

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA INTEGRADA

SUBAREA DE EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO

-EPSA-



TRABAJO DE GRADUACIÓN

**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) Y
ACTIVIDADES RELACIONADAS CON EL CULTIVO EN LAS COMUNIDADES DE
LLANITOS Y LAS GUACAS, MASAGUA, ESCUINTLA.**

EDAN GIOVANNI PORTILLO EGUIZABAL

GUATEMALA JULIO 2009

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL PIÑÓN
(*Jatropha curcas L.*) Y ACTIVIDADES RELACIONADAS CON EL CULTIVO EN LAS
COMUNIDADES DE LLANITOS Y LAS GUACAS, MASAGUA, ESCUINTLA.**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

EDAN GIOVANNI PORTILLO EGUIZABAL

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIRO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, JULIO 2009

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

RECTOR

Lic. Carlos Estuardo Gálvez Barrios

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO	MSc.	Francisco Javier Vásquez Vásquez
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr.	Waldemar Nufio Reyes
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr.	Walter Arnoldo Reyes Sanabria
VOCAL TERCERO	MSc.	Danilo Ernesto Dardón Ávila
VOCAL CUARTO	Br.	Rigoberto Morales Ventura
VOCAL QUINTO	Br.	Miguel Armando Salazar Donis
SECRETARIO	MSc.	Edwin Enrique Cano Morales.

Guatemala, Julio de 2009

**Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente**

Honorables miembros

De conformidad con las normas establecidas en la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de Graduación

**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL PIÑÓN (*Jatropha curcas L.*) Y
ACTIVIDADES RELACIONADAS CON EL CULTIVO EN LAS COMUNIDADES DE
LLANITOS Y LAS GUACAS, MASAGUA, ESCUINTLA**

Como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

EDAN GIOVANNI PORTILLO EGUIZABAL

ACTO QUE DEDICO A:

MIS PADRES:

Edan Arnoldo Portillo Cruz y Marta Odilia Eguizabal García, por sus sabios consejos, sus múltiples esfuerzos y sacrificios y sobre todo por ser mi apoyo y guía en todo momento.

MIS HERMANOS:

Melvin Alexander, Cindy Esmeralda, gracias por su apoyo incondicional y por compartir momentos de alegrías y tristezas juntos.

MIS SOBRINOS:

Estuardito y Juanma, por su cariño y que la meta que hoy alcanzo se un ejemplo.

MIS ABUELITOS:

Carmen y Rogelio, en especial a mama Jube y papa Víctor, gracias por todo su cariño, amor y apoyo, los quiero mucho

MIS TIOS:

Vicky y Manuel, por todo su incondicional apoyo y cariño, que dios les bendiga.

MI FAMILIA:

A todos mis tíos, tías, y primos, en especial a Katty (Q.E.P.D), por incondicional apoyo y afecto gracias.

MIS CUATES:

Antonio Castellanos (Dexter), Alejandro Machorro (Chino), Beto, Carleone (Macho), Estuardo Cordón (Zacapa), Ingrid López, Irene Muñoz, Jorge Molina (Cuca), Juan Carlos (Negro), Luis Hernández (Chato), Mauricio Franco (Gordo), Pablo Montepeque (Bambucha), Rodrigo Menéndez (Abuelo), Tracy, Vela, Virgilio (Chilo), Waleska, por demostrarme su afecto, cariño y apoyo en los momentos de mi vida, les llevo dentro de mi corazón.

AGRADECIMIENTOS A:

- DIOS:** Ser supremo que guió mis pasos, me dio fuerza y fortaleza para luchar contra las adversidades para alcanzar mis metas, sueños y anhelos.
- MIS ASESORES:** In Agr. Pedro Peláez, Ing. Agr. Amílcar Sánchez e Ing. Agr. Juan José Castillo, por su valiosa colaboración y la asesoría técnica para la realización de este documento.
- MI MADRINA:** Licda. Claudia Montepeque, por tus consejos, ejemplos y cariño
- ESPECIALMENTE:** Jocelyn Mejía, por todo el apoyo, cariño y sobre todo por todo tu amor, infinitas gracias.
- AL INSTITUTO:** Norman Borlaug, Texas A&M University, por permitir formarme como profesional, en especial a la Inga. María Ester Búcaro, Ing. Rodolfo Ortiz, Ing. Agr. Jorge Herrarte e Ing. Agr. Estuardo Arroyave, por la amistad, afecto, consejos y asesorías que me brindaron, a todos los socios de Biodiesel Mazat Agui S.A., por brindarme su amistad, cariño sobre todo el apoyo incondicional durante la ejecución de mi E.P.S.
- AL LABORATORIO:** Laboratorio de Biotecnología de la FAUSAC, en especial al Ing. Agr. Amílcar Sánchez e Ing. Agr. Julio Berduo por todo su incondicional apoyo durante el desarrollo de la investigación.
- MIS CENTROS DE ESTUDIO:** Escuela rural mixta San Jerónimo, Colegio Olmeca, Instituto de Sistemas e Informática (ISI), Facultad de Agronomía USAC, Universidad de San Carlos de Guatemala, por permitirme mi formación profesional, gracias.

INDICE GENERAL

CAPITULO I	1
DIAGNOSTICO PARA LA REPRODUCCION SEXUAL DE PIÑÓN (<i>Jatropha curcas</i> L.), EN CUMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE MASUGUA, DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA.	1
1.1 PRESENTACION	2
1.2 Marco Referencial.	3
1.2.1 MASAGUA	4
1.2.1.1 Sector Económico.....	5
1.2.1.2 Agricultura	5
1.2.1.3 Pecuaria	5
1.2.2 Clima del Municipio.....	5
1.2.2.1 Hidrografía.....	6
1.2.2.2 Temperatura	7
1.2.2.3 Precipitación Pluvial.....	7
1.2.2.4 Geología	7
1.2.3 Zonas de Vida, Holdridge	8
1.3 OBJETIVOS	9
1.3.1 Objetivo General	9
1.3.2 Objetivos Específicos.....	9
1.4 Metodología.....	10
1.5 RESULTADOS	11
1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	15
1.7 ANEXOS	16
1.8 BIBLIOGRAFIA	19
CAPITULO II	20

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL PIÑÓN (<i>Jatropha curcas</i> L.), EN DIFERENTES CERCOS DE LAS COMUNIDADES DE LLANITOS Y LAS GUACAS, DEL MUNICIPIO DE MASAGUA, DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA.....	20
2.1 RESUMEN	21
2.2 INTRODUCCIÓN	23
2.3 MARCO TEÓRICO.....	25
2.3.1 Marco conceptual.....	25
2.3.1.1 Euphorbiaceae.....	25
2.3.1.2 <i>Jatropha</i> L.....	25
2.3.1.3 <i>Jatropha curcas</i> L., Sp. Pl. 1006. 1753.....	26
A. Taxonomía.....	26
B. Hábitat	30
C. Propagación.....	30
D. Características	30
E. Principales usos.....	31
F. Aportes e impactos.	32
a. Económicos.....	32
b. Sociales.....	33
c. Medioambientales	33
2.3.1.4 Biodiesel	33
2.3.1.5 Variabilidad genética	34
2.3.1.6 Cuantificación de la variabilidad genética.....	35
2.3.1.7 Estudio de variación genética.....	35
2.3.1.8 Marcadores moleculares	37
A. Tipos de marcadores	38
a. Isoenzimas	38
b. Marcadores de ADN.....	38
i. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP).....	39
ii. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	39

iii. Amplificación aleatoria del ADN polimórfico.....	40
iv. Microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR; MP-PCR).....	40
v. Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP).....	40
2.4 OBJETIVOS	43
2.4.1 Objetivo general	43
2.4.2 Objetivos específicos	43
2.5 METODOLOGÍA.....	44
2.5.1 Muestreo.....	44
2.5.2 Extracción de ADN.....	45
2.5.2.1 Soluciones	45
2.5.2.2 Procedimiento.....	45
2.5.2.3 Cuantificación del ADN extraído.....	45
2.5.3 Análisis de ADN mediante AFLP	46
2.5.3.1. Restricción del ADN.....	46
A. Mezcla de la reacción vol. (ul).....	46
2.5.3.2 Ligación de adaptadores	46
A. Reacción de ligación (para 1 reacción).....	46
2.5.3.3 Pre-amplificación del ADN	47
A. Pre-amplificación (AFLP+1).....	47
B. AFLP+1 Programa de temperaturas	47
2.5.3.4 Amplificación Selectiva (AFLP+3).....	48
A. Mezcla de reacción para la amplificación	48
B. FLP+3 programa de temperaturas	48
C. Preparación de la muestra:.....	49
2.5.4 Análisis de la Información	49
2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	50

