



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**CARACTERIZACIÓN DE *Jatropha pseudocurcas*
Müll Arg.: ESTABLECIMIENTO DE COLECCIÓN
NÚCLEO DE OAXACA UTILIZANDO AFLP**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

PRESENTA

JEFFERSON UVALDO PÉREZ PÉREZ



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS EDUCATIVOS
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



Noviembre de 2014

Chapingo, Estado de México

**CARACTERIZACIÓN DE *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg.:
ESTABLECIMIENTO DE COLECCIÓN NÚCLEO DE OAXACA
UTILIZANDO AFLP**

Tesis escrita por Jefferson Uvaldo Pérez Pérez bajo la dirección del comité
revisor indicado, aprobado y aceptado como requerimiento parcial para
obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

DIRECTOR:



DR. JESÚS AXAYACATL CUEVAS SÁNCHEZ

ASESOR



PhD. BALDOMERO ALARCÓN ZÚÑIGA

ASESOR



PhD. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

DEDICATORIA

Dedicada a mi amiga, compañera y madre, Ma. Guadalupe Sánchez
Ayssa, a mi esposa María del Carmen González Rangel, por su
apoyo, amor y compañía durante la realización de mis estudios

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo por haber permitido llevar mis estudios de posgrado y la realización de esta investigación. Al posgrado en Biotecnología Agrícola por haberme aceptado como alumno y facilitado las herramientas necesarias para cumplir los objetivos.

Un especial agradecimiento a los Drs. Baldomero Alarcón Zúñiga y Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez por su impecable dirección en el desarrollo de esta investigación, pero sobre todo por haberme compartido sus conocimientos científicos. Al Dr. Jaime Sahagún Castellanos por formar parte del comité.

A Martín López Carrera y Biol. Héctor Maya por su asesoría técnica y participación durante la colecta de material vegetal.

A CONACyT por la beca otorgada para llevar a cabo mis estudios de maestría.

A mis compañeros del Laboratorio de Genética Molecular Hugo Von Thaden Ugalde, Daniel Barrera Sánchez, Itzel Villegas Velázquez y Othmara Ramírez Cano, quienes con sus sugerencias y compañía engrandecieron este trabajo de investigación. A mis amigos y compañeros de generación por esas experiencias, conocimientos y amistad.

A mi familia, mi madre Ma. Guadalupe y mi esposa Ma. del Carmen, por su compañía y amor.

DATOS BIBLIOGRÁFICOS

Nombre: Jefferson Uvaldo Pérez Pérez

Fecha de nacimiento: 8 de febrero de 1988

Lugar de nacimiento: México, Distrito Federal

CURP: PEPJ880208HDFRRF09

Profesión: Ingeniero en Biotecnología

Cédula profesional: 7978672



Desarrollo académico

2013-2014	Maestro en Ciencias en Biotecnología Agrícola Posgrado en Biotecnología Agrícola Instituto de Horticultura Departamento de Fitotecnia Universidad Autónoma Chapingo
2008-2012	Ingeniero en Biotecnología Departamento de Biotecnología Universidad Tecnológica de Tecámac
2003-2006	Especialidad de Diseño Arquitectónico Universidad Bancaria México Teoloyúcan, México

**CARACTERIZACIÓN DE *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg.:
ESTABLECIMIENTO DE LA COLECCIÓN NÚCLEO DE OAXACA
UTILIZANDO AFLP**

**CHARACTERIZATION OF *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg.:
ESTABLISHMENT OF CORE COLLECTION OF OAXACA USING AFLP**

Jefferson Uvaldo Pérez Pérez¹, J. Axayácatl Cuevas Sánchez²,
Baldomero Alarcón Zuñiga³

RESUMEN GENERAL

Considerando la diversidad genética como la base de la evolución natural y antropogénica, se mensuró la contenida en una población de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. especie silvestre de México, carente de estudios moleculares. Con el objetivo de cuantificar el polimorfismo intraespecífico, se analizaron 94 individuos por marcadores dominantes AFLP. Se emplearon 11 combinaciones de iniciadores para estimar el nivel polimórfico de amplicones, obteniendo un total de bandas de 398 (50 a 1300 pb), de las cuales 155 fueron polimórficas (37 %), analizadas por el método de agrupamiento FLEXI. Se realizó un remuestreo (bootstrap) de 1000 repeticiones para la construcción del dendrograma. Se obtuvo un total de diversidad genética (H_t) de la población de 0.38, la diversidad genética entre subpoblaciones (H_s) fue 0.29, el coeficiente de diferenciación genética (G_{st}) fue 0.236 y el flujo genético (N_m) fue 1.612. Los resultados obtenidos indican que existe un alto nivel de diversidad genética dentro de la población, concluyendo que *J. pseudocurcas* se mantiene estable genéticamente pudiendo considerar a la muestra analizada como una colección núcleo útil para la conservación *in situ* de la especie y probablemente para su mejoramiento genético.

Palabras clave: Especie silvestre, AFLP, diversidad genética, conservación *in situ*.

GENERAL ABSTRACT

Considering the genetic diversity as the basis of natural and anthropogenic evolution, this study was carried out to estimate the diversity of *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. wild species of Mexico, lack of molecular genetic studies. With the main objective to estimate the intraspecific polymorphism, 94 individuals by AFLP markers dominant were analyzed. Eleven primer combinations were used to develop polymorphic amplicons, obtaining 155 polymorphic amplicons out of 398 (50 to 1300 bp), and statistically analyzed by FLEXI clustering. Resampling (bootstrap) of 1000 replications for constructing a dendrogram was done. The total core collection genetic diversity (H_t) was 0.38, the genetic diversity among subpopulations (H_s) was 0.29, the coefficient of genetic differentiation (G_{st}) was 0.236 and gene flow (N_m) was 1.612. The results indicate a high level of genetic diversity within the population, concluding that *J. pseudocurcas* remains genetically stable and can consider the sample analyzed as a useful tool for the *in situ* conservation of the species and probably core collection for improvement genetic.

Key words: Wild species, AFLP, genetic diversity, *in situ* conservation.

1. Maestro en Ciencias en Biotecnología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México- Texcoco. Chapingo. México. email: jeffersonprez@gmail.com
2. Profesor-investigador del Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 38.5 Carretera México- Texcoco. Chapingo. México. email: jaxayacatl@gmail.com
3. Profesor-investigador del Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 38.5 Carretera México- Texcoco. Chapingo. México. email: balarcon@correo.chapingo.mx

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN GENERAL	4
1.1. OBJETIVOS	7
<i>General</i>	7
<i>Específico</i>	7
1.2. HIPÓTESIS	7
2. CAPÍTULO 1	8
ORIGEN Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE <i>JATROPHA</i> SPP.....	8
2.1. INTRODUCCIÓN	9
2.2. BIOLOGÍA DEL GÉNERO <i>JATROPHA</i>	10
2.2.1. <i>Sistema de reproducción y polinización de Jatropha</i>	10
2.2.2. <i>Botánica de J. pseudocurcas</i>	11
2.2.3. <i>Taxonomía de J. pseudocurcas</i>	13
2.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL DE <i>JATROPHA</i> SPP. Y SU POTENCIAL DE DOMESTICACIÓN.....	13
2.3.1. <i>Origen, domesticación y su distribución, Jatropha spp</i>	13
2.3.2. <i>Colecciones núcleo</i>	17
2.3.2.1. <i>Colección núcleo de Jatropha spp</i>	18
2.3.3. <i>Importancia económica y medicinal de especies de Jatropha</i>	19
2.4. GENOTIPIFICACIÓN Y MANTENIMIENTO DE GERMOPLASMA DE <i>JATROPHA</i>	20
2.4.1. <i>Diversidad genética por marcadores moleculares en Jatropha</i>	20
2.4.1.1. RAPD.....	21
2.4.1.2. ISSR	22
2.4.1.3. SCAR.....	22
2.4.1.4. AFLP	23
2.4.6. <i>Mejora genética de Jatropha</i>	24
2.4.7. <i>Estrategias de conservación y mantenimiento del germoplasma de Jatropha</i>	24
2.4.8. <i>Nuevas tendencias en la investigación de Jatropha</i>	25
2.5. LITERATURA CITADA.....	27
2.6. MEDIOS ELECTRÓNICOS	35
3. CAPÍTULO 2	37
CARACTERIZACIÓN DE <i>JATROPHA PSEUDOCURCAS</i> MÜLL ARG.: ESTABLECIMIENTO DE COLECCIÓN NÚCLEO DE OAXACA UTILIZANDO AFLP	37
3.1. INTRODUCCIÓN	30
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.2.1. <i>Material vegetal</i>	32
3.2.2. <i>Extracción de ADN</i>	32
3.2.3. <i>Análisis molecular de AFLP</i>	32
3.2.4. <i>Análisis estadístico</i>	33
3.3. RESULTADOS	34
3.4. DISCUSIÓN	37
3.5. CONCLUSIONES.....	40

3.6. AGRADECIMIENTOS	41
3.7. LITERATURA CITADA.....	44
3.8. MEDIOS ELECTRÓNICOS	51
4. DISCUSIÓN GENERAL	52
5. CONCLUSIONES GENERALES	54
5. CITAS BIBLIOGRÁFICAS	55
6. MEDIOS ELECTRÓNICOS	69
7. ANEXOS	70
7.1. NOTA TÉCNICA: METODOLOGÍA PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN EN <i>JATROPHA PSEUDOCURCAS</i>	70
7.2. PARÁMETROS Y VARIABLES PARA MEDIR LA DIVERSIDAD GENÉTICA.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de hojas de <i>Jatropha</i> spp., tomado de Dehgan y Webster (1979).....	11
Figura 2. Planta de <i>Jatropha pseudocurcas</i> , fotografía tomada por Jefferson Uvaldo Pérez Pérez.	12
Figura 3. Fruto de <i>Jatropha pseudocurcas</i> , tomado de FinePixA400 (2013). ..	12
Figura 4. Inflorescencia de <i>Jatropha pseudocurcas</i> , tomado de Hauniense (2014).....	13
Figura 5. Distribución de <i>Jatropha pseudocurcas</i> en México, tomado de Herbario XAL del Instituto de Ecología (2014)	16
Figura 6. Sitio de colecta <i>Jatropha pseudocurcas</i> , Santiago Huajolotitlán, Oaxaca, México. Cortesía de M. C. Juan José von Thaden Ugalde.	16
Figura 7. Porcentaje de colección núcleo versus tamaño de la colección completa para 37 colecciones núcleo de cultivos propagados por semilla. Tomado de van Hintum <i>et al.</i> (2003)	18
Figura 8. Dendrograma de 94 individuos de <i>Jatropha psuedocurcas</i> mediante el análisis de diversidad genética de Nei (1978), con 1000 replicaciones bootstrap. La escala representa el coeficiente de similitud de Jaccard.....	42
Figura 9. Análisis de coordenadas principales que muestran la distribución de 94 individuos de <i>Jatropha pseudocurcas</i>	43
Figura 10. Patrones de bandeo AFLP de 94 individuos de <i>J. pseudocurcas</i> usando cuatro diferentes iniciadores: A) E-AAC/M-CTA, B) E-ACG/M-CAA, C) E-AGG/M-CAC, D) E-AGG/M-CTT; M= lader, 1= individuo 1, 2= individuo 2... ..	71
Figura 11. Estimadores de diversidad genética de tres subpoblaciones de <i>J. Pseudocurcas</i> . Na*= Numero de alelos observados. Ne= Numero efectivo de alelos. H*= indice de diversidad genética de Nei's (1973), I*= Índice de nnon, Np= Numero de <i>loci</i> polimorficos, Pp= Porcentaje de <i>loci</i> polmorficos.	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Combinaciones de oligonucleótidos de AFLP polimórficos empleados para la caracterización molecular de <i>Jatropha. pseudocurcas</i>	35
---	----

Cuadro 2. Estimadores de diversidad genética de la colección de <i>Jatropha pseudocurcas</i> estudiada.	36
Cuadro 3. Análisis de diversidad genética de Nei de la colección de <i>Jatropha pseudocurcas</i> estudiada.	37
Cuadro 4. Análisis molecular de varianza (AMOVA) de 94 individuos de <i>Jatropha pseudocurcas</i> que constituyen la colección de Oaxaca, México.	39
Cuadro 5. Secuencias de iniciadores AFLP utilizados para los productos de PCR.....	71
Cuadro 6. Iniciadores para caracterización molecular de los individuos de <i>J. pseudocurcas</i>	72

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las especies silvestres emparentadas con los cultivos y especies domesticadas, han sido identificadas como un grupo crítico para la creación de riquezas, seguridad alimentaria y sustentabilidad ambiental. Su diversidad genética es fundamental para disponer de variabilidad en caracteres de tolerancia a factores bióticos y abióticos, así como también características agronómicas deseables. Pero esas especies están sujetas a un creciente riesgo de amenazas en sus hábitats, por lo que es necesario generar estrategias de conservación para protegerlas, las que incluyen la conservación *in situ*; ésta tiene como principal ventaja que continúan los procesos evolutivos, generándose continuamente adaptaciones valiosas que permitirán enfrentar los cambios ambientales.

Especies vegetales han sido punto de partida en numerosas investigaciones para el desarrollo de energías alternativas, esto por su capacidad de rápido crecimiento y pocos insumos agrícolas. Actualmente se ha investigado en la identificación y mejoramiento de especies oleaginosas o fuentes de azúcares de cuya semilla u tras estructuras se pueda extraer aceites de mejor calidad o carbohidratos que puedan ser sustitutos de las tradicionalmente empleadas como materia prima para la elaboración de biocombustibles (Biodiesel o Bioetanol)

Diversas publicaciones como *Renewables (2013) Global status Report* y *Global Trends in Renewable Energy Investment (2013)* reportaron que en los últimos dos años la demanda mundial de energías renovables aumentó 19%. Los mercados, sectores de producción e inversionistas se han movido de manera incrementada hacia los países en vía de desarrollo durante el año 2012 (Lins,

2013). El panorama energético mundial actualmente se encuentra enmarcado en una grave crisis de disponibilidad y abasto de combustibles fósiles a los diferentes sectores productivos. Ante este escenario se han desarrollado tecnologías para el aprovechamiento de las fuentes renovables de energía las cuales permitan enfrentar los enormes problemas derivados del uso de los energéticos mundiales.

Los cultivos oleaginosos se consideran como la mejor opción para la producción de biodiesel (Ganesh Ram *et al.*, 2008). Especies como colza (*Brassica napus*), girasol (*Helianthus annuus*), soya (*Glycine max*), palma aceitera (*Elaeis guineensis*) y piñón (*Jatropha curcas*), tienen actualmente un gran interés, de las cuales *Jatropha curcas* se destaca notoriamente teniendo la atención de investigadores, productores y empresarios debido a sus características fisiológicas, agronómicas, ambientales y de producción (Castro *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2013) .

Jatropha pseudocurcas Müll.Arg. es una especie endémica de México localizada en forma silvestre en los estados de Jalisco, Tabasco, Veracruz y ahora se registra en la porción poblana del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en bosque tropical caducifolio a 1895 msnm en clima cálido Aw y Am, área en la que se le encontró asociada con *Bursera fagaroides*, *Bursera spp.*, *Mimosa sp* y *Opuntia imbricata* (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009).

Se sabe que muchas de las especies de *Jatropha* son de polinización cruzada lo que resulta en un muy alto grado de variación genética, dificultando la detección y selección de semillas en un programa de mejoramiento genético (Ginwal *et al.*, 2004), es por ello que una selección basada en información genética utilizando marcadores moleculares es indispensable en un análisis

fiable. Algunos países líderes en esta línea de investigación como la India, China y Brasil han cultivado e intentado domesticar *Jatropha*, sin embargo, la falta de conocimientos agronómicos y principalmente genéticos han limitado su comprensión y éxito (Divakara *et al.*, 2010).

