated by human pressures on the environment, through gathering information on the relationship between plants and man, contributing to the conservation and propagation of the plants. The genus *Jatropha* is multipurpose thanks to its chemical constituents and biological activity losing several uses: medicinal, using from the root, stem, leaves until latex. On the other hand, *Jatropha* has been used to reforest, tan leather, ornamental, edible, fuel, etc. In relation to vegetative propagation the most suitable *Jatropha* cuttings are those that are between 15-40 cm long and between 1 and 3 cm in diameter and making use of Indol-3-Butyric Acid (IBA) to accelerate the Root production. It is pertinent to point out that most of these studies have been carried out in species with a cosmopolitan distribution, considering the relevance of this type of research in species with endemism in Mexico because it has 81 % of the species in that status. *J. elbae* is endemic to Mexico with restricted distribution to the states: Puebla, Oaxaca and Guerrero. In this chapter, the use of this species in two localities of the state of Puebla was investigated showing that the greater use is medicinal combating the internal canthus, and edible, not to report some stomach discomfort. As regards vegetative propagation, cuttings were 20 cm in length, the caulin diameters ranged from 0.3-1.0 cm -distal-, from 1.1-2.5 -media-, from 2.6-3.0 cm -basal-, observing the middle part (40 %) followed by the distal part (37 %) and finally the basal (23 %), with no difference between the cuttings of both localities.

Key words: Ethnobotany, vegetative propagation, Puebla, *J. elbae*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Autora: Biol. Michelle Xicotencatl Lozano

Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez

3.1. INTRODUCCIÓN

Desde comienzos de la civilización, las personas han usado las plantas como medicina. Tal vez, desde tiempos del hombre Neanderthal, las plantas fueron consideradas con poderes curativos. De hecho, los ancianos de egipcios creían que las plantas tenían usos incluso después de la muerte. La vida humana en el planeta no se describiría completa sin observar el rol de las plantas (Gonsalves, 2010).

México alberga una diversidad biológica y cultural excepcional. En poco más de 1 % de la superficie terrestre posee al menos 10 % de la diversidad biológica del mundo. Una gran parte de esa biodiversidad es exclusiva de nuestra nación, lo que constituye un privilegio y representa una gran cantidad de opciones para el desarrollo del país, una responsabilidad hacia nuestra sociedad y hacia el mundo, así como un reto de gran complejidad para su manejo. Hasta ahora, la gran diversidad de los recursos genéticos, especies y ecosistemas y los servicios ambientales que nos brindan y que son esenciales para el desarrollo de la humanidad, no han sido valorados apropiadamente (Sarukhán *et al.*, 2012).

Jatropha L. es un género de la familia Euphorbiaceae cuenta con 175 especies, crecen en clima semiseco a templado subhúmedo de América, África, y Asia (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009). Reportan para México 48 especies donde el 81 % presentan endemismo (Steinmann, 2002).

Debido al endemismo que presenta este género en México y en cuanto a la distribución en el estado de Puebla (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009) La presente investigación tiene como propósito contribuir al conocimiento sobre la etnobotánica de *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. con distribución en zonas con tipo de vegetación de bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo en Puebla; así como evaluar la propagación vegetativa de la misma.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Material vegetal

Reino: Plantae

Filo/División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dic.)

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Subfamilia: Crotonoideae

Tribu: Jatropheae

Género: *Jatropha* L.

a. *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram.

De acuerdo con la descripción de Jiménez-Ramírez (1986) , *J. elbae* es un arbusto o árbol dioico, de 3-8 m de altura y corteza parda. Raíz: se forman 5 raíces de los arbolillos, 1 central y 4 periféricas.

Hoja: lámina cuneiforme, de 3-6 cm de largo por 1-3 cm de ancho, ocasionalmente trilobada, venación pinnada, haz verde oscuro, glabra, peciolo de 1-4 mm de longitud.

Flor: la inflorescencia masculina es un dicasio compuesto, de 1.5-1.85 cm. de largo, pedúnculo de 0.9-1 cm, brácteas triangulares de 0.3-0.5 mm de largo, las flores femeninas solitarias; con floración a finales de verano y principio de otoño.

Fruto: es capsular y ovoide. El fruto es inicialmente una cápsula drupácea verde volviéndose luego a café oscuro o negro. Al inicio son carnosas pero dehiscentes cuando son secas. La producción de frutos se genera en otoño. Semilla: es elipsoidal, de 1.7-2 cm de largo por 0.9-1.2 cm. de ancho, carúncula vestigial, parda; testa muy gruesa de 2.5-3 mm y dura.

Hábitat: se distribuye en Guerrero y Puebla, crece en bosque tropical caducifolio entre los 900 y 1100 m s.n.m. en clima cálido subhúmedo con estación seca mediana a larga y suelo derivado de calizas. Las especies con que se asocia son *Bursera bolivari* Rzed., *B. morelensis* Ramirez, *Senna* Mill., *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp, *Fouquieria formosa* Kunth y *Thevetia obovata* (Cav.) A. DC. (Rodríguez-Acosta et al., 2009).

b. *Jatropha curcas* L.

Heller, (1996) la describe como un árbol pequeño o arbusto largo, de 5-7 m de altura; corteza blanco grisácea y exuda un látex translucido, los tallos crecen con discontinuidad morfológica en cada incremento.

Raíz: Normalmente se forman 5 raíces, 1 central y 4 periféricas.

Hoja: Las hojas son caducas, normalmente se forman con 5 a 7 lóbulos acuminados, pocos profundos y grandes con pecíolos largos de 10 a 15 cm y de igual ancho.

Flor: Las inflorescencias se forman terminalmente en el axial de las hojas en las ramas. Ambas flores, masculinas y femeninas, son pequeñas (6-8 mm), verdoso amarillas en el diámetro y pubescente. Cada inflorescencia rinde un manojo de aproximadamente 10 frutos ovoides o más.

Fruto: El desarrollo del fruto necesita 90 días desde la floración hasta que madura la semilla. Son cápsulas drupáceas y ovoides. Al inicio son carnosas pero dehiscentes cuando son secas. Las frutas son cápsulas inicialmente verdes, pero volviéndose a café oscuro negro en el futuro. Las semillas están maduras cuando el fruto cambia de color del verde al amarillo.

Semillas: La fruta produce tres almendras negras, cada una aproximadamente de 2 cm de largo y 1 cm de diámetro.

Hábitat: La distribución nativa abarca México, América Central, Brasil, Bolivia, Perú, Argentina y Paraguay, aunque en estos días su distribución es pantropical.

3.2.2. Revisión de herbario

Se realizó visita únicamente a dos herbarios con la finalidad de conocer los sitios de colecta más recientes. Los herbarios visitados fueron el MEXU, perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el Herbario Universitario de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), debido a que el primero preserva la colección de plantas deshidratadas más grande el país y la segunda porque tiene la colección de la flora de Puebla más actualizada, debido a que la especie *J. elbae* tiene distribución en ese estado.

3.2.3. Descripción de los sitios de colecta.

Partiendo de la revisión de herbario se obtuvieron dos sitios de colecta recientes en el estado de Puebla, los cuales se ubican al sur de esa entidad (Figura 7).

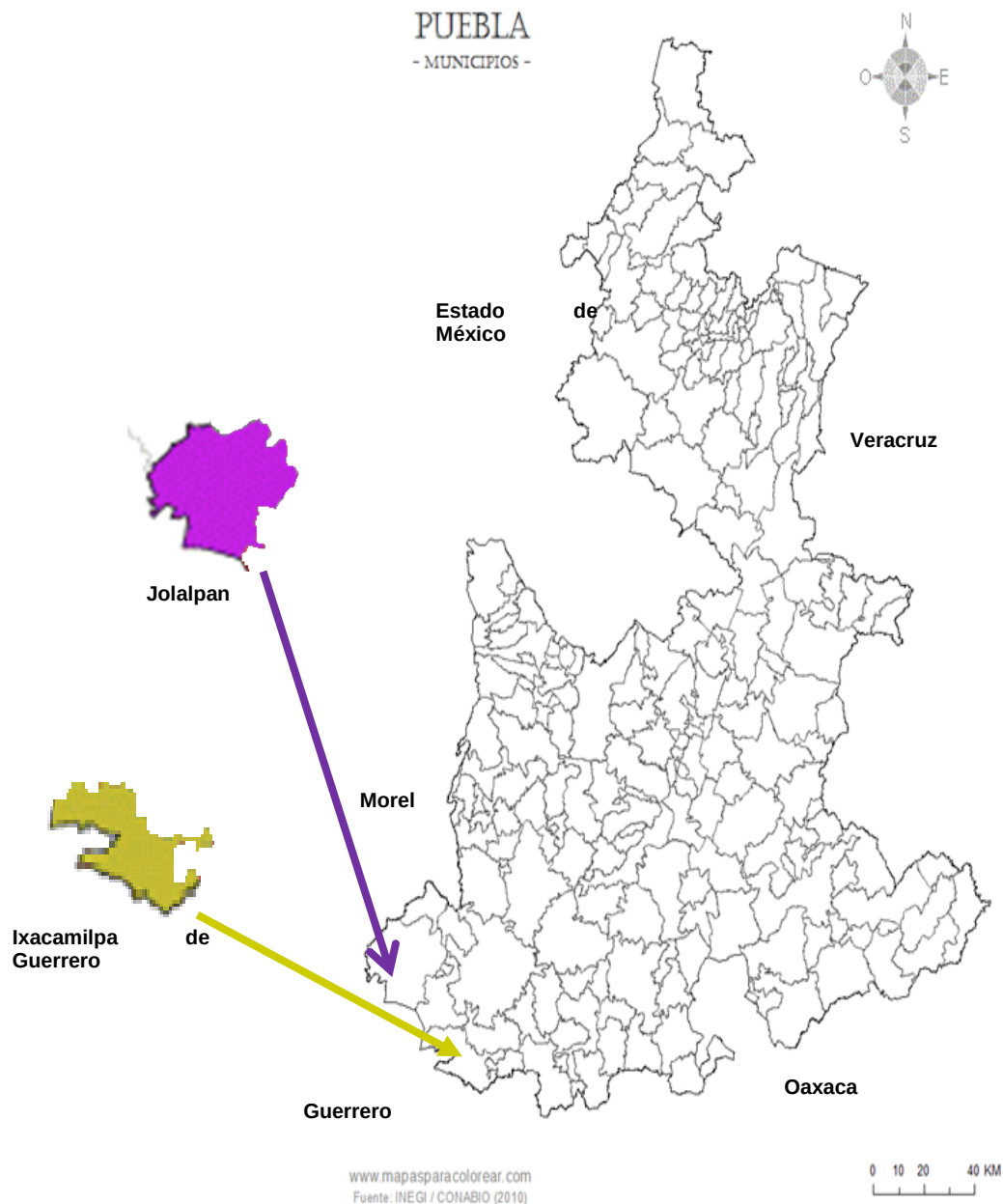


Figura 7 Sitios de colecta ubicados en el estado de Puebla

Jolalpan, Puebla

Jolalpan es un municipio que se encuentra políticamente ubicado en la región sudeste en el estado de Puebla (Pue). La distancia aproximada a la capital del estado es de 130 kilómetros. La posición territorial que tiene en el mapa general de la República Mexicana, señala que colinda al norte con el municipio de Teotlalco y el estado de Morelos, al sur con Cohetzala y con el estado de Guerrero, al oeste con el municipio de Huehuetlán el Chico, finalmente al poniente colinda con los estados de Morelos y Guerrero (Municipios.mx, 2017).

De acuerdo con el INAFED, (2014b):

Jolalpan está formada por los vocablos *xotlal* (calentarse mucho) y *pan* (sobre), lo que significa “lugar de ardiente calor”.

El territorio que forma al municipio de Jolalpan se extiende a 600.15 kilómetros cuadrados que lo ubica en el lugar 14 con respecto a los demás municipios del estado. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 12' 18" y 18° 27' 54" de latitud norte y los meridianos 98° 46' 24" y 99° 04' 06" de longitud occidental.

El municipio se divide morfológicamente en dos: Al occidente forma parte del contra fuerte meridional del sistema volcánico transversal y al oriente forma parte del valle de Chiautla. En general el municipio es montañoso, sobre todo al norte donde alcanza alturas de más de 1,800 metros sobre el nivel del mar. Destacan los cerros Tepos, Cuahio, Colorado, Cuachococotl, Coxiocho, Tlacuapan, y Cuezapulco. Presenta dos valles, uno al oriente y otro al occidente, donde se asientan las comunidades más importantes del municipio a una altura menor a 800 metros sobre el nivel del mar.

El municipio se encuentra dentro de la subcuenca del río Nexapa, afluente del Atoyac, que a su vez es tributario del Balsas; el oriente contiene en su totalidad la subcuenca del río Ziniquihuilá afluente del Amacuzac, que a su vez desemboca en el Balsas. Ambos ríos el Nexapa y el Ziniquihuilá son corrientes permanentes formadoras de los valles del municipio.

Se identifica un solo tipo de clima: clima cálido subhúmedo con lluvias en verano; el mes más cálido se presenta antes de junio. El municipio presenta una pequeña temporada menos lluviosa dentro de la estación de lluvias llamada sequía de medio verano; el número promedio de días nublados al año es de 120 a 160 y de días despejados más de 200; se presentan menos de 10 días con tempestades y de 10 a 20 días con heladas al año.

La vegetación que predomina en el municipio es la selva baja caducifolia asociada a vegetación secundaria arbustiva; estas áreas, poco a poco están siendo sustituidas por vegetación inducida, como palmares (al centro del municipio), pastizales (al oeste) donde existe ganado caprino y Agricultura de temporal.

También cabe destacar la presencia de matorrales encinosos asociados a vegetación secundaria arbustiva al sudeste y noroeste; también existen pequeñas áreas erosionadas al suroeste.

Datos del SNIM, (2010) Jolalpan tiene un total de 7022 habitantes de los cuales 3 259 son hombres y 3763 mujeres. La mayoría de la población habla español, las otras tres lenguas que se hablan son el Náhuatl, Otomí y Tepehua. El 20 % de la población es analfabeta. Solo el 26 % tiene primaria y el 17 % secundaria en la población de 15 años y más. En lo referente a la condición económica el 83 % de los hombres y el 18 % de las mujeres trabajan, las principales situaciones de trabajo que desarrollan son trabajo por su cuenta, jornalero, peón, y trabajo familiar sin pago. La mayoría de las personas que migran lo hacen hacia la capital de Puebla y 188 personas se encuentran en Estados Unidos de América.

Ixcamilpa de Guerrero, Puebla

El municipio de Ixcamilpa de Guerrero se encuentra políticamente ubicado en la región suroeste en el estado de Puebla (Pue). La distancia que presenta a la capital del estado es de unos 179 kilómetros. Debido a las diferentes elevaciones que se pueden encontrar en su territorio, altitud promedio es de 700 metros sobre el nivel del mar. De acuerdo a la posición territorial que tiene en el mapa general de la República Mexicana, colinda al norte y al poniente con el estado de Guerrero y al oeste con los municipios de Albino Zertuche y Xicotlán (Municipios.mx, 2017).

De acuerdo con INAFED, (2014a):

Ixcamilpa es un nombre náhuatl que significa "En la sementera de algodón"; principalmente los nahuas fueron los fundadores de este pueblo prehispánico que fue sometido a la llegada de los españoles en 1522.

Tiene una superficie de 308.31 kilómetros cuadrados, que lo ubica en el 41 lugar con respecto a los demás municipios del Estado. Sus coordenadas geográficas son: los paralelos 17° 07'24" y 18° 07'24" de latitud norte y los meridianos 98° 33'42" y 98° 49'24" de longitud occidental.

El municipio se localiza en la parte occidental de la Mixteca baja, anticlinal meridional del sinclinal que forma el Valle de Acatlán. El relieve del municipio es accidentado; presenta amplios conjuntos montañosos, cerros aislados y pequeñas sierras que le confieren un aspecto bastante abrupto. Las sierras están integradas por el complejo montañoso que se alza al noroeste formado por los cerros las Biznagas, La Encinera, La Libertad y Coyotomatera, además de la sierra que se alza al sureste donde destacan los cerros Totole y las Trincheras. La sierra que atraviesa el sureste, donde destacan los cerros Cuicuiltzin y Chinantoca. Al centro-sur el relieve es más o menos plano y sobre él se asientan las comunidades de Ixcamilpa, Buenavista de Zapata y otras.

El municipio pertenece a la vertiente del río Atoyac, que desemboca en el Océano Pacífico por la profunda cuenca del río Balsas, es bañado por algunas corrientes

importantes que a continuación se describen: El río Tlapaneco, que proviene de los estados de Oaxaca y Guerrero recorre el occidente y se une al Atoyac, formando el río Papalotla (Balsas). El río Atoyac, al norte del municipio de este a oeste, sirviendo de límite con Cohetzala y con el Estado de Guerrero, hasta unirse al Tlapanco. También cuenta con numerosos arroyos que se unen a los ríos mencionados.

El municipio se localiza dentro de la zona de los climas secos de la Mixteca baja; presenta dos climas: clima semiseco muy cálido. Es el clima predominante en todo el municipio excepto al sureste. Se presenta el Sureste del municipio.

La vegetación predominante del municipio es la selva baja caducifolia, así como grandes zonas boscosas de encino asociadas a vegetación secundaria arbustiva, donde se encuentran encino glaucoides, nance, caesalpina y pseudosmodinguim. Algunas zonas de bosque y selva han sido desmontadas para incorporar la actividad agropecuaria; así existen pastizales diversos por todo el territorio y al centro se han implantado zonas tanto de Agricultura de temporal como de riego.

Datos del SNIM, (2010) Ixcamilpa de Guerrero (la cabecera principal) tiene un total de 1354 habitantes de los cuales 629 son hombres y 725 mujeres. Los cuales en su mayoría hablan español, las otras lenguas que se hablan son el Náhuatl y el Mixteco. El 21 % de la población de hombres y el 29 % de mujeres de 15 años y más son analfabeta, de estos el 21 % tienen la primaria completa y entre el 15 % tienen la secundaria completa. En lo referente a la condición económica el 78 % de los hombres y el 19 % de las mujeres trabajan, las principales situaciones de trabajo que desarrollan son trabajo por su cuenta, jornalero, peón, y trabajo familiar sin pago. La mayoría de las personas que migran lo hacen hacia la capital de Puebla y sólo 63 personas se encuentran en Estados Unidos de América.

3.2.4. Encuesta

Se hicieron entrevistas semiestructuradas a un total de 25 personas en cada cabecera municipal, dirigidas a un sector de la población mayor de 30 años con la finalidad de recabar la mayor información posible, ya que de acuerdo a la literatura son las personas adultas y adultos mayores las que conservan ese conocimiento (Castellanos Camacho, 2011; Angulo, Rosero, & Gonzáles, 2012). Las variables analizadas para conocer información de los usos de la especie *J. elbae*, así como de la organización de la granja y el manejo agronómico de la especie *J. elbae* (Sí este fuera el caso) fueron tomadas de Vera-Castillo, Cuevas, Valenzuela-Zapata, Urbano, & González-Andrés, (2014). Las cuales fueron: 1. Usos de la planta; 2. Parte utilizada; 3. Forma de utilización (infusión, cataplasma) 4. Sí es comestible; 5. Que parte es comestible; 6. Cuántas piezas aproximadamente consumen; 7. Método de propagación; 8. Irrigación; 9. Fertilización; 10. Control de plagas. Además, se les pregunto la edad, nivel de escolaridad, y actividad laboral principal.

3.2.5. Propagación vegetativa

Únicamente se realizó la propagación vegetativa de la especie *J. elbae*, basándose en los criterios reportados para *J. curcas* (De Lima *et al.*, 2010; Enciso Garay & Castillo Echeverría, 2010). El experimento se realizó durante los meses de Mayo a Agosto del 2016 en el invernadero del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal, ubicado dentro de la Universidad Autónoma Chapingo, fue un diseño experimental completamente al azar, el cual constó de un control y un tratamiento con RADIX 10000 (Ácido Indol-3-Butírico (IBA)), así mismo dentro de cada uno se evaluó la segmentación de la rama (apical, media y basal), en 5 individuos y con tres replicas. Este diseño se realizó en los esquejes de las dos poblaciones (Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero) (Cuadro 5).

Las ramas fueron seleccionadas de individuos sanos y se segmentaron en tres porciones apical, media y basal, con una longitud de 20 cm, los diámetros caulinares variaron de 0.3-1.0 cm, de 1.1-2.5, de 2.6-3.0 cm respectivamente, respetando la polaridad de la rama.

Cuadro 5 Diseño experimental completamente al azar para ambas poblaciones (Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero)

	Parte de la rama	Individuo	Replica	No. Total de esquejes
Control	T1 (Basal)	5	3	45 (cada tratamiento constó de 15 esquejes)
	T2 (Media)			
	T3 (Apical)			
Tratamiento con RADIX 10000	T1 (Basal)	5	3	45 (cada tratamiento constó de 15 esquejes)
	T2 (Media)			
	T3 (Apical)			

Los cortes de las estacas fueron en forma de bisel para identificar la polaridad de la planta, en un ángulo aproximado de 45°, y se colocaron en agua por un lapso de 1 hr. El sustrato utilizado fue peat moss en bolsas de polietilenos de 15x15x12.

