



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.

Posgrado en Ciencias en Energía Renovable

**EVALUACION DE *Jatropha curcas* PARA LA
SELECCIÓN DE GENOTIPOS CON POTENCIAL
PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN
YUCATÁN**

Tesis que presenta

M. EN C. ERICK ALBERTO AGUILERA CAUICH

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

Mérida, Yucatán, Diciembre de 2015

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 208660, otorgada para realizar estudios de posgrado en el programa de Doctorado en Ciencias en Energía Renovable.

Al proyecto SAGARPA-CONACYT, con clave 163502, incluyendo al personal operativo, administrativo, evaluadores, participantes y al personal responsable de su ejecución por el apoyo brindado durante el desarrollo del presente trabajo de tesis.

A mi Comité Tutorial conformado por el Dr. Javier Orlando Mijangos Cortés, la Dra. Daisy de la Caridad Pérez Brito, el Dr. Luis Latournerie Moreno y la Dra. Guadalupe López Puc, por su orientación, enseñanzas, consejos y el apoyo brindado durante este viaje formativo.

Al jurado examinador durante la evaluación predoctoral integrado por la Dra. Daisy de la Caridad Pérez Brito, la Dra. Guadalupe López Puc, el Dr. Luis Latournerie Moreno y la Dra. Nancy Santana Buzzy, por su contribución y dirección al proyecto de tesis.

Al CIATEJ-Unidad sureste, en especial a la Dra. Guadalupe López Puc, el Dr. Alberto Uc Vázquez, y la Dra. Ana Luisa Ramos Díaz por los consejos y el apoyo brindado en todo momento.

Se agradece a la empresa Agroindustria Alternativa del Sureste S.P.R. de R.L. de C.V. por las facilidades y el apoyo técnico - administrativo brindado durante la realización del presente trabajo, principalmente al Dr. Carlos Góngora Canul y el M en C Gregorio Matinés Sebastián.

A la Unidad de Recursos Naturales, es especial a la QFB Matilde Ortiz, por su apoyo técnico en las labores relacionadas durante el desarrollo del trabajo molecular llevado a cabo en el laboratorio de marcadores moleculares de la Unidad de Recursos Naturales.

Al laboratorio GeMBio, en especial al Ing. Alberto Cortés y la M. en C. Teresita Valencia, por su apoyo y enseñanzas durante el desarrollo de las actividades técnicas relacionadas con el trabajo molecular llevado a cabo en el laboratorio de virología.

Al Dr. Javier O. Mijangos Cortes, por los consejo y enseñanzas que me ha brindado más allá de esta etapa de preparación académica.

A la Dra. Daisy de la C. Pérez Brito, por las enseñanzas brindadas, los consejos y su guía, las cuales quedará en mi más allá de este documento y período de formación, acompañándome en mi carrera profesional.

Al Dr. Raúl Tapia Tussel por sus consejos, enseñanzas y apoyo técnico y moral, durante mi proceso de aprendizaje, el cual ha causado un gran impacto en mi carrera profesional.

Al Dr. Abelardo Elias Navarrete Yabur por sus consejos y la información técnica brindada durante las primeras etapas conceptuales y de desarrollo, que culminaron en el presente trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE	III
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT	XI
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
ANTECEDENTES GENERALES	3
1.1. Biocombustibles	3
1.2. Origen, descripción y distribución de <i>Jatropha curcas</i> L.	7
1.3. Diversidad genética de <i>Jatropha curcas</i> L.	11
1.4. El cultivo de <i>Jatropha curcas</i> L. en México y perspectivas	16
1.5. Hipótesis	20
1.6. Objetivo general	20
1.6.1. Objetivos particulares.....	20
CAPÍTULO 2.....	21
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA	21
2.1 Estrategia experimental.....	21
2.2 Materiales y métodos	22
2.2.1 Diversidad morfológica y contraste agronómico entre accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.	22
2.2.1.1. Material genético y sitio de estudio.....	22
2.2.1.2 Colecta de datos	23
2.2.1.3 Análisis estadístico.....	24

2.2.2 Diversidad y relaciones genéticas basadas en SPAR entre accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.	24
2.2.2.1 Aislamiento de ADN genómico	25
2.2.2.2 Amplificación de los marcadores SPAR.....	26
2.2.2.3 Análisis de datos	28
2.2.3 Análisis de la diversidad genética y el potencial de <i>Jatropha curcas</i> L. como cultivo energético.....	29
2.2.3.1 Variables morfológicas incluidas en la evaluación	29
2.2.3.3 Análisis de datos	29
CAPÍTULO 3.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
3.1. Diversidad morfológica y el contraste agronómico.....	31
3.2 Diversidad y relaciones genéticas basadas en SPAR.....	42
3.3 Análisis de la diversidad genética y el potencial de <i>Jatropha curcas</i> L. como cultivo energético	51
CONCLUSIONES	58
PERSPECTIVAS	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXO A.....	73
A. Análisis de varianza para 12 caracteres utilizados en la evaluación de diversidad y contraste en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.....	73
ANEXO B.....	74
B1. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter altura de la planta en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	74
B2. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter diámetro del tallo en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	75

B3. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter amplitud de la copa en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	76
B4. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de ramas principales en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).....	77
B5. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de racimos frutales en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	78
B6. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de frutos por racimo en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	79
B7. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter largo del fruto en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	80
B8. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter ancho del fruto en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	81
B9. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter forma del fruto en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	82
B10. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter volumen de la semilla en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	83
B11. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter peso de 100 semillas en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	84
B12. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter rendimiento de semilla en 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).	85
ANEXO C	86
Assessment of phenotypic diversity and agronomic contrast in American accessions of <i>Jatropha curcas</i> L.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Materias primas agrícolas para la conversión de biocombustibles líquidos en Latinoamérica.	4
Tabla 1.2. Comparativo entre cultivos bioenergéticos de primera y segunda generación. .	6
Tabla 1.3. Distribución nacional de <i>Jatropha curcas</i> L. basada en registros de la CONABIO.	9
Tabla 1.4. Caracteres discriminatorios de diversidad entre accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. en Colombia, Cuba, India y Malasia, mediante análisis de componentes principales...	12
Tabla 1.5. Resumen de las principales características de los marcadores moleculares más utilizados en frutales tropicales y el tipo de estudio en que fueron aplicados, según Azofeita-Delgado, 2006.	13
Tabla 2.1. Accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. evaluadas fenotípicamente en Yucatán, México y sus respectivas procedencias de colecta.	22
Tabla 2.2. Lista de los 14 caracteres morfo-agronómicos registrados y evaluados en 15 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.	23
Tabla 2.3. Listado de las 28 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. incluidas en el análisis molecular y sus referencias geográficas.	25
Tabla 2.4. Lista de iniciadora SPAR incluidos en el análisis de diversidad genética a <i>Jatropha curcas</i> L.	26
Tabla 2.5. Lista de las 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. incluidas en la evaluación y sus procedencias de colecta.	30
Tabla 3.1. Descripción y estadísticos básicos para caracteres morfo-agronómicos y atributos de rendimiento evaluados en 15 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.	34
Tabla 3.2. Coeficiente de correlación entre caracteres morfo-agronómicos y atributos de rendimiento entre 15 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.	36
Tabla 3.3. ANOVA y análisis de repetibilidad para 14 caracteres morfo-agronómicos evaluados para determinar diversidad en 15 accesiones Americanas de <i>Jatropha curcas</i> L.	37

Tabla 3.4. Análisis de componentes principales, valores y vectores propios para los primeros cuatro componentes principales en el análisis de 15 accesiones de <i>J. curcas</i> . .	38
Tabla 3.5. Iniciadores AP-PCR, ISSR y DAMD utilizados para el análisis de accesiones Americanas de <i>Jatropha curcas</i> L. y el polimorfismo revelado.	43
Tabla 3.6. Comparación de datos entre AP-PCR, ISSR, DAMD y el análisis acumulado de bandas para estimar la diversidad genética en accesiones Americanas de <i>Jatropha curcas</i> L.	45
Tabla 3.7. Valores correspondientes a la correlación de Mantel al comparar matrices de similitud provenientes de AP-PCR, ISSR, DAMD y el acumulado de todos entre accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L.....	46
Tabla 3.8. Resultados del análisis de varianza realizados a 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. señalando los cuadrados medios, el error y el CV.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Distribución del género <i>Jatropha</i> en la Península de Yucatán, basado en registros históricos del herbario y fibrooteca “ <i>U Najil Tikin Xiw</i> ” del Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C.	10
Figura 1.2. Distribución y superficie sembrada en México de <i>Jatropha curcas</i> L., según registros históricos del SIAP.	17
Figura 3.3. Dispersión de 28 accesiones Americanas de <i>Jatropha curcas</i> L., señalando las primeras dos coordenadas principales para los métodos AP-PCR y DAMD.	47
Figura 3.4. Dendograma UPGMA basado en el coeficiente de similaridad de Dice presentando las relaciones genéticas entre 28 accesiones American de <i>Jatropha curcas</i> L. usando marcadores AP-PCR y DAMD.	49
Figura 3.5. UPGMA que señala el ordenamiento entre 30 accesiones americanas de <i>Jatropha curcas</i> L. basado en la diversidad genética revelada mediante caracteres morfológicos y moleculares usando tres métodos SPAR.	54
Figura 3.6. Contraste entre la diversidad genética de 30 accesiones de <i>Jatropha curcas</i> L. con respecto a los caracteres altura de planta, amplitud de la copa (a) y rendimiento de semilla (b).	55

RESUMEN

Jatropha curcas L. es un arbusto que pertenece a la familia *Euphorbiaceae* y está distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del planeta, incluyendo México. Debido a sus altos rendimientos de aceite y su potencial para la producción de biodiesel, se ha generado un gran interés por evaluar la diversidad genética existente y así poder usarla en los programas de mejoramiento. Este estudio se realizó para determinar la variación genética y las relaciones entre accesiones americanas de *J. curcas* de diferentes orígenes, utilizando descriptores agro-morfológicos y tres diferentes métodos moleculares basados en la reacción de amplificación con un solo iniciador (SPAR): inter repeticiones de secuencias simples (ISSR), amplificación directa de minisatélites de ADN (DAMD) y PCR con iniciadores arbitrarios (AP-PCR). Las accesiones del Salvador mostraron los portes de plantas más pequeños, mientras que las accesiones MCT10 y MCE06 de México, tuvieron los valores más elevados de rendimiento de aceite. El análisis de componentes principales explicó el 75.99% de la variación total en tres componentes, y el análisis de repetibilidad arrojó un bajo efecto del ambiente sobre los caracteres asociados con rendimiento de aceite ($R = 0.99$), peso de 100 semillas ($R = 0.98$) y volumen de semillas ($R = 0.97$). Los marcadores moleculares mostraron una diversidad genética alta entre las accesiones de *J. curcas*. Se amplificaron un total de 340 fragmentos de ADN que revelaron 99.4% de polimorfismos entre las accesiones. Los valores promedio del contenido de información polimórfica (PIC), poder de resolución (R_p), y el índice del marcador (MI) fueron de 0.843, 0.66 y 6.14 respectivamente. En el árbol UPGMA, basado en el coeficiente de Dice a partir de los datos de AP-PCR y DAMD, se formaron grupos homogéneos relacionados con el origen geográfico. La amplia diversidad genética encontrada entre las especies de *J. curcas* L. en América, especialmente en México, es promisoría para programas de mejoramiento genético enfocados a la producción de altos rendimientos de aceite.

Palabras clave:

Jatropha curcas, diversidad genética, expresión fenotípica, caracteres de rendimiento, descriptor morfológico, DAMD, ISSR, AP-PCR.

ABSTRACT

Jatropha curcas L. is a shrub that belongs to Euphorbiaceae family and it is distributed throughout the tropical and subtropical regions of the World, including Mexico. Because of its high oil yield and potential for the production of biodiesel, it has generated a wide interest among researchers to evaluate the existing genetic diversity in order to use them in breeding programs. This study was conducted to determine the genetic variation and relationships among American accessions of *J. curcas* from different backgrounds, using agro-morphological descriptors and three different single primer amplification reaction (SPAR) methods, viz., inter-simple sequence repeats (ISSR), direct amplification of minisatellite DNA (DAMD) and arbitrarily primed PCR (AP-PCR). The accessions from El Salvador showed the lowest plant proportions, while two of the Mexican accessions (MCT10 and MCE06) showed the highest values in oil yield. The principal component analysis explained 75.99% of the total variation in three components. Repeatability analysis showed a low effect of the environment on the characters associated with oil yield ($R = 0.99$), 100-seed weight ($R = 0.98$) and seed volume ($R = 0.97$). A high genetic diversity among *J. curcas* accession was revealed by molecular markers. A total of 340 DNA fragments were amplified revealing 99.4% of polymorphism across all accessions. The mean values of average polymorphism information content (PIC), resolving power (Rp), and marker index (MI) were 0.843, 0.66 y 6.14 respectively. The UPGMA tree, based on Dice's similarity coefficient generated from AP-PCR and DAMD band data showed a homogeneous group according their geographic origin. The wide genetic diversity of this specie in America and specifically in Mexico is promising for breeding programs focus in high oil yields for biodiesel production.

Key words:

Jatropha curcas, genetic diversity, phenotypic expression, yield traits, descriptor marker, DAMD, ISSR, AP-PCR.

INTRODUCCIÓN

El impulso que se otorga a los biocombustibles a nivel internacional y nacional proviene de la convergencia de tres escenarios, el desarrollo técnico de capacidades agrícolas, la necesidad de reducir los efectos de la contaminación mundial relacionados con la emisión de gases con efecto invernadero y por último la seguridad energética que se ve afectada por el decremento gradual de las reservas de hidrocarburos [1-4].

México, orillado por la tendencia a la baja en la extracción de petróleo crudo en sus principales yacimientos, inició en 2003, la transición energética y la búsqueda de energías alternas, que eliminen o disminuyan la causa de este problema como son: la dependencia de los combustibles fósiles [5], los elevados costos de exploración y extracción en pozos profundos y la incertidumbre en la cantidad de las reservas a largo plazo [6]. Sin embargo, ya otros países de este hemisferio como Estados Unidos de América y Brasil, habían iniciado dicho proceso algunos años antes.

Como parte de las adecuaciones y regulaciones nacionales para la transición energética se han llevado a cabo reformas de ley que permiten y regulan la investigación y el uso de energías renovables [7], señalando en este contexto el bioetanol y el biodiesel como elementos claves para la autosuficiencia energética del sector agropecuario [8].

Para la producción de biodiesel, *Jatropha curcas* L., ha sido señalada como una de las especies con gran potencial por su producción de aceite [9], ya que el combustible obtenido de ésta, cubre los estándares internacionales de calidad para el diésel derivado del petróleo, y es posible su uso directo en motores de combustión interna, así como el aprovechamiento industrial de los subproductos en su cadena de producción y transformación [10, 11].

El escaso conocimiento de la biología y el comportamiento agronómico de *Jatropha curcas* L. como cultivo extensivo, fueron los problemas iniciales relacionados con su producción y actualmente se evidencian los bajos rendimientos de semilla y las plagas y enfermedades como causas limitantes [12].

Jatropha curcas L. podría ser importante como fuente de materia prima para la producción de bioenergéticos en México, por ello, el presente estudio buscó revelar la diversidad de esta especie en América, comprender el efecto del ambiente sobre los caracteres de interés agronómico y probar el potencial de la especie como cultivo bioenergético, con la finalidad de generar conocimientos que permitan la selección de accesiones con potencial dentro del cultivo, para el mejoramiento genético y su conservación para estudios posteriores.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES GENERALES

1.1. Biocombustibles

En México el desarrollo sustentable se presentó como eje central de la política pública desde el “Plan Nacional de Desarrollo 2001-2006”, donde las energías renovables iniciaron su participación como pilar rector de modelos energéticos sustentables, en los cuales se planteó el uso del potencial energético presente en el país: la energía solar, eólica, hidráulica, geotérmica y la bioenergía; las cuatro primeras para la generación de energía eléctrica y la última para la producción de biocombustibles [13].

En el marco de la ley Mexicana de Promoción y desarrollo de los bioenergéticos se define el concepto de Bioenergético como: “Combustible obtenido de la biomasa proveniente de materia orgánica de la actividad agrícola, pecuaria, silvícola, acuacultura, algacultura, residuos de la pesca, domésticas, comerciales, industriales, de microorganismos y de enzimas, así como sus derivados producidos por procesos tecnológicos sustentables que cumplan con las especificaciones y normas de calidad establecida por la autoridad competente” [14]. Esta definición permite observar la amplia gama de materias primas para la generación de esta energía que, al ser utilizadas como combustibles líquidos, se presentan como una opción para el sector transporte.

Los combustibles para el sector transporte producidos a partir de la biomasa, son denominados biocombustibles y su importancia radica en la capacidad de permitir la transición del uso de combustibles fósiles a renovables, al ser compatibles con la tecnología actual. Para ello, un biocombustible debe de cumplir cinco características: ser líquido, altamente combustible, pero no explosivo, estable en almacenamiento por largos períodos, transportable vía tubos o ductos y económicamente accesible [15].

Estudios de factibilidad económica en México, realizados por la SENER, señalan dos biocombustibles con potencial y viables para la transición energética en el transporte: bioetanol y biodiesel [16]. Estos son comparados en la Tabla 1.1, con respecto a los procesos de producción, la materia prima para su obtención y las especies propuestas

para ello [17]. Para ambos biocombustibles entre las especies propuestas se consideran varios cultivos que constituyen alimenticios básicos.

Tabla 1.1. Materias primas agrícolas para la conversión de biocombustibles líquidos en Latinoamérica.

Biocombustible	Proceso	Materia prima	Especies propuestas
Bioetanol	Fermentación y destilación	Azúcares	Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>); Remolacha azucarera (<i>Beta vulgaris</i> var. <i>altissima</i>); Sorgo dulce (<i>Sorghum bicolor</i>)
	Sacarificación, fermentación y destilación	Féculas	Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>); Centeno (<i>Secale cereale</i>); Maíz (<i>Zea mays</i>); Papa (<i>Solanum tuberosum</i>); Trigo (<i>Triticum sativum</i>); Yuca (<i>Manihot esculenta</i>)
		Celulosa	Álamo (<i>Populus nigra</i>); <i>Miscanthus</i> sp; Pasto varilla (<i>Panicum virgatum</i>); Rastrojo agrícola; Sauce (<i>Salix</i> sp.)
Biodiesel	Extracción y esterificación	Aceites	Colza (<i>Brassica napus</i>); Girasol (<i>Helianthus annuus</i>); <i>Jatropha curcas</i> ; Maní (<i>Arachis hypogaea</i>); Palma de aceite (<i>Elaeis guineensis</i>); Soya (<i>Glycine max</i>)

FAO, 2008.

Los cultivos básicos propuestos, pusieron en entre dicho la sustentabilidad de los bioenergéticos, al impactar en la seguridad alimentaria en dos aspectos principales: la distribución de la tierra entre la producción de alimentos o cultivos energéticos y la accesibilidad a los alimentos por el incremento en sus costos [18]. Esta situación en el alza de precios internacionales en los alimentos, agrava una situación agrícola estructural en Sudamérica y México, en donde se ha dejado de lado la prioridad de contar con una política de auto abasto en los alimentos y de insuficiente apoyo en la inversión en el

campo [19], con un resultado conocido, el alza de precios en alimentos básicos como el maíz.

Entre las medidas implementadas en México, con la finalidad de no agravar la seguridad alimentaria, se corrigió, en 2007, la Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos señalando “nuevas alternativas energéticas a partir de la gran diversidad geográfica, y que por sus condiciones, produce diversas variedades de productos agropecuarios, forestales y biotecnológicos, que permiten producir bioenergéticos que sustituirán a los energéticos tradicionales” y se consideró “promover la producción de insumos para Bioenergéticos, a partir de las actividades agropecuarias, forestales, algas, procesos biotecnológicos y enzimáticos del campo mexicano, sin poner en riesgo la seguridad y soberanía alimentaria del país, de conformidad con lo establecido en los artículos 178 y 179 de la Ley de Desarrollo Rural Sustentable” [20], indicando la necesidad del uso de especies no alimenticias en la producción de biocombustibles, señaladas como cultivos de segunda generación que, en perspectiva presentan mayores ventajas (Tabla 1.2) [21].

Se proponen como cultivos de segunda generación especies divididas en tres categorías: con potencial agrícola como: *Jatropha curcas*, Cardo (*Cynara cardunculus*), Sorgo dulce (*Sorghum bicolor*), Pataca (*Helianthus tuberosus*) y Colza etíope (*Brassica carinata*); forestales como: Eucaliptos (*Eucalyptus* sp.), Chopos (*Populus* sp.), Robles (*Quercus* sp.) y cultivos especializados como las algas. Señalándose que las dos primeras categorías, pueden establecerse en tierras abandonadas que, con estrategias adecuadas, podrían contribuir a evitar la emigración rural y promover la diversificación de la agricultura, buscando la rentabilidad sin subsidios [22].

Se reconoce a *Jatropha curcas* L., como un cultivo energético de segunda generación, para la producción de biocombustibles en zonas tropicales y subtropicales del planeta [23], ya que presenta beneficios ecológicos como la capacidad de ser cultivada de manera extensiva en suelos degradados, actuar como bioremediador y contribuir al control de erosión en suelos [24], lo que evita la competencia con suelos agrícolas. Además, se señalan beneficios ambientales por contribuir esta planta a la captura de carbono y el biodiesel obtenido de ella ser amigable con el ambiente por su baja emisión de azufre, benceno y CO₂. Como beneficios adicionales a la industria energética, se señalan el uso

de subproductos con fines industriales en: la manufactura de extractos, en la industria farmacéutica como antitumoral, antiinflamatorio, y antimicrobiano [25] y en la cosmética por la presencia de saponinas y glicerina. Aunque su contenido de esteres de forbol e inhibidores de tripsina puede ser un problema para la salud humana [26].

Tabla 1.2. Comparativo entre cultivos bioenergéticos de primera y segunda generación.

Parámetros	Cultivo bioenergético	
	Primera generación	Segunda generación
Ventaja	<p>Se adaptan flexiblemente a la tecnología existente.</p> <p>Genera beneficios económicos a los grandes productores.</p> <p>Algunos pueden sustituir en un 100% a los combustibles fósiles o incrementar su rendimiento al utilizarse en mezcla.</p>	<p>No compiten directamente con la alimentaria humana y animal, al disponer de mayor variedad de materias primas no comestibles.</p> <p>Pueden ser cultivados en áreas sin potencial agrícola ni ganadero, diversificando el uso de los bosques.</p> <p>Baja demanda de agua para riego.</p> <p>No son necesarios requerimientos masivos de agroquímicos.</p> <p>Reducción en la emisión de gases de efecto invernadero (CO y CO₂).</p>
Desventaja	<p>Crisis alimentaria por la competencia entre el cultivo de alimentos o biocombustibles.</p> <p>Elevado consumo de agua dulce para riego.</p> <p>Contaminación por el uso de agroquímicos provenientes de hidrocarburos.</p> <p>Deforestación por cambio de uso del suelo.</p> <p>Perdida de la identidad socio-cultural de comunidades ligadas a la agricultura tradicional.</p> <p>Alta demanda energética en la producción, almacenamiento y transporte.</p>	<p>Al encontrarse en su umbral de comercialización, los gastos de manufactura son relativamente altos.</p> <p>Posible propagación de OGMs con impactos desconocidos</p> <p>Posible pérdida de biodiversidad por la modificación de hábitats naturales a monocultivos.</p>

Desde 2006, estudios de factibilidad realizados en México, señalaron a *Jatropha curcas* L. como una especie oleaginosa con potencial para la producción de biodiesel [27, 28], ya

que se adapta a condiciones difíciles de suelo, presenta un amplio rango de distribución y no es apta para consumo humano [29, 30], lo que permite que su producción no esté influenciada por las variaciones del mercado al competir como fuente de alimento, como ha sucedido con el maíz.

1.2. Origen, descripción y distribución de *Jatropha curcas* L.

La familia botánica *Euphorbiaceae* tiene como centro de origen, diversificación y endemismo el Continente Americano [31]. Ésta es una de las familias más grandes en México, ya que agrupa 782 especies conocidas, distribuidas en 43 géneros [32], entre ellos se incluye el género *Jatropha*, que está representado por un total de 188 especies a nivel mundial. En México existen un total de 41 especies de este género, de las cuales el 75.6% son estrictamente endémicas, por lo que nuestro país es considerado como centro de diversidad secundario del género *Jatropha* [33], al cual pertenece *J. curcas*.

A pesar de lo anterior, el centro de origen de *J. curcas* no ha sido determinado con certeza, al respecto J. Heller [34], propone a México y Centroamérica como posible centro de origen, aunque la evidencia no ha sido contundente, ya que no se han registrado y documentado la presencia de poblaciones silvestres. Recientemente, Pecina-Quintero y colaboradores [35] reportaron dos aspectos relacionados con la diversidad de *J. curcas*, en primer lugar México presenta una amplia diversidad, principalmente en el estado de Chiapas, donde el germoplasma presentó características que no son compartidas por otros ejemplares del país, y por último que, el germoplasma con mayor indicio de domesticación se encontró en los estados de Veracruz, Puebla, Hidalgo y Yucatán; por lo anterior sugieren la posibilidad de que el centro de origen y domesticación se encuentre en México.

Se ha propuesto a México y Centroamérica como el posible centro de dispersión de *J. curcas* [36]. Estudios moleculares realizados en ADN ribosomal apoyan la hipótesis, señalando a México como posible centro de origen y a Centroamérica como centro de dispersión, proponiendo que la ruta de movimiento de germoplasma hacia el resto del mundo, inició en Centroamérica hacia Cabo Verde y de ahí continuó hacia Europa y Asia [37].

