

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



**Caracterización y modelo de predicción de contenido de aceite de
semillas de *Jatropha curcas L.* en el Estado de Chiapas.**

TESIS DE MAESTRÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES

Por:

Ing. Juan Manuel Ríos Camey

Linares, Nuevo León, Septiembre de 2014.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

**Caracterización y Modelo de predicción de contenido de aceite en
semillas de *Jatropha curcas L.* en el Estado de Chiapas.**

Tesis de Maestría

Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Forestales

Presenta:

Ing. Juan Manuel Ríos Camey

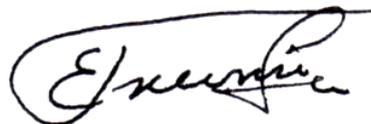


Dr. Ricardo López Aguillón
PRESIDENTE



Dr. Javier Jiménez Pérez
VOCAL

Comité de tesis:



Dr. Eduardo Javier Treviño Garza
SECRETARIO

Dr. Antonio Magdiel Velázquez Méndez
ASESOR EXTERNO

Linares, Nuevo León, Septiembre de 2014.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la oportunidad de concluir este trabajo y poder concluir una meta más en mi vida.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico que me brindó para la realización de mis estudios.

A la **Facultad de Ciencias Forestales (FCF) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL)** quien me formó por más de 2 años durante mi estancia en Maestría.

Al **Dr. Ricardo López Aguilón** por ser quien me guio durante todo el trabajo, con sus sabias experiencias y consejos me ayudaron a concluir este trabajo de investigación. Muchas gracias.

Al **Dr. Eduardo Treviño y Dr. Jiménez Pérez**, por sus aportes en la mejora del trabajo.

Al **Dr. Antonio Magdiel Velázquez Méndez** por participar en este proyecto, por ser el iniciador y por sus sugerencias hechas para la elaboración del mismo.

A **Mi hermano M.C Mario Santos Ríos Camey** por ayudarme en la parte estadística, su apoyo me sirvió de mucho. Gracias.

A la **Universidad Tecnológica de la Selva (UTS)**, prestarme las instalaciones para la primera etapa de la realización del trabajo.

Al **laboratorio de Química de la preparatoria Álvaro Obregón de la UANL**, por prestarme sus instalaciones para la conclusión del trabajo.

A **todos los Profesores** de la Maestría en Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León que me compartieron sus conocimientos, Gracias.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Sr. Antonio Ríos Granados
Sra. Floriberta Camey López

Porque gracias a la educación, sus sabios consejos, por su cariño y por su paciencia, he logrado lo que ahora soy.

A mis queridos hermanos:

Ervin Antonio, Edith Bianey, Octavio Isaías, Yesenia y Ana Yudelma.

Por su apoyo y por su cariño.

A mis tíos, primos, sobrinos, abuelos y cuñados:

Por sus consejos, motivación y sus buenos deseos hacia mi persona.

A todos los compañeros y amigos de Maestría: Carlos Romero, José Isabel, Santiago Reyes, Bernardo López, Eddy Floriberto, Alejandro Roblero, Eduardo de León, Marisela Benítez, Cinthya Geraldine, Mane Salinas, Ramiro, Canul, Román, Josué, Indira, Zurita, Ángel, Violeta, etc. Con quienes pase gratos momentos durante mi estancia en Linares, Nuevo León.

A **Conrado, Carlos, Abel y Mario** que me ayudaron en la colecta de las semillas.

En especial a **Gladys**, por acompañarme en todo momento, gracias por tu apoyo incondicional y cariño. Gracias...

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 Planteamiento del problema	4
1.3 Objetivo.....	4
1.3.1 General.....	4
1.3.2 Específicos.....	4
1.4 Hipótesis.....	5
2 REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 Generalidades de <i>Jatropha curcas</i> L.....	6
2.2 Descripción de la especie	6
2.3 Descripción morfológica de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> L.....	7
2.4 Clasificación Taxonómica.....	8
2.5 Origen y distribución.....	8
2.6 Ecotipos tóxicos y no tóxicos de <i>Jatropha curcas</i> L.....	9
2.7 Almacenamiento de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.....	10
2.8 Caracterización de la semilla	11
2.8.1 Caracterización morfométrica.....	11
2.8.2 Caracterización Germinativa.....	12
2.8.2.1 Análisis de pureza.	12
2.8.2.2 Número de semillas por kilogramo (kg).....	12
2.8.2.3 Viabilidad de las semillas mediante la aplicación de Tetrazolium	13
2.8.2.4 Pruebas de germinación en semillas.....	14
2.9 Características del aceite de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.	15

2.9.1 Extracción de aceite en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. con solvente (hexano).....	15
2.10 Modelos de regresión	16
2.10.1 Problemas en el Ajuste de un Modelo de Regresión Lineal Múltiple.....	16
2.11 Modelación en semillas	17
2.12 Trabajos a fines.	17
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1 Descripción del área de estudio.....	19
3.2 Selección de las regiones y de la época para la recolección de frutos.....	20
3.3 Fase de Campo	22
3.3.1 Recolecta de frutos.....	22
3.3.2 Secado de frutos	23
3.3.3 Obtención de semillas.	23
3.4 Fase de laboratorio	24
3.4.1 Caracterización morfométrica (peso y dimensiones).....	24
3.4.2 Caracterización germinativa semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.....	25
3.4.2.1 Análisis de pureza.	25
3.4.2.2 Peso y número de semillas por kilogramo.....	26
3.4.2.3 Análisis de viabilidad con Tetrazolium.....	26
3.4.2.4 Pruebas de germinación.	27
3.4.3 Determinación del contenido de aceite en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.....	27
3.4.4 Análisis Estadístico entre procedencias	28
3.4.5 Estimación del modelo de regresión lineal múltiple para cuantificar el porcentaje de contenido de aceite (%) en las semillas.	28
3.4.6 Verificación de los supuestos del modelo	29
3.4.6.1 Parte estructural	29
3.4.6.2 Parte aleatoria	29

3.4.6.3 Validación del modelo.....	30
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1 Caracterización morfométrica	31
4.1.1 Peso de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> L.....	31
4.1.2 Dimensiones (volúmenes cm ³) de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.....	33
4.2 Caracterización germinativa.....	34
4.2.1 Análisis de pureza.....	34
4.2.2 Numero de semillas por kilogramo.....	36
4.2.3 Pruebas de viabilidad con Tetrazolium.....	37
4.2.4 Pruebas de germinación.....	38
4.2.5 Porcentaje de aceite de <i>Jatropha curcas</i> L.	40
4.3 Modelo de regresión ajustado y análisis de varianza de la regresión.	43
4.3.1.1 Prueba de normalidad en los errores	45
4.3.1.2 Prueba de correlación serial.....	45
4.3.1.3 Prueba para varianza constante u Homocedasticidad.....	46
4.3.1.3 Validación del Modelo de regresión obtenido.....	46
5 CONCLUSIONES.....	48
6 REFERENCIAS	51
7 ANEXOS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	<i>Jatropha curcas</i> L. en áreas naturales de la procedencia Laureles, Chiapas (foto tomada por Ríos, 2011). -----	7
2.	Semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. Foto tomada por Ríos, 2012. -----	8
3.	Distribución mundial actual (verde) y posibles rutas de propagación (amarillo) de <i>Jatropha curcas</i> L. Fuente: mapa modificado de Henning (2003) -----	9
4.	Localización geográfica de los diferentes sitios de colecta (procedencias) de semilla de <i>Jatropha curcas</i> L. en el Estado de Chiapas. -----	19
5.	Colecta de Frutos de <i>Jatropha curcas</i> L. para la procedencia Laureles, Chiapas. Foto tomada por Ríos, 2011. -----	22
6.	Frutos de <i>J. curcas</i> después de la cosecha -----	23
7.	Frutos de <i>J. curcas</i> L. secos -----	23
8.	Semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. etiquetadas por procedencia. Foto tomada por Ríos, 2011 -----	24
9.	Aproximación de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> L. a un elipsoide. -----	25
10.	Extracción de aceites de <i>Jatropha curcas</i> L. por medio del equipo soxhlet -	28
11.	Gráfico de peso (g) de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia ---	32
12.	Grafica de relación del peso (g) y volumen (cm ³) de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia -----	34
13.	Grafica de pureza (%) por procedencia de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.--	35
14.	Semillas por kilogramo de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia. -----	36
15.	Porcentajes de viabilidad por procedencia en semilla de <i>Jatropha Curcas</i> L. -----	37
16.	Porcentajes de germinación entre procedencias aplicando diferentes tratamientos en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. -----	38
17.	Porcentaje de Semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. germinadas por tratamiento -	39
18.	Porcentaje de aceite (%) en Semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencias -----	41
19.	Comparación de porcentajes de aceite de semillas sin manejo de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia obtenidos, con plantaciones evaluadas por INIFAP, 2010. -----	42
20.	Inspección Gráfica para detectar varianza constante -----	46

ÍNDICE DE CUADROS

1.	Resumen de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. colectadas en cada uno de las procedencias estudiadas -----	20
2.	Características geográficas de cada uno de las procedencias donde se colectó semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. -----	21
3.	Calendario fenológico de <i>Jatropha curcas</i> L. con base en información de SEMARNAT, 2010 -----	21
4.	Análisis de varianza para peso de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia -----	31
5.	Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para peso (g) de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. de diferentes procedencias -----	31
6.	Análisis de varianza para volumen (cm ³) de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia -----	33
7.	Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para volumen (cm ³) de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. de diferentes procedencias -----	33
8.	Análisis de varianza para porcentaje de pureza (%) de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia -----	35
9.	Análisis de varianza para prueba de viabilidad con Tetrazolium (%) de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia -----	37
10.	Análisis de varianza para prueba pruebas de germinación por tratamiento en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencia del Estado de Chiapas -----	38
11.	Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para porcentajes de germinación por tratamientos en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. de diferentes procedencias -----	39
12.	Análisis de varianza para porcentaje de contenido de aceite en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. por procedencias del Estado de Chiapas -----	40
13.	Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para porcentaje de aceite en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. de diferentes procedencias -----	41
14.	Resumen del ajuste del modelo de regresión -----	44
15.	Análisis de varianza de la regresión -----	44

RESUMEN

En este estudio se caracterizaron semillas de piñón mexicano sin manejo (*Jatropha curcas* L.) colectadas en 7 procedencias del Estado de Chiapas; Se realizó morfometría (pesos y dimensiones), evaluación de calidad de semillas: porcentaje de pureza, porcentaje de viabilidad, No. de semillas por kg y pruebas de germinación bajo diferentes tratamientos: Acido giberelico 100 ppm, 200 pm, escarificación mecánica y testigo; por último, se cuantificó el porcentaje de aceite. Se realizaron análisis estadísticos para encontrar diferencias significativas ($\alpha= 0.05$) en la caracterización de la semilla, entre los porcentajes de germinación y porcentaje de aceite de las procedencias estudiadas. Así mismo, se ajustó un Modelo de regresión para predicción de porcentaje de contenido de aceite (%) para la procedencia con mayor porcentaje de aceite. La metodología empleada para la caracterización de la semilla se fundamentó en la International Seed Testing Asociation (ISTA) y para la cuantificación del porcentaje de aceite se siguió la metodología empleada por la Association Official of Analytical Chemists (AOAC) mediante la utilización del equipo Soxhlet para la extracción de aceite. Para los análisis estadísticos se utilizó software Infostat y el paquete estadístico R. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas (0.05) para la caracterización morfométrica de la semilla, en donde la procedencia de Tapachula presentó los mejores pesos con 1.17 g y 5.34 cm³ de volumen promedio, para la pruebas de viabilidad y pureza no se encontraron diferencias significativas (0.05), la procedencia de Trinitaria presentó mayor número de semillas por kilogramo con 13,597 semillas. La prueba de germinación indicó que el tratamiento ácido giberelico 100 ppm fue el que mayor efecto tuvo con 80% de germinación de las semillas, no habiendo diferencias entre procedencias. Las semillas de la procedencia de Trinitaria fue la que mayor porcentaje de aceite se obtuvo con 49% y el modelo de regresión ajustado presentó un $R^2= 0.99$, se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro- will encontrándose normalidad en los datos ($p=0.0614$). Se tuvo evidencia de que la varianza en los residuales es constante, no se tuvo problemas de normalidad ni de correlación serial en los errores, por lo tanto es factible utilizar el modelo para la predicción del contenido de aceite en base al ancho (cm) y largo (cm) de la semilla.

Palabras Clave: Caracterización, Procedencias, Semillas, *Jatropha curcas* L. Modelos de regresión.

ABSTRACT

In this study were characterized mexican pinion seed without management (*Jatropha curcas L.*) collected in 7 procedences of the State of Chiapas, was performed morphometry (weights and dimensions), germination tests (% purity, % viability, No. of seeds per kg, and germination testing under different treatments: 100 ppm gibberellic acid, 200 pm, mechanical scarification and witness); was quantified the percentage (%) of oil from the seeds of each of the Procedences studied. Thereafter, statistical analyzes were conducted to find significant differences ($\alpha=0.05$) in the characterization of the seed, between the percentages of germination and percentage of oil. Also, it is adjusted a regression model for the prediction of percentage of oil content (%) for the origin of where greater percentage of oil was obtained. The methodology used for the characterization of the seed was based on the International Seed Testing Asociation (ISTA) and for the quantification of the percentage of oil continued to be the methodology employed by the Analytical Chemistry of Foods (ACF) through the use of the equipment Soxhlet for oil extraction. For the analysis of variance and Tukey mean comparison (0.05) we used the statistical software and Infostat For the adjustment of the regression model, we used the statistical package R. The results obtained indicate that there are significant differences (0.05) in terms of the morphometric characterization of the seed, being the origin of Tapachula which presents better Pesos (g) and dimensions (cm^3), for the tests of viability and purity no significant differences were found (0.05), the origin of Motozintla presented a higher number of seeds per kilogram with 13.500 seeds/ kg. The germination test indicated that the treatment 100 ppm gibberellic acid was the highest germination percentage was obtained, not having differences among provenances. The origin of Trinity was the highest percentage of oil is obtained from the seeds and the regression model adjusted introduced a $R^2= 0.99$, applied the normality test Shapiro- will normally be found in the data ($p=0.0614$). There was evidence that the variance of the residuals is constant, we did not have problems of normality or serial correlation in the errors, it is therefore feasible to use the model for the prediction of oil content based on the bandwidth (cm) and long (cm) of the seed.

Keywords: Characterization, procedences, seeds, *Jatropha curcas L.* Regression Models.

I INTRODUCCIÓN

Actualmente vivimos en una época de grandes demandas energéticas ocasionadas por el incremento poblacional y económico mundial (IEA, 2011) que en su mayoría se satisfacen con recursos no renovables, cuyas reservas son cada vez más limitadas y con una producción y uso asociados a la emisión de gases de efecto invernadero que impactan sobre el cambio climático (COM, 2007).

Para disminuir la dependencia de los combustibles fósiles se requieren no sola una, sino diversas fuentes de energía renovables que puedan instalarse con base en las condiciones particulares de cada localidad. Los biocombustibles generados a partir de cultivos vegetales son una alternativa de energías renovables con ventajas sociales y ambientales, dependiendo de su contexto. Desde el punto de vista social, si los cultivos son locales se estimulan las fuentes de trabajo, mismas que impactan benéficamente en la economía de la comunidad (Mittelbach *et al*, 2010). Desde el punto de vista ambiental, si los cultivos son perennes, tienen un uso reforestador y demandan bajos insumos para su producción; su establecimiento permite secuestrar carbono ambiental, mejorar la fijación de suelos y evitar la desertificación (Heller, 1996).

Esta situación ha generado un creciente interés por el cultivo de especies oleaginosas para la producción de biocombustibles. Sin embargo, cultivar plantas oleaginosas para la producción de biocombustibles implica la utilización de amplias superficies de tierra que, además de competir con la demanda alimentaria, cada vez son menos y se encuentran más deterioradas. Adicionalmente, utilizar cultivos tradicionales como canola (*Brassica napus*), cártamo (*Carthamus tinctorius*), girasol (*Helianthus annuus*) y soja (*Glycine max*) para producir biocombustibles implica que los precios de alimentos que utilicen estos productos se incrementen. Por ello se da énfasis particular a cultivos que no necesariamente se emplean como alimento humano o animal, como es el caso de higuera (*Ricinus comunis*), palma de aceite (*Elaeais guineensis*) y piñón (*Jatropha curcas* L.) (Zamarripa y Díaz, 2008).