El uso de marcadores moleculares ha sido de gran ayuda para la medición de diversidad genética a nivel de secuencia de ADN, además ha contribuido al entendimiento de la genética de poblaciones en especies mexicanas. Este tipo de análisis incluyen isoenzimas, polimorfismos de fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés), polimorfismos de ADN amplificados aleatoriamente en mayor o menor grado (RAPD y AFLP), repetidos de secuencias internas (ISSR, por sus siglas en inglés), microsatélites y secuencias de ADN. La técnica de AFLP (Vos *et al.*, 1995) es particularmente adecuada para el análisis de genético y detección de múltiples *loci* en un sólo ensayo con una alta reproducibilidad comparado con otros marcadores como los RAPD (Jones *et al.*, 1997). Los marcadores AFLP han sido utilizados para estudiar la diversidad genética de numerosas especies como la soya (Meng and Chen, 2001), arroz (Akihiro *et al.*, 2006) y granada (Moslemi *et al.*, 2010).

El presente estudio tuvo la finalidad de mensurar el nivel de diversidad genética a nivel de ADN de 94 individuos de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. colectados en Oaxaca, México, por medio de marcadores moleculares AFLP lo cual permitirá la identificación y conservación de germoplasma útil para un mejoramiento futuro de las especies mediante una colección núcleo.

1.1. OBJETIVOS

General

Mensurar la diversidad genética en muestras de una población natural de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. colectadas en el estado de Oaxaca mediante marcadores AFLP.

Específico

Estimar la diversidad genética de *Jatropha pseudocurcas* por medio de la técnica de marcadores moleculares de AFLP.

Establecer una colección núcleo de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. en Huajolotitlán, Oaxaca, México, con base al estudio de diversidad molecular.

1.2. HIPÓTESIS

Los marcadores moleculares dominantes a base de ADN generan huellas genéticas heredables útiles en la caracterización molecular entre poblaciones silvestres mexicanas de *J. pseudocurcas*.

Se espera que los índices de diversidad genética y agrupamiento puedan postular a la población de *Jatropha pseudocurcas* establecida en Oaxaca como una colección núcleo.

2. CAPÍTULO 1

ORIGEN Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Jatropha* spp. ORIGIN AND GENETIC DIVERSITY OF *Jatropha* spp.

Jefferson Uvaldo Pérez Pérez¹, J. Axayácatl Cuevas Sánchez²,
Baldomero Alarcón Zuñiga³

RESUMEN

El estado del arte de la investigación científica durante los últimos años en especies silvestres de *Jatropha*, ha generado inquietudes en su uso y desarrollo integral. Los avances obtenidos en el conocimiento de especies silvestres son ya un foco de interés para muchos países, investigadores y fitomejoradores, desde 2001. Este conocimiento se extiende desde la fisiológica básica, la diversidad genética y el mejoramiento genético en todo el mundo, incluyendo además el uso de herramientas biotecnológicas como la transformación genética, cultivo *in vitro*, secuenciación de genomas y mapas genéticos. Numerosos estudios de diversidad genética en China, África, India y América han evidenciado claramente el alto nivel y potencial agronómico de las accesiones establecidas en México y Centroamérica, dirigiendo la atención de mejoradores de *Jatropha* en la obtención del germoplasma silvestre entre otras razones por el alto potencial medicinal y agronómico. En este capítulo se presenta una breve descripción de las bases genéticas de poblaciones silvestres de *Jatropha pseudocurcas* para constituir una colección núcleo con fines de conservación dinámica *in situ* del germoplasma nativo, potencialmente útil en el mejoramiento genético.

ABSTRAC

The state of art of scientific reseach in recent years on *Jatropha* wild species has raised concerns in the use and comprehensive development of the species. The improvement done in the species knowledgement is already a focus of interest for many countries, researchers and plant breeders, since 2001. This knowledge extends from basic physiology, genetic diversity and plant breeding, worldwide, including also the use of biotechnological tools like as genetic transformation, *in vitro* culture, genome sequencing and genetic maps. Numerous studies of genetic diversity in China, Africa, India and America, have clearly pointed out the potential agronomic use of accessions established in Mexico and Central America, directing the attention of *Jatropha* breeders to obtain genetic resources with high medicinal and agricultural strengths. This chapter focus on scientific reports in the genetic basis of *Jatropha pseudocurcas* to do a core collection that allows the dynamic *in situ* conservation of native germplasm, potentially use in plant breeding.

1. Maestro en Ciencias en Biotecnología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo. México. email: jeffersonprez@gmail.com
2. Profesor-investigador del Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo. México. email: jaxayacatl@gmail.com
3. Profesor-investigador del Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo. México. email: balarcon@correo.chapingo.mx

2.1. INTRODUCCIÓN

El nombre *Jatropha* proviene de los vocablos griegos ιατρός (iatros en griego = doctor) y τροφή (trofé en griego = alimento) (Heller, 1996) refiriéndose a sus usos medicinales desde la antigüedad. El género *Jatropha* comprende 199 especies diversas (The Plant List, 2014) de las que destacan *J. curcas*, *J. gossypifolia*, *J. glandulifera*, *J. multifida* y *J. Podagrica* (Jubera *et al.*, 2009), de las cuales 48 especies se encuentran distribuidas en la República Mexicana (Steinmann, 2002). El origen de *Jatropha* es de México y Centroamérica donde es común encontrar sus especies en regiones tropicales. En el siglo XVI los portugueses ya tenían conocimiento de las propiedades medicinales de esta planta, e iniciaron plantaciones para la producción de jabón y aceite en las islas de Cabo Verde. Después, muchos de los genotipos de *Jatropha* fueron introducidos por medio de los portugueses al Suroeste de África donde también fue llevada a otros lugares del mundo.

Es común encontrar germoplasma de diversas especies de *Jatropha* en lugares tropicales donde la precipitación media anual va de los 944 a 3121 mm, en climas *Am* y *Aw* según la clasificación de Köppen *et al.* (1930). Numerosos estudios de diversidad genética se han llevado a cabo en todo el mundo (Asia, África, América) donde las evidencias revelan claramente que México y Centroamérica son el centro de origen del género *Jatropha*.

Desde hace 10,000 años, la conservación y manejo de la diversidad genética en las especies domesticadas han conducido a una mejora en la producción agrícola en el mundo, suministrando miles de productos útiles para el hombre.

2.2. BIOLOGÍA DEL GÉNERO *Jatropha*

Jatropha pertenece a la familia *Euphorbiaceae*, está comprendido por 199 especies (The Plant List, 2014) distribuidas principalmente en México y Centroamérica, donde el 77 % son endémicas de México (Jiménez-Ramírez y Martínez, 1994; Martínez *et al.*, 2002). En India y África su distribución está limitada a ciertas regiones con unas cuantas docenas de individuos.

La familia *Euphorbiaceae* es la sexta familia más diversa entre las Angiospermas, después de *Orchidaceae*, *Compositae*, *Leguminosae*, *Gramineae* y *Rubiaceae*. Esta familia es sumamente importante ya que muchos miembros de esta familia son cultivados para su aprovechamiento integral medicinal, industrial, alimenticio y ornamental (Porrás *et al.*, 2008).

Generalmente son arbustos o árboles que tienen como característica que al sufrir un daño emanan un exudado (látex) transparente o coloreado, sus hojas son alternas con frutos capsulares dehiscentes que contienen de 1 a 3 semillas ovoides o subglobulosas. Son plantas dicotiledonares y ya que la variación en la familia es enorme, la capacidad de caracterización es difícil, la mayoría de las flores de estas especies son perfectas (con ambos sexos) siendo las plantas monoicas frecuentemente pequeñas.

2.2.1. Sistema de reproducción y polinización de *Jatropha*

Las flores del género *Jatropha* varían principalmente en su estructura y usualmente son perfectas (Watson y Dallwitz, 1991). La producción de flores femeninas y masculinas en la misma planta (monoicismo) es un sistema relativamente común entre las angiospermas y principalmente en los miembros de la familia *Euphorbiaceae* (Solomon Raju and Ezradanam, 2002). La mayoría

de las flores del género *Jatropha* muestran estructura similar sugiriendo un ancestro común de *Euphorbia* primitiva.

2.2.2. Botánica de *J. pseudocurcas*

J. pseudocurcas Müll Arg en Oaxaca es un arbusto de 3 a 4.5 metros de altura, con hojas de 10 a 20 cm de ancho, en forma de corazón en la base. Presenta pubescencias en el haz, su fruto es una cápsula seca dehiscente, es de 2.5 cm de largo (Standley, 1920).

Una de las diferencias que denotan y distinguen a cada especie aun siendo del mismo género son las hojas, como se demuestra en la figura 1.

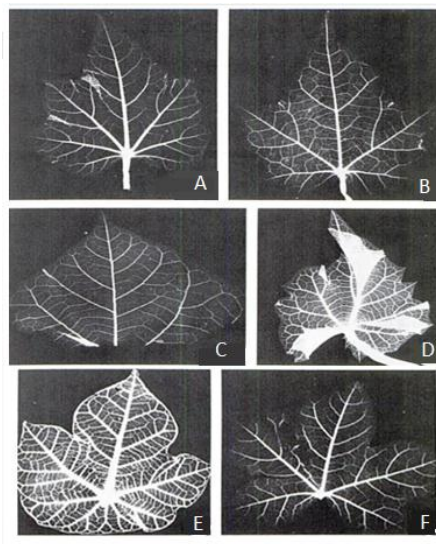


Fig. A. *J. curcas* L.
Fig. B. *J. malacophylla* Standley.
Fig. C. *J. pseudocurcas* Mull. Arg.
Fig. D. *J. ciliate* Sessé.
Fig. E. *J. platyphylla* Mull. Arg.
Fig. F. *J. moranii* Dehgan & Webster.

Figura 1. Tipos de hojas de *Jatropha* spp., tomado de Dehgan y Webster (1979).



Figura 2. Planta de *Jatropha pseudocurcas*, fotografía tomada por Jefferson Uvaldo Pérez Pérez.



Figura 3. Fruto de *Jatropha pseudocurcas*, tomado de FinePixA400 (2013).

La figura 4 presenta hojas de *J. pseudocurcas* con un color verdoso-amarillo y pubescente.



Figura 4. Inflorescencia de *Jatropha pseudocurcas*, tomado de Hauniense (2014).

2.2.3. Taxonomía de *J. pseudocurcas*.

Familia: *Euphorbiceae*

Subfamilia: *Crotonoideae*

Tribus: *Jatropheae*

Género: *Jatropha*

Especie: *Jatropha pseudocurcas*

2.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *Jatropha spp.* Y SU POTENCIAL DE DOMESTICACIÓN

2.3.1. Origen, domesticación y su distribución, *Jatropha spp*

Se ha postulado que muchas subespecies del género *Jatropha* tienen orígenes en *J. curcas* según estudios moleculares (Pamidimarri *et al.*, 2010); sin

embargo, Basha *et al.* (2009) mencionan que no encontró que *J. curcas* tenga orígenes primitivos de las 10 especies analizadas en la India.

Ford-Lloyd y Painting (1996) mencionan también que para elucidar las relaciones filogenéticas de las especies de *Jatropha*, el análisis de marcadores obtenidos de la secuenciación de ADN como cloroplastos, genes de ARN ribosomal 18s o espaciadores del transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés), son más informativos ya que éstos contienen regiones altamente conservadas y las diferencias entre sus secuencias podrían implicar cambios evolutivos.

De acuerdo a los estudios mencionados anteriormente, cerca de 100 a 175 especies son nativas de Centroamérica, y en México existen 48 especies endémicas, por lo que Mesoamérica es centro de diversificación de muchas de las especies silvestres de *Jatropha* (Martínez *et al.*, 2002; Steinmann, 2002).

Muchas de las especies de *Jatropha* son poblaciones naturales, sin embargo, se sabe que en el caso de *J. curcas* es una planta cultivada en diferentes partes del mundo como cerca viviente y ocasionalmente como planta de traspatio (Toral *et al.*, 2008). Un síntoma de domesticación en algunas especies de *Jatropha* es que México cuenta con genotipos no tóxicos, ya sea cultivado o fomentado, con completa ausencia o mínimo niveles de esteres de forbol y otras moléculas tóxicas. Sin embargo, no existen suficientes estudios que abarquen más especies endémicas de México.

Sabemos que muchas de las especies silvestres de México son empleadas como medicina y alimento tradicional, lo que hace pensar en un cierto grado de domesticación a través de la historia. En varios estados de México, como

Puebla y Veracruz, las semillas tostadas de variedades no tóxicas forman parte de la cocina tradicional local (Makkar *et al.*, 1998). Comparaciones fitoquímicas entre genotipos no tóxicos de *J. curcas* y especies silvestres del género ayudaría al entendimiento del mayor o menor grado de domesticación que han tenido estas especies.

La distribución de especies del género *Jatropha* se lleva a cabo naturalmente en zonas donde la precipitación anual oscila en los 944 y 3121 mm y un tiempo de crecimiento de 5 a 11 meses (Achten *et al.*, 2010) principalmente en climas tropicales (climas de tipo Am y Aw de acuerdo con la clasificación de Köppen *et al.* (1923)). En su área natural de distribución, se han reportado ser más abundantes y en los climas templados sin una estación seca y con un verano caliente (Köppen *et al.*, 1923).

J. pseudocurcas es una especie silvestre, localizada en los estados de Jalisco, Oaxaca, Tabasco y Veracruz. Ahora se registra en la porción poblana del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en bosque tropical caducifolio a 1895 msnm de clima cálido con estación seca larga. Se le encuentra asociada con *Bursera fagaroides*, *Bursera* spp, *Mimosa* sp y *Opuntia imbricata* (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009).



Figura 5. Distribución de *Jatropha pseudocurcas* en México, tomado de Herbario XAL del Instituto de Ecología (2014)

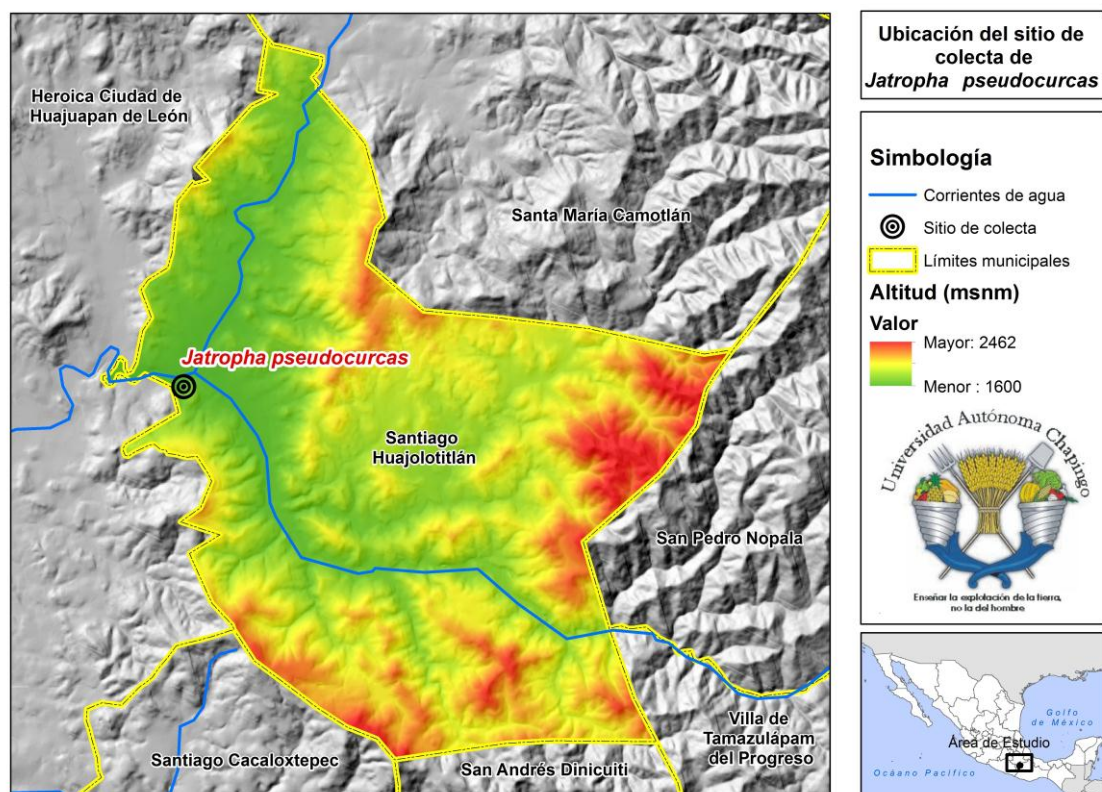


Figura 6. Sitio de colecta *Jatropha pseudocurcas*, Santiago Huajolotitlán, Oaxaca, México. Cortesía de M. C. Juan José von Thaden Ugalde.