Las variables evaluadas fueron: 1. número de hojas; 2. número de brotes de la parte aérea de cada estaca, contando todas las ramificaciones primarias que cada estaca desarrolló; 3. longitud de brotes de la parte aérea, se midió con un vernier digital (Truper, CALDI-6MP (precisión 0.01 mm))

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Revisión de herbario

De la revisión de los dos herbarios perteneciente a las dos universidades: MEXU- Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y Herbario Universitario-Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) se obtuvo que los sitios de colecta más recientes se encuentran en el estado de Puebla, en los municipios de Jolalpan, Ixcamilpa de Guerrero y Teopatlán.

Los ejemplares revisados de la especie *J. elbae* fueron un total de 26 ejemplares entre las dos Universidades. En forma particular los 13 ejemplares de la UNAM localizan a esta especie en el estado de Guerrero, solo dos ejemplares la sitúan en el estado de Puebla,

describen a la especie como un árbol de 4 m, colectada entre los meses de junio a octubre con presencia de frutos. El tipo de vegetación para ambos estados lo describen como un bosque tropical caducifolio (BTC), en una altitud de los 500 a los 1138 msnm. La abundancia en que fueron colectados fue de regular a escasa. El ejemplar más antiguo data del año 1947 en Guerrero y el más reciente en el año 2012 en Chiautla, Pue. Se hicieron la reidentificación de dos ejemplares por el investigador Jaime Jiménez Ramírez quien es el especialista de este género en México, además de ser el investigador que la identifico por primera vez.

En lo referente a los 13 ejemplares del herbario de la BUAP localiza a la especie *J. elbae* en dos estados en su mayoría en Puebla y solo un ejemplar en el estado de Oaxaca. La forma biológica con la cual describen a la especie es entre arbusto y árbol, presentan frutos entre los meses de julio a agosto. El tipo de vegetación en el cual se distribuyen es entre bosque tropical caducifolio (BTC) y matorral xerófilo (MX), la altitud en donde se localiza va de los 820 a los 1973 msnm. El ejemplar más antiguo data del año 1987 al 2013. De igual forma la determinación de los ejemplares fue curada por el investigador Jaime Jiménez Ramírez.

Es pertinente resaltar que carecen de información con respecto a datos importantes como Nombre local (común), usos, tipo de suelo en el cual se desarrollan los ejemplares.

3.3.2. Encuesta

Se levantó una encuesta a 50 personas, 25 en cada cabecera municipal (Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero) dónde fue colectado el material vegetal utilizado en este proyecto de investigación.

De las entrevistas se desprende que aún son las personas a partir de 50 años las que conservan el conocimiento etnobotánico, el nombre con el que reconocen a la especie *J. elbae* fue diferente en las dos localidades en Jolalpan la conocen como nuez y en Ixcamilpa de Guerrero como Sangre de grado coincidiendo con lo reportado por Angulo, Rosero, & Gonzáles, (2012) y Castellanos Camacho, (2011) (Cuadro 6).

En ambas poblaciones el uso es para combatir las aftas en la zona bucal dentro o fuera, si es por fuera las personas entrevistadas mencionan que lesionan el tallo o cortan una hoja del árbol y colocan la leche -látex- en la herida, otros colocan un poco de esta leche en un vaso y le agregan agua utilizándolo como enjuague bucal. Este uso antimicrobiano es semejante al reportado para *J. neopauciflora* (Fresnedo-Ramírez & Orozco-Ramírez, 2013), *J. curcas* (Asase *et al.*, 2005) y *J. gaumeri* (León-Pérez, 2013).

Otro uso que le dan a *J. elbae* es comestible de consumo humano llegan a consumir de 3-20 semilla o “un puñito”; sin presentar ningún síntoma de dolor estomacal. Solo una persona menciona que los animales en específico los chivos son los que llegan a consumir los frutos. Dicho uso comestible es el descrito para *J. curcas* en Vera-Castillo *et al.*, (2014).

En Jolalpan el conocimiento etnobotánico que tienen relacionado al nivel de escolaridad y actividad laboral es indiferente todos en su mayoría la recuerda de la infancia. Caso diferente en Ixcamilpa de Guerrero el mayor conocimiento lo guardan las personas que trabajan en el campo, aún ellos en la actualidad la siguen utilizando o consumiendo cuando van al campo.

Cuadro 6 Etnobotánica de *J. elbae* en dos localidades de Puebla

		Localidad	
		Jolalpan	Ixcamilpa de Guerrero
Genero	H	11	15
	M	14	10
Edad		22-82	26-86
Nivel de escolaridad	No asistió	13	15
	Primaria	10	9
	Secundaria	2	0
	Preparatoria/ Bachillerato	0	0
	Licenciatura	0	1
	No especificado	4	1
Actividad laboral	Campesinos	6	13
	Comerciantes	6	7
	Comerciante/ Campesino	3	0
	Ama de casa	3	3
	Otros	3	1
Conocimiento	Si	12	16
	No	13	9
Nombre común		Nuez	Sangre de grado
Usos		Fuegos bucales	
Parte utilizada		látex	
Forma		Untarla en las llagas de la boca	Enjuague bucal, directo en las heridas
Comestible		11	6
Quien	Personas	10	6
	animales (chivos)	1	0
Parte	frutos	12	6
Cantidad		3-15	15-20
Lugar de colecta		cerro	

3.3.3. Propagación vegetativa

Los resultados muestran que los esquejes que presentaron desarrollo de hojas se observaron a partir de la primera semana, principalmente en la población de Jolalpan fueron los esquejes que recibieron tratamiento con Ácido Indol-3-Butírico (IBA)), para la población de Ixcamilpa de Guerrero no hubo diferencias entre tratamiento. En lo referente a la parte distal, media o basal, de manera general es la parte media la que presento mayor desarrollo de hojas (40 %) seguida de la parte distal (37 %) y por último la basal (23 %) del total de esquejes que desarrollaron hojas (N. 68). Comparando ambas poblaciones es la población de Ixcamilpa de Guerrero la presenta mayores esquejes con hojas. El tiempo de vida de las hojas es de aproximadamente de 25 días (Cuadro 7).

Cuadro 7 Esquejes que presentaron hojas

figur	Parte					
	1	2	3			
No. esquejes Pob A	S	C	S	C	S	C
32	7	1	10	7	4	3
No. esquejes Pob B	S	C	S	C	S	C
36	7	10	5	5	6	3

PobA=Población Jolalpan; PobB=Población Ixcamilpa de Guerrero
 Parte 1. Distal; 2. Media; 3. Basal
 S=sin IBA; C=con IBA

En lo referente a las ramificaciones a partir de los primeros 10 días se empiezan a desarrollar las primeras ramificaciones. Un total de 8 esquejes fueron los que presentaron esta condición siendo la parte basal la que se observó con más esquejes. El número promedio de brotes por esqueje fue de 2 existiendo un valor extremo de 5 ramificaciones en un esqueje. En particular fue la población de Ixcamilpa de Guerrero la que presentó el mayor número de esquejes con este desarrollo de ramificaciones (Cuadro 8).

Cuadro 8 . Esquejes que presentaron ramificaciones

	Parte					
	1		2		3	
No. esquejes Pob A	S	C	S	C	S	C
2	1	0	0	0	1	0
No. esquejes Pob B	S	C	S	C	S	C
6	0	1	0	1	2	2
PobA=Población Jolalpan; PobB=Población Ixcamilpa de Guerrero						
Parte 1. Distal; 2. Media; 3. Basal						
S=sin IBA; C=con IBA						

No existen datos comparativos de propagación vegetativa en específico para *J. elbae*, pero con referencia a *J. curcas* coincide los datos obtenidos por Camellia Noor, Thohirah, Abdullah, & Khidir Mohd, (2009) y Kochhar, Singh, & Kochhar, (2008) sobre la influencia positiva del Ácido Indol-3-Butírico (IBA) en la propagación vegetativa. En lo concerniente a la parte que presenta mejor desarrollo de hojas coincide con lo obtenido por Feike, Weis, Claupein, & Mueller, (2007) donde la parte basal y media son las que tienen más desarrollo de hojas. El promedio de ramificaciones no coinciden con las reportadas por Enciso Garay & Castillo Echeverría, (2010) quienes reportan para esa longitud (20 cm) de esqueje 4 ramificaciones.

3.4. CONCLUSIÓN

Es importante la revisión de herbarios debido a que se obtienen datos de colecta de años más recientes, además de saber los meses en que las especies con las que se trabajara se encuentren en producción de semilla o en reposo. Con la información desprendida de los herbarios dependerá el cronograma de actividades.

El conocimiento etnobotánico, de acuerdo a las encuestas aplicadas en el presente estudio, sigue reforzando la premisa de que son los adultos de 50 años y más los que aún guardan y transmiten ese conocimiento a su familia y vecinos. Sin embargo, hubo

casos de en ambas localidades donde mujeres de menos 22 a 30 años con escolaridad y trabajo diferente al campo aún recuerdan que en su infancia tuvieron contacto con la especie *J. elbae*, lamentablemente debido a la actividad que ejercen ahora les impide seguir haciendo caminatas al cerro para mostrarles a sus hijos la planta.

Aún que no fue un éxito la propagación vegetativa, se ha logrado obtener los primeros resultados de dicho tipo de propagación para la especie *J. elbae*. Es pertinente resaltar que estas especies necesitan más horas luz que sombra ya que eso les desarrolla infecciones.

3.5. LITERATURA CITADA

- Angulo, A., Rosero, R., & Gonzáles, M. (2012). Estudio etnobotánico de las plantas medicinales utilizadas por los habitantes del corregimiento de Genoy, Municipio de Pasto, Colombia. *Revista Universidad Y Salud*, 14(2), 168–185.
- Asase, A., Oteng-Yeboah, A. A., Odamtten, G. T., & Simmonds, M. S. J. (2005). Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.020>
- Camellia Noor, N. A., Thohirah, L. A., Abdullah, N. A. P., & Khidir Mohd, O. (2009). Improvement on rooting quality of *Jatropha curcas* using Indole Butyric Acid (IBA). *Agriculture*, 5(4), 338–343.
- Castellanos Camacho, L. I. (2011). Conocimiento etnobotánico, patrones de uso y manejo de plantas útiles en la cuenca del río Cane-iguake (Boyacá-Colombia); una aproximación desde los sistemas de uso de la biodiversidad. *Ambiente & Sociedad*, XIV(n.1), 45–75.
- De Lima, R. L. S., Liv, S. S., Pereira, W. E., De Lucena, A. M. A., Gheyi, H. R., & Arriel, N. H. C. (2010). Comprimento das estacas e parte do ramo para formação de mudas de pinhão-manso. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 14(83), 1234–1239. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662010001100014>
- Enciso Garay, C., & Castillo Echeverría, F. (2010). Vegetative propagation of *Jatropha curcas* L. by cutting. *Investigación Agraria*, 12(2), 69–73.
- Feike, T., Weis, K., Claupein, W., & Mueller, J. (2007). *Propagation of physic nut (Jatropha curcas L.) on Leyte Island, Phylippines* (Conference on International Agricultural Research for Development). *Tropentag 2007 University of Kassel-Witzenhausen and University of Göttingen*, October 9-11, 2007.
- Fresnedo-Ramírez, J., & Orozco-Ramírez, Q. (2013). Diversity and distribution of genus *Jatropha* in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(3), 1087–1104. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9906-7>
- Gonsalves, J. (2010). *Economic Botany and Ethnobotany* (1st ed.). New Delhi, India: International Scientific Publishing Academy. p. 236.

- Heller, J. (1996). *Physic nut. Jatropha curcas* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Physic nut. Jatropha curcas* L. (1st ed.). Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRE), p. 66.
- INAFED. (2014a). Ixcamilpa de Guerrero. Retrieved April 19, 2017, from <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21081a.html>
- INAFED. (2014b). Jolalpan. Retrieved April 19, 2017, from <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21087a.html>
- Jiménez-Ramírez, J. (1986). Una nueva especie de *Jatropha* del estado de Guerrero. *Cactáceas Y Suculentas Mexicanas*, 31(1), 3–5.
- Kochhar, S., Singh, S. P., & Kochhar, V. K. (2008). Effect of auxins and associated biochemical changes during clonal propagation of the biofuel plant-*Jatropha curcas*. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1136–1143. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.02.014>
- León-Pérez, F. (2013). El látex (Pamolché): alternativa terapéutica en úlceras de la cavidad oral. *Fomix Campeche*, 29–32.
- Municipios.mx. (2017). Jolalpan. Retrieved April 19, 2017, from <http://www.municipios.mx/puebla/jolalpan/>
- Rodríguez-Acosta, M., Vega-Flores, K., De Gante-Cabrera, V. H., & Jiménez-Ramírez, J. (2009). Distribución del género *Jatropha*. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, 28, 37–48.
- Sarukhán, J., Carabias, J., Koleff, P., & Urquiza-Haas, T. (2012). Acciones estratégicas para su valoración, preservación y recuperación. In *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. (1a ed., p. 91). DF, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).
- SNIM. (2010). Sistema Nacional de Información Municipal. Retrieved April 19, 2017, from <http://www.snim.rami.gob.mx/>
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la Familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, 61, 61–93|. Retrieved from <http://www.doaj.org/doaj?func=openurl&issn=01877151&genre=journal>
- Vera-Castillo, Y. B., Cuevas, J. A. A., Valenzuela-Zapata, A. G., Urbano, B., & González-Andrés, F. (2014). Biodiversity and indigenous management of the endangered non-toxic germplasm of *Jatropha curcas* L. in the Totonacapan (Mexico), and the implications for its conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61(7), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0109-2>

IV. COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS ACEITES DE *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. Y *Jatropha curcas* L.

RESUMEN

Las reservas limitadas de combustibles fósiles y la necesidad de reducir emisiones contaminantes, han conducido a la exploración de nuevas fuentes de energía amigables con el medio ambiente. *Jatropha curcas* es una alternativa para la producción de biodiesel debido a que el aceite contenido en sus semillas cumple con las normas internacionales. En México existen especies endémicas de *Jatropha* cuyas semillas no han sido estudiadas. El objetivo de esta investigación fue caracterizar las semillas y evaluar las propiedades fisicoquímicas del biodiesel derivado del aceite contenido en las semillas de *J. elbae* y compararlas con *J. curcas*. En ambas especies se hicieron determinaciones alométricas. El aceite, extraído con hexano, fue analizado por métodos ISO y se transesterificó con metanol para obtener los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés), los cuales fueron caracterizados por cromatografía de gases y resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ^1H). Las semillas de *J. elbae* muestran correlaciones altas con su peso, largo y ancho y largo-ancho. El porcentaje de aceite en las semillas de *J. elbae* fue mayor (57%) que en *J. curcas* (53 %). Los índices de calidad del aceite resultaron más altos en la especie *J. curcas* seguida de *J. elbae* con: IS 195.6 y 194.8; IY 90.25 y 85.91; IA 0.35 y 0.22; IP 1.42 y 2.08 respectivamente. Los espectros de RMN ^1H del aceite y los FAME, demuestran que la reacción de transesterificación se llevó a cabo completamente. En la mezcla de FAME, predominan los insaturados, de los cuales el linoleato de metilo está en mayor porcentaje. El calor de combustión, la densidad y las viscosidades dinámica y cinemática del biodiesel y sus mezclas con diésel, se encuentran dentro de los parámetros internacionales establecidos en las normas europeas en 590 y en 14214. De acuerdo con los resultados se concluye que el aceite de *J. elbae* puede ser utilizado tanto para consumo humano y animal, como para la obtención de biodiesel.

Palabras clave: propiedades alométricas, aceite, propiedades fisicoquímicas, *J. elbae* *J. curcas*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Autora: Michelle Xicotencatl Lozano

Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez

Codirectora: Dra. Diana Guerra Ramírez.

COMPARISON OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF *Jatropha elbae* J.

Jiménez Ram. y *Jatropha curcas* L.

ABSTRACT

Limited fossil fuel reserves and the need to reduce pollutant emissions have led to the exploration of new, environmentally friendly sources of energy. *Jatropha curcas* is an alternative to produce biodiesel because the oil contained in its seeds complies with international standards. In Mexico, there are endemic species of *Jatropha* whose seeds have not been studied. The objective of this research was to characterize the seeds and to evaluate the physicochemical properties of the biodiesel derived from the oil contained in the seeds of *J. elbae* and to compare them with *J. curcas*. Allometric determinations were made in both species. The oil, extracted with hexane, was analysed by ISO methods and transesterified with methanol to obtain the fatty acid methyl esters (FAME), which were characterized by gas chromatography and hydrogen nuclear magnetic resonance (RMN ^1H). The seeds of *J. elbae* show high correlations with their weight, long and wide and long-width. The percentage of oil in the seeds of *J. elbae* was higher (57%) than in *J. curcas* (53%). The oil quality indexes were higher in the species *J. curcas* followed by *J. elbae* with: IS 195.6 and 194.8; IY 90.25 and 85.91; IA 0.35 and 0.22; IP 1.42 and 2.08 respectively. The RMN ^1H spectra of the oil and the FAME, demonstrate that the transesterification reaction was carried out completely. In the mixture of FAME, the unsaturated ones predominate, of which the methyl linoleate is in greater percentage. The combustion heat, density and dynamic and kinematic viscosities of biodiesel and its mixtures with diesel are within the international parameters set out in the European standards at 590 and 14214. According to the results it is concluded that the oil of *J. elbae* can be used for both human and animal consumption, as well as for biodiesel production.

Keywords: oil, physicochemical, *J. elbae*, *J. curcas*, nontoxic.

4.1. INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista biológico, la semilla es un medio de sobrevivencia de las especies, ya que tienen la vida embrionaria latente la cual tiene la capacidad de revivir incluso años después de que sus parientes estén muertos, es decir, son importantes en la dispersión y persisten en el suelo, para establecer plántulas vigorosas. La mayoría de los estudios de variación intraespecífica en las semillas han demostrado que las semillas grandes sobre las pequeñas procuran el establecimiento de las plántulas (Seiwa, 2000).

Además, el tamaño y contenido de aceite de las semillas de *Jatropha* son factores importantes para sus aplicaciones en biocombustibles y para la obtención de otros subproductos. La identificación de genotipos con semillas cuya morfología satisfaga estas características es importante para el mejoramiento genético (Valdés-Rodríguez, Sánchez-Sánchez, Pérez-Vázquez, & Zavala del Ángel, 2013). Las publicaciones sobre la morfometría de semillas de procedencias mexicanas son mínimas, se ha reportado pesos y longitudes de semillas tóxicas y no tóxicas sólo de *Jatropha curcas* para algunos estados de México como son: Puebla, Guerrero, Veracruz, Chiapas y Quintana Roo, dejando a un lado las otras especies (Makkar, Becker, & Schmook, 1998; Martínez-Herrera, Siddhuraju, Francis, Dávila-Ortíz, & Becker, 2006; Makkar, Martinez-Herrera, & Becker, 2008; Martínez-Herrera, Martínez-Ayala, Makkar, Francis, & Becker, 2011).

La morfometría de las semillas es importante porque su peso está directamente relacionado con el endospermo. Por lo tanto, los estudios morfométricos de las semillas mexicanas de *J. curcas* y *J. elbae* pueden ser una herramienta valiosa para estimar la productividad y asistir en la selección de fuentes prometedoras (Valdés-Rodríguez *et al.*, 2013).

Composición físico-química

Los aceites vegetales, dependen de los porcentajes de ácidos grasos lo que le aporta ciertas propiedades. Lo que les confiere ciertas cualidades para ser aplicadas en la industria, como biocombustible, lubricante y en la cosmetología. Las semillas son una buena fuente de recursos oleicos, los cuales son susceptibles a dichas transformaciones

(Zielińska & Nowak, 2014). Para determinar el valor industrial de un aceite en particular depende de la composición y su pureza, existen numerosas pruebas de las cuales podemos determinar su calidad como son el índice de acidez, saponificación, yodo y peróxidos, también se puede conocer la composición química del aceite (Akintayo, 2004). Además de conocer la viscosidad y densidad del aceite y el biodiésel (Augustus, Jayabalan, & Seiler, 2002).

El contenido de aceite depende de varios factores entre ellos está el tipo de extracción y estado fisiológico de la semilla. A partir de las semillas de *J. curcas*, los rendimientos de aceite oscilan entre 40-60 % (Kumar & Sharma, 2008; Openshaw, 2000) mientras que en el caso de *J. elbae* se obtuvo un rendimiento de 55.25 % (Rodríguez-Acosta, Sandoval-Ramírez, & Zeferino-Díaz, 2010). Akbar, Yaakob, Kamarudin, Ismail, & Salimon, (2009) y Raja, Smart, & Lee, (2011) obtuvieron los siguientes valores: índices de acidez (38.2), saponificación (193.55-195.0) y yodo (40.4-103.62), peróxidos (1.93) respectivamente y en lo relacionado a las propiedades de viscosidad y densidad se obtuvieron valores de 40.4-49.93 (cst) en el aceite y en el biodiésel de 4.73-5.65 (cst) para la primera propiedad y de 0.91-0.92 (g/cm³) en el aceite, en el biodiésel de 0.792-0.880 g/cm³ para la segunda. En lo referente a la composición química principalmente contiene ácido oleico (43-47 %), seguido del ácido linoleico (31.6-34.3 %), ácido palmítico (4.2-14.1 %) y ácido esteárico (6.7-43.1) (Augustus *et al.*, 2002; Raja *et al.*, 2011).