Por encontrarse en proceso de domesticación (Achten, 2010), *Jatropha curcas* L. y particularmente las formas no tóxicas, aun requieren de mayores estudios agronómicos que permitan conocer sus propiedades y respuestas ante diferentes condiciones ambientales. Especialmente en México, donde las plantaciones comerciales son muy recientes, y no se cuenta con experiencias de producción superiores a una década (Solís, 2010).

El cultivo de *Jatropha curcas* L, se ha convertido en una interesante alternativa de producción de biodiesel, no solo debido al gran rendimiento de aceite a partir de las semillas, sino también a las características propias de esta especie que la hacen aún más llamativa (Heller,1996). Esta planta, se adapta a un gran rango de tipos de suelo, puede crecer en tierras áridas, semiáridas, cascajosas, arenosas, salinas e incluso crecen en tierra pedregosa. Además, los niveles de nutrientes y agua de los suelos donde crece suelen ser bajos (Kumar y Sharma 2008).

El piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.), por ser una especie silvestre tiene un nivel bajo de domesticación por lo cual, la estructura genética de sus poblaciones es bastante heterogénea al ser establecida en cultivo o plantación (Adam, 1974), sumado a esto, las flores hermafroditas de *Jatropha curcas* L. presentan fecundación cruzada (alogamia) entre plantas, debido a la divergencia durante el desarrollo de las fases masculina y femenina del arbusto (Alfonso, 2007), por lo tanto el no realizar evaluaciones y caracterización de las mismas pueden ocasionar una disminución en la diversidad genética de la especie, de ahí la importancia de realizar estudios de procedencia para evaluar las condiciones de esta planta si se quiere establecer un cultivo o plantación comercial.

Por su ubicación geográfica, el Estado de Chiapas, cuenta con una alta diversidad de especies vegetales, *Jatropha curca* L. no es una excepción, sus poblaciones naturales son abundantes y se encuentra distribuida casi en todos los municipios del interior de Estado.

Dado que las semillas se consideran la parte más valiosa de la planta, su tamaño y calidad adquieren relevancia en el establecimiento comercial del cultivo. Es por ello que en este trabajo se colectaron semillas en 7 procedencias sin manejo en el interior del Estado de Chiapas: Sabinada, Laureles, Trinitaria, Motozintla, Villaflores, Villacorzo y Tapachula.

Las procedencias se eligieron de forma selectiva siguiendo un rango altitudinal, es decir, se procuró que se ubicaran sitios de baja altitud así como sitios de elevación alta, todo lo anterior se planteó con el objetivo de realizar la caracterización morfométrica (pesos y dimensiones), ensayos de germinación (análisis de pureza, pruebas de viabilidad, número de semillas por kilogramo, y pruebas de germinación bajo diferentes tratamientos: Acido giberelico 100 ppm, 200 pm, escarificación mecánica y un testigo); así como también cuantificar el porcentaje de aceite (%) de las semillas de cada una de las procedencias estudiadas. Posteriormente, se realizaron Análisis estadísticos para encontrar diferencias significativas ($\alpha= 0.05$) en la caracterización de la semilla, entre los porcentajes de germinación y porcentaje de aceite. Así mismo, se ajustó un Modelo de regresión para la procedencia de donde mayor porcentaje de aceite se obtuvo, el cual se utilizara para predecir el contenido de aceite únicamente con el ancho (cm) y el largo (cm) de semilla.

Todos los análisis mencionados anteriormente, se realizaron con la finalidad de obtener la procedencia (independientemente del rango altitudinal de ubicación) que tenga las mejores mejor calidad de semillas y mayores porcentaje de contenido de aceite para ser comparada con semillas de plantaciones o cultivos ya establecidos, o en su defecto, para ser utilizadas en el establecimiento de un cultivos comerciales, ya que son semillas silvestres sin manejo y esto ayudará a mejorar las plantaciones de esta especie, obtener las mejores semillas de con alto contenido de aceite, indirectamente se ayuda a incrementar la producción de biodiesel en el interior del Estado, así mismo con la utilización de modelos de regresión de puede saber el porcentaje de aceite que contiene la semillas únicamente con variables de simple medición, tales como el ancho (cm) y el largo (cm) de la semilla.

La procedencia obtenida podría emplearse en otro lugares, ya que por sus características de adaptabilidad y requerimientos agrícolas bajos, es muy recomendable para su propagación, además que con este estudio se pretende contribuir con información importante respecto a las caracterización de las semillas de *Jatropha curcas* L. de esas procedencias estudiadas y en base a ello mejorar la productividad de las semillas.

1.2 Planteamiento del problema

Acompañando al desarrollo de la sociedad se encuentran el incremento de la demanda de energía y el declive de las fuentes de combustibles fósiles; es por esto que las fuentes de energía alternativa se han convertido en el centro de atención. Una de éstas son los biocombustibles, cuyo campo ha crecido y se ha incrementado rápidamente en estos últimos años. Además, en México existen pocos estudios reportados para la caracterización de semillas de *Jatropha curcas* L. sin manejo (áreas naturales) en el Estado de Chiapas, puesto que la mayoría de los estudios se han centrado en plantaciones comerciales sin ver el potencial que las áreas naturales sin manejo pueden llegar a alcanzar. Así mismo, es de suma importancia mencionar que la obtención de aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L. es un procedimiento lento y caro, por lo tanto, la obtención de modelos para la cuantificación del porcentaje de aceite de las mejores procedencias que tengan el potencial para ser utilizado en cultivos comerciales es de relativa importancia. Es necesario mencionar que los modelos simplifican las tareas de obtención de variables respuesta, mediante la utilización de variables predictoras. Por lo tanto la factibilidad de emplear un modelo de regresión es muy importante porque simplifica esa tarea, utilizando variables de fácil medición, tal como es el ancho (cm) y largo (cm) de la semilla.

1.3 Objetivo

1.3.1 General

Determinar la procedencia sin manejo que abastezca mejor calidad de semilla de *Jatropha curcas* en base a características morfométricas, parámetros germinativos y porcentajes de contenido de aceite (%) para ser utilizada con fines de plantaciones comerciales y de producción de biodiesel.

1.3.2 Específicos

- a) Realizar pruebas de viabilidad mediante la aplicación de Tetrazolium (2,3,5 trifenil Cloruro de Tetrazolium), análisis de Pureza y determinación de número de semillas por Kilogramo (kg) para cada una de las procedencias evaluadas.

- b) Evaluar el porcentaje de germinación mediante la aplicación de los siguientes tratamientos: ácido giberélico 100 ppm, ácido giberélico a 200 ppm, escarificación mecánica y un testigo de las procedencias evaluadas.
- c) Evaluar el porcentaje de contenido de aceite de semillas de *Jatropha Curcas* L. por procedencia.
- d) Ajustar un modelo de predicción para la procedencia que presente mayores porcentajes de contenidos de aceite.

1.4 Hipótesis

1. La procedencia de la semilla tienen un impacto significativo sobre los pesos, dimensiones, germinación y contenido de aceite en las semillas de *Jatropha curcas* L.
2. El modelo de regresión que se ajuste, predecirá de forma confiable el contenido de aceite en base a largo (cm) y ancho (cm) de la semilla.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de *Jatropha curcas* L.

El nombre de *Jatropha curcas* L, deriva del griego *iatros* (doctor) y de *trophé* (alimento) que implica aplicaciones medicinales (Makkar y Beker, 2008), con base en lo anterior se toma de referencia las aplicaciones médicas que se da a *Jatropha curcas* L. cuyo látex, en pequeñas dosis es empleada para el control del fuego labial y el extracto del aceite de la semilla como purgante; además de otros usos como cerca viva y alimento humano (Martínez, 2006).

Por otro lado, Steinmann (2002) y Martínez *et al* (2002) mencionan que el género *Jatropha* se distribuye en los trópicos y subtropicos del mundo, con entre 175 y 188 especies y que en México se encuentran una gran parte de todas las especies reconocidas, es decir el 81%, siendo el quinto género de la familia con nivel más alto de endemismo.

2.2 Descripción de la especie

Jatropha curcas L. es una especie muy rústica. Resiste normalmente el calor aunque también soporta bajas temperaturas y puede resistir hasta una escarcha ligera. Sin embargo, su tolerancia a las heladas es baja. Su requerimiento de agua es sumamente bajo y puede soportar períodos largos de sequía (Torres, 2008).

Jatropha curcas L. es una planta monoica, caducifolia y de porte arbustivo; que puede alcanzar desde dos hasta más de cinco metros de altura, dependiendo de las condiciones de crecimiento (Brittaine y Lutaladio, 2010). Su tronco varía entre 14 y 18 cm de diámetro, corteza gris o rojiza con escamas verdosas. Los tallos crecen con discontinuidad morfológica en cada incremento (Figura 1). Las hojas son ovaladas, levemente 3-7 lobadas, de 10-25 cm de largo y 9-15 cm de ancho. La disposición de las ramas es alterna, con un largo de 15 a 20 cm y de 3 a 5 cm de diámetro. Las inflorescencias se forman terminalmente en la axila de las hojas en las ramas. Las flores femeninas son menos abundantes que las masculinas y ocasionalmente ocurren algunas flores hermafroditas (Sánchez, 2006). Los frutos son capsulas dehiscentes que poseen de dos a tres y hasta

cuatro semillas (Makkar y Becker 2008). Las semillas son ortodoxas y poseen una capsula externa muy dura cuando seca que encierra dos cotiledones formados por un albumen rico en aceite (Sánchez, 2006).



Figura 1. *Jatropha curcas* L. en áreas naturales de la procedencia Laureles, Chiapas (foto tomada por Ríos, 2012).

2.3 Descripción morfológica de la semilla de *Jatropha curcas* L.

Jatropha curcas L. se caracteriza por poseer frutos capsulares dehiscentes, elípticos, de color marrón oscuro; de 2.5 cm a 4.0 cm de largo, por 2.2 cm de ancho. Cada fruto puede contener de una a cuatro semillas. Las semillas son oblongo-elipsoides, subtrígonas en corte transversal, por 8 mm a 10 mm de grueso (Figura 2). La cubierta seminal es de color negro, con brillo apagado, cartácea, con estrías longitudinales prominentes. Hilo discernible, basal, abocado, elevado; rodeado por una carúncula blanca y lobada. Perispermo ausente. Endospermo presente, abundante, blanco, entero, carnoso, rodeando completamente al embrión. Embrión recto axial blanco en cual se encuentran dos cotiledones palmatinervados expandidos, planos y foliáceos, iguales, rectos, libres entre sí, ovados; con el ápice redondeado y la base auriculada; más grandes que el hipocólito (Niembro, 2000).



Figura 2. Semillas de *Jatropha curcas* L. Foto tomada por Ríos, 2012.

2.4 Clasificación Taxonómica

Según Cronquist (1981), la clasificación taxonómica de la planta *Jatropha curcas* L. es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Jatropha*

Especie: *curcas* L.

Nombre común: Piñón mexicano, Piñoncito, Capate, Tempate, Higos del duende, Barbasco, Piñon purgativo, etc.

2.5 Origen y distribución

Es originaria del sureste de México y Centroamérica. Investigaciones sobre sus orígenes apuntan a que la especie es originaria de México y América Central (Achten, 2010). Un fósil descubierto en Belem, Perú, coloca la existencia de *Jatropha* en una antigüedad de alrededor de 70 millones de años, siendo *curcas* la forma más primitiva del género (Makkar y Becker, 2008). En México las primeras investigaciones la reportan en las regiones costeras, y en Veracruz se ha reportado como silvestre en dunas costeras, mientras que en Centroamérica la reportan desde Belice hasta Panamá y el Caribe (Heller, 1996).

Actualmente *Jatropha curcas* L. se encuentra distribuida ampliamente en Latinoamérica, África, India y el sur de Asia, debido a que probablemente fue transportada por los portugueses vía las islas de Cabo Verde hacia otros países en África y Asia durante el siglo XVIII (Heller, 1996; Henning, 2003). El mapa de la Figura 3 se muestra la distribución de la especie y sus posibles rutas en el planeta.

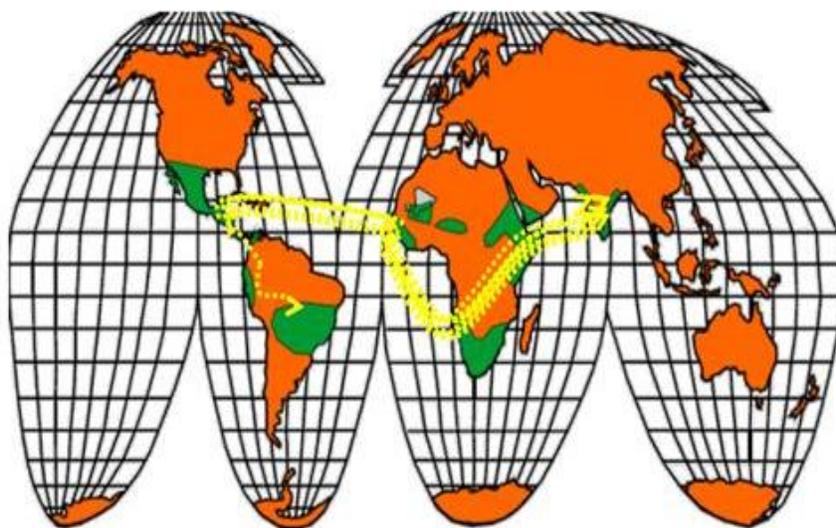


Figura 3. Distribución mundial actual (verde) y posibles rutas de propagación (amarillo) de *Jatropha curcas* L. Fuente: mapa modificado de Henning (2003).

2.6 Ecotipos tóxicos y no tóxicos de *Jatropha curcas* L.

Muchas de las Euphorbias son conocidas por su producción de fitotoxinas (Brittaine y Lutaladio, 2010). Por lo que no es extraño que la mayoría de las procedencias de *Jatropha curcas* distribuidas en las áreas tropicales del planeta se reporten como tóxicas para animales domésticos y humanos (Brittaine y Lutaladio, 2010). A pesar de que todas las semillas de estas plantas poseen factores antinutricionales, en su mayoría éstos se eliminan con el calor, por lo que solo se considera la presencia de los ésteres de forból (que no degradan a altas temperaturas) como la causa principal por la cual se denomina tóxica para los humanos a una semilla de piñón. Los ésteres de forból son sustancias encontradas naturalmente en la familia de Euphorbiaceae cuya estructura poli-cíclica presenta dos moléculas de hidroxilo esterificadas con los ácidos grasos del aceite (Valdés, 2011).

Según Makkar y Becker (2008), los ésteres de forból son termoestables ya que determinaron que pueden soportar temperaturas de hasta 160°C durante 30 minutos, lo cual afecta en el contenido proteico final de la semilla. Por otro lado, existen inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y taninos, los cuales pueden ser totalmente eliminados de la torta por medio de un tratamiento térmico (121°C x 30 min). Para la eliminación de los ésteres de forból, es necesaria una detoxificación química. Estudios realizados por Martínez *et al.* (2004), han determinado que el uso de tratamientos químicos con blanqueadores como el hidróxido de sodio o el hipoclorito de sodio combinados con tratamientos térmicos reducen el contenido de ésteres de forból hasta en un 95%.

Los ésteres de forból pueden causar vómitos, diarrea e irritaciones de la piel (Martínez *et al.* 2010). Tomando este factor como clasificador, se consideran dos procedencias de *Jatropha curcas* L: la Nicaragüense, o tóxica que posee semillas y aceite tóxicos, la cual probablemente fue transportada al resto del mundo (Heller, 1996); y la Mexicana, conocida también como no tóxica (Henning, 2003) y que se considera originaria de México (Makkar y Becker, 2008). De acuerdo con Sánchez (2006) las procedencias tóxicas, que son capaces de causar síntomas de envenenamiento, pueden contener cantidades de ésteres de forból de 2.17 mg/g o más. Mientras las procedencias no tóxicas, que no representan riesgos al ser consumidas después de tostarse o cocerse, poseen cantidades muy limitadas de esta sustancia de 0.11 mg/g o menos. Para Martínez *et al.* (2010) los contenidos de ésteres de forból de las semillas consideradas tóxicas varían entre 0.6 – 4.05 mg/g, y se encuentran ausentes o no son detectados en las semillas consideradas como no tóxicas.