2.3.2. Colecciones núcleo

En los últimos 25 años, bancos de germoplasma de todo el mundo mantienen colecciones elite de recursos genéticos con el fin de preservar y facilitar material vegetal a fitomejoradores e investigadores. La creación de colecciones núcleo surge a partir de la necesidad de reducir el número de accesiones representativas de una especie ya que algunos de los principales problemas en el manejo y administración de los bancos es el creciente tamaño de las colecciones por lo que es difícil conservar y hacer uso de la diversidad que contienen, yendo así en contra de los objetivos para los cuales fueron establecidos (van Hintum *et al.*, 2003)

Frankel (1984) menciona que el gran tamaño de las colecciones minimiza el aprovechamiento de la diversidad genética de los recursos fitogenéticos por lo que propuso el establecimiento de colecciones que fuesen representativas a partir de una que ya existe. A esto se le llamó **colección núcleo**, la cual se caracteriza por tener un tamaño poblacional reducido y representa una alta diversidad genética de una colección en menor tamaño de una especie cultivada, silvestre o de un grupo de especies, siempre tomando en cuenta que la colección núcleo no reemplaza la colección o el material del cual se obtiene.

Actualmente, las colecciones núcleo son aceptadas como una herramienta eficaz y punto de referencia para evaluación en mejora y conservación del uso de recursos genéticos, ya que éstas proporcionan una visión general de las características de la colección completa (Brown, 1989).

Para determinar el tamaño de la colección núcleo, Brown (1989) realizó estudios de las consecuencias de muestreo sencillo al azar realizados a partir de perfiles teóricos de la frecuencia genética o de ejemplos empíricos, por lo

que concluyó que una colección núcleo debe contener cerca del 10 % de la colección completa y además que ésta contenga al menos el 70 % de la variación genética de dicha colección.

2.3.2.1. Colección núcleo de *Jatropha* spp.

Investigadores de Asia y Europa han obtenido genotipos silvestres de *Jatropha* provenientes de México y Centroamérica con el fin de llevar a cabo programas de mejoramiento en sus cultivos, dirigiendo la investigación en el aumento del rendimiento de aceite, calidad de aceite y la eliminación de compuestos tóxicos.

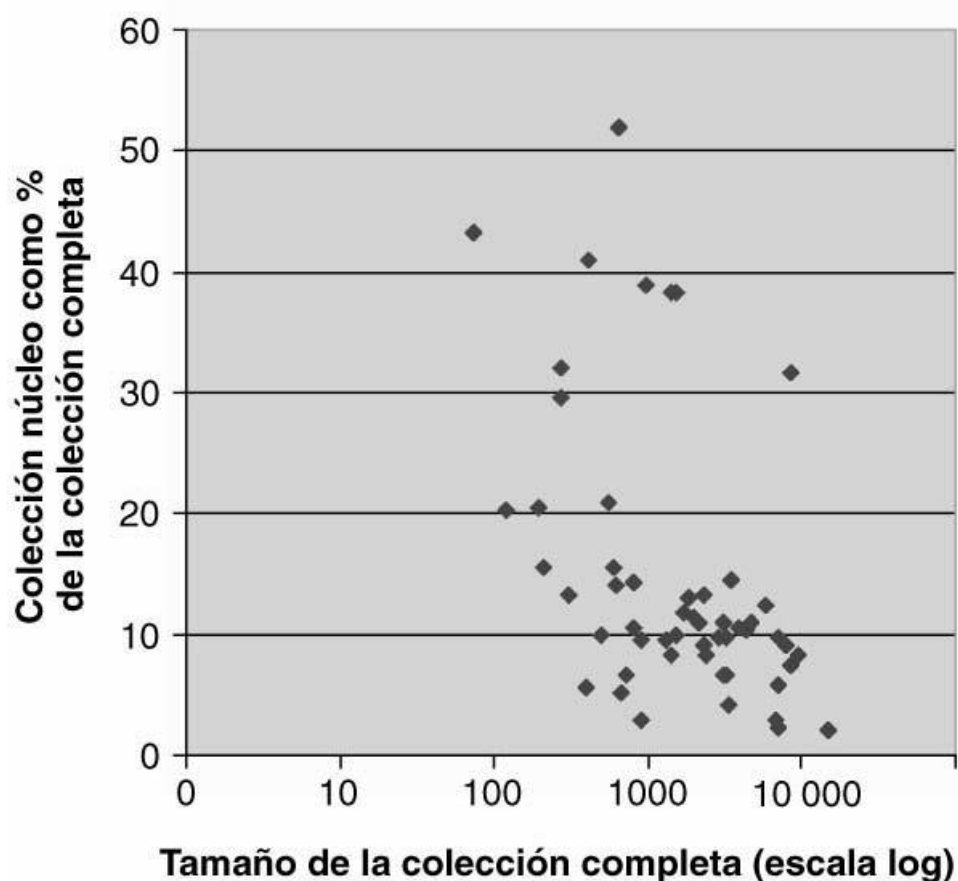


Figura 7. Porcentaje de colección núcleo versus tamaño de la colección completa para 37 colecciones núcleo de cultivos propagados por semilla. Tomado de van Hintum *et al.* (2003)

2.3.3. Importancia económica y medicinal de especies de *Jatropha*

Jatropha contiene numerosas plantas dioicas que comprenden árboles y arbustos pequeños de discontinua distribución principalmente en zonas tropicales y subtropicales del mundo, y han sido utilizadas como plantas medicinales por las poblaciones nativas de estos países (Openshaw, 2000), algunas de ellas contienen compuestos que son altamente tóxicos (He *et al.*, 2011) pero con la detoxificación de las semillas puede ser usado para alimentación animal.

J. curcas vino a ser una prominente fuente de bioenergía dado el alto contenido de aceite en sus semillas y muchas otras mediante extractos de raíces, tallos, hojas y semillas que son comúnmente usadas como medicina curando varias dolencias en África, India (Uthayakumari y Sumathy, 2011) y Centroamérica (Burkill, 1994); además son utilizadas como plantas ornamentales y fuentes de energía (Heller, 1996). Hojas de muchas especies de *Jatropha* han sido reportadas con efectos purgantes, además el látex fresco de muchas de las especies de este género como *Jatropha chevalieri* Beille, *J. elliptica* Muell. Arg., *J. gaumeri* Greenm., *J. glandulifera* Roxb., *J. gossypifolia* Linn., *J. grossidentata* Pax et. Hoffm., *J. integerrima* Jacq., *J. macrantha*, *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. unicostata* y *J. weddelliana* Baillon son utilizadas en el tratamiento de ampollas en la boca (Flores y Ricalde, 1996), espinillas (Zamora-Martinez y de Pascual Pola, 1992), sarna (Manandhar, 1995), úlceras (Gupta *et al.*, 1996), heridas y diarrea (Coe y Anderson, 1996).

Así también, las hojas y semillas de algunas *Jatropha* spp. son usadas como laxante (Klinar *et al.*, 1995). Diversas actividades biológicas han sido detectadas en poblaciones naturales de *Jatropha* spp., las cuales incluyen antimicrobiana (Naengchomnong *et al.*, 1986) y citotóxica (Evans y Taylor, 1983). Las raíces de *J. gossypifolia* y *J. multifida* también han sido empleadas en gente que sufre de lepra y gonorrea, respectivamente (Burkill, 1994).

2.4. GENOTIPIFICACIÓN Y MANTENIMIENTO DE GERMOPLASMA DE *Jatropha*

2.4.1. Diversidad genética por marcadores moleculares en *Jatropha*

Muchas de las especies hasta ahora conocidas con un alto potencial agronómico, ya sea industrial u otras formas de uso de interés antropocéntrico han sido sujetas a programas de protección vegetal debido a su gran importancia genética con cualidades de tolerancia a factores abióticos y bióticos.

En todo el mundo la diversificación de las especies para su uso integral es indispensable, sin embargo, muchas veces su éxito es limitado ya que la base genética del material ha sido poco estudiado ocasionando una baja productividad por una amplia gama de estrés como sequía, salinidad, parásitos, etc. (Bahadur *et al.*, 2013).

La clave para el éxito de cualquier programa de mejoramiento de producción se encuentra en la variabilidad genética adecuada y la disponibilidad de individuos o accesiones con características deseadas. En varias especies de *Jatropha* se está tratando de evaluar el grado de variabilidad utilizando rasgos morfológicos y marcadores moleculares (Bahadur *et al.*, 2013).

Los marcadores moleculares facilitan la detección de diferencias específicas en las secuencias entre dos o más individuos. Son capaces de identificar diferencias a nivel ADN y mejorar muchas especies de cultivo a través de la construcción de una precisa relación filogenética, generación de mapas de ligamiento y en el marcaje y mapeo de características útiles. Los marcadores moleculares son empleados generalmente en el manejo de recursos genéticos para estimar su nivel de diversidad, identificando duplicados en la colección para generar estrategias de conservación para el uso integral de los recursos mediante el entendimiento de la estructura poblacional. Tradicionalmente, la variabilidad es medida a través de variaciones fenotípicas pero la caracterización morfológica y la expresión de caracteres cualitativos están sujetos fuertemente a la influencia del ambiente (He *et al.*, 2007).

2.4.1.1. RAPD

Como los recursos genómicos para especies de *Jatropha* son limitados, marcadores RAPD e ISSR se han empleados en los primeros estudios, ya que no se contaba con la información de genoma (Bahadur *et al.*, 2013). Basha y Sujatha (2007), Gupta *et al.* (2008), Jubera *et al.* (2009), Pamidimarri *et al.* (2010), Ranade *et al.* (2008) han realizado el análisis de diversidad genética en varias accesiones de germoplasma de *Jatropha curcas* colectadas de diferentes regiones de India usando marcadores RAPD, revelando la baja variabilidad inter-accesional y la introducción de genotipos al continente. Sin embargo, la combinación de marcadores RAPD y AFLP en 13 países de 3 continentes (Asia, África y América) revelaron una estrecha diversidad genética (Siam *et al.*, 2009).

2.4.1.2. ISSR

Marcadores microsatélites (Inter repeticiones de secuencia simple, ISSR por sus siglas en inglés) usan oligonucleótidos basados en la amplificación de microsatélites de secuencias simples repetidas. Son marcadores dominantes. Un número ilimitado de primers pueden ser sintetizados de varias combinaciones de di-, tri-, tetra- y pentanucleótidos.

Marcadores de tipo ISSR han sido empleados en la caracterización de germoplasma de *Jatropha curcas* provenientes de India, China y Brasil. Autores como Basha and Sujatha (2007), Gupta *et al.* (2008) y Tanya *et al.* (2011) han realizado estudios de diversidad, con el fin de caracterizar germoplasma tóxico de *Jatropha curcas* de todo el mundo y no tóxico de México, separando completamente las accesiones mexicanas de los agrupamientos en los dendrogramas. De hecho, en el estudio realizado por Basha and Sujatha (2007) dos marcadores ISSR de genotipos tóxicos de India y no tóxicos de México fueron convertidos a marcadores SCAR. Germoplasma de China ha sido también caracterizado por medio de marcadores ISSR revelando altos niveles de diversidad genética (He *et al.*, 2007; Ou *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2010) al igual que germoplasma de Brasil (Grativol *et al.*, 2011).

2.4.1.3. SCAR

Secuencia caracterizada de regiones amplificadas (SCAR, por sus siglas en inglés) son marcadores que fueron introducidos por Michelmore *et al.* (1991) y Martin *et al.* (1991), en el que las terminaciones de los marcadores RAPD e ISSR son secuenciados y los oligonucleótidos se diseñan más largos (22 a 24 bases) para la amplificación de un *locus* en particular. Éstos son más reproducibles que los marcadores RAPD e ISSR. Los marcadores SCAR son

usualmente marcadores dominantes; sin embargo, muchos de ellos pueden ser convertidos a marcadores co-dominantes por digestión con enzimas de restricción. En *Jatropha*, Basha and Sujatha (2007) desarrollaron dos marcadores SCAR (ISPJ-1 e ISPJ-2), para diferenciar genotipos de India y México; subsecuentemente Basha (2009) desarrollo 3 marcadores SCAR (RSPJ-1, RSPJ-2 y SRPJ-3) para diferenciar genotipos no tóxicos mexicanos de genotipos tóxicos colectados del resto del mundo.

2.4.1.4. AFLP

Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP, por sus siglas en inglés) son marcadores que combinan técnicas RFLP con PCR, e involucra la restricción de ADN usando una combinación de cortes frecuentes seguido de una ligación de adaptadores oligonucleótidos; las secuencias definidas incluyen los sitios respectivos a la enzima de restricción y la amplificación selectiva del set de fragmentos de restricción usando primers diseñados específicamente (Breyne *et al.*, 1999).

Numerosos estudios han evaluado el nivel de diversidad genética en germoplasma de China, Asia y México en *J. curca* con técnicas AFLP. Pamidimarri *et al.* (2010) reportaron baja variabilidad genética entre accesiones de *J. curcas* tóxicas de India y una amplia variabilidad entre accesiones tóxicas de India y no tóxicas de México. Sun *et al.* (2008) reportó que el germoplasma evaluado en China pudiese tener el mismo ancestro que Asia y países al noreste de Asia. Tatikonda *et al.* (2009) demostraron por medio de AFLP el agrupamiento de accesiones de acuerdo a su localización geográfica.

2.4.6. Mejora genética de *Jatropha*

Muchas de las especies de *Jatropha* son de polinización cruzada, por lo que para llevar a cabo una mejora genética es indispensable una selección poblacional. La selección de plantas con características deseadas a través de selección masal sería el método más simple de mejoramiento. Las poblaciones pueden ser mejoradas gradualmente manteniendo poblaciones grandes siguiendo el proceso de selección recurrente genotípico, de modo que la variación genética aditiva puede ser utilizada (Heller, 1996).

El sistema reproductivo del género *Jatropha* es de tipo monoico, con flores unisexuales en la misma inflorescencia (Divakara *et al.*, 2010). Son plantas caducifolias, que pierden las hojas en otoño o invierno o en una situación de estrés abiótico. Lo que en la naturaleza, este comportamiento es ventajoso para la planta lo que les ayuda a restringir patógenos y agresiones de plagas (Bahadur *et al.*, 2013).

Dehgan y Webster (1979) mencionan que las plantaciones de *J. curcas* provenientes de semillas presentan alta heterogeneidad fenotípicas y genotípicas (porte de la planta, época y tipo de floración, vigor vegetativo, rendimiento de fruto y aceite); así mismo, la emasculación no es necesaria en invernadero ya que no hay presencia de vectores polinizadores.

2.4.7. Estrategias de conservación y mantenimiento del germoplasma de *Jatropha*

La conservación de la biodiversidad es hoy en día uno de los temas más relevantes y generalizado. La sociedad es cada vez más consciente de la importancia de la flora silvestre como fuente de alimentación, salud, ropa,

combustible, alimento, aceites y lubricantes, gomas, resinas, ceras, colorantes, fibras, energía, sustancias aromáticas y su alto potencial en el uso medicinal (Prance, 1997). La pérdida de recursos genéticos está ocurriendo por la sustitución de variedades tradicionales por cultivares modernos, contribuyendo con el deterioro de los ecosistemas naturales dada la creciente actividad humana.

El Convenio de Diversidad Genética (CBD, por sus siglas en inglés) define dos estrategias de conservación: conservación *in situ* y conservación *ex situ*. Ambas son adaptables en la conservación de germoplasma de especies de *Jatropha* (Bahadur et al., 2013). La conservación *in situ* mantiene y protege ecosistemas o hábitats que albergan la biodiversidad de especies forestales, parientes de las especies silvestres y cultivadas, especies forrajeras y medicinales. La conservación *ex situ* basada en cualquier material vegetal que actúe o tenga un potencial en la agricultura, son estrategias que van desde la conservación *in vitro*, crio-preservación hasta la conservación de material genómico (librerías de cDNA).