A la fecha, existe poca información acerca de la caracterización morfológica y del perfil de ácidos grasos del aceite contenido en las semillas de *J. elbae*. Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron, evaluar las características morfométricas y las propiedades fisicoquímicas de las semillas de *J. elbae*. y compararlas con las de *J. curcas*.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Caracterización morfológica de la semilla.

Los frutos, libres de cáscara se lavaron con agua potable. Posteriormente fueron sometidos a una prueba de flotación para determinar su viabilidad (Figura 8).

Un total de 30 semillas con testa y sin testa fueron pesadas en una balanza digital OHAUS CS200 (Precisión 0.0001 g). El tamaño de la semilla se determinó a través de la medición de sus dimensiones: largo (L), ancho (W) y espesor (T), con un vernier digital Truper, CALDI-6MP (precisión 0.01 mm). (Figura 9).

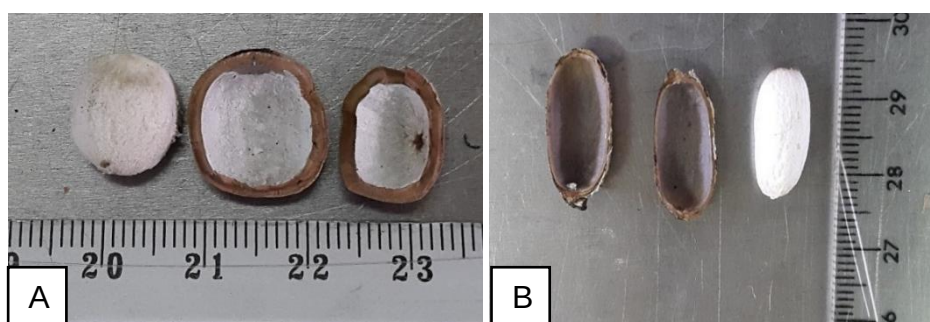


Figura 8 Semillas de A. *J. elbae*; B. *J. curcas*

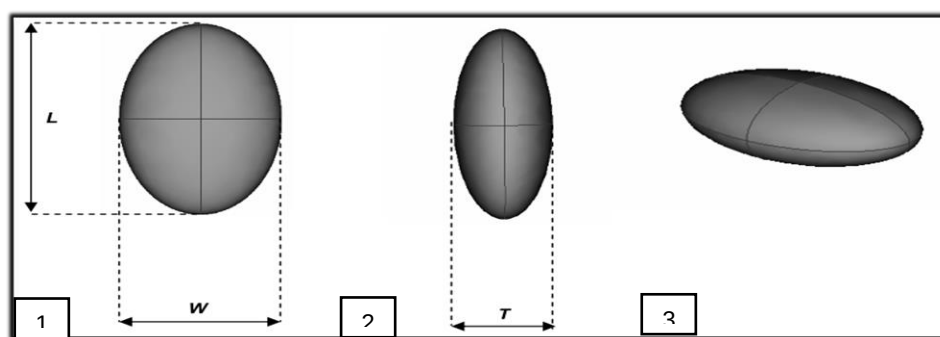


Figura 9 Dimensiones características: 1. Vista frontal, 2. Vista del perfil y 3. Geometría tridimensional de la semilla de ambas especies.

Algunos de los parámetros necesarios para el procesamiento industrial de semillas son el *diámetro aritmético* (D_a), el *diámetro geométrico* (D_g), el *área superficial específica* (S) y *esfericidad* (Φ) los cuales fueron calculados a partir de las tres dimensiones de acuerdo a las Ecuaciones 2.1 a 2.4 (Betancur-Prisco, McCabe, Smith, & Harriot, 1986; Mohsenin, 1986; Sirisomboon *et al.*, 2007; Pradhan *et al.*, 2009; Mira-Hernández, & París-Londoño, 2014):

$$\Phi = \frac{(L * W * T)^{1/3}}{2} \quad \text{Ec. 2.1}$$

$$D_a = \frac{L + W + T}{3} \quad \text{Ec. 2.2}$$

$$D_g = (L * W * T)^{1/3} \quad \text{Ec. 2.3}$$

$$S = \pi D_g^2 \quad \text{Ec. 2.4}$$

4.2.2. Extracción del aceite

La extracción de aceite se llevó a cabo con hexano en un equipo Soxhlet. Las semillas sin testa (20 g) previamente molidas se colocaron en un cartucho de papel filtro dentro de un aparato Soxhlet, y se sometieron a reflujo durante 18 h, al finalizar el disolvente fue removido al vacío (40°C) en un rotavapor (Büchi Rotavapor, Büchi Labortechnik AG, Frágil, Switzerland). El porcentaje de recuperación fue calculado de acuerdo a la Ecuación 2.5

$$\text{Contenido de aceite (\%)} = \frac{(100 - W) * Z}{Y} \quad \text{Ec.2.5}$$

Donde:

W= contenido de humedad (%).

Z= peso del aceite extraído (g).

Y= peso de la muestra de pulpa (g).

4.2.3. Propiedades químicas del aceite.

Los índices de calidad del aceite fueron analizados por triplicado de acuerdo a los métodos de análisis de la Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés).

a. Índice de Yodo (IY)

El aceite de *Jatropha* (1 g) se transfirió a un matraz Erlenmeyer, protegido de la luz, y se adicionaron, con agitación constante, 5 mL de cloruro de metileno y 5 mL de reactivo de Wijs con agitación constante. La mezcla se colocó en la oscuridad durante 30 minutos, transcurrido dicho tiempo, se adicionó yoduro de potasio al 10 % (5 mL) y agua destilada (30 mL), posteriormente se procedió a titular con solución valorada de tiosulfato de sodio 0.1 N, hasta observar una coloración amarillo paja, y después se adicionó solución indicadora de almidón (1 mL) y se continuó la titulación hasta el vire de coloración de azul a transparente. A la par un blanco de reactivos fue titulado de la misma forma que la muestra (ISO3961:2013). El índice de yodo (IY), fue calculados de acuerdo con la Ecuación 2.6.

$$IY = \frac{(V1 - V2) * N * 12.69}{g} \quad \text{Ec.2.6}$$

Dónde:

V1= mL gastados en la titulación del blanco,

V2= mL gastados en la titulación de la muestra,

N= normalidad de la disolución de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$),

g= masa de la muestra en gramos.

Los resultados fueron expresados como gramos de yodo absorbido por cada 100 gramos de muestra.

b. Índice de Saponificación (IS)

El índice de saponificación se determinó de acuerdo a la norma ISO 3657:2013, el aceite de *Jatropha* (1g) se transfirió a un matraz de fondo redondo provisto de junta esmerilada y se adicionaron 10 mL de hidróxido de potasio (KOH) 0.5 N. Se adaptó un refrigerante

y el matraz fue colocado en baño de vapor durante 30 minutos con agitación constante, al término de la reacción de hidrólisis, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregó fenolftaleína (2 gotas) y se tituló el exceso de KOH con ácido clorhídrico 0.5N. Se llevó a cabo un blanco de reactivos con las mismas cantidades empleadas que en la muestra. El índice de saponificación fue obtenido a partir de la Ecuación 2.7.

$$IS = \frac{(B-V) \cdot N \cdot 56.1}{m} \quad \text{Ec.2.7}$$

Dónde:

V= mL de HCl gastados en la valoración de la muestra.

B= mL de HCl gastados en la valoración del blanco.

N= normalidad del HCl.

m= muestra en gramos.

56.1= peso molecular del hidróxido de potasio (KOH) (g mol^{-1}).

Los resultados fueron expresados como miligramos de hidróxido de potasio requeridos para saponificar un gramo de muestra.

c. Índice de acidez (IA)

El índice de acidez se determinó de acuerdo a la norma ISO 660:2009, el aceite de *Jatropha* (0.5 g) se transfirió a un matraz Erlenmeyer y se mezcló con 5 mL de éter/etanol 1:1 (v/v) y fenolftaleína (2 gotas). El matraz fue colocado en una parrilla con agitación constante y la emulsión fue titulada con hidróxido de potasio KOH 0.1 N hasta que una coloración rosa pálido permanecía por al menos un minuto. El porcentaje de ácidos grasos libres se calcularon tomando como referencia al ácido oleico, de acuerdo con la Ecuación 2.8.

$$\% \text{ ácidos grasos libres} = \frac{V \cdot N \cdot M}{m} \cdot 100 \quad \text{Ec. 2.8}$$

Dónde:

V= volumen en mL de hidróxido de potasio usado en la titulación

N= normalidad exacta del hidróxido de potasio.

M= masa molar en g/mol del ácido oleico.

m= g de la muestra.

Los resultados fueron expresados en porcentaje de ácido oleico por masa de muestra.

La acidez o índice de acidez es un importante indicador de la calidad de un aceite vegetal, es expresada como la cantidad de hidróxido de potasio en miligramos necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en un gramo de aceite.

d. Índices de Peróxidos (IP)

Un gramo de aceite de *Jatropha* fue transferido a un matraz Erlenmeyer, y se mezcló con ácido acético glacial-cloroformo 3:2 (v/v) (6 mL) con agitación constante hasta disolución, después se adicionó una disolución saturada de yoduro de potasio (0.1 mL). La mezcla fue tapada y se dejó reposar durante un minuto. Posteriormente, se adicionaron 6 mL de agua. Esta mezcla se tituló con disolución valorada de tiosulfato de sodio 0.01 N, durante la titulación la mezcla fue agitada vigorosamente, previo a la desaparición del color amarillo, se adicionó 0.1 mL de solución indicadora de almidón y se continuó con la titulación hasta la desaparición del color azul en la mezcla. A la par un blanco de reactivos fue titulado de la misma forma que la muestra. El índice de peróxidos fue obtenido de acuerdo con la Ecuación 2.9.

$$IP = \frac{(A - A1) * N * 1000}{g} \quad \text{Ec.2.9}$$

Dónde:

A = mL de disolución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra,

A1= mL de disolución de tiosulfato de sodio gastado en la titulación del blanco de reactivos,

N= normalidad de la disolución de tiosulfato de sodio,

g= muestra en gramos.

Los resultados fueron expresados como miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite (mEq kg^{-1}).

4.2.3.1. Perfil de ácidos grasos

El aceite obtenido de la semilla de *J. elbae* fue sometido a una reacción de transesterificación de acuerdo al método descrito por (Marroquín *et al.*, 2011). Primero se preparó una disolución. En un matraz bola se mezclaron 1 g de aceite de *J. elbae* y 1 mL de una disolución de KOH en metanol a una concentración (148 mg/mL). Esta mezcla se sometió a reflujo, con agitación constante, durante una hora. La reacción fue monitoreada por cromatografía en capa delgada, comparando el aceite y el producto de reacción, se utilizó como fase móvil una mezcla de hexano/acetato de etilo y ácido acético en proporciones 9:1:0.1 (v/v/v) y la placa se reveló con yodo (Figura 10A). La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y se dejó reposar durante 24 h. Posteriormente la fase inferior (glicerina) fue descartada y los ésteres metílicos de ácidos grasos, fase superior (ver Figura 10B), fueron tratados subsecuentemente con ácido cítrico al 0.1 % (2 mL) y agua caliente (2 mL). Finalmente, los ésteres metílicos fueron secados con sulfato de sodio anhidrido y se analizaron por resonancia magnética nuclear de hidrógeno.

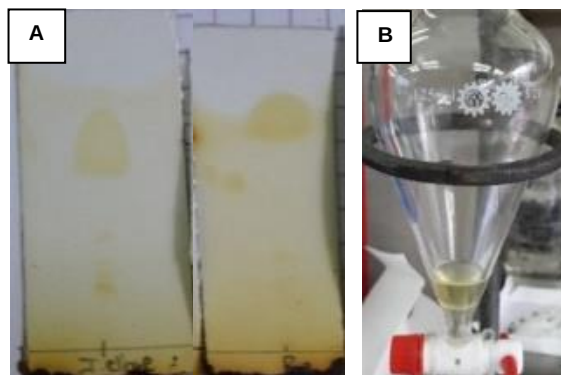


Figura 10 A. Cromatografía en capa delgada. B. Mezcla de reacción del proceso de transesterificación del aceite de *J. elbae*

Los FAME se analizaron por cromatografía de gases en un equipo marca Agilent 6890 con un detector de ionización de flama (FID), utilizando una columna AT-FAME (30 m x

0.25 mm d.i. x 0.25 μm de espesor de película). La temperatura inicial del horno fue de 180 °C y se establecieron rampas de 10 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura final de 230 °C. Tanto en el inyector como en el detector, la temperatura fue de 250 °C. Se utilizó hidrógeno como gas acarreador, a una velocidad de flujo de 1.8 mLmin⁻¹. Como estándar se utilizaron FAME's, cuyos tiempos de retención fueron utilizados para cuantificar los ésteres metílicos en la muestra.

4.2.3.2. Viscosidad y Densidad.

La viscosidad dinámica y cinemática fueron determinadas para el aceite de *J. elbae* en un viscosímetro (Anton Paar modelo SVM 3000, tipo Stabinger, viscosímetro dual y medidor de densidad) de acuerdo a la norma ASTM D7042. El aceite (2mL) introducido a la celda del viscosímetro y se midieron las viscosidades a: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, y 90°C. La viscosidad cinemática se calculó, dividiendo la viscosidad dinámica entre la densidad; la densidad es medida simultáneamente por el viscosímetro. Las unidades fueron expresadas en mPas, mm²s⁻¹, gcm³, para la viscosidad dinámica, viscosidad cinemática y densidad, respectivamente.

4.2.3.3. Calor de combustión.

El calor de combustión se determinó de acuerdo con el método (ASTMD240), utilizando un Calorimeter Parr 6400; el aceite y los FAME de *Jatropha* (0.5 g) fueron colocados directamente en la capsula de acero inoxidable y el equipo fue programado para determinar el calor de combustión. Los valores fueron expresados en MJKg⁻¹.

4.3. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA usando MINITAB17 Statistical Software Inc. Las diferencias entre las medias se utilizó una prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los valores fueron expresados como las medias $\pm$ desviación estándar (SD).

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1. Caracterización física de la semilla

De las 400 semilla colectadas de la especie *Jatropha elbae*, el 75 % resultaron viables. Las propiedades físicas de las semillas de *J. elbae* fueron comparadas con las de *J. curcas* y los resultados se muestran en el Cuadro 9. Por otro lado, se muestran los resultados de las semillas libres de testa en el Cuadro 10. Las semillas de mayor tamaño y peso son las de *J. elbae*, exceptuando en la longitud donde *J. curcas* presento una media de 17.43 ± 0.69 mm. En lo referente a los valores de diámetro geométrico y aritmético *J. elbae* fue la que presento mayores valores significativos, de la misma forma que el valor de esfericidad ($p < 0.05$), además, dicho valor indica que las semillas de *J. elbae* son similares a esta forma, excepto *J. curcas* la cual se asemeja más a un elipsoide. El área superficial de la semilla fue más larga en *J. elbae*. Las dimensiones y peso de *J. curcas* son similares a las reportadas por Betancur-Prisco *et al.*, (2014), Martínez-Herrera *et al.*, (2010), Sirisomboon *et al.*, (2007) y Valdés-Rodríguez *et al.*, (2013), largo (17.8-21.02 mm), ancho (10.50-11.97 mm), espesor (8.58-9.58 mm) y peso (0.714-0.610 g). Además, *J. curcas* tuvo valores un poco más altos a los reportados para el diámetro promedio aritmético (12.39 mm), geométrico (11.8-13.4 mm) y para la esfericidad (0.64-0.66) (Cuadro 9).

Cuadro 9 Propiedades físicas de la semilla

Variable	<i>J. curcas</i>			<i>J. elbae</i>		
	Media		Rango min-máx.	Media		Rango min-máx.
Largo (mm)	17.43 a	± 0.69	16.13-18.90	14.56 b	± 0.57	13.25-15.62
Ancho (mm)	10.36 b	± 0.48	8.51-10.96	13.23 a	± 0.64	11.88-14.48
Espesor (mm)	9.78 b	± 0.68	7.98-10.78	11.09 a	± 0.49	10.26-11.96
Peso (g)	0.74 b	± 0.06	0.60-0.83	1.31 a	± 0.16	0.96-1.60
Da (mm)	12.52 b	± 0.34	11.63-13.05	12.96 a	± 0.50	11.87-13.83
Dg (mm)	12.08 b	± 0.45	10.77-12.64	12.87 a	± 0.50	11.79-13.76
Esfericidad (mm)	0.69 b	± 0.03	0.59-0.75	0.88 a	± 0.02	0.84-0.94
Área superficial	458.72 b	± 33.16	364.29-501.88	521.42 a	± 40.26	437-594
Valores con la misma letra dentro de filas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar.						

En lo referente a las dimensiones de la semilla libre de testa *J. curcas* presentó mayores dimensiones en largo y espesor (14.19±1.05 mm; 8.04±0.83 mm). La distribución del peso en *J. elbae* resultó significativamente mayor en el peso (0.97±0.14 mm) ($p<0.05$) a diferencia de *J. curcas*. El diámetro aritmético, geométrico y área superficial (10.36±0.45 mm; 10.04±0.47 mm y 317.15±29.64 mm respectivamente) fue significativamente superior ($p<0.05$) en *J. curcas* con respecto a *J. elbae*. La esfericidad de la especie *J. elbae* fue mayor (0.82±0.07 mm) (Cuadro 10).

Los valores de las dimensiones *J. elbae* y *J. curcas* son superiores a los obtenidos por Betancur-Prisco *et al.*, (2014) y Sirisomboon *et al.*, (2007) observando los siguientes datos: largo (14.7-15.45 mm), ancho (8.49-10.25 mm), espesor (6.6-7.42 mm), diámetro geométrico (9.37-10.55 mm) y esfericidad (0.63-0.68 mm).

Cuadro 10 Propiedades físicas de las semillas de *Jatropha* sin testa

Variable	<i>J. curcas</i>			<i>J. elbae</i>		
	Media		Rango min-máx	Media		Rango min-máx
Largo (mm)	14.19 a	± 1.05	12.48-16.93	10.60 b	± 0.46	9.46-11-48
Ancho (mm)	8.92 a	± 0.53	7.85-9.66	8.93 a	± 1.04	5.43-10.88
Espesor (mm)	8.04 a	± 0.83	6.08-9.68	7.01 b	± 1.28	3.32-9.60
Peso (g)	0.48 b	± 0.03	0.42-0.53	0.97 a	± 0.14	0.70-1.36
Da (mm)	10.39 a	± 0.45	9.54-11.15	8.85 b	± 0.84	6.28-10.43
Dg (mm)	10.04 a	± 0.47	9.07-10.73	8.69 b	± 0.93	5.68-10.39
Esfericidad (mm)	0.71 b	± 0.05	0.59-0.81	0.82 a	± 0.07	0.56-0.93
Área superficial	317.15 a	± 29.64	258.63-361.40	240.11 b	± 48.74	100.89-339.07
Valores con la misma letra dentro de filas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar.						

Las correlaciones alométricas en las semillas y en las semillas sin testa, entre el peso y las dimensiones, así como entre las mismas dimensiones, se muestran en el Cuadro 11. Las semillas de *J. elbae* mostró tres correlaciones positivas altamente significativas las cuales se refieren al peso con el largo y el ancho ($r=0.983$, $p=0.000$; $r=0.630$, $p=0.000$), y largo-ancho ($r=0.610$, $p=0.000$), seguido de una relación moderada en el peso-espesor ($r=0.541$, $p=0.002$) y en el largo-espesor ($r=0.519$, $p=0.003$). Con respecto a *J. curcas* solo tuvo una correlación moderada entre el peso-largo ($r=0.460$, $p=0.011$).

Para el caso de las semillas sin cubierta seminal, *J. elbae* resultó con dos correlaciones positivas altamente significativas entre el peso-largo ($r=0.585$, $p=0.001$) y largo-ancho ($r=0.702$, $p=0.000$), seguida de dos relaciones moderadas entre el peso-ancho ($r=0.470$, $p=0.010$) y largo-espesor ($r=0.597$, $p=0.000$). En *J. curcas* la relación significativa alta la presentó el peso y largo ($r=0.756$, $p=0.000$). En las semillas de ambas especies las correlaciones que coinciden con las reportadas por Valdés-Rodríguez *et al.*, (2013) son entre peso contra longitud y ancho ($p<0.01$).

Cuadro 11 Coeficiente de correlación (r) alométrico en *Jatropha*

Especie	<i>J. curcas</i>		<i>J. elbae</i>	
	Variables	Semilla sin cubierta seminal	Semilla	Semilla sin cubierta seminal
Peso largo	0.460	0.756	0.983	0.585
Peso ancho	0.040	-0.036	0.630	0.469
Peso espesor	-0.039	-0.215	0.541	0.359
Largo-Ancho	-0.078	0.028	0.610	0.702
Largo espesor	-0.208	-0.317	0.519	0.597

La fracción de la testa de ambas especies representa entre el 30 a 34 % del porcentaje total de la semilla, valor que está por debajo al reportado por Valdés-Rodríguez *et al.*, (2013) para *J. curcas* el cual es de 38 %.