Jatropha curcas L. es un arbusto o árbol pequeño, caducifolio, de hasta 8 m de alto, aunque usualmente es menor. El tallo tiene un diámetro de hasta 20 cm, está ramificado a poca altura, con una copa ancha e irregular. La corteza externa es verde amarillenta, pálida y casi lisa, delgada como papel, con desprendimientos en tiras horizontales y la corteza interna es blanca con rayas rojas, exuda una savia amarillenta y astringente. Presenta hojas simples, alternas, con pecíolos de 5 a 35 cm de largo, lámina palminervada, de 7 a 32 cm de diámetro, con tres a cinco lóbulos, de borde liso, haz verde y envés verde claro, glabros. El fruto es una cápsula elíptica, de 2.5 a 4 cm de largo, de aproximadamente 3 cm de ancho, poco carnoso, de color amarillo al madurar, dehiscente en tres segmentos. Las semillas se presentan de 2 a 3 por fruto, son de forma oblonga o elipsoide, de aproximadamente 2 cm de largo y 1 cm de ancho, de color negro con líneas pálidas conspicuas. La flor es una inflorescencia en cimas laterales, ramificadas, con el pedúnculo central de hasta 15 cm de largo. Las flores masculinas y femeninas están separadas en la misma inflorescencia. En algunas ocasiones se presentan flores hermafroditas y en otras plantas solamente con flores femeninas. Las flores masculinas tienen 10 estambres; las femeninas presentan un ovario de tres lóculos, estilo corto y tres estigmas bifurcados, con pétalos blanquecinos de 6 mm de largo [38, 39].

Con respecto a su distribución en México, *J. curcas* puede ser hallada en casi todo el territorio nacional, se destacan dos centros de diversidad: uno que corresponde a la vertiente del Pacífico (Estados de Sinaloa, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas); y el otro al Atlántico (Estados de Veracruz hasta Yucatán) [40]. Información de la CONABIO (Tabla 1.3), señala que los Estados con mayores reportes de la especie fueron Yucatán, Sinaloa, Veracruz y Chiapas.

En la Península de Yucatán, según datos históricos proporcionados por el herbario del Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C. “*U Najil Tikin Xiw*”, se observó la distribución y presencia de dos especies del género *Jatropha*: *Jatropha gaumeri* Greenm. señalada como endémica y *Jatropha curcas* L.

Tabla 1.3. Distribución nacional de *Jatropha curcas* L. basada en registros de la CONABIO.

Estado	Municipios con registros	Registros por Estado	Proporción de registros totales (%)
Hidalgo	1	1	0.39
México	1	1	0.39
Colima	2	2	0.78
Michoacán	2	2	0.78
Jalisco	2	3	1.18
Tabasco	2	3	1.18
Campeche	3	4	1.57
Tamaulipas	3	4	1.57
Nayarit	5	5	1.96
San Luis Potosí	5	5	1.96
Morelos	3	7	2.75
Oaxaca	7	9	3.53
Puebla	6	11	4.31
Quintana Roo	3	11	4.31
Guerrero	11	17	6.67
Yucatán	13	26	10.20
Sinaloa	6	29	11.37
Veracruz	25	53	20.79
Chiapas	23	62	24.31

Información obtenida de la consulta del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) de la CONABIO.

La distribución de *J. curcas*, en la Península de Yucatán, no es tan amplia como se esperaría, existen 14 registros de herbario de 9 municipios del estado de Yucatán, dos registros del estado de Campeche y otro del estado de Quintana Roo. En contraste *J. gaumeri* presentó una distribución amplia y consistente en los tres estados que conforman la Península de Yucatán, como se observa en la Figura 1. 1.

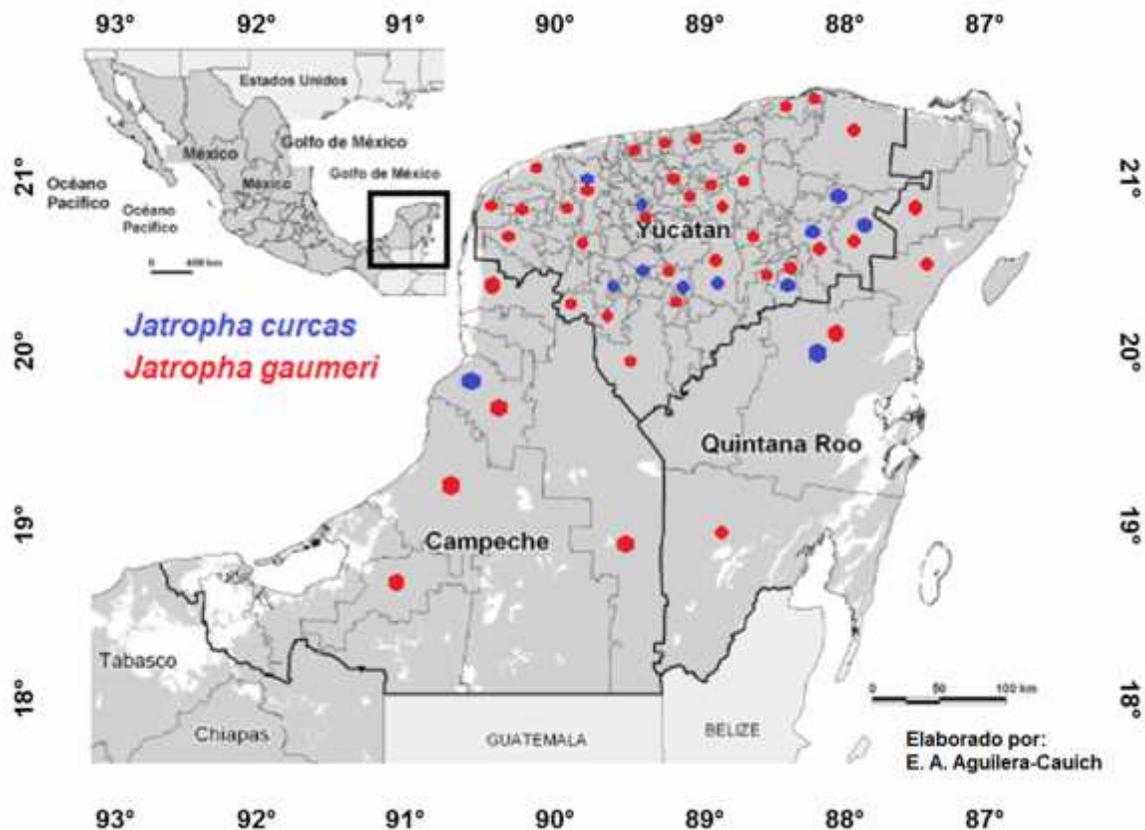


Figura 1.1. Distribución del género *Jatropha* en la Península de Yucatán, basado en registros históricos del herbario y fibroteca “*U Najil Tikin Xiw*” del Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C.

Por otra parte, la distribución de *J. curcas* L. se asocia a la vegetación de selva baja subperennifolia, en zonas secas entre 1,400 a 1,800 mm de precipitación pluvial; o en áreas más húmedas con suelos pobres y selva baja caducifolia, que se hallan en zonas con un clima cálido y seco, con una precipitación pluvial menor a 1,500 mm, con sequías que pueden durar más de seis meses [41]. En Yucatán, *J. curcas* L. ha sido señalada como parte de la flora del Estado [47] y su distribución se asocia con agroecosistemas tradicionales como milpas, acahuales y huertos familiares [42, 43], en los que se han conservado tradicionalmente especies utilizadas por las culturas prehispánicas.

1.3. Diversidad genética de *Jatropha curcas* L.

Diversos estudios analizaron la diversidad en *J. curcas* alrededor del mundo y reportaron diferencias genéticas entre los materiales evaluados, generando como hipótesis común que en el centro de origen de la especie, la variación genética podría ser mayor [44]; lo anterior dirige la búsqueda de diversidad hacia zonas de alta diferenciación genética para la especie, como el Continente Americano, esperando encontrar mayor diversidad.

En Brasil se estudiaron 110 accesiones pertenecientes al banco de germoplasma de Embrapa, los resultados reportaron coeficientes de variación altos para los caracteres: Rendimiento de grano (77.3%); Número total de ramificaciones (12.8%) y Volumen del dosel (10.9%) [45]. En la India, el estudio de 72 accesiones provenientes de 14 países, principalmente India, México, Madagascar y China, reportó alta diversidad con respecto a la cantidad de proteína cruda, lípidos, ceniza y el contenido de esteres de forbol, señalando variación genética con respecto a las procedencias y alta diversidad entre genotipos procedentes de México [46].

Estudios de caracterización morfológica realizados en Colombia [47], Cuba [48], India [49] y Malasia [50], y basados en análisis multivariados, reportaron resultados similares con respecto a la variación, detectando diferencias entre las accesiones evaluadas en cada estudio, que al ser comparados entre sí, es posible apreciar coincidencias con respecto a caracteres discriminantes para dicha variación (Tabla 1.4), entre los que se pueden señalar: la altura de la planta, el grosor del tallo, el número de ramas principales por planta y el rendimiento de semilla por planta. En todos los estudios se concluyó que la especie es heterogénea, tanto en caracteres morfológicos, como para el rendimiento de semilla y aceite.

También se ha reportado alta variación en los caracteres asociados a la semilla. Se determinó que el peso de la semilla y su morfología presentaron diferencias relacionadas con la procedencia de las plantas y que, inclusive esta variación podría observarse dentro de la misma planta, ya que se registraron diferencias entre semillas por su ubicación espacial en el estrato de colecta [51].

Tabla 1.4. Caracteres discriminatorios de diversidad entre accesiones de *Jatropha curcas* L. en Colombia, Cuba, India y Malasia, mediante análisis de componentes principales.

Variable	Colombia [47]	Cuba [48]	India [49]	Malasia [50]
Longitud de la semilla	✓			✓
Ancho de la semilla	✓			
Relación largo/ancho de la semilla	✓			
No. de semillas por fruto	✓			✓
Peso de las semilla	✓			
No. de frutos por racimo	✓			
No. ramas principales por planta	✓	✓		
Altura de la planta		✓	✓	✓
Grosor de las ramas principales		✓		
Número de ramas secundarias		✓		
Número de ramas terciarias		✓		
Grosor del tallo en la base		✓	✓	✓
Altura a la primera rama		✓		
Número de ramas por planta			✓	
Extensión de la planta			✓	
Longitud de la hoja			✓	
Rendimiento de semilla por planta			✓	✓
Rendimiento de semilla por ha				✓
Rendimiento de aceite por planta			✓	
Rendimiento de aceite por ha				✓
Peso de 100 semillas				✓

Los marcadores moleculares son marcadores genéticos, al igual que los morfológicos y bioquímicos, sólo que analizan la variabilidad y revelan las diferencias entre individuos a nivel de ADN, por ello son muy utilizados para el análisis de la diversidad, ya que sus resultados no son afectados por el ambiente, y pueden detectarse con facilidad, en cualquier estadio de desarrollo [52].

En especies vegetales tropicales es común el uso de marcadores moleculares para realizar estudios de diversidad, los principales marcadores utilizados y sus características se resumen en la Tabla 1.5. El uso de RAPD e ISSR es muy común, ya que presentan aplicaciones relacionadas con estudios genéticos, de diversidad, secuenciación y mapas de ligamiento [53].

Tabla 1.5. Resumen de las principales características de los marcadores moleculares más utilizados en frutales tropicales y el tipo de estudio en que fueron aplicados, según Azofeita-Delgado, 2006.

Característica	Isoenzimas	RFLP	RAPD	AFLP	ISSR
Polimorfismo detectado	Bajo	Medio	Medio	Medio	Alto
Tipo de dominancia	Usualmente codominante	Codominante	Dominante	Dominante / Codominante	Codominante
Número de loci	Multiloci	Multiloci	Multiloci	Multiloci	Multiloci
Abundancia en el genoma	Baja	Media	Muy alta	Alta	Media
Número de citas	7	18	33	13	21
<u>Aplicación</u>					
Variación interespecífica	✓	✓			
Variación intraespecífica	✓		✓	✓	✓
Relaciones genéticas		✓	✓		✓
Secuenciación		✓	✓	✓	✓
Mejoramiento genético	✓				
Mapas de ligamiento	✓	✓	✓	✓	✓

Se han utilizado marcadores moleculares en *Jatropha* para evaluar diversidad y relaciones genéticas intraespecíficas y a nivel de poblaciones. En la India se usaron RAPD e ISSR para determinar variación genética entre accesiones de *J. curcas* [54], evaluando 29 accesiones y 47 iniciadores RAPD y 25 iniciadores ISSR; el polimorfismo

reportado con RAPD fue de 60.5% y con ISSR de 59.82%, valores muy similares entre ellos. Para discriminar con respecto a la diversidad y comparar ambos marcadores se aplicó la prueba de Mantel a las matrices de similitud generadas mediante el índice de Jaccard, resultando un valor de $r = 0.862$, por lo que se concluyó que la diversidad revelada por estos marcadores fue similar.

Los marcadores ISSR y RAPD también se han utilizado para la selección de germoplasma, específicamente en un estudio que incluyó 42 accesiones de *J. curcas* provenientes de diferentes zonas de cultivo extensivo de la India, y un genotipo no tóxico de México, se probaron 400 marcadores RAPD y 100 ISSR. Como resultado se observó que el 66.75% de los RAPDS revelaron patrones polimórficos y seis de ellos fueron específicos para accesiones Indias y 17 para la accesión Mexicana, mientras que 29% de los ISSR presentaron patrones polimórficos, 2 específicos para accesiones Indias y 4 para accesiones Mexicanas. Con ambos marcadores se encontraron diferencias genéticas bajas (42% con RAPDs y de 33.5% con ISSR), por lo anterior y al observar que era posible diferenciar accesiones en relación a su procedencia y toxicidad, los ISSR fueron seleccionados para ser probados como SCAR (marcadores tipo Región Amplificada de Secuencia Caracterizada) [55].

En la India se probaron ISSR para determinar diversidad y relaciones interespecíficas del género *Jatropha*, para ello se utilizaron tres accesiones correspondientes a *J. curcas* (dos provenían de India y una de Zimbawe), y las restantes accesiones fueron de otras especies: *J. integerrima*, *J. podagrica*, *J. tanjorensis*, *J. gossypifolia*, *J. maheshwaeii*, *J. multifolia*, *J. villosa* y *J. glandulifera*. Mediante el índice de similitud de Jaccard se determinó un alto nivel de diversidad y diferenciación interespecífica, donde la mayor similitud se presentó entre las especies *J. tanjorensis* - *J. gossypifolia* y *J. maheshwaeii* - *J. gossypifolia* con índices de 0.807, la menor similitud se encontró entre *J. integerrima* - *J. curcas* (esta última originaria de Zimbawe), los análisis de ordenamiento por componentes principales separaron a *J. curcas* del resto de las especies [56].

Un estudio similar para determinar la capacidad de los ISSR para discriminar entre la diversidad intraespecífica e interespecífica en *Jatropha* [57], consideró accesiones de *J. curcas* provenientes de México, China, Tailandia y Vietnam y accesiones de las especies:

J. integerrima, *J. gossypifolia* y *J. podagrica* y una accesión de *Ricinus communis* L., también de la familia *Euphorbiaceae*. En dicho estudio se utilizó el coeficiente de similitud de Dice, el cual arrojó diferencias genéticas contrastantes entre accesiones provenientes de orígenes geográficos diferentes. Además se sugirió que, estas diferencias pueden señalar subgrupos a nivel de género, ya que de los siete grupos resultantes, en el primero se agruparon todas las accesiones provenientes de México, en el segundo las de China y Vietnam, en el tercero las Tailandesas, en los grupos del 4 al 6 las accesiones del género *Jatropha* (con procedencias diferentes a México) y en el último grupo las accesiones de *Ricinus communis* L.. Cabe señalar que la mayor diversidad intraespecífica se presentó entre las accesiones de *J. curcas* procedentes de México.

Los ejemplos anteriores muestran la capacidad de los marcadores ISSR para revelar diversidad, diferencias interespecíficas e inclusive geográficas para el género *Jatropha*.

Los marcadores moleculares también son útiles para evaluar la diversidad entre poblaciones o accesiones, para la selección de bancos de germoplasma o determinar la representatividad de una colección. Como ejemplo, en China se evaluó el uso de ISSR para determinar diversidad poblacional con la finalidad de iniciar una colección núcleo del germoplasma de *J. curcas* [58]. Se realizó el análisis de 224 accesiones utilizando los índices de Nei y Shannon, el resultado reveló una alta variación genética general, ya que se observó (mediante el análisis de conglomerados basado en la distancia genética de Nei), que las accesiones se diferenciaban por procedencias y que la variación genética más baja se observó en accesiones colectadas en islas de la costa de China, en contraste, con la mayor diversidad observada en accesiones colectadas en el área continental. Con ello se determinó la factibilidad de los ISSR para el establecimiento de bancos de germoplasma.

El uso de herramientas moleculares es confiable y reproducible, como se determinó en un estudio utilizando RAPD e ISSR en clonas de *J. curcas* [59], donde el resultado estableció que entre clonas no existían diferencias y que, las diferencias observadas entre las accesiones usadas para generar las clonas, se debían a la procedencia (origen) de las plantas.

El reporte más completo para establecer la eficiencia y repetitividad de los ISSR en estudios de diversidad, lo presentaron Grativol y colaboradores [60], el trabajo incluyó 332 accesiones distribuidas en 12 localidades de Brasil, se identificaron mediante ISSR un total de 104 loci, de los cuales el 94% fueron polimórficos, el contenido de información polimórfica, fue baja con 0.1; el Índice del marcador, que mide la eficiencia para determinar polimorfismo, resultó con valores elevados; y por último, el poder de resolución, medida del poder discriminatorio del marcador, presentó un valor aceptable comparado con ISSR en estudios similares en otras especies. Por lo anterior y basado en los índices de correlación aceptables entre las tres medidas, los autores demuestran eficiencia y reproducibilidad en el uso de ISSR para determinar diversidad.

1.4. El cultivo de *Jatropha curcas* L. en México y perspectivas

Los reportes de la producción comercial de *J. curcas* L. como materia prima para la producción de aceite en la generación de Metil Ester (biodiesel), pueden agruparse en dos categorías: la primera con base al tiempo de inicio de su cultivo, ya que en plantaciones recientes se observan problemas similares, relacionados principalmente con la productividad; y la segunda con el manejo técnico de la plantación, sin importar el tiempo de establecimiento de la misma.

Los reportes de producción y cultivo de *J. curcas* en México se encuentran en la primera categoría, el inicio del cultivo a escala comercial de esta especie es relativamente reciente. El primer registro fue en el año 2006, cuando el gobierno del estado de Chiapas inició un programa para la producción de aceite a partir de *J. curcas*, los resultados no fueron los esperados ya que no se alcanzaron los rendimientos esperados. Valero en 2011 [61], realizó un análisis de esta situación, revelando un conjunto de factores como la causa de este resultado, entre ellos señaló lo siguiente: Inestabilidad institucional por parte del gobierno Estatal, ausencia de soporte proveniente de la investigación científica antes y durante el proyecto, falta de información sobre los requerimientos técnicos del cultivo y la entrega parcial y tardía de subsidios.

A pesar de los resultados anteriores, en México ha continuado el establecimiento de *J. curcas* con fines comerciales, como lo presentó SAGARPA a través del portal del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) [62], en el que se reportó durante el

2015 a los estados de Yucatán, Quintana Roo y Puebla, como los principales estados con superficie sembrada desde el año 2009 al 2013 (Figura 1.2).

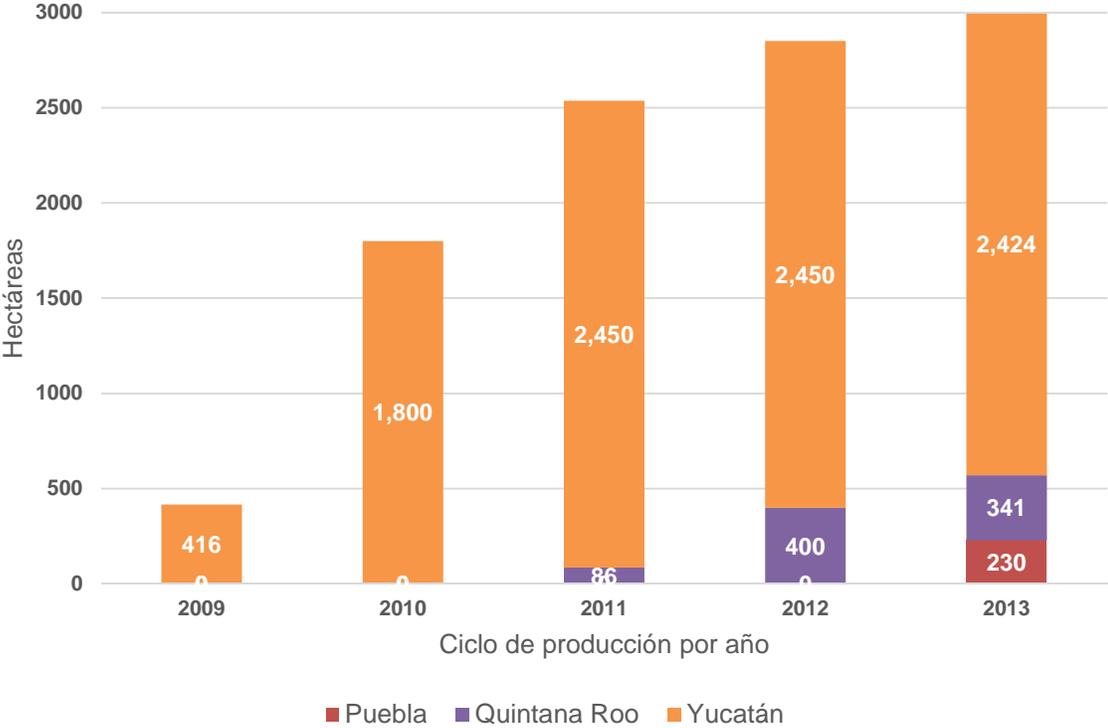


Figura 1.2. Distribución y superficie sembrada en México de *Jatropha curcas* L., según registros históricos del SIAP.

En el estado de Yucatán, la empresa privada KUOSOL S.A. de C.V. emprendió el cultivo extensivo de *J. curcas* como monocultivo, los resultados no fueron favorables y el proyecto fue abandonado. En 2013 se realizó un estudio de viabilidad económica tomando como base el proyecto anterior [63], el resultado reveló que la fase agrícola del proceso de producción de biodiesel fue la que dificultó la viabilidad económica del sistema, representando el 92% de los costos totales. Como alternativa para alcanzar la viabilidad, se propusieron tres estrategias: el mejoramiento genético de la planta enfocándose a incrementar la productividad de semilla; la introducción de policultivos que permitan un mayor aprovechamiento del área de siembra y el uso de los subproductos.

En países con mayor tiempo y avance, respecto a la investigación de *J. curcas* como cultivo energético, se observaron situaciones similares a las descritas anteriormente, por ejemplo en China, donde la problemática asociada al establecimiento del cultivo fueron los bajos rendimientos y altos requerimientos de energía en la producción agrícola relacionados con el mantenimiento del cultivo [64], seguido de la extracción y procesamiento del aceite, así como la gran cantidad de subproductos [65].

En la India, la situación inicial del cultivo no fue diferente, presentó situaciones problemáticas en el establecimiento del cultivo y en el manejo agronómico de las plantaciones [66], una vez superados estos problemas, se centraron en el manejo de los subproductos; la transformación del aceite con miras a la comercialización del producto final; la búsqueda de mercados potenciales [67] y en políticas gubernamentales relacionadas con el uso de la tierra y la distribución del cultivo [68].

Las primeras evaluaciones sobre el rendimiento estimado de aceite y los costos relacionados con el establecimiento de *J. curcas*, como un cultivo para la producción de aceite, generaron expectativas positivas que, llevaron a establecer cultivos con fines comerciales en diversas regiones, sin una evaluación ni una investigación rigurosa del comportamiento de la especie en monocultivo. Después de obtener resultados por debajo de las expectativas se hicieron recomendaciones generales, principalmente dirigidas a la investigación básica, relacionadas con la domesticación y mejoramiento genético de la especie, previas al establecimiento de plantaciones comerciales como: prácticas agrícolas adecuadas; el uso eficiente de agua, fertilizantes y el arreglo espacial de la plantación [69, 70].

En México, apoyados por SAGARPA y SENER, se han llevado a cabo estudios sobre la diversidad y el mejoramiento genético de *J. curcas*. Para este último fin, el mejoramiento genético de la especie, se han señalado como estrategias viables la hibridación o el cruzamiento entre genotipos distintos [71], esto en base a dos aspectos: el primero la alta heterogeneidad y diversidad reportada en *J. curcas* [72]; y el segundo que la hibridación, propicia la generación de nuevas especies del género *Jatropha* en medios naturales. El mejoramiento genético mediante cruzamiento entre especies y la mutación inducida por

medios biotecnológicos, son estrategias con potencial para estos fines y que hacen uso de la diversidad intraespecífica [73].

Un estudio sobre hibridación interespecífica entre *J. curcas* x *J. integerrima* reportó decremento del peso de la semilla de 0.64 g a 0.39 g (± 0.14), e incremento en los valores de los ácidos grasos esteárico y oleico de 5.15 a 6.85 (± 1.43), y de 37.71 a 40.69 (± 7.57) respectivamente [74]. Otro estudio reportó afinidad intraespecífica y el efecto de heterosis en 91 cruzas realizadas, con una sola excepción, la crusa de *J. curcas* x *J. multifida* [75].

La heterosis o vigor, es la sobre expresión de un carácter como resultado de la hibridación [76]; esta estrategia de mejoramiento ha sido evaluada para *J. curcas* en Malasia, donde al realizar cruzas dialélicas se reportó heterosis positiva en los caracteres: días a la aparición del brote floral, días a la primera floración masculina y femenina, días a la madurez del fruto, número de ramas primarias por planta a la primera floración, número de inflorescencias por planta, número de frutos por inflorescencia, número de frutos por planta, peso de 100 semillas y rendimiento de semilla por planta. Sin embargo, de las 15 cruzas realizadas, solamente cuatro de ellas fueron señaladas como prometedoras [74].

La generación de líneas homocigotas es otra estrategia que podría presentar resultados prometedores, ya que algunos estudios han reportado alta heredabilidad de caracteres. En la India, en un estudio de herencia, se reportó heredabilidad y avance genético en los caracteres: largo de la semilla (77 y 4.42%), peso de la semilla (96 y 18%) y contenido de aceite (99 y 18.1%) [77].