2.4.8. Nuevas tendencias en la investigación de *Jatropha*

Entendiendo la metabolómica como una rama de la ciencia que estudia el contenido de metabolitos en una célula o muestra y que con ello nos permite dilucidar sistemas biológicos de una forma a los estudios genómicos, transcriptómicos y proteómicos, pero que a su vez, los complementan y permite la autenticación y validación de los estudios. Esta disciplina tiene un amplio rango de aplicaciones en la investigación básica y en la optimización de los cultivos. Estudios en la agricultura ha sido posible la identificación y

conocimiento de rutas metabólicas para optimizar el desarrollo de los cultivos, la mejora en el rendimiento y resistencia a pesticidas/herbicidas.

Especies del género *Jatropha* han tomado importancia por su diversificación en el uso integral; sin embargo, poco sabemos de ellas. Muchas de las accesiones en el mundo son tóxicas, por lo que los residuos no son convenientes para alimentación animal. Las semillas de *Jatropha* tienen altos contenidos de ácidos grasos polinsaturados, lo que impacta negativamente en la calidad del biocombustible. Además, antes de iniciar cualquier programa convencional de técnicas de cruce molecular, el entendimiento de las funciones génicas y genómicas de *Jatropha* son prerequisites (He *et al.*, 2011).

Se sabe que el género *Jatropha* se encuentra en un estado de domesticación, por lo que no es posible comprender muchos de los efectos fisiológicos, por lo que la metabolómica ofrece información importante del estado fisiológico y funcional del sistema biológico de especies silvestres como *J. pseudocurcas*. La nueva era de las “ómicas” (genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica) desarrollaran importantes aportes en el entendimiento de las rutas metabólicas de muchas de las especies de *Jatropha* (Debnath, 2010).

Maghuly y Laimer (2013) mencionan que a través de las nuevas secuenciaciones del genoma de *Jatropha*, la expresión de genes involucrados en las vías de biosíntesis ha sido más factible el cruzamiento selectivo de especies *Jatropha*, especialmente para la calidad de aceite, rendimiento y baja concentración de toxinas. La identificación de *loci* relevantes podría facilitar la producción de variedades comestibles de doble propósito que pueden ser usadas como fuente de aceite o alimento animal (He *et al.*, 2011).

2.5. LITERATURA CITADA

- ACHTEN, W. M. J., NIELSEN, L. R., AERTS, R., LENGKEEK, A. G., KJAAER, E. D. & TRABUCCO, A. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels*, pp. 97-107.
- BAHADUR, B., SUJATHA, M. & CARELS, N. 2013. *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop. Genetic Improvement and Biotechnology, Springer. pp. 617.
- 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: 812-823.
- 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: 375-386.
- BREYNE, P., ROMBAUT, D., VAN GYSEL, A., VAN MONTAGU, M. & GERATS, T. 1999. AFLP analysis of genetic diversity within and between *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *Molecular and General Genetics* MGG, 261: 627-634.

- BROWN, A. H. D. 1989. The case for core collection, Cambridge U. K., Cambridge University Press. pp. 136-156
- BURKILL, H. M. 1994. The useful plants of west tropical Africa, Kew, Royal Botanic Gardens. Vols. 1-3 1995 pp. 976; 648; 868 pp.
- CAI, Y., SUN, D., WU, G. & PENG, J. 2010. ISSR-Based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. Biomass and Bioenergy, 7: 1-12.
- COE, F. & ANDERSON, G. 1996. Ethnobotany of the garífuna of Eastern Nicaragua. Economic Botany, 50, 71-107.
- DEHGAN, B. & WEBSTER, G. L. 1979. Morphology and infragerenic relationships of the genus *Jatropha* (euphorbiceae), Los angeles, London, University of California Press. pp. 73
- DIVAKARA, B. N., UPADHYAYA, H. D., WANI, S. P. & GOWDA, C. L. L. 2010. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. Applied Energy, 87: 732-742.
- FLORES, J. S. & RICALDE, R. V. 1996. The Secretions and Exudates of Plants Used in Mayan Traditional Medicine. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 4, 53-59.

- FORD-LLOYD, B. & PAINTING, K. 1996. Measuring genetic variation using molecular markers. International plant genetic, pp. 89.
- FRANKEL, O. 1984. Genetic perspectives of germplasm conservation. Genetic manipulation: impact on man and society. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 161-170.
- GRATIVOL, C., DA FONSECA LIRA-MEDEIROS, C., HEMERLY, A. S. & FERREIRA, P. C. G. 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, 4245-4256.
- GUPTA, M. P., MONGE, A., KARIKAS, G. A., LOPEZ DE CERAIN, A., SOLIS, P. N., DE LEON, E., TRUJILLO, M., SUAREZ, O., WILSON, F. & MONTENEGRO, G. 1996. Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. Pharmaceutical Biology, 34, 19-27.
- GUPTA, S., SRIVASTAVA, M., MISHRA, G. P., NAIK, P. K., CHAUHAN, R. S., TIWARI, S. K., KUMAR, M. & SINGH, R. 2008. Analogy of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among

different *Jatropha curcas* genotypes. African Journal of Biotechnology, pp. 7.

HE, W., GUO, L., WANG, L., YANG, W., TANG, L. & CHEN, F. 2007. ISSR Analysis of Genetic Diversity of *Jatropha curcas* L.[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, pp. 466–470.

HE, W., KING, A. J., KHAN, M. A., CUEVAS, J. A., RAMIARAMANANA, D. & GRAHAM, I. A. 2011. Analysis of seed phorbol-ester and curcine content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. Plant physiology and biochemistry, 49, 1183-1190.

HELLER, J. 1996. Physic Nut, *Jatropha curcas* L, Bioversity international.

JUBERA, M. A., JANAGOUDAR, B. S., BIRADAR, D. P., RAVICUMAR, R. L., KOTI, R. V. & PATIL, S. J. 2009. Genetic diversity analysis of elite *Jatropha curcas* (L. genotypes using randomly amplified polymorphic DNA markers. Karnataka J. Agric. Sci, pp. 293-295.

KLINAR, B. S., CASTILLO, R. P., SCHMEDA-HIRCHMANN, G., REYES, S., THEODULOZ, C., RAZMILIC, B. I. & CHANG, C. A. 1995. Biological activity of medicinal plants of Ica (Peru). Fitoterapia, 66, 341-345.

- KÖPPEN, W. P., GEIGER, R., BORCHARDT, W., WEGENER, K., WAGNER, A., KNOCH, K., SAPPER, K., WARD, R. D., BROOKS, C. F. & CONNOR, A. J. 1923. Handbuch der klimatologie, Gebrüder Borntraeger Berlin, Germany. pp. 17
- MAKKAR, H. P. S., ADERIBIGBE, A. O. & BECKER, K. 1998. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. Food Chemistry, 62: 207-215.
- MANANDHAR, N. 1995. An inventory of some herbal drugs of Myagdi district, Nepal. Economic Botany, 49: 371-379.
- MARTIN, G. B., WILLIAMS, J. G. & TANKSLEY, S. D. 1991. Rapid identification of markers linked to a Pseudomonas resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. Proceedings of the National Academy of Sciences, 88, 2336-2340.
- MARTÍNEZ, G. M., JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J., CRUZ DUREAN, R., JUÁREZ ARRIAGA, E., GARCÍA, R., CERVANTES, A. & MEJÍA HERNÁNDEZ, R. 2002. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. Anales Inst. Biol. UNAM Serie Bot., 73, 155-281.

- MICHELMORE, R. W., PARAN, I. & KESSELI, R. V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88: 9828-32.
- NAENGCHOMNONG, W., THEBTARANONTH, Y., WIRIYACHITRA, P., OKAMOTO, K. T. & CLARDY, J. 1986. Isolation and structure determination of four novel diterpenes from *Jatropha curcas*. *Tetrahedron Letters*, 27, 2439-2442.
- OPENSHAW, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy*, 19: 1-15.
- OU, W. J., WANG, W. Q. & LI, K. M. 2009. Molecular genetic diversity of 120 accessions of *Jatropha curcas* L. germplasm Chinese. *Trop. Crops*, pp. 284-292.
- PAMIDIMARRI, D. V. N. S., MASTAN, S., RAHMAN, H. & REDDY, M. 2010. Molecular characterization and genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. in India using RAPD and AFLP analysis. *Molecular Biology Reports*, 37: 2249-2257.

- PORRAS, F., MADRID, J. L. C., ROMERO, M. V., PEÑA, P. S., ESPAÑA, R. G. L., TERRAZA, S. P. & VERDUGO, S. H. 2008. Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, pp. 31.
- RANADE, S. A., SRIVASTAVA, A. P., RANA, T. S., SRIVASTAVA, J. & TULI, R. 2008. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. *Biomass and Bioenergy*, 32: 533-540.
- RODRÍGUEZ-ACOSTA, M., VEGA-FLORES, K., DE GANTE-CABRERA, V. H. & JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J. 2009. Distribución del genero *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, pp. 37-48.
- SIAM, P., DIEGO, B., SUGATHA, M., HARINDER, P. S. M., MANISH, R., ATTIPALLI, R. R., ENRICO, P., ANGHANGARAD, M. R. G., J. KEITH, S., ANTHONY, G. & AJAY, K. 2009. Narrow genetic and apparent phenetic diversity in *Jatropha curcas*: initial success with generating low phorbol ester interspecific hybrids. *Nature presevings*. pp. 44.

- SOLOMON RAJU, A. J. & EZRADANAM, B. 2002. Flowering phenology and sexual system in *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). Proc. AP Acad. Sci., pp. 203-206.
- STANDLEY, P. C. 1920. Trees and Shrubs of Mexico: Oxalidaceae-Turneraceae, Washington, USA, Government Printing Office. pp. 1643.
- STEINMANN, V. W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. Acta Botánica Mexicana, pp. 61-93.
- 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: 252-264.
- 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: 505-513.
- TORAL, O. C., IGLESIAS, J. M., MONTES DE OCA, S., SOTOLONGO, J. A., GARCÍA, S. & TORSTI, M. 2008. *Jatropha curcas* L., una especie

arbórea con potencial energético en Cuba. Pastos y Forrajes, 31: 1-1.

UTHAYAKUMARI, F. & SUMATHY, M. 2011. Pharmacognostical studies on the endemic medicinal plant–*Jatropha maheswarii* Subr. & Nayar (Euphorbiaceae). International Journal of PharmTech Research, 3: 2169-2174.

VAN HINTUM, J. L., BROWN, A. H. D., SPILLANE, C. & HODGKIN, T. 2003. Colecciones núcleo de recursos fitogenéticos. IPGRI Boletín Técnico, pp. 44.

WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. 1991. The families of angiosperms: automated descriptions, with interactive identification and information retrieval. Australian Systematic Botany, 4: 681-695.

ZAMORA-MARTINEZ, M. C. & DE PASCUAL POLA, C. N. 1992. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. J Ethnopharmacol, 35: 229-57.

2.6. MEDIOS ELECTRÓNICOS

FINEPIX400, F. Fruto de *Jatropha. pseudocurcas* [Online]. Available <https://m.flickr.com/#/photos/arboldelavida> [Accessed Oct 19 2014].

HERBARIO XAL DEL INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A. C. M. E. I.-X. 2014.

Distribución de *Jatropha pseudocurcas* en México. [Online].

Available: <http://data.gbif.org/datasets/resource/10980>,2014-10-20

[Accessed Oct 19 2014].

3. CAPÍTULO 2

CARACTERIZACIÓN DE *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg.: ESTABLECIMIENTO DE COLECCIÓN NÚCLEO DE OAXACA UTILIZANDO AFLP

CHARACTERIZATION OF *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg.: ESTABLISHMENT OF CORE COLLECTION OF OAXACA USING AFLP

Jefferson Uvaldo Pérez Pérez¹, J. Axayácatl Cuevas Sánchez²,
Baldomero Alarcón Zuñiga³

RESUMEN

Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) fueron utilizados para medir la variación genética de 94 individuos de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. endémicas de Huajolotitlán, Oaxaca, México. Para generar un total de 398 bandas 22 combinaciones de primers fueron utilizados de las cuales 155 fueron polimórficas. En la colección núcleo de *J. pseudocurcas* el promedio de heterocigosidad esperada (H_t) fue moderada (0.38). El número de variables por *loci* en la población (N_p) fueron 155 y el porcentaje de polimorfismo fue de 100%. La diversidad genética esperada en la población (H) fue 0.38 y la riqueza de diversidad en la colección núcleo (I) fue de 0.56. La migración genética entre las subpoblaciones (N_m) fue de 1.61. Todos los índices indican un nivel alto de variabilidad genética en la colección núcleo de *J. pseudocurcas*. El dendrograma basado en el método de agrupación FLEXI y mediante una línea de corte en el coeficiente de Jaccard a 0.21 dividió la colección núcleo en tres subpoblaciones. Corroborando con el análisis de coordenadas principales (ACoP) indica que la colección núcleo se encuentra dispersa espacialmente. Además, el análisis de varianza molecular indica que el 3% de la variación genética está entre las subpoblaciones y el 97% de la variación genética entre las subpoblaciones. Se encontró que la subpoblación tres está aislada de las otras dos subpoblaciones, lo que sugiere un origen común. Este tipo de estudios conduce a ampliar las bases genéticas en el desarrollo de la especie y la integración de “colección núcleo” para su posterior conservación como especie silvestre, el entendimiento de la composición de la población en el proceso de domesticación y producción agrícola en el mundo.

Palabras Clave: Especie silvestre, AFLP, diversidad genética, conservación *in situ*.

ABSTRACT

Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) was used to measure genetic variation in 94 individuals of *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. Endemic of Huajolotitlan, Oaxaca, Mexico. To generate a total of 398 bands, 22 primers combinations were used of which 155 were polymorphic bands. In the core collection of *J. pseudocurcas* the average of expected heterozygosity (H_t) was moderate 0.38. The number of polymorphic *loci* in the population (N_p) was 155 and the percentage of polymorphic *loci* (P_p) was 100 %. The expected genetic diversity in the population (H) was 0.38 and the richness of current diversity in the core collection (I) was 0.56, The genetic migration between subpopulations (N_m) was 1.61. All indexes indicate a moderate level of genetic variability in the core collection of *J. pseudocurcas*. The dendrogram based on grouping FLEXI method and by establishing a cut to a Jaccard similarity coefficient to 0.21, divided the core collection into three subpopulations. Corroborated by the principal coordinate analysis (PCoA) indicates that the core collection is dispersed spatially, however, AMOVA analysis indicates that 3 % of the genetic variation is among the subpopulations, and 97 % of genetic variation within the subpopulations. We found that the subpopulation 3 is isolated from other subpopulations, suggesting a common origin. The research can lead to amplify the base genetic involve in the breeding improvement, and the integration of “core collections” for long-term preservation like wild species, understanding the population background in the process of domestication and agricultural production in the world.

Keywords: Wild species, AFLP, genetic diversity, *in situ* conservation.

3.1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la diversidad genética en especies silvestres genera datos importantes considerados como la base para el estudio y desarrollo de recursos vegetales, así también de recursos naturales y antropocéntricos. Estas plantas representan un recurso natural renovable de supervivencia ya que la diversidad es parte integral del desarrollo sustentable del medio ecológico previendo estabilidad económica y calidad de vida. El abuso de la naturaleza causa la dispersión de especies silvestres amenazando la supervivencia de otros hábitats.

Jatropha spp. pertenece a la familia *Euphorbiceae*, y comprende aproximadamente 199 especies (The Plant List, 2014) de las cuales 48 se encuentran distribuidas en México (Steinmann, 2002). El origen de *Jatropha* no es conocido, sin embargo, se cree que es nativo de México y Centro América (Achten *et al.*, 2010). Son arbustos de 3 a 4 metros de altura, sus hojas de 10 a 20 cm de ancho y forma de corazón en la base, es pubescente (aterciopelado – piloso) en la parte superior, su fruto es una cápsula seca dehiscente (Standley, 1920), es una especie oleaginosa principalmente localizada en los estados de Jalisco, Oaxaca, Tabasco, Veracruz y ahora se registra en la porción poblana del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en bosque tropical caducifolio a 1895 m.s.n.m. en clima cálido. Se le encuentra asociada con *Bursera fagaroides*, *Bursera* spp., *Mimosa* sp. y *Opuntia imbricata* (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009).