4.4.2. Extracción y Propiedades fisicoquímicas del aceite

La extracción de aceite por disolvente empleando hexano permitió determinar la cantidad de aceites totales de la semilla libres de testa (ver Cuadro 12). EL contenido de aceite no mostró tener una diferencia significativa entre *J. elbae* (57.02 ± 5.42 %) y *J. curcas* (53.13 ± 4.07 %) ($p>0.05$). Ambos resultados caen dentro de los rangos reportados para *J. curcas* 25.00-64.5 % (Makkar, *et al.*, 1998; Openshaw, 2000; Kumar & Sharma, 2008; Makkar, *et al.*, 2008; Martínez-Herrera *et al.*, 2010; He *et al.*, 2011; Oskoueian, Abdullah, Ahmad, *et al.*, 2011; Raja, *et al.*, 2011; Betancur-Prisco, *et al.*, 2014). En el caso de *J. elbae*, en este estudio se obtuvo un mayor porcentaje de aceite comparado con el de Rodríguez-Acosta *et al.*, (2010).

En cuanto a la calidad de los aceites de las semillas de *J. elbae* y *J. curcas* se determinaron varios parámetros, como el índice de yodo, el cual indica el grado de insaturación de un aceite (O'Keefe & Pike, 2010). *J. curcas* obtuvo el mayor valor ($p < 0.05$) ($90.25 \pm 0.71 \text{ gl}_2100 \text{ g}^{-1}$) con respecto a *J. elbae* ($85.91 \pm 1.03 \text{ gl}_2100 \text{ g}^{-1}$) (Cuadro 12). De acuerdo a los reportes para *J. curcas* dicho valor oscila entre 89-112 $\text{gl}_2100 \text{ g}^{-1}$ (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2010; Rojas-Barohana & Aristizábal-Torres, 2011). Sin embargo, *J. elbae* resulta tener un valor más alto del reportado por Rodríguez-Acosta *et al.*, (2010) ($76.11 \pm 6 \text{ gl}_2100 \text{ g}^{-1}$). Comparado con el aceite de *Ricinus communis* L. 57-90 $\text{gl}_2100 \text{ g}^{-1}$ ambos valores se encuentran dentro del rango (Ogunniyi, 2006; Scholz & Nogueira da Silva, 2008; Canoira, García Galeán, Alcántara, Lapuerta, & García-Contreras, 2010). Por otro lado, el índice de saponificación, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los valores de *J. curcas* y *J. elbae* (Cuadro 12) por lo que se puede inferir que los triglicéridos de ambas especies tienen pesos moleculares semejantes, estos valores son superiores a los reportados para *J. curcas* (188-209 mg KOH g^{-1}) (Raja *et al.*, 2011) y *J. elbae* ($192.1 \pm 6.82 \text{ mg KOH g}^{-1}$) (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2010). Ambos valores de las especies de *Jatropha* son más altos que los reportados para *Ricinus communis* L. (83-194 mg KOH g^{-1}) (Balley, 1984; Ogunniyi, 2006; Scholz & Nogueira da Silva, 2008).

Cuadro 12 Porcentaje de aceite y Propiedades químicas de *Jatropha*

	<i>J. curcas</i>			<i>J. elbae</i>		
	Media		Rango Min-Máx	Media		Rango Min-Máx
Aceite (%)	53.12 a	± 4.1	49.64-57.60	57.02 a	± 5.42	51.61-62.44
Yodo ($\text{gl}_2100 \text{ g}^{-1}$)	90.25 a	± 0.7	89.76-91.06	85.91 b	± 1.03	85.06-87.06
Saponificación (mg KOH g^{-1})	195.6 a	± 1.0	194.52-196.30	194.8 a	± 1.43	193.13-195.71
Acidez (%)	0.35 a	± 0.1	0.29-0.41	0.22 a	± 0.16	0.08-0.35
Peróxidos ($\text{meq O}_2 \text{ Kg}^{-1}$)	1.42 a	± 0.5	0.98-1.96	2.08 a	± 0.2	1.96-2.30
Valores con la misma letra dentro de filas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar.						

El índice de acidez mide la frescura del aceite, debido a la presencia y actividad de los ácidos grasos libres que provocan la rancidez. Los valores de ambas especies no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) (Cuadro 12). Ninguno superó los valores reportados por Rodríguez-Acosta *et al.*, (2010) y Raja *et al.*, (2011) de 0.92-6.16 % para *J. curcas*, y de 0.3 ± 0.047 % para *J. elbae*. Ambos valores son menores que los descritos en *R. communis* (6 %) (Balley, 1984). El bajo porcentaje de ácidos grasos libres en ambas especies, permitió llevar a cabo la reacción de transesterificación sin necesidad de una esterificación previa. Además, esta propiedad es deseable cuando los aceites se destinan a la obtención de biodiesel.

Para las semillas de *Jatropha* existen pocos datos acerca del índice de peróxidos, Betancur-Prisco *et al.*, (2014) reporta un valor de $0.469 \text{ meq Kg}^{-1}$ para *J. curcas*, los resultados de ambas especies fueron más altos, pero inferiores a los del aceite de palma (*Phoenix canariensis* Wilpret) de 3.62 meq Kg^{-1} (Nehdi, Omri, Khalil, & Al-Resayes, 2010).

La viscosidad es la propiedad más importante del aceite. Esta indica la resistencia al flujo, y está directamente relacionada a la temperatura, presión, y la formación de láminas que impidan dejarse separar. Alta viscosidad indica alta resistencia al flujo y baja viscosidad implica baja resistencia al flujo (Mobarak *et al.*, 2014). La *viscosidad absoluta* o *viscosidad dinámica* (μ) del aceite a temperatura ambiente (20°C) fue de 67.809 y 66.795 mPas^{-1} para *J. curcas* y *J. elbae* respectivamente (Cuadro 13 y Figura 11). Kumar & Sharma, (2008) y Raja *et al.*, (2011) reportan un índice de viscosidad de 40.4 mPas^{-1} a una temperatura de 31°C , siendo muy semejante a la obtenida en este estudio de 44.937 mPas^{-1} y 44.295 mPas^{-1} para *J. curcas* y *J. elbae* respectivamente a una temperatura de 30°C (Figura 11).

La viscosidad cinemática ($\text{mm}^2/\text{s}^{-1}$) de *Jatropha* se muestra en la Figura 12., se observa que a 30°C *J. curcas* y *J. elbae* mostraron un mismo valor de $49 \text{ mm}^2/\text{s}^{-1}$ (Cuadro 13).

Cuadro 13 Viscosidad y Densidad de *Jatropha*

Propiedad	<i>J. curcas</i>		<i>J. elbae</i>	
	20°C	30°C	20°C	30°C
Densidad (g/cm ³)	0.9153	0.9094	0.9156	0.9087
Viscosidad dinámica (d/mPas.)	68	45	67	44
Viscosidad cinemática (mm ² /s ⁻¹)	74	49	73	49

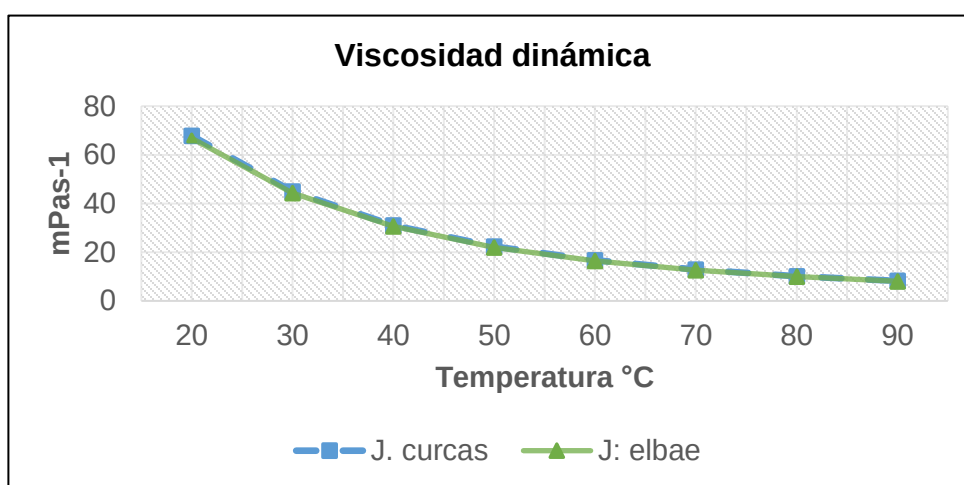


Figura 11 Viscosidad dinámica o absoluta (20-90 °C) de dos especies de *Jatropha*

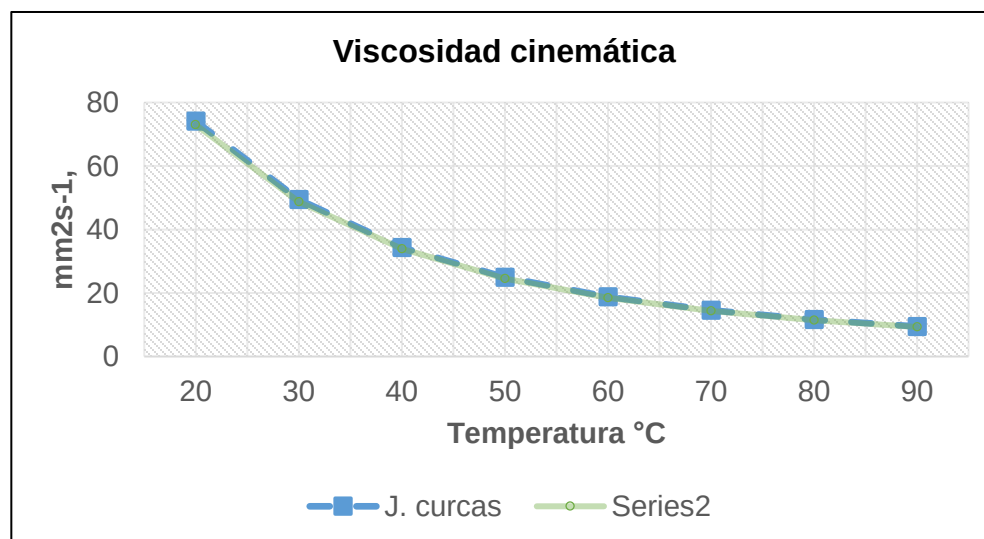


Figura 12 Viscosidad cinemática (20-90 °C) de dos especies de *Jatropha*

La densidad de los aceites es debida a la composición de los ácidos grasos (Ceriani *et al.*, 2008), además del tiempo y temperatura al cual son expuestos (Rodenbush *et al.*, 1999). La densidad del aceite a una temperatura de 20 °C fue 0.9153 gcm⁻³ y 0.9156 gcm⁻³ para *J. curcas* y *J. elbae* respectivamente (Cuadro 13). Ambas densidades coinciden con la reportada para *J. curcas* de 0.917 gcm⁻³ y el aceite de *R. communis* de 0.950-0.975 gcm⁻³ (Rodriguez-Martínez *et al.*, 2012).

En las Figura 13 y Figura 14 se muestran los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrogeno (RMN-1H) del aceite y biodiésel de *J. curcas* y *J. elbae*, respectivamente, donde logra diferenciar los triglicéridos del biodiésel. Los triglicéridos se evidencian gracias a las señales originadas por los protones base de ésteres del glicerol en δ 4.13-4.17 ppm como se observa en la figura a, espectro del aceite, la cual no se presenta en el espectro del biodiésel, indicando que el biodiésel es de buena calidad. Este patrón de los protones del triglicérido es observado en todos los aceites como como en el aceite de soja (Costa Neto, Balparda Caro, Mazzuco, & Nascimento, 2004).

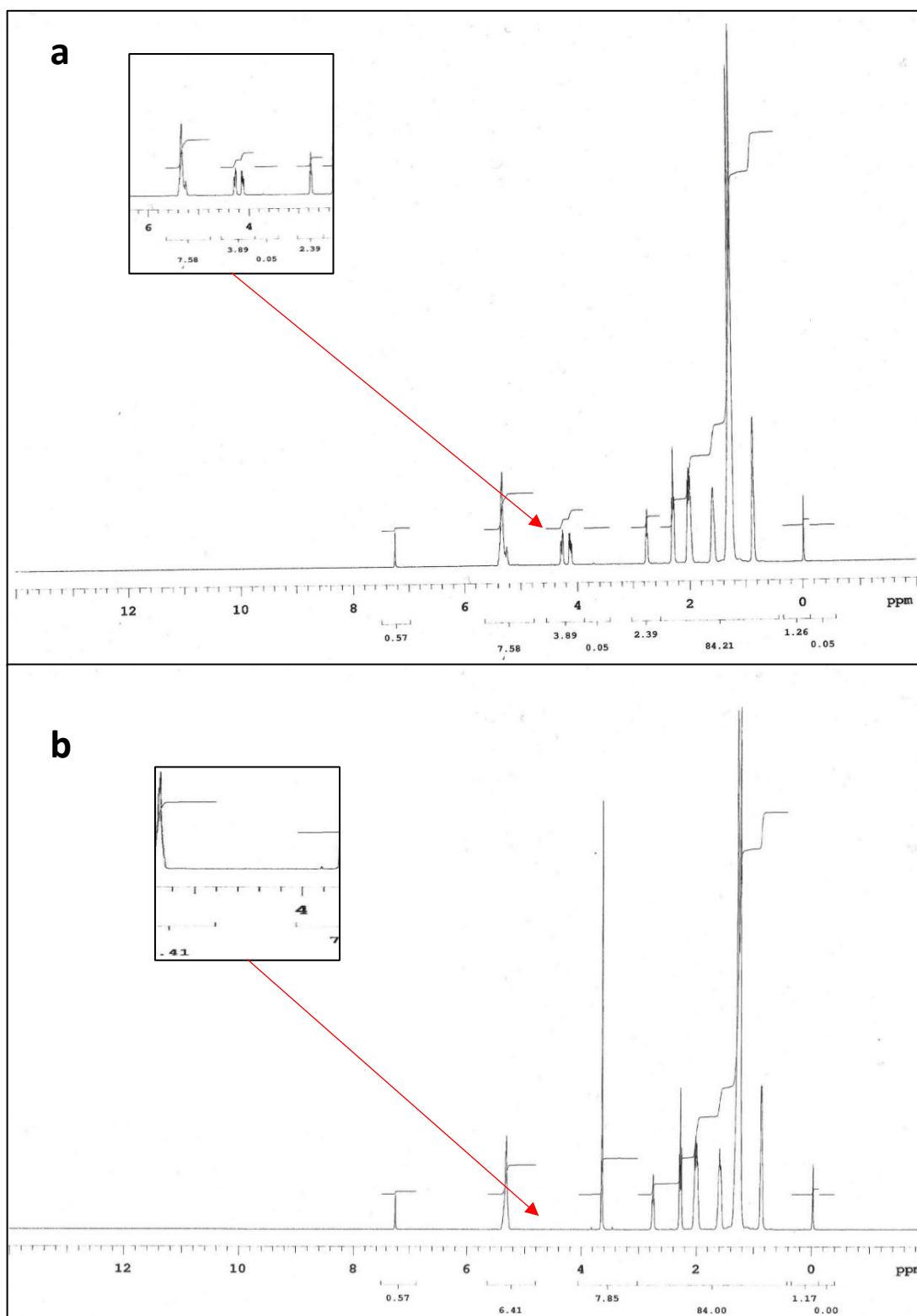


Figura 13 Espectro de resonancia magnética nuclear. *J. curcas*: **a.** Aceite; **b.** Biodiésel.

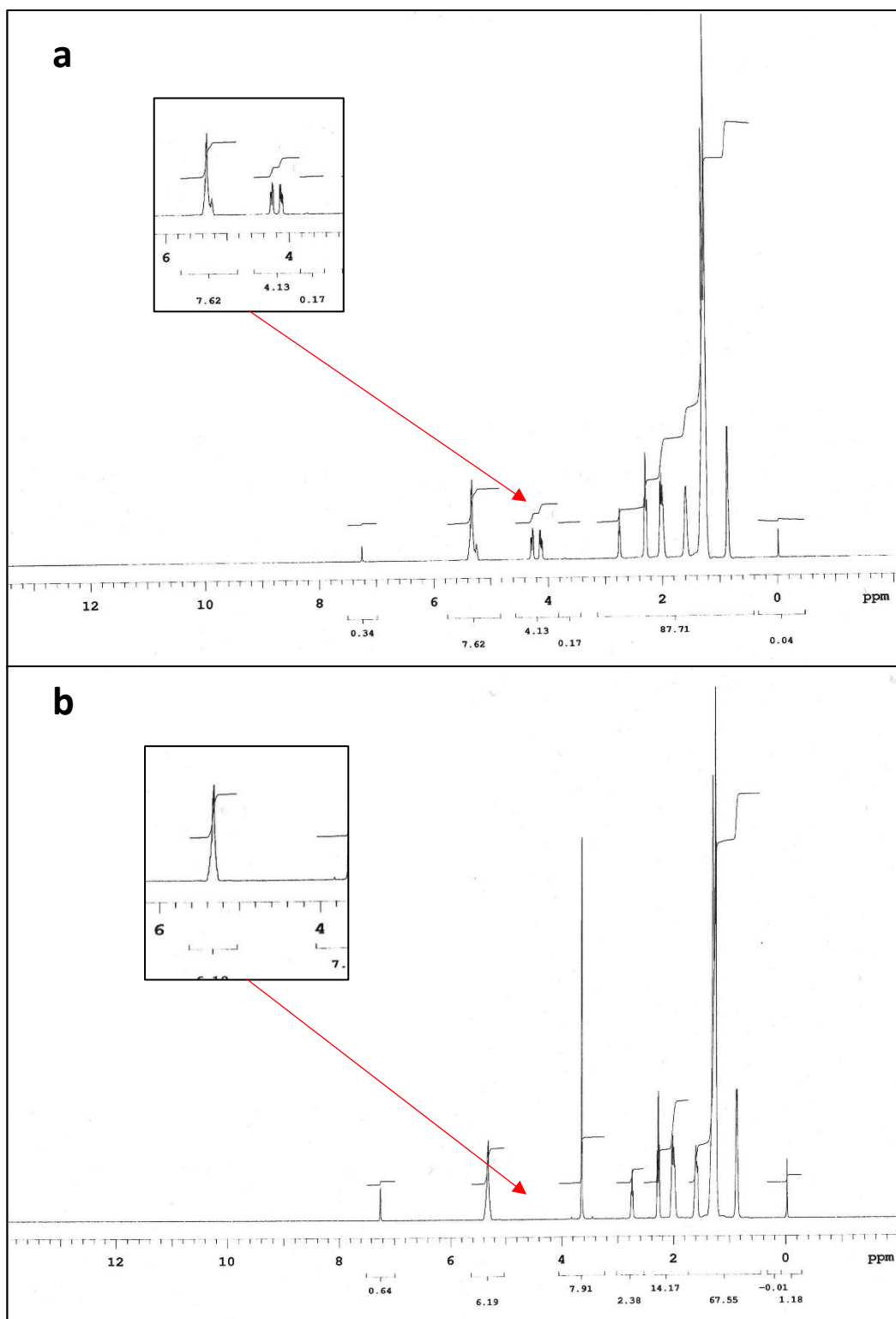


Figura 14 Espectro de resonancia magnética nuclear. *J. elbae*: **a.** Aceite; **b.** Biodiésel.

4.4.2.1. Perfil de ácidos grasos

La influencia de la composición de los ácidos grasos en la velocidad de oxidación del biodiésel es mayor a la influencia de las condiciones ambientales como la luz, aire y la presencia de metales. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos monoinsaturados (18:1) son considerados mejores que los poliinsaturados (como el linoleato de metilo (18:2 y 18:3) en términos de estabilidad oxidativa (Pinzi *et al.*, 2009). Los residuos de monoglicéridos y diglicéridos en el biodiésel afectan su calidad, debido a que suelen precipitar y ocasionar turbidez en el producto final (Cedrón, Moncada, & Mendoza, 2014).

En el Cuadro 14 se muestra el perfil de ácidos grasos de los aceites de *J. elbae* y *J. curcas*. En ambas especies los tres ácidos grasos predominante fue el linoleico, oleico y palmítico. Entre el 80 y 74 % corresponde a los ácidos grasos insaturados, mientras el 20 y el 26 % son los ácidos grasos saturados, para *J. curcas* y *J. elbae* respectivamente.

Dicho perfil de ácidos grasos coincide con lo descrito en la literatura para *J. curcas*, el mayor porcentaje es para los ácidos grasos insaturados como el oleico con 37 a 49 %, linoleico 32.1 a 44.0 %, palmitoleico 0.9 a 1.5 %; seguido de los ácidos grasos saturados, palmítico 4.2 a 15.6 % y esteárico 2.0 a 9.7 % (Kumar & Sharma, (2008); Raja *et al.*, (2011); Rodríguez-Acosta *et al.*, (2010)). Y en *J. elbae* el perfil fue: linoleico 48 %, oleico 22 %, palmítico 12 % y esteárico 7 % (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2010).