Al no presentarse barreras biológicas, es posible realizar autopolinización y obtener semilla viable [78], y los reportes sobre la heredabilidad de caracteres de interés para la producción de biocombustible, abren la posibilidad de explorar y explotar estas características en programas de mejoramiento genético tradicional de la especie.

El presente trabajo se centró en valorar y determinar la diversidad a nivel morfológico y molecular de accesiones de *J. curcas* colectadas en México y otros países del continente americano, esto con la finalidad de revelar a nivel genético el potencial de esta especie como cultivo energético en la producción de aceite para biodiesel, proponiendo estrategias de evaluación de diversidad y realizando recomendaciones que permitan

seleccionar accesiones para su ingreso a programas de conservación y mejoramiento genético.

1.5. Hipótesis

Entre las accesiones de *Jatropha curcas* L. evaluadas se encontrará al menos una que presente características propicias para su cultivo con fines de producción de aceite para biodiesel en Yucatán.

1.6. Objetivo general

Evaluar accesiones de *Jatropha curcas* L. para revelar sus diferencias genéticas, con el propósito de seleccionar individuos con aptitudes para el cultivo con fines de producción de aceite para biodiesel en Yucatán, México.

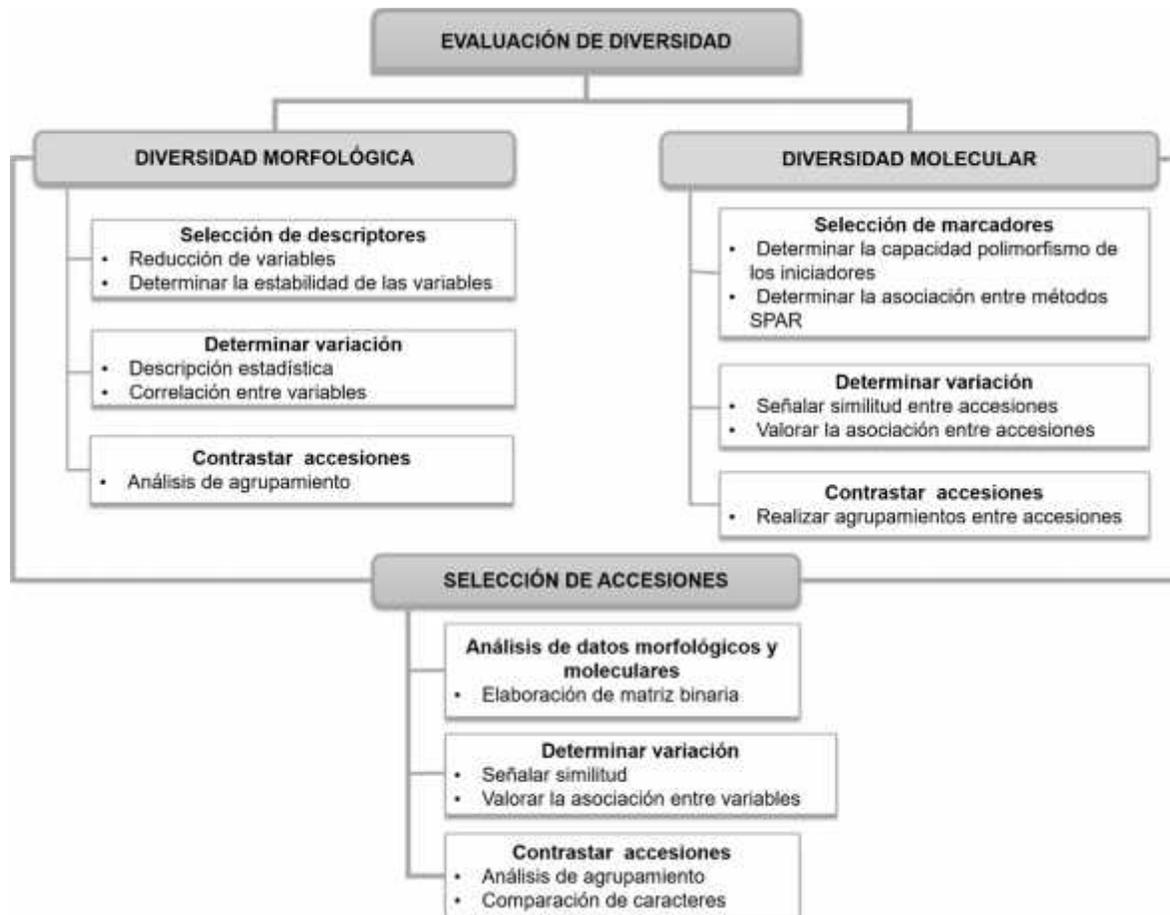
1.6.1. Objetivos particulares

1. Caracterizar a nivel morfológico la diversidad fenotípica entre accesiones de *Jatropha curcas* L., colectadas en diferentes regiones de América Latina y establecidas en el estado de Yucatán, México.
2. Evaluar la diversidad genética entre las accesiones de *J. curcas* con el empleo de marcadores moleculares tipo SPAR (ISSR, AP-PCR, DAMD).
3. Revelar la diversidad genética existente entre las accesiones de *J. curcas* bajo estudio con el fin de seleccionar las de mayor potencial como cultivo energético para su uso en la producción de biodiesel.

CAPÍTULO 2

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA

2.1 Estrategia experimental



2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Diversidad morfológica y contraste agronómico entre accesiones de *Jatropha curcas* L.

2.2.1.1. Material genético y sitio de estudio

Para el estudio se utilizaron 15 accesiones de *J. curcas* propiedad de la empresa Agroindustria Alternativa del Sureste S.P.R. de R.L. de C.V. Las procedencias de las accesiones fueron reportadas en cinco países de América (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Accesiones de *Jatropha curcas* L. evaluadas fenotípicamente en Yucatán, México y sus respectivas procedencias de colecta.

Accesión	País	Estado/Provincia	Latitud	Longitud
B05	Brasil	Piauí	8° 14' 00.00" S	43° 06' 00.00" O
B03	Brasil	Piauí	8° 14' 00.00" S	43° 06' 00.00" O
S03	El Salvador	Chalatenango	14° 34' 16.16" N	89° 10' 43.55" O
S01	El Salvador	Chalatenango	14° 34' 16.16" N	89° 10' 43.55" O
G01	Guatemala	Zacapa	15° 04' 42.53" N	89° 26' 11.01" O
H02	Honduras	Valle	13° 32' 12.86" N	87° 29' 06.57" O
MYT10	México	Yucatán	21° 08' 43.69" N	88° 08' 58.59" O
MYP06	México	Yucatán	20° 43' 21.00" N	89° 41' 08.00" O
MY01	México	Yucatán	20° 42' 35.56" N	89° 05' 39.62" O
MYC02	México	Yucatán	21° 00' 28.26" N	89° 38' 28.31" O
MYG03	México	Yucatán	20° 59' 20.45" N	89° 37' 56.01" O
MYG04	México	Yucatán	20° 59' 20.45" N	89° 37' 56.01" O
MCT10	México	Chiapas	16° 45' 11.00" N	93° 06' 56.00" O
MCT09	México	Chiapas	16° 45' 11.00" N	93° 06' 56.00" O
MCE06	México	Chiapas	16° 10' 55.02" N	91° 58' 03.80" O

Las accesiones fueron evaluadas en el sureste de México, en un área de 12 hectáreas, ubicadas en la región noreste del estado de Yucatán (entre los 20° 57' y 21° 35' LN y los 87° 31' y 88° 16' LO), donde se presenta un clima Aw (temperatura promedio anual de 25.3 °C y precipitación media anual de 1293.7 mm) y un suelo tipo rendzina y litosol

(información proporcionada por Agroindustria Alternativa del Sureste). Las condiciones para la evaluación del cultivo fueron sin riego y sin fertilización.

2.2.1.2 Colecta de datos

Se registraron 14 caracteres morfo-agronómicos (Tabla 2.2) para determinar la expresión del fenotipo, incluyendo caracteres asociados al rendimiento [79, 80, 81, 82].

Tabla 2.2. Lista de los 14 caracteres morfo-agronómicos registrados y evaluados en 15 accesiones de *Jatropha curcas* L.

Carácter	Clave	Descripción
Altura de la planta (cm)	PH	Distancia desde la base al ápice del tallo.
Amplitud del dosel (cm)	CB	Amplitud mayor entre los extremos distales de las ramas.
Diámetro del tallo (cm)	CD	Diámetro del cuello del tallo.
Numero de ramas primarias	NPB	Total de ramas principales.
Estructura de ramificación	BO	Señala la presencia de ramificaciones de segundo o tercer orden.
Número de frutos por racimo	NFC	Total de racimos frutales por rama.
Número de frutos por rama	NFB	Total de frutos por rama
Crecimiento post-poda (cm)	HGPP	Ganancia de altura posterior a la poda.
Largo del fruto (cm)	FL	Distancia longitudinal entre los extremos del fruto, tres frutos como unidad experimental.
Ancho del fruto (cm)	FB	Distancia transversal entre los puntos distales del fruto, tres frutos como unidad experimental.
Forma del fruto	FF	Relación entre los valores de alto y ancho del fruto, tres frutos como unidad experimental.
Volumen del fruto (cm ³)	SV	Calculo mediante la ecuación de volumen para una elipse, se tomaron 5 semillas como unidad experimental.
Peso de 100 semillas (g)	HSW	Peso de 100 semillas como unidad experimental.
Rendimiento de aceite (g)	OY	Cantidad de aceite obtenido del peso de 100 semillas con respecto al contenido de aceite extraído por hexano.

El registro de datos se realizó durante octubre y noviembre de 2013, en plantas con dos años de establecimiento en campo. Para conservar los genotipos y contar con material suficiente para la evaluación, se generaron 33 clonas vegetativas de cada accesión. Las clonas se plantaron en un diseño completamente al azar, a una distancia entre planta e hilera de dos y tres metros, respectivamente. La unidad experimental fue una clona con 6 réplicas por accesión.

2.2.1.3 Análisis estadístico

Se determinaron los parámetros estadísticos básicos (promedio, valores mínimos y máximos, desviación estándar, coeficiente de variación y error), para todos los caracteres evaluados utilizando el paquete estadístico Statgraphic plus 5.1 [83].

El programa NTSYS PC 2.1 [84], fue utilizado para estimar la relación entre los caracteres (coeficiente de correlación de Pearson), la diversidad mediante el análisis de componentes principales (PCA) [50, 85]. Se realizó un análisis de conglomerados [86], mediante el algoritmo UPGMA usando la distancia taxonómica promedio, basado en la proyección de los 4 primeros componentes principales, utilizando el módulo PROJ del programa estadístico NTSYSpc [84]. Se validó el resultado del análisis de conglomerados mediante la elaboración de una matriz cofenética y su comparación con la matriz de similitud original, utilizando el estadístico de normalidad de Mantel de dos vías [87, 88].

Para el cálculo de la repetibilidad del carácter (R) se utilizó el modelo $Y_{ij} = \mu + g_i + e_{ij}$, ($\mu + g_i$ = verdadero valor del i -ésimo individuo; e_{ij} = error de observación en la j -ésima medida del i -ésimo individuo) y la ecuación de $R = \sigma_i^2 / (\sigma_i^2 + \sigma_e^2)$ (R = repetibilidad del carácter; σ_i^2 = varianza originada por la diferencia genética entre individuos; σ_e^2 = varianza particular o específica de cada individuo entre mediciones) [89].

2.2.2 Diversidad y relaciones genéticas basadas en SPAR entre accesiones de *Jatropha curcas* L.

2.2.2.1 Aislamiento de ADN genómico

Para este estudio se incluyeron 28 accesiones de *J. curcas* pertenecientes al banco de germoplasma de la empresa Agroindustria Alternativa del Sureste S.P.R. de R.L. de C.V. (Tabla 2.3). El ADN genómico fue extraído de acuerdo a la metodología utilizada por el laboratorio GeMBio [90], y fue utilizado para realizar todos los análisis.

Tabla 2.3. Listado de las 28 accesiones de *Jatropha curcas* L. incluidas en el análisis molecular y sus referencias geográficas.

Accesión	Estado	País	Grupo geográfico
S01	Chalatenango	El Salvador	Centro américa
SL02	Chalatenango	El Salvador	Centro américa
S03	Chalatenango	El Salvador	Centro américa
G01	Zacapa	Guatemala	Centro américa
H02	Valle	Honduras	Centro américa
BR01	Piauí	Brasil	Sur américa
BR02	Piauí	Brasil	Sur américa
B03	Piauí	Brasil	Sur américa
BR04	Piauí	Brasil	Sur américa
B05	Piauí	Brasil	Sur américa
MY01	Tabasco	México	Golfo de México
MXTB105	Tabasco	México	Golfo de México
MCE06	Tabasco	México	Golfo de México
MXTB107	Tabasco	México	Golfo de México
MXCH208	Chiapas	México	Sur de México
MCT09	Chiapas	México	Sur de México
MCT10	Chiapas	México	Sur de México
MXCH211	Chiapas	México	Sur de México
MXCH001	Chiapas	México	Sur de México
MXCH002	Chiapas	México	Sur de México
MXCH003	Chiapas	México	Sur de México
MXCH004	Chiapas	México	Sur de México
MYC02	Yucatán	México	Sureste de México
MYG03	Yucatán	México	Sureste de México
MYG04	Yucatán	México	Sureste de México
MYYC105	Yucatán	México	Sureste de México
MYP06	Yucatán	México	Sureste de México
MYT10	Yucatán	México	Sureste de México

2.2.2.2 Amplificación de los marcadores SPAR

Los iniciadores AP-PCR, ISSR y DAMD, fueron sintetizados por la empresa Invitrogen, Sao Pablo, Brasil y se enlistan en la Tabla 2.4. La reacción de PCR para los iniciadores AP-PCR y DAMD (Tabla 2.4), fueron realizadas a un volumen final de reacción de 25 μ l, conteniendo 1x PCR (10 x 200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.4) amortiguador (Invitrogen), 0.25 mM de cada uno de los dNTPs (Invitrogen), 2 mM MgCl₂, 0.2 μ M del iniciador correspondiente, 100 ng de template de ADN y 1U de la enzima *Taq* polimerasa (Invitrogen).

Tabla 2.4. Lista de iniciadora SPAR incluidos en el análisis de diversidad genética a *Jatropha curcas* L.

Iniciador	Secuencia 5' – 3'	TM (°C)	Referencia
AP-PCR			
(TCC) ₅	TCCTCCTCCTCCTCC	42	Bridge et al. [91]
(GACAC) ₃	GACACGACACGACAC	42	Bridge et al. [91]
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	50	Talhinhas et al. [92]
(GAC) ₅	GACGACGACGACGAC	50	Lidkind et al. [93]
(CAG) ₅	CAGCAGCAGCAGCAG	60	Talhinhas et al. [92]
ISSR			
IS04	GTGCGTGCGTGCGTGC	52	Weigou et al. [95]
IS09	GAGGAGGAGGAGGC	56	Weigou et al. [95]
IS16	GAGAGAGAGAGAGG	54	Weigou et al. [95]
IS15	GTGGTGGTGGTGGTGC	56	Weigou et al. [95]
IS21	GTCGTCGTCGTCGTCGTC	56	Weigou et al. [95]
DAMD			
M13	GAGGGTGGCGGTTCT	42	Bridge et al. [91]
HVA	AGGATGGAAAGGAGGC	55	Zhou et al. [94]
HBV	GGTGTAGAGAGGGGT	55	Zhou et al. [94]
33.6	GAGGGTGGCGGTTCT	55	Zhou et al. [94]
HVR	CCTCCTCCCTCCT	55	Zhou et al. [94]

La reacción de PCR para los iniciadores ISSR se realizó a un volumen final de reacción de 25 µl, conteniendo 1x PCR (10 x 200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.4) amortiguador (Invitrogen), 0.25 mM de cada uno de los dNTPs (Invitrogen), 2 mM MgCl₂, 1 µM del iniciador correspondiente, 100 ng of template de ADN y 1U de la enzima *Taq* polimerasa. Todas las reacciones de amplificación fueron realizadas en un termociclador GeneAmp 9700 DNA Thermal Cycler (Perkin–Elmer).

Los programas de amplificación para cada marcador fueron los siguientes: para AP-PCR (TCC)₅ y (GACAC)₃ la temperatura de alineamiento fue de 42 °C [91]; para (CAG)₅ y (GTG)₅, la temperatura de alineamiento fue de 60 °C [92]; para (GAC)₅ se usó una temperatura de alineamiento de 50 °C [93]. El programa de PCR para todas las reacciones fue el siguiente: un primer paso de desnaturalización a 95 °C por 5 min, seguido por 40 ciclos de 40 s a 95 °C, 60 s de alineamiento a la temperatura adecuada para cada iniciador, 60 s a 72 °C para la extensión, y por ultimo una paso de extensión final de 5 min a 72 °C.

Los DAMD fueron amplificados de acuerdo a reportes previos: para HVA, HBV, HVR y 33.6, a una temperatura de alineamiento de 55 °C [94]; para M13 se utilizó una temperatura de 42 °C [91]; la amplificación del ADN consistió en un primer paso de desnaturalización a 95 °C por 5 min, seguido por 40 ciclos de 1 min a 92 °C, 2 min utilizando la temperatura apropiada de la temperatura de alineamiento, 2 min a 72 °C, y un paso de extensión final de 7 min a 72 °C.

Los ISSR se amplificaron según lo reportado por Weigou et al. [95], para IS09, IS15 y IS21 se utilizó una temperatura de alineamiento de 56 °C; para IS04 se utilizó 52 °C; y para IS16 fue utilizado 54 °C; La amplificación de ADN fue llevado a cabo con un paso de desnaturalización inicial a 94 °C por 2 min, seguido por 36 ciclos de 40 s a 94 °C, 45 s a la temperatura apropiada de alineamiento, 1.5 min a 72 °C y una paso final de extensión de 7 min a 72 °C.

Todos los fragmentos amplificados de ADN fueron separados por electroforesis en geles de agarosa a 1.5% (p/v), y teñido con bromuro de etidio para su visualización bajo un transiluminador. La imagen fue tomada con un fotodocumentador UVP Bioluminescence imaging systems y procesada con el programa Lab Works 4.0.

2.2.2.3 Análisis de datos

La huella genética fue transformada en variables discretas, usando “1” para indicar la presencia de fragmentos y “0” para indicar la ausencia de ellos. Los datos binarios obtenidos con los diferentes iniciadores, de manera individual (por método de iniciador) o de manera acumulada, fueron utilizados para construir una matriz de similitud usando el coeficiente de Dice [96] y el método de grupos pareados. La media aritmética de grupos pareados (UPGMA), fue utilizada para generar un dendograma basado el coeficiente de similaridad de Dice, con el módulo de conglomerados del programa NTSYSpc versión 2.02e [84]. Análisis de coordenadas principales (PCoA), fue utilizado para separar las accesiones. La prueba de Mantel [87] fue llevada a cabo en el módulo “Matrix comp.” del programa NTSYS.pc [84] con 1000 permutaciones, para calcular la matriz de correlación (r), entre las matriz de similaridad generada para el conjunto de marcadores AP-PCR, DAMD e ISSR.

Los datos fueron utilizados para determinar diferentes parámetros, como el número total de bandas, el número de bandas polimórficas, el porcentaje de polimorfismo, el número de bandas por iniciador, determinar bandas polimórficas por iniciador y determinar la distancia genética. Para determinar que método SPAR proporciona más información, tres parámetros fueron calculados: el contenido de información polimórfica (PIC); el poder de resolución (Rp) y el Índice de marcador (MI).

El valor de PIC para cada mascador SPAR y el acumulado fue calculado como lo reportó Anderson et al. [97]:

$$P = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2$$

Donde P_i es la frecuencia del i -ésimo alelo, y k es el número total de alelos diferentes en el locus.

El Rp fue calculado de acuerdo con Prevost y Wilkinson [98]:

$$Rp = I_b$$

Donde I_b representa los fragmentos informativos, tomando el valor de $1 - [2 \times (0.5 - p)]$, donde p es la proporción de los fragmentos contenidos en las 28 accesiones.

El MI fue calculado como lo reportó Grativol et al. [60]:

$$MI = \left[n_j \times \left(\frac{n_p}{(n_p + n_{np})} \right) \right] \times P$$

Donde n representa el promedio de fragmentos amplificados por accesión en un marcador específico; n_p el número de locus polimórficos y (n_{np}) locus no polimórficos.

2.2.3 Análisis de la diversidad genética y el potencial de *Jatropha curcas* L. como cultivo energético

2.2.3.1 Variables morfológicas incluidas en la evaluación

Se evaluaron 30 accesiones de *J. curcas* (Tabla 2.5), tomando como unidad experimental una réplica clonal por accesión, con 6 repeticiones elegidas al azar, en un diseño experimental completamente al azar. Se incluyeron nueve caracteres en la evaluación: altura de la planta (m), la amplitud de la copa (m), el diámetro del tallo (cm), la cantidad de ramas principales, el número de racimos frutales, el número de frutos por rama, el volumen de la semilla, el peso de 100 semillas (g) y el rendimiento de semilla estimado (kg ha^{-1}) para el último período de cosecha. La descripción de los caracteres y medidas correspondientes se encuentran en la Tabla 2.2.

2.2.3.3 Análisis de datos

Los datos generados por la caracterización morfológica fueron transformados a una matriz binaria de presencia (1), ausencia (0), para ello se generaron categorías basadas en los resultados de un ANOVA ($Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$; donde: Y_{ij} = Variable de objeto de estudio en este caso accesión i en el nivel j ; μ = es una constante e indica la respuesta media de todos los niveles; τ_i = efecto diferencial del nivel i ; ϵ_{ij} = el error) y su posterior comparación de medias por el método de Tukey ($\alpha = 0.05$), análisis realizado en el programa estadístico Statgraphic plus 5.1 [83].

Tabla 2.5. Lista de las 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. incluidas en la evaluación y sus procedencias de colecta.

Accesión	Clave	Procedencia	Accesión	Clave	Procedencia
S01	SL1	El Salvador	MCT09	CH2	Chiapas
SL02	SL2	El Salvador	MCT10	CH3	Chiapas
S03	SL3	El Salvador	MXCH211	CH4	Chiapas
G01	GT1	Guatemala	MXCH001	CH5	Chiapas
H02	HN2	Honduras	MXCH002	CH6	Chiapas
BR01	BR1	Brasil	MXCH003	CH7	Chiapas
BR02	BR2	Brasil	MXCH004	CH8	Chiapas
B03	BR3	Brasil	MYC02	YC1	Yucatán
BR04	BR4	Brasil	MYG03	YC2	Yucatán
B05	BR5	Brasil	MYG04	YC3	Yucatán
MY01	TB1	Tabasco	MYC105	YC4	Yucatán
MXTB105	TB2	Tabasco	MYP06	YC5	Yucatán
MCE06	TB3	Tabasco	MYT10	YC6	Yucatán
MXTB107	TB4	Tabasco	VR01	VR1	Veracruz
MXCH208	CH1	Chiapas	I01	I1	India

Los fragmentos amplificados por cada uno de los iniciadores AP-PCR, ISSR y DAMD (Tabla 2.4), se utilizaron para generar una matriz de presencia (1), ausencia (0). Ambas matrices binarias se unificaron y con ellas se construyó una matriz de similitud usando el coeficiente de Jaccard, generando un dendrograma UPGMA y usando el módulo SIMPROF, con 1000 permutaciones, para señalar grupos entre accesiones utilizando el programa estadístico PRIMER v 6.1. [99]. Por último, los grupos observados en el dendrograma se contrastaron con los caracteres Altura de planta, Amplitud de dosel y Rendimiento de semilla.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Diversidad morfológica y el contraste agronómico.¹

Los valores obtenidos de la caracterización morfo-agronómica mostraron diferencias estadísticas para las 15 accesiones (Tablas 3.1). Para el cultivo comercial de *Jatropha curcas* L., se propone el uso de plantas con porte bajo [69], por lo que se propone como planta ideal aquella que presente altura menor a 2.5 m y amplitud de dosel menor a 2 m, de manera que permita la fácil recolección de frutos y una mayor densidad de siembra por hectárea; en cuanto al número de ramas, mientras mayor sea su número, mayor cantidad potencial de racimos tendrá; así mismo, grosores de tallo superiores a 5.5 cm serían favorables para un mayor rendimiento. Igualmente es deseable que muestren alta producción de semillas y rendimiento de aceite superior al 50% de su peso.

Los resultados nos señalan que los caracteres asociados al porte de la planta como altura de planta (PH), ancho del dosel (CB) y diámetro del tallo (CD), presentaron valores altos en las accesiones, B03, G01, H02, MCE06 y MCT09, y los valores menores se observaron en las accesiones MYC02, S01 y S03; en lo general se presentaron en promedio portes bajos para altura y amplitud de dosel, con respecto al diámetro del tallo las accesiones presentaron valores aceptables, superiores a 5 cm. Las accesiones americanas presentaron el porte similar al de las accesiones Malayas [50], mientras que, al compararlas con las accesiones indias [49], fueron diferentes, con valores más adecuados en el caso de las americanas. Cabe señalar que las accesiones provenientes de El Salvador resultaron ser las de menor porte para altura y amplitud de dosel.

En la estructura de ramificación se observó que las accesiones B03, G01, MCE06 y MYT10 presentaron el mayor número de ramas principales (NPB) y la mayor estructura de ramificación (BS) en contraste con las accesiones S01, S03, H02 y MY01 que presentaron los valores más bajos.

¹ E.A. Aguilera-Cauich; D. Pérez-Brito; A. Navarrete; G. López-Puc; G. Castañón; J.C. Sacramento; C. Rubio; A. Uc-Vázquez; C. Góngora-Canul; J.O. Mijangos-Cortés, Assessment of phenotypic diversity and agronomic contrast in American accessions of *Jatropha curcas* L., *Ind. Crop. Prod.* 77, 1001-1003, 2015.