2.6.1 Selección de cebador que genera más polimorfismo.....	50
2.6.2 Gel de poliacrilamida, corrida en el laboratorio de Biotecnología de la facultad de Agronomía.	50
2.6.3 Análisis de Grupos	51
2.6.4 Análisis estadístico de las bandas obtenidas	56
2.7 CONCLUSIONES.....	59
2.8 RECOMENDACIONES	60
2.9 BIBLIOGRAFÍAS	61
2.10 ANEXOS	64
2.10.1 Glosario	94
CAPITULO III	102
SERVICIOS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE PLANTACIONES DE PIÑÓN (<i>Jatropha curcas L.</i>), EN DIFERENTES COMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE MASAGUA, DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA.....	102
3.1 PRESENTACION	103
3.2 OBJETIVOS	104
3.2.1 Objetivo General	104
3.2.2 Objetivos Específicos.....	104
3.3 METODOLOGÍA.....	105
3.4 RESULTADOS	106
3.4.1 Construcción de vivero para la reproducción de Piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>).....	106
3.4.1.1 Diseño del vivero	106
3.4.1.2 Capacidad del vivero	107
3.4.2 Establecimiento de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla.....	108
3.4.3 Asesoría técnica para el manejo de plantaciones de Piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla.....	110

3.4.3.1 Muestreo de suelos	110
3.4.3.2 Muestreo de agua.....	110
3.4.3.3 Muestreo foliar	110
3.4.3.4 Interpretación de resultados de análisis de suelo	111
3.4.3.5 Equipo de aplicación.....	111
3.4.3.6 Control de malezas.....	111
3.4.3.7 Poda	112

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Zonas de vida Municipio Masagua, Escuintla.....	8
Cuadro 2:	Listado con la extensión, distancia de siembra y numero de plantas de cada parcela que se establecerá con piñón	11
Cuadro 3:	Listado con los propietarios, la ubicación y extensión de cada parcela de Piñón.	12
Cuadro 4:	Información obtenida con la boleta de encuesta durante el diagnostico. ..	13
Cuadro 5.	Rendimiento proyectado por hectárea en plantación piloto en Morelos, México	33
Cuadro 6.	Comparación entre el biodiesel de J. curcas, diesel y la norma oficial de la Unión Europea (U.E.) y Estados Unidos (E.U.).....	34
Cuadro 7.	Tabla SPSS varianza total explicada por las bandas amplificadas	69
Cuadro 8.	Tabla SPSS varianza total explicada por los componentes principales calculados	73
Cuadro 9.	Tabla SPSS Coordenadas calculadas para todos los materiales de <i>Jatropha curcas L.</i> , para plotear el grafico de componentes principales:.....	74
Cuadro 10.	Tabla SPSS Matriz primaria de similitud Coeficientes Bloques de Ciudad.....	75
Cuadro 11.	Codificación de las bandas de ADN productos de la electroforesis en gel de Poliacrilamida para cada uno de los materiales de <i>Jatropha curcas L.</i> , en estudio.....	76
Cuadro 12.	Parcelas establecidas con piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	108

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ubicación geográfica del municipio de Masagua, departamento de Escuintla, Guatemala.	3
Figura 2.	Reunión Comunal I.....	17
Figura 3.	Llenado de boletas de diagnostico	18
Figura 4.	Piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	27
Figura 5.	Tallo de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	27
Figura 6.	Hoja de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	28
Figura 7.	Flor de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>).....	28
Figura 8.	Fruto de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	29
Figura 9.	Semilla de piñón (<i>Jatropha curcas L.</i>)	29
Figura 10.	Distribución de muestras colectadas en diferentes cercos de las comunidades de Llanitos y Las Guacas.....	44
Figura 11.	Órgano de la planta tomado para la muestras	44
Figura 12.	Gel de agarosa, utilizada para seleccionar la combinación que mejor funcione para todas las muestras estudiadas (combinación “A” en el círculo)	50
Figura 13.	Gel de Poliacrilamida, en donde se representan las 176 posiciones de las bandas, a partir de esta se generó la matriz binaria requerida para utilizar NTSYS-pc.....	51
Figura 14.	Relaciones genómicas representadas en forma de árbol, producto del análisis de AFLPs de materiales de <i>Jatropha curcas L.</i> , basado en la presencia/ausencia de bandas en 176 posiciones y transformadasa matriz de distancia utilizando NTSYS-pc.	52