Cuadro 14 Perfil de ácidos grasos del aceite de *Jatropha* por disolvente (%)

Ácidos grasos		<i>J. curcas</i>	<i>J. elbae</i>
AGS	%	19.12	23.84
Palmítico	C16:0	11.40	16.25
Esteárico	C18:0	7.42	7.22
AGI	%	80.88	74.29
Palmitoleico	C16:1	0.63	1.50
Oleico	C18:1 ω 9	36.13	28.67
Linoleico	C18:2 ω 6	42.67	42.86
Linolenico	C18:3 ω 3	0.19	0.12
Otros		1.55	3.39

4.4.2.2. Valor calorífico (Calor de combustión)

El valor calorífico del aceite y biodiésel de *J. elbae* y *J. curcas* no fueron estadísticamente diferentes se ubica en los 39.00 MJKg⁻¹ (Cuadro 15). El calor de combustión de los aceites vegetales es superior cuando éstos poseen una mayor cantidad de ácidos grasos de cadena larga (Ratnayake & Daun, 2004) e incrementa de acuerdo a la longitud de ésta (Levine *et al.*, 2013)

Cuadro 15 Valor Calorífico del aceite y los FAME de *Jatropha*

	<i>J. curcas</i>	<i>J. elbae</i>
EM	39.55 ^a	39.68 ^a
Aceite	39.33	39.33

4.5. CONCLUSIÓN

Los resultados de la caracterización morfológica de las semillas manifestaron una diferencia significativa entre *J. curcas* y *J. elbae* obteniendo los datos más altos en *J. elbae*, estableciendo de este modo una diferencia morfológica entre estas dos especies. La mediana y alta dependencia entre el largo de la semilla con el peso total nos indica que puede ser un atributo deseable para esta especie. Dado que la productividad y calidad de las semillas se ha visto mejorada al seleccionar las variables más altas entre peso y largo, debido a que las semillas con estas variables contienen mayor reserva energética que las de menor tamaño, lo cual ayuda a la germinación porque provee mayores recursos. Además, hay que considerar que esta correlación puede ser afectada por la fertilidad del suelo, el clima y el manejo agronómico.

La testa representa en ambas especies casi el 30 % de la masa de la semilla. Indicando que la cubierta seminal debe de ser retirada previamente al proceso de extracción, lo cual disminuiría la energía requerida en el proceso de extracción de aceite.

Ambas especies del género *Jatropha* presentaron un alto contenido de aceite y el índice de yodo y de acidez indican la buena calidad, por lo que estas especies son de utilidad para la obtención de aceites destinados a usos diversos.

Para finalizar, el índice de saponificación alto le confiere propiedades que le permiten ser utilizado como base para jabón y biodiésel. En lo referente al análisis de rancidez el nivel de acidez y peróxidos fueron bajos lo que le confiere mayor estabilidad porque no contiene numerosos oxígenos y dobles enlaces.

4.6. LITERATURA CITADA

- Akbar, E., Yaakob, Z., Kamarudin, S. K., Ismail, M., & Salimon, J. (2009). Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from Malaysia and its potential as biodiesel feedstock. *European Journal of Scientific Research*, 29(3), 396–403.
- Akintayo, E. T. (2004). Characteristics and composition of *Parkia biglobbosa* and *Jatropha curcas* oils and cakes. *Bioresource Technology*, 92(3), 307–310. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00197-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00197-4)
- ASTMD240. Retrieved January 1, 2015, from <https://www.astm.org/>
- Augustus, G. D. P. S., Jayabalan, M., & Seiler, G. J. (2002). Evaluation and bioinduction of energy components in *Jatropha curcas*. *Biomass and Bioenergy*, 23, 161/164. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00044-2](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00044-2)
- Balley, A. E. (1984). *Aceites y grasas industriales*. (C. L. Mora & P. A. García, Eds.) (1a.). Barcelona, España: Reverté, S. A. p. 743.
- Betancur-Prisco, J. C., Mira-Hernández, C., & París-Londoño, L. S. (2014). Physical and mechanical properties of *Jatropha curca* seed grown up in Colombia. *Revista de La Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia Nicaragua*, 73, 187–199.
- Canoira, L., García Galeán, J., Alcántara, R., Lapuerta, M., & García-Contreras, R. (2010). Fatty acid methyl esters (FAMES) from castor oil: Production process assessment and synergistic effects in its properties. *Renewable Energy*, 35(1), 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2009.05.006>
- Cedrón, J. C., Moncada, A., & Mendoza, P. (2014). Análisis de biodiesel preparado a partir de residuos de aceite doméstico, mediante RMN. *Sociedad Química Del Peru*, 80(1), 3–8.
- Ceriani, R., Paiva, F. R., Goncalves, C. B., Batista, E. A. C., & Meirelles, A. J. A. (2008). Densities and Viscosities of vegetable oils of nutritional value. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 53(8), 1846–1853. <https://doi.org/10.1021/je800177e>
- Costa Neto, P. R., Balparda Caro, M. S., Mazzuco, L. M., & Nascimento, M. D. G. (2004). Quantification of soybean oil ethanolysis with ¹H NMR. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(12), 1111–1114. <https://doi.org/10.1007/s11746-004-1026-0>
- He, W., King, A. J., Khan, M. A., Cuevas, J. A., Ramiamanana, D., & Graham, I. A. (2011). Analysis of seed phorbol-ester and curcin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10), 1183–1190. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.006>
- ISO3961:2013. Retrieved from <https://www.iso.org/home.html>

- Kumar, A., & Sharma, S. (2008). An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products*, 28(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.01.001>
- Levine, F., Kayea III, R. V., Wexler, R., Sadvary, D. J., Melick, C., & Scala, J. La. (2013). Heats of combustion of fatty acids and fatty acid esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(2), 235–249. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2367-0>
- Makkar, H., Becker, K., & Schmook, B. (1998). Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(1), 31–36. <https://doi.org/10.1023/A:1008054010079>
- Makkar, H. P. S., Martinez-Herrera, J., & Becker, K. (2008). Variations in seed number per fruit, seed physical parameters and contents of oil, protein and phorbol ester in toxic and non-toxic genotypes of *Jatropha curcas*. *Journal of Plant Sciences*, 3(4), 260–265. <https://doi.org/10.3923/jps.2008.260.265>
- Marroquín, A. L., Cuevas, S. J. a, Guerra, R. D., Reyes, L., Reyes, C. A., & Reyes, T. B. (2011). Proximate composition , mineral nutrient and fatty acids of the seed of ilama , *Annona diversifolia* Saff. *Scientific Research and Essays*, 6(14), 3089–3093. <https://doi.org/10.5897/SRE10.1159>
- Martínez-Herrera, J., Martínez-Ayala, A., Makkar, H., Francis, G., & Becker, K. (2010). Agroclimatic conditions, chemical and nutritional characterization of different provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *European Journal of Scientific Research*, 39(3), 396–407.
- Martínez-Herrera, J., Siddhuraju, P., Francis, G., Dávila-Ortíz, G., & Becker, K. (2006). Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *Food Chemistry*, 96(1), 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.059>
- Mobarak, H. M., Mohamad, N. E., Masjuki, H. H., Kalam, M. A., Al Mahmud, K. A. H., Habibullah, M., & Ashraful, A. M. (2014). The prospects of biolubricants as alternatives in automotives applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.062>
- Mohsenin, N. N. (1986). *Physical properties of plant and animal materials. Structure, physical and mechanical properties* (2a.). New, York, USA.: Gordon Breach Science Publishers. p. 702.
- Nehdi, I., Omri, S., Khalil, M. I., & Al-Resayes, S. I. (2010). Characteristics and chemical composition of date palm (*Phoenix canariensis*) seeds and seed oil. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.016>
- O'Keefe, S., & Pike, O. (2010). Fat Characterization. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (4a., p. 602). New, York, USA.: Springer Science+Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>
- Ogunniyi, D. S. (2006). Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology*, 97(9), 1086–1091. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.028>
- Openshaw, K. (2000). A review of *Jatropha curcas*: An oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy*, 19(1), 1–15. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00019-2](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00019-2)
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Ahmad, S., Saad, W. Z., Omar, A. R., & Ho, Y. W. (2011). Bioactive compounds and biological activities of *Jatropha curcas* L. kernel meal extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 5955–5970. <https://doi.org/10.3390/ijms12095955>

- Pinzi, S., Garcia, I. L., Lopez-Gimenez, F. J., DeCastro, M. D. L., Dorado, G., & Dorado, M. P. (2009). The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: A review of social, economical and technical implications. *Energy and Fuels*, 23(5), 2325–2341. <https://doi.org/10.1021/ef801098a>
- Pradhan, R. C., Naik, S. N., Bhatnagar, N., & Vijay, V. K. (2009). Moisture-dependent physical properties of *Jatropha* fruit. *Industrial Crops and Products*, 29(2–3), 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.07.002>
- Raja, S., Smart, D. S. R., & Lee, C. L. R. (2011). Biodiesel production from *Jatropha* oil and its characterization. *Research Journal of Chemical Sciences*, 1(1), 81–87.
- Ratnayake, W. M. N., & Daun, J. K. (2004). Chemical composition of canola and rapeseed oils. In F. D. Gunstone (Ed.), *Rapessed and canola oil: Production, processing, properties and uses*. (1st ed., p. 240). USA and Canada: Balckwell Publishing, CRC Press LLC.
- Rodenbush, C. M., Hsieh, F. H., & Viswanath, D. S. (1999). Density and viscosity of vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76(12), 1415–1419. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0177-1>
- Rodríguez-Acosta, M., Sandoval-Ramírez, J., & Zeferino-Díaz, R. (2010). Extraction and characterization of oils from three Mexican *Jatropha* species. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 54(2), 88–91.
- Rodriguez-Martínez, C., Lafargue-Pérez, F., Sotolongo-Pérez, J. A., Rodríguez-Poveda, A., & Assucao-Nascimento, J. C. (2012). Determinación de las propiedades físicas y carga crítica del aceite vegetal *Jatropha curcas* L. *Ingeniería Mecánica*, 15(3), 170–175.
- Rojas-Barohana, Á., & Aristizábal-Torres, D. (2011). Efecto del contenido de humedad sobre propiedades físicas de la semilla de Vitabosa (*Mucuna deeringiana*). *Revista de La Facultad Nacional Agronómica de Medellín*, 64(1), 5961–5971.
- Scholz, V., & Nogueira da Silva, J. (2008). Prospects and risks of the use of castor oil as a fuel. *Biomass and Bioenergy*, 32(2), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2007.08.004>
- Seiwa, K. (2000). Effects of seed size and emergence time on tree seedling establishment: importance of developmental constraints. *Oecologia*, 123(2), 208–215. <https://doi.org/10.1007/s004420051007>
- Sirisomboon, P., Kitchaiya, P., Pholpho, T., & Mahuttanyavanitch, W. (2007). Physical and mechanical properties of *Jatropha curcas* L. fruits, nuts and kernels. *Biosystems Engineering*, 97(1999), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.02.011>
- Valdés-Rodríguez, O. A., Sánchez-Sánchez, O., Pérez-Vázquez, A., & Zavala del Ángel, I. (2013). Allometry of native Mexican *Jatropha curcas* L. seeds. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(5), 967–978.
- Zielińska, A., & Nowak, I. (2014). Fatty acids in vegetable oils and their importance in cosmetic industry. *Chemik*, 68(2), 103–110.

V. PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE LA SEMILLA DE *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. Y *Jatropha curcas* L. RESUMEN

Las semillas de *J. elbae* se consumen ocasionalmente en las comunidades de Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero, sin embargo, sus propiedades nutraceuticas y tóxicas no han sido estudiadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades nutricias, antioxidantes y tóxicas de las semillas de *J. elbae* comparadas con las semillas de *J. curcas*. Las semillas de las dos especies en estudio fueron sometidas a un análisis proximal de acuerdo al método Weende, además se determinaron las propiedades antioxidantes, en las semillas libres de grasa, cuantificando los fenoles totales y la evaluación de la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP. Asimismo, se cuantificaron los esteres de forbol por HPLC. De acuerdo con el análisis proximal ambas especies contienen igual cantidad de aceite, sin embargo *J. curcas* contiene 27.31 % de proteína, mientras que *J. elbae* contiene mayor cantidad de extracto libre de nitrógeno (17.13 %). El contenido fenólico de ambas especies fue estadísticamente igual, de 0.20-0.21 mg EAG $\text{g}_{\text{bs}}^{-1}$, pero menor que el descrito en la literatura para *J. curcas* colectada en Malasia. El bajo contenido fenólico coincide con su baja capacidad antioxidante y los dos métodos para evaluarla concuerdan. Finalmente, de acuerdo con los resultados *J. elbae* está libre de esteres de forbol. Por lo tanto, las semillas pueden ser un complemento alimenticio seguro para los poseedores de este recurso natural, además su valor nutraceutico se debe principalmente a los ácidos grasos insaturados y no así a los compuestos fenólicos que se encontraron en cantidades muy bajas.

Palabras clave: semilla, Weende, fenoles, antioxidante, *J. elbae*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo
Autora: Michelle Xicotencatl Lozano
Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez
Cotutora: Dra. Diana Guerra Ramírez

NUTRACEUTICAL PROPERTIES OF *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. AND *J. curcas* L.

ABSTRACT

The seeds of *J. elbae* are occasionally consumed in the communities of Jolalpan and Ixcamilpa of Guerrero, however, their nutraceutical and toxic properties have not been studied. The objective of this research was to evaluate the nutritive, antioxidant and toxic properties of the seeds of *J. elbae* compared with the seeds of *J. curcas*. The seeds of both species under study were subjected to a proximal analysis according to the Weende method. In addition, the antioxidant properties were determined in the fat free seeds, quantifying the total phenols and the evaluation of the antioxidant capacity by the DPPH and FRAP. In addition, phorbol esters were quantified by HPLC. According to the proximal analysis, both species contain equal amounts of oil (58.65-58.79 %), however *J. curcas* contains 27.31 % protein, while *J. elbae* contains more nitrogen free extract (17.13 %). The phenolic content of both species was statistically the same 0.20-0.21 mg EAG $\text{g}_{\text{bs}}^{-1}$, But lower than that described in the literature for *J. curcas* collected in Malaysia. The low phenolic content coincides with its low antioxidant capacity and the two methods to evaluate it agree. Finally, according to the results *J. elbae* is free of phorbol esters. Therefore, seeds can be a safe food supplement for the holders of this natural resource, in addition their nutraceutical value is mainly due to unsaturated fatty acids and not so to phenolic compounds that were found in very low amounts.

Key words: seed, Weende, phenols, antioxidant, *J. elbae*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo
Autora: Michelle Xicotencatl Lozano
Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez
Cotutora: Dra. Diana Guerra Ramírez.

5.1. INTRODUCCIÓN

El sistema alimentario mundial enfrenta hoy el importante reto de nutrir a más personas en medio de la disminución de los recursos naturales y un medio ecológico más frágil. Los sistemas agrícolas actuales tienen la necesidad de desarrollar procesos sostenibles, que van desde el fomento del empleo y la mitigación del cambio climático hasta la mejora de la nutrición y la salud (Shenggen & Brzeska, 2016). Este problema se convertirá cada vez más urgente, ya que la demanda de alimentos aumentará aproximadamente el 60 % en las próximas décadas. Por lo tanto, nuevas fuentes alimenticias para el consumo humano y/o animal son una importante tendencia de investigación (FAO, 2011).

Del género *Jatropha* es *J. curcas* la especie más investigada, debido a que es nativa de México y Centro América, ha sido introducida en muchas áreas tropicales y subtropicales incluyendo India, China, África y Norte América (Abou-arab & Abu-salem, 2010). Se dice que es un género multipropósito con significancia económica porque reportan diferentes usos desde industrial, forestal, medicinal, ornamental hasta alimenticio (Córdova Téllez *et al.*, 2015). En el contexto nutricional de las semillas, el análisis por el Método de Weende del contenido de proteína cruda abarca un rango de 19 a 32.40 %, humedad de 4.08 a 10.18 %, carbohidratos de 8.36 a 14.96 %, fibra de 2.48 a 53.210 %, ceniza 1.20 a 5.42 % y aceite de 26.52 a 59.63 % (Cano-Asseleih, 1992; Makkar, Becker, Sporer, & Wink, 1997; Makkar, Becker, & Schmook, 1998; Akintayo, 2004; Abou-arab & Abu-salem, 2010; Martinez-Herrera, Martinez-Ayala, Makkar, Francis, & Becker, 2010;). El contenido de aminoácidos comparado con el patrón FAO/OMS son similares, la lisina es un aminoácido limitante, pero el contenido de triptófano y azufrados son superiores al patrón (Castill, Arenas, & Jiménez, 1991; Makkar & Becker, 1999).

Los antioxidantes encontrados en los alimentos son una categoría heterogénea de moléculas. Los antioxidantes son compuestos o sistemas que pueden interactuar de forma segura con los radicales libres y terminar la reacción en cadena antes de que las moléculas vitales resulten dañadas (Oroian & Escriche, 2015). Varios estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado que el consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales, tales como frutas y verduras, son beneficiosos para la salud debido a su

capacidad para prevenir algunos problemas de salud, como enfermedades cardíacas y cáncer, cataratas, degeneración muscular y enfermedades neurológicas (Corral-Aguayo, Yahia, Carrillo-López, & González-Aguilar, 2008).

Se ha establecido que los efectos antioxidantes se deben principalmente a los compuestos fenólicos de la planta. La concentración de los compuestos antioxidantes podría alterarse dependiendo de las condiciones de cultivo, edad de las plantas, condiciones climáticas y otros factores (El Diwani, Rafie, & Hawash, 2009). Razón por la cual desde el punto de vista agronómico es importante evaluar la heredabilidad (h^2) de sus atributos antropocéntricos.

El análisis fitoquímico en diferentes partes de la planta principalmente las hojas, raíces y tallo de *J. curcas* muestran que contienen fenoles, flavonoides, saponinas y algunos compuestos alcaloides (El Diwani *et al.*, 2009; Oskoueian, Abdullah, Saad, *et al.*, 2011), pero lamentablemente pocos estudios se han realizado en la semilla.

En general las especies del género *Jatropha* son tóxicas, aunque existen genotipos no tóxicos, como es el caso de *J. curcas* en el Totonacapan, cuyas semillas se han consumido desde épocas muy remotas, siendo esto una evidencia de su domesticación (Vera-Castillo *et al.*, 2014). Se ha descrito anteriormente a las semillas como buena fuente de aceite, que puede ser utilizado como sustituto de diésel y en la fabricación de medicamentos, cosméticos y jabones. Además, las semillas y/o la pasta residual (obtenida del proceso de extracción de aceite) son ricas en proteína, pero debido a la toxicidad que presentan algunas variedades, en especial de Sudamérica, India, China y Madagascar, dificulta su uso para la alimentación (Córdova Téllez *et al.*, 2015).

Este estudio determinó las propiedades nutraceuticas, la presencia de compuestos fenólicos (vinculados a la actividad antioxidante de la semilla), así como su toxicidad, en la especie *J. elbae* con distribución endémica a México y *J. curcas*.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Material vegetal.

La colecta de frutos de *J. elbae* se hizo en el mes de septiembre del 2015, en el municipio de Jolalpan al sureste del estado de Puebla. Se contabilizaron 26 árboles, de los cuales 22 estuvieron en etapa de producción de semillas. Los frutos colectados fueron únicamente los que presentaron una coloración amarilla a café (Garay, Hidalgo, Alegría, & Mendieta, 2012; Zavala-Hernández, 2014). Las semillas de *J. curcas* fueron compradas en el municipio de Jonotla, estado de Puebla.

5.2.2. Composición Analítica de la Pasta Residual

Análisis Proximal (Sistema de Weende).

Todos los análisis se hicieron por triplicado y bajo el método de la FAO, (2015).

a. Humedad

Aproximadamente 5 g de *Jatropha* (*J. elbae* y *J. curcas*) previamente molida, se colocó en un crisol a 105 °C por 12 h. La muestra se dejó enfriar en un desecador y se pesó nuevamente. El porcentaje de humedad se calculó de acuerdo con la Ecuación 2.10.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = 100 * \frac{[(B-A) - (C-A)]}{(B-A)} \quad \text{Ec. 2.10}$$

Donde:

A = Peso de la charolilla seca y limpia (g)

B = Peso de la charolilla + muestra húmeda (g)

C = Peso de la charolilla + muestra seca (g)

b. Ceniza

En un crisol de porcelana que previamente se calcinó y se llevó a peso constante, se colocó 1 g de muestra de *Jatropha*. Éste se colocó en una mufla a 550 °C por 2 horas, posteriormente se dejó enfriar en un desecador y cuidadosamente se pesó nuevamente el crisol conteniendo la ceniza. El porcentaje de ceniza se calculó de acuerdo con la Ecuación 2.11.

$$\text{Contenido de ceniza (\%)} = 100 * \frac{A-B}{C}$$

Ec. 11

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

c. Proteína Bruta (PB)

El procedimiento se dio en dos etapas:

La primera es la desintegración de la materia orgánica.