Con respecto a la capacidad de fructificación, las accesiones MCE06, MCT10, MYP06, H02, B03 y MYT10, presentaron valores altos en el número de frutos por racimo (NFC) y número de frutos por rama (NFB), los valores más bajos fueron observados en S03 y MYC02.

La mayor ganancia de altura después de la poda (HGPP), se observó en las accesiones MYG04, B05, MYT10 y MYC02 y los valores inferiores en este carácter se observaron en S01, S03, MCT09 y MCT10.

Los frutos con mayor tamaño con respecto al largo del fruto (FL) y ancho del fruto (FB) se observaron en las accesiones MYT10, MCT10, S01, B05 y B03, y los valores más bajos los ostentan las accesiones MY01, H02 y G01.

Con respecto al carácter forma del fruto (FF), las accesiones G01, B03, B05 y MCT10, presentaron valores inferiores a 1, lo que señala una forma redonda del fruto y las accesiones restantes presentaron valores mayores a 1, que representan una forma elíptica del fruto.

Con respecto a caracteres asociados a rendimiento como, el número de ramas principales, el número de frutos por racimo y el número de frutos por rama, se reportó en India accesiones con tres ramificaciones en promedio [49, 100], y una proporción de 5 - 10 racimos frutales mientras que, para accesiones Malayas se reportó un promedio de 2.47 racimos frutales [50]. Las accesiones americanas evaluadas presentan en promedio mejores atributos con relación a caracteres asociados a rendimiento.

Por su parte, los caracteres volumen de la semilla (SV) y peso de 100 semillas (HSW) las accesiones con valores mayores fueron S01, B05 y B03 y aquellas con menor valor fueron MYP06, S03 y MYT10; al reportar para las accesiones evaluadas un valor promedio para el peso de 100 semillas de 80.78 g y compararlos con los reportes para esta característica en India, con valores entre 69 y 100 g [49] y el reporte de 72.5 g en Malasia [50], es posible señalar un mayor peso de semilla en América.

Los mayores rendimientos de aceite (OY) lo presentaron las accesiones MCT10, MCE06 y B03, el menor rendimiento se observó en MYG03, MYG04, MYP06, MYT10; el valor

promedio de aceite fue 50.52%, lo cual fue consistente con un registro previo para México, en el que se señaló un porcentaje de aceite entre 25 - 60% [101] mientras que, para India y Malasia se reportaron valores entre 28 - 38% [49, 100]. Por lo anterior, el peso de las semillas y el contenido de aceite de las accesiones americanas evaluadas son superiores a los reportes de India y Malasia. Tomando en cuenta que se determinó un bajo efecto del ambiente sobre ambos caracteres, el potencial de las accesiones evaluadas es mayor para efectos de mejoramiento. Por las características anteriores sobresalen una accesión de origen brasileño (B03) y dos mexicanas (MCE06 y MCT10).

Los coeficientes de variación más elevados se observaron en caracteres relacionados con la capacidad de fructificación NFB y NFC (65.65% y 57.56%, respectivamente) y HGPP (56.95 cm), los valores menores se observaron en FF y los caracteres asociados a rendimiento HSW y SV (Tabla 3.1).

Con respecto a altura de la planta, en Malasia e India [50, 49], los valores relacionados al CV resultaron inferiores a los obtenidos para las accesiones americanas. Mientras que para peso de la semilla en Malasia [50], el valor obtenido fue similar al del presente estudio. En contraste para el rendimiento de aceite en Malasia [50] el CV fue superior al encontrado en las accesiones americanas. Para el resto de las variables estudiadas los CV fueron superiores al 10% al ser comparadas con las de India y Malasia. Esta alta variación de las accesiones americanas, en la mayoría de los caracteres estudiados, pudiera ser debida a que en México es donde se ha reportado el mayor endemismo para este género [33] y que ha sido considerado como el posible centro de origen de la especie *J. curcas* L. [34].

Tabla 3.1. Descripción y estadísticos básicos para caracteres morfo-agronómicos y atributos de rendimiento evaluados en 15 accesiones de *Jatropha curcas* L.

Accesión	PH	CB	CD	NPB	BO	NFC	NFB	HGPP	FL	FB	FF	SV	HSW	OY
B03	268.44	257.80	8.57	4.50	1.83	6.33	16.17	65.44	3.28	3.04	1.08	11.91	88.67	50.98
B05	262.43	211.24	9.42	3.83	1.67	5.83	15.67	101.43	3.29	3.04	1.08	12.04	89.67	47.25
G01	307.66	241.43	10.53	3.50	2.00	6.00	11.00	65.66	2.88	2.69	1.07	11.39	83.67	45.01
H02	302.81	244.55	9.31	2.50	2.67	7.00	16.67	80.81	2.93	2.67	1.10	9.78	79.00	42.74
S01	206.37	200.84	6.80	2.33	1.50	3.67	9.33	48.37	3.37	3.06	1.10	12.30	90.00	47.70
S03	196.57	168.44	5.49	2.67	1.50	2.17	9.00	47.57	3.18	2.81	1.13	9.24	71.00	38.20
MCE06	264.53	293.81	10.85	4.00	2.00	11.50	33.17	85.53	3.03	2.76	1.10	11.20	85.67	52.09
MCT09	297.35	298.38	8.59	3.17	2.00	4.83	19.00	40.12	3.25	2.85	1.14	11.43	83.00	44.16
MCT10	224.43	209.16	7.46	4.00	1.33	8.17	21.83	39.56	3.50	3.20	1.09	11.01	86.00	58.05
MY01	268.79	169.92	6.95	2.83	1.67	4.83	12.50	79.79	2.93	2.61	1.13	11.63	87.67	47.69
MYC02	196.44	232.43	6.68	3.00	1.50	1.75	3.75	94.44	2.96	2.53	1.17	11.35	82.33	42.32
MYG03	231.53	212.91	7.44	3.33	1.67	3.83	12.33	80.53	2.96	2.58	1.15	10.27	78.67	30.76
MYG04	233.50	165.61	6.61	3.17	1.67	3.33	7.67	116.50	3.32	2.84	1.17	9.83	72.33	34.94
MYP06	254.06	189.91	7.93	3.33	2.33	6.67	20.83	67.06	3.30	2.67	1.24	8.72	66.33	37.21
MYT10	204.14	253.18	6.75	4.00	1.83	5.67	18.33	95.14	3.66	2.87	1.28	9.43	67.67	37.42
n	86	86	86	86	86	86	86	86	258	258	258	450	4500	45
Mean	247.75	222.67	7.93	3.35	1.81	5.51	15.51	73.58	3.20	2.82	1.14	10.77	80.78	50.52
Min.	161.37	101.65	3.92	2.00	1.00	1.00	1.00	1.66	2.34	2.01	1.01	7.81	66.00	30.49
Max.	365.81	379.37	11.71	6.00	3.00	19.00	70.00	194.77	4.65	4.08	1.43	12.85	92.00	58.05
DE	51.03	65.62	1.94	0.84	0.60	3.17	10.18	41.90	0.40	0.37	0.08	1.17	7.91	7.10
CV (%)	20.60	29.47	24.52	24.99	33.30	57.56	65.65	56.95	12.55	12.94	6.72	10.90	9.79	16.24
Error (%)	2.22	3.18	2.64	2.69	3.59	6.21	7.08	6.14	1.35	1.40	0.72	1.15	1.46	1.05

PH: altura de planta; CB: amplitud del dosel; CD: diámetro del tallo; NPB: número de ramas; BO: orden de ramificación; NFC: número de frutos por racimo; NFB: número de frutos por rama; HGPP: ganancia de altura post-poda; FL: largo del fruto; FB: ancho del fruto; FF: forma del fruto; SV: volumen de semilla; HSW: peso de 100 semillas; OY: rendimiento de aceite.

El resultado del análisis de correlación realizado entre las 15 accesiones, incluyendo los 14 caracteres morfo-agronómicos, se detalla en la Tabla 3.2. Se encontraron siete correlaciones significativas, aquellas con valores de “r” superiores a 0.7. Es de importancia señalar los valores de correlación observados entre variables asociadas al rendimiento como en HSW-SV con valor de $r = 0.955$, HSW-FF con valor de $r = -0.809$ y HSW-OY con valor de $r = 0.746$ g.

Respecto a las correlaciones entre caracteres, en Malasia se reportaron [50] correlaciones positivas entre el carácter rendimiento de semilla y los caracteres de altura de la planta y el número de racimos; así como entre el carácter rendimiento de aceite y los caracteres rendimiento de semilla por planta, rendimiento de semilla por hectárea, número total de ramificaciones, número de frutos por racimo y altura de la planta. Los reportes de India [49] señalaron que, el carácter rendimiento de semilla por planta se correlacionó positivamente con los caracteres altura de la planta y número de ramificaciones por planta, y el carácter número de ramas por planta se correlacionó positivamente con la altura de la planta.

En los reportes citados se aprecia una constante asociación entre el rendimiento de semillas y la altura de la planta, en contraste, las correlaciones observadas en el presente estudio no señalaron asociaciones lineales entre caracteres vegetativos y de rendimiento, pero sí entre los caracteres de porte (altura, diámetro del tallo y orden de ramificación) y un grupo de caracteres asociados a rendimiento (número de frutos por racimo, número de frutos por rama y diámetro del tallo) y entre el peso de la semilla y el rendimiento de aceite. Para las accesiones evaluadas se podría utilizar el peso de la semilla como un posible indicador del rendimiento de aceite. Por su parte el diámetro del tallo (carácter de porte) podría utilizarse como indicador de caracteres asociados a rendimiento.

En cuanto a la repetibilidad entre los caracteres, se encontró que HSW y OY presentaron los resultados más altos con valores de 0.988 y 0.996 respectivamente, mientras que el mayor efecto del ambiente, se observó en aquellos caracteres con el menor valor de repetibilidad, presentándose en los caracteres FB y HGPP con valores de 0.672 y 0.693 respectivamente (Tabla 3.3).

Tabla 3.2. Coeficiente de correlación entre caracteres morfo-agronómicos y atributos de rendimiento entre 15 accesiones de *Jatropha curcas* L.

	PH	CB	CD	NPB	BO	NFC	NFB	HGPP	FL	FB	FF	SV	HSW	OY
PH	1.000													
CB	0.429	1.000												
CD	0.790**	0.645**	1.000											
NPB	0.114	0.424	0.396	1.000										
BO	0.690**	0.390	0.560*	-0.071	1.000									
NFC	0.475	0.507*	0.737**	0.554*	0.425	1.000								
NFB	0.349	0.550*	0.583*	0.535*	0.386	0.925**	1.000							
HGPPG	-0.062	-0.119	0.056	0.135	0.098	-0.056	-0.149	1.000						
FL	-0.435	-0.048	-0.348	0.360	-0.278	0.053	0.195	-0.123	1.000					
FB	-0.135	0.034	-0.006	0.382	-0.367	0.236	0.231	-0.344	0.736**	1.000				
FF	-0.433	-0.120	-0.480	-0.008	0.109	-0.243	-0.045	0.294	0.408	-0.318	1.000			
SV	0.215	0.282	0.325	0.137	-0.361	0.072	-0.054	-0.141	-0.158	0.337	-0.672**	1.000		
HSW	0.295	0.253	0.398	0.113	-0.277	0.211	0.056	-0.198	-0.254	0.341	-0.809**	0.955*	1.000	
OY	0.232	0.302	0.395	0.342	-0.174	0.563*	0.429	-0.383	0.092	0.570*	-0.630	0.660	0.746	1.000

* Correlación significativa a un nivel de 0.05 de significancia; ** Correlación significativa a un nivel de 0.01 de significancia. PH: altura de planta; CB: amplitud del dosel; CD: diámetro del tallo; NPB: número de ramas; BO: orden de ramificación; NFC: número de frutos por racimo; NFB: número de frutos por rama; HGPP: ganancia de altura post-poda; FL: largo del fruto; FB: ancho del fruto; FF: forma del fruto; SV: volumen de semilla; HSW: peso de 100 semillas; OY: rendimiento de aceite.

Tabla 3.3. ANOVA y análisis de repetibilidad para 14 caracteres morfo-agronómicos evaluados para determinar diversidad en 15 accesiones Americanas de *Jatropha curcas* L.

Fuente de variación	df	Cuadrados medios													
		PH	CB	CD	NPB	BO	NFC	NFB	HGPP	FL	FB	FF	SV	HSW	OY
Accesiones	14	7838.80	10574.00	13.21	2.35	0.72	34.26	286.71	3168.87	0.31	0.22	0.02	7.67	191.94	157.41
Error	75	1487.55	2906.38	1.82	0.36	0.28	5.01	63.99	1398.34	0.13	0.11	0.00	0.20	2.22	0.65
R		0.840	0.784	0.879	0.868	0.718	0.872	0.817	0.693	0.708	0.672	0.880	0.974	0.988	0.996

PH: altura de planta; CB: amplitud del dosel; CD: diámetro del tallo; NPB: número de ramas; BO: orden de ramificación; NFC: número de frutos por racimo; NFB: número de frutos por rama; HGPP: ganancia de altura post-poda; FL: largo del fruto; FB: ancho del fruto; FF: forma del fruto; SV: volumen de semilla; HSW: peso de 100 semillas; OY: rendimiento de aceite.

En general debido al bajo efecto del ambiente sobre estos caracteres de porte (altura de la planta y amplitud del dosel), es posible esperar una mayor ganancia genética en el mejoramiento de los mismos. Un resultado similar se podría esperar en las accesiones provenientes de Brasil, Guatemala y Honduras, las cuales sobresalen con respecto al rendimiento, número de ramas principales, número de frutos por racimo y número de frutos por rama, en los cuales debido al bajo efecto del ambiente, es posible esperar un mayor potencial productivo.

Los primeros cuatro componentes del análisis de componentes principales explicaron el 84.19% de la variación total, involucrando 10 de los 14 caracteres (Tabla 3.4). El CP1 que explicó el 35.67% de la variación total, está conformado por cuatro caracteres, de los cuales uno (CD) está asociado al porte y el resto al rendimiento (OY, NFC y HSW); mientras que, el CP2 (22.27%) está asociado con tres caracteres diferentes de las plantas (BO, FB y SV).

Tabla 3.4. Análisis de componentes principales, valores y vectores propios para los primeros cuatro componentes principales en el análisis de 15 accesiones de *J. curcas*.

Descriptor	Componentes principales			
	1	2	3	4
Valores propios	4.99	3.12	2.53	1.15
Varianza (%)	35.67	22.27	18.05	8.20
Varianza acumulada (%)	35.67	57.94	75.99	84.19
	Vectores propios			
Diámetro del tallo	0.839	0.425	0.155	-0.122
Rendimiento de aceite	0.787	-0.452	-0.105	0.095
Número de frutos por racimo	0.782	0.358	-0.362	0.017
Peso de 100 semillas	0.696	-0.558	0.381	-0.141
Estructura de ramificación	0.245	0.856	0.116	0.253
Ancho del fruto	0.363	-0.606	-0.566	0.136
Volumen de la semilla	0.601	-0.602	0.344	-0.247
Largo del fruto	-0.126	-0.292	-0.883	0.057
Número de ramas principales	0.487	0.051	-0.588	-0.470
Ganancia de altura post-poda	-0.238	0.331	0.073	-0.828

La Figura 3.1 presenta el agrupamiento entre las 15 accesiones evaluadas, en ella se aprecia que las accesiones MYP06, H02, MCE06, MY01 y S01, presentaron diferencias suficientes para ser consideradas individuos independientes, mientras que las accesiones restantes se concentraron en dos grupos.

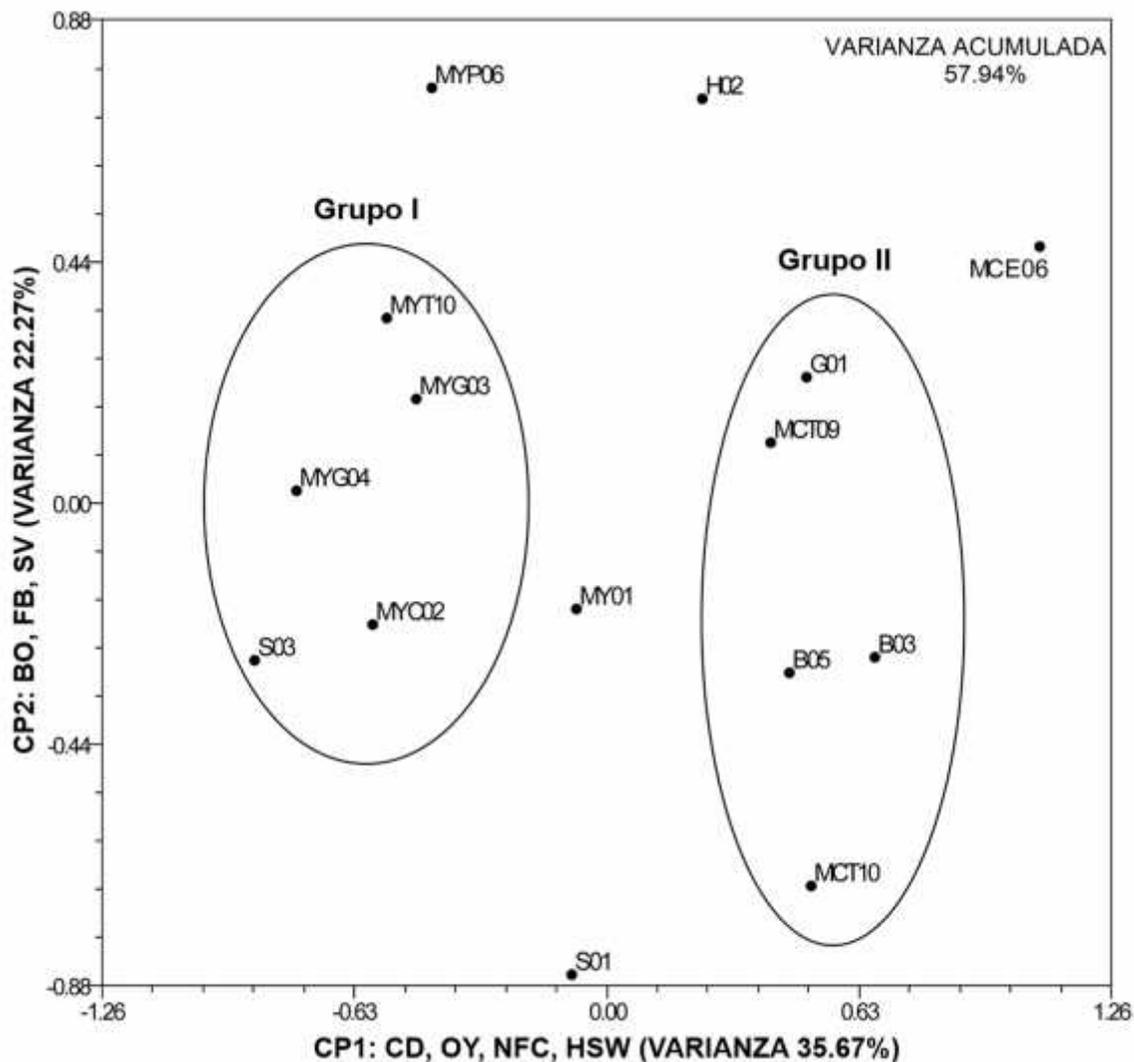


Figura 3.1. Gráfico de saturación del análisis de componentes principales señalando relaciones morfológicas entre accesiones de *J. curcas*.

El Grupo I estuvo formado principalmente por accesiones mexicanas, colectadas en el estado de Yucatán y una accesión proveniente de El Salvador, agrupando estas

accesiones por presentar valores bajos en los caracteres PH (196.44 – 233.50 cm), CB (165.61 – 253.18 cm), OY (30.76 – 42.32%) y alto en el carácter HGPP (47.57 – 116.50 cm).

El Grupo II lo conformaron accesiones colectadas en México, procedentes del estado de Chiapas, Guatemala y Brasil, similares por presentar valores altos en PH (224.43 – 307.66 cm), SV (11.01 – 12.04 cm³), HSW (83 – 89.67 g) y valores de intermedios a elevados en OY (44.16 – 58.05%).

En la Figura 3.2 se representa el ordenamiento de las 15 accesiones mediante el método UPGMA; en la prueba de Mantel se obtuvo un valor de $r = 0.7$, lo que señala un nivel de correlación aceptable y por lo tanto una distorsión aceptable.

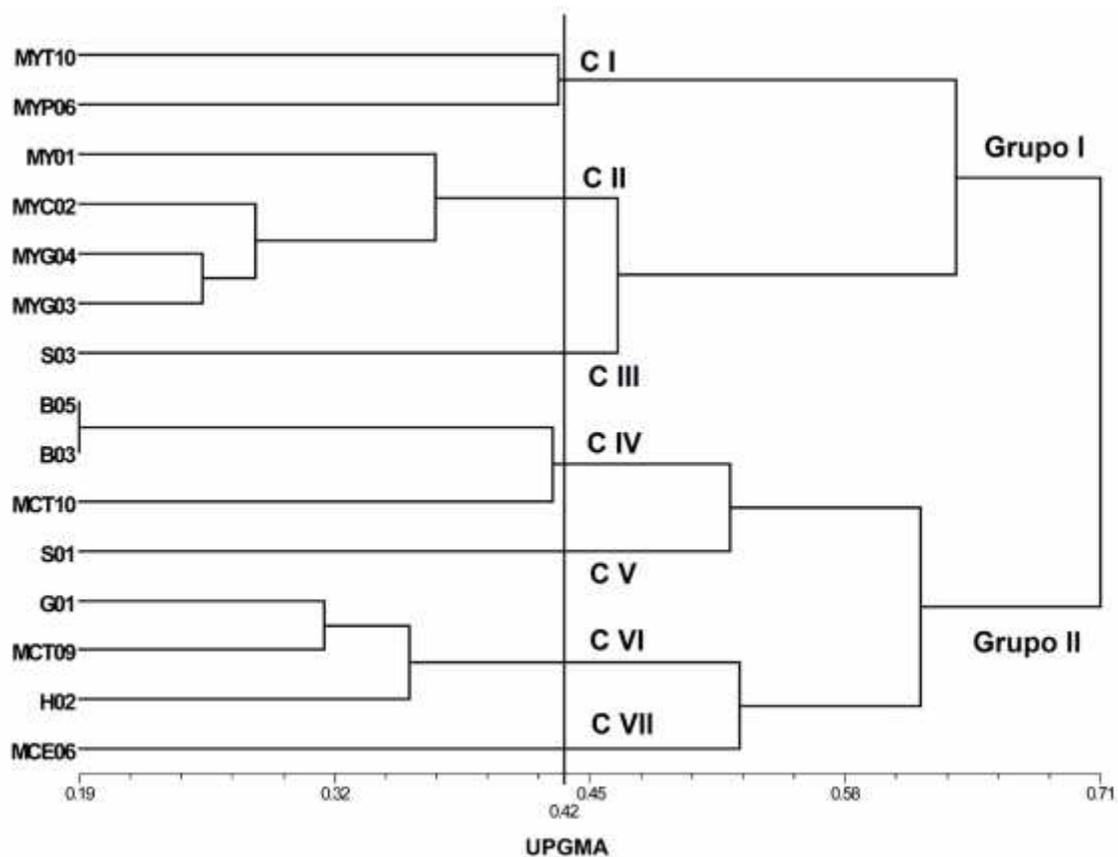


Figure 3.2. Dendrograma que incluye 15 accesiones de *Jatropha curcas* L. basado en los primeros cuatro componentes, mediante la distancia taxonómica promedio usando el método de agrupamiento UPGMA.

Se observó en lo general una distribución asociada con la procedencia de colecta, las accesiones mexicanas, colectadas en Yucatán se localizan en la parte superior del dendograma (Grupo I), mientras que las otras accesiones mexicanas y centro americanas, se combinan en la mitad inferior del dendograma (Grupo II), lo anterior a una distancia de 0.71 (Figura 3.2).

A una distancia de 0.42 se observaron siete grupos (CI a CVII), las accesiones S03, S01 y MCE06 por sí mismas conformaron los grupos III, V y VII respectivamente, señalando con ello independencia con el resto de las accesiones y una mayor variabilidad genética.

Las accesiones S01 y MCE06 también resultaron independientes del resto de los grupos en el análisis de PCA (Figura 3.1), estas accesiones se caracterizaron por presentar valores bajos en PH y CB (206.37 cm y 200.84 cm, respectivamente). S01 y MCE06 presentaron valores altos en los caracteres SV (11.2 cm^3), HSW (85.67 g) y OY (52.09%).

En el grupo VI se observó la mayor heterogeneidad con respecto a la procedencia de colecta, dos accesiones de Brasil y una de México, tuvieron valores altos con respecto al SV ($11.01 - 12.04 \text{ cm}^3$) y HSW (86 – 89.67 g).

Las accesiones más similares B05 y B03 (coeficiente 0.19), se ubicaron en el grupo IV, en el cual también se presentaron las accesiones con los registros más altos en el carácter OY con valores de 50.99% y 58.05% para B03 y MCT10, respectivamente.

Además, la distribución de las accesiones con respecto a su agrupamiento también se relacionó directamente con la procedencia de colecta (Tabla 3.1, Figura 3.1 y 3.2).

La diversidad reportada en India usando el análisis de componentes principales fue del 75.8% en cuatro componentes principales, donde los caracteres de mayor valor en el PC1 se relacionaron directamente con el rendimiento de semilla y aceite, reportando una varianza absoluta del 37.4% [50]. En contraste el presente estudio reveló mayor variación, como se esperaría en el centro de origen, presentando en los primeros cuatro componentes una varianza explicada de 84.19% y una varianza absoluta del 35.67% para el PC1. Los caracteres asociados a esta variación se relacionaron con el porte de la planta y rendimiento (diámetro del tallo, rendimiento de aceite, número de frutos por

racimo y peso de 100 semillas), cabe señalar que los caracteres anteriores presentaron valores altos en el análisis de correlación, lo que remarca su importancia en la variación entre accesiones y el potencial genético de accesiones americanas. Por todo lo anterior, y considerando el alto valor en el análisis de repetibilidad para los caracteres evaluados, es posible recomendar el uso de estrategias de reproducción vegetativa, como herramienta para el establecimiento de plantaciones, una vez que se hayan obtenido o seleccionado los genotipos deseados.