Figura 15.	Gráfico SPSS de sedimentación, en donde en el eje “X” se distribuyen las bandas y en el eje “Y” la dispersión acumuladas no explicada.....	56
Figura 16.	Gráfico SPSS de componentes principales tridimensional para los materiales de <i>Jatropha curcas</i> L.	57
Figura 17.	Árbol muestreado en la aldea Llanitos LLMR04.....	64
Figura 18.	Árbol muestreado en la aldea Las Guacas LGAG11.....	64
Figura 19.	Muestras en termociclador, en proceso de PCR.....	65
Figura 20.	Corrida de muestras en gel de agarosa, en equipo de electroforesis.	65
Figura 21.	Equipo de electroforesis para gel de poliacrilamida.	66
Figura 22.	Corrida de muestras en gel de poliacrilamida.	66
Figura 23.	Proceso de revelado, gel en solución de tinción.	67
Figura 24.	Proceso de revelado, gel en ácido acético.....	67
Figura 25.	Proceso de lectura de bandas de ADN en gel de poliacrilamida.....	68
Figura 26.	Gel de poliacrilamida después de realizada la lectura de bandas de ADN	68
Figura 27.	Diseño del vivero.....	106
Figura 28.	Capacidad del vivero.....	107
Figura 29.	Establecimiento de parcelas de piñón.....	108
Figura 30.	Establecimiento de parcelas de piñón.....	109
Figura 31.	Parcela de piñón	109
Figura 32.	Capacitaciones teóricas	112
Figura 33.	Capacitaciones Prácticas	114

RESUMEN

El municipio de Masagua se encuentra en el departamento de Escuintla, en la costa sur de Guatemala. En esta región del país, las principales actividades económicas son la agricultura y la ganadería, aunque la ganadería se ha reducido debido al crecimiento del cultivo de la caña de azúcar.

La universidad de Texas A&M, por medio del Instituto Norman Borlaug, ha desplegado proyectos de desarrollo comunitario en el departamento de Escuintla, actualmente impulsa un proyecto para la elaboración de Biodiesel a base de Piñón (*Jatropha curcas L.*), y selecciono diferentes comunidades del municipio de Masagua, para establecer en una de ellas una planta procesadora de Biodiesel.

Por medio un diagnostico con ayuda de una encuesta, se determino que existe un total de 11 personas que se interesan en establecer plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua Escuintla, con una extensión total de 26.3 manzanas a diferentes distancias, para lo que es necesario producir 32,191 plántulas.

La costa sur por sus condiciones de clima y suelo, cumple con los requerimientos del piñón, convirtiéndose en una zona con mayor potencial para este cultivo pues en la región el piñón crece en áreas marginales sin uso agrícola durante la época seca.

En las comunidades de Llanitos y Las Guacas, se está impulsando por medio de el instituto Borlaug de Texas A&M university, la industria de Biocombustibles a partir de piñón, y aunque se conoce que en estas comunidades se utiliza el piñón como barrera viva en los cercos y podría utilizarse para el establecimiento de plantaciones, por su adaptación, no se conoce que tipo y calidad de material es el que se tiene y es necesario para ello realizar un estudio de este material, que permita conocer la Variabilidad genética del piñón.

Esta investigación se perfila como una herramienta para hacer un buen uso de la riqueza de los recursos fitogenéticos para programas de mejoramiento, pues en la

actualidad Guatemala no cuenta con un material mejorado que proporcione altos rendimientos en la producción de aceite de piñón y que lo convierta en una nueva alternativa tanto para el sector agrícola como una nueva fuente de trabajo y también para el país como una nueva fuente de energía renovable, que permita ser competitivos y menos dependientes de los hidrocarburos.

Se presenta un estudio molecular, libre de todo efecto ambiental, de los materiales de *Jatropha curcas L.* de las comunidades de Llanitos y Las Guacas, que brinda información sobre su diversidad genética, en donde se establece que existen relaciones genéticas que guardan los materiales entre si, la información generada es de utilidad para el mejoramiento genético, en la elección de materiales, el esquema de agrupamiento es útil en taxonomía para definir y verificar taxa menores.