En un matraz Kjeldahl de 800 mL se colocó la muestra de *Jatropha* (0.5 g), sulfato cúprico (CuSO_4) (5 g) y ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) (12.5 mL). Posteriormente se montó en un sistema de extracción de humos, donde se calentó la mezcla a una temperatura moderada por 30 minutos o hasta obtener un color negro a verde turquesa. La mezcla se dejó enfriar y se adicionó lentamente y de forma continua 125 mL de agua destilada antes del que el residuo digerido se solidificara. Finalmente se adicionó 50 mL de solución de hidróxido de sodio (NaOH 28.6 %) y se adicionó 20 piedras de ebullición.

Segunda etapa destilación del amoníaco.

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocó 32 mL de ácido bórico (BO_2^-) con dos gotas de Rojo de Metilo al 0.1 % y se colocó bajo el refrigerante del destilador. El matraz Kjeldahl con la mezcla se colocó rápidamente al refrigerante del destilador, tapándolo perfectamente. Del matraz Kjeldahl se destiló unas dos terceras partes del contenido en el matraz Erlenmeyer. Se retiró el matraz Erlenmeyer antes de apagar el mechero para evitar el sifoneo. Finalmente, el destilado se tituló con una solución valorada de HCL 0.1 N hasta la aparición de un color rosa tenue. El porcentaje de proteína fue obtenido a partir de las Ecuaciones 2.12-2.14

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{\text{Miliequivalente del nitrógeno} * 100}{(g) \text{ de la muestra}} =$$

Ec. 2.12

La proteína vegetal (PV) en promedio tiene 16 % de N se tiene:

$$\frac{1 \text{ g N} * 100 \text{ g PV}}{16 \text{ g de N}} = 6.25 \text{ g}$$

Ec. 2.13

6.25 g de PV tiene un gramo de N, por lo tanto:

(% de nitrógeno * 6.25 g de PV)

Ec. 2.14

d. Extracto Etéreo (EE)

En este método, las grasas de la muestra de *Jatropha* fueron extraídas con éter dietílico y evaluada como porcentaje del peso después de evaporar el disolvente. Previamente 1 g de muestra de *Jatropha* se secó a temperatura constante (100 °C) por un lapso de 4 h, de esa muestra se pesó aproximadamente 0.7 g y se depositó dentro de un dedal de celulosa el cual se colocó dentro del porta dedal y se fijó al condensador del aparato de extracción Goldsfich. Posteriormente se adicionó 35 mL de éter dietílico anhidro debajo del condensador y se dejó calentar por 6 h a una temperatura alta hasta dejar 2 mL de éter dietílico anhidro y se introdujo a la estufa a 100 °C por 30 minutos. Finalmente, se colocó en el desecador y se procedió a pesar. El porcentaje de proteína fue obtenido a partir de las Ecuaciones 2. 15.

$$\% \text{ Extracto etéreo base seca} = \frac{\text{gramos e extracto étereo}}{\text{gramos de muestra seca}} * 100$$

Ec. 2.15

e. Fibra Cruda (FB)

Al extracto del residuo proveniente de la determinación de E.E. de *Jatropha* (0.5 g) se adicionó 100 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0.255 N caliente (80 °C). Inmediatamente se conectó el vaso al digestor de fibra cruda con las parrillas previamente calentadas, donde se dejó por 30 minutos moviéndolo ocasionalmente. Posteriormente se retiró el vaso y se procedió a la filtración al vacío con un embudo Buchner lavando con 125 mL de agua hirviente, hasta obtener un pH neutro. La muestra suspendida en el filtro se transfirió a un vaso Berzelius y se agregó 100 mL de la solución hidróxido de sodio (NaOH) 0.313 N caliente. Nuevamente la muestra se colocó a reflujo por 30 minutos, se filtró al vacío y se lavó hasta que el agua de lavado alcanzó un pH neutro. La muestra fue recolectada en un crisol y se colocó en un horno a una temperatura de 110 °C durante 12 horas Finalmente la muestra se pesó antes y después de incinerarla en la mufla (500-550 °C)

durante 2 horas o hasta cenizas blancas. El porcentaje de la fibra cruda se obtuvo Ecuación 2.16.

$$\% \text{ de Fibra Cruda (FC)} = \frac{\text{Peso de la muestra con crisol} - \text{peso del crisol}}{\text{gramos de la muestra}} * 100 \quad \text{Ec. 2.16}$$

f. Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)

El porcentaje del ELN (carbohidratos) se obtuvo de acuerdo a la Ecuación 2.17.

$$\text{Extracto Libre de Nitrógeno (\%)} = 100 - (A + B + C + D + E) \quad \text{Ec. 2.17}$$

Donde:

A = Contenido de humedad (%).

B = Contenido de proteína cruda (%)

C = Contenido de lípidos crudos (%)

D = Contenido de fibra cruda (%)

E = Contenido de ceniza (%)

5.2.3. Compuestos Fenólicos y Capacidad Antioxidante

Para la cuantificación de fenoles totales y capacidad antioxidante utilizaron las semillas libres de grasa. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

a. Preparación de extractos

Los extractos se obtuvieron de acuerdo con la metodología de Wang, Bostic, & Gu, (2010) con modificaciones. La muestra (1 g) fue suspendida en 10 mL de metanol/agua 4:1 (v/v), el pH se ajustó a 3.0 con ácido clorhídrico HCl al 10 %, después se agitó en vortex (5 min, a 3000 rpm, Vortéx synergy, WVR International) y se sometió a sonicación por 15 min (Ultrasonic Cleaner 8890, Cole Parmer). Posteriormente se agitó (30 min a 30 °C) en una incubadora (Orbital Prendo INO-650 M) y finalmente la mezcla fue centrifugada (1277 g, 15 min) (SOLBAT J-600, México). Los sobrenadantes fueron

recuperados y aforados a 15 mL con el disolvente empleado para la extracción, conservándose en frascos ámbar y refrigerados (-21 °C) para el análisis posterior de fenoles totales y capacidad antioxidante.

b. Determinación de Fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue determinado en microplacas mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu de acuerdo con la metodología de Singleton & Rossi, (1965). Microplacas de 96 pozos fueron utilizadas para llevar a cabo la reacción, en cada pozo se colocaron: una alícuota de la muestra a analizar, con la dilución adecuada o de curva estándar (25 μL), agua destilada (125 μL), el reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 con agua destilada (20 μL) y finalmente se agregó Na_2CO_3 al 20 % (30 μL). La mezcla fue agitada y se dejó reposar durante 30 min en ausencia de luz, la absorbancia frente al blanco fue medida a 765 nm en un lector de microplacas multidetector con inyectores Synergy® HT equipado con el software Gen5 de análisis de datos (Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT, USA). La ecuación obtenida de la curva fue utilizada para determinar la concentración de fenoles totales en la muestra. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra en base seca (mg EAG $\text{g}_{\text{bs}}^{-1}$) la curva de calibración del ácido gálico se preparó en un rango de concentración de 0.001 a 0.01 mg mL^{-1} .

c. Ensayo DPPH

La capacidad de atrapamiento de radicales libres en extractos de *Jatropha* se midió utilizando el ensayo DPPH descrito por Cheng, Moore, & Yu (2006) adaptado a microplacas. En los pozos de la microplaca fueron mezclados 200 μL de los extractos a una concentración de 0.66 mg mL^{-1} y 50 μL de disolución de DPPH (0.099 mM). Como blanco se empleó metanol al 80 % (250 μL) y como control una mezcla de metanol al 80 % (200 μL) y DPPH 0.099 mM (50 μL). La curva estándar de Trolox tuvo una concentración entre 9.98 a 44.94 μM . La microplaca fue agitada y conservada en oscuridad durante 30 min y la absorbancia se midió a 515 nm en el lector de microplacas. El porcentaje de DPPH degradado fue determinado de acuerdo a la Ecuación 2.20 y fue

expresada como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$) El intervalo de la curva de calibración de Trolox fue de 9.98 a 44.94 μM .

$$\% \text{ DPPH degradado} = \left(1 - \frac{A_m - A_b}{A_c - A_b}\right) \times 100 \quad \text{Ec. 2.20}$$

Donde A_m = absorbancia de la muestra, A_b =absorbancia del blanco, A_c =absorbancia del control representa antioxidante de referencia o de la muestra, blanco y el control. El porcentaje de reducción del DPPH fue graficado contra las concentraciones de las muestras y la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) fue calculada de la ecuación de regresión obtenida.

d. Ensayo FRAP

Descrito por Benzie & Strain, (1996) adaptado a microplacas fue utilizado para medir el poder reductor de los extractos de *Jatropha*. Se prepararon las siguientes disoluciones: buffer pH 3.6 (4.624 g de $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot \text{HCl}$ 40 mM y disolución $\text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 18.2 mL $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), TPTZ (2, 4, 6 Tripiridil-s-triazina) 10 mM en $3\text{H}_2\text{O}$ 20 mM. La disolución FRAP fue preparada al momento de su uso mezclando en proporción 10:1:1 la solución buffer, solución TPTZ y $\text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 20 μL de extracto o de la curva de Trolox, 180 μL de la disolución FRAP y 60 μL de agua destilada, como blanco fueron inyectados 200 μL de la disolución FRAP y 60 μL de agua destilada.

Después de 30 s se midió la absorbancia a 734 nm en el lector de microplacas. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$). La ecuación obtenida de la curva de calibración de Trolox fue utilizada para determinar la capacidad antioxidante de las muestras. El intervalo de la curva de calibración de Trolox fue de 3.84 a 46.10 μM .

5.2.4. Cuantificación de Ésteres de Forbol

Los esteres de forbol se cuantificaron de acuerdo al método descrito por He *et al.* (2011) con algunas modificaciones, las semillas sin testa (aproximadamente 100 mg), fueron

trituras en un mortero con pistilo. La muestra fue transferida a un tubo falcon y se adicionaron 4 mL de hexano:isopropanol 3:2 (v/v). Después se agitó en una plataforma rotatoria 1 h, a 200 rpm, a 25 °C) (Orbital Prendo INO-650 M). Posteriormente, la mezcla se centrifugó (a 1000g por 10 minutos). El sobrenadante fue recuperado y se extrajo con 3 mL de hexano/isopropanol (x2) y después con 3 mL de isopropanol. Los tres extractos se juntaron y fueron secados con sulfato de sodio anhidrido (0.5 g) y se filtró. El disolvente se evaporó a sequedad con helio (He). El residuo resultante se mezcló con 2 mL de hexano y 2 mL de acetonitrilo grado HPLC, se agito en vortex (3 min a 3000 rpm) y se centrifugó a 1000 g por 10 minutos para remover el hexano. Después se hicieron dos lavados con 2 mL de hexano y se repitieron las mismas operaciones de centrifugación y evaporación. Finalmente se eliminó completamente el disolvente con una corriente de helio, el extracto se refrigeró hasta llevar a cabo su análisis. El análisis de los ésteres de forbol se llevó en un HPLC-MS (Agilent 1200 Series acoplado con Detector UV-Vis arreglo de diodos Water 2996 y un Espectrómetro de Masas Bruker Esquire 6000) con una columna Luna C18(2) (100A 100 x 2.00 mm 3 um), se inyectaron 20 uL del extracto previamente disueltos en etanol (1 mL). Los disolventes de elución fueron (A) agua 0.1 % con ácido fórmico y (B) acetonitrilo 0.1 % con ácido fórmico. La condición del flujo fue 5 % disolvente B de 0-5 min, con un gradiente lineal de 80 % de 5-40 min, después al 100 % del disolvente B del 40-50 min y finalizando con el 100 % del disolvente B de 50-60 min. Se usó un detector UV 240 - 280 nm, como referencia interna se utilizó el estándar phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) (Sigma-Aldrich). Los tiempos de retención se registraron entre 25 a 53 min de acuerdo con Makkar *et al.*, 1997; Cai-Li *et al.*, 2010 y Devappa, Makkar, & Becker, 2013 . Las señales del cromatograma fueron sometidas a masas para determinar los pesos moleculares de los esteres de forbol (Devappa *et al.*, 2013).

5.3. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA usando MINITAB17 Statistical Software Inc. Las diferencias entre las medias se utilizó una prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los valores fueron expresados como las medias $\pm$ desviación estándar (SD).

5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1. Material vegetal

Las semillas de *J. elbae* fueron colectadas en el mes de septiembre de 2015 en el municipio de Jolalpan, estado de Puebla. El ejemplar para la confirmación taxonómica fue depositado en el Herbario JES del área de Biología del departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo con número de registro 33531. Por otro lado, las semillas de *J. curcas* fueron compradas en el municipio de Jonotla, estado de Puebla.

5.4.2. Composición analítica de la semilla y cubierta seminal

Análisis Proximal (Sistema de Weende)

El análisis proximal de las semillas de *Jatropha* mostró que el extracto etéreo, luego de la proteína, y la fibra fueron los componentes mayoritarios y en la cubierta seminal la fibra, la humedad y la proteína. Los resultados fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) en las dos especies para la semilla sin cubierta seminal proteína, nitrógeno, fibra y cenizas; en la cubierta seminal fue: nitrógeno, proteína, extracto etéreo y fibra (Cuadro 16).

Los resultados de las semillas sin cubierta coinciden con los descritos para *J. curcas*: humedad de 4.08-10.18 %, ceniza de 1.2-5.42 %, proteína de 18.00-32.40 % y fibra de 2.48-53.10 % y extracto etéreo 26.53-59.63 % (Cano-Asseleih, 1992; H. Makkar *et al.*, 1997, 1998; Akintayo, 2004; Abou-arab & Abu-salem, 2010; Martinez-Herrera *et al.*, 2010).

Cuadro 16 Análisis proximal de semillas de *Jatropha*

	Semilla (Sin cubierta seminal)				Cubierta seminal			
	<i>J. curcas</i>		<i>J. elbae</i>		<i>J. curcas</i>		<i>J. elbae</i>	
Humedad	3.10 a	± 0.07	3.18 a	± 0.04	7.16 a	± 0.02	4.17 b	± 0.01
Cenizas	3.08 b	± 0.02	3.29 a	± 0.02	3.25 b	± 1.30	12.13 a	± 0.38
Nitrógeno	4.42 a	± 0.07	2.66 b	± 0.10	0.79 a	± 0.03	0.59 b	± 0.05
Proteína	27.31 a	± 0.76	16.41 b	± 0.35	4.90 a	± 0.10	3.53 b	± 0.25
EE	58.79 a	± 0.01	58.65 a	± 0.97	2.33 b	± 0.05	3.71 a	± 0.78
Fibra	5.82 b	± 0.00	4.99 a	± 0.07	74.91 a	± 1.36	47.01 b	± 0.67
ELN	5.91 b	± 0.77	17.13 b	± 1.21	14.23 b	± 2.12	32.93 a	± 0.46

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar. E.E= Extracto Etéreo; ELN=Extracto libre de Nitrógeno.

5.4.3. Capacidad antioxidante de la pasta residual

El Cuadro 17 muestra los resultados de los fenoles totales y el análisis de la capacidad antioxidante por dos métodos para cada especie de *Jatropha*. El contenido de fenoles totales es igual. Los dos métodos de capacidad antioxidante en este estudio tienen la misma tendencia lo cual da confiabilidad a los resultados. Estos valores fueron bajos en comparación con el encontrado (3.9 ± 0.23 mg/g DM) para *J. curcas* en accesiones de Malasia (Oskoueian *et al.*, 2011) .

Cuadro 17 Fenoles totales y Análisis de actividad antioxidante en *Jatropha*.

Especie	Fenoles totales	DPPH	FRAP
	(mg EAG g_{bs}⁻¹)	(μmol ET g_{bs}⁻¹)	(μmol ET g_{bs}⁻¹)
<i>J. curcas</i>	0.21 a ± 0.03	0.0035 a ± 0.0044	0.0027 a ± 0.0005
<i>J. elbae</i>	0.20 a ± 0.02	0.0027 a ± 0.00004	0.0027 a ± 0.0001

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar.

5.4.4. Cuantificación de esteres de forból

La cuantificación de esteres de forból se llevó acabo en *J. elbae*, debido a que no se tienen datos registrados para esta especie. Los pesos moleculares de los picos del

cromatograma no corresponden con los pesos moleculares encontrados en la literatura para los esteres de forbol, por lo tanto, se concluye que dichos compuestos no están presentes en esta especie (Figura 15).

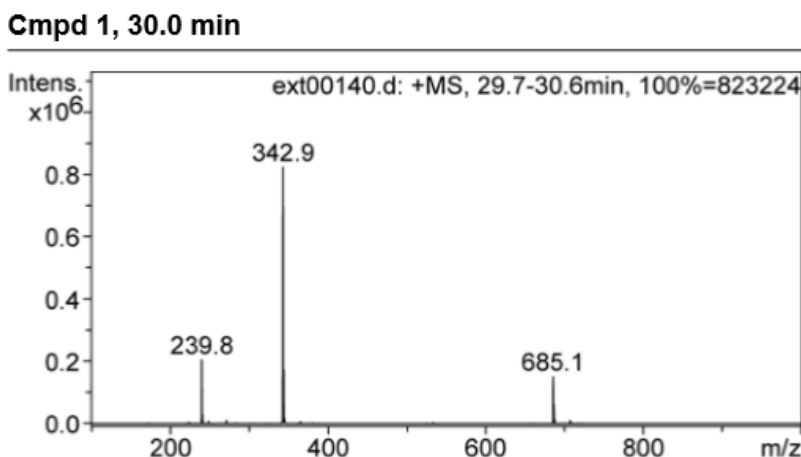


Figura 15 Espectro de masa de *J. elbae* para determinar presencia de ésteres de forból.

5.5. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los datos del análisis proximal de las semillas de *J. curcas* y *J. elbae*, se concluye que tienen propiedades nutricias diferentes. *J. elbae* contiene 17.13 % de carbohidratos y *J. curcas* tiene un mayor contenido proteínico 27.31 %. Para el caso de la cubierta seminal *J. curcas* presentó un alto contenido de fibra 74.91 % y *J. elbae* 47.01 %, seguida de extracto libre de nitrógeno 32.93 %, lo que indica que son una buena fuente de carbohidratos, proteína y fibra para la alimentación humana y/o animal.

No hubo diferencia de las propiedades nutraceuticas de la pasta residual entre las especies. Presentan menor capacidad antioxidante que la descrita para *J. curcas* del Malasia.

En lo referente a la toxicidad de *J. elbae*, no hubo presencia de esteres de forból (PEs), lo que explica la inocuidad de esas semillas consumidas en las dos comunidades en

estudio (Jolalpan e Ixcamilpa de Guerrero, Pue., Mex.), donde en promedio se consumen hasta 20 semillas sin presentar ningún efecto secundario purgante.

5.6. LITERATURA CITADA

- Abou-arab, A. A., & Abu-salem, F. M. (2010). Nutritional quality of *Jatropha curcas* seeds and effect of some physical and chemical treatments on their anti-nutritional factors. *African Journal of Food Science*, 4(3), 93–103.
- Akintayo, E. T. (2004). Characteristics and composition of *Parkia biglobbosa* and *Jatropha curcas* oils and cakes. *Bioresource Technology*, 92(3), 307–310. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00197-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00197-4)
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Cai-Li, Y., Devappa, R. K., Jian-Xin, L., Jian-Min, L., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2010). Toxicity of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 620–625. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.042>
- Cano-Asseleih, L. M. (1992). El piñoncillo (*Jatropha curcas* L.) una especie oleaginosa con potencial de uso agroindustrial. *La Ciencia y El Hombre*, 10, 131–138.
- Castill, H. L., Arenas, O. M., & Jiménez, A. (1991). Composición química y aspectos nutricionales de la harina desgrasada del piñon *Jatropha curcas*. *Acta de Ciencias y Tecnología*, 73–74.
- Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7429–7436. <https://doi.org/10.1021/jf0611668>
- Córdova Téllez, L., Bautista Ramírez, E., Zamarripa Colmenero, A., Rivera Lorca, J. A., Vázquez Pérez, A., Sánchez Sánchez, O., Martínez-Herrera, J. Cuevas Sánchez, J. A. (2015). Diagnóstico y plan estrategico de *Jatropha spp.* en Mexico (1a.). DF, México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI), p 120.
- Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-López, A., & González-Aguilar, G. (2008). The correlation between some nutritional components with total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10498–10504. <https://doi.org/10.1021/jf801983r>
- Devappa, R. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2013). Shelf-life of isolated phorbol esters from *Jatropha curcas* oil. *Industrial Crops and Products*, 49, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.026>
- El Diwani, G., Rafie, S., & Hawash, S. (2009). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of nodes leaves stem and root of Egyptian *Jatropha curcas*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(11), 521–530.
- FAO. (2011). *The state of food and agriculture* (1st ed.). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), p.160.