2.7 Almacenamiento de semillas de *Jatropha curcas* L.

El almacenamiento de las semillas no deberá exceder de 10 a 15 meses, supervisando la calidad en las semillas durante este tiempo su contenido de aceite. La germinación en las semillas tiene una duración de 15 días, y comienza a partir del tercero al quinto día. El porcentaje de germinación oscila entre 60 y 90% dependiendo las características genotípicas y los factores ambientales. Las plántulas se desarrollan durante 3 meses y se trasplantan al campo cuando tienen una altura entre 40 y 50 centímetros. Para la

propagación vegetativa, asexual, las estacas que se requieran deben provenir madera semisólida (ramas) con longitud de 15 a 40 centímetros, y diámetro entre 1.0 y 3.0 centímetros, a plantarse en bolsas de plástico dentro de un vivero. El crecimiento de raíces comienza en 8 a 15 días con alrededor de 80% de viabilidad. Los esquejes pueden plantarse también directamente en el campo cuando las condiciones son favorables (López, 2008).

2.8 Caracterización de la semilla

2.8.1 Caracterización morfométrica

El tamaño de las semillas es muy variable y depende de varios factores. En primer lugar, tiene relación con el grupo taxonómico. Semillas de una misma especie tienen tamaños parecidos, pero no se puede decir siempre lo mismo a nivel de familia, encontrándose familias con un tamaño muy regular y otras con grandes variaciones (CATIE, 1996).

La determinación de parámetros morfométricos de la semilla, permite conocer las dimensiones o el volumen de la semilla. Estos parámetros se pueden obtener mediante variables de fácil medición, tales como el largo, ancho, espesor y el peso de la semilla (ISTA, 1993).

El tamaño de las semillas muestra una gran variación tanto dentro de una población como en respuesta a las condiciones ambientales. Puede variar en una misma planta, dentro de inflorescencias e incluso dentro de un mismo fruto (Muñoz, 1995).

Dado que las semillas se consideran la parte más valiosa de la planta, su tamaño y calidad adquieren relevancia en el establecimiento comercial del cultivo. Desde el punto de vista físico, las semillas grandes y pesadas, con una buena relación testa- almendra y donde la masa de la segunda sea significativamente mayor, poseen una mayor cantidad de nutrientes y suponen mejor calidad fisiológica y comercial. Localizar genotipos cuyas semillas satisfagan estas características es un aspecto relevante de la investigación sobre esta especie (Valdés, 2012).

2.8.2 Caracterización Germinativa

Los análisis que se realizan sobre las semillas de acuerdo con lo estipulado por la Asociación Internacional para el Ensayo de Semillas (ISTA, 1993), son los siguientes:

1. Análisis de pureza
2. Número de semillas por Kilogramo (kg)
3. Análisis de viabilidad
4. Pruebas de Germinación.

2.8.2.1 Análisis de pureza.

La pureza de la semilla o semilla pura se puede interpretar como aquella perteneciente a la especie botánica declarada o que predomina en la muestra. El análisis de pureza tiene por finalidad determinar la composición en peso de las partes que componen la muestra que es objeto de ensayo, para ello se debe tener en cuenta las siguientes definiciones:

- a) Semilla pura: se considera “semilla pura” a la semilla de la especie analizada cuya identidad ha sido confirmada previamente, además de las semillas maduras y sin daños, se incluyen las semillas de tamaño inferior al normal, arrugadas, inmaduras y germinadas, siempre que puedan identificarse claramente como pertenecientes a la especie de que se trate, y los trozos de semillas rotas cuyo tamaño es superior a la mitad del tamaño normal.
- b) Materia inerte: comprende tierra, piedras, restos vegetales y animales, trozos de corteza, trozos de semillas rotas o dañadas cuyo tamaño es inferior a la mitad del normal.
- c) Semillas extrañas: aquí se incluyen las semillas de cualquier especie diferente a la especie de la semilla pura (ISTA, 1993)

2.8.2.2 Número de semillas por kilogramo (kg)

Es importante conocer la cantidad de semilla por unidad de peso en una colección de semillas para depósito, puesto que con esta cantidad, pueden hacerse los cálculos del peso aproximado de semilla necesario para producir una deseada cantidad de plántulas que se utilizaran en una plantación. (ISTA, 1993).

El peso de la muestra de las semillas, expresados en número de semillas por kilogramo, se usa para estimar el número de kilos requerido. Normalmente los valores mencionados son calculados por hectárea y posteriormente se multiplican por el número de hectáreas a plantar (Jara, 2001).

El número de semillas puras por unidad de peso no es por sí solo un buen indicador del potencial de producción de plantas, por lo que debe complementarse con ensayos de germinación y de viabilidad (FAO, 1998).

2.8.2.3 Viabilidad de las semillas mediante la aplicación de Tetrazolium

Se considera que una semilla ha germinado cuando han surgido de su embrión y desarrollan a partir de él: radícula e hipocótilo, indicando así la capacidad de la semilla para producir una plántula completa (ISTA 1993).

Para mayor seguridad del nacimiento de las plántulas es decir, saber exactamente de cuántas disponemos para la siembra, es aconsejable realizar una prueba al lote de semillas que tenemos disponibles para el cultivo y con el resultado de esta práctica estaremos en condiciones de realizar una cuantificación de cosecha. Se recomienda en el caso de realizar una germinación a mediana o mayor escala, (cuando no se adquiere semilla certificada), realizar la prueba de viabilidad (Samperio, 2005).

De acuerdo con la ISTA (1993), En el proceso de ensayo de viabilidad mediante la aplicación de Tetrazolium, no se incluyen las semillas anormales (semillas dañadas, podridas, deformes, etc), ya que estas raras veces sobreviven para producir plantas.

El procedimiento general para El análisis debe ser realizado de acuerdo a lo indicado en el Capítulo 6 de las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas de la ISTA (International Rules for Seed Testing, ISTA versión vigente) y el Manual de Ensayos al Tetrazolio (ISTA Handbook on Tetrazolium Testing) y debe considerar los siguientes aspectos:

- a) Preparar la muestra de trabajo a partir de la fracción de la semilla pura, tomando al azar 4 réplicas de 100 semillas.

- b) Acondicionar las semillas antes de la tinción, dándoles distintas condiciones según la especie, de acuerdo con la Tabla 6A de las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas de ISTA.
- c) Exponer los tejidos antes de la tinción, según Tabla 6A de las Reglas ISTA.
- d) Teñir por períodos de tiempo diferente según la especie e indicados en la Tabla 6A de las Reglas ISTA.
- e) Evaluar las semillas como viables o no viables, según los criterios de la ISTA.

2.8.2.4 Pruebas de germinación en semillas.

De acuerdo con Besnier (1990), la germinación se define como una secuencia de eventos que dan como resultado la transformación de un embrión en estado quiescente en una plántula.

En el proceso de la germinación puede dividirse arbitrariamente en varios eventos:

- (1) Embibición- el proceso físico de absorción de agua
- (2) -Activación - la puesta en marcha de la maquinaria de síntesis y degradación
- (3) División y elongación celular
- (4) Ruptura de la cubierta seminal por el embrión
- (5) Establecimiento de la plántula como ente autónomo.

Una vez germinada, la primera parte de la plántula que emerge es la radícula (raíz, en la planta adulta). Entre sus funciones está la de sujeción de la planta, absorción de nutrientes y agua, etc. Según su grosor se dividen en raíces primarias (las más gruesas), secundarias (las que se salen de la primaria). En las puntas de las raíces están los pelos radiculares, que es la zona activa de absorción y crecimiento (Pinedo, 1990).

El objetivo principal de una prueba de germinación es establecer el número máximo de semillas que puedan germinar bajo las condiciones óptimas de luz, humedad y temperatura.

El uso de condiciones ideales estandarizadas en el laboratorio (SNICS, 2010)

De acuerdo con la ISTA (1993), las diferencias entre los resultados se pueden adscribir a diferencias reales entre muestras de semillas y no a diferentes métodos de análisis,

La capacidad de germinación determinada así no es igual a la germinación en el vivero o el campo pero en la mayoría de los casos las dos cifras están estrechamente relacionadas. En esta forma el viverista gradualmente estará en capacidad de pronosticar el desempeño del vivero basado en la germinación de laboratorio (Pérez *et al*, 2006).

2.9 Características del aceite de semillas de *Jatropha curcas* L.

El aceite de la semilla del piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) es el principal producto comercial obtenido de esta planta, mismo que mediante el proceso de Transesterificación se puede transformar a Biodiesel.

El porcentaje de aceite obtenido por semillas oscila alrededor de 35-55% respecto a su peso (g). El aceite de esta planta es por naturaleza no apto para el consumo humano o animal por los componentes tóxicos que contiene (Cano, 1992).

El aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L. es muy viscoso, altamente adecuado para cocinar y como combustible para la producción de biodiesel (Mittelbach *et al*, 2010), con una eficiencia marginal de solo 1.7% menor que el diesel mineral (Makkar y Becker, 2008). Investigadores como Makkar y Becker (2008), Martínez *et al* (2010), han publicado trabajos comparativos sobre la composición de los aceites de las variedades tóxicas y las no tóxicas de México. De acuerdo con Becker y Makkar (2008) las diferencias entre genotipos son mínimas en relación a sus contenidos de ácidos grasos (Cuadro 3.1).

2.9.1 Extracción de aceite en semillas de *Jatropha curcas* L. con solvente (hexano).

El principio en que se basa este método de extracción es muy sencillo: la materia prima seca, es molida en partículas más pequeñas, posteriormente, se pone en contacto con un disolvente adecuado (hexano) Ese disolvente disuelve el aceite separándola de la llamada “miscella”, de la que posteriormente, una vez separado del residuo extraído, se obtiene el aceite puro por evaporación del disolvente (Bermejo *et al*, 2010).

Este proceso de extracción es el más recomendable, ya que a través de solventes se extraen al máximo. La desventaja de este método, es que a pesar de que es la más eficiente, el solvente Hexano es costoso (Bermejo *et al*, 2010).

2.10 Modelos de regresión

Graybill e Iyer (1994) mencionan que el análisis de regresión es un método que permite investigar la asociación entre variables siempre que datos apropiados están disponibles.

De acuerdo con Ojeda (2006), los modelos de regresión son muy populares por varias razones:

- (1) Por sus diversos usos (descripción, estimación, predicción, pronóstico y calibración);
- (2) Porque son modelos muy sencillos para interpretar;
- (3) Porque aproximan bien a relaciones funcionales complejas
- (4) Porque existe una buena teoría y facilidades computacionales para su uso en el proceso de modelación

2.10.1 Problemas en el Ajuste de un Modelo de Regresión Lineal Múltiple

Vilar Fernández (2006) establece que los principales problemas que se pueden presentar en la construcción de un modelo de regresión múltiple son los siguientes:

Multicolinealidad: las variables regresoras son muy dependientes entre sí, y es difícil separar su contribución individual al modelo. Consecuencia de esto es que los parámetros del modelo son muy inestables, con varianzas muy grandes.

Error de especificación: el modelo de regresión no proporciona un buen ajuste a la nube de observaciones. Esto puede ser por diferentes motivos, entre otros: la relación no es lineal; existencia de variables explicativas relevantes que no han sido incluidas en el modelo. Por esto, cuando se dispone de un conjunto amplio de posibles variables explicativas, es importante disponer de algoritmos que seleccionen el subconjunto más adecuado de variables explicativas que se deben incorporar al modelo de regresión, así como de medidas que estimen la bondad del ajuste

Falta de Normalidad: los residuos no son normales.

Heterocedasticidad: la varianza no es constante.

Existencia de valores atípicos: existen datos atípicos que se separan de la nube de datos muestrales que pueden influir en la estimación del modelo de regresión o que no se ajustan al modelo.

Dependencia (autocorrelación): existe dependencia entre los errores.

2.11 Modelación en semillas

La modelación en semillas ha sido realmente un tema nuevo; La mayor parte de los estudios en modelación de semillas se han empleado para elaborar modelos predictivos del peso (cm) a partir de las dimensiones como el ancho (cm), largo (cm) y espesor (cm) de la semilla mediante el uso de modelos de regresión lineal múltiple (Sánchez *et al*, 2010).

Así mismo también se han determinado modelos de regresión para correlacionar el vigor de la semilla almacenada en base a la humedad y temperatura de la semilla (Claudinelli y Andrade, 2006).

Para la cuantificación de aceite en semillas son nulos los estudios de modelación que se hayan realizado, así como también modelación para la predicción de biodiesel.

2.12 Trabajos a fines.

Estudios realizados por Makkar y Becker (2008), demostraron que la semilla *Jatropha curcas* L. posee un alto contenido de aceite, y los niveles de aminoácidos esenciales excepto por la lisina, son superiores a la proteína de referencia de la FAO; El aceite puede ser empleado como sustituto del diesel al transformarse en biodiesel. Actualmente se ha convertido en el tema principal de diversos proyectos de investigación tanto para Pemex y empresas privadas (SENER, 2010).

Según Kumar y Sharma (2008), el jabón obtenido a partir de la glicerina del aceite de piñón es un jabón suave y duradero el cual se ha podido adaptar con gran facilidad tanto en casas como a nivel industrial, según sea su aplicación requerida.

Makkar y Becker (2008) realizaron análisis en semillas tóxicas y no tóxicas (ambas mexicanas), sin encontrar diferencias significativas en los porcentajes de contenidos de aceites de la procedencia de la semilla.

En lo que se refiere a la modelación estadística, Ríos (2009) ajustó un modelo para la predicción del límite superior de laborabilidad (LSL) en términos textura y contenido de materia orgánica del suelo, para ello colectó 19 muestras de suelos en todo el país. El modelo ajustado tuvo un $R^2 = 0.99$, no se encontraron problemas de correlación serial y se realizaron pruebas de normalidad en los datos. El modelo obtenido fue el siguiente:

$$LSL = 1.5446*MO + 0.4243*Ar + 0.2387*Li \quad R^2 = 0.996$$

En el trabajo realizado por Sánchez *et al* (2002) modelaron estadísticamente ecuaciones para predecir el peso de la semilla de especies herbáceas en la península ibérica en base a las siguientes dimensiones: ancho (cm), Largo (cm) y espesor (cm) de la semilla. Los resultados indicaron que el ancho (cm) y el largo (cm) fueron los mejores predictores del peso, no así el espesor (cm) de la semilla. El modelo ajustado tuvo un $R^2 = 0.91$ y el modelo obtenido fue el siguiente:

$$\text{Peso (g)} = - 16.01 + 0.56D1 + 1.60D2$$

Donde:

D1 = Ancho de la semilla (cm)

D2= Largo de la semilla (cm)

Por su parte Perez *et al* (2006), Ajustaron modelos de regresión para predecir el vigor de la semilla almacenada en base a la temperatura y humedad de la semilla. El modelo ajustado tuvo un $R^2 = 0.98$, el cual fue el siguiente:

$$\text{Vigor total} = CH - \text{tg} (8.0147.10 \times 10^{-4})$$

Donde:

CH= contenido de humedad de la semilla

Tg = temperatura promedio de almacenamiento.

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

La colecta de frutos y semillas se realizó en 7 sitios (procedencias) distribuidas dentro del Estado de Chiapas (Figura 4), la elección de los sitios fue mediante muestreo selectivo cuidando la representatividad de cada uno de los sitios de muestreo. En cada sitio se establecieron 4 subsitios o accesiones distribuidas al azar, de cada accesión se recolectó semillas que al final se unió para obtener el suficiente número de semillas estipulados por la ISTA (1993) para realizar la caracterización morfométrica y germinativa, y lo estipulado por la AOAC (2006), para la caracterización de aceite de la semilla. Todo lo anterior se realizó para lograr una confiabilidad alta en el estudio y obtener resultados precisos. Los sitios o procedencias donde se recolecto semilla se presentan en el cuadro 1.