En general se observa que existe una variabilidad del 60% en el total de muestras estudiadas, y aunque algunas muestras presenten índices de parentesco entre si no existe con certeza ninguna muestra que sea exactamente igual a otra, a pesar de que en la mayoría de muestras proviene de clones que se vienen realizando durante muchas décadas con los establecimientos de cercos para potreros para ganado, conservando así muchos materiales genéticos, lo que deja claro que todo el material que existe en los cercos no se reprodujo del mismo material genético si no a partir de un sin número de materiales que aun queda por estudiarlos.

Durante el desarrollo de las actividades del ejercicio profesional supervisado se generaron una serie de servicios orientados a establecer plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*), se diseñó un vivero para la reproducción de plántulas de piñón, se establecieron plantaciones, sembrando de forma directa durante la época lluviosa y se brindaron una serie de capacitaciones teóricas y prácticas, para el manejo y cuidado de las plantaciones.

CAPITULO I

**DIAGNOSTICO PARA LA REPRODUCCION SEXUAL DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.),
EN CUMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE MASUGUA, DEPARTAMENTO DE
ESCUINTLA.**



1.1 PRESENTACION

El municipio de Masagua se encuentra en el departamento de Escuintla, en la costa sur de Guatemala. En esta región del país, las principales actividades económicas son la agricultura y la ganadería, aunque la ganadería se redujo debido al crecimiento del cultivo de la caña de azúcar. La población que cuenta con extensiones que van desde pequeñas hasta medianas, son los que todavía se dedican a la ganadería y agricultura.

La universidad de Texas A&M, por medio del Instituto Norman Borlaug, ha desplegado proyectos de desarrollo comunitario en el departamento de Escuintla, actualmente impulsa un proyecto para la elaboración de Biodiesel a base de Piñón (*Jatropha curcas L.*), y selecciono diferentes comunidades del municipio de Masagua, para establecer una planta procesadora, por lo que fue necesario investigar si existen personas que estén interesadas en establecer plantaciones de Piñón para abastecer de materia prima la planta.

Luego de todo el proceso que dio a conocer el proyecto y que beneficios traería para las comunidades, se realizó una encuesta para determinar quien se interesó en establecer plantaciones de Piñón, que extensión le interesa establecer, a que distancia establecerá el cultivo y la ubicación del terreno en donde se establecerá la plantación.

Por medio de la encuesta se determino que existe un total de 11 personas que se interesan en establecer plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua Escuintla, con una extensión total de 26.3 manzanas a diferentes distancias, para lo que es necesario producir 32,191 plántulas.

Basados en los resultados encontrados, se construirá un vivero que permita reproducir la cantidad de plántulas necesarias para establecer las plantaciones iniciales y futuras.