3.2 Diversidad y relaciones genéticas basadas en SPAR

Todos los marcadores SPAR utilizados revelaron polimorfismos entre las accesiones estudiadas de *J. curcas* (Tabla 3.5). Esto señala la utilidad de esta herramienta molecular para revelar y medir diversidad genética para esta especie, como se ha reportado en otras especies, en estudios similares, entre individuos silvestres y cultivados, individuos del mismo género, poblaciones de una misma especie e incluso a nivel intraespecífico [102, 103, 104].

Los iniciadores AP-PCR, produjeron un total de 99 fragmentos, en un rango de 191 a 2686 pares de bases (pb), el promedio de loci polimórficos por iniciador y el porcentaje de polimorfismo fue de 19.8 y 100%, respectivamente. El iniciador (TCC)₅ produjo la menor cantidad de fragmentos (13) y (GAC)₅ el mayor número (27). Los iniciadores (TCC)₅ y (CAG)₅ compartieron el valor más alto de PIC con 0.867. Un total de 131 fragmentos (en un rango de 147 a 3125 pb) fueron amplificados con los cinco ISSR. El rango de fragmentos amplificados estuvo entre 24 y 28, con un 100% de polimorfismo. El iniciador IS16 presentó el valor más alto con 0.923 y IS15 el valor más bajo con 0.835 (Tabla 3.5). Los cinco iniciadores DAMD presentaron un total de 110 fragmentos entre 112 a 3148 pb, el iniciador 33.6 reveló el mayor número de fragmentos (28) y HBV la menor cantidad (14). De los 110 fragmentos obtenidos, 108 fueron polimórficos, para un promedio de polimorfismo del 98.2%. Los iniciador HBV y HVA resultaron los menos polimórficos con 92.9 y 93.8% de polimorfismo. El PIC más elevado se presentó en el iniciador HVR y el menor en HVA con valores de 0.929 y 0.730 respectivamente (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Iniciadores AP-PCR, ISSR y DAMD utilizados para el análisis de accesiones Americanas de *Jatropha curcas* L. y el polimorfismo revelado.

Iniciador	Secuencia 5'-3'	Loci amplificado	Loci polimórfico		Promedio PIC	Rango del tamaño de bandas (bp)
			Número	Porcentaje		
AP-PCR						
(TCC) ₅	TCCTCCTCCTCCTCC	13	13	100	0.867	662-1919
(GACAC) ₃	GACACGACACGACAC	16	16	100	0.832	500-2230
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	20	20	100	0.710	319-981
(GAC) ₅	GACGACGACGACGAC	27	27	100	0.769	319-2686
(CAG) ₅	CAGCAGCAGCAGCAG	23	23	100	0.867	191-1849
		99	99	100	0.809	191-2686
ISSR						
IS04	GTGCGTGCGTGCGTGC	27	27	100	0.912	173-2818
IS09	GAGGAGGAGGAGGC	25	25	100	0.893	147-1912
IS16	GAGAGAGAGAGAGG	24	24	100	0.923	214-2804
IS15	GTGGTGGTGGTGGTGC	28	28	100	0.835	163-2727
IS21	GTCGTCGTCGTCGTCGTC	27	27	100	0.858	174-3125
		131	131	100	0.884	147-3125
DAMD						
M13	GAGGGTGGCGGTTCT	26	26	100	0.831	300-2273
HVA	AGGATGGAAAGGAGGC	16	15	93.8	0.730	214-2520
HBV	GGTGTAGAGAGGGGT	14	13	92.9	0.799	214-1588
33.6	GAGGGTGGCGGTTCT	28	28	100	0.893	112-2255
HVR	CCTCCTCCCTCCT	26	26	100	0.929	200-3148
		110	108	98.2	0.836	112-3148
	Total	340	338	99.4	0.844	112-3148

Los valores en negritas señalan el valor total para cada parámetro.

En estudios realizados anteriormente en México, sobre *J. curcas*, se utilizaron AFLPs para conocer la diversidad genética en el estado de Chiapas [105] y determinar los niveles de diversidad y relaciones genéticas entre individuos de esta especie procedentes de diferentes estados de México [35]. Sin embargo, dado que los AFLPs presentan algunas desventajas, como tener costos superiores a otros marcadores y consumir mayor tiempo en su realización, es de gran importancia evaluar herramientas moleculares más sencillas y rápidas que permitan valorar y revelar la diversidad de manera más eficiente y menos costosa. De ahí que los resultados obtenidos en este estudio utilizando SPARs, son prometedores para sustituir los AFLPs por otros marcadores menos costosos, e igualmente o superiores en cuanto a la información que pueden proporcionar.

Al contrastar los tres métodos SPAR y el acumulado (Tabla 3.6), se observó un total de 340 bandas amplificadas y un polimorfismo del 99.4%, los ISSR contribuyeron con la mayor cantidad al presentar 131 bandas totales. Con respecto a la distancia entre accesiones, el acumulado señaló la mayor similitud entre MXCH001-MXCH002 (0.75) y la menor similitud entre las accesiones BR04 - S03 (0.22), resultados similares se observaron con iniciadores DAMD donde las accesiones MXCH001 - MXCH002 y SL3 - MXCH003 presentaron la mayor y menor similitud con valores de 0.84 y 0.21, respectivamente (Tabla 3.6).

El valor promedio de PIC para el acumulado fue de 0.843, los promedios para ISSR, DAMD y AP-PCR fueron 0.884, 0.836 y 0.809, respectivamente. El valor más alto de R_p se encontró en AP-PCR (0.77) y el menor en ISSR (0.57). Mientras que el valor más alto para MI se observó en ISSR (6.60) y el más bajo en DAMD (5.68) (Tabla 3.6).

Los resultados aquí obtenidos permiten señalar alto polimorfismo por iniciador y entre métodos, los valores para este estudio con respecto al porcentaje de polimorfismo fueron superiores en todos los casos al 98.2%, y al ser comparados con el 81.82% de DAMD, 83.60% de RAPD en el noreste de India [106] y el 90.10% de AFLP en México [35], nos permite observar la gran diversidad presente entre las accesiones de *J. curcas* en América y la capacidad de revelar ésta por medio de marcadores como AP-PCR, DAMD e ISSR.

Tabla 3.6. Comparación de datos entre AP-PCR, ISSR, DAMD y el análisis acumulado de bandas para estimar la diversidad genética en accesiones Americanas de *Jatropha curcas* L.

Parámetros	AP-PCR	ISSR	DAMD	Acumulado ¹
Número total de iniciadores	5	5	5	15
Tamaño de banda (bp)	191-2686	147-3125	112-3148	112-3148
Num. total de bandas	99	131	110	340
Bandas polimórficas	99	131	108	338
Polimorfismo (%)	100	100	98.2	99.4
Rango de distancia ²	0.18-0.86	0.00-0.77	0.21-0.84	0.22-0.75
PIC promedio	0.809	0.884	0.836	0.843
Poder de resolución (Rp)	0.77	0.57	0.66	0.66
Índice del marcador (MI)	6.14	6.60	5.68	6.14

¹ Combinación de los datos obtenidos entre los iniciadores AP-PCR, ISSR y DAMD; ² Calculado con el coeficiente de Dice.

En cuanto a los valores de PIC, los valores de este estudio fueron similares a los obtenidos en India [57], en el que se usaron 27 iniciadores ISSR con valores de 0.849 y 0.845 respectivamente, pero considerablemente más elevados que los reportados por Pecina-Quintero et al. [105], para 88 accesiones originarias de Chiapas, México, utilizando AFLPs (valor promedio de PIC 0.248). El contraste en el polimorfismo reportado por los AFLP y los SPAR utilizados en este estudio, quizá radique en la diferencia del área de amplificación en el genoma para cada tipo de marcador utilizado y no necesariamente en la riqueza de la diversidad genética de la especie. Los valores similares observados con respecto a los reportados con ISSR en India [57], puede deberse al tipo de marcador utilizado y a la inclusión de especies del género *Jatropha* y accesiones provenientes de México en el estudio.

Por otra parte se observó una baja correlación entre los métodos SPAR, ya que los valores de r , obtenidos de la prueba de Mantel, estuvieron por debajo de 0.5 (Tabla 3.7). Sin embargo, al comparar cada método con el acumulado, los valores de r fueron superiores a 0.7, lo que señaló una correlación de moderada a alta. La mayor correlación se observó entre el acumulado y los ISSR con un valor de $r = 0.820$.

Tabla 3.7. Valores correspondientes a la correlación de Mantel al comparar matrices de similitud provenientes de AP-PCR, ISSR, DAMD y el acumulado de todos entre accesiones de *Jatropha curcas* L.

Par de marcadores	Coefficiente de correlación (r)	p - valor
AP-PCR vs DAMD	0.410	0.001
AP-PCR vs ISSR	0.497	0.001
DAMD vs AP-PCR	0.366	0.001
Acumulado ¹ vs AP-PCR	0.811	0.001
Acumulado ¹ vs ISSR	0.820	0.001
Acumulado ¹ vs DAMD	0.708	0.001

¹ Combinación de los datos de bandas obtenidos para ISSR, AP-PCR, e ISSR.

El resultado relacionado a los bajos valores de correlación entre matrices de similitud por método SPAR, puede ser atribuible a que cada SPAR amplifica diferentes regiones del genoma [107, 108], situación que se refleja en los valores de r , lo que permite suponer una amplia exploración del genoma, al observar alto polimorfismo entre las diferentes regiones amplificadas y en consecuencia, alta diversidad genética entre accesiones. Al comparar las matrices para cada método con la matriz acumulada, se observaron correlaciones altas y con valores de r similares, esto nos hace suponer que, en mayor o menor grado, la diversidad observada entre métodos es relativamente similar y no se presenta una tendencia que confiera a alguno de los SPAR, mayor participación en los resultados, aun con las diferencias observadas entre rangos de similitud y la capacidad de resolución del marcador, la diversidad revelada por método es amplia para cada uno de ellos.

Los análisis de ordenamiento y agrupamiento se realizaron usando el método SPAR con el mayor poder resolutivo, AP-PCR y DAMD (Tabla 3.6). Los resultados del análisis de coordenadas principales basado en los registros obtenidos con los iniciadores AP-PCR y DAMD se presentan en la Figura 3.3, donde se aprecia la formación de tres grupos. Destaca el Grupo 1 donde fueron encontradas la mayoría de las accesiones procedentes de Chiapas (75%), que en el dendograma formaron el subgrupo IIB2, las accesiones BR04, S01 y SL02 se aislaron del resto, las accesiones restantes se dividieron en dos

grupos, el Grupo 2 es compacto, formado por nueve accesiones donde predominaron procedencias de Yucatán y Brasil, el Grupo 3 presentó la mayor heterogeneidad con respecto a las procedencias de colecta; nuevamente la accesión SL02 se separó del resto de las accesiones.

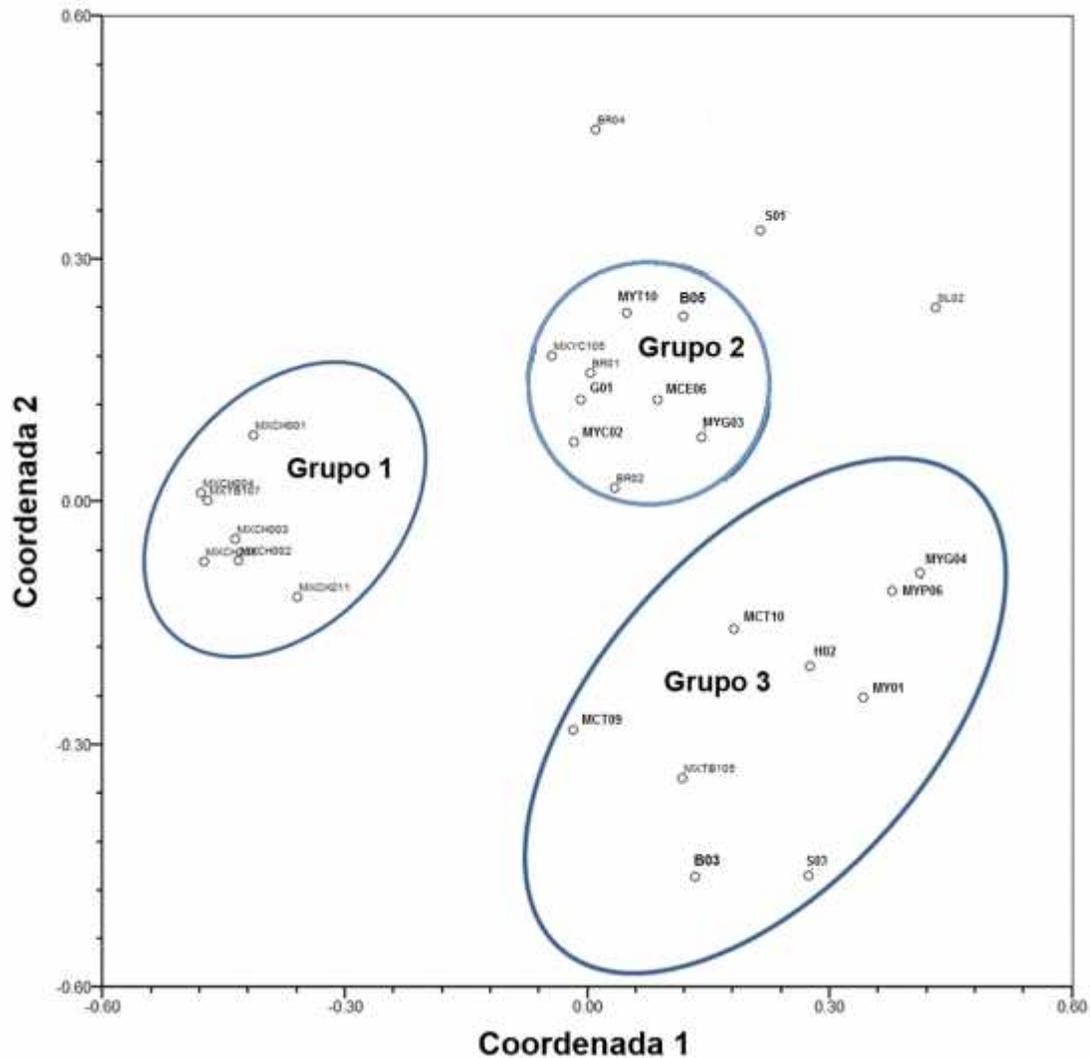


Figura 3.3. Dispersión de 28 accesiones Americanas de *Jatropha curcas* L., señalando las primeras dos coordenadas principales para los métodos AP-PCR y DAMD.

Se formaron dos grupos a una distancia de 0.43 y la accesión SL02 se observó como una accesión independiente (Figura 3.4); En el primer grupo se ubicó la menor cantidad de accesiones (9), pero presentó gran heterogeneidad en cuanto a las procedencias

geográficas y distancia genética. En el segundo grupo, se formaron dos subgrupos (IIA y IIB), donde destacó el grupo IIB que, agrupó al 75% de las accesiones procedentes de Chiapas, en un rango de distancia entre 0.71 a 0.86, se observó similitud entre accesiones procedentes de Chiapas. La accesión SL02 se separó del resto de las accesiones evaluadas a una distancia de 0.4.

Un análisis de diversidad y relaciones genéticas en *J. curcas* hechas en China usando ISSRs, reveló diferencias entre regiones geográficas, pero baja diversidad general. En dicho estudio también encontraron que en regiones con menor cantidad de individuos, la diversidad fue alta, lo que fue atribuido al movimiento de germoplasma [58]. En India dos estudios realizados con ISSR y DAMD revelaron resultados similares con respecto a la relación genética, señalando rangos de similitud con el coeficiente de Jaccard entre 0.65 - 0.93 y 0.51 - 0.095, respectivamente, lo que separó a las accesiones en dos grupos, sin observar tendencias que señalaran coincidencias entre las procedencias de colecta [106, 109]. Por su parte en Brasil [110], al usar RAPDs y SSR, en una extensa colección de *J. curcas* (192 accesiones), se reportaron valores del coeficiente de similitud de Jaccard entre 0.14 - 1.00, con un promedio de 0.89, lo que indica baja diversidad genética.

En contraste con los resultados anteriores, el presente estudio mostró para los métodos SPAR valores de similitud con el coeficiente de Dice de 0.39 - 0.86, por lo que es posible señalar la presencia de una alta diversidad entre las accesiones Americanas, en contraste con las de India y Brasil. En el estudio realizado sobre accesiones Mexicanas usando AFLP, el rango de similitud con el coeficiente de Dice fue de 0.54 - 0.99, lo que indica alta diversidad entre las accesiones distribuidas en México, similar a lo encontrado en nuestro estudio, situación que se esperaría en el centro de origen de la especie [35, 34], por lo que nuestros resultados apoyan la hipótesis de América como centro de origen de la especie.

El ordenamiento de accesiones de *J. curcas* procedentes de nueve estados de México, reportado por Pecina-Quintero et al., con marcadores AFLP [35], señaló la afinidad de las accesiones del estado de Chiapas con respecto a la región geográfica de procedencia.

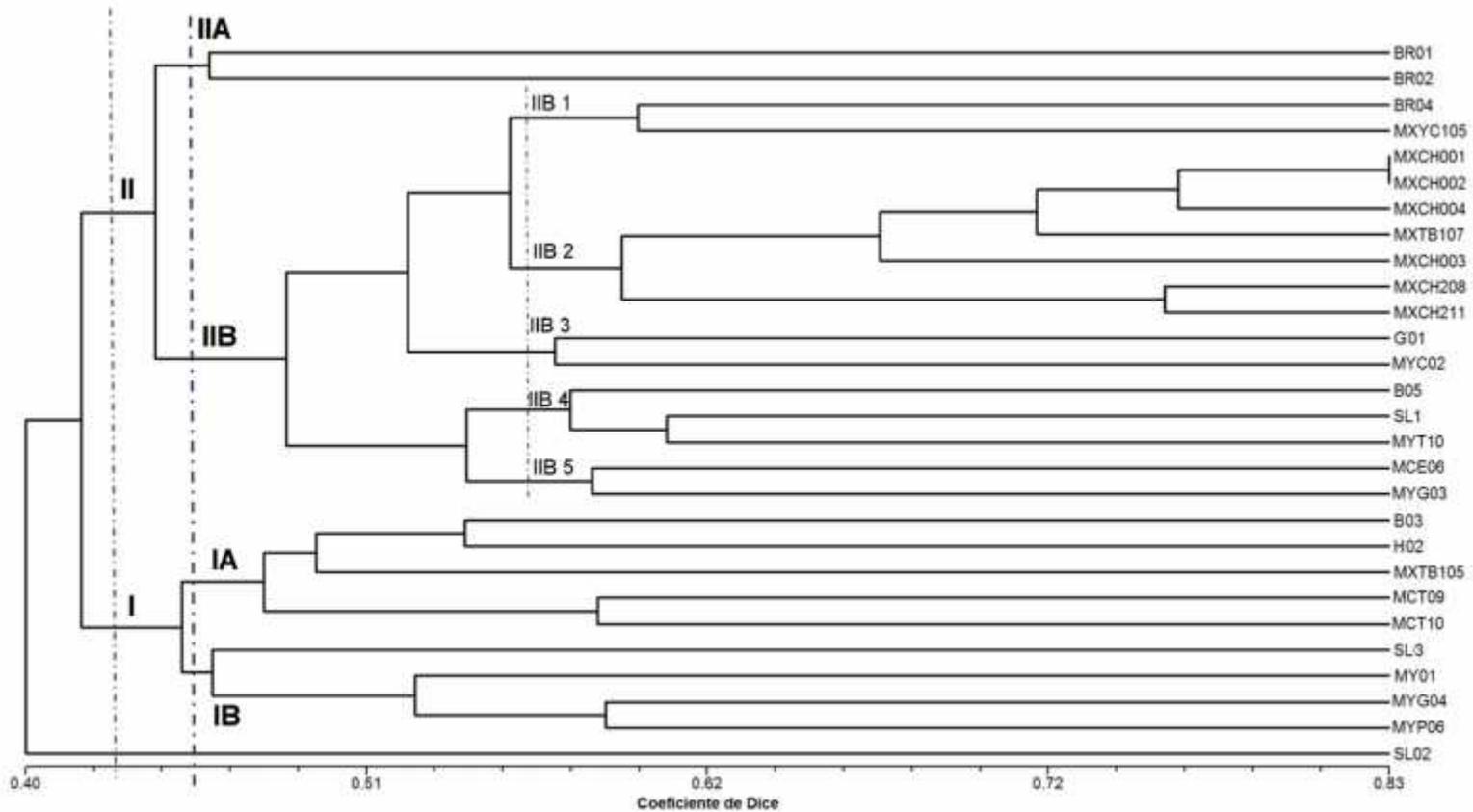


Figura 3.4. Dendrograma UPGMA basado en el coeficiente de similitud de Dice presentando las relaciones genéticas entre 28 accesiones American de *Jatropha curcas* L. usando marcadores AP-PCR y DAMD.

En el presente trabajo, los SPAR utilizados, especialmente los AP-PCR, revelaron afinidad entre accesiones provenientes de Chiapas y las separaron en un grupo, del resto de las accesiones de otras procedencias.

Este resultado coincide con lo señalado anteriormente [35], donde se apunta al estado de Chiapas como el posible centro de dispersión de la especie, ya que accesiones de esta procedencia presentaron las mayores semejanzas genéticas y algunas de ellas similitudes genéticas con accesiones procedentes de Tabasco, un estado contiguo a Chiapas. Por otra parte, en el presente estudio, las accesiones de Chiapas, que tuvieron la mayor similitud genética, se relacionaron con accesiones procedentes de Sur América y Centro América, apuntando a un posible movimiento de germoplasma de Chiapas, México, hacia el resto de América.

También entre accesiones procedentes del estado de Yucatán (Sureste de México), se observó amplia diversidad genética, y se encontró cierto grado de relación genética entre este grupo y las accesiones procedentes de Centro y Sur América.

En los registros del herbario y fibroteca “U na jil tikin” del Centro de Investigación Científica de Yucatán, para *J. curcas* en la Península de Yucatán, que comprende los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán, se señala una escasa distribución de la especie para los estados de Campeche y Quintana Roo, y una amplia distribución dentro del estado de Yucatán, contrastando con la dispersión del *J. gaumeri* (especie endémica de la Península de Yucatán) que está presente en los tres estados. Esto nos permite suponer la participación antropogénica en el movimiento de germoplasma hacia la Península de Yucatán, principalmente al estado de Yucatán, desde diferentes puntos de México, situación que quizá sea compartida con el resto de América. Lo cual nos permitiría explicar las relaciones genéticas entre las accesiones evaluadas; dicha evidencia apunta a la posibilidad de encontrar accesiones adaptadas a las peculiares condiciones climáticas y edáficas de la Península de Yucatán, con fines de uso comercial para la producción de aceite.

El estudio realizado por Sudheer y Reddy respecto a las rutas de dispersión de *J. curcas*, señala a México y Centroamérica como el punto de origen [37], los resultados presentados en este estudio dan bases para suponer que México y específicamente el

estado de Chiapas, podría ser el centro de dispersión de la especie en América, ya que en cada grupo observado tanto en el dendograma como en el diagrama PCoA, se aprecian grandes semejanzas entre perfiles genéticos de accesiones provenientes de Chiapas y mayor similitud entre las accesiones de Chiapas y Tabasco, estados que comparten fronteras. Las relaciones genéticas entre los perfiles de accesiones procedentes de Centro y Sur América nos permiten suponer movimientos de germoplasma de Chiapas, hacia el interior de México y el área mesoamericana, extendiéndose hasta Brasil y no en sentido opuesto, ya que en este último país la diversidad genética reportada fue muy baja [110].

Estos resultados señalan la gran diversidad de la especie en México y la posibilidad de encontrar individuos, con gran potencial para su uso como cultivo energético en la producción de aceite para biodiesel. El estado de Yucatán, al presentar confluencia de germoplasma de diferentes procedencias, brinda una amplia gama de oportunidades en la búsqueda y exploración de germoplasma de *J. curcas*. Esta búsqueda podría ser sustentada con análisis moleculares utilizando los métodos SPAR, que demostraron su utilidad al revelar mayor información relacionada con la especie, además de sus ventajas, sobre otros marcadores, ya mencionados. Los perfiles genéticos que se generarían serían muy útiles para la selección de germoplasma con fines de conformar colecciones o evaluar la diversidad y representatividad de éstas, así como la selección de genotipos para trabajos de mejoramiento.

3.3 Análisis de la diversidad genética y el potencial de *Jatropha curcas* L. como cultivo energético

Jatropha curcas L. a nivel mundial y a pesar de los resultados negativos reportados por el gobierno de Chiapas en el establecimiento comercial de la especie [61] en México, es aún considerada como una especie con potencial para la producción de biocombustibles líquidos, siendo su principal finalidad la producción comercial de aceite como materia prima para la elaboración de biodiesel. Se propone para esta finalidad una planta de porte bajo (con respecto a la altura de la planta y la amplitud del dosel) [69], de alta productividad de fruto y semilla, que permita mayor densidad de siembra por superficie, evitando incrementar costos por la recolección de frutos e incrementar directa e

indirectamente el rendimiento de aceite; es por ello que se contrastó la diversidad genética con dichos caracteres, esperando observar accesiones que presentaran las cualidades antes mencionadas (en porte y rendimiento), permitiendo de esta manera separar grupos genéticamente diferentes con caracteres deseables, lo que sería la base para tomar decisiones relacionadas con estrategias para el mejoramiento genético de la especie.

Los resultados del ANOVA realizado entre 30 accesiones de *J. curcas* se muestran en la Tabla 3.8. Se observaron diferencias altamente significativas para todos los caracteres evaluados; con respecto a los coeficientes de variación (CV) obtenidos, podemos señalar diferencias en todos los caracteres, las mayores diferencias se presentaron en caracteres de rendimiento y asociados al rendimiento: rendimiento de semilla (85.53%), Número de ramas principales, Número de racimos frutales (59.10%) y Número de frutos por racimo (69.45%); las menores diferencias se observaron en los caracteres Forma del fruto, Volumen de la semilla y Peso de 100 semillas con CV de 6.73%, 9.75% y 9.60%, respectivamente.