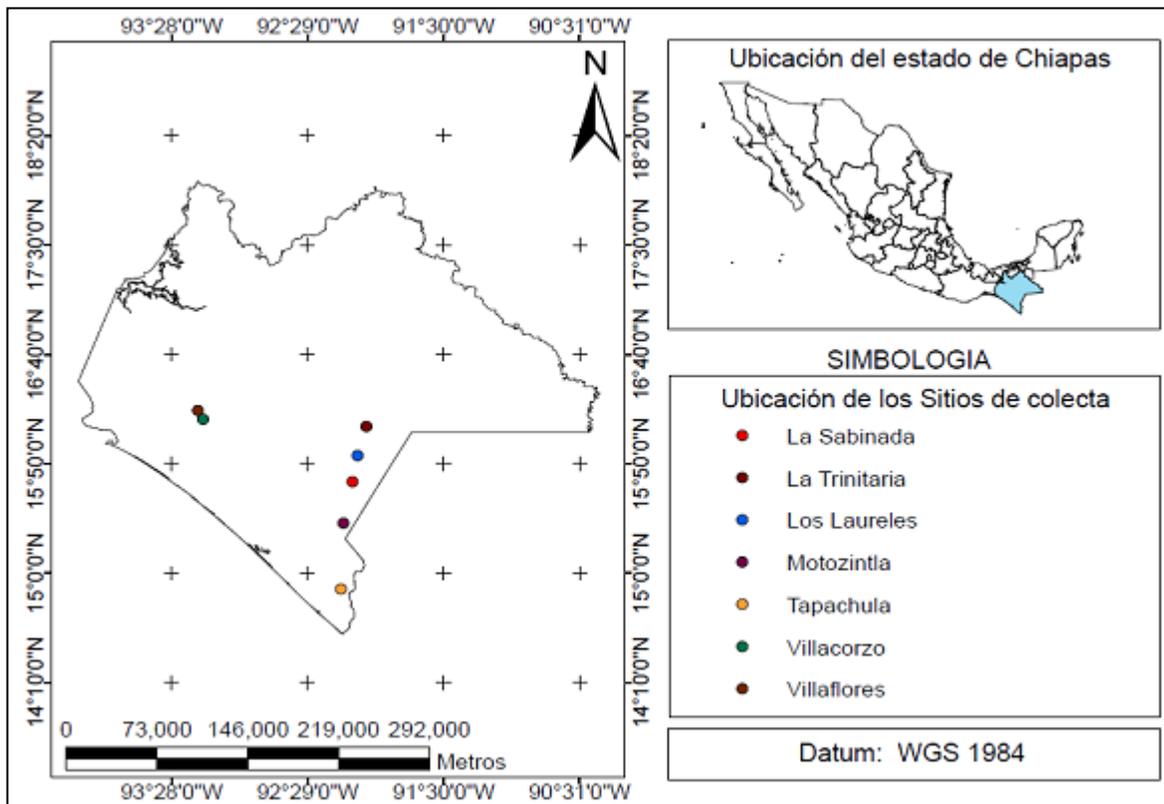


Figura 4. Localización geográfica de los diferentes sitios de colecta (procedencias) de semilla de *Jatropha curcas* L en el Estado de Chiapas.

Cuadro 1. Resumen de semillas de *Jatropha curcas* L. colectadas en cada uno de las procedencias estudiadas.

Sitios de colecta	Número de subsitios (accesiones)	Total de semillas colectadas
Trinitaria	4	1000
Sabinada	4	1000
Laureles	4	1000
Motozintla	4	1000
Tapachula	4	1000
Villaflores	4	1000
Villacorzo	4	1000
Total	28	7000

3.2 Selección de las regiones y de la época para la recolección de frutos.

De la revisión de las fichas técnicas e información bibliográfica se obtuvo información referente a los lugares de distribución donde *Jatropha curcas* L. ha sido recolectada y reportada en Chiapas. Se seleccionaron así 7 lugares distribuidos en el interior del Estado de Chiapas donde se recolectarían los frutos con previa autorización, para la obtención de las semillas para su posterior análisis, si fuese necesario se recolectarían ejemplares botánicos de respaldo, para su posterior identificación en el herbario de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

La selección de los sitios de colecta mencionados en Cuadro 1, se efectuó de acuerdo a un rango altitudinal diferencial procurando incluir altitudes extremas, es decir, desde extremos bajos como 55 msnm hasta 1543 msnm, así mismo altitudes intermedias, esto se realizó con la finalidad de detectar diferencias en los ensayos de porcentaje de germinación, contenido de aceite y características morfométricas de las procedencias donde se recolectó la semilla de *Jatropha curcas* L.

En el cuadro 2, se encuentra la relación de los lugares seleccionados, así como los datos correspondientes a su altitud, precipitación media anual, temperatura media anual y coordenadas geográficas. La caracterización climática de las localidades se infirió a partir de las estaciones climatológicas más cercanas (SMN, 2010).

Cuadro 2. Características geográficas de cada uno de las procedencias donde se colectó semillas de *Jatropha curcas* L.

Sitio de colecta	Altitud (msnm)	PMA* (mm)	TMA* (°C)	Latitud (N)	Longitud (W)
La Sabinada	637	1554	24	15°41' 46.65"	92°9'28.18"
Los Laureles	565	1600	25	15°53'41.80"	92°7'12.24"
La Trinitaria	1543	906	18.8	16° 7'1.85"	92°3'25.41"
Motozintla	1195	845	22.5	15°22' 51.12"	92°13'20.78"
Villaflores	558	1108	24	16°14'16.78"	93°16'29.97"
Villacorzo	710	1218	24.1	16°10'20.08"	93°14' 16.89"
Tapachula	055	2100	27	14 °52'44.07"	92°14' 27.55"

PMA= Precipitación media anual; TMA= Temperatura media anual; * Datos proporcionados por el servicio meteorológico nacional (SMN, 2010).

De acuerdo con la SEMARNAT 2010, la etapa fenológica de *Jatropha curcas* L. es muy amplia, la cual abarca todo el año, en base a dicha información se elaboró un calendario fenológico, el calendario fenológico tiene una función muy importante, la cual es mostrar los principales meses del año en que ocurre la época de foliación, floración y fructificación de la especie (Cuadro 3).

Cuadro 3. Calendario fenológico de *Jatropha curcas* L. con base en información de SEMARNAT, 2010.

Presencia	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Hojas												
Flores												
Frutos												

Con base en dicho calendario, se programó la recolección de los frutos en cada una de los sitios seleccionados, tanto para la primera y la segunda colecta. Sukarin 1987, menciona que la madurez de los frutos de *Jatropha curcas* L. empieza alternadamente desde Agosto y se Extiende hasta Diciembre, considerando que en este mes quedan los últimos frutos secos de la temporada de la fructificación.

3.3 Fase de Campo

3.3.1 Recolecta de frutos

La recolecta de los frutos se realizó con base en los siguientes criterios (FAO, 1998):

1. Seleccionar de individuos por accesión o subsitios, fenotípicamente bien desarrollados, no muy jóvenes ni viejos, sanos y con presencia de frutos maduros (amarillentos).
2. Recolectar de forma manual ya que por el porte del arbusto se tiene acceso directo a ellos estando de pie en el suelo (Morandini, 1962), no debe hacerse con otro medio de recolección mecánica para no dañar la planta (Figura 5).
3. Registrar las coordenadas geográficas y altitud de cada sitio o procedencia empleando un Sistema de Geoposicionamiento Global (GPS).
4. Transportar los frutos recolectados en bolsas de polietileno para su posterior beneficio (extracción de semillas).
5. Usar la técnica de muestreo más adecuada, la cual dependerá de la confiabilidad y la precisión del estudio.



Figura 5. Colecta de Frutos de *Jatropha curcas* L. para la procedencia Laureles, Chiapas.

Foto tomada por Ríos, 2012.

3.3.2 Secado de frutos

Una vez recolectados los frutos de cada una de las 7 procedencias, se procedió a realizar el secado, para ello se utilizó un triplay de 4x2 m cubierta de una manta (figura 6 y 7), donde se colocaron los frutos a secar, el secado fue a luz plena por un lapso de una semana (ISTA, 1993).



Figura 6. Frutos de *J. curcas* después de la cosecha Figura 7. Frutos de *J. curcas* L. secos

3.3.3 Obtención de semillas.

Una vez que los frutos se secaron completamente, inició el proceso de extracción de las semillas, el cual se realizó de forma manual. Una vez extraídas, se colocaron sobre papel periódico y se expusieron al sol durante 2 horas; después de este tiempo se pasaron a un sitio sombreado y aireado durante 5 horas. Este proceso se repitió durante cinco días hasta que finalmente las semillas quedaron secas y contenidas en bolsas (Figura 8).

Dichas semillas se almacenaron temporalmente a temperatura ambiente (entre 18 y 20 °C) en una cámara de refrigeración en laboratorio. Antes de almacenar las bolsas, se etiquetaron conteniendo la información referente a su fecha de recolecta, localidad, coordenadas geográficas y clave correspondiente, para su posterior análisis.



Figura 8. Semillas de *Jatropha curcas* L. etiquetadas por procedencia. Foto tomada por Ríos, 2012.

3.4 Fase de laboratorio

3.4.1 Caracterización morfométrica (peso y dimensiones).

Para el análisis morfométrico (alométrico) se eligieron al azar 100 semillas del lote de 1000 semillas colectadas por cada procedencia estudiada, en total se analizaron 700 semillas para este parámetro. Con la ayuda de un vernier calibrado, Se midió el largo (cm), ancho y espesor de las semillas. El volumen individual de las semillas se calculó como el volumen de un elipsoide donde el largo (cm) fue L1, el ancho (cm) L2 y el espesor (cm) L3, que corresponden a los diámetros del elipsoide (Figura 9) y se estimó mediante la ecuación:

$$V = \left(\frac{4}{3}\right) * (\pi) * \left(\frac{L1 * L2 * L3}{2}\right)$$

Donde:

V= Volumen (cm³) de la semilla

π = valor “pi” 3.1416

L1= largo de la semilla (cm)

L2 = Ancho de la semilla (cm)

L3 = Espesor de la semilla (cm)

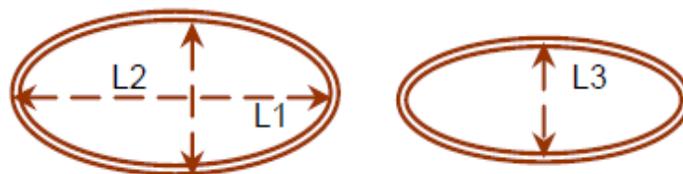


Figura 9. Aproximación de la semilla de *Jatropha curcas* L. a un elipsoide.

3.4.2 Caracterización germinativa semillas de *Jatropha curcas* L.

Los análisis que se realizaron sobre las semillas, previos a los ensayos de germinación y de acuerdo con lo estipulado por la Asociación Internacional para el Ensayo de Semillas (ISTA, 2008), fueron los siguientes:

1. Análisis de pureza
2. Peso y número de semillas por Kg
3. Análisis de viabilidad
4. Prueba de germinación

3.4.2.1 Análisis de pureza.

Para el efecto se pesaron dos submuestras de trabajo (500 g cada una); estas se colocaron sobre una superficie plana (cartulina) y manualmente, con una pinza se separaron los distintos componentes en las siguientes fracciones: semillas puras, materia inerte y semillas extrañas (figura 5), para realizar el análisis de pureza se empleó el siguiente equipo: Pinzas y espátula para manipular, separar y mover el material inerte encima de una superficie, balanza analítica, con rango de: 0.001 - 1200 g y precisión: ± 0.001 g.

Una vez separadas cada una de las fracciones fueron pesadas. Obtenido el peso de cada fracción, se calculó el porcentaje que representa sobre el total obtenido de la suma de los pesos de todas las fracciones. El porcentaje de semilla pura se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de pureza} = \frac{\text{Peso de la semilla pura}}{\text{Peso total de la muestra original}} \times 100$$

3.4.2.2 Peso y número de semillas por kilogramo.

Después de haber realizado el análisis de pureza, cada una de las muestras completas por procedencia fue dividida en submuestras para obtener su peso y número de semillas por kilogramo. El recuento de las semillas para encontrar su peso se hizo manualmente.

El peso de la semilla se midió en el componente de semilla pura que fue separado mediante el ensayo de pureza. Se expresa normalmente como el peso de 1 000 semillas puras.

Adicionalmente y de acuerdo con la ISTA (1993) se pesaron ocho réplicas de 100 semillas cada una, con las que se calculó la desviación típica y el coeficiente de variación, así como la media. Esto con la finalidad de que si el coeficiente de variación (CV %) es inferior a cuatro, entonces se aceptará la media.

El peso de 1 000 semillas puras se convirtió en semillas por gramo y por kilogramo de la manera siguiente:

$$\text{Numero de semillas por gramo} = \frac{1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}} \times 100$$

$$\text{Numero de semilla por kilogramo} = \frac{1000 \times 1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}} \times 100$$

3.4.2.3 Análisis de viabilidad con Tetrazolium

La cuantificación de las semillas teñidas y no teñidas, posteriormente se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ viabilidad} = \left(\frac{NSTR}{NST} \right) (100)$$

Donde:

NSTR = Numero de semillas teñidas de rojo

NST = Numero de semillas totales

3.4.2.4 Pruebas de germinación.

Las pruebas de germinación se efectuaron en semillas puras separadas en el ensayo de pureza y analizadas por medio de Tetrazolium de cada una de las procedencias estudiadas. Para esta prueba se ensayaron 3 tratamientos: ácido giberelico 100 ppm, ácido giberelico 200 ppm, escarificación mecánica y un testigo.

En cajas Petri se colocó en el fondo una doble capa de papel filtro (Baskin, 2001) y agua destilada (este es el medio estándar de germinación), posteriormente se colocaron 20 semillas de cada procedencia por caja, en total se efectuaron 4 repeticiones, utilizando un total de 560 semillas para esta prueba. Se cuidó que el agua no cubriera la totalidad de la semilla, las cajas se colocaron en la cámara de germinación a una temperatura ambiente de 30° n y posteriormente se evaluó periódicamente el número de semillas germinadas.

El porcentaje de germinación por tratamiento, se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de germinación} = PG + PNGV$$

Dónde:

PG = Porcentaje de semillas germinadas

PNGV = Porcentaje semillas no germinadas pero aparentemente viables

3.4.3 Determinación del contenido de aceite en semillas de *Jatropha curcas* L.

En la segunda fase de colecta, Otro lote de 100 semillas colectadas por procedencia se emplearon para determinar el contenido de aceite de *Jatropha curcas* L. antes de someterlas al proceso de extracción de aceite, se calculó el peso (g), largo (cm), ancho (cm), espesor (cm) y volumen (cm³) para todas las semillas de todas las procedencias.

Para la evaluación del contenido de aceite se utilizó el equipo Soxhlet de extracción de grasa, Las extracciones fueron evaluadas en el laboratorio de química del preparatoria Técnica Álvaro Obregón (PTAO) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (figura 10).

Para el desarrollo de la extracción de aceite en cada una de las semillas, se sugio la metodología estipulado por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC), en el

cual se implementó el uso del solvente (hexano), a una sola concentración (AOAC, 2006). Tomando en cuenta los costos de extracción con el solvente, se tuvo que reutilizar el solvente para completar la extracción para cada una de las procedencias. Los Datos obtenidos posteriormente se utilizaron para determinar la procedencia que tenga lo mejores porcentajes de aceite.



Figura 10. Extracción de aceites de *Jatropha curcas* L. por medio del equipo Soxhlet

3.4.4 Análisis Estadístico entre procedencias

Se efectuaron análisis de varianza, para comprobar diferencias significativas ($\alpha=0.05$) para la caracterización morfométrica, caracterización germinativa y porcentajes de contenido de aceite (%) entre las procedencias evaluadas. En caso de haber diferencias significativas ($\alpha=0.05$) se procedió a realizar una prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$). Para realizar lo anterior se utilizó el paquete estadístico R y el software estadístico Infostat versión estudiantil 2011e.