El análisis de diversidad genética en varias accesiones colectadas en regiones de India han sido reportadas por Basha and Sujatha (2007), Ranade *et al.* (2008), Jubera *et al.* (2009), Pamidimarri *et al.* (2010), usando marcadores RAPD, revelando una baja variabilidad en los genotipos inter-accesionales.

Además la combinación de marcadores RAPD con AFLP de 13 países en 3 continentes (Asia, África y América) revelaron una estrecha diversidad genética (Siam *et al.*, 2009). Así mismo, marcadores ISSR han sido empleados en la caracterización de germoplasma de India, China y Brasil por Gupta *et al.* (2008) y Rosado *et al.* (2010) quienes condujeron sus estudios de diversidad genética en la caracterización de germoplasma toxico de todo el mundo y no toxico de México, separando completamente las accesiones mexicanas de los agrupamientos en los dendrogramas. Basha and Sujatha (2007) desarrollaron dos marcadores SCAR (ISPJ-1 e ISPJ -2) de diferentes genotipos de India y México, subsecuentemente (Basha *et al.*, 2009) desarrollo tres marcadores SCAR (RSPJ-1, SRPJ -2 e RSPJ-3) para diferenciar genotipos no tóxicos de México de genotipos tóxicos de todo el mundo. La técnica AFLP ha sido usada para mensurar el nivel de diversidad genética en germoplasma de *Jatropha* en China, Asia y México. Pamidimarri *et al.* (2010) reportó baja variabilidad genética entre las accesiones de *J. curcas* de India y una amplia variabilidad entre las accesiones tóxicas de India y no tóxicas de México. Sun *et al.* (2008) reportó que el germoplasma evaluado en China podría tener los mismos ancestros que en Asia y países del noreste de Asia. Tatikonda *et al.* (2009) demostró el agrupamiento de accesiones de acuerdo a su localización geográfica mediante AFLP. En México, varios estudios de germoplasma de Puebla (Cabrera, 2012, Ramírez, 2010), Chiapas (Pecina-Quintero *et al.*, 2011) han revelado altos niveles de diversidad (Basha *et al.*, 2009; Ambrosi *et al.*, 2010; Sato *et al.*, 2011).

Dados los antecedentes considerados, AFLP fue empleado para mensurar el nivel de diversidad genética y estructura poblacional de 94 individuos de

Jatropha pseudocurcas para generar una colección núcleo lo cual permitirá la identificación de material útil para un mejoramiento futuro de la especie.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Material vegetal

94 individuos fueron colectados al azar de una población silvestre de Santiago Huajolotitlán, Oaxaca, México, en septiembre de 2013.

3.2.2. Extracción de ADN.

La extracción de ADN se llevó a cabo de acuerdo al método de Ausubel *et al.*, (1994) con algunas modificaciones. Las muestras de tejido vegetal se secaron en frío con un liofilizador LabConco (6L), durante 4 días a -40 °C. Las muestras fueron pulverizadas y almacenadas a -20 °C. La calidad de ADN fue analizada por electroforesis en un gel de agarosa al 0.8 % y la concentración fue cuantificada entre 300 y 500 ng μ^{-1} por medio de un espectofotometro NanoDrop™ 1000.

3.2.3. Análisis molecular de AFLP

Un total de 29 *EcoRI/MseI* combinaciones fueron analizadas con 5 submuestras al azar para realizar la amplificación selectiva de los primers. El total de bandas polimórficas vario entre 8 y 30, basado en estos resultados se seleccionaron 11 combinaciones de primer que revelaron altos polimorfismos y definición de las bandas para estimar la diversidad genética de una colección núcleo de *Jatropha pseudocurcas* (Cuadro 4).

El Análisis de AFLP se realizó de acuerdo a Vos *et al.* (1995). El ADN fue digerido con *EcoRI* y *MseI*. Para la digestión se emplearon 2.5 μ L de buffer 5X, 5.0 μ L de ADN (20 ng/ μ L), 1.0 μ L *EcoRI/MseI*, y 4.0 μ L de agua desionizada, a 37 °C por 120min, 70 °C por 15min y almacenado a 4 °C. La ligación se hizo

con una mezcla de 12.0 μL de adapter mix, 0.5 μL T4 ADN ligasa; las condiciones fueron a 20 °C por 120 min y almacenado a 4 °C. Los productos de amplificación fueron usados para la pre-amplificación, constituido por 2.5 μL dilución ADN (1:10), 20.0 μL AFLP pre-amp primer mix, 2.5 μL PCR reaction buffer 10X, 0.5 μL Taq ADN polimerasa (5U./ μL); las condiciones de termociclador fueron: 20 ciclos de desnaturalización 94 °C por 30 seg, alineación a 56 °C por 1min, extensión a 72 °C por 1min y un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. El producto de PCR fue llevado a una dilución 1:40 (5 μL de producto PCR pre-amplificado + 195 μL de agua desionizada) y se almacenó a -20 °C.

Las reacciones para la amplificación selectiva se llevaron a cabo en dos segmentos, el contenido de la mezcla de PCR fue 2.0 μL dilución ligación mix (1:40), 2.0 μL primer I 20 pM (10 pM/ μL), 2.0 μL primer II 20 pM (10 pM/ μL), 0.5 μL dNTP 2.5 mM, 1.5 μL PCR reaction buffer 10X, 0.1 μL Taq ADN polimerasa (5U./ μL), y 6.9 μL agua desionizada; las condiciones fueron: el primer segmento, 12 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 seg, alineación a 65 °C por 30 seg y extensión a 72 °C por 1 min (la temperatura de alineación fue reducida 0.7 °C por cada ciclo durante los primeros 12 ciclos). El segundo segmento consistió de 23 ciclos a: ciclo de desnaturalización a 94 °C por 30 seg, alineación a 56 °C por 30 seg, extensión a 72 °C por 1min y se almacenó a -20 °C.

3.2.4. Análisis estadístico

En los análisis estadísticos de cada combinación de oligonucleótidos polimórficos, se consideraron los amplicones presentes y ausentes de la colección núcleo en una matriz binaria usando el programa POPGENE versión

3.31 (Yeh *et al.*, 1999). El análisis de varianza molecular fue realizado en los datos de frecuencia alélica para estimar la varianza genética dentro y entre las subpoblaciones usando GenAEx versión 6.3 (Peakall and Smouse, 2006). La similitud genética fue calculada usando el coeficiente de similitud de Jaccard. Un dendrograma fue calculado usando el índice de diversidad genética de Nei y un método de agrupamiento FLEXI. Además, el grado de relación entre poblaciones fue analizada por el método multivariado, usando análisis de coordenadas principales por NTSYS versión 2.11 (Porras *et al.*, 2008) .

3.3. RESULTADOS

Un total de 155 amplicones polimórficos informativos fueron generados a partir de 11 combinaciones de oligonucleótidos tipo AFLP (Cuadro 1). El total de diversidad genética (H_t) fue 0.38 y la diversidad entre accesiones (H_s) fue 0.29. El flujo genético (N_m) estimado fue 1.62, valores de flujo genético por debajo de 0.5 son considerados con un nivel alto de homocigosis por deriva génica en la colección núcleo (Cuadro 2). El análisis molecular de varianza indicó que el 3% de la variación se encuentra entre subpoblaciones y el 97 % de variación dentro de las subpoblaciones (Cuadro 4).

Cuadro 1. Combinaciones de oligonucleótidos de AFLP polimórficos empleados para la caracterización molecular de *Jatropha. pseudocurcas*

Secuencia	Total de bandas	Bandas Monomórficas	Bandas	Porcentaje de
			Polimórficas	polimorfismo
E-ACC / M-CAC	25	17	8	32
E-AAC / M-CTA	43	19	24	55.81
E-AAC / M-AGG	49	19	30	61.22
E-AGG / M-CAC	34	20	14	41.18
E-AGG / M-CTC	38	26	12	31.58
E-ACT / M-CAC	29	19	10	34.48
E-AGG / M-CTT	40	28	12	30
E-ACT / M-CTA	29	24	5	17.24
E-ACC / M-CTC	35	22	13	37.14
E-AGG / M-CAT	43	25	18	41.86
E-ACG / M-CAA	33	24	9	27.27
TOTAL	398	243	155	
Promedio	66.33			37.25 %

Los parámetros de diversidad genética de las subpoblaciones generadas de 94 individuos de *J. pseudocurcas* se muestran en la Cuadro 3 donde en general la diversidad fue alta. El número total de *loci* polimórficos (Np) oscilo de 66 a 153 con una media generada de 122, el porcentaje de *loci* polimórficos (Pp) oscilo de 42 % a 98 %, con una media generada de 79 %. La subpoblación uno tiene el mayor número de *loci* polimórficos (Np) con 153 y el más alto porcentaje de *loci* polimórficos (Pp) en 98 %. El número de alelos observados por *locus* polimórfico (Na) y el número de alelos efectivos por *locus* polimórfico (Ne) fueron moderadamente altos entre las subpoblaciones. El índice de diversidad genética de Nei (H) e índice de Shannon (I) calculado para cada una de las subpoblaciones fue moderadamente alto entre las subpoblaciones. Sin

embargo, la subpoblación 3 presentó bajos niveles (0.15 y 0.23, respectivamente).

Cuadro 2. Estimadores de diversidad genética de la colección de *Jatropha pseudocurcas* estudiada.

Población	Na*	Ne*	H*	I*	Np	Pp
<i>Colección núcleo de J. pseudocurcas</i>	2,000	1,680	0,385	0,566	155,0	100,00
Subpoblación 1	2	1,65	0,37	0,55	155	100
Subpoblación 2	1.99	1,65	0,37	0,54	154	99.35
Subpoblación 3	1.42	1.26	0.19	0.23	66	42.58
Promedio	1.8	1.52	0.31	0.44	125	80.64

Na*= Número de alelos observados. Ne= Número efectivo de alelos. H*= Índice de diversidad genética de Nei (1973), I*= Índice de Shanon, Np= Número de *loci* polimórficos, Pp= Porcentaje de *loci* polimórficos

El dendrograma de relaciones genéticas basado en el método de agrupamiento FLEXI se muestra en la figura 8. La distancia genética de los 94 individuos fueron estimadas por el coeficiente de similitud de Jaccard oscilando de -0.29 a 0.84.

La población de 94 individuos fue clasificada en 3 principales subpoblaciones (Fig. 9). La subpoblación I con 50 individuos, la subpoblación II con 43 individuos y la subpoblación III con 3 individuos. El resultado del análisis de coordenadas principales muestra que hay un patrón espacial en la ubicación de los individuos similar a lo observado en el dendrograma.

Cuadro 3. Análisis de diversidad genética de Nei de la colección de *Jatropha pseudocurcas* estudiada.

Ht	Hs	Gst	Nm*
0.38	0.3	0.24	1.61
Ht= diversidad genética total, Hs= diversidad genética entre subpoblaciones, Gst= Coeficiente de diferenciación genética, Nm*= Flujo genético			

3.4. DISCUSIÓN

El empleo de fragmentos de longitud de polimórficos amplificados (AFLP, por sus siglas en inglés) fueron de gran apoyo para mensurar la diversidad así como las relaciones filogenéticas de *J. pseudocurcas*. Estudios de AFLP han sido reportados con gran efectividad en *Jatropha curcas* L. (Tatikonda *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2011; Cabrera, 2012). Estudios de diversidad genética en India, África y México han revelado un grado moderado de diferenciación entre poblaciones de *J. curcas* L. He *et al.* (2007) y Zhang *et al.* (2011) estudiaron la diversidad genética entre poblaciones de *J. curcas* L. provenientes de China obteniendo un G_{ST} = 0.53 y 0.29, respectivamente. (Ambrosi *et al.*, 2010) reportaron valores de F_{ST} = 0.20 indicando una amplia variabilidad genética entre colecciones de *J. curcas* L. de América, Asia y África. En este estudio el promedio esperado de heterocigocidad en el total de la población de *J. pseudocurcas* para todos los *loci* (Ht) fue 0.38 y el promedio esperado de heterocigocidad dentro de las subpoblaciones para todos los *loci* fue 0.29. Por lo que el grado de diferenciación obtenido en este estudio (G_{ST} = 0.23) comparado con datos de India, África y México (Ovando-Medina *et al.*, 2011a; Ovando-Medina *et al.*, 2011b) en *J. curcas* indican que el grado de diferenciación encontrada en *J. pseudocurcas* proveniente de Oaxaca es moderado; 23% de la variación genética es debida a la diferenciación en la

población natural estudiada. Un menor grado de diferenciación G_{ST} es esperado en estudios en áreas geográficas pequeñas que en estudios con áreas más grandes.

Los parámetros de diversidad genética mostraron que el número de *loci* variables en la colección estudiada (P_p) osciló del 42 % al 98 %, similar a los resultados obtenidos en *Jatropha curcas* L. en México (Pecina-Quintero *et al.*, 2011). Esto indica que el nivel de variabilidad genética dentro de la colección evaluada y la capacidad de recombinación están confirmados con los datos de flujo genético.

La migración de genes en la colección núcleo (N_m) fue de 1.62, lo que indica que actúa como una fuerza que mantiene la cohesión de la población y es clasificada como una unidad evolutiva independiente (Stalling, 1994). Valores genéticos por arriba de uno exceden los efectos de la deriva genética y previenen la diferenciación local (Piñero *et al.*, 2008). Uno de los principales factores que influyen en el intercambio genético entre las subpoblaciones de *J. pseudocurcas* son principalmente especies de polinización cruzada, resultando en alto grado de diversidad (Ginwal *et al.*, 2004). Además, es sabido que muchas especies de *Jatropha* mexicanas contienen bajos niveles de toxicidad (He *et al.*, 2011), lo que sugiere que la dispersión de semillas es por medio de animales como aves o roedores. Hambrick *et al.* (1992) menciona que especies arbustivas de cuales las semillas son ingeridas por animales mantienen significativamente una alta diversidad genética que otras con diferentes formas de dispersión.

El análisis molecular de varianza revela que la heterogeneidad dentro de la colección estudiada con respecto al nivel de diversidad alélica de las

subpoblaciones de *J. pseudocurcas* fue de 97 %, mayor que la heterogeneidad entre las subpoblaciones (3 %), sugiriendo que los individuos están más estrechamente relacionados con su propia subpoblación comparado con individuos de otras subpoblaciones. Ninguno de los marcadores analizados fue capaz de revelar alguno distintivo de una subpoblación a otra subpoblación por lo que se recomienda realizar diferentes combinaciones de primers.

Cuadro 4. Análisis molecular de varianza (AMOVA) de 94 individuos de *Jatropha pseudocurcas* que constituyen la colección de Oaxaca, México.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de Variación	%	p
Entre subpoblaciones	2	2.5	0.02	3%	0.01
Dentro de subpoblaciones	94	59	0.63	97 %	0.01
Total	187	93.64	0.65		

El dendrograma FLEXI dividió a los 94 individuos en 3 grupos principales (Fig. 8); los agrupamientos I y II mostraron una heterocigosidad (H) moderadamente alta 0.37. El número de *loci* polimórficos (Np) y el porcentaje de *loci* polimórficos (Pp) oscilaron en 99% para ambas subpoblaciones. El tercer agrupamiento mostró bajos niveles de diversidad esperada para todos los casos de diversidad genética. Con el análisis de coordenadas principales (ACoP) (Fig. 9) fue posible identificar las tres subpoblaciones, en la subpoblación III, coincidiendo los mismos individuos que en el dendrograma por el método FLEXI.

Los resultados de este estudio confirman la alta diversidad genética contenida en la colección núcleo de *J. pseudocurca* endémica de Oaxaca. Hay una alta

probabilidad de que el germoplasma estudiado tenga orígenes en la misma región de colecta. Los resultados de varios parámetros de diversidad genética y agrupamiento indican que la población de *J. pseudocurcas* es considerada como una colección núcleo al contar con más del 70% de polimorfismos y representar al menos el 10 % de la colección completa en México (Brown, 1989); en general la colección núcleo de *Jatropha pseudocurcas* representa un recurso potencialmente útil en el desarrollo sustentable antropocéntrico, así como en programas de mejora para la especie.