- FAO. (2015). Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustaceos. México, p.100 Retrieved January 1, 2015, from <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- Garay, R., Hidalgo, E., Alegría, J. A., & Mendieta, O. W. (2012). Determinación de periodos fisiológicos en la maduración y calidad del aceite de piñón blanco (*Jatropha curcas* L.). *Informacion Tecnologica*, 23(4), 53–64. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000400007>
- He, W., King, A. J., Khan, M. A., Cuevas, J. A., Ramiamanana, D., & Graham, I. A. (2011). Analysis of seed phorbol-ester and curcumin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10), 1183–1190. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.006>
- Makkar, H., Becker, K., & Schmook, B. (1998). Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(1), 31–36. <https://doi.org/10.1023/A:1008054010079>
- Makkar, H., Becker, K., Sporer, F., & Wink, M. (1997). Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3152–3157. <https://doi.org/10.1021/Jf970036j>
- Makkar, H. P. ., & Becker, K. (1999). Nutritional studies on rats and fish (carp *Cyprinus carpio*) fed diets containing unheated and heated *Jatropha curcas* meal of a non-toxic provenance. *Plant Foods for Human Nutrition*, 53, 183–192.
- Martinez-Herrera, J., Martinez-Ayala, A., Makkar, H., Francis, G., & Becker, K. (2010). Agroclimatic condition, chemical and nutritional characterization of different provenance of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *European Journal of Scientific Research*, 3, 396–407.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Ahmad, S., Saad, W. Z., Omar, A. R., & Ho, Y. W. (2011). Bioactive compounds and biological activities of *Jatropha curcas* L. kernel meal extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 5955–5970. <https://doi.org/10.3390/ijms12095955>
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Saad, W. Z., Omar, A. R., Kuan, W. Bin, Zolkifli, N. A., Hedra, R. & Ho, Y. W. (2010). Antioxidant , anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn . *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(1), 49–57.
- Shenggen, F., & Brzeska, J. (2016). Sustainable food security and nutrition: Demystifying conventional beliefs. *Global Food Security*, 11, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.03.005>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Sosa de Pró, E. (1979). *Manual de Procedimientos analíticos alimentos de consumo animal* (1a.). Chapingo, Texoco, México: Universidad Autónoma de Chapingo. p. 72.
- Vera-Castillo, Y. B., Cuevas, J. A. A., Valenzuela-Zapata, A. G., Urbano, B., & González-Andrés, F. (2014). Biodiversity and indigenous management of the endangered non-toxic germplasm of *Jatropha curcas* L. in the Totonacapan (Mexico), and the implications for its

- conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61(7), 1–16.
<https://doi.org/10.1007/s10722-014-0109-2>
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Zavala-Hernández, J. T. (2014). Indicadores de madurez fisiológica, calidad fisiológica y perfil químico en semilla de *Jatropha curcas* L. Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados.

VI. DIVERSIDAD GENÉTICA DE DOS POBLACIONES DE *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram. RESUMEN

México ocupa un lugar dentro de los cinco países megadiversos a nivel mundial, gracias a que tiene aproximadamente el 12 % de la riqueza biológica global, la cual se expresa en un complejo mosaico de distribución de especies, en el que se observan geográficamente lugares con riqueza de especies y endemismos. *Jatropha* es un género que se describe con el 81 % de sus especies endémicas de México, dentro del cual únicamente la especie *J. curcas* ha sido muy estudiada, por su distribución cosmopolita. Trabajos de diversidad genética muestran que los genotipos provenientes de México son los más diversos. En el presente estudio, la utilización de 13 iniciadores ISSR permitió realizar el análisis de la diversidad genética de dos poblaciones de *J. elbae*, especie endémica de México, utilizando paquetes estadísticos Info-Gen® y POPGEN 1.32. Se obtuvo un total de 162 bandas, de las cuales fueron polimórficas 161 (99 % de polimorfismo), con 8 a 16 bandas por iniciador, con un promedio de 12 bandas. El AMOVA indica que la mayor diversidad genética se presenta dentro de las poblaciones (84.51 %) más que entre poblaciones (15.49 %). El análisis de agrupamiento con el método de varianza mínima de Ward y la distancia de Dice [$\sqrt{1-S}$] permitió la construcción de un dendrograma que separó claramente a los individuos muestreados por población. El índice de diversidad de Shannon osciló entre 0.3387 a 0.3400 lo cual sugiere que las dos poblaciones de *J. elbae* estudiadas contienen una diversidad genéticamente moderada, por lo que podrían ser sujetas a programas de conservación, que permita mantener su heterogeneidad como fuente de información genética con potencial de utilización en programas futuros de mejoramiento de esta especie.

Palabras clave: conservación, genética de poblaciones, endémica, dice, *J. elbae*.

Tesis de Maestría en Biotecnología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Autora: Michelle Xicotencatl Lozano.

Director de tesis: Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez.

**GENETIC DIVERSITY OF TWO *Jatropha elbae* J. Jiménez Ram.
POPULATIONS FROM MEXICO**

ABSTRACT

Mexico has a place within the five megadiverse worldwide, due to the fact possess it has approximately 12 % of the global biological resources with a complex mosaic of species distribution, *Jatropha* is a genus that is described with 81 % of its species endemic to Mexico, from which only *J. curcas* has been extensively studied because its cosmopolitan distribution. In this study, the use of 13 ISSR primers allowed estimations of genetic diversity in two populations of *J. elbae* endemic to Mexico. A total of 162 bands was obtained, from which 161 were polymorphic (99 % of polymorphism), with 8 to 16 bands per primer, with an average of 12 bands per primer. The highest values of polymorphic information content (PIC) ranged from 0.14 to 0.28. AMOVA showed that the highest genetic variability occurred within populations (84.51 %), rather than between populations (15.49 %). Clustering analysis using Ward's minimum variance and Dice's genetic distance [$\sqrt{1-S}$], allowed the construction of a dendrogram that clearly separated studied individuals into two groups, according to population of origin. The Shannon diversity index ranged from 0.3387 to 0.3400, indicating that the two evaluated populations of *J. elbae* contain moderate; therefore, they should be maintained to preserve their genetic differences that could be useful in future breeding programs in this specie, which may be subject to conservation programs, due to the ease of losing heterogeneity, due to the environmental crisis in Mexico and the world.

Keywords: conservation, genetic population, endemic, dice, *J. elbae*.

6.1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la diversidad de muchas especies atraviesa por una crisis, ya que varias de ellas se encuentran amenazadas o en peligro y en el peor de los casos, ya se han extinguido (Rocha & Gasca, 2007) a pesar de que varias de ellas son especies endémicas de ciertos países. Algunas requieren de la intervención humana para mejorarlas y asegurar su sobrevivencia. Los principales factores que contribuyen a la extinción son: la pérdida de hábitat, la introducción de especies exóticas, la sobreexplotación y la contaminación. Estos factores son ocasionados por la humanidad y están relacionados al crecimiento no controlado de la población humana (Frankham, 2003). Estos factores han reducido las grandes poblaciones originales de varias especies a pequeñas poblaciones donde son susceptibles a efectos estocásticos (Frankham, 2003; Rocha & Gasca, 2007).

México cuenta con un número considerable de especies endémicas, encontrándose dentro de este estatus al 81 % de las especies que corresponden al género *Jatropha*. Dicho género pertenece a la familia *Euphorbiaceae* (Steinmann, 2002). Se distribuye en casi todo México en climas secos, templados a húmedos, con vegetaciones que van desde bosques tropicales perennifolios hasta matorrales xerófilos (Córdova Téllez *et al.*, 2015; Martínez-Gordillo *et al.*, 2002). Este género se caracteriza por tener muchos atributos potenciales que le confieren una relevancia ecológica, económica y social ya que varios de sus integrantes son utilizados en la reforestación, en lo medicinal, ornamental, además por ser una especie oleaginosa el aceite puede ser susceptible de transformación a esteres metílicos o bien para otros usos en la industria (Eric van der Putten, Franken, Jongh, & Nielsen, 2010). La mayoría de los usos medicinales reportados en la India, África, se centran en problemas relacionados con la piel, cicatrizantes de heridas; ayuda a pacientes con aftas en la cavidad oral, para la caída del cabello. También muchas de ellas tienen efectos purgantes y en casos extremos han llegado a provocar la deshidratación (Mongkolvisut *et al.*, 2006; Wong-Paz *et al.*, 2010; León-Pérez, 2013; Sabandar *et al.*, 2013).

J. curcas es una especie cosmopolita ya que se distribuye en Europa, Asia y América, gracias a esa distribución es la especie que tiene más registros de análisis con diferentes marcadores moleculares como son: RAPD, ISSR; microsatélites, AFLP, SCAR y combinados entre sí. Los objetivos de dichas investigaciones se han centrado en el reconocimiento de la diversidad entre diferentes accesiones del mismo país y en la diversidad entre accesiones de diferentes países, teniendo como meta el mejoramiento genético de dicha especie (Ovando-Medina *et al.*, 2011). Pocos son los estudios sobre la diversidad poblacional que han realizado con fines de conservación.

Una de las principales ventajas del uso de ISSR es que no se requiere información *a priori* de las secuencias a amplificar, lo que es útil cuando se quiere trabajar con especies en las que se carece de esa información. Otra ventaja es la variación dentro de las regiones únicas del genoma, encontrándose en varios loci simultáneamente. La identificación de niveles significativos de variación es muy útil para el perfilado de ADN en especies estrechamente relacionadas (Vicent & Fulton, 2003). El primer set número 9 de 100 iniciadores denominados UBC desarrollados por la Universidad de British Columbia, Canadá, ha sido muy utilizado por varios autores debido a su gran capacidad de amplificación y polimorfismo (Hu, Zhu, & Xu, 2000; Basha & Sujatha, 2007; Basha *et al.*, 2009; Tatikonda *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2010; Grativol *et al.*, 2011; Tanya *et al.*, 2011; Mavuso *et al.*, 2016).

Dado que *Jatropha* tiene una tasa alta en México y a la apremiante necesidad de conocer la diversidad genética de las especies es necesario prestar atención a especies como *Jatropha elbae* midiendo su diversidad genética y estructural, por lo que en el presente estudio se evaluaron dos poblaciones conformadas por 23 individuos cada una de ellas con objeto de definir cuál de ellas podría funcionar como posible colección núcleo para ser conservada.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Material vegetal

En el presente estudio se utilizó la especie *J. elbae*. Los sitios de colecta fueron seleccionados de acuerdo a la revisión previa de herbarios, definiéndose dos localidades al sur del estado de Puebla: Ixcamilpa de Guerrero (Pob.1), y Jolalpan (Pob.2). Se escogieron 23 individuos adultos sanos de cada localidad y se colectaron hojas jóvenes usando pinzas y guantes. Éstas se colocaron en papel secante -sanitas- húmedas y se introdujeron dentro de bolsas plásticas autosellables previamente enumeradas, las cuales fueron colocadas dentro de una hielera portátil y transportadas al Laboratorio de Mejoramiento Genético Asistido de la Universidad Autónoma Chapingo.

6.2.2. Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN se aisló de las muestras colectadas mediante el método CTAB con algunas modificaciones (Grativol, Da Fonseca Lira-Medeiros, Hemerly, & Ferreira Gomes, 2011). Las hojas se lavaron con alcohol al 70 %. Posteriormente se pesaron y maceraron con nitrógeno 0.3-0.5 g de material vegetal; se adicionó 700 µL de amortiguador de extracción CTAB precalentado a 65°C (2 % CTAB, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.0 y 0.2 % de mercaptoetanol). Cada tubo de 1.5 mL fue incubado a 37°C por 20 min en un termoblock (Thomas Scientific Mod. 949414) y luego se dejaron enfriar para colocarlos en una microcentrifuga (OHAUS Mod. FC5515) a 21'000 Xg durante 20 minutos. El sobrenadante fue transferido a un tubo y lavado dos veces, primero con 600 µL cloroformo:alcohol isoamílico (24:1 v/v) y luego con isopropanol frío; en cada ocasión fue centrifugado a 12'000 Xg por 5 minutos. Una vez que se secó la pastilla ésta se resuspendió agregando a cada tubo 700 uL de STE (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA) y se agitó vigorosamente para lograr disolver el precipitado. Se colocó el mismo volumen de fenol y se agitó vigorosamente con el fin de mezclar las dos fases y centrifugar a 15'000 Xg por 5 minutos. Se recuperó la fase acuosa y se agregó el mismo volumen de cloroformo y posteriormente se centrifugó a 15'000 Xg por 15 min. A continuación, se transfirió la fase acuosa a otro tubo al cual se le adicionaron con 4 uL de RNasa (10 mg/mL), los cuales fueron incubados a 37°C por

1 hora. Posteriormente se agregó 70 uL de acetato de sodio 3 M y 700 uL de isopropanol, se agitaron por inversión hasta obtener el precipitado de ADN, el cual se colocó a -20 °C durante 30 minutos. Luego durante 5 minutos, se centrifugó a 15'000 Xg, se decantó cuidadosamente el sobrenadante para no perder la pastilla y se le agregó 500 uL de etanol al 70 %, luego se agitó por inmersión suavemente para disolver las sales. Por último, se centrifugó nuevamente a 15'000 Xg durante 5 minutos, se decantó y dejó escurrir sobre un papel secante y se disolvió en 50 o 100 uL de TE (10 mM, Tris HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) dependiendo del tamaño del precipitado, dejándolo en refrigeración a 4°C para su posterior análisis.

La calidad del ADN fue estimada por electroforesis en un gel de agarosa al 1.5 % y la concentración fue cuantificada por medio de un NanoDrop Tm Lite (Thermo Scientific).

6.2.3. Obtención de patrones ISSR

Primero se tomó una muestra al azar y se usaron en total 26 iniciadores tipo ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), de los cuales 11 fueron iniciadores UBC del set no.9 de la University of British Columbia, Canadá, mientras que el resto de ellos fueron iniciadores disponibles en el Laboratorio de Mejoramiento Genético Asistido de la UACH. Las temperaturas de alineación oscilaron entre los 38 a 61 °C Canadá (Hu *et al.*, 2000; Basha & Sujatha, 2007; Basha *et al.*, 2009; Tatikonda *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2010; Grativol *et al.*, 2011; Ovando-Medina *et al.*, 2011; Sunil *et al.*, 2011; Tanya *et al.*, 2011; Mavuso *et al.*, 2016) (Cuadro 18). Con base en los resultados obtenidos se seleccionaron los 13 iniciadores que produjeron el mayor número de bandas bien definidas y se utilizaron en todas las muestras para obtener los patrones de bandeo.

Cuadro 18 Lista de iniciadores tipo ISSR utilizados en una muestra de *J. elbae*

No.	Nombre	5' - 3'	T°C	No.	Nombre	5' - 3'	T°C
1	ISSR-01	(CA) ₈ AAGG	61	14	LOL-10	(GAG) ₃ GC	38
2	ISSR-02	(CA) ₈ AAGCT	58	15	MESL-3	(TG) ₇ G	46
3	ISSR-03	(GA) ₈ CTC	58	16	UBC-809	(AG) ₈ G	52
4	ISSR-04	(AG) ₈ CTC	58	17	UBC-811	(GA) ₈ C	52
5	ISSR-06	(AC) ₈ CTG	58	18	UBC-812	(GA) ₈ A	50
6	ISSR-07	(AG) ₈ CTG	58	19	UBC-815	(CT) ₈ G	52
7	ISSR-09	(AG) ₈ C	52	20	UBC-818	(CA) ₈ G	52
8	POI-01	(CA) ₆ AGCT	48	21	UBC-827	(AC) ₈ G	52
9	POI-02	(CA) ₆ AGG	46	22	UBC-829	(TG) ₈ C	52
10	POI-03	AGCT (GACA) ₃	48	23	UBC-836	(AG) ₈ CTA	52
11	POI-04	(CT) ₈ AGC	58	24	UBC-842	(GA) ₈ CTG	58
12	LOL-08	(GT) ₆ CC	44	25	UBC-873	(GACA) ₄	48
13	LOL-09	(CAC) ₃ GC	38	26	UBC-885	GTCATCGTC(GA) ₇	54

La mezcla de reacción de PCR tuvo en un volumen total de 25 µL conteniendo 25 ng de ADN, 200 µM de dNTP's, 1 X PCR amortiguador (10 mM Tris pH 9.0, 50 mM KCl), 1.5 mM MgCl₂, 30 ng/reacción, 1.5 U Taq DNA polimerasa (Invitrogen) (Basha & Sujatha, 2007; Basha *et al.*, 2009). Las condiciones de temperatura y número de ciclos de amplificación por PCR se describen en el Cuadro 19. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en usando un termociclador TECHNE TC.412.

Cuadro 19 Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación por PCR para la obtención de los ISSR.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo	Número de ciclos
Pre-desnaturalización	93	4'	1
Desnaturalización	93	20"	40
Alineamiento	χ	1'	
Extensión	72	20"	
Extensión final	72	6'	
χ La temperatura de alineamiento dependió del iniciador utilizado para cada reacción			

La separación de los productos amplificados se realizó por electroforesis en un gel de agarosa al 1.5 %. En cada extremo de la línea de pozos se colocó 4 µL de marcador de peso molecular (Invitrogen de 1 Kb Plus DNA Ladder Cat No. 15615-016), se corrió en un amortiguador 50 X TAE (2 M Tris-base, 50 mM EDTA, 50 mM ácido acético glacial) a 120 V (Basha & Sujatha, 2007) durante 2 horas. El gel fue teñido con ayuda de una solución de bromuro de etidio (0.5 µg/mL) durante 15 minutos, revelado y documentado en un sistema de documentación UVP (High Performance UV transilluminator, DigiDoc-it 120 imaging System with TFM-26 Transilluminator).

6.2.4. Análisis estadístico

Con los patrones de bandeo obtenidos en los geles se construyó la matriz básica de datos (MBD), en la cual la presencia de una banda polimórfica fue registrada con un valor de 1 y cuando ésta estaba ausente se registró como 0. Con la MBD se procedió a calcular las distancias genéticas entre pares de accesiones y se seleccionó la distancia de Dice [$\sqrt{1-S}$]. Estos análisis se llevaron a cabo con el programa Info-Gen® de la Universidad de Córdoba, Argentina. Posteriormente se realizó un análisis de agrupamiento mediante el método de varianza mínima de Ward y se construyó el dendrograma respectivo. Para corroborar el agrupamiento obtenido se realizó un análisis de coordenadas principales. Con el objetivo de explorar la estructura jerárquica de la variabilidad genética entre poblaciones de *J. elbae* se realizó un análisis molecular de varianza (AMOVA). Adicionalmente, para evaluar la capacidad discriminatoria de los diferentes iniciadores ISSR utilizados en el presente estudio se realizó una descriptiva de marcadores en la cual se evaluaron las siguientes variables: número de bandas totales (BT), número de bandas polimórficas (BP), número de bandas monomórficas (BM), proporción de loci polimórficos (PMF (95)), contenido de información polimórfica (PIC), error estándar del PIC (E.E), porcentaje de amplificación (PA) y la probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo por azar (PDCIMA). Estos análisis fueron obtenidos mediante el uso del programa InfoGen®. Asimismo, se determinó el Índice de diversidad de Shannon-Weaver(I), índice de diversidad de Nei (H) (1973), número de alelos observados (Na) y número efectivo de alelos (Ne) mediante el programa POPGENE 1.32.

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1. Análisis de agrupamiento

Mediante la MBD se calcularon distintas distancias genéticas entre pares de accesiones y se eligió la distancia de Dice [$\sqrt{1-S}$] realizando un análisis de agrupamiento mediante el método de varianza mínima de Ward con el programa estadístico InfoGen®. La matriz de distancias se usó para construir un dendrograma (Figura 16). En él se observa que los marcadores tipo ISSR fueron eficaces para separar a los individuos muestreados por población, ya que el grupo I (en color azul) estuvo conformado por individuos de la población de Jolalpan, mientras que el grupo II (en color rojo) se integró por individuos pertenecientes a la población de Ixcamilpa de Guerrero.

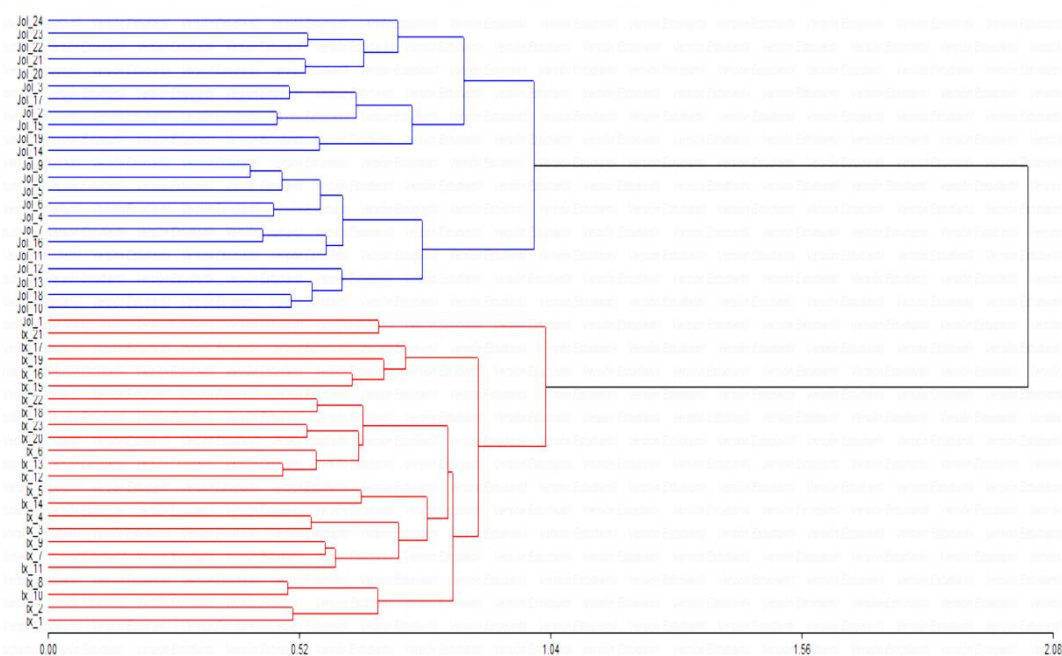


Figura 16 Dendrograma de dos poblaciones *Jatropha elbae* construido con la distancia genética de Dice mediante la varianza mínima de Ward

Estos resultados coinciden con los encontrados por Basha *et al.* (2009), quienes mediante el uso de marcadores ISSR fueron capaces de agrupar accesiones de *J. curcas* de acuerdo con su procedencia geográfica. Por lo que los resultados encontrados en el presente estudio corroboran lo señalado por Reddy, Sarla, & Siddiq, (2002) acerca de

que los marcadores ISSR son repetibles, eficaces, simples y rápidos, y capaces de separar individuos estrechamente relacionados, por lo que ratifican su utilidad en futuras caracterizaciones de poblaciones de *J. elbae*.