3.4.5 Estimación del modelo de regresión lineal múltiple para cuantificar el porcentaje de contenido de aceite (%) en las semillas.

Una vez realizado los análisis de varianzas correspondientes para todas las variables evaluadas en el estudio, se determinó la procedencia con mayores porcentajes de aceite (%) en sus semillas. Posteriormente se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple en base al largo (cm) y ancho (cm) de las semillas como variables predictoras del porcentaje de contenido de aceite (%) de esa procedencia.

Para la construcción del modelo estadístico de regresión múltiple, se usó el paquete estadístico R, en donde, El porcentaje de contenido de aceite (%) de las semillas fue la variable de respuesta y el largo (cm) y ancho (cm) fueron las variables independientes.

3.4.6 Verificación de los supuestos del modelo

3.4.6.1 Parte estructural

El ajuste de la parte estructural del modelo es medido mediante el coeficiente de determinación, el cual se denota como R^2 y se define mediante:

$$R^2 = 1 - SCE/SCT$$

Donde:

$$SCE = \text{Suma de cuadrados del error} = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

$$SCT = \text{Suma de cuadrados totales} = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$$

Entre más se acerque el valor de $R^2 = 1$, indica que la parte estructural del modelo es adecuada, mientras que un valor cercano a cero indica lo contrario.

3.4.6.2 Parte aleatoria

Para verificar los supuestos acerca de los errores, se usaron pruebas estadísticas e inspección gráfica. Los supuestos a verificar son los siguientes:

1. Normalidad en los errores: Este supuesto indica que los errores se distribuyen según una distribución normal de media cero y varianza constante (σ^2).

Se usó la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965) para verificar la normalidad en los residuales, esta prueba estadística está diseñada para contrastar las siguientes hipótesis:

H_0 = Los errores se distribuyen normalmente

H_1 = Los errores se distribuyen no normales

2. Independencia: Los errores deben ser independientes, es decir, sin autocorrelación o correlación serial.

Para la verificación de independencia de los datos, Se aplicó la prueba de Durbin-Watson (Durbin and Watson, 1951) para detectar no correlación en los errores. Esta prueba contrasta las siguientes hipótesis:

H_0 = Los errores están correlacionados

H_1 = Los errores no están correlacionados

3. Homocedasticidad: La varianza en el error [$\text{Var}(\epsilon)$], debe ser constante, es decir, $\text{Var}(\epsilon_1)=\text{Var}(\epsilon_2)=\text{Var}(\epsilon_3)=\dots=\text{Var}(\epsilon_n)$.

Para verificar varianza constante se empleó el método de inspección gráfica. La inspección gráfica consiste en verificar visualmente los valores ajustados contra los residuales en el modelo. Si la varianza es constante, los puntos en la dirección vertical de la gráfica deben ser más o menos simétricos respecto a la línea horizontal ($h=0$), (Faraway, 2005).

3.4.6.3 Validación del modelo

Para validar el modelo se utilizó el método de validación cruzada. Ésta técnica es una herramienta estadística estándar para estimar el error de predicción.

El error de predicción (EP) se refiere al valor esperado (E) de la diferencia entre una respuesta futura (y) y su predicción (\hat{y}), elevados al cuadrado.

Es decir:

$$EP = E(y - \hat{y})^2$$

El procedimiento para aplicar esta técnica, de acuerdo con Efron y Tibshirani (1993), es el siguiente:

1. Dividir los datos en K subconjuntos aproximadamente iguales en tamaño.
2. Dejar fuera, para entrenamiento, un subconjunto y ajustar el modelo para las otras K-1 partes de los datos. Posteriormente, se calcula el error de predicción del modelo ajustado al predecir los datos que conforman el grupo de entrenamiento.
3. Repetir los pasos anteriores para $k=1,2,\dots,K$ y combinar los K errores de predicción estimados.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización morfológica

4.1.1 Peso de la semilla de *Jatropha curcas* L.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar, para constatar diferencias significativas ($\alpha=0.05$) de acuerdo con el análisis de varianza realizado, existen diferencias altamente significativas ($P= 0.0001$) en cuanto al peso de la semilla de *jatropha curcas* L. por procedencia estudiada (cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza para peso de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia

FV	SC	gl	CME	F	p-valor
Modelo.	17.48	6	2.91	142.85	<0.0001
Procedencia	17.48	6	2.91	142.85	<0.0001
Error	12.7	623	0.02		
Total	30.18	629			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de “f” calculada.

La prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$) realizada para el peso (g) de semillas de *Jatropha curcas* L. indicó que la procedencia de Tapachula, Chiapas, la cual se encuentra ubicada a 50 msnm, presentó las semillas más pesadas que el resto de procedencias evaluadas (cuadro 5)

Cuadro 5. Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para peso (g) de semillas de *Jatropha curcas* L. de diferentes procedencias.

Procedencia	Medias	n	E.E.	CV	Agrupación Tukey (0.05)		
Motozintla	0.65	100	0.02	3.08	A*		
Trinitaria	0.66	100	0.02	3.03	A	B*	
Villaflores	0.69	100	0.02	2.90	A	B	C*
Sabinada	0.72	100	0.02	2.78		B	C
Laureles	0.73	100	0.02	2.74		C	D*
Villacorzo	0.78	100	0.02	2.56			D
Tapachula	1.17	100	0.02	1.71			E*

* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); n= número de semillas analizadas; EE= Error estándar; CV= Coeficiente de variación.

Jatropha curcas L. es un cultivo en fase de desarrollo y de reciente establecimiento comercial, por lo que se carece de datos científicos relacionados con pesos y tamaños de semillas y sus porcentajes de germinación y vigor de las plántulas. Aunque existen experiencias empíricas de productores que recomiendan el uso de las semillas más pesadas de una colecta, como las mejores para la siembra (Alfonso, 2007).

De acuerdo con Seiwa (2000), indica que dentro de las cualidades físicas, el tamaño y peso de las semillas es determinante en su germinación, persistencia en el suelo y posteriormente el establecimiento y la salud de la planta.

En la figura 11 se puede ver una tendencia de agrupamiento por altitudes es cuanto a peso de la semilla, las primeras dos procedencias (Laureles y Sabinada) presentan rangos de altitud similares (570 y 650 msnm), a su vez las procedencias de Trinitaria y Motozintla son los sitios de mayor altitud en este estudio y que también presentaron pesos muy similares, las últimas dos procedencias (Villaflora y Villacorzo) también presentan rangos de altitud similares (600 y 700) con las primeras dos procedencias (Laureles y Sabinada), no obstante Villacorzo fue la segunda mejor procedencia que presentó los mejores pesos (g) en el estudio.

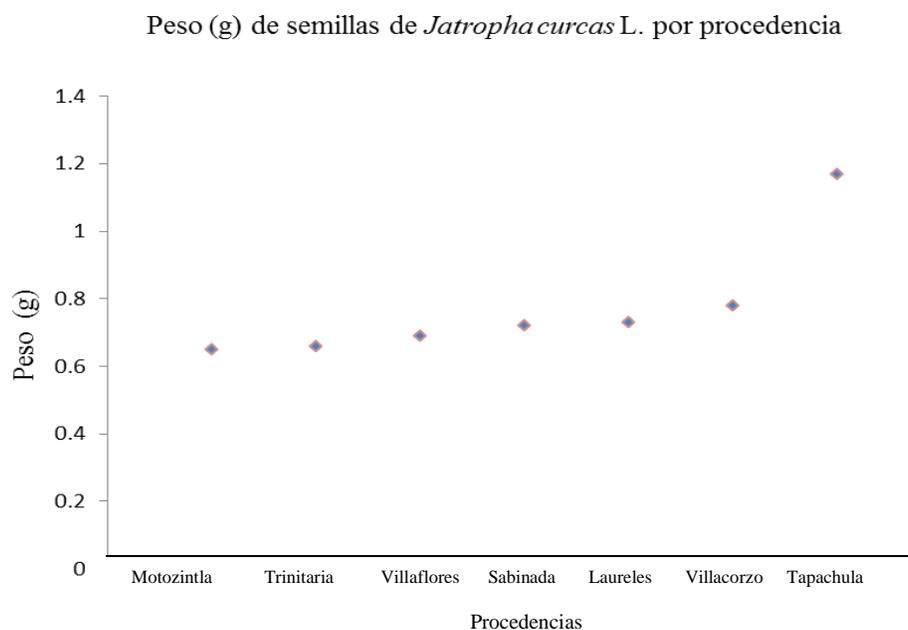


Figura 11. Gráfico de peso (g) de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia

4.1.2 Dimensiones (volúmenes cm³) de las semillas de *Jatropha curcas* L.

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p=0.001$) entre el volumen (cm³) de las semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia evaluadas (cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de varianza para volumen (cm³) de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia.

FV	SC	gl	CME	F	p-valor
Modelo.	1135.20812	6	189.201353	555.423814	< 0.001
Procedencia	1135.20812	6	189.201353	555.423814	< 0.001
Error	212.220722	623	0.34064321		
Total	1347.42884	629			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de “f” calculada.

La prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) de comparación de medias realizada, indicó que la procedencia que tiene las mejores volúmenes (cm³) de semillas es la procedencia de Tapachula con 5.34 cm³ de volumen promedio, Las procedencias de altitud intermedia (500-600 msnm) como Laureles, Sabinada, y Villacorzo (con 1.66 cm³, 1.54 cm³ y 1.50 cm³ de volumen en las semillas), presentan resultados similares, así mismo las procedencias de Motozintla (1.32 cm³) y Trinitaria (1.36 cm³), las cuales están ubicadas en los rangos altitudinales más altos (1100 y 1260 respectivamente), presentaron las menores dimensiones de las semillas de *Jatropha curcas* L. evaluadas.

Cuadro 7. Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para volumen (cm³) de semillas de *Jatropha curcas* L. de diferentes procedencias.

Procedencia	Medias	n	EE	CV	Agrupacion Tukey (0.05)	
Motozintla	1.32	100	0.06	4.54	A*	
Trinitaria	1.36	100	0.06	4.41	A	
Villacorzo	1.5	100	0.06	4	A	B*
Sabinada	1.54	100	0.06	3.89	A	B
Laureles	1.66	100	0.06	3.611		B
Villaflores	1.75	100	0.06	3.42		B
Tapachula	5.34	100	0.06	1.12		C*

* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); n= número de semillas analizadas; EE= Error estándar; CV= Coeficiente de variación

En la figura 12, se presenta la distribución de los volúmenes (cm^3) y peso (g) de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia, en la gráfica se puede observar una correlación muy marcada entre estas dos variables morfométricas, pudiéndose observar que a mayor peso (g) de la semillas mayor volumen (cm^3) de la semillas. Valdés (2012) realizó pruebas de germinación en semillas de *Jatropha curcas* L. no tóxicas para el estado de Veracruz, y encontró que hay una correlación directa entre el peso y la velocidad de germinación, además, concluyó que entre más peso (g) tenga la semilla, tendrá más consistencia fisiológica, es decir, más nutrientes, lo cual será sinónimo de la capacidad de germinación.

Grafica de Peso (gr) y Volumen (cm^3) para semillas de *Jatropha curcas* L.

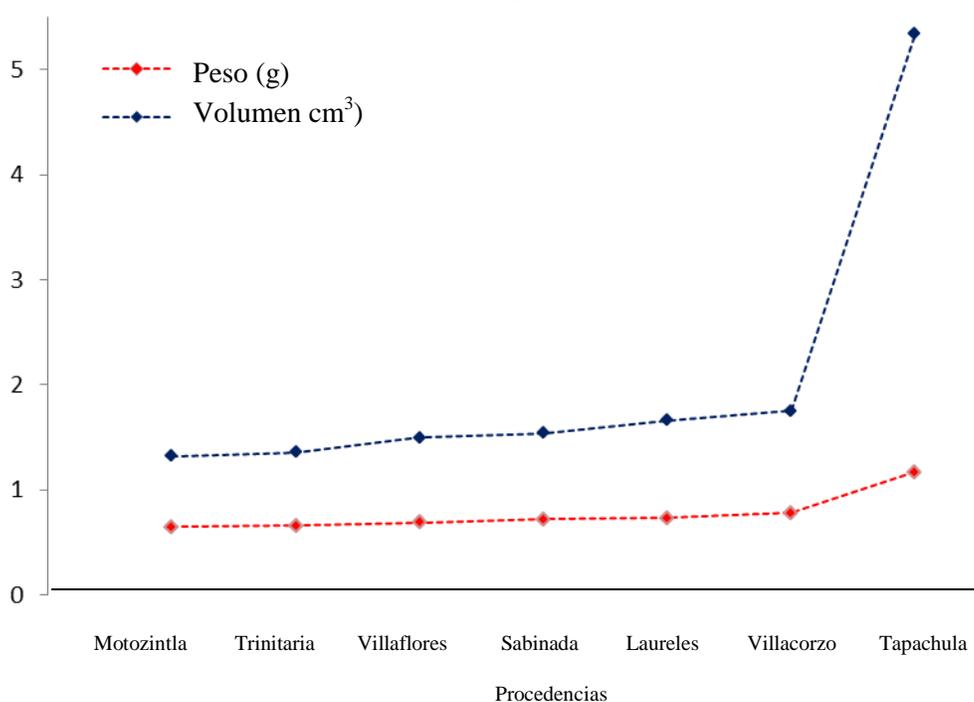


Figura 12. Grafica de relación del peso (g) y volumen (cm^3) de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia

4.2 Caracterización germinativa

4.2.1 Análisis de pureza.

De acuerdo con el análisis de pureza realizado, no se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0.05$; $p = 0.0734$) en cuanto a los porcentajes de semilla pura por procedencia (Cuadro 8), con lo cual queda demostrado que todas las procedencias evaluadas presentan semillas limpias, libre de impurezas y no estuvo mezclada con otras semillas pertenecientes a otro lote de semillas.

Cuadro 8. Análisis de varianza para porcentaje de pureza (%) de las semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia.

FV	SC	gl	CME	F	p-valor
Modelo	1135.20812	6	192.201353	52.54	0.0734
Procedencia	1135.20812	6	178.201353	52.54	0.0734
Error	212.220722	27	0.2106		
Total	1347.42884	27			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de "f" calculada.

En general los porcentajes de pureza son altos, encontrándose en promedio de 98 a 99 % de pureza en las semillas para todas las procedencias (figura 13), los porcentajes de impurezas son muy bajos, los cuales tal vez se incorporaron al momento del secado de la semilla arrastrada por el viento.

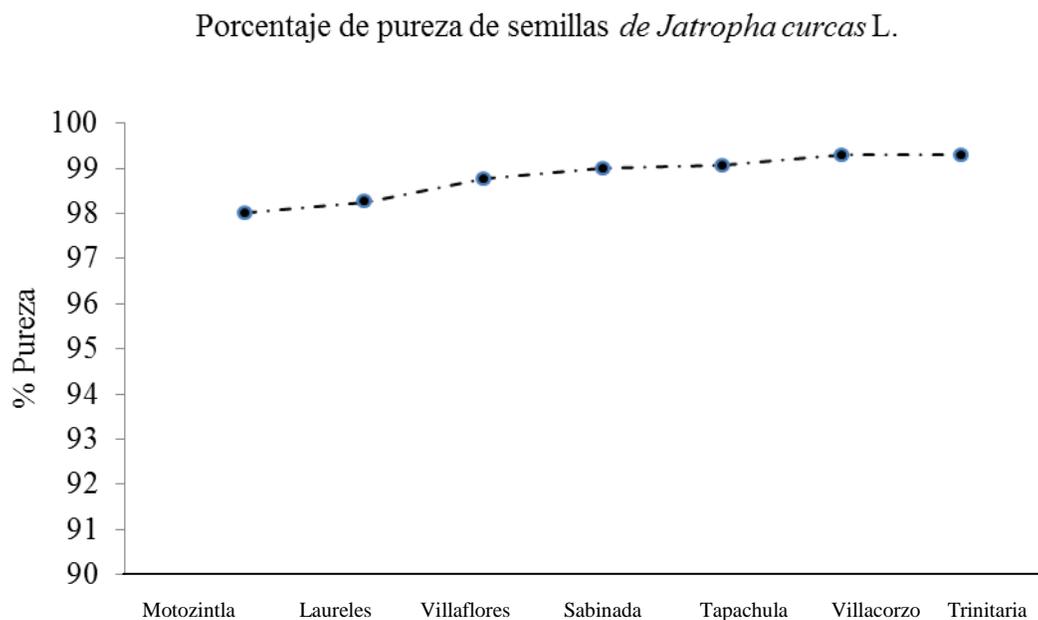


Fig 13. Grafica de porcentaje de pureza por procedencia de semillas de *Jatropha curcas* L.