Con el conocimiento y conservación de una amplia base genética se reducirán los riesgos de endogamia, abortos de embrión, reducción en la producción de semilla y su germinación, así como el inicio de líneas de investigación conducentes a su cultivo y quizá procesos de domesticación. Por lo tanto, el manejo de los recursos intraespecíficos juega un papel importante en la domesticación y determinación de la estabilidad ecológica de los sistemas agrícolas.

Se debe hacer un gran énfasis en llevar a cabo programas de conservación de germoplasma silvestre endémico de México para ampliar la base genética del género *Jatropha* spp. susceptible de desarrollarse como recurso .

3.5. CONCLUSIONES

Los marcadores AFLP fueron altamente informativos en la determinación de la diversidad genética de 94 individuos silvestres de *J. pseudocurcas* endémicos de Santiago Huajolotitlán, Oaxaca, México,

Los índices de Nei y Shannon revelaron que existe una amplia variabilidad genética en los materiales estudiados.

El estudio hace reflexionar en las posibilidades de su aprovechamiento para contribuir a programas de mejoramiento genético de la especie estudiada.

3.6. AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del Biólogo Héctor Cervantes Maya y al C. Martín López Carrera por su valiosa asesoría y participación durante la colecta de material vegetal. A M.C. Itzel Villegas Velázquez del Laboratorio de Genética Molecular en la fase de extracción de ADN y análisis AFLP. A CONACYT por la beca otorgada para llevar a cabo los estudios de maestría. Agradezco a los profesores Ph. D. Baldomero Alarcón Zúñiga, Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez y Ph. D. Jaime Sahagún Castellanos por sus valiosos comentarios en la redacción del artículo.

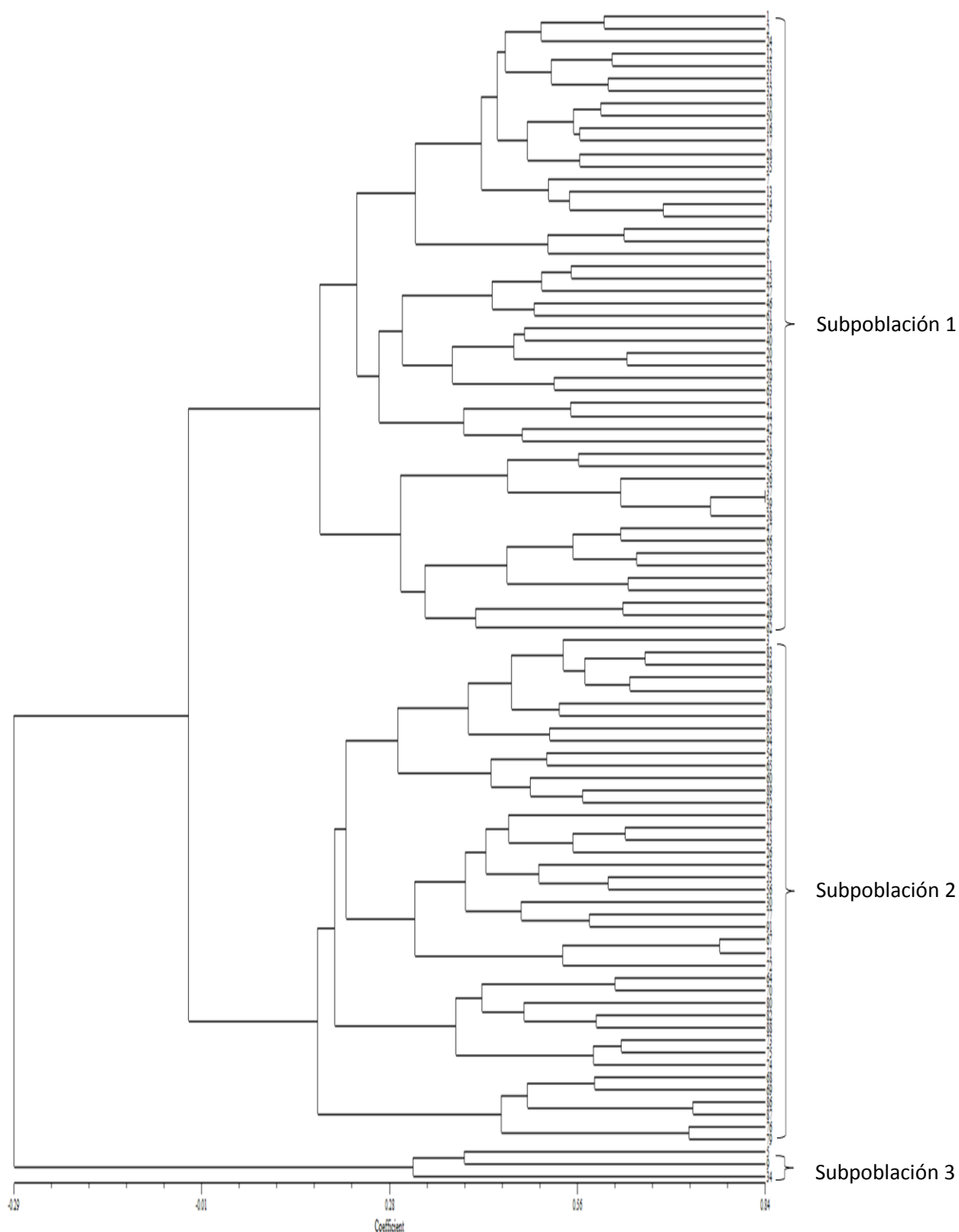


Figura 8. Dendrograma de 94 individuos de *Jatropha pseudocurcas* mediante el análisis de diversidad genética de Nei (1978), con 1000 replicaciones bootstrap. La escala representa el coeficiente de similitud de Jaccard.

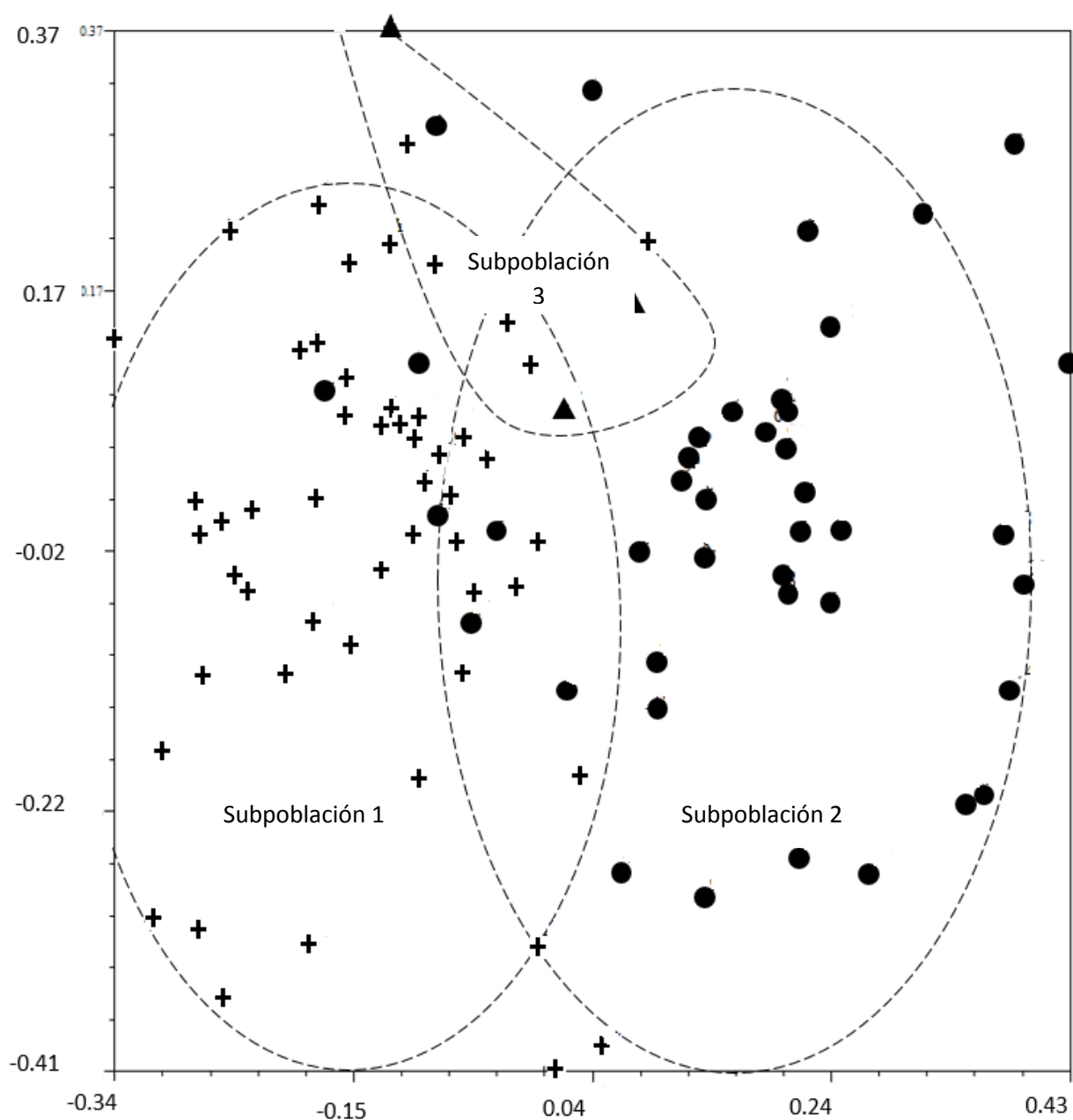


Figura 9. Análisis de coordenadas principales que muestran la distribución de 94 individuos de *Jatropha pseudocurcas*.

3.7. LITERATURA CITADA

- ACHTEN, W. M. J., NIELSEN, L. R., AERTS, R., LENGKEEK, A. G., KJAAER, E. D. & TRABUCCO, A. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels*, pp. 97-107.
- 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: 810-836.
- AUSUBEL, F. M., BRENT, R., KINGSTON, R. E., MOORE, D. D., SEIDMAN, J. G., SMITH, J. A. & STRUHL, K. 1994. *Current protocols in molecular biology* New York City, NY: Jhon Wiley&Sons Inc. pp. 471.
- 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: 812-823.
- 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: 375-386.

- BROWN, A. H. D. 1989. The case for core collection, Cambridge U. K., Cambridge University Press. pp. 136-156.
- CABRERA, M. M. 2012. Relaciones filogenéticas de poblaciones nativas no-tóxicas de *Jatropha curcas* L. usando marcadores moleculares. Licenciatura, Universidad Autónoma Chapingo. pp. 44.
- GINWAL, H. S., RAWAT, P. S. & SRIVASTAVA, R. L. 2004. Seed source variation in growth performance and oil yield of *Jatropha curcas* Linn. in central India. *Silvae Genetica*, 53: 186-191.
- GUPTA, S., SRIVASTAVA, M., MISHRA, G. P., NAIK, P. K., CHAUHAN, R. S., TIWARI, S. K., KUMAR, M. & SINGH, R. 2008. Analogy of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different *Jatropha curcas* genotypes. *African Journal of Biotechnology*, pp. 7.
- HAMBRICK, J. L., GUDT, M. J. & SHERMAN-BROYLES, S. L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in wood plant species. *New For*, pp. 95-124.
- HE, W., GUO, L., WANG, L., YANG, W., TANG, L. & CHEN, F. 2007. ISSR Analysis of Genetic Diversity of *Jatropha curcas* L.[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, pp. 466–470.

- HE, W., KING, A. J., KHAN, M. A., CUEVAS, J. A., RAMIARAMANANA, 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: 1183-1190.
- JUBERA, M. A., JANAGOUDAR, B. S., BIRADAR, D. P., RAVICUMAR, R. L., KOTI, R. V. & PATIL, S. J. 2009. Genetic diversity analysis of elite *Jatropha curcas* (L. genotypes using randomly amplified polymorphic DNA markers. Karnataka J. Agric. Sci, pp. 293-295.
- OVANDO-MEDINA, I., ESPINOSA, G. F., NÚÑEZ, F. J. & SALVADOR, F. M. 2011a. Genetic variation in Mexican *Jatropha curcas* L. estimated with seed oil fatty acids. Oleo Sci, pp. 301-311.
- OVANDO-MEDINA, I., SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, A., ADRIANO-ANAYA, L., ESPINOSA-GARCÍA, F., NÚÑEZ-FARFÁN, J. & SALVADOR-FIGUEROA, M. 2011b. Genetic Diversity in *Jatropha curcas* Populations in the State of Chiapas, Mexico. Diversity, 3: 641-659.
- PAMIDIMARRI, D. V. N. S., MASTAN, S., RAHMAN, H. & REDDY, M. 2010. Molecular characterization and genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. in India using RAPD and AFLP analysis. Molecular Biology Reports, 37: 2249-2257.

- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol. Ecol. Notes, pp. 288-295.
- PECINA-QUINTERO, V., ANAYA-LÓPEZ, J. L., COLMENERO, A. Z., GARCÍA, N. M., NÚÑEZ COLÍN, C. A., SOLIS BONILLA, J. L., AGUILAR-RANGEL, M. R., GILL LANGARICA, H. R. & MÉJIA BUSTAMANTE, D. J. 2011. Molecular characterisation of *Jatropha curcas* L. genetic resources from Chiapas, México through AFLP markers. Biomass and Bioenergy, 35: 1897-1905.
- PIÑERO, D., BARAHONA, A., EGUIARTE, L., ROCHA OLIVARES, A. & SALAS LIZANA, R. 2008. La variabilidad genética de las especies, aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. Capital Natural de México. México: CONABIO. pp. 23.
- PORRAS, F., MADRID, J. L. C., ROMERO, M. V., PEÑA, P. S., ESPAÑA, R. G. L., TERRAZA, S. P. & VERDUGO, S. H. 2008. Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México. Revista Fitotecnia Mexicana, pp. 31.
- RAMÍREZ, B. E. 2010. Tolerancia a la desecación y caracterización de semillas de piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) colectadas en el

Totonacapan. Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados. pp. 85.

RANADE, S. A., SRIVASTAVA, A. P., RANA, T. S., SRIVASTAVA, J. & TULI, R. 2008. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. Biomass and Bioenergy, 32: 533-540.

RODRÍGUEZ-ACOSTA, M., VEGA-FLORES, K., DE GANTE-CABRERA, V. H. & JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J. 2009. Distribución del genero *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. Polibotánica, pp. 37-48.

ROSADO, T. B., LAVIOLA, B. G., FARIA, D. A., PAPPAS, M. R., BHERING, L. L., QUIRINO, B. & GRATTAPAGLIA, D. 2010. Molecular Markers Reveal Limited Genetic Diversity in a Large Germplasm Collection of the Biofuel Crop *Jatropha curcas* L. in Brazil All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. Permission for printing and for reprinting the material contained herein has been obtained by the publisher. Crop Sci., 50: 2372-2382.

- SATO, S., HIRAKAWA, H., ISOBE, S., FUKAI, E., WATANABE, A., KATO, M., KAWASHIMA, K., MINAMI, C., MURAKI, A., NAKAZAKI, N., TAKAHASHI, C., NAKAYAMA, S., KISHIDA, Y., KOHARA, M., YAMADA, M., TSURUOKA, H., SASAMOTO, S., TABATA, S., AIZU, T., TOYODA, A., SHIN-I, T., MINAKUCHI, Y., KOHARA, Y., FUJIYAMA, A., TSUCHIMOTO, S., KAJIYAMA, S., MAKIGANO, E., OHMIDO, N., SHIBAGAKI, N., CARTAGENA, J. A., WADA, N., KOHINATA, T., ATEFEH, A., YUASA, S., MATSUNAGA, S. & FUKUI, K. 2011. Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. DNA Res, 18: 65-76.
- SHEN, J.-L., JIA, X.-N., NI, H.-Q., SUN, P.-G., NIU, S.-H. & CHEN, X.-Y. 2010. AFLP analysis of genetic diversity of *Jatropha curcas* grown in Hainan, China. Trees, 24: 455-462.
- SIAM, P., DIEGO, B., SUGATHA, M., HARINDER, P. S. M., MANISH, R., ATTIPALLI, R. R., ENRICO, P., ANGHANGARAD, M. R. G., J. KEITH, S., ANTHONY, G. & AJAY, K. 2009. Narrow genetic and apparent phenetic diversity in *Jatropha curcas*: initial success with generating low phorbol ester interspecific hybrids. Nature presevings. pp. 44.