1.2 Marco Referencial.

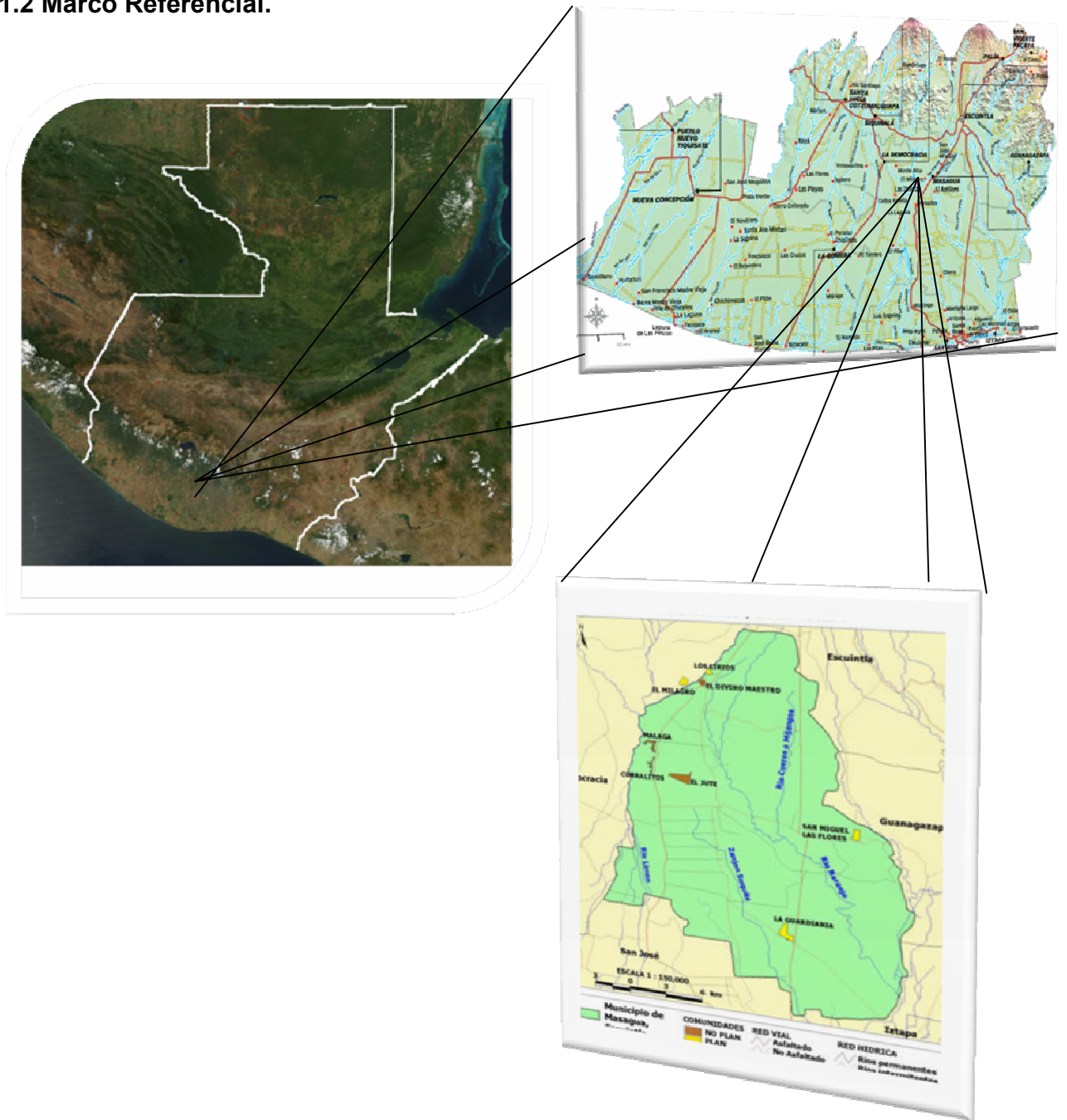


Figura 1. Ubicación geográfica del municipio de Masagua, departamento de Escuintla, Guatemala.

1.2.1 MASAGUA

De acuerdo con la Ley Preliminar de Regionalización de la República de Guatemala, Masagua y los municipios del Departamento de Escuintla, pertenecen a la Región V o Central, integrada también por los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango. Esta región tiene una extensión territorial de 6,827 km², equivalente al 6.27% del territorio nacional. De este territorio, Masagua ocupa 448 km² equivalente al 6.6% del territorio regional y 10.2% del territorio departamental de Escuintla, que tiene una extensión de 4,384 km².

Masagua es uno de los municipios del Departamento de Escuintla y desde Guatemala, se puede acceder por la ruta nacional 3 o carretera Interoceánica CA-9, que en el departamento une la cabecera, Escuintla, con el Puerto de San José. Es de aclarar que esta carretera quedó marginada por la construcción de la autopista hacia Puerto Quetzal, con lo que las poblaciones quedaron sobre una ruta ahora convertida en secundaria.

La altitud promedio del municipio es de 100 msnm, sin mayores variaciones. Su cabecera municipal se ubica en los paralelos:

Longitud: 90°51'34"

Latitud: 14°12'05"

Sus colindancias son:

Norte: Escuintla y San Vicente Pacaya

Este: Guanagazapa e Iztapa

Sur: San José

Oeste: La Democracia.

La población consta de 32,245 personas, para una densidad poblacional es de 72 hab/km², inferior a la media nacional que se ubica en 117 hab/km², para 2004. El idioma predominante en el municipio es el castellano, pues la población indígena es mínima.

1.2.1.1 Sector Económico

La actividad económica principal de Masagua se concentra en el sector primario, en especial en la agricultura, ocupando a un 60.5% de la PEA.