4.2.2 Numero de semillas por kilogramo

Una vez tenido los porcentajes de semillas puras, se procedió a calcular el número semillas por kilogramo. Los resultados indican que la procedencia de Motozintla y Trinitaria presentan el mayor número de semillas por kilogramo con 13,596 y 13,597 respectivamente, seguidas por la procedencia de Villaflores con 13,500 semillas/kg, la procedencia de Tapachula es la que menor número de semilla/kg se obtuvo con únicamente 9,951 semillas por kilogramo (figura 14). Los resultados indican una correlación directa entre los pesos y volúmenes (cm^3) de las semillas con el número de semillas por kilogramo por procedencia, ya que entre más grande y pesada sea la semilla, hace suponer que el número de semillas por kilogramo disminuye, tal como pudo comprobarse con la procedencia de Tapachula, la cual presentó las mejores pesos y tallas de semillas (ver figura 12) el mismo caso se presenta para las procedencias de Motozintla y Trinitaria, las cuales presentaron los menores de pesos y tallas, lo cual influyo en que el número de semillas por kilogramo sea alto.

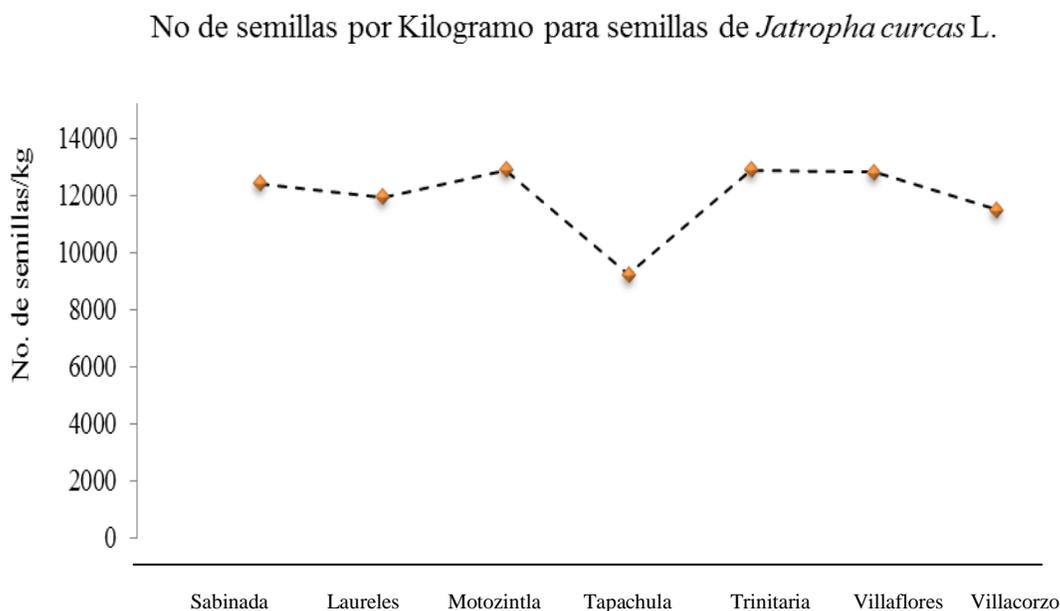


Figura 14. Semillas por kilogramo de *Jatropha curcas* L. por procedencia.

De acuerdo con el INIFAP 2010, en el Estado de Chiapas, los rangos de producción de semilla de *Jatropha curcas* L. reportados, varían desde 0.2 a 2 kg/árbol y de 3 a 12 ton/ha en el primer año de producción, Sin embargo, el rendimiento reportado aumenta con mayor frecuencia es de 2 a 4 ton/ha a partir de los años posteriores, el cual se puede extender hasta por 40 años por ser una planta perenne. El rendimiento de la semilla dependerá del material genético utilizado, la densidad de población/ha y el manejo de las plantaciones.

4.2.3 Pruebas de viabilidad con Tetrazolium

De acuerdo con el análisis de varianza realizado ($\alpha=0.05$) no se encontraron diferencias significativas ($p= 0.9925$) para la prueba de viabilidad con Tetrazolium en las semillas de *Jatropha curcas* L. para las procedencias estudiadas (cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis de varianza para prueba de viabilidad con Tetrazolium (%) de las semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.41	6	0.57	0.13	0.9925
Procedencia	3.41	6	0.57	0.13	0.9925
Error	220.01	49	4.49		
Total	223.43	55			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de “f” calculada.

Con lo anterior, queda demostrado que todas las semillas en todas las procedencias estudiadas, son viables para su germinación, aunque no se encontraron diferencias significativas (0.05) , la procedencia de Villacorzo alcanzó los porcentajes más altos de viabilidad (figura 15). En la prueba de viabilidad con Tetrazolium los cotiledones, el embrión y el endospermo de la semilla se tiñen de color rojizo, cuando sucede esto, indica que la semilla es viable para la germinación. Los resultados de viabilidad son un buen indicador de la capacidad germinativa de la semilla.

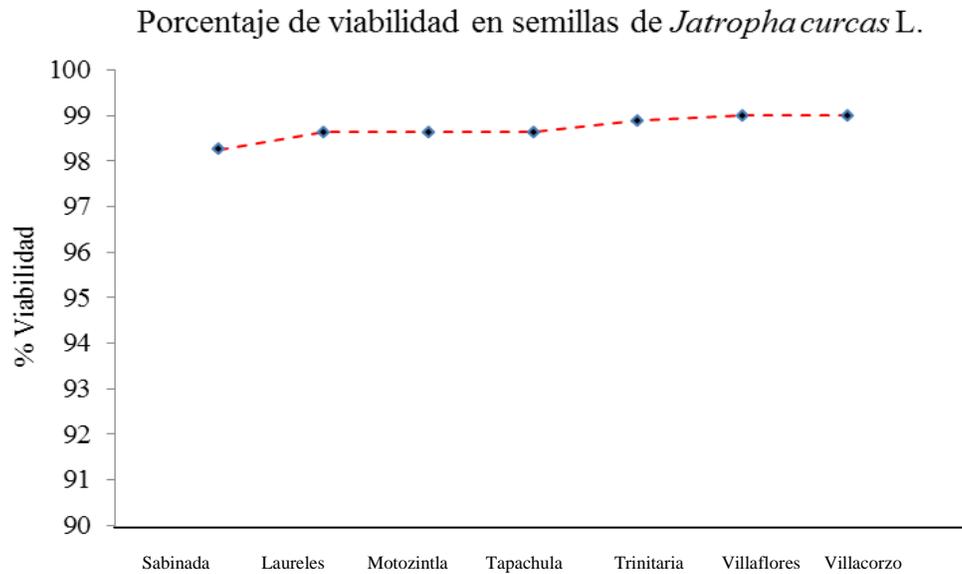


Figura 15. Porcentajes de viabilidad por procedencia en semilla de *Jatropha curcas* L.

4.2.4 Pruebas de germinación

Al realizar el análisis de varianza entre procedencias, no se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) en cuanto a los tratamientos de germinación aplicados (ver anexos, tabla 1,2,3,4), los resultados indican que independientemente el tratamiento aplicado por procedencia no influyó en los porcentajes de germinación (figura 16).

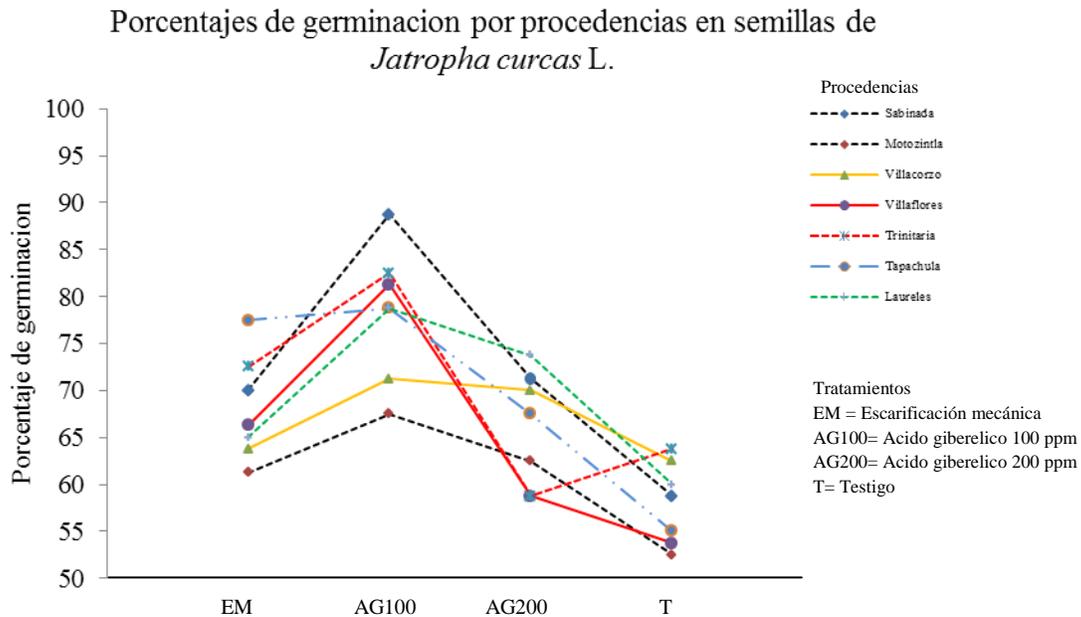


Figura 16. Porcentajes de germinación entre procedencias aplicando diferentes tratamientos en semillas de *Jatropha curcas* L.

Al realizar el análisis de varianza ($\alpha=0.05$) por tratamientos (cuadro 10), se obtuvieron diferencias altamente significativas ($p=0.001$) entre los tratamientos aplicados.

Cuadro 10. Análisis de varianza para prueba pruebas de germinación por tratamiento en semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencia del Estado de Chiapas.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6080.66	3	2026.89	11	<0.0001
Tratamientos	6080.66	3	2026.89	11	<0.0001
Error	20643.1	112	184.31		
Total	26723.76	115			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de “f” calculada.

De acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (0.05) el tratamiento que tuvo mayores efectos en los mayores porcentajes de germinación independientemente de la procedencia, fue el Ácido giberelico al 100 ppm, seguido del Ácido giberelico a 200 pmm, posteriormente la escarificación mecánica y por último el testigo. Con la aplicación de estos tratamientos se comprobó que aceleró al porcentaje de germinación para las semillas de las procedencias estudiadas (cuadro 11).

Cuadro 11. Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para porcentajes de germinación por tratamientos en semillas de *Jatropha curcas* L. de diferentes procedencias.

Tratamiento	Media	n	E.E.	CV	Agrupación Tukey
T	58.1	30	2.52	4.3373494	A
AG 200	66.34	30	2.52	3.7986132	A
EM	66.38	30	2.52	3.79632419	A
AG 100	78.41	30	2.52	3.21387578	B

* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); n= número de semillas analizadas; EE= Error estándar; CV= Coeficiente de variación (%); AG100 = Acido giberelico a 100 ppm; AG200 = Acido giberelico a 200 ppm; EM= Escarificación mecánica; T= Testigo.

En la figura 17 se puede observar el comportamiento de los 4 tratamientos aplicados para las pruebas de germinación, los rangos de porcentaje de germinación varió de 55% hasta 95 % de germinación, esto podría deberse al tiempo en que se guardó la semilla y al transporte

a otro Estado donde se realizó el análisis, el cual pudo haber afectado el porcentaje de germinación.

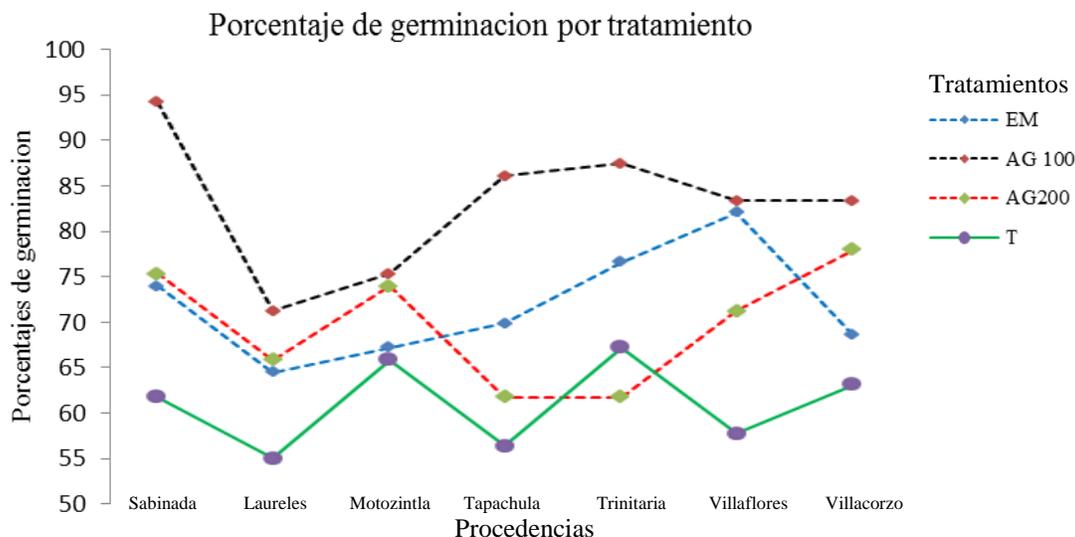


Figura 17 Porcentaje de Semillas de *Jatropha curcas* L. germinadas por tratamiento.

4.2.5 Porcentaje de aceite de *Jatropha curcas* L.

El análisis de varianza ($\alpha=0.05$) realizado, demostró que existen diferencias altamente significativas ($p=0.0001$) de los porcentajes de aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L. entre las procedencias evaluadas (cuadro 12). De acuerdo a la prueba de comparación de medias Tukey (0.05), la procedencia de Trinitaria presenta los porcentajes más altos de concentración de aceite, con 49 % seguidos por la procedencia de laureles con 42% de aceites, la procedencia que tiene las menores concentraciones de aceites es la procedencia de Tapachula y Sabinada con 35.7 % y 35.45 % respectivamente (cuadro 13).

Cuadro 12. Análisis de varianza para porcentaje de contenido de aceite en semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencias del Estado de Chiapas.

FV.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15873.43	6	2645.57	119.92	<0.0001
Procedencia	15873.43	6	2645.57	119.92	<0.0001
Error	15289	693	22.06		
Total	31162.43	699			

FV= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CME= Cuadrado medio del error; F= valor de "f" calculada.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la altitud de la procedencia de la semilla de *Jatropha curcas* L. colectada en áreas sin manejo en el estado de Chiapas, podría haber influido en los porcentajes de aceite contenidos en las semillas. Aparentemente las procedencias de altitudes más altas presentan los mayores porcentajes de concentración de aceite (Motozintla, ubicado a 1154 msnm y Trinitaria ubicado a 1540 msnm, *ver cuadro 2*), no así las latitudes de procedencias más bajas: Tapachula, ubicado a 55 msnm y Sabinada a 637 msnm respectivamente.

Cuadro 13. Prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha=0.05$) para porcentaje de aceite en semillas de *Jatropha curcas* L. de diferentes procedencias.

Procedencia	Media	n	EE	CV	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)	
Sabinada	35.46	100	0.47	1.32543711	A*	
Tapachula	35.7	100	0.47	1.31652661	A	
Villacorzo	38.06	100	0.47	1.23489228	B*	
Villaflores	41.62	100	0.47	1.12926478	C*	
Laureles	42.02	100	0.47	1.11851499	C	
Motozintla	45.08	100	0.47	1.04259095	D*	
Trinitaria	49.56	100	0.47	0.94834544	E*	

* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); n= número de semillas analizadas; EE= Error estándar; CV= Coeficiente de variación.