Tabla 3.8. Resultados del análisis de varianza realizados a 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. señalando los cuadrados medios, el error y el CV.

Carácter	Cuadrados medios		CV (%)
	Genotipo	Error	
Altura de la planta	0.03**	3 ^{E-3}	20.45
Amplitud del dosel	0.07**	0.01	33.62
Diámetro del tallo	0.05**	0.01	23.90
Núm. de ramas principales	0.06**	0.01	29.53
Núm. de racimos frutales	0.24**	0.03	59.10
Núm. de frutos por racimo	0.36**	0.05	69.45
Forma del fruto	0.002**	4 ^{E-4}	6.73
Volumen de la semilla	0.01**	4 ^{E-4}	9.75
Peso de 100 semillas	0.01**	8 ^{E-5}	9.60
Rendimiento de semilla	0.57**	0.05	85.53

* P 0.05; ** P 0.01; CV = coeficiente de variación

Los resultados del presente trabajo nos revelan una diversidad amplia entre las accesiones evaluadas, en contraste con reportes de la especie en países de Asia y el Caribe ya que, en Malasia e India se reportan para el carácter rendimiento de semilla, CV de 26.05% y 10.32%, respectivamente [50, 49], y en este trabajo se encontró un CV de 85%.

Machado [48], en Cuba, a través del Análisis de Componentes Principales, reportó alta variación en caracteres relacionados con el porte y altura de planta, estructura de ramificación y el rendimiento de semilla, caracteres que en nuestro trabajo también tuvieron valores de CV altos (20-30%).

El análisis SIMPROF señala en el dendograma la formación de 10 grupos y dos accesiones libres (CH3 y YC4), el grupo IV presentó la mayor similitud, concentrando cinco accesiones (CH1, CH2, CH4, TB3 y I1) entre un rango de 46 a 56. En la formación de grupos se apreció relación con respecto a la procedencia, y se observó que accesiones colectadas en México se agruparon entre sí (I, II, VI, VIII, IX); un patrón similar se observó entre accesiones colectadas en Centro y Sur América (Figura 3.5).

Al contrastar los agrupamientos observados en el dendograma de la Figura 3.5 (un total de 10 grupos, de I a X, y las dos accesiones independientes) con los caracteres Altura de la planta y Amplitud del dosel, asociados al porte de la planta y el carácter Rendimiento de semilla, se pretendió representar y buscar patrones de diversidad asociados con porte bajo (menores de 2 m de alto y ancho) y con rendimientos de semilla superiores a los 300 Kg/ha; esto se presenta en la Figura 3.6.

Al contrastar los caracteres Altura de la planta y Amplitud de dosel con la diversidad genética revelada (Figura 3.6a), se observó, entre las 30 accesiones, que los caracteres de altura y amplitud de la planta no se relacionan entre sí; un pequeño grupo de accesiones presentó alturas y amplitudes menores a 2 metros, pero solamente las accesiones S1 y S2 cubrieron ambos requisitos, además de presentar la misma área de procedencia (El Salvador) y conformaron el grupo C7 (Figura 3.6a).

El contraste de la diversidad genética y el carácter rendimiento de semilla nos permitió observar gran disparidad en el rendimiento de semilla entre accesiones, en su mayoría el rendimiento fue inferior a 200 Kg/ha (Figura 3.6b).

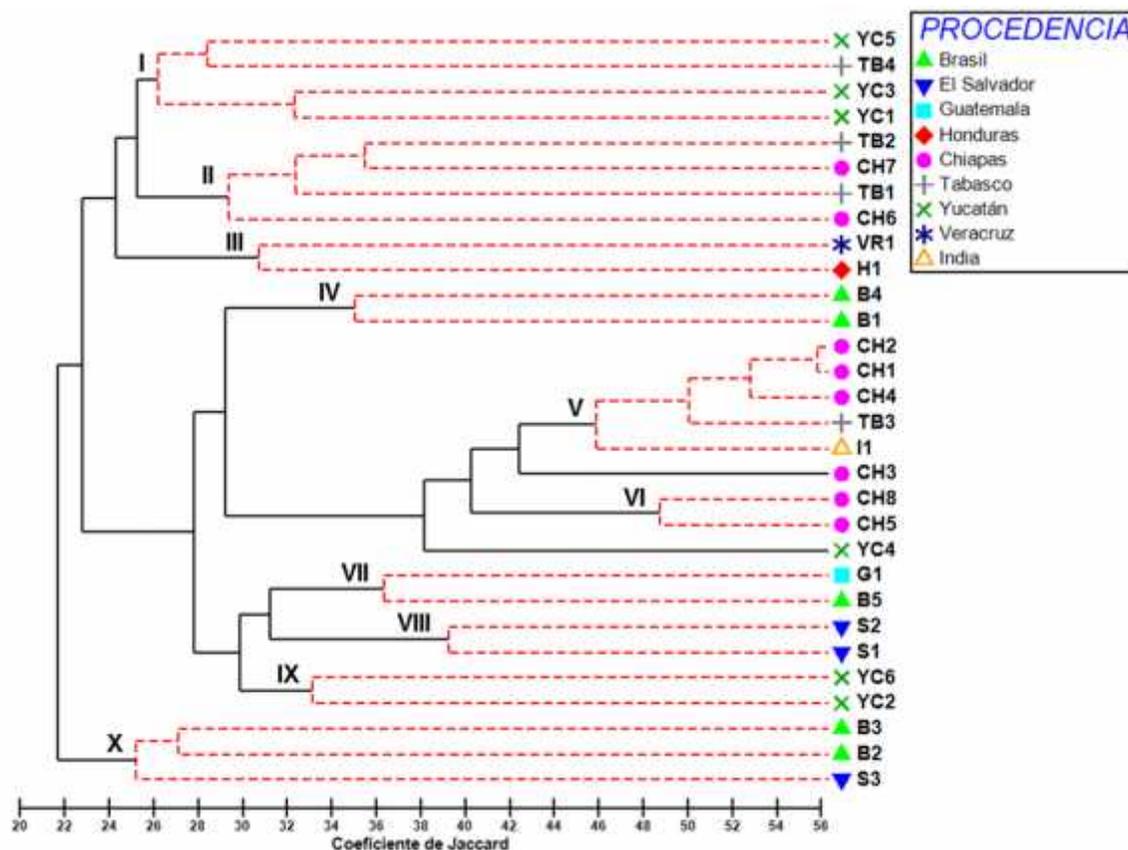


Figura 3.5. UPGMA que señala el ordenamiento entre 30 accesiones americanas de *Jatropha curcas* L. basado en la diversidad genética revelada mediante caracteres morfológicos y moleculares usando tres métodos SPAR.

Solamente las accesiones TB2, CH7, TB1 y B3 presentaron valores superiores a 300 kg de semilla por ha, las tres primeras presentaron similitudes genéticas al encontrarse en el grupo C10 y la accesión B3 se localizó en el grupo C12 (Figura 3.6b).

No se observaron accesiones con rendimientos altos (> 300 Kg/ha) y de porte bajo (altura de la planta y amplitud de dosel < 2 metros), en un mismo grupo, por lo que estos resultados evidenciaron diferencias genéticas entre accesiones y nos permitieron formar

grupos relacionados con caracteres de interés para el mejoramiento genético de la especie.

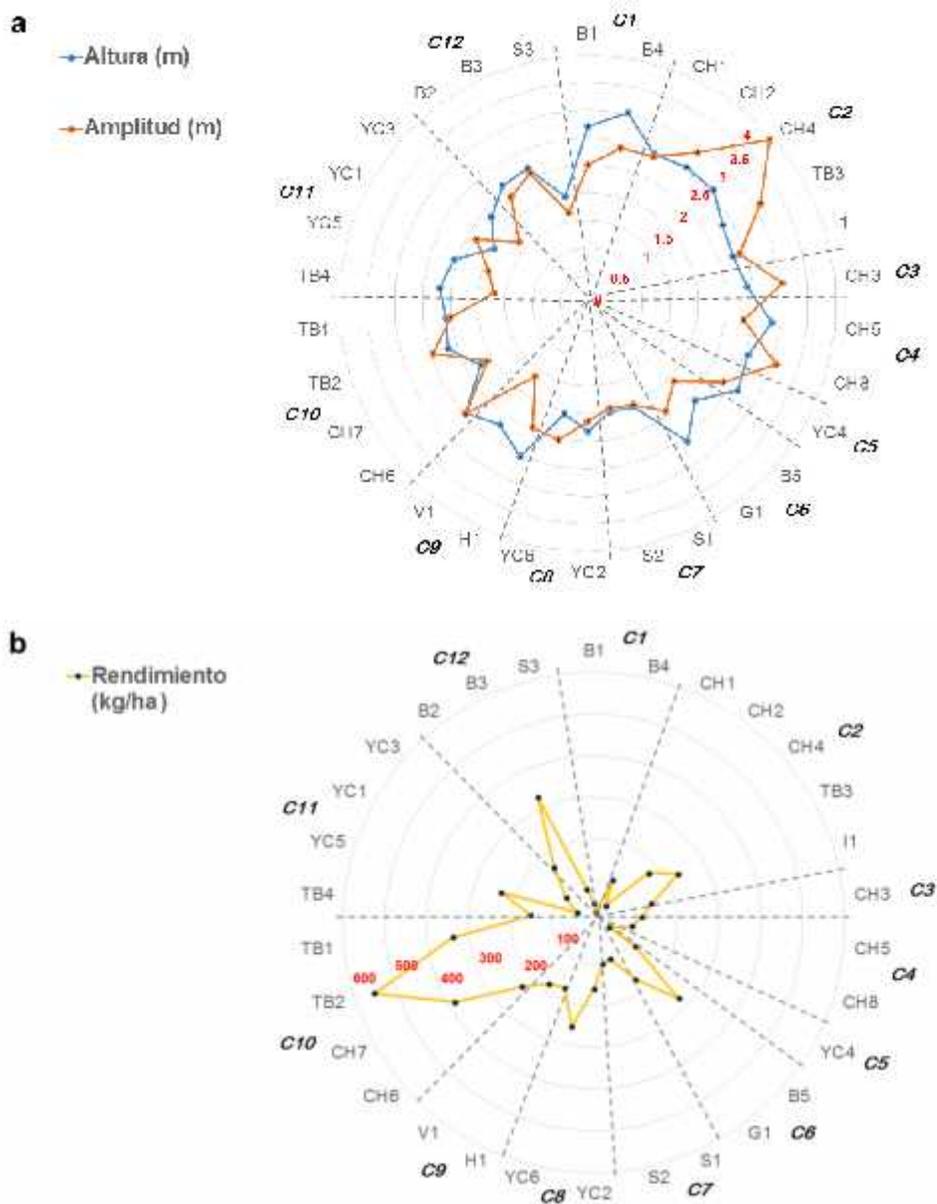


Figura 3.6. Contraste entre la diversidad genética de 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. con respecto a los caracteres altura de planta, amplitud de la copa (a) y rendimiento de semilla (b).

Los resultados anteriores nos permiten señalar dos aspectos que se derivan del presente estudio, el primero es el amplio margen exhibido entre accesiones con respecto a los valores para un mismo carácter, lo cual puede traducirse en alta diversidad; para México y América, la zona geográfica de estudio, es posible atribuir esta diversidad a que es el posible centro de origen de la especie [34].

El segundo punto señala la escasa correspondencia en el ordenamiento de accesiones con respecto a su procedencia de colecta, lo que nos permite suponer movimiento de germoplasma con participación antropogénica. Esta hipótesis es soportada por los resultados de Maghuly et al. [111], que al evaluar accesiones provenientes de tres continentes observó traslape entre accesiones con respecto al origen del material evaluado y los resultados de Sudheer y Reddy [37] que evidencian, a nivel de ADN, el movimiento de germoplasma de América hacia el resto del mundo.

En India se reportaron amplias diferencias en *J. curcas* con respecto al carácter contenido de aceite, con valores entre 15 - 42%, dentro y entre regiones ecológicas en plantas silvestres [112]. Con los argumentos anteriores podemos hipotetizar que las diferencias son el reflejo de la diversidad en las áreas de procedencia (origen). En el estado de Chiapas se reportan individuos silvestres [113] y la variación reportada es reflejo de la amplia diversidad de la especie en México, a diferencia de las áreas donde la especie ha sido introducida, presentando un fondo genético pobre [114].

La diversidad reportada en este estudio es grande, ya que, se observaron rangos amplios entre los valores que representan un carácter de interés. No obstante, en pocas accesiones, se observaron valores deseables para un carácter. Sin embargo, el potencial genético del germoplasma en América brinda la oportunidad para direccionar éste en el proceso de domesticación; el cual como señala Achten et al., es un proceso necesario para aprovechar el potencial de la especie [115].

El mejoramiento genético tradicional, es una estrategia efectiva para potenciar y dirigir la selección de caracteres en cultivos vegetales, que según los reportes de Purwati et al. [116], han presentado resultados en *Jatropha*, incrementando el rendimiento de semilla y el contenido de aceite con respecto a la media de 435 accesiones, así como la estabilidad

en el rendimiento de los genotipos probados en tres ambientes, por lo que se sugiere como parte de una estrategia integral.

CONCLUSIONES

- Se encontró una alta variabilidad genética entre las accesiones americanas de *J. curcas* estudiadas.
- La variación observada entre accesiones se debe principalmente al genotipo, ya que se determinó una baja influencia del ambiente sobre los caracteres evaluados.
- Las similitudes fenotípicas entre las accesiones de una misma procedencia pueden relacionarse con barreras geográficas y las similitudes entre accesiones de procedencias diferentes, con el movimiento de germoplasma con participación antropogénica.
- Los tres métodos SPAR (AP-PCR, ISSR y DAMD), usados para determinar variación y relaciones genéticas entre accesiones americanas de *J. curcas* resultaron eficientes al revelar altos niveles de polimorfismo y diversidad genética.
- Los iniciadores AP-PCR resultaron una herramienta confiable y con alto poder resolutivo para el estudio de la diversidad genética de *Jatropha*.
- El análisis molecular proporcionó evidencias que sustentan a México como centro de origen de *J. curcas* y señalan a Chiapas, México como el posible centro de dispersión hacia el resto de América.
- Es posible encontrar caracteres de interés que permitan el aprovechamiento de *J. curcas* como cultivo energético, aunque se necesita un trabajo intenso de mejoramiento para generar una variedad que bajo un sistema de producción extensiva, como el monocultivo, permita la sostenibilidad económica del mismo.

PERSPECTIVAS

Con los resultados obtenidos, se recomienda implementar una estrategia para el mejoramiento genético de *J. curcas* a fin de obtener variedades con genotipos que tengan las mejores características a fin de ser utilizados en la producción intensiva de aceite para biodiesel.

Se sugiere evaluar los marcadores utilizados y nuevos marcadores tipo DAMD y AP-PCR para su aplicación en estrategias de mejoramiento genético asistida por marcadores moleculares en *J. curcas*.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Cortés; H. Suarez; S. Pardo, Biocombustibles y autosuficiencia energética, *Dyna* 76(158), 101-110, 2009.
- [2] SAGARPA, Programa de Producción Sustentable de Insumos para Bioenergéticos y de Desarrollo Científico y Tecnológico, México, 2009, 26 p.
- [3] ONU, Protocolo de Kyoto de la Convención Marco de las Naciones Unidas Sobre el Cambio Climático, Roma, 1998, 100 p.
- [4] PEMEX, Memoria de Laboral 2013, PEMEX, México, 2014, 223 p.
- [5] J.A. Gómez Cabrera, Retos y Perspectivas de la Oferta y Demanda de Hidrocarburos en México. In: Aportaciones al debate sobre la reforma energética. México, 2008, p. 15-18.
- [6] Senado de la Republica, Boletín de Prensa 2006/0474, Senado de la Republica LX Legislatura, México, 2006.
- [7] SAGARPA, Promueve México en sus Zonas Rurales el Uso Productivo de Energías Renovables, Boletín de prensa SAGARPA Núm. 139/06, México, 2006.
- [8] SENER, Programa de Introducción de Bioenergéticos, Gobierno Federal, México, 2008, p. 5-7.
- [9] M. Manjari; M. Priyanka; B. Ghosh, In vitro clonal propagation of biodiesel plant (*Jatropha curcas* L.), *Curr. Sci.*, 93(10), 1438-1442, 2007.
- [10] R. Thomas; N.K. Sah; P.B. Sharma, Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mini review. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9(4), 315-24, 2008.
- [11] M. Martínez, El Boom de los Biocombustibles, BBC mundo en línea. 2007. http://news.bbc.co.uk/hi/spanish/business/barometro_economico/newsid_6498000/6498417.stm. Consultado: 22 de Agosto de 2013.

- [12] R. Brittain; N. Litaladio, *Jatropha: A Smallholder Bioenergy Crop The Potential for Pro-Poor Development*, Chapter 3 *Jatropha cultivation*, FAO, Roma, 2010, p. 27-40.
- [13] F. Torres; E. Gómez, *Energías Renovables para el Desarrollo Sustentable en México*, Secretaria de Energía, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, México, 2006, 91 p.
- [14] Senado de la Republica, *Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos*, Senado de la Republica, DOF 01-02-2008.
- [15] C.M. Machado, *Situación de los Biocombustibles de 2da y 3era Generación en América Latina y Caribe*, Organización Latinoamericana de Energía y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2010, 104 p.
- [16] SENER; BID; GTZ, *Potenciales y Viabilidad del Uso de Bioetanol y Biodiésel para el Transporte en México*, SENER, México, 2006, 600 p.
- [17] FAO, *El estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación*, Roma, 2008, 162 p.
- [18] J.P. Aristégui, *Los biocombustibles desde la perspectiva del comercio internacional y del derecho de la organización mundial del comercio*, *Rev. derecho* 22(1), 113-134, 2009.
- [19] F. Serna; L. Barrera; H. Montiel, *Impacto social y económico en el uso de biocombustibles*, *J. Technol. Manage. Innov.* 6(1), 100-114, 2011.
- [20] A. González; Y. Castañeda, *Biocombustibles, biotecnología y alimentos impactos sociales para México*, *Nueva época* 21(57), 55-83, 2008.
- [21] E. Salinas; V. Gasca, *Los biocombustibles*, *El cotidiano* 157, 75-82, 2009.
- [22] F. Nava-García; X.R. Doldán-García, *Cultivos energéticos*, *Agr. Soc. desarrollo* 11, 25-34, 2014.

- [23] W.M.J. Achten; L. Verchot; Y.J. Franken; E. Mathijs; V.P. Singh; R. Aerts; B. Muys, Jatropha bio-diesel production and use, *Biomass Bioenerg.* 32, 1063-1084, 2008.
- [24] V.C. Pandey; K. Singh; J. Shankar; A. Kumar; B. Singh; R.P. Singh, Jatropha curcas: A potential biofuel plant for sustainable environmental development, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16, 2870-2883, 2012.
- [25] S. Nithiyantham; P. Siddhuraju, Potential of Jatropha curcas as a Biofuel, Animal Feed and Health Products, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89, 961-972, 2012.
- [26] H.P.S. Makkar; K. Becker; B. Schmook, Edible provenances of Jatropha curcas from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds, *Plant Food Hum. Nutr.* 52, 31-36, 1998.
- [27] REN21, Renewables 2012 Global Status Report, REN21 Secretariat, Paris, 2012, 172 p.
- [28] W. Parawira, Biodiesel production from Jatropha curcas: A review, *Sci. Res. Essays* 5(14), 1796-1808, 2010.
- [29] J. Martínez, El piñón mexicano: una alternativa biogenética para México, *Revista Digital Universitaria* 8(12), 1-10, 2007.
- [30] J.H. Wiersema; B. León, Word Economics Plants, a Standard Reference, CRC Press, New York, 1999, 277 p.
- [31] M. Martínez-Gordillo; J. Morroe, Patrones de endemismo y distribución de los géneros de Euphorbiaceae sensu latu: un análisis panbiogeográfico, *Soc. Bot. México* 77, 21-33, 2005.
- [32] J. Jimenez; M. Martínez. Redescipción de *Jatropha andrieuxii* Muell. Arg. (Euphorbiaceae) una especie endémica del sur de México, *Acta Bot. Mexicana* 26, 27-32, 1994.

- [33] V. Steinmann, Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México, *Acta Bot. Mexicana* 61, 61-93, 2002.
- [34] J. Heller, Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben / International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1996, 66 p.
- [35] V. Pecina-Quintero; J.L. Anaya-López; A. Zamarripa-Colmeneros; C.A. Nuñez-Colín; N. Montés-García; J.L. Solís-Bonilla; M.F. Jiménez-Becerril, Genetic structure of *Jatropha curcas* L. in Mexico and probable centre of origin; *Biomass Bioenerg.* 60, 147-155, 2014.
- [36] G.M. Gübitz; M. Mittelbach; M. Trabi, Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L., *Bioresource Technol.* 67, 73-82, 1999.
- [37] P. Sudheer; M. Reddy, Phylogeography and molecular diversity analysis of *Jatropha curcas* L. and the dispersal route revealed by RAPD, AFLP and nrDNA-ITS analysis, *Mol. Biol. Rep.* 41, 3225-3234, 2014.
- [38] WORLD AGROFORESTRY CENTRE. Abalado por CGIAR e ICARF. 1996. http://www.worldagroforestrycentre.org/treedb/AFTPDFS/Jatropha_curcas.PDF. Consultado: 22 de marzo de 2013.
- [39] D. Witsberger; D. Current; E. Archer, Arboles del Parquet Denninger, San Salvador, El Salvador, 1982, p 206.
- [40] J. Jiménez, Dos especies nuevas de la sección Loureira Muell. Arg. del genero *Jatropha* (euphorbiaceae). *Acta Bot. Mexicana* 30, 1-8, 1995.
- [41] O.D. Sánchez-Sánchez, *Jatropha curcas* L. en Atlas de la Flora de Veracruz Un Patrimonio Natural en Peligro, A. Gómez-Pompa, T. Krömer, R. Castro-Cortés, Eds.; Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana Inc., México, 2010, p 437-439.

- [42] R. Duran; C. Goretti; J. Torres; P. Sima; F. May-Pat; M. Juan-Qui, Listado Florístico de la Península de Yucatán, Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C, Yucatán, 2000, 99 p.
- [43] J. Basulto; E. Reyes; R. Rivero; G. Aguilar, Colecta de *Jatropha* para producción de biodiesel, en el estado de Yucatán, en Tercera Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal Yucatán, J. A. Cueto; L. V. Macias, Eds.; INIFAP, México, 2008; 181 p.
- [44] D. Kees; G. Francis; J. Franken; W.R. Riedacker; N. Foidl; R. Jongschaap; P. Bindranban, Position Paper on *Jatropha curcas* State of the Art, Small and Large Scale Project Development. FACT, 2010, 172 p.
- [45] B. Galvaes; T. Barbosa; L. Lopes; A. Kenji; M. Deon, Genetic parameters and variability in physic nut accessions during early developmental stages, *Pesqui. Agropec. Bras.* 45(10), 1117-1123, 2010.
- [46] S. Basha; G. Francis; H. Makkar; K. Becker; M. Sujatha, A comparative study of biochemical traits and molecular marker for assessment of genetic relationship between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries, *Plant. Sci.* 176, 812-823, 2009.
- [47] J.A. Guerrero; L.F. Campuzano; S. Rojas; J. Pachon-García, Caracterización morfológica y agronómica de la colecta nacional de germoplasma de *Jatropha curcas* L., *Orinoquia* 15(2), 131-147, 2011.
- [48] R. Machado, Caracterización morfológica y productiva de procedencias de *Jatropha curcas* L., *Pastos Forrajes* 34(3), 267-280, 2011.
- [49] T.A. Wani; S. Kitchlu; G. Ram, Genetic variability studies for morphological and qualitative attributes among *Jatropha curcas* L. accessions grown under subtropical conditions of North India, *S. Afri. J. Bot.* 79, 102-105, 2012.

- [50] M. Shabanimofrad; M.Y. Rafii; P.E. Megat; A.R. Biabani; M.A. Latif, Phenotypic, genotypic and genetic divergence found in 48 newly collected Malaysian accessions of *Jatropha curcas* L., *Ind. Crop. Prod.* 42, 543-551, 2013.
- [51] B. Diop; S. Diatta; E. Codjo; L. Barro; S. Arona; N Samba; L. Akpo, Seedmorphometric characteristics and Germination Capacity of some *Jatropha curcas* L. provenances, *Am-Eurasian J. Sustain. Agr.* 6(4), 215-221, 2012.
- [52] L.Y. Solís; A.A. Torres, ¿Qué son los marcadores moleculares? La Ciencia y el Hombre 18(1), 2005.
- [53] A. Azofeita-Delgado, Uso de marcadores moleculares en plantas: Aplicaciones en frutales del trópico, *Agron. Mesoamericana* 17(2), 221-242, 2006.
- [54] V. Khurana-Kaul; S. Kachhwaha; S.L. Kothari, Characterization of genetic diversity in *Jatropha curcas* L. germplasm using RAPD and ISSR markers, *Indian J. Biotech.* 11, 56-61, 2012.
- [55] S.D. Basha; M. Sujatha, 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, 2007.
- [56] R. Senthil; K.T. Parthiban; M. Govinda, Molecular characterization of *Jatropha* genetic resources through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers, *Mol. Biol. Rep.* 36, 1951–1956, 2009.
- [57] P. Tanya; P. Taeprayoon; Y. Hadkam; P. Srinives, Genetic Diversity Among *Jatropha* and *Jatropha*-Related, *Plant Mol. Biol. Rep.* 29, 252–264, 2011.
- [58] Y. Cai; D. Sun; G. Wu; J. Peng, ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China, *Biomass Bioenerg.* 34, 1739-1750, 2010.
- [59] K. Chen; P. Ren; C. Ying; Q. Jiang; X. Jia, Genetic relationships among *Jatropha curcas* L. clones from Panzhuhua, China as revealed by RAPD and ISSR, *Afri. J. Agr. Res.* 6, 2582-2585, 2011.