6.3.2. Análisis de Coordenadas Principales (ACP)

Para explorar espacialmente la distribución de la variabilidad genética de las dos poblaciones de *J. elbae* estudiadas y corroborar el agrupamiento obtenido se realizó un análisis de coordenadas principales usando la distancia de Dice [$\sqrt{1-S}$] mediante el programa Info-Gen ® (Figura 17). En ella se puede apreciar claramente la formación de dos grupos bien definidos, el grupo I (en rojo) formado por los 23 individuos pertenecientes a la población Ixcamilpa de Guerrero y el grupo II (en azul) integrado por 22 de los materiales de Jolalpan, ratificando la agrupación presentada en el dendrograma. Sin embargo, se observa que uno de los individuos pertenecientes a esa población se aisló completamente de ambos grupos, lo cual sugiere que este material podría ser genéticamente muy distinto al resto de los individuos estudiados y por tanto podría resultar de interés dentro de un programa de mejoramiento genético por hibridación de este cultivo, ya que la heterosis de los híbridos está en función directa a la disimilitud genética de los padres que le dieron origen (Zeid, Schon, & Link, 2004).

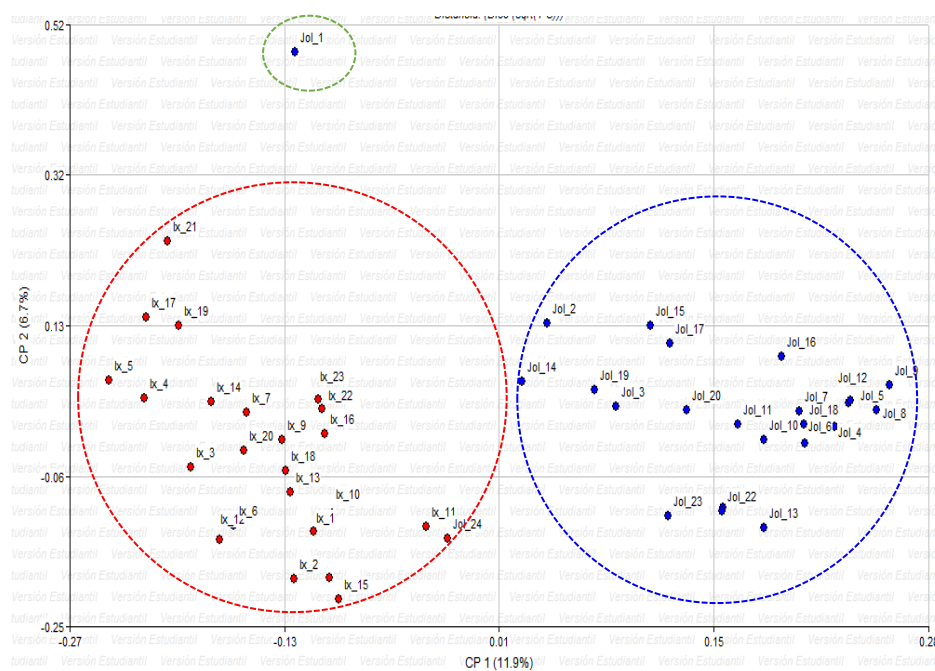


Figura 17 Representación bidimensional de 46 individuos de *J. elbae* mediante el análisis de coordenadas principales usando la distancia de Dice [$\sqrt{1-s}$].

6.3.3. Análisis de Variabilidad Poblacional

a. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)

La estructura jerárquica de la variabilidad genética presente en las dos poblaciones de *J. elbae* estudiadas fue explorada mediante un análisis molecular de varianza (AMOVA) (Cuadro 20). Los resultados obtenidos sugieren que la variabilidad genética molecular observada dentro de cada población fue mucho más importante (84.51 %) que la diversidad molecular observada entre poblaciones (15.49 %). El estadístico F de Wright (F_{ST}) o Índice de Fijación indica la correlación entre perfiles de una misma población respecto a la correlación entre cualquier par de individuos tomados al azar del conjunto total (es decir la fijación de genes en la población). El valor obtenido de 0.15 estadísticamente significativo, sugiere que, a pesar de la variabilidad observada dentro de las poblaciones, el “factor” población produce una estructuración genética.

Cuadro 20 Análisis molecular de varianza (AMOVA) en dos poblaciones de *J. elbae*.

FV	SC	gl	CM	p-valor	CV	PV	F_{ST}
Poblaciones	112.56	1	112.56	<0.0001	3.89	15.49	0.15
Dentro	954.84	45	21.22	<0.0001	21.22	84.51	
Total	1067.40	46	23.02		25.11	100.00	

FV=Fuente de variación, SC=Suma de cuadrados; gl=grados de libertad; CV=Componentes de varianza; PV=Porcentaje de variación; F_{ST} = Índice de Fijación de Wright

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con la estructura jerárquica de la variación encontrada por Ambrosi *et al.* 2010 y Mavuso *et al.* 2016 , quienes señalan que la variación encontrada dentro de poblaciones de *J. curcas* fue mayor que la observada entre poblaciones.

b. Análisis de la Diversidad Genética

Con el objetivo de conocer en mayor detalle la diversidad genética y estructura poblacional de los 48 materiales de *J. elbae* que se desarrollan en Ixcamilpa de Guerrero y Jolalpan, Puebla, se realizaron análisis poblacionales mediante el paquete POPGENE 1.32. En el Cuadro 21 se puede apreciar que en general la diversidad genética de los individuos muestreados fue moderada. El número de alelos observados por locus polimórfico (N_a) y el número de alelos efectivos por locus polimórfico (N_e) fueron

moderadamente altos entre las poblaciones. El índice de diversidad genética de Nei (H), medida de la diversidad genética por locus dentro de poblaciones y el índice de Shannon (I), medida de la abundancia relativa de cada población respecto al número total de individuos, oscilaron entre 0.2113 a 0.2130 y 0.3387 a 0.3400, respectivamente.

Cuadro 21 Estimadores de la diversidad genética de dos poblaciones de *J. elbae*.

	Na	Ne	H	I
<i>J. elbae</i>	1.9938	1.36.24	0.2330	0.3743
Población 1	1.8951	1.3284	0.2113	0.3400
Población 2	1.8642	1.3362	0.2130	0.3387
Promedio	1.8797	1.3323	0.2122	0.3394

Na=Número de alelos observados; Ne=Número efectivo de alelos; H=índice de diversidad de Nei (1973); I=Diversidad de Shannon.

La diversidad genética total (H_T) estimada (Cuadro 22) fue de 0.2339, mientras que la diversidad intra-poblacional (H_S) fue de 0.2121. El flujo genético (N_m) estimado fue de 5.0941; valores de flujo genético por debajo de 0.5 son considerados como indicadores de un alto nivel de homocigosis ocasionada por deriva génica, por lo que el resultado obtenido sugiere un alto grado de heterocigosis. El coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (G_{ST}) fue alto (0.894), indicativo de que el grado de diferenciación presente en ambas poblaciones de *J. elbae* es muy alto.

Cuadro 22 Análisis de diversidad genética de Nei de dos poblaciones de *J. elbae* de Puebla

H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}	N_m
0.2339	0.2121	0.0218	0.894	5.0941

H_T =Diversidad genética total; H_S =Diversidad intra-poblacional; D_{ST} =diversidad genética inter-poblaciones; G_{ST} =Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones; N_m =Flujo de poblaciones.

Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los obtenidos en trabajo similares de diversidad genética realizados en *J. curcas* se observa que el número de alelos por locus polimórfico (N_a) fue más alto que el reportado de 1.1600 a 1.6943, mientras que el número de alelos efectivos por locus polimórfico (N_e) cae dentro del rango obtenido para *J. curcas* de entre 1.1270 a 1.3375 (Tanya *et al.*, 2011; Mavuso *et al.*, 2016). En relación a los índices de diversidad genética de Nei (H) y Shannon (I), los valores estimados para *J. elbae* fueron superiores a los encontrados para *J. curcas*, los cuales oscilan entre 0.06880 a 0.2007 y 0.0980 a 0.3065, respectivamente (Ambrosi *et al.*, 2010; Tanya *et al.*, 2011; Mavuso *et al.*, 2016;), lo cual sugiere la existencia de una mayor diversidad genética existente en las poblaciones muestreadas.

c. Descriptiva de marcadores

En el Cuadro 23 se presenta la descriptiva de los 13 iniciadores utilizados en este estudio para obtener los perfiles moleculares de los 46 ejemplares de *J. elbae* considerados en este estudio. En él se observa que se obtuvieron un total de 162 bandas, de las cuales 161 fueron polimórficas (99 % de polimorfismo), con un promedio de 12 bandas por iniciador, el número mínimo de bandas amplificadas fue de 8 (LOL-09) y el máximo de 16 (ISSR-03). Los mayores valores de contenido de información polimórfica (PIC) fueron obtenidos con los iniciadores UBC-842, ISSR-01, POI-03 y UCB-885. No obstante, el iniciador que mayor amplificación produjo fue LOL-07 (65.7 %). La mayor proporción de loci polimórficos se encontró en los iniciadores ISSR-01, ISSR-06, UBC-842. Estos resultados también muestran que los iniciadores con mayor capacidad discriminatoria, menor probabilidad de que dos individuos compartan un mismo alelo por azar (PDICMA), fueron POI-03, UBC-842, y ISSR-03 por lo que estos iniciadores pueden presentar un alto grado de confianza para la identificación de individuos de *J. elbae*. En Figura 18 se muestra el patrón de bandas generado con el iniciador UBC-842.

Al comparar estos resultados con los obtenidos para *J. curcas* se observa que son muy similares, ya que en promedio se han reportado entre 5 a 20 bandas por iniciador (Basha & Sujatha, 2007; Sunil *et al.*, 2011). El valor medio de PIC también cayó dentro del rango de 0.4 a 0.84 reportado por Basha *et al.* (2009); Grativol *et al.* (2011); Sunil *et al.* (2011) y Tanya *et al.* (2011).

Cuadro 23 Polimorfismo y número de bandas generadas con los primers ISSR de 47 accesiones de *J. elbae*.

Primer	Secuencia	BP	BM	BT	PMF (95)	PIC	E. E	AMP	PDICMA
ISSR-01	(CA) ₈ AAGG	13	0	13	0.92	0.24	0.03	27.33	8.3E-11
ISSR-03	(GA) ₈ CTC	16	0	16	0.81	0.24	0.02	23.80	8.8E-11
ISSR-04	(AG) ₈ CTC	14	0	14	0.79	0.22	0.02	21.43	5.0E-10
ISSR-06	(AC) ₈ CTG	8	0	8	1.00	0.25	0.01	44.68	3.6E-10
POI-01	(CA) ₆ AGCT	12	0	12	0.92	0.22	0.02	35.28	4.0E-09
POI-02	(CA) ₆ AGG	12	0	12	0.67	0.14	0.02	34.40	5.1E-05
POI-03	AGCT (GACA) ₃	16	0	16	0.94	0.26	0.02	22.61	1.9E-13
POI-04	(CT) ₈ AGC	15	0	15	0.93	0.23	0.02	23.69	6.0E-10
UBC-815	(CT) ₈ G	8	0	8	0.88	0.24	0.02	34.84	6.2E-10
UBC-836	(AG) ₈ CTA	14	0	14	0.79	0.22	0.03	34.35	1.6E-08
UBC-842	(GA) ₈ CTG	14	0	14	1.00	0.28	0.02	31.76	8.3E-13
UBC-885	GTCATCGTC(GA) ₇	12	0	12	0.75	0.26	0.02	49.29	2.0E-10
LOL-09	(CAC) ₃ GC	7	1	8	0.63	0.21	0.02	65.69	1.2E-06
Total		161	1	162					0.0E+00
Media		12	0.08	12	1	0.23	0.02	34.55	
Mínimo		7	0	8	0.63	0.14	0.01	21.43	
Máximo		16	1	16	1	0.28	0.03	65.69	

Descriptiva de marcadores: BP=número de bandas polimórficas; BM=número de bandas monomórficas; BT= número de bandas totales; PMF (95)=proporción de loci polimórficos; PIC=contenido de información polimórfica; E.E=error estándar del PIC; PA=porcentaje de amplificación y PDCIMA=probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo por azar.

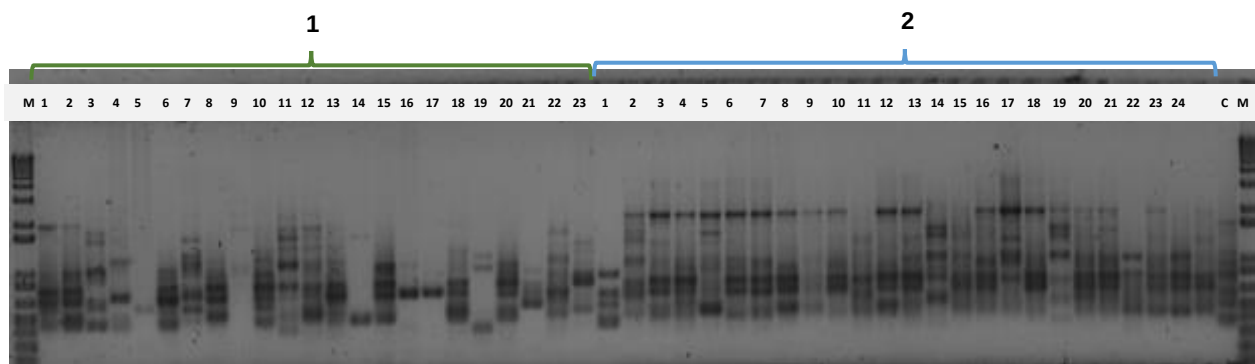


Figura 18 Patrones de bandas resultantes con el iniciador UBC-842 en 48 individuos de *Jatropha elbae*.

Poblaciones: 1=Jolalpan; 2=Ixcamilpa de Guerrero; M= marcador de peso molecular; C=control (muestra externa, jitomate).

6.4. CONCLUSIÓN

Este estudio se encuentra dentro de los pioneros en la investigación de genética de poblaciones en especies endémicas del género *Jatropha*, siendo *J. elbae* una especie que se restringe a sólo tres estados de México: Puebla, Oaxaca y Guerrero, según registros de herbario. Los sitios de colecta más recientes son los reportados en Puebla: Ixcamilpa de Guerrero y Jolalpan. Gracias a la eficiencia de los marcadores moleculares ISSR (Inter simple sequence repeats) y al análisis estadístico con los paquetes Info-Gen® y POPGENE 1.32, se determinó que las dos poblaciones de *J. elbae* muestreadas contienen una diversidad genética moderada siendo la población de Ixcamilpa de Guerrero la que presenta una mayor diversidad con base en el índice de Shannon. Por lo que ambas poblaciones deben estar sujetas a un programa de conservación, con objeto de preservar su diversidad genética.

6.5. LITERATURA CITADA

- Ambrosi, D. G., Galla, G., Purelli, M., Barbi, T., Fabbri, A., Lucretti, S., Sharbel, T. F. & Barcaccia, G. (2010). DNA markers and FCSS analyses shed light on the genetic diversity and reproductive strategy of *Jatropha curcas* L. *Diversity*, 2(5), 810–836. <https://doi.org/10.3390/d2050810>
- Basha, S. D., Francis, G., Makkar, H. P. S., Becker, K., & Sujatha, M. (2009). A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. *Plant Science*, 176(6), 812–823. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.03.008>
- Basha, S. D., & Sujatha, M. (2007). Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. *Euphytica*, 156(3), 375–386. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9387-5>
- Cai, Y., Sun, D., Wu, G., & Peng, J. (2010). ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. *Biomass and Bioenergy*, 34(12), 1739–1750. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.001>
- Córdova Téllez, L., Bautista Ramírez, E., Zamarripa Colmenero, A., Rivera Lorca, J. A., Vázquez Pérez, A., Sánchez Sánchez, O., Martínez Herrera, J., Cuevas Sánchez, J. A. (2015). *Diagnóstico y plan estrategico de Jatropha spp. en Mexico* (1a.). DF, México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI), p.120.
- Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 22–29. [https://doi.org/10.1016/S1631-0691\(03\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00023-4)
- Grativol, C., Da Fonseca Lira-Medeiros, C., Hemerly, A. S., & Ferreira Gomes, P. C. (2011). High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of

- genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Molecular Biology Reports*, 38(7), 4245–4256. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0547-7>
- Hu, J., Zhu, J., & Xu, H. M. (2000). Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(1–2), 264–268. <https://doi.org/10.1007/s001220051478>
- Info-Gen. (2010). Info-Gen. Cordoba, Argentina.
- León-Pérez, F. (2013). El látex (Pamolché): alternativa terapéutica en úlceras de la cavidad oral. *Fomix Campeche*, 29–32.
- Martínez-Gordillo, M., Ramírez-Jiménez, J., Cruz Duran, R., Garcia, R., Cervantes, A., & Mejía Hernández, R. (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales Del Instituto de Biología*, 73(2), 155–281.
- Mavuso, C., Wu, Y. P., Chen, F. C., Huang, B. H., & Lin, S. J. (2016). Genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. accessions cultivated in Taiwan using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Agroforestry Systems*, 90(3), 417–431. <https://doi.org/10.1007/s10457-015-9864-0>
- Mongkolvisut, W., Sutthivaiyakit, S., Leutbecher, H., Mika, S., Klaiber, I., Möller, W., Rösner, H. & Conrad, J. (2006). Integerrimides A and B, cyclic heptapeptides from the latex of *Jatropha integerrima*. *Journal of Natural Products*, 69(10), 1435–1441. <https://doi.org/10.1021/np0602012>
- Ovando-Medina, I., Espinosa-García, F. J., Núñez-Farfán, J. S., & Salvador-Figueroa, M. (2011). State of the art of genetic diversity research in *Jatropha curcas*. *Scientific Research and Essays*, 6(8), 1709–1719. <https://doi.org/10.5897/SRE10.994>
- Putten, E. van der, Franken, Y. J., De Jongh, J., & Nielsen, F. (2010). The *Jatropha* handbook. *From Cultivation to Application*, FACT, p. 172.
- Reddy, M. P., Sarla, N., & Siddiq, E. A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9–17. <https://doi.org/10.1023/A:1020691618797>
- Rocha, M., & Gasca, J. (2007). Ecología molecular de la conservación. In L. E. Eguiarte, V. Souza, & X. Aguirre (Eds.), *Ecología Molecular* (1a ed., pp. 251–278). DF, México: Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).
- Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jaafar, F. M., & Sahidin, I. (2013). Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*, 85, 7–29. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la Familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, 61, 61–93.
- Sunil, N., Sujatha, M., Kumar, V., Vanaja, M., Basha, S. D., & Varaprasad, K. S. (2011). Correlating the phenotypic and molecular diversity in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy*, 35(3), 1085–1096. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.11.030>
- Tanya, P., Taeprayoon, P., Hadkam, Y., & Srinives, P. (2011). Genetic diversity among *Jatropha* and *Jatropha*-Related Species Based on ISSR Markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(1), 252–264. <https://doi.org/10.1007/s11105-010-0220-2>
- Tatikonda, L., Wani, S. P., Kannan, S., Beerelli, N., Sreedevi, T. K., Hoisington, D. A., Devi, P. & Varshney, R. K. (2009). AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm

- collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. *Plant Science*, 176(4), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.01.006>
- Vicent, M. C., & Fulton, T. (2003). *Using molecular marker technology in studies on plant genetic diversity*. Institute for Genetic Diversity of Plant. New York, USA, p. 375.
- Wong-Paz, J. E., Castillo-Inungaray, M. L., López-López, L. I., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillon, G. V., & Aguilar, C. (2010). *Jatropha dioica*: fuente potencial de agentes antimicrobianos. *Acta Química Mexicana*, 2(4), 1–5.
- Zeid, M., Schon, C. C., & Link, W. (2004). Hybrid performance and AFLP-based genetic similarity in faba bean. *Euphytica*, 139(3), 207–216. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-3156-5>