En la figura 18 se puede observar los porcentajes de aceite de semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencias, colectadas en áreas sin manejo en el interior del estado de Chiapas. En general los porcentajes obtenidos varían desde 35 % hasta 50 % de contenido de aceite.

En recientes estudios realizados por el INIFAP (2010), en plantaciones de *Jatropha curcas* L. del estado de Chiapas, evaluaron el contenido de aceite en 138 plantas de diferentes procedencias. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: En 4 plantas se obtuvieron porcentajes mayores al 50%, en 28 plantas evaluadas presentan resultados similares a la procedencia de Trinitaria (49% de aceite) la cual fue de la procedencia que se obtuvo los porcentajes más altos de aceite de las procedencias evaluadas en este estudio, en 33 plantas los resultados son similares a los obtenidos a los porcentajes de aceite (%) de la procedencia de Motozintla (45.08%), finalmente las plantas restantes evaluadas por

INIFAP, presentaron valores por debajo de los obtenidos de las procedencias de Laureles, Villaflores, Villacorzo, Tapachula y Sabinada (figura 19).

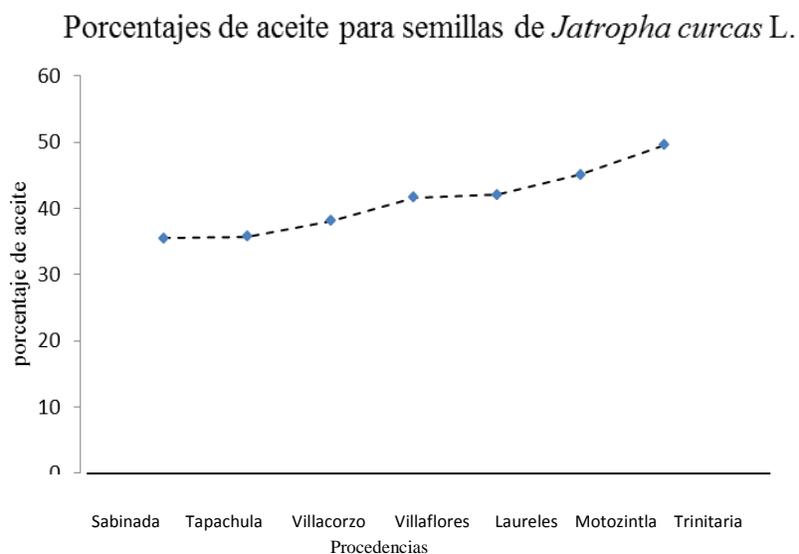


Figura 18. Porcentaje de aceite en Semillas de *Jatropha curcas* L. por procedencias.

Estos resultados podrían indicar que el potencial de las semillas de áreas sin manejo es muy alto, y con técnicas de mejoramiento genético y manejo adecuado se podría aumentar la productividad de las semillas, cabe mencionar que la especie *Jatropha curcas* L. es una especie muy rustica y que le gusta habitar en lugares difíciles, por lo tanto saber a ciencia cierta el incremento desmesurado de la producción de esta planta al establecerse en plantaciones tendría que hacerse con más estudios similares para comparar su producción.

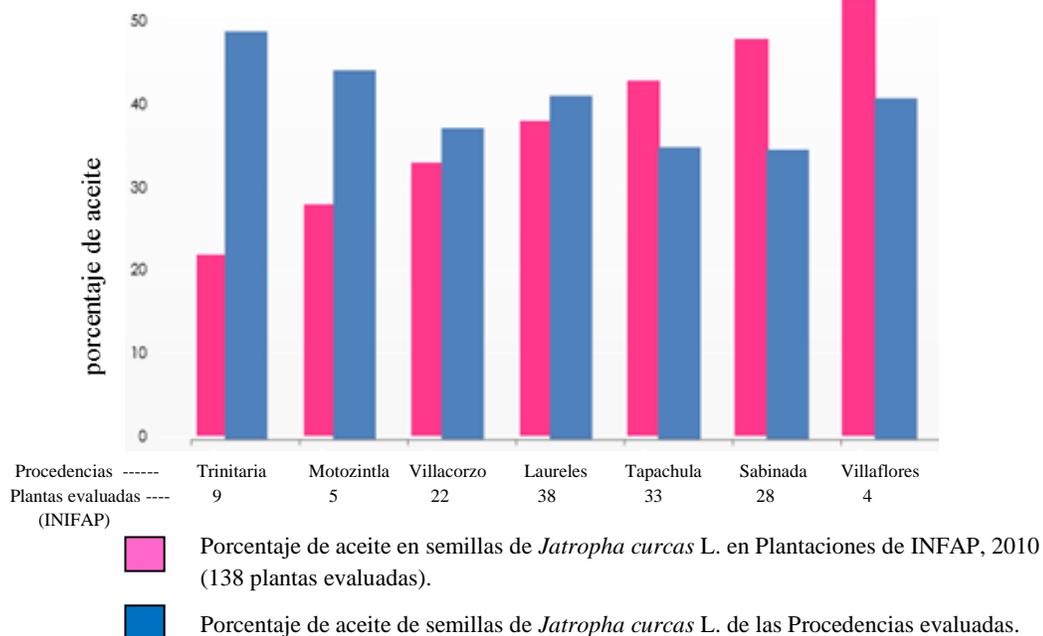


Figura 19. Comparación de porcentajes de aceite de semillas sin manejo de *Jatropha curcas* L. por procedencia obtenidos, con plantaciones evaluadas por INIFAP, 2010.

4.3 Modelo de regresión ajustado y análisis de varianza de la regresión.

Luego de comprobar estadísticamente, con la prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$, ver cuadro 13), que la procedencia de Trinitaria, Chiapas, fue la que presento los mayores porcentajes de aceite (%), se ajustó el modelo de regresión múltiple para cuantificar el porcentaje de aceite (%) de la semilla de *Jatropha curcas* L. utilizando únicamente variables de fácil medición como el ancho (cm) y el largo (cm) de la semilla de esa procedencia en cuestión.

Se usó el paquete estadístico R para realizar un análisis de regresión múltiple, las variables que predijeron el contenido de aceite (%) fueron el ancho (cm) y largo de la semilla (cm).

El modelo ajustado resultó ser:

$$CA = \text{Raiz}(-0.85785 * L + 0.29483 * L^2 + 1.64282 * A - 0.73998 * A^2)$$

Con una R^2 igual a 0.99

Donde:

CA = porcentaje de contenido de aceite (%)

L = Largo de la semilla (cm)

A = Ancho de la semilla (cm)

En el cuadro 14 se muestra el resumen del ajuste de la regresión, del cual se puede establecer que la parte estructural del modelo es adecuada, puesto que el coeficiente de determinación indica que el modelo explica el 99 % de la variabilidad total.

De las variables independientes, se distingue que la variable predictora “A” (ancho) con una mayor pendiente, y por lo tanto ésta tiene un mayor efecto (impacto) en la respuesta (CA).

Cuadro 14. Resumen del ajuste del modelo de regresión.

Variable	Coficiente	Error estándar	t-value	P-value	$R^2 = 0.99$
L	-0.85785	0.07519	-11.41	2e-16 ***	
L ²	0.29483	0.02201	13.40	2.e-16 ***	
A	1.64282	0.13355	12.30	2.e-16 ***	
A ²	-0.73998	0.06527	-11.34	2.e-16 ***	

Códigos de Significancia: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1,

Error residual estándar: 2.1

En el cuadro 15 se muestra el análisis de varianza de la regresión. Se observa que todos los estimadores son altamente significativos.

Cuadro 15. Análisis de varianza de la regresión

Variable	G.L	SC	CME	F- value	P – value
L	1	12449.5	13599.5	3113.62	< 2.2e-16 ***
L ²	1	1234.5	906.5	703.83	< 2.2e-16 ***
A	1	3034.2	3074.2	207.54	< 2.2e-16 ***
A ²	1	2765	234.53	108.32	
Error	16	69.9	3.4		

Códigos de Significancia: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

4.3.1 Supuestos del modelo de regresión

Siendo que R^2 es igual a 0.99 se tiene evidencia que la parte estructural del modelo es adecuada. Para validar los supuestos de la parte aleatoria del modelo, se requiere de ciertos diagnósticos que, de acuerdo a Faraway (2005), son usados para detectar problemas y, dado el caso, proponer mejoras e incluso cambiar el modelo.

4.3.1.1 Prueba de normalidad en los errores

La prueba de Shapiro-Wilk es ampliamente usada para probar normalidad de un conjunto de datos; en nuestro caso se usa para verificar si los errores se distribuyen como normales. La prueba se realizó a los residuales del modelo. El resultado obtenido fue el siguiente:

Shapiro-Wilk normality test

data: residuals(g1.lm)

W = 0.9737, p-value = 0.06225

Con lo que no se rechaza la hipótesis de normalidad, puesto que el p-value es mayor que 0.05

4.3.1.2 Prueba de correlación serial

La prueba de Durbin-Watson es un método estándar para detectar correlación serial en los residuales.

La prueba se le realizó sobre los errores del modelo ajustado, el resultado se detalla a continuación:

Durbin-Watson test

data: g1.lm

DW = 1.75, p-value = 0.1109

Con lo que no rechazamos la hipótesis de no correlación serial puesto que el p-value es mayor a una significancia de 0.05.

4.3.1.3 Prueba para varianza constante u homocedasticidad

Faraway (2005) establece que la inspección gráfica es más efectiva para detectar si la varianza de los errores es constante (homocedasticidad). Para comprobar si hay homocedasticidad se grafican los datos ajustados contra los residuales o errores. En la figura 20 se observa varianza constante, porque los puntos en la dirección vertical de la gráfica son aproximadamente simétricos con respecto a la línea horizontal ($h=0$).

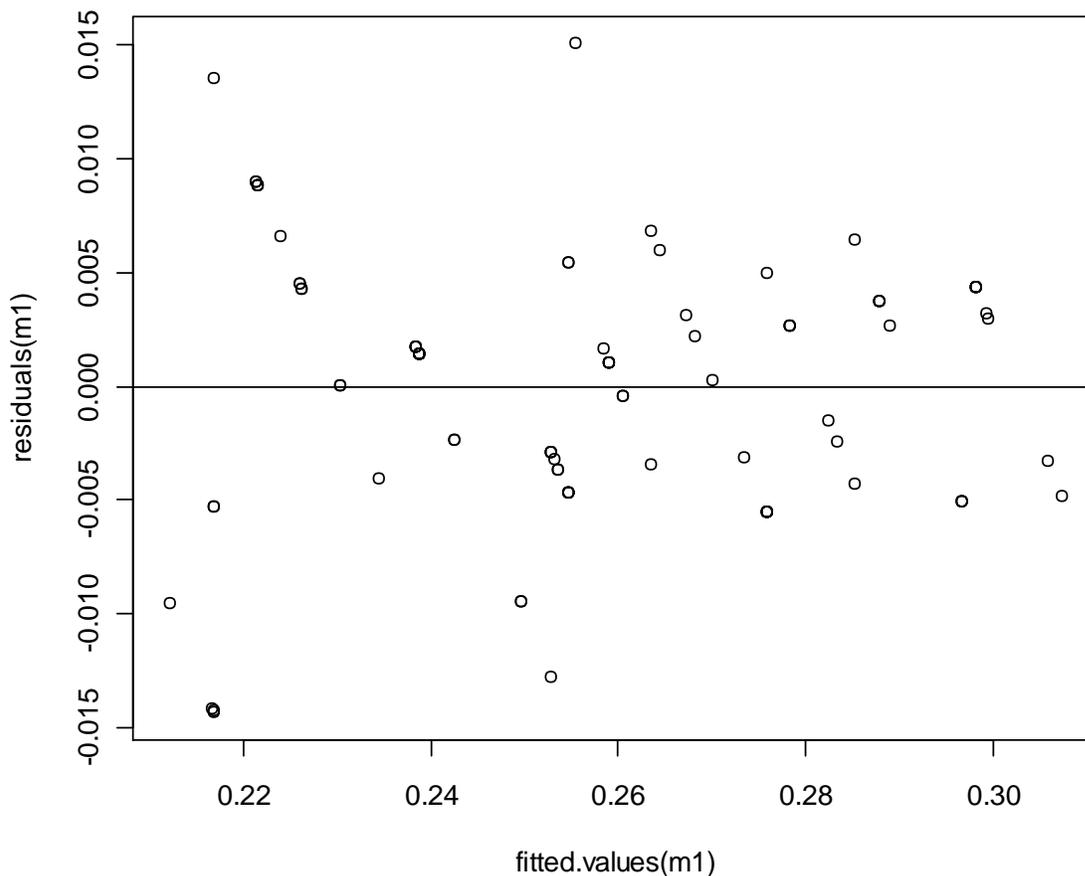


Figura 20 Inspección Gráfica para detectar varianza constante

4.3.1.3 Validación del Modelo de regresión obtenido.

Para la validación del modelo, dividimos los datos en dos subconjuntos de manera aleatoria y aplicamos la técnica de validación cruzada (CV) descrita en la metodología, los resultados indicaron lo siguiente:

Modelo ajustado con todos los datos (modelo original)

$$CA = \text{Raiz}(-0.85785 * L + 0.29483 * L^2 + 1.64282 * A - 0.73998 * A^2)$$
$$R^2 = 0.99$$

Error Predicción= 1.98

Primer modelo ajustado aplicando CV

Casos dejados fuera para entrenamiento: [0.85, 0.82, 0.80, 0.90, 0.91, 0.87, 0.86, 0.78, 1,1.1]. Con los datos restantes, el modelo ajustado resultó ser:

Modelo ajustado con todos los datos (modelo original)

$$CA = \text{Raiz}(-0.7743 * L + 0.3126 * L^2 + 1.59123 * A - 0.77223 * A^2)$$
$$R^2 = 0.99$$

Error Predicción= 1.85

Segundo Modelo ajustado aplicando CV

Casos dejados para entrenamiento: [0.55, 0.68, 0.75, 0.78, 0.92, 0.77, 0.67, 0.88, 0.57, 0.69], el modelo ajustado resultó ser:

$$CA = \text{Raiz}(-0.6834 * L + 0.4231 * L^2 + 1.7211 * A - 0.72432 * A^2)$$

Error de Predicción= 1.80

De acuerdo con la técnica de validación cruzada, el modelo ajustado para esta investigación es estable por las siguientes razones:

1. Los coeficientes ajustados para los dos modelos no presentan mucha diferencia a los ajustados en el modelo original, así como sus valores de R^2 .
2. El error de predicción para ambos modelos es pequeño e incluso no sobrepasan al del modelo original.

V CONCLUSIONES.

En función de los resultados obtenidos, se puede afirmar con 95 % de confiabilidad que se encontraron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) para las pruebas de caracterización morfométrica, caracterización germinativa y porcentaje de contenido de aceite en las procedencias estudiadas. La altitud de la procedencia podría ser un factor que influyera los pesos y las tallas de las semillas, ya que en base de los resultados obtenidos de las semillas de *Jatropha curcas* L. de las procedencias estudiadas, se pudo diferenciar que a menor altitud, las dimensiones (cm^3) y pesos (g) de las semillas fueron mayores, caso contrario con los rangos altitudinales elevados donde se presentaron los menores valores.

Las variaciones en peso (g) y dimensiones (cm^3) de las semillas de *Jatropha curcas* L. de las procedencias estudiadas, podría ser un indicativo de la capacidad que posee la especie para adaptarse a distintas condiciones ambientales. No obstante, esta observación es de suma importancia en la toma de decisiones para el cultivo, ya que la variación altitudinal puede ser un indicador de que los individuos de altitudes altas sean incapaces de responder adecuadamente si se tratan de introducir en hábitats de altitudes más bajas, lo que representaría pérdidas y dificultades.