- STALKING, M. 1994. Gene flow and population structure, en L. A., Princeton, Princeton University Press. pp. 57.
- STANDLEY, P. C. 1920. Trees and Shrubs of Mexico: Oxalidaceae-Turneraceae, Washington, USA, Government Printing Office. pp. 1643.
- STEINMANN, V. W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. Acta Botánica Mexicana, pp. 61-93.
- SUN, Q. B., LI, L. F., LI, Y., WU, G. J. & GE, X. J. 2008. SSR and AFL markers reveal low genetic diversity in the biofuel plant *Jatropha curcas* in China. Crop Sci., pp.1865-1871.
- 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: 505-513.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M., FRITERS, A., POT, J., PALEMAN, J. & KUIPER, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic acids research, 23: 4407-4414.

YEH, F. C., YANG, R. C. & BOYLE, T. 1999. PopGene: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis, version 1.31.: University of Alberta and Center for International Forestry Research. pp. 1999.

ZHANG, Z., GUO, X., LIU, B., TANG, L. & CHEN, F. 2011. Genetic diversity and genetic relationship of *Jatropha curcas* between China and Southeast Asian revealed by amplified fragment length polymorphisms. African Journal of Biotechnology, 10: 2825-2832.

3.8. MEDIOS ELECTRÓNICOS

THE PLANT LIST. A working list of all plant species. [Online]. Available: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=jatropha>: [Accessed Oct 19 2014].

4. DISCUSIÓN GENERAL

México, a pesar de contar únicamente con 1.3 % de la superficie terrestre del Planeta, es considerado uno de los países Megadiversos del mundo, con casi el 70 % de la diversidad de anfibios y reptiles. Con base en exploraciones etnobotánicas realizadas por Nicolai Ivanovich Vavilov y sus colaboradores, México se clasifica como centro de origen y domesticación de muchos de los recursos vegetales del mundo. Sin embargo, no es suficiente contar con estos datos si no es posible entender la importancia de nuestro país como fuente de recursos fitogenéticos. De acuerdo con Cuevas (1991):

“La sola existencia de una planta no es suficiente para considerarla útil. Desde el punto de vista antropocéntrico, es sólo mediante la intervención del intelecto y experiencia humana cómo las plantas adquieren su carácter de satisfactores de necesidades, ya sean éstas estrictamente fisiológicas o derivadas de su cosmovisión”

Muchos de los conocimientos generados por grupos indígenas en torno a las plantas alimenticias y medicinales, han ido perdiendo importancia con el progresivo avance de las nuevas tecnologías y la agricultura de consumo, por lo que la erosión y pérdida de la biodiversidad mediante estas prácticas pone en riesgo la supervivencia de muchos otros organismos como animales, vegetales, y otros *taxa* como hongos, bacterias y micorrizas.

El objetivo de este estudio fue generar datos útiles mediante el análisis de la diversidad genética de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. para su posible incorporación como un nuevo recurso con alto grado de adaptación en nuevas

regiones agrícolas. Esta especie y otras más contienen un alto potencial de genes susceptibles a ser utilizados en la agricultura sostenible.

Es posible que en México existan más especies silvestres del género *Jatropha* las cuales contengan bajos o nulos niveles de compuestos tóxicos debido a su uso como recurso vegetal. Sin embargo, no existen estudios moleculares que cubran otras especies silvestres o semidomesticas, Es por ello que existe la necesidad de realizar estudios fitoquímicos entre los genotipos no tóxicos de *Jatropha* spp. para poder comprender en mayor o menor medida el grado de domesticación que han tenido.

Es de vital importancia hacer énfasis en conocer y entender los factores relacionados en la concepción de conjunto de plantas como elementos útiles a la naturaleza para con ellos postular el diseño de programas de conservación, clasificación, selección y dispersión.

5. CONCLUSIONES GENERALES

El empleo de diferentes combinaciones de oligonucleótidos de AFLP fueron útiles en la determinación del nivel de diversidad genética de una población de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg. provenientes de Oaxaca.

La población de *Jatropha pseudocurcas* Müll Arg natural existente en Oaxaca puede ser considerada como una colección núcleo, la cual es potencialmente útil en el mejoramiento de la especie.

5. CITAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTEN, W. M. J., NIELSEN, L. R., AERTS, R., LENGKEEK, A. G., KJAAER,

E. D. & TRABUCCO, A. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels*, pp. 97-107.

AKIHIRO, T., UMEZAWA, T., UEKI, C., LOBNA, B. M., MIZUNO, K., OHTA, M.

& FUJIMURA, T. 2006. Genome wide cDNA-AFLP analysis of genes rapidly induced by combined sucrose and ABA treatment in rice cultured cells. *FEBS Letters*, 580: 5947-5952.

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: 810-836.

AUSUBEL, F. M., BRENT, R., KINGSTON, R. E., MOORE, D. D., SEIDMAN, J.

G., SMITH, J. A. & STRUHL, K. 1994. Current protocols in molecular biology New York City, NY: Jhon Wiley&Sons Inc. pp. 471.

BAHADUR, B., SUJATHA, M. & CARELS, N. 2013. *Jatropha*, Challenges for a

New Energy Crop. Genetic Improvement and Biotechnology, Springer. pp. 617.

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: 812-823.
- 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: 375-386.
- BREYNE, P., ROMBAUT, D., VAN GYSEL, A., VAN MONTAGU, M. & GERATS, T. 1999. AFLP analysis of genetic diversity within and between *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *Molecular and General Genetics MGG*, 261: 627-634.
- BROWN, A. H. D. 1989. The case for core collection, Cambridge U. K., Cambridge University Press. pp. 136-156.
- BURKILL, H. M. 1994. The useful plants of west tropical Africa, Kew, Royal Botanic Gardens. Vols. 1-3 1995 pp. 976; 648; 868 pp.
- CABRERA, M. M. 2012. Relaciones filogenéticas de poblaciones nativas no-tóxicas de *Jatropha curcas* L. usando marcadores moleculares. Licenciatura, Universidad Autónoma Chapingo. pp. 44.
- CAI, Y., SUN, D., WU, G. & PENG, J. 2010. ISSR-Based genetic diversity of

- Jatropha curcas* germplasm in China. *Biomass and Bioenergy*, 7: 1-12.
- CASTRO, P., COELLO, J. & CASTILLO, L. 2007. *Opciones para la producción y uso del biodiesel en el Perú, soluciones prácticas-ITDG.*, Perú, Descriptores OCDE.
- COE, F. & ANDERSON, G. 1996. Ethnobotany of the garífuna of Eastern Nicaragua. *Economic Botany*, 50: 71-107.
- DEBNATH, M., PANDEY, M., MALIK, C. P. 2010. Analysis the potential of *Jatropha* using "Omics Technology". *PI Sci Res*, 26: 29-51.
- DEHGAN, B. & WEBSTER, G. L. 1979. Morphology and infrageneric relationships of the genus *Jatropha* (euphorbiaceae), Los angeles, London, University of California Press. pp. 73.
- DIVAKARA, B. N., UPADHYAYA, H. D., WANI, S. P. & GOWDA, C. L. L. 2010. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. *Applied Energy*, 87: 732-742.
- EVANS, F. J. & TAYLOR, S. E. 1983. Pro-inflammatory, tumour-promoting and anti-tumour diterpenes of the plant families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae. *Fortschr Chem Org Naturst*, 44: 1-99.
- FLORES, J. S. & RICALDE, R. V. 1996. The Secretions and Exudates of Plants Used in Mayan Traditional Medicine. *Journal of Herbs, Spices &*

Medicinal Plants, 4: 53-59.

FORD-LLOYD, B. & PAINTING, K. 1996. Measuring genetic variation using molecular markers. *International plant genetic*, pp. 89.

FRANKEL, O. 1984. Genetic perspectives of germplasm conservation. *Genetic manipulation: impact on man and society. Cambridge University Press, Cambridge*, pp. 161-170.

GANESH RAM, S., PARTHIBAN, K. T., SENTHIL KUMAR, R., THIRUVENGADAM, V. & PARAMATHMA, M. 2008. Genetic diversity among *Jatropha* species as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 803-809.

GINWAL, H. S., RAWAT, P. S. & SRIVASTAVA, R. L. 2004. Seed source variation in growth performance and oil yield of *Jatropha curcas* Linn. in central India. *Silvae Genetica*, 53: 186-191.

GRATIVOL, C., DA FONSECA LIRA-MEDEIROS, C., HEMERLY, A. S. & FERREIRA, P. C. G. 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: 4245-4256.

GUPTA, M. P., MONGE, A., KARIKAS, G. A., LOPEZ DE CERAIN, A., SOLIS, P. N., DE LEON, E., TRUJILLO, M., SUAREZ, O., WILSON, F. &

- MONTENEGRO, G. 1996. Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. *Pharmaceutical Biology*, 34: 19-27.
- GUPTA, S., SRIVASTAVA, M., MISHRA, G. P., NAIK, P. K., CHAUHAN, R. S., TIWARI, S. K., KUMAR, M. & SINGH, R. 2008. Analogy of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different *Jatropha curcas* genotypes. *African Journal of Biotechnology*, pp. 7.
- HAMBRICK, J. L., GUDT, M. J. & SHERMAN-BROYLES, S. L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in wood plant species. *New For*, pp. 95-124.
- HE, W., GUO, L., WANG, L., YANG, W., TANG, L. & CHEN, F. 2007. ISSR Analysis of Genetic Diversity of *Jatropha curcas* L.[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, pp. 466–470.
- HE, W., KING, A. J., KHAN, M. A., CUEVAS, J. A., RAMIARAMANANA, 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: 1183-1190.

- HELLER, J. 1996. *Physic Nut, Jatropha curcas L*, Bioversity international.
- JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J. & MARTÍNEZ, G. M. 1994. Descripción de *Jatropha andrieuxii* Muell. Arg. (euphorbiaceae), una especie endémica del sur de México. *Acta Botánica Mexicana*, 26: 27-32.
- JONES, C. J., EDWARDS, K. J., CASTAGLIONE, S., WINFIELD, M. O., SALA, F., VAN DE WIEL, C., BREDEMEIJER, G., VOSMAN, B., MATTES, M., DALY, A., BRETTSCHEIDER, R., BETTINI, P., BUIATTI, E. M., MARMIROLI, M., AERT, R., VOLCKAERT, G., RUEDA, J., LINACERO, G., VÁZQUEZ, A. & KARP, A. 1997. Reproducibility of RAPD, AFLP and SSR markers in plant by a network of european laboratories. *Mol. Bred*, pp. 381-390.
- JUBERA, M. A., JANAGOUDAR, B. S., BIRADAR, D. P., RAVICUMAR, R. L., KOTI, R. V. & PATIL, S. J. 2009. Genetic diversity anlysys of elite *Jatropha curcas* (L. genotypes using randomly amplified polimorphic DNA markers. *Karnataka J. Agric. Sci*, pp. 293-295.
- KLINAR, B. S., CASTILLO, R. P., SCHMEDA-HIRCHMANN, G., REYES, S., THEODULOZ, C., RAZMILIC, B. I. & CHANG, C. A. 1995. Biological activity of medicinal plants of Ica (Peru). *Fitoterapia*, 66: 341-345.
- KÖPPEN, W. P., GEIGER, R., BORCHARDT, W., WEGENER, K., WAGNER, A., KNOCH, K., SAPPER, K., WARD, R. D., BROOKS, C. F. &

- CONNOR, A. J. 1923. Handbuch der klimatologie, Gebrüder Borntraeger Berlin, Germany. pp. 17.
- MAGHULY, F. & LAIMER, M. 2013. *Jatropha curcas*, a biofuel crop: functional genomics for understanding metabolic pathways and genetic improvement. *Biotechnol J*, 8: 1172-82.
- MAKKAR, H. P. S., ADERIBIGBE, A. O. & BECKER, K. 1998. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chemistry*, 62: 207-215.
- MANANDHAR, N. 1995. An inventory of some herbal drugs of Myagdi district, Nepal. *Economic Botany*, 49: 371-379.
- MARTIN, G. B., WILLIAMS, J. G. & TANKSLEY, S. D. 1991. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88: 2336-2340.
- MARTÍNEZ, G. M., JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J., CRUZ DUREAN, R., JUÁREZ ARRIAGA, E., GARCÍA, R., CERVANTES, A. & MEJÍA HERNÁNDEZ, R. 2002. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales Inst. Biol. UNAM Serie Bot.*, 73: 155-281.
- MENG, X. & CHEN, W. 2001. Applications of AFLP and ISSR techniques in

detecting genetic diversity in the soybean brown stem rot pathogen

Phialophora gregata. *Mycological Research*, 105: 936-940.

MICHELMORE, R. W., PARAN, I. & KESSELI, R. V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88: 9828-32.

MOSLEMI, M., ZAHRAVI, M. & KHANIKI, G. B. 2010. Genetic diversity and population genetic structure of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Iran using AFLP markers. *Scientia Horticulturae*, 126: 441-447.

NAENGCHOMNONG, W., THEBTARANONTH, Y., WIRIYACHITRA, P., OKAMOTO, K. T. & CLARDY, J. 1986. Isolation and structure determination of four novel diterpenes from *jatropha curcas*. *Tetrahedron Letters*, 27, pp. 2439-2442.

OPENSHAW, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy*, 19: 1-15.

OU, W. J., WANG, W. Q. & LI, K. M. 2009. Molecular genetic diversity of 120 accessions of *Jatropha curcas* L. germplasm Chinese. *Trop. Crops*, pp. 284-292.

OVANDO-MEDINA, I., ESPINOSA, G. F., NÚÑEZ, F. J. & SALVADOR, F. M.

- 2011a. Genetic variation in Mexican *Jatropha curcas* L. estimated with seed oil fatty acids. *Oleo Sci*, pp. 301-311.
- OVANDO-MEDINA, I., SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, A., ADRIANO-ANAYA, L., ESPINOSA-GARCÍA, F., NÚÑEZ-FARFÁN, J. & SALVADOR-FIGUEROA, M. 2011b. Genetic Diversity in *Jatropha curcas* Populations in the State of Chiapas, Mexico. *Diversity*, 3: 641-659.
- PAMIDIMARRI, D. V. N. S., MASTAN, S., RAHMAN, H. & REDDY, M. 2010. Molecular characterization and genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. in India using RAPD and AFLP analysis. *Molecular Biology Reports*, 37: 2249-2257.
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, pp. 288-295.
- PECINA-QUINTERO, V., ANAYA-LÓPEZ, J. L., COLMENERO, A. Z., GARCÍA, N. M., NÚÑEZ COLÍN, C. A., SOLIS BONILLA, J. L., AGUILAR-RANGEL, M. R., GILL LANGARICA, H. R. & MÉJIA BUSTAMANTE, D. J. 2011. Molecular characterisation of *Jatropha curcas* L. genetic resources from Chiapas, México through AFLP markers. *Biomass and Bioenergy*, 35: 1897-1905.

- PIÑERO, D., BARAHONA, A., EGUIARTE, L., ROCHA OLIVARES, A. & SALAS LIZANA, R. 2008. La variabilidad genética de las especies, aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. Capital Natural de México. México: CONABIO. pp. 23.
- PORRAS, F., MADRID, J. L. C., ROMERO, M. V., PEÑA, P. S., ESPAÑA, R. G. L., TERRAZA, S. P. & VERDUGO, S. H. 2008. Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de Chile del noroeste de México. Revista Fitotecnia Mexicana, pp. 31.
- PRANCE, G. T. 1997. The conservation of botanical diversity. *Plant Genetic Conservation*. Springer. pp. 3-14.
- RAMÍREZ, B. E. 2010. Tolerancia a la desecación y caracterización de semillas de piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) colectadas en el Totonacapan. Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados. pp. 85.
- RANADE, S. A., SRIVASTAVA, A. P., RANA, T. S., SRIVASTAVA, J. & TULI, R. 2008. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. *Biomass and Bioenergy*, 32: 533-540.
- RODRÍGUEZ-ACOSTA, M., VEGA-FLORES, K., DE GANTE-CABRERA, V. H. & JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J. 2009. Distribución del género *Jatropha* L.

(Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, pp. 37-48.

ROSADO, T. B., LAVIOLA, B. G., FARIA, D. A., PAPPAS, M. R., BHERING, L.