- [60] C. Grativol; C. da Fonseca; A. Lira-Medeiros; H. Silva; P.C. Gomes, High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions, *Mol. Biol. Rep.* 38, 4245–4256, 2011.
- [61] J.H. Valero; C. Villar; M Vela, El proyecto de biocombustibles en Chiapas: experiencias de los piñón (*Jatropha curcas*) en el marco de la crisis rural, *Estudios sociales* 19(38), 120-144, 2001.
- [62] SIAP Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera, Anuario estadístico de la producción agrícola, Base de datos en línea soportada por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y alimentación (SAGARPA). 2015. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>. Consultado: 10 de junio de 2015.
- [63] F.S. Navarro, Viabilidad económica de la producción de biodiesel de *Jatropha curcas* en el estado de Yucatán, México, Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, México, 2013.
- [64] Z. Wang; M. Calderon; Y. Lu, Lifecycle assessment of the economic, environmental and energy performance of *Jatropha curcas* L. biodiesel in China, *Biomass Bioenerg.* 35, 2893-2902, 2011.
- [65] Y. Cheng-Yuan; F. Zhen; L. Bo; L. Yun-feng, Review and prospects of *Jatropha* biodiesel industry in China, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16, 2178-2190, 2012.
- [66] S. Jain; M.P. Sharma, Prospects of biodiesel from *Jatropha* in India: A review, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14, 763-771, 2010.
- [67] K. Openshaw, A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise, *Biomass Bioenergy.* 19, 1-15, 2000.
- [68] P. Biswas; S. Pohit; R. Kumar, Biodiesel from *Jatropha*: Can India meet the 20% blending target?, *Energ. Policy* 38, 1477-1484, 2010.

- [69] S. Behera, P. Srivastava, R. Tripathi, J.P. Singh, N. Singh, Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study, *Biomass Bioenerg.* 34, 30-41, 2010.
- [70] R. Jingura, Technical options for optimization of production of *Jatropha* as a biofuel feedstock in arid semi-arid areas of Zimbabwe, *Biomass Bioenergy.* 35, 2127-2132, 2011.
- [71] R. Prüller, Glosario Sobre Recursos Genéticos Forestales, Forest Resources Division, FAO, 2003, 50 p.
- [72] R. H. Gohil; J.B. Pandya, Genetic diversity assessment in physic nut (*Jatropha curcas* L.), *Int. J. Plant Prod.* 2(4), 321-326, 2008.
- [73] B.N. Divakara; H.D. Upadhyaya; S.P. Wani; C.L. Laxmipathi, Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review, *Appl. Energ.* 87, 732–742, 2010.
- [74] A.K.M. Aminul; N. Anuar; Z. Yaakob; M. Osman, Heterosis for seed yield and its components in *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.), *Int. J. Plant breeding* 5(2), 74-79, 2011.
- [75] B. Dehgan, Phylogenetic significance of interspecific hybridization in *Jatropha* (Euphorbiaceae), *Syst. Bot.* 9(4), 467-478, 1984.
- [76] J.L. Chávez, Mejoramiento de Plantas 2 Métodos Específicos de Plantas Alógamas, México, Trillas, primera edición 1995, 143 p.
- [77] N. Kaushik; K. Kumar; S. Kumar; N. Kaushik; S Roy, Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions, *Biomass Bioenerg.* 31, 497-502, 2007.
- [78] W. Xiu-Rong; D. Gui-Jie, Reproductive biology characteristic of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae), *Rev. Biol. Trop.* 60(40), 1525-1533, 2012.
- [79] IPGR, Tropical fruit descriptor, Tropical fruit descriptor Working Group to Review the Tropical Fruit Descriptors and Strategy for Collection, Evaluation, Utilization and

- Conservation, International Board for Plant Genetic Resources, Bangkok, Thailandia. 1980, 14 p.
- [80] Bioversity International, Developing Crop Descriptor Lists Guidelines for developers, Bioversity Technical Bulletin Series, Bioversity International, Roma, Italy. 2007, 72 p.
- [81] UPOV, Flor de pascua *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch y sus Híbridos, Directrices para la Ejecución del Examen de la Distinción, la Homogeneidad y la Estabilidad, Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, Ginebra, Suiza, 2008, 36 p.
- [82] N. Sunil; V. Kumar; M. Sujatha; G. Rajesware; K. Siva, Minimal descriptors for characterization and evaluation of *Jatropha curcas* L. germplasm for utilization in crop improvement, *Biomass Bioenerg.* 48, 239-249, 2013.
- [83] Statgraphics, A statistical graphics software system, *Disasters* 12, 304, 1988.
- [84] F.J. Rohlf, NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.20. Exeter Publishing, Ltd.: Setauket, NY. 2008.
- [85] J. Ceron-Rojas; Sahagún-Castellanos, Un índice de selección basado en componentes principales, *Agrociencia* 39, 667-677, 2005.
- [86] E. Souza; M.E. Sorrells, Relationships among 70 North America oat germplasms: I Cluster analysis using quantitative characters, *Crop Sci.* 31, 599-605, 1991.
- [87] N. Mantel, The detection of disease clustering and a generalized regression approach, *Cancer Res.* 27, 209-220, 1967.
- [88] P.E. Smouse; J.C. Long; R.R. Sokal, Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence, *Syst. Zool.* 35(4), 627-632, 1986.
- [89] G. Gálvez, Parámetros y Estadísticos en Genética Cuantitativa en Diseños Genéticos-Estadísticos para la Descomposición de la Varianza Genética. M. Cornide;

- H. Lima; Gálvez; A. Sigarroa, Ed.; Editorial Científico-Técnica, La Habana, 1985; 208-220.
- [90] R. Tapia-Tussell, A. Quijano-Ramallo, R. Rojas-Herrera, A. Larque-Saavedra; D. Pérez-Brito, A fast, simple, and reliable high-yielding method for DNA extraction from different plant species, *Mol. Biotech.* 31(2), 137-139, 2005.
- [91] P.D. Bridge; D.A. Pearce; A.M. Rivera; A. Rutherford, VNTR derived oligonucleotides as PCR primers for population studies in filamentous fungi. *Lett. Appl. Microbiol.* 24, 426-430, 1997.
- [92] P. Talhinhos; S. Sreenivasaprasad; J. Neves-Martin; H. Oliveira, Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins, *Phytopathology* 92, 986-996, 2002.
- [93] D. Libkind; S. Brizzio; A. Ruffini; M. Gadabho; M. Broock; J.P. Sampaio, Molecular characterization of caroteno-genic yeast from aquatic environments in Patagonia, Argentina, *Antonie van Leeuwenhoek* 84, 313-322, 2003.
- [94] Z. Zhou; P.J. Bebeli; D.J. Somers; J.P. Gustafson, Direct amplification of minisatellite-region DNA with VNTR core sequences in the genus *Oryza*, *Theor. Appl. Genet.* 95, 942-949, 1997.
- [95] Z. Weiguo; Z. Zhihua; M. Xuexia; W. Sibao; Z. Lin; P. Yile; H. Yongping, Genetic related among cultivated and wild mulberry (Moraceae: *Morus*) as revealed by inter-simple sequence repeat analysis in China, *Can. J. Plant Sci.* 86, 251-257, 2005.
- [96] L.R. Dice, Measures of the amount of ecology association between species, *Ecology* 26, 297-302, 1945.
- [97] J.A. Anderson; G.A. Churchill; J.E. Autrique; S.D. Tanksley; M.E. Sorrels, Optimizing parental selection for genetic linkage maps, *Genome* 36, 181-186, 1992.
- [98] A. Prevost; M.J. Wilkinson, A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars, *Theor. Appl. Genet.* 98, 107-112, 1999.

- [99] K.R. Clarke; R. N. Gorley, *PRIMER v 6.1: User Manual/Tutorial*, PRIMER-E, Plymouth, 2006.
- [100] N. Sunil; K.S. Varaprasad; N. Sivaraj; K. Suresh; B. Abraham; R.B.N. Prasad, Assessing *Jatropha curcas* L. germplasm in-situ A case study, *Biomass Bioenerg.* 32, 198-202, 2008.
- [101] M. Rodríguez-Acosta; J. Sandoval-Ramírez; R. Zeferino-Díaz, Extraction and characterization of oils from three mexican *Jatropha* species, *J. Mex. Chem. Soc.* 54(2), 88-91, 2010.
- [102] M.K. Rai; M. Phulwaria; Harish; A.K. Gupta; N.S. Shekhawat; U. Jaiswal, Genetic homogeneity of guava plants derived from somatic embryogenesis using SSR and ISSR markers, *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 111, 259-264, 2012.
- [103] S. Verma; T.S. Rana, Genetic relationship among wild and cultivated accessions of curry leaf plant (*Muraya koenigii* (L.) Spreng.), as revealed by DNA Fingerprinting methods, *Mol. Biotech.* 53, 139-149, 2013.
- [104] R. Hammami; N. Joeve; C. Soler; E. Frieiro; J.M. González, Genetic diversity of ISSR markers in wild populations of *Brachypodium distachyon* and its close relatives *B. stacei* and *B. hybridum* (Poaceae), *Plant Syst. Evol.* 300, 2029-2040, 2014.
- [105] V. Pecina-Quintero; J.L. Anaya-López; C. Zamarrripa; G. Montes; C. Núñez; B. Solis; et al., Molecular characterization of *Jatropha curcas* L. genetic resources from Chiapas, México though ALFP markers, *Biomass Bioenerg.* 35, 1897-1905, 2011.
- [106] S. Kumar; S. Kumaria; S. Kumar; R. Rama; P. Tandon, Genetic diversity assessment of *Jatropha curcas* L. from Northeast India, *Biomass Bioenerg.* 35, 3063-3070, 2011.
- [107] H. Nybom; K. Weising; B. Rotter, DNA Fingerprinting in botany: past, present, future, *Invest. Genet.* 5(1), 1-35, 2014.

- [108] Spooner D, van Treuren R, de Vicente M C. *Molecular markers for genebank management*. IPGRI technical bulletin No. 10, International plant genetic resource institute, Rome, 2005, 136 p.
- [109] S. Kumar; S. Kumaria; P. Tandon, SPAR methods coupled with seed-oil content revealed intra-specific natural variation in *Jatropha curcas* L. from Northeast India, *Biomass Bioenerg.* 54, 100-106, 2013.
- [110] T. Rosado; G. Laviola; D. Faria; M. Pappas; L. Bhering; B. Quirino; D. Grattapaglia, Molecular markers Reveal limited genetic diversity in large germplasm collection of the biofuel crop *Jatropha curcas* L. in Brazil, *Crop Sci.* 50, 2372-2382, 2010.
- [111] F. Maghuly; J. Jankowicz-Cieslak; S. Pabinger; B.J. Till; M. Laimer, Geographic origin is not supported by the genetic variability found in a large living collection of *Jatropha curcas* with accessions from three continents, *Biotech. J.* 10, 1-16, 2015.
- [112] S. Adil; R. Kant; V. Tripathi; M. Bakshi; P. Srivastava; S. Jamil; H.B. Singh; N. Singh; P.C. Adhilash, *Jatropha curcas* L.: A crucified plant waiting for resurgence, *Renew. Sust. Energ Rev.* 41, 855-862, 2015.
- [113] A. Zamarripa-Colmeneros; P.A. Ruíz-Cruz; J.L. Solís-Bonilla; J. Martínez-Herrera; A. Olive-De los Santos; B. Martínez-Valencia, *Biocombustibles: Perspectivas de Producción de Biodiesel a Partir de Jatropha curcas L. en el Trópico de México*, Folleto Técnico núm. 12 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México, 2009, 46 p.
- [114] D.G. Ambrosi; G. Galla; M. Purelli; T. Barbi; A. Fabbri; S. Lucretti; T.F. Sharbel; G. Barcaccia, DNA Markers and FCSS Analyses Shed Light on the Genetic Diversity and Reproductive Strategy of *Jatropha curcas* L., *Diversity* 2, 810-839, 2010.
- [115] W.M.J. Achten; L. R. Nielsen; R. Aerts; A.G. Lengkeek; E.D. Kjaer; A. Trabucco; J.K. Hansen; W.H. Maes; L. Graudal; F.K. Akinnifesi; B. Muys, Towards domestication of *Jatropha curcas*, *Biofuels* 1(1), 91-107, 2010.

[116] R.D. Purwati; H. Sudarmo; Djumali, Adaptability of potential genotypes of *Jatropha curcas* L. as bioenergy source in three locations, *Energ. Procedia* 65, 317-323, 2015.

ANEXO A

A. Análisis de varianza para 12 caracteres utilizados en la evaluación de diversidad y contraste en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L.

Fuente de variación	GL	CM					
		PH	CD	CB	NPB	NFB	NFR
Accesión	29	0.03	0.05	0.07	0.06	0.24	0.36
Error	137	3.9 ^{E-03}	0.01	0.01	0.01	0.03	0.05
CV (%)		2.58	8.56	4.44	19.41	27.34	20.57

PH: altura de planta; CD: diámetro del tallo; CB: amplitud del dosel; NPB: número de ramas; NFB: número de frutos por rama; NFR: número de frutos por racimo.

A. Continuación...

Fuente de variación	GL	CM					
		FL	FB	FF	SV	HSW	OY
Accesión	29	0.0046	0.0035	0.0025	0.01	0.01	0.57
Error	137	0.0022	0.0025	0.0047	4.0 ^{E-4}	8.6 ^{E-5}	0.05
CV (%)		9.25	10.95	40.95	1.93	0.48	10.63

FL: largo del fruto; FB: ancho del fruto; FF: forma del fruto; SV: volumen de semilla; HSW: peso de 100 semillas; OY: rendimiento de aceite.

ANEXO B

B1. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter altura de la planta en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos						
S03	2.29	6	0.03	A						
SL02	2.29	6	0.03	A						
MYC02	2.29	4	0.03	A						
MYT10	2.31	6	0.03	A	B					
S01	2.31	6	0.03	A	B					
MCT10	2.34	6	0.03	A	B	C				
MYG03	2.36	6	0.03	A	B	C	D			
MYG04	2.37	6	0.03	A	B	C	D			
B05	2.40	6	0.03	A	B	C	D	E		
MYP06	2.40	6	0.03	A	B	C	D	E		
MXTB105	2.41	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
MCE06	2.42	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
BR02	2.42	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
MXVR01	2.42	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
MY01	2.42	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
B03	2.43	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
IN01	2.44	6	0.03	A	B	C	D	E	F	
MXCH107	2.45	6	0.03		B	C	D	E	F	
MXCH003	2.46	6	0.03			C	D	E	F	
MCT09	2.47	6	0.03			C	D	E	F	
MXCH001	2.47	6	0.03			C	D	E	F	
H02	2.48	6	0.03			C	D	E	F	
MXCH002	2.48	6	0.03			C	D	E	F	
MXCH211	2.48	2	0.04			C	D	E	F	
MXCH004	2.49	6	0.03			C	D	E	F	
G01	2.49	4	0.03			C	D	E	F	
MXYC105	2.50	1	0.06				D	E	F	
BR01	2.50	6	0.03				D	E	F	
BR04	2.55	6	0.03					E	F	
MXCH208	2.56	6	0.03							F

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B2. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter diámetro del tallo en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos									
S03	0.71	6	0.03	A									
SL02	0.73	6	0.03	A	B								
MYC02	0.82	4	0.04	A	B	C							
MYG04	0.82	6	0.03	A	B	C	D						
S01	0.83	6	0.03	A	B	C	D						
MYT10	0.83	6	0.03	A	B	C	D						
MXYC001	0.84	6	0.03	A	B	C	D	E					
MCT10	0.86	6	0.03	A	B	C	D	E	F				
MYG03	0.87	6	0.03	A	B	C	D	E	F	G			
MXVR01	0.89	6	0.03	A	B	C	D	E	F	G	H		
MYP06	0.90	6	0.03	A	B	C	D	E	F	G	H		
BR02	0.91	6	0.03		B	C	D	E	F	G	H		
IN01	0.91	6	0.03		B	C	D	E	F	G	H		
MXTB105	0.92	6	0.03		B	C	D	E	F	G	H		
MCT09	0.92	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
B03	0.93	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
BR01	0.95	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
H02	0.96	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
B05	0.97	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
MXYC105	0.98	1	0.08			C	D	E	F	G	H		
MXCH002	0.98	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
BR04	0.98	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
MXCH208	1.00	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
MXCH003	1.01	6	0.03			C	D	E	F	G	H		
MXCH004	1.01	6	0.03				D	E	F	G	H		
MXCH001	1.01	6	0.03				D	E	F	G	H		
G01	1.02	4	0.04					E	F	G	H		
MCE06	1.04	6	0.03						F	G	H		
MXCH107	1.06	6	0.03							G	H		
MXCH211	1.08	2	0.06									H	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B3. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter amplitud de la copa en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos						
MXVR01	2.20	6	0.04	A						
S03	2.20	6	0.04	A	B					
MYG04	2.21	6	0.04	A	B	C				
MY01	2.23	6	0.04	A	B	C				
SL02	2.23	6	0.04	A	B	C				
MYP06	2.27	6	0.04	A	B	C	D			
S01	2.30	6	0.04	A	B	C	D	E		
B05	2.31	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
MCT10	2.31	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
MYG03	2.32	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
MYC02	2.35	4	0.05	A	B	C	D	E	F	
BR02	2.37	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
G01	2.38	4	0.05	A	B	C	D	E	F	
H02	2.38	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
MYT10	2.38	6	0.04	A	B	C	D	E	F	
MXTB105	2.39	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
BR01	2.40	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
B03	2.40	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
MCE06	2.44	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
MXCH208	2.44	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
MXYC105	2.45	1	0.11	A	B	C	D	E	F	G
BR04	2.45	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
IN01	2.46	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G
MXCH001	2.46	6	0.04		B	C	D	E	F	G
MCT09	2.47	6	0.04			C	D	E	F	G
MXCH002	2.52	6	0.04				D	E	F	G
MXCH003	2.55	6	0.04					E	F	G
MXTB107	2.55	6	0.04					E	F	G
MXCH211	2.55	2	0.07						F	G
MXCH004	2.64	6	0.04							G

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B4. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de ramas principales en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos								
IN01	0.25	6	0.04	A								
MXYC105	0.30	1	0.09	A	B							
MXCH211	0.30	2	0.06	A	B							
BR01	0.31	6	0.04	A	B							
MXCH002	0.33	6	0.04	A	B	C						
BR04	0.33	6	0.04	A	B	C						
S01	0.36	6	0.04	A	B	C	D					
SL02	0.39	6	0.04	A	B	C	D	E				
MXCH208	0.39	6	0.04	A	B	C	D	E				
H02	0.39	6	0.04	A	B	C	D	E				
MXCH107	0.42	6	0.04	A	B	C	D	E	F			
MXCH001	0.42	6	0.04	A	B	C	D	E	F			
S03	0.42	6	0.04	A	B	C	D	E	F			
MXYC001	0.45	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G		
MXCH003	0.45	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G		
MXCH004	0.45	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G		
MXVR01	0.46	6	0.04	A	B	C	D	E	F	G		
MYC02	0.48	4	0.04		B	C	D	E	F	G		
MCT09	0.49	6	0.04		B	C	D	E	F	G		
MYG04	0.50	6	0.04		B	C	D	E	F	G		
MYP06	0.52	6	0.04		B	C	D	E	F	G		
MYG03	0.52	6	0.04		B	C	D	E	F	G		
G01	0.54	4	0.04			C	D	E	F	G		
MXTB105	0.56	6	0.04				D	E	F	G		
B05	0.58	6	0.04				D	E	F	G		
MCE06	0.59	6	0.04					E	F	G		
MYT10	0.60	6	0.04					E	F	G		
MCT10	0.60	6	0.04					E	F	G		
BR02	0.63	6	0.04						F	G		
B03	0.65	6	0.04								G	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B5. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de racimos frutales en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos						
BR04	0.13	6	0.07	A						
MYC02	0.19	4	0.09	A	B					
MXCH211	0.30	2	0.13	A	B	C				
S03	0.31	6	0.07	A	B	C				
BR01	0.44	4	0.09	A	B	C	D			
SL02	0.47	6	0.07	A	B	C	D			
MYG04	0.49	6	0.07	A	B	C	D	E		
MXCH002	0.50	6	0.07	A	B	C	D	E		
BR02	0.50	6	0.07	A	B	C	D	E		
S01	0.54	6	0.07	A	B	C	D	E		
MYG03	0.56	6	0.07	A	B	C	D	E		
MXYC105	0.60	1	0.18		B	C	D	E	F	
MCT09	0.61	6	0.07		B	C	D	E	F	
MXCH001	0.65	6	0.07			C	D	E	F	
MXCH208	0.66	6	0.07			C	D	E	F	
MXYC001	0.67	6	0.07			C	D	E	F	
MXCH003	0.69	6	0.07			C	D	E	F	
MYT10	0.72	6	0.07			C	D	E	F	
MXTB105	0.73	6	0.07			C	D	E	F	
B05	0.75	6	0.07				D	E	F	
G01	0.78	4	0.09				D	E	F	
B03	0.78	6	0.07				D	E	F	
MYP06	0.79	6	0.07				D	E	F	
H02	0.83	6	0.07				D	E	F	
MXVR01	0.83	6	0.07				D	E	F	
IN01	0.83	6	0.07				D	E	F	
MXCH107	0.87	6	0.07				D	E	F	
MXCH004	0.87	6	0.07				D	E	F	
MCT10	0.91	6	0.07					E	F	
MCE06	1.01	6	0.07						F	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B6. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter número de frutos por racimo en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos							
BR04	0.31	6	0.09	A							
MYC02	0.48	4	0.11	A	B						
MXCH211	0.65	2	0.15	A	B	C					
MXCH002	0.68	6	0.09	A	B	C	D				
BR01	0.72	4	0.11	A	B	C	D	E			
MYG04	0.85	6	0.09		B	C	D	E	F		
MXCH208	0.87	6	0.09		B	C	D	E	F		
BR02	0.90	6	0.09		B	C	D	E	F		
S03	0.91	6	0.09		B	C	D	E	F		
MXCH003	0.92	6	0.09		B	C	D	E	F	G	
MXCH001	0.92	6	0.09		B	C	D	E	F	G	
S01	0.94	6	0.09		B	C	D	E	F	G	
G01	0.99	4	0.11		B	C	D	E	F	G	
SL02	1.03	6	0.09			C	D	E	F	G	
MYG03	1.07	6	0.09			C	D	E	F	G	
MXYC001	1.07	6	0.09			C	D	E	F	G	
MXCH004	1.12	6	0.09			C	D	E	F	G	
MXYC105	1.15	1	0.21			C	D	E	F	G	
B05	1.18	6	0.09				D	E	F	G	
MCT09	1.18	6	0.09				D	E	F	G	
B03	1.19	6	0.09				D	E	F	G	
H02	1.19	6	0.09				D	E	F	G	
MXVR01	1.19	6	0.09				D	E	F	G	
MYT10	1.23	6	0.09					E	F	G	
MXCH107	1.25	6	0.09						F	G	
MXTB105	1.27	6	0.09						F	G	
IN01	1.28	6	0.09						F	G	
MYP06	1.31	6	0.09						F	G	
MCT10	1.33	6	0.09						F	G	
MCE06	1.44	6	0.09							G	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B7. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter largo del fruto en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	Error	Grupos	
MXTB105	0.45	0.02	A	
G01	0.46	0.02	A	B
H02	0.46	0.02	A	B
MXYC001	0.47	0.02	A	B
MYC02	0.47	0.02	A	B
MYG03	0.47	0.02	A	B
MXVR01	0.47	0.02	A	B
MCE06	0.48	0.02	A	B
SL02	0.48	0.02	A	B
S03	0.49	0.02	A	B
IN01	0.50	0.02	A	B
MXCH003	0.50	0.02	A	B
MCT09	0.51	0.02	A	B
MXCH107	0.51	0.02	A	B
MXCH004	0.51	0.02	A	B
MXCH002	0.51	0.02	A	B
B03	0.51	0.02	A	B
BR01	0.51	0.02	A	B
B05	0.52	0.02	A	B
MYP06	0.52	0.02	A	B
MYG04	0.52	0.02	A	B
BR02	0.52	0.02	A	B
S01	0.52	0.02	A	B
MXCH001	0.53	0.02	A	B
BR04	0.54	0.02	A	B
MCT10	0.54	0.02	A	B
MXCH208	0.54	0.02	A	B
MXCH211	0.55	0.03	A	B
MYT10	0.56	0.02	A	B
MXYC105	0.57	0.05		B

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B8. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter ancho del fruto en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos	
MYC02	0.40	4	0.02	A	
MYG03	0.41	6	0.02	A	
MXYC001	0.42	6	0.02	A	
H02	0.42	6	0.02	A	
MYP06	0.43	6	0.02	A	B
G01	0.43	4	0.02	A	B
MXCH003	0.43	6	0.02	A	B
MXTB105	0.43	6	0.02	A	B
SL02	0.44	6	0.02	A	B
MCE06	0.44	6	0.02	A	B
S03	0.44	6	0.02	A	B
MYG04	0.45	6	0.02	A	B
MCT09	0.45	6	0.02	A	B
MXCH004	0.45	6	0.02	A	B
BR01	0.45	6	0.02	A	B
MYT10	0.46	6	0.02	A	B
MXCH208	0.46	6	0.02	A	B
MXCH002	0.46	6	0.02	A	B
MXVR01	0.46	6	0.02	A	B
MXCH001	0.46	6	0.02	A	B
IN01	0.46	6	0.02	A	B
MXCH107	0.47	6	0.02	A	B
BR04	0.47	6	0.02	A	B
BR02	0.47	6	0.02	A	B
MXCH211	0.47	2	0.04	A	B
B03	0.48	6	0.02	A	B
B05	0.48	6	0.02	A	B
S01	0.48	6	0.02	A	B
MCT10	0.50	6	0.02	A	B
MXYC105	0.54	1	0.05		B