Las actividades económicas principales en el municipio de Masagua, son:

1.2.1.2 Agricultura

El 65.0% de los hombres del municipio comprendidos en la PEA se dedican a la agricultura, mientras en el caso de las mujeres es el 30.9%.

La caña de azúcar es la principal producción del municipio, alcanzando a generar más de 1, 140,000 quintales y duplicando la extensión dedicada a otras actividades productivas, como por ejemplo la ganadería.

1.2.1.3 Pecuaria

La actividad pecuaria se manifiesta tanto en la economía familiar de subsistencia (algún ganado mayor, algunas aves de corral), tanto como en la economía tecnificada. Existe una empresa que se dedica a la explotación de pollo de engorde, con una producción de 1, 282,275 unidades al año.

La industria láctea es también importante, alcanzando una producción de 5, 400,000 litros de leche, lo que significa que la ganadería también contribuye a la homogeneización del paisaje, al convertir en pastizales los territorios que antes albergaban bosques.

1.2.2 Clima del Municipio

Para determinar el clima de un espacio geográfico, es necesario tomar en cuenta todos los factores edáficos que intervienen en el mismo. Para el espacio geográfico que delimita el Municipio de Masagua, los factores que intervienen son los siguientes:

1.2.2.1 Hidrografía

El Municipio de Masagua está irrigado por los siguientes ríos, 19 en total:

- Achiguate
- Cueros o Mijangos
- La Pedrera
- Piedras Coloradas
- Ceniza
- La Cañada
- Limón
- Ulapa
- Cristalino
- La Mora
- Naranjo.
- Agua Zarca
- Escalante
- La Virgen
- Quitasombrero
- Botón Blanco
- Guacalate
- Las Hojas
- Seco

Existe, además, un riachuelo de nombre Placetas. Los zanjones conocidos son: El Pájaro, Las Pozas, Orruego, La Morita , Los Ayotes, Poza de Dolores, Suquite, Las Malicias, Marucas, Santa Elena y Zarco. Entre las quebradas se encuentran: del Hacha, Frijolillar, Las Cañas, Monte Largo, del Muerto, Guayabillo, Las Trozas, Quiebra, Hacha Seca, El Perol, La Pedrera , Limón y Quitasombrero. Completan el panorama hidrográfico las lagunetas Cara Sucia, El Flor, El Lobón y Orruego.

Los ríos Achiguate y Guacalate son los más caudalosos. El Achiguate es el más conocido no solo por su caudal, sino por los daños que ocasiona anualmente al salirse de

cauce, lo que desnuda la falta de planes tanto de prevención como de atención a las emergencias. Como siempre, la población pobre es la más expuesta a la vulnerabilidad.

El manantial Poza de San Juan proporciona el agua que surte a la cabecera municipal. La profundidad de la capa freática es de 2 a nueve metros.

1.2.2.2 Temperatura

El carácter del clima es cálido húmedo, teniendo la temperatura una media anual de 25.5°, con variación mínima de 3.8° entre los meses menos cálidos (noviembre-enero, con temperaturas promedio de 23.9) y los meses más calurosos (marzo-mayo, con temperaturas medias de 35°). La distribución diaria de la temperatura sigue una curva que alcanza los valores máximos entre las 12:00 y las 15:00 horas y los valores mínimos entre las 19:00 y las 07:00 horas.

1.2.2.3 Precipitación Pluvial

La precipitación pluvial oscila entre 703 a 2063 mm anuales, siendo los meses lluviosos de abril a octubre, con los últimos dos meses como los que tienen mayores precipitaciones. La lluvia cae en promedio de 109 a 115 días de lluvia.

En cuanto a la humedad relativa, puede llegar hasta 90%, de acuerdo al régimen de lluvias. Las fluctuaciones diarias que se observan tienen una variación entre la tarde-noche y la madrugada (17:00 a 06:00), llegando a tener valores cercanos a la saturación. La humedad relativa a medio día es relativamente poca.

1.2.2.4 Geología

La erosión de las montañas del norte del departamento de Escuintla provocó a lo largo de los milenios, que los ríos depositaran enormes cantidades de sedimentos. Por su parte, los volcanes también contribuyeron con enormes masas de cenizas. De esta manera, la planicie en que se encuentra Masagua está formada por materiales volcánicos variados, en forma de sedimentos aluviales o como productos eruptivos.