L., QUIRINO, B. & GRATTAPAGLIA, D. 2010. Molecular Markers Reveal Limited Genetic Diversity in a Large Germplasm Collection of the Biofuel Crop *Jatropha curcas* L. in Brazil All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. Permission for printing and for reprinting the material contained herein has been obtained by the publisher. *Crop Sci.*, 50. 2372-2382.

SATO, S., HIRAKAWA, H., ISOBE, S., FUKAI, E., WATANABE, A., KATO, M., KAWASHIMA, K., MINAMI, C., MURAKI, A., NAKAZAKI, N., TAKAHASHI, C., NAKAYAMA, S., KISHIDA, Y., KOHARA, M., YAMADA, M., TSURUOKA, H., SASAMOTO, S., TABATA, S., AIZU, T., TOYODA, A., SHIN-I, T., MINAKUCHI, Y., KOHARA, Y., FUJIYAMA, A., TSUCHIMOTO, S., KAJIYAMA, S., MAKIGANO, E., OHMIDO, N., SHIBAGAKI, N., CARTAGENA, J. A., WADA, N., KOHINATA, T., ATEFEH, A., YUASA, S., MATSUNAGA, S. & FUKUI,

- K. 2011. Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. *DNA Res*, 18: 65-76.
- SHARMA, H. K., SHUKLA, A., KUMAR, A., SHUKLA, A., CHOUDHARY, S. B. & JATOTHU, J. L. 2013. Variability and genetic diversity assessment in physic nut (*Jatropha curcas* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7: 2380-2391.
- SHEN, J.-L., JIA, X.-N., NI, H.-Q., SUN, P.-G., NIU, S.-H. & CHEN, X.-Y. 2010. AFLP analysis of genetic diversity of *Jatropha curcas* grown in Hainan, China. *Trees*, 24: 455-462.
- SIAM, P., DIEGO, B., SUGATHA, M., HARINDER, P. S. M., MANISH, R., ATTIPALLI, R. R., ENRICO, P., ANGHANGARAD, M. R. G., J. KEITH, S., ANTHONY, G. & AJAY, K. 2009. Narrow genetic and apparent phenetic diversity in *Jatropha curcas*: initial success with generating low phorbol ester interspecific hybrids. *Nature preseedings*. pp. 44.
- SOLOMON RAJU, A. J. & EZRADANAM, B. 2002. Flowering phenology and sexual system in *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Proc. AP Acad. Sci.*, pp. 203-206.
- STALKING, M. 1994. Gene flow and population structure, en L. A., Princeton, Princeton University Press. pp. 57.

- STANDLEY, P. C. 1920. Trees and Shrubs of Mexico: Oxalidaceae-Turneraceae, Washington, USA, Government Printing Office. pp. 1643.
- STEINMANN, V. W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, pp. 61-93.
- SUN, Q. B., LI, L. F., LI, Y., WU, G. J. & GE, X. J. 2008. SSR and AFL markers reveal low genetic diversity in the biofuel plant *Jatropha curcas* in China. *Crop Sci.*, pp. 1865-1871.
- 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: 252-264.
- 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: 505-513.
- TORAL, O. C., IGLESIAS, J. M., MONTES DE OCA, S., SOTOLONGO, J. A., GARCÍA, S. & TORSTI, M. 2008. *Jatropha curcas* L., una especie arbórea con potencial energético en Cuba. *Pastos y Forrajes*, 31: 1-1.

- UTHAYAKUMARI, F. & SUMATHY, M. 2011. Pharmacognostical studies on the endemic medicinal plant—*Jatropha maheswarii* Subr. & Nayar (Euphorbiaceae). *International Journal of PharmTech Research*, 3: 2169-2174.
- VAN HINTUM, J. L., BROWN, A. H. D., SPILLANE, C. & HODGKIN, T. 2003. Colecciones núcleo de recursos fitogenéticos. *IPGRI Boletín Técnico*, 44.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M., FRITERS, A., POT, J., PALEMAN, J. & KUIPER, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23: 4407-4414.
- WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. 1991. The families of angiosperms: automated descriptions, with interactive identification and information retrieval. *Australian Systematic Botany*, 4: 681-695.
- YEH, F. C., YANG, R. C. & BOYLE, T. 1999. PopGene: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis, version 1.31.: University of Alberta and Center for International Forestry Research. pp. 1999
- ZAMORA-MARTINEZ, M. C. & DE PASCUAL POLA, C. N. 1992. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and

Veracruz, Mexico. *J Ethnopharmacol*, 35: 229-57.

ZHANG, Z., GUO, X., LIU, B., TANG, L. & CHEN, F. 2011. Genetic diversity and genetic relationship of *Jatropha curcas* between China and Southeast Asian revealed by amplified fragment length polymorphisms. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2825-2832.

6. MEDIOS ELECTRÓNICOS

FINEPIXA400, F. Fruto de *Jatropha. pseudocurcas* [Online]. Available <https://m.flickr.com/#/photos/arboldelavida> [Accessed Oct 19 2014].

HERBARIO XAL DEL INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A. C. M. E. I.-X. 2014. Distribución de *Jatropha pseudocurcas* en México. [Online]. Available: <http://data.gbif.org/datasets/resource/10980,2014-10-20> [Accessed Oct 19 2014].

THE PLANT LIST. A working list of all plant species. [Online]. Available: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=jatropha>: [Accessed Oct 19 2014].

7. ANEXOS

(Prohibida la copia total o parcial de la siguiente técnica sin la autorización del autor)

7.1. Nota técnica: Metodología para la extracción de ADN en *Jatropha pseudocurcas*.

El ADN se extrajo de acuerdo al protocolo del método CTAB (Ausubel *et al.*, 1994) con algunas modificaciones (*sin publicar*).

Las muestras de tejido vegetal se secaron en frío con un liofilizador LabConco (6L), durante 4 días a -40 °C. Una vez liofilizadas se pulverizaron en un disruptor de tejidos (Qiagen®) y se almacenaron a -20 °C en un congelador TorRey® CHTC-15.

La extracción de ADN se inició colocando 300 mg de tejido liofilizado y finamente molido en un tubo de 2 mL, se adicionó 1 mL de solución CTAB (CTAB Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide) al 2%, PVP Polyvinyl Pyrrolidone 2%, EDTA 200 µM, NaCl 3.5 M) a 65 °C con 10 µL de 2-β-mercaptoetanol. Se mezcló perfectamente en vortex y se mantuvo por 90 minutos a 65 °C en una incubadora con agitación. Se dejó enfriar y adicionaron 700 µL de cloroformo-octanol (24:1) volviendo a mezclar en vortex y por inversión durante 10 minutos. Se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos colectando el sobrenadante en otro tubo, se repitió a 6000 rpm por 20 minutos, se colectó el sobrenadante y precipitó con 1 mL de isopropanol (-20 °C), se transfirió el ADN precipitado con una pipeta Pasteur y se disolvió en 300 µL de agua más 4 µL de ARNasa incubándolo a 37 °C por 60 minutos. Se precipitó el ADN con 1 mL de isopropanol (-20 °C) y se colectó con una pipeta Pasteur, el precipitado se lavó en 700 µL de etanol al 70% y resuspendió en 100 µL de TE.

Cuadro 5. Secuencias de iniciadores AFLP utilizados para los productos de PCR

Combinación de primer

E-ACC M-CAC
E-AAC M-CTA
E-AAC M-AGG
E-AGG M-CAC
E-AGG M-CTC
E-ACT M-CAC
E-AGG M-CTT
E-ACT M-CTA
E-AAC M-CTC
E-AGG M-CAT
E-ACG M-CAA

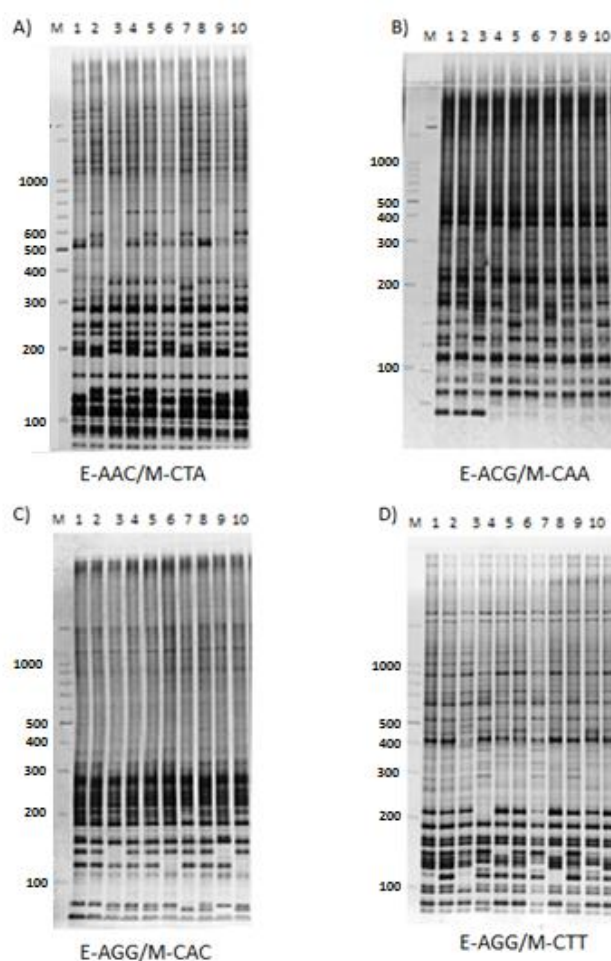


Figura 10. Patrones de bandeo AFLP de 94 individuos de *J. pseudocurcas* usando cuatro diferentes iniciadores: A) E-AAC/M-CTA, B) E-ACG/M-CAA, C) E-AGG/M-CAC, D) E-AGG/M-CTT; M= lader, 1= individuo 1, 2= individuo 2.

Cuadro 6. Iniciadores para caracterización molecular de los individuos de *J. pseudocurcas*

Primer	E-AGG	M-CAA	M-CAC	M-CAG	M-CAT	M-CTA	M-CTC	M-CTG	M-CTT
E-ACC	30					24	13		*
E-AAG		*	*		*	*	*		
E-ACA					*		*		
E-ACC			8	*			*		
E-ACG		9					*	*	
E-ACT		*	10		*	5	*	*	
E-AGC			*						
E-AGG		*	14		18		12		12

*Indica no amplificación de bandas

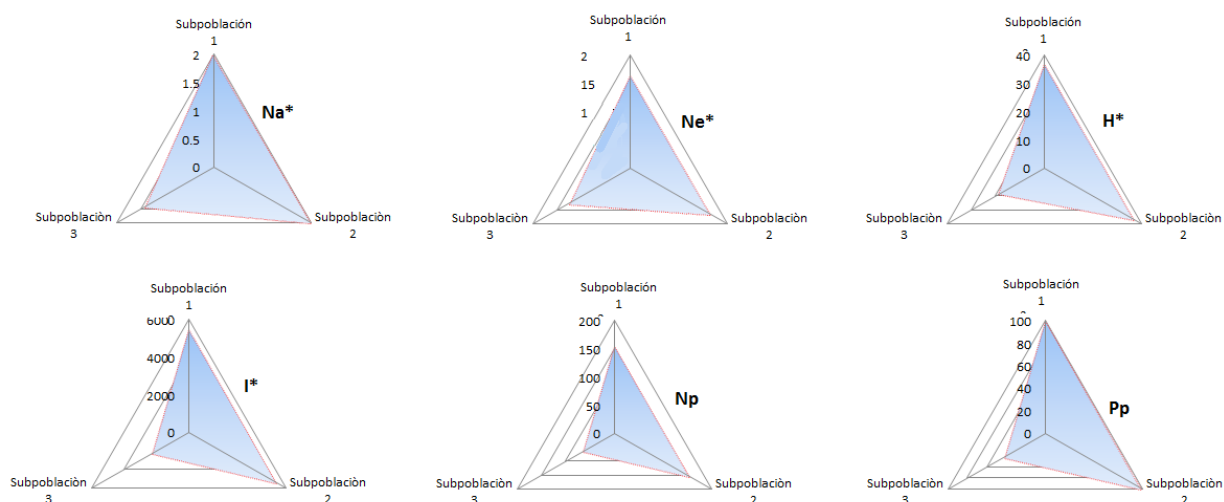


Figura 11. Estimadores de diversidad genética de tres subpoblaciones de *J. Pseudocurcas*. Na*= Numero de alelos observados. Ne= Numero efectivo de alelos. H*= indice de diversidad genética de Nei's (1973), I*= Índice de nonconformity, Np= Numero de loci polimorficos, Pp= Porcentaje de loci polimorficos.

7.2. Parámetros y variables para medir la diversidad genética

Entendiéndose esta diversidad como la diversidad dentro de una población o diversidad intrapoblacional.

1. Con base en el número de variantes

a) Polimorfismo o tasa de polimorfismo (P_j)

Un gen se define como polimórfico si la frecuencia de uno de sus alelos es menor o igual a 0,95 ó 0,99.

$$P_j = q \leq 0,95$$

$$P_j = q \leq 0,99$$

Siendo P_j la tasa de polimorfismo y q la frecuencia alélica. Con esta medida podemos saber si un gen presenta variación, y su cálculo se hace por observación directa, viendo si se cumple o no la definición.

Este criterio de polimorfismo es totalmente arbitrario y su valor es fijado para ver en que genes es más frecuente la variación alélica.

b) Proporción de *loci* polimórficos (P)

Es el número de *loci* polimórficos dividido por el número total de *loci* (polimórficos y no polimórficos):

$$P = npj / n_{total}$$

Siendo P la proporción de *loci* polimórficos, npj el número de *loci* polimórficos, y n_{total} el número total de *loci*.

Esta expresión nos dice el número de *loci* variables en una población, y para su cálculo se deben contar el número de *loci* polimórficos y totales.

c) Abundancia de variantes alélicas (A)

Se refiere al número de variantes de una muestra.

La medida de la diversidad es $A-1$, ya que en una población monomórfica la diversidad será $A-1 = 0$. Para un gen dado en una muestra, esta medida indica cuantas variables alélicas pueden encontrarse. Es una medida sensible al tamaño de la muestra y hay que tener en cuenta en la medida el número máximo de alelos que pueden encontrarse.

d) Número medio de alelos por *locus* (n)

Es el número de alelos contabilizados en todos los *loci*, dividido por el número total de *loci*:

$$n = (1/K) \sum ni \text{ (Con } i \text{ desde } 1 \text{ hasta } K)$$

Siendo K el número de *loci*, y ni el número de *locus* en cada *loci*.

Gracias a esta medida obtenemos información complementaria a la que tenemos gracias al polimorfismo. Su cálculo sólo requiere contabilizar los alelos por *locus*, y hacer el promedio.

2. Con base en la frecuencia de variantes

e) Número efectivo de alelos (A_e)

Es el número de alelos que pueden estar presentes en una población:

$$A_e = 1/(1-h) = 1/\sum pi$$

Siendo pi la frecuencia de cada alelo del *locus*, y h la heterocigosidad del *locus*.

Esta medida indica el número de alelos esperados en cada *locus* de una determinada población, y es la inversa de la homocigosidad de un *locus*.

f) Heterocigosidad esperada (He) (diversidad genética de Nei)

Es la probabilidad de que en un *locus* único, cualquier par de alelos escogidos al azar, sean diferentes entre sí.

Se pueden realizar 3 tipos de cálculos:

1. Un *locus* j con 2 alelos: $h_j = 1 - p^2 - q^2$
2. Un *locus* j con i alelos: $h_j = 1 - \sum p_i^2$
3. Promedio de varios *loci*: $H = \sum h_j / L$

Siendo h_j la heterocigosidad en cada *locus*, p y q las frecuencias alélicas, H la heterocigodad promedio para varios *loci* y L el número total de *loci*.

Esta H_e , si hacemos su promedio para todos los *loci*, obtendremos una medida de la variabilidad genética de una población. Su valor varía entre 0 y 1, y se maximiza cuando varios alelos poseen frecuencias similares.

La heterocigosidad promedio esperada para varios *loci* se calcula al restar 1 a las frecuencias esperadas de homocigotos de un *locus*, la operación se repite para todos los *loci* y luego se hace su promedio.