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B9. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter forma del fruto en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	N	Error	Grupos					
MXVR01	0.01	6	0.01	A					
MXTB105	0.02	6	0.01	A	B				
MXYC105	0.03	1	0.02	A	B				
G01	0.03	4	0.01	A	B				
B05	0.03	6	0.01	A	B	C			
B03	0.03	6	0.01	A	B	C			
MCT10	0.04	6	0.01	A	B	C			
MXCH107	0.04	6	0.01	A	B	C			
IN01	0.04	6	0.01	A	B	C			
MCE06	0.04	6	0.01	A	B	C			
H02	0.04	6	0.01	A	B	C	D		
S01	0.04	6	0.01	A	B	C	D		
SL02	0.04	6	0.01	A	B	C	D		
BR02	0.05	6	0.01	A	B	C	D		
MXYC001	0.05	6	0.01	A	B	C	D		
S03	0.05	6	0.01	A	B	C	D		
MXCH002	0.05	6	0.01	A	B	C	D	E	
MCT09	0.06	6	0.01	A	B	C	D	E	
MXCH004	0.06	6	0.01	A	B	C	D	E	
BR01	0.06	6	0.01	A	B	C	D	E	
MYG03	0.06	6	0.01	A	B	C	D	E	
MXCH001	0.06	6	0.01		B	C	D	E	
MYG04	0.07	6	0.01		B	C	D	E	
BR04	0.07	6	0.01		B	C	D	E	
MYC02	0.07	4	0.01		B	C	D	E	
MXCH003	0.07	6	0.01		B	C	D	E	
MXCH211	0.08	2	0.02		B	C	D	E	
MXCH208	0.08	6	0.01			C	D	E	
MYP06	0.09	6	0.01				D	E	
MYT10	0.11	6	0.01					E	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B10. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter volumen de la semilla en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos																			
MYP06	0.94	6	0.01	A																			
SL02	0.96	6	0.01	A	B																		
S03	0.97	6	0.01	A	B	C																	
MYT10	0.97	6	0.01	A	B	C	D																
BR04	0.99	6	0.01		B	C	D	E															
H02	0.99	6	0.01		B	C	D	E	F														
MYG04	0.99	6	0.01		B	C	D	E	F														
MXVR01	1.00	6	0.01			C	D	E	F	G													
MYG03	1.01	6	0.01				D	E	F	G	H												
MXYC105	1.02	6	0.01					E	F	G	H	I											
IN01	1.03	6	0.01						F	G	H	I	J										
MXCH211	1.03	6	0.01						F	G	H	I	J										
MCT10	1.04	6	0.01							G	H	I	J	K									
BR01	1.04	6	0.01							G	H	I	J	K									
MXTB105	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MCE06	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MXCH208	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MXCH001	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MXCH002	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MXCH003	1.05	6	0.01								H	I	J	K	L								
MYC02	1.05	6	0.01									I	J	K	L								
G01	1.06	6	0.01										I	J	K	L							
MCT09	1.06	6	0.01											I	J	K	L						
BR02	1.06	6	0.01												I	J	K	L					
MXCH107	1.07	6	0.01													J	K	L					
MXYC001	1.07	6	0.01														J	K	L				
MXCH004	1.07	6	0.01															J	K	L			
B03	1.08	6	0.01																K	L			
B05	1.08	6	0.01																	K	L		
S01	1.09	6	0.01																			L	

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

B11. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter peso de 100 semillas en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos																			
MYP06	1.82	3	0.01	A																			
MXVR01	1.82	3	0.01	A																			
MYT10	1.83	3	0.01	A	B																		
SL02	1.84	3	0.01	A	B																		
S03	1.85	3	0.01	A	B	C																	
MYG04	1.86	3	0.01		B	C																	
BR04	1.88	3	0.01			C	D																
BR01	1.89	3	0.01				D	E															
MYG03	1.90	3	0.01				D	E	F														
H02	1.90	3	0.01				D	E	F														
IN01	1.90	3	0.01				D	E	F	G													
MXYC105	1.91	3	0.01					E	F	G	H												
MYC02	1.92	3	0.01					E	F	G	H	I											
MXCH208	1.92	3	0.01					E	F	G	H	I	J										
MCT09	1.92	3	0.01					E	F	G	H	I	J										
G01	1.92	3	0.01						F	G	H	I	J	K									
MXCH211	1.93	3	0.01							G	H	I	J	K	L								
MCE06	1.93	3	0.01							G	H	I	J	K	L								
MCT10	1.93	3	0.01								H	I	J	K	L								
MY01	1.94	3	0.01									I	J	K	L								
MXCH004	1.94	3	0.01										I	J	K	L							
B03	1.95	3	0.01											J	K	L							
MXCH003	1.95	3	0.01											J	K	L							
MXCH001	1.95	3	0.01											J	K	L							
MXCH107	1.95	3	0.01												K	L							
B05	1.95	3	0.01													L							
S01	1.95	3	0.01													L							
MXTB105	1.95	3	0.01													L							
MXCH002	1.96	3	0.01													L							
BR02	1.96	3	0.01													L							

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

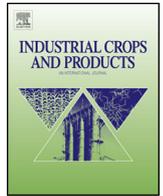
B12. Resultados de la comparación de medias realizada al carácter rendimiento de semilla en 30 accesiones de *Jatropha curcas* L. usando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Accesión	Medias	n	Error	Grupos										
BR04	1.22	6	0.09	A										
MYC02	1.57	4	0.11	A	B									
MXCH211	1.58	2	0.16	A	B									
BR01	1.63	4	0.11	A	B	C								
MXCH002	1.67	6	0.09	A	B	C	D							
MXCH208	1.88	6	0.09		B	C	D	E						
S03	1.88	6	0.09		B	C	D	E						
MYG04	1.91	6	0.09		B	C	D	E						
S01	1.95	6	0.09		B	C	D	E	F					
SL02	1.96	6	0.09		B	C	D	E	F					
MXCH001	1.99	6	0.09		B	C	D	E	F					
MXCH003	2.02	6	0.09		B	C	D	E	F	G				
MXYC105	2.06	1	0.22		B	C	D	E	F	G				
IN01	2.14	6	0.09			C	D	E	F	G	H			
G01	2.15	4	0.11			C	D	E	F	G	H			
MXYC001	2.16	6	0.09			C	D	E	F	G	H			
H02	2.17	6	0.09			C	D	E	F	G	H			
MXVR01	2.17	6	0.09			C	D	E	F	G	H			
MYG03	2.18	6	0.09				D	E	F	G	H			
BR02	2.19	6	0.09				D	E	F	G	H			
MXCH004	2.21	6	0.09				D	E	F	G	H			
MCT09	2.29	6	0.09					E	F	G	H			
MXCH107	2.32	6	0.09					E	F	G	H			
MYP06	2.34	6	0.09					E	F	G	H			
MYT10	2.35	6	0.09					E	F	G	H			
B05	2.41	6	0.09					E	F	G	H			
MXTB105	2.48	6	0.09						F	G	H			
B03	2.48	6	0.09						F	G	H			
MCT10	2.56	6	0.09							G	H			
MCE06	2.66	6	0.09									H		

Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

ANEXO C

Assessment of phenotypic diversity and agronomic contrast in American accessions of *Jatropha curcas* L.



Short communication

Assessment of phenotypic diversity and agronomic contrast in American accessions of *Jatropha curcas* L.



Erick A. Aguilera-Cauich^a, Daisy Pérez-Brito^b, Abelardo Navarrete Yabur^c, Guadalupe López-Puc^d, Guillermo Castañón Najera^e, Julio Cesar Sacramento Rivero^f, Carlos Rubio Atoche^f, Alberto Uc-Vázquez^d, Carlos Góngora-Canul^g, Javier O. Mijangos-Cortes^{h,*}

^a Unidad de Energía Renovable Centro de Investigación Científica de Yucatán, Yucatán, C.P. 97000, Mexico

^b GeMBio, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Yucatán C.P. 97000, Mexico

^c Bioantropo SA de CV, Yucatán, Mexico

^d Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco Unidad Sureste, Mexico

^e División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tabasco, Mexico

^f Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, C.P. 97203, Mexico

^g Agroindustria Alternativa del Sureste SPR de RL de CV, Yucatán, Tablaje Catastral, 13950, Mexico

^h Unidad de Recursos Naturales Centro de Investigación Científica de Yucatán, Yucatán, C.P. 97000, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 January 2015

Received in revised form

14 September 2015

Accepted 28 September 2015

Keywords:

Jatropha curcas

Phenotypic expression

Yield traits

Diversity

Agro-morphological descriptors

ABSTRACT

This study was conducted to determine the genetic variation and relationships between American accessions of *Jatropha curcas* from different origins. The accessions from El Salvador showed the lowest plant proportions, while two of the Mexican accessions (MCT10 and MCE06) showed the highest values in oil yield. The principal component analysis explained 75.99% of the total variation in three components. Repeatability analysis showed a low effect of the environment on the characters associated with oil yield ($R = 0.99$), 100-seed weight ($R = 0.98$) and seed volume ($R = 0.97$), indicating a high level of diversity among accessions and the feasibility of finding desirable characters in each collection, while offering useful information for the selection of parental plants for use in crop improvement programs.

© 2015 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

In the search for alternative sources for the production of combustible liquids, *Jatropha curcas* L. (JCL), represents a promising species to substitute fossil diesel (Ashwani and Sharma, 2008; Pandey et al., 2012). The *Jatropha* methyl ester produced at lab scale shows encouraging results, provided that materials are available with high seed yield (5–10 ton ha⁻¹), adapted to regional conditions and which require a minimum use of agricultural inputs, since

the main obstacle is the production cost of the crop (Cheng-Yuan et al., 2012; Vimal et al., 2012); this is the importance of assessing regional accessions.

In other regions of the planet, several studies have been conducted to determine the morphological and genetic variability associated with JCL, in order to identify outstanding genotypes for improvement programs or for yield testing at a commercial level. In Africa and India, evaluations have been carried out on seed attributes such as oil content and morphological differences (Kaushik et al., 2007; Diop et al., 2012), morphological variation of the plant, oil yield and oil composition (Wani et al., 2012), while in Malaysia studies were conducted to determine the level of genetic variation, the association between variables by morphological qualities and yield (Shabanmofrad et al., 2013). The aim of this study was to determine the genetic variation and relationships between accessions of JCL from different geographical regions of Mexico and Latin America, under climate and soil conditions of the eastern region of the state of Yucatan, Mexico.

* Corresponding author. Fax: +52 9999813900.

E-mail addresses: e.a.cauich@hotmail.com, cauich@hotmail.com (E.A. Aguilera-Cauich), daisyfb@cicy.mx (D. Pérez-Brito), Abelias.yabur@hotmail.com (A.N. Yabur), glopez@ciatej.mx (G. López-Puc), guillermo.rasputin956@hotmail.com (G.C. Najera), julio.sacramento@correo.uady.mx (J.C.S. Rivero), carlos.gongora@agroindustria.com.mx (C. Góngora-Canul), jomijangos@cicy.mx (J.O. Mijangos-Cortes).

Table 1
Accessions of *Jatropha curcas* L. evaluated in Yucatán, Mexico and collection sites.

Accession	Country	State/Province	Latitude	Longitude
B05	Brazil	Piauí	8°14' 0.00"S	43° 06' 0.00" W
B03	Brazil	Piauí	8°14' 0.00"S	43° 06' 0.00" W
S03	El Salvador	Chalatenango	14° 34' 16.16"N	89° 10' 43.55" W
S01	El Salvador	Chalatenango	14° 34' 16.16"N	89° 10' 43.55" W
G01	Guatemala	Zacapa	15° 04' 42.53"N	89° 26' 11.01" W
H02	Honduras	Valle	13° 32' 12.86"N	87° 29' 6.57" W
MYT10	Mexico	Yucatan	21° 8' 43.69"N	88° 8' 58.59" W
MYP06	Mexico	Yucatan	20° 43' 21.00"N	89° 41' 8.00" W
MY01	Mexico	Yucatan	20° 42' 35.56"N	89° 5' 39.62" W
MYC02	Mexico	Yucatan	21° 0' 28.26"N	89° 38' 28.31" W
MYG03	Mexico	Yucatan	20° 59' 20.45"N	89° 37' 56.01" W
MYG04	Mexico	Yucatan	20° 59' 20.45"N	89° 37' 56.01" W
MCT10	Mexico	Chiapas	16° 45' 11.00"N	93° 06' 56.00" W
MCT09	Mexico	Chiapas	16° 45' 11.00"N	93° 06' 56.00" W
MCE06	Mexico	Chiapas	16° 10' 55.02"N	91° 58' 3.80" W

2. Materials and methods

Fifteen accessions of *J. curcas* L. from five countries of the American continent were evaluated in the southeast of Mexico (Table 1), located in the north-eastern region of the state of Yucatan (20°57' and 21°35' latitude North and 87°31' and 88°16' longitude west).

Fifteen agro-morphological characters were registered (Table 2), to measure phenotypic expression, including characters associated with yield (Sunil et al., 2013). Data collection was carried out during the months of October and November of 2013, in two-year-old plants on 33 vegetative clones of each accession were generated.

The clones were collected in field and backyards in different geographic regions and planted in a completely random design, in spatial arrangement of two. The experimental unit was one clone with six replicates (plants) per accession. Basic statistical parameters were determined for all characters evaluated (Table 2), using the Statgraphic plus 5.1 statistical package (Statgraphics, 1988). To estimate diversity was used the principal components analysis (PCA) (Ceron-Rojas and Sahagún-Castellanos, 2005), a cluster analysis was also carried out using the UPGMA algorithm with average taxonomic distance (Souza and Sorrells, 1991) and was validated by the construction of a cophenetic matrix, using two-way Mantel normality statistics (Mantel, 1967); all carry out in NTSyS PC program (Rohlf, 2008). Repeatability was calculated (Gálvez, 1985).

3. Results

The values obtained for the agro-morphological characters measured showed statistical differences between the 15 accessions (Table 2). The characters associated with the proportions of the plant such as plant height (PH), canopy breadth (CB) and collar diameter (CD), presented high values in accessions, B03, G01, H02, MCE06 and MCT09. In the branching order, accessions B03, G01, MCE06 and MYT10 presented a greater number of primary branches (NPB) and branch structure. With respect to fruiting capacity, accessions MCE06, MCT10, MYP06, H02, B03 and MYT10 presented high values in number of fruit clusters (NFC) and number of fruit per branch (NFB). Regarding seed volume (SV) and 100-seed weight (HSW); the accessions with higher values of oil yield (OY), were B03 and MCT10 with 50.99% and 58.05%, respectively. The highest coefficients of variation were observed in characters related to fruit capacity, NFB and NFC (65.65% and 57.56%, respectively) and PPHG (56.95 cm).

The results of the principal components analysis shown that the first four principal components explained 84.19% of the total variation. PC1 explained 35.67% of the total variation explained and comprises four characters, of which one (CD) is associated with

plant proportions and the remainder with yield (OY, NFC and HSW); while PC2 (22.27%) is associated with three different characters of the plants (BO, FB and SV).

The 15 accessions were grouped by UPGMA, the Mantel test, showed value of $r = 0.7$. In general, a distribution associated with the collection site can be observed; the Mexican accessions collected in Yucatan are located together in the dendrogram, while the other Mexican and Central American accessions grouped together in the right half of the dendrogram. The accessions S03, S01 and MCE06 showed their independence from the other accessions. The most similar accessions was B05 and B03. Regarding the repeatability of the characters, HSW and OY were found to have the highest values (0.988 and 0.996, respectively), while the greatest environmental effect (lowest repeatability) was found in FB and PPHG with values of 0.672 and 0.693, respectively.

4. Discussion

Increasing population density is a strategy for crop profitability (Behera et al., 2010), grow plants small size would a viable strategy. On average, the accessions evaluated in this study presented short stature and a large canopy. The American accessions presented proportions similar to those of the Malaysian accessions (Shabanimofrad et al., 2013), but compared to the Indian accessions, they showed more adequate values. It is important to note that the accessions from El Salvador registered the shortest stature and smallest canopy width. Generally, due to the less significant effect of the environment on these characters, it is feasible to expect a greater genetic gain in their improvement.

The Indian accessions registered an average of three branches (Wani, 2012; Sunil et al., 2008), and a proportion of 5–10 fruit per cluster, for the Malaysian accessions, an average of 2.47 fruit per cluster was reported (Shabanimofrad et al., 2013); on average, the American accessions evaluated herein presented better attributes in relation to this characters, for that, it is possible to expect a potentially higher productivity in American accessions.

The accessions under study presented an average of HSW higher in comparison with reports in India and Malaysia with values between 69 and 100 g and 72.5 g respectively (Kaushik et al., 2007; Wani et al., 2012; Shabanimofrad et al., 2013); the oil content of the American accessions registered an average of 50.52%, which was consistent with a previous report for Mexico which indicated an oil percentage of 25–60%, (Rodríguez-Acosta et al., 2010), while values of 28–38% were reported for India and Malaysia (Kaushik et al., 2007; Wani et al., 2012; Sunil et al., 2008). That characters in the American accessions show higher values, effect of high diversity in America.

In the values obtained from the coefficient of variation, it was observed that plant height in the Malaysian and Indian accessions was lower than that of the American accessions (Shabanimofrad et al., 2013; Wani et al., 2012), while the value obtained from the CV for seed weight in Malaysia was similar to that of the present study. In contrast, for oil yield in Malaysia (Shabanimofrad et al., 2013) the CV was higher than that of the American accessions. For the remainder of the variables studied, the values obtained from the CV were 10% higher in comparison with those of India and Malaysia. This high variation of the American accessions, in most of the characters under study, could be due to the fact that Mexico is where the highest endemism for this genus has been reported (Steinmann, 2002), and has even been considered as the possible place of origin (Heller, 1996).

The diversity reported in India using PCA was 75.8% in four principal components, where the characters of greatest value in the PC1 (37.4%), were in direct relationship with seed yield and oil yield (Shabanimofrad et al., 2013). In contrast, the present study indi-

Table 2Description and basic statistics for morpho-agronomic characters and yield attributes evaluated in 14 accessions of *Jatropha curcas* L. in Yucatan, Mexico.

Accession	PH	CB	CD	NPB	BO	NFC	NFB	PPHG	FL	FB	FF	SV	HSW	OY
B03	268.44	257.80	8.57	4.50	1.83	6.33	16.17	65.44	3.28	3.04	1.08	11.91	88.67	50.98
B05	262.43	211.24	9.42	3.83	1.67	5.83	15.67	101.43	3.29	3.04	1.08	12.04	89.67	47.25
G01	307.66	241.43	10.53	3.50	2.00	6.00	11.00	65.66	2.88	2.69	1.07	11.39	83.67	45.01
H02	302.81	244.55	9.31	2.50	2.67	7.00	16.67	80.81	2.93	2.67	1.10	9.78	79.00	42.74
S01	206.37	200.84	6.80	2.33	1.50	3.67	9.33	48.37	3.37	3.06	1.10	12.30	90.00	47.70
S03	196.57	168.44	5.49	2.67	1.50	2.17	9.00	47.57	3.18	2.81	1.13	9.24	71.00	38.20
MCE06	264.53	293.81	10.85	4.00	2.00	11.50	33.17	85.53	3.03	2.76	1.10	11.20	85.67	52.09
MCT09	297.35	298.38	8.59	3.17	2.00	4.83	19.00	40.12	3.25	2.85	1.14	11.43	83.00	44.16
MCT10	224.43	209.16	7.46	4.00	1.33	8.17	21.83	39.56	3.50	3.20	1.09	11.01	86.00	58.05
MY01	268.79	169.92	6.95	2.83	1.67	4.83	12.50	79.79	2.93	2.61	1.13	11.63	87.67	47.69
MYC02	196.44	232.43	6.68	3.00	1.50	1.75	3.75	94.44	2.96	2.53	1.17	11.35	82.33	42.32
MYG03	231.53	212.91	7.44	3.33	1.67	3.83	12.33	80.53	2.96	2.58	1.15	10.27	78.67	30.76
MYG04	233.50	165.61	6.61	3.17	1.67	3.33	7.67	116.50	3.32	2.84	1.17	9.83	72.33	34.94
MYP06	254.06	189.91	7.93	3.33	2.33	6.67	20.83	67.06	3.30	2.67	1.24	8.72	66.33	37.21
MYT10	204.14	253.18	6.75	4.00	1.83	5.67	18.33	95.14	3.66	2.87	1.28	9.43	67.67	37.42
n	86	86	86	86	86	86	86	86	258	258	258	450	4500	45
Mean	247.75	222.67	7.93	3.35	1.81	5.51	15.51	73.58	3.20	2.82	1.14	10.77	80.78	50.52
Min.	161.37	101.65	3.92	2.00	1.00	1.00	1.00	1.66	2.34	2.01	1.01	7.81	66.00	30.49
Max.	365.81	379.37	11.71	6.00	3.00	19.00	70.00	194.77	4.65	4.08	1.43	12.85	92.00	58.05
DE	51.03	65.62	1.94	0.84	0.60	3.17	10.18	41.90	0.40	0.37	0.08	1.17	7.91	7.10
CV (%)	20.60	29.47	24.52	24.99	33.30	57.56	65.65	56.95	12.55	12.94	6.72	10.90	9.79	16.24
Error (%)	2.22	3.18	2.64	2.69	3.59	6.21	7.08	6.14	1.35	1.40	0.72	1.15	1.46	1.05

PH: plant height (cm); CB: crown breadth (cm); CD: collar diameter (cm); NPB: number of primary branches; BO: branching order; NFC: number of fruit cluster; NFB: number of fruits per branch; PPHG: post-pruning height gain (cm); FL: fruit length (cm); FB: fruit breadth (cm); FF: fruit form; SV: seed volume (cm³); HSW: hundred-seed weight (g); OY: oil yield (g).

cated greater variation, as it would be expected in the center of origin of the species.

The value obtained in the repeatability analysis for the characters evaluated, the use of vegetative reproduction strategies can be recommended as a tool for the establishment of plantations once the desired genotypes have been obtained or selected.

5. Conclusions

The results obtained in the present study indicate greater diversity among the accessions evaluated in comparison with reports on diversity for India and Malaysia. Phenotypic similarities were observed between the accessions and their collection sites, from which we can surmise that the effect on the genotype may be related to geographical barriers. American accessions was a potential genotypes to be used in energy production in America or to develop an improvement programs.

Acknowledgements

The authors thank the Agroindustria Alternativa del Sureste S.P.R. de R.L. de C.V. and the Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Unidad Sureste for their support and participation. Our thanks also to the foundation SAGARPA-CONACYT, for the funding of this study.

References

Ashwani, K., Sharma, S., 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.). *Rev. Ind. Crop Prod.* 28, 1–10.

Behera, S.K., Srivastava, P., Tripathi, R., Singh, J.P., Singh, N., 2010. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass—a case study. *Biomass Bioenergy* 34, 30–41.

Ceron-Rojas, J., Sahagún-Castellanos, J., 2005. Un índice de selección basado en componentes principales. *Agrociencia* 39, 667–677.

Cheng-Yuan, Y., Fang, Z., Li, B., Yun-Feng, L., 2012. Review and prospects of *Jatropha* biodiesel industry in China. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 2178–2190.

Diop, B., Diatta, S., Codjo, E., Barro, L., Arona, S., Samba, N., Akpo, L.E., 2012. Seedmorpho-metric characteristics and germination capacity of some *Jatropha curcas* L. provenance. *Am. Eurasian J. Sustain. Agric.* 6 (4), 215–221.

Gálvez, G., 1985. Parámetros y estadísticos en genética cuantitativa diseños genéticos-estadísticos para la descomposición de la varianza genética. In: Cornide, M., Lima, H., Gálvez Sigarrosa, A. (Eds.), *Genética Vegetal Y Fitomejoramiento*. Editorial Científico-Técnica, Habana, pp. 208–220.

Heller, J., 1996. *Physic nut. Jatropha curcas* L. Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.

Kaushik, N., Kumar, K., Kumar, S., Kaushik, N., Roy, S., 2007. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions. *Biomass Bioenergy* 31, 497–502.

Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27, 209–220.

Pandey, V.C., Singh, K., Singh, J.S., Kumar, A., Singh, B., Singh, R.P., 2012. *Jatropha curcas*: a potential biofuel plant for sustainable environmental development. *Renew. Sustain. Rev.* 16, 2870–2883.

Rodríguez-Acosta, M., Sandoval-Ramírez, J., Zeferino-Díaz, R., 2010. Extraction and characterization of oils from three Mexican *Jatropha* species. *J. Mexican Chem. Soc.* 54 (2), 88–91.

Rohlf, F.J., 2008. *NTSYSpc: Numerical Taxonomy System*, ver. 2.20. Exeter Publishing, Setauket, New York.

Shabanimofrad, M., Rafii, M.Y., Megat, W., Biabani, A.R., Latif, M.A., 2013. Phenotypic, genotypic and genetic divergence found in 48 newly collected Malaysian accessions of *Jatropha curcas* L. *Ind. Crops Prod.* 42, 543–551.

Souza, E., Sorrells, M.E., 1991. Relationships among 70 North America oat germplasm: I cluster analysis using quantitative characters. *Crop Sci.* 31, 599–605.

Statgraphics, 1988. A statistical graphics software system. *Disasters* 12, 304.

Steinmann, V., 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta botánica Mexicana* 61, 61–93.

Sunil, N., Kumar, V., Sujatha, M., Rajeswara, R., Siva, K., 2013. Minimal descriptors for characterization and evaluation of *Jatropha curcas* L. germplasm for utilization in crop improvement. *Biomass Bioenergy* 48, 239–249.

Sunil, N., Varaprasad, K.S., Sivaraj, N., Suresh, K., Abraham, B., Prasad, R.B.N., 2008. Assessing *Jatropha curcas* L. germplasm in-situ A case study. *Biomass Bioenergy* 32, 198–202.

Vimal, C., Sing, K., Sing, J., Kumar, A., Sing, B., Sing, R., 2012. *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 2870–2883.

Wani, T.A., Kitchlu, S., Ram, G., 2012. Genetic variability studies for morphological and qualitative attributes among *Jatropha curcas* L. accessions grown under subtropical conditions of North India. *S. Afr. J. Bot.* 79, 102–105.