De los resultados obtenidos en este estudio se determinó que las semillas más grandes y pesadas no son indicador de la cantidad de porcentaje de aceite en la muestra, tal como se obtuvo en este estudio. La procedencia de Tapachula, aunque presentó los mejores pesos (g) y dimensiones (cm^3), obtuvo los valores más bajos de concentración de aceite en sus semillas, lo cual podría deberse a las características edafológicas y climáticas del lugar donde se desarrolla la planta y al año de colecta. Faltaría realizar evaluaciones más periódicas para hacer más comparaciones.

Con los resultados obtenidos de la presente investigación podemos concluir que la semilla con mayores porcentajes de concentración de aceite es de la procedencia de Trinitaria, presenta, por lo que puede ser rentable deseable desde el punto de vista comercial. Además de que en la mayoría de los casos los valores de pureza y viabilidad fueron arriba del 95%.

De las pruebas de germinación no se presentaron los resultados esperados, puesto que con el tratamiento Acido Giberelico a 100 ppm, que mayor efecto tuvo, se obtuvo 80% de germinación, estos resultados pudieron deberse al manejo de la semilla, traslado, transporte y almacenamiento. Es muy importante resaltar el tiempo de colecta, el cual se realizó bajo diferentes intervalos, por lo que se recomienda mejorar el manejo eficiente de las semillas. No obstante, también debe considerarse los factores externos (clima, exposición, suelo, agua, nutrientes) y la capacidad reproductiva de la planta, los cuales pudieron haber influido en el la floración y fructificación y por la tanto en la características genéticas de la semilla de ese año de colecta.

Para consideraciones de interés agronómico, tales como densidad de siembra y requerimientos de semilla de *Jatropha curcas* L, se estimó un promedio de 13, 500 semillas por kilogramo, con un potencial de viabilidad muy alto de casi el 99 % en todas las procedencias.

Se debe cuidar bien el aspecto del secado de la semilla previo al sol, es ya que es muy importante para su conservación y evitar el deterioro de la misma, donde esta presenta muy poca humedad.

Respecto al modelo de predicción obtenido para la especie que presentó los mayores porcentajes de aceite, se obtuvieron buenos resultados puesto que el porcentaje de contenido de aceite (CA), fue una función de las características morfométricas de las semillas de esa procedencia, por lo tanto fue posible determinar un modelo matemático correlacionando estas variables.

De las variables regresoras el ancho (cm) y el largo (cm) fueron las que mejor se ajustaron al modelo matemático buscado y por lo tanto las que mejor predicen el CA. El espesor (cm) de la semilla no presentó buen ajuste por lo que fue descartado del modelo.

De acuerdo con el resumen del ajuste y el análisis de varianza de la regresión, el ancho (cm) de la semilla se distingue como la variable que mayor efecto (impacto) presenta en la

respuesta, por lo tanto resultó estadísticamente más significativa que el largo (cm) en el modelo buscado.

Del análisis de regresión múltiple se obtuvo un coeficiente de determinación $R^2=0.99$, el cual indica excelente ajuste y por lo tanto hay evidencia que la parte estructural del modelo es adecuada puesto que explica el 99% de la variabilidad total.

De los supuestos del modelo, los errores se distribuyen normalmente y no hay correlación serial en los mismos. Asimismo, la inspección gráfica y la prueba de homogeneidad de varianzas indican que la varianza en el error es constante.

De acuerdo con la prueba de validación cruzada el modelo es estable puesto que presenta un error de predicción de 1.98, esto indica que se pueden hacer predicciones con bastante precisión.

El modelo está listo para hacer predicciones dado que el objetivo fue verificar si el modelo matemático podía predecir adecuadamente el CA y así tomar decisiones adecuadas para determinar el porcentaje de aceite de las semillas sin someterla al equipo Soxhlet de extracción de grasa o cualquier otro método de extracción de aceite. Con lo cual indirectamente podremos saber incluso su rendimiento en la producción de Biodiesel.

Por último y como trabajo futuro se sugiere hacer la calibración del modelo directamente en el campo para corroborar lo obtenido en laboratorio; así mismo se sugiere obtener más modelos de más procedencias o de plantaciones en donde obtienen aceite para la producción de Biodiesel. De esta forma el modelo será parte de una herramienta que permitirá a los productores que usen y decidir el potencial de contenido de aceite que tienen sus semillas.

VI REFERENCIAS

- Adam, S. E. I. (1974). Toxic effects of *Jatropha curcas* L. in mice. *Journal of Toxicology* 2: 67-76.
- Alfonso, J. A. (2007). Manual de propagación de *Jatropha*. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. Cortés, Honduras. Disponible en (<http://www.gotaverde.org/portal/?q=es/node/217>). Consultado en Septiembre 2011.
- Achten, W M. 2010. *Jatropha curcas* L. bio-diesel production and use. (en línea) *Biomass and Bioenergy*, 83 p. Disponible en: https://lirias.kuleuven.be/bitstream/123456789/185565/2/WA_B%26B2008_OpenAccess.pdf
- AOAC. 2006. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18 ed. Horwitz W. Gaithersburg, Maryland. EEUU.
- Baskin B. 2001. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. San Diego. 666 p.
- Brittaine R y Lutaladio, 2010. *Jatropha curcas* L. : A smallholder bioenergy crop. The potential for poor Development. *Integrated Crop Management*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 96 pp.
- Bermejo, M. E, Silvia Evangelista L. S, Félix G. J. 2010. Cuantificación de esteres de forból en semillas de *Jatropha curcas* L. silvestres y cultivadas en México. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Km. 8.5 Carretera Yautepec-Jojutla, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos. 4 pp.
- Cano L. M. (1992). El Piñoncillo (*Jatropha curcas* L.) una especie oleaginosa con potencial de uso agroindustrial. *La ciencia y el hombre* 10: 131-138.
- CATIE. 1996. *Biología de semillas forestales*. Danida Forest Seed Centre, DFSC, Humlebaek, Dinamarca. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- Comission of the European Communities (COM). 2007. *Communication from the Commission to the European Council and the European Parliament. An Energy Policy for Europe*. Brussels, Belgium.

- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. 53 pp.
- Durbin J. and Watson G. S., 1951. Testing for serial correlation in least squares regression II, *Biometrika*, 38, 159-178.
- Kumar A. y Sharma S. 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.) Centre for Rural Development & Technology, Indian Institute of Technology, Delhi, Hauz Khas, New Delhi 110016, India. 10 pp.
- Faraway J. J., 2005. Practical Regression and Anova using R. Chapman and Hall/CRC editors. pp. 213.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (1998). Informe del primer período de sesiones del Grupo de Expertos de la FAO en recursos genéticos forestales. FAO, Roma. (<http://www.fao.org/DOCREP/006/F5127S/F5127S02.htm>). Consultado en Agosto 2007.
- Graybill Franklin A., Iyer Hariharan K., 1994. Regression analysis: Concepts and applications. Duxbury Press, International Thomson Publishing U.S.A., pp. 701.
- Heller, J. (1996). Studies on genotypic characteristics and propagation and cultivation methods for physic nuts (*Jatropha curcas* L.). Hamburg. 99 p.
- Henning, R. (1996). Combating desertification-fuel from *Jatropha* plants. In: Unido symposium on development and utilization of biomass energy in developing countries. Austria. (<http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pdf/161.pdf>).
- INIFAP, 2010. Calidad de aceite de piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) para la producción de biocombustibles en México. Proyecto "Desarrollo de Tecnologías Sustentables de Producción de Insumos Competitivos para la obtención de Biocombustibles en México" apoyado por el Gobierno Federal a través de la SAGARPA. Disponible en <http://www.bioenergeticos.gob.mx/index.php/prensa/noticia-actual/96-calidad-de-aceite-de-pinon-mexicano-jatropha-curcas-l-para-la-produccion-de-biocombustibles-en-mexico.html>
- International Energy Agency (IEA). 2011. World Energy Outlook 2011. Resumen ejecutivo. Paris Francia. Consulta: febrero 13 del 2012. Disponible en: <http://www.iea.org>

- International Seed Testing Association (ISTA). (1993). International rules or seed testing. Rules. Seed Science and Technology. 288 pp.
- López M. R. 2008. Potencial de producción de semilla de *Jatropha curcas* en Sinaloa. Universidad Nacional Autónoma De México (UNAM) Juriquilla, Queretaro, Diciembre 2008, 14 pp.
- Martínez-Herrera J., Chel-Guerrero L., Martínez-Ayala A. L. 2004. The nutritional potencial of Mexican piñon (*Jatropha curcas* L). Toxic and antinutritional factors. Proceedings of the fourth international workshop on antinutritional factors in legume and oilseeds; Marzo 8-10; Toledo, España. EAAP No. 110.
- Martínez H.J. (2006). El piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) Fuente de energía renovable. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas – IPN. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. Carr. Yautepec-Jojutla Km 8. Col. San Isidro. Yautepec, Morelos, México. 4pp.
- Martínez H. J., Martínez A. A.L., Makkar H, Francis G., Becker K. 2010. Agroclimatic conditions, chemicals and nutritional characterization of different provenances of *Jatropha curcas* L. from México. European Journal of Scientific Research 39(3):396-407.
- Mittelbach M., Danninger H., Mangas B. 2010. Situación de los proyectos anteriores y los en ejecución, en relación a la producción de biodiesel basada en la extracción del aceite de *Jatropha curcas*, impulsados en Centroamérica por la Alianza en Energía y Ambiente con Centroamérica AEA. AEA, Managua, Nicaragua.
- Morandini, R. (1962). Aparatos y procedimientos para la manipulación de las semillas forestales I. Producción, Recolección y Extracción de Semillas. FAO, Roma (<http://www.fao.org/docrep/x5401s/x5401s07.htm>). Consultado en Septiembre 2007.
- Muñoz, A. F (1995). Morfología de las semillas de especies del genero *Trifolium* de la península Iberica, *Lazaroa* 15: 131-144 pp.
- Niembro R. A. 2000. Estructura y morfología de diásporas de árboles y arbustos nativos e introducidos, comunes en la República Mexicana. Tesis de Maestría en Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo, Edo. de México.

- Ojeda M. M. 2006. La modelación estadística. Documento web consultado el 15 de agosto de 2007. Disponible en http://www.weio.upc.es/research/gresa/files/tfiles/modelacion_.pdf
- Pérez M. C., Hernández L.A., González C.F.V., García-de los Santos G., Carballo C.A. Vázquez R.T.R., Tovar G.M.R. 2006. Tamaño de la semilla y relación con su calidad fisiológica en variedades de maíz para forraje. *Agricultura Técnica en México*. (32)3: 341-352.
- Pinedo P.H. 1990. Evaluación preliminar de la germinación. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. Mexico. Tesis de licenciatura. 88 pp.
- Rios C.M.S 2009. Un modelo de predicción del límite superior de laborabilidad de suelos en términos de su textura y contenido de materia orgánica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis profesional Maestría. Noviembre de 2007. 87pp.
- Samperio R. G. 2005. Germinación de semillas: Manual de divulgación para uso en instituciones de educación. Universidad Autónoma de México (UNAM). Toluca, Estado de Mexico. 9 pp.
- Sánchez A. Azcarate L. Arqueros y Peco (2002). Volumen y dimensiones como predictores del peso de la semilla en especies herbáceas del centro de la península ibérica. Departamento de ecología, Universidad Autónoma de Madrid. E-28049 Madrid. 14 pp.
- Sánchez, S. O. (2006). Establecimiento de bancos de germoplasma vegetal para el fomento de la diversificación de cultivos en el trópico mexicano. En: Megaproyecto CITRO-CONACYT. Documento interno. CITRO UV Pp. 80-95.
- Seiwa K. 2000. Effects of seed size and emergence time on tree seedling establishment: importance of developmental constraints. *Oecologia* 123:208–215.
- SEMARNAT 2010. Secretaria de medio ambiente y recursos naturales. Ficha técnica *Jatropha*. Disponible en http://www.semarnat.gob.mx/pfnm2/fichas/jatropha_curcas.htm
- SENER, 2007. Secretaria de Energía Potenciales y Viabilidad del Uso de Bioetanol y Biodiesel para el Transporte en México. (Proyectos ME-T1007) 38 pp. Disponible en: <http://www.bioenergeticos.gob.mx/descargas/SENER-BID-GTZ-Biocombustibles-en-Mexico-Resumen-ejecutivo.pdf>

- Shapiro, S. S. and Wilk, M. B, (1965). "An analysis of variance test for normality (complete samples)", *Biometrika*, 52, 3 and 4, pages 591-611.
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana* 61: 61-93.
- SNICS 2010. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, Catálogo de servicios del Laboratorio Central de Referencia No. 03, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 8 pp.
- Solís, G.B.F. 2011. Integración de *Jatropha curcas* L. en agro ecosistemas como materia prima para biodiesel en la región centro de Chiapas, México. Tesis de Doctorado en ciencias. Posgrado en agroecosistemas forestales. Manlio Fabio Altamirano, Veracruz. 206 pp.
- Sukarin, W., Yamada, Y. & Sakaguchi, S, (1987). Characteristics of physic nut, *Jatropha curcas* L. as a new biomass crop in the tropics. *Agric. Res. Quart. Japan* 20(4):302-303
- Thompson, P.A. (1973). Geographical adaptation of seeds. *Seed Ecology*. London. Pp. 31-58.
- Torres C. A (2008) Ficha técnica de *Jatropha curcas*. Cultivos Energéticos SRL y Cooperativa Agropecuaria El Rosario Ltda. Argentina. (http://www.faceaucentral.cl/pdf/ft_fatropa.pdf). Consultado en Septiembre del 2007.
- Universidad Centroamericana (UCA) (1994 – 1995). Relación del sembrado directo de semilla de Tempate (*Jatropha curcas*) en bancales en vivero y plantaciones directas a lugares estables. Publicaciones del proyecto biomasa. Nicaragua. 26 pp.
- Valdés R. O. 2011. Soil texture effects on the development of *Jatropha* seedlings the Mexican variety 'piñon manso'. *Biomass and bioenergy* 35(8): 3529-3536.
- Valdés R. O. 2012. Estudio de *Jatropha curcas* L. no tóxica: semillas, plántulas y primeros estadios del sistema de raíces. Tesis profesional de Doctorado. Universidad veracruzana centro de investigaciones tropicales. Veracruz, Mexico. Junio del 2012. 128 pp.

Vilar Fernandez J. 2006. Modelos de Regresión Lineal, simple y múltiple. Documento web consultado el 26 de mayo de 2011. Disponible en: http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec9_1.html

Zamarripa C. y Diaz 2008. Areas de potencial productivo *Jatropha curcas* L. como especie de interés bioenergetico en Mexico. Proyecto de Biocombustibles del INIFAP. Disponible en: http://www.oleaginosas.org/art_211.shtml

VII ANEXOS

Tabla 1. Análisis de varianza entre procedencias para semillas de *Jatropha curcas* L. aplicando el tratamiento de escarificación mecánica (EM).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1019.83	6	169.97	0.56	0.7571
Procedencias	1019.83	6	169.97	0.56	0.7571
Error	6675	22	303.41		
Total	7694.83	28			

SC=Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CM= Cuadrado medio del error; Valor de F calculada.

Tabla 2. Análisis de varianza entre procedencias para semillas de *Jatropha curcas* L. aplicando el tratamiento de Ácido giberelico a 100 ppm (AG100).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1209.05	6	201.51	1.89	0.1276
Procedencias	1209.05	6	201.51	1.89	0.1276
Error	2343.75	22	106.53		
Total	3552.8	28			

SC=Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CM= Cuadrado medio del error; Valor de F calculada.

Tabla 3. Análisis de varianza entre procedencias para semillas de *Jatropha curcas* L. aplicando el tratamiento de Ácido giberelico a 200 ppm (AG200).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	949.78	6	158.3	0.89	0.5208
Procedencias	949.78	6	158.3	0.89	0.5208
Error	3925	22	178.41		
Total	4874.78	28			

SC=Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CM= Cuadrado medio del error; Valor de F calculada.

Tabla 4. Análisis de varianza entre procedencias para semillas de *Jatropha curcas* L. aplicando el tratamiento “Testigo” (T).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	464.44	6	77.41	0.42	0.8578
Procedencias	464.44	6	77.41	0.42	0.8578
Error	4056.25	22	184.38		
Total	4520.69	28			

SC=Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CM= Cuadrado medio del error; Valor de F calculada.