El clima y las condiciones del suelo han permitido la diversidad de zonas de vida con que cuenta el país. En la región de la costa sur se pueden identificar primordialmente

dos zonas de vida: el bosque húmedo sub-tropical cálido y el bosque muy húmedo sub-tropical cálido. Sin embargo, en la actualidad es raro encontrar vegetación en estado natural, pues los bosques cedieron paso al cultivo de la caña de azúcar, el algodón, a los pastos. Con baja densidad se pueden encontrar algunas de las especies sobrevivientes: cedro, caoba, conacaste, matilisguate, las cuales tienen un importante valor económico.

La configuración edáfica condiciona la climatología y las características de las unidades bioclimáticas, según el Mapa Temático “Zonas de Vida Holdridge”.

1.2.3 Zonas de Vida, Holdridge

Cuadro 1. Zonas de vida Municipio Masagua, Escuintla

Bosque Húmedo Subtropical Cálido
Precipitación Pluvial Promedio : 1826mm/año, oscilación (1587mm/año a 2066mm/año)
Temperatura : entre 21 o C y 25 o C
Relieve : Plano a accidentado
Condiciones Climáticas : variables por influencia de vientos
Especies Representativas : corozo, volador, conacaste, puntero, mulato
Uso Apropriado : fitocultivos
Principales Cultivo: caña de azúcar, banano, café hule, cacao. Cítricos, maíz, frijol, arroz, citronela

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

- Conocer las condiciones actuales para el establecimiento de plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*) en comunidades del municipio de Masagua.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Conocer el área total disponible para el establecimiento de Piñón (*Jatropha curcas L.*)
- Conocer la distancia de siembra a las que serán establecidas las plantaciones.
- Determinar la demanda de plántulas de Piñón (*Jatropha curcas L.*)

1.4 Metodología

En una fase inicial se realizaron reuniones en las que se dio a conocer el proyecto, los beneficios que tiene y como ser parte del mismo.

Se realizó una reunión con las personas que pertenecen a las diferentes comunidades del municipio de Masagua, en donde se realizó una encuesta por medio de una boleta (Ver anexo 1), en la que se realizan una serie de cuestionamientos para obtener toda la información necesaria para determinar si cuenta con área disponible para el establecimiento de piñón, a cuanto equivale esta área y a que distancia desea establecer el cultivo, tomando en cuenta tres distanciamientos propuestos (2.0 m x 2.0 m, 2.5 m x 2.5 m ó 3.0 m x 3.0).

Los distanciamientos propuestos están basados en el propósito (monocultivo o cultivos en asocio), así como las ventajas y desventajas de los mismos.

Con estos datos se determino el número de personas que iniciaran los establecimientos de plantaciones, la extensión de terreno que establecerán y la distancia que se utilizara, esta información se utiliza para calcular la demanda de plántulas de piñón, para el establecimiento de las plantaciones, en diferentes comunidades del municipio de Masagua.

El cálculo de la demanda se realizo con la siguiente operación:

$$1 \text{ manzana} = 7,000 \text{ m}^2$$

Distancia de siembra: 2.5 X 2.5 (con fines de ejemplo)

$$\text{Número de plántulas: } 7,000 \text{ m}^2 / (2.5 \times 2.5) = \mathbf{1120 \text{ plántulas.}}$$

1.5 RESULTADOS

Los datos obtenidos por medio de la encuesta se presentan en las siguientes tablas:

Cuadro 2: Listado con la extensión, distancia de siembra y numero de plantas de cada parcela que se establecerá con piñón

EXTENCION	DISTANCIA DE SIEMBRA (m)	No. DE PLANTULAS
01 MANZANA	2X2	1,750
1.43 MANZANAS	3X3	1,112
03 MANZANAS	2.5X2.5	3,360
03 MANZANAS	2.5X2.5	3,360
05 MANZANAS	3X3	3,889
2.8 MANZANAS	2X2	5,000
0.5 MANZANAS	2.5X2.5	560
02 MANZANAS	2X2	3,500
0.5 MANZANAS	2.5X2.5	560
02 MANZANAS	2X2	3,500
05 MANZANAS	2.5X2.5	5,600
26.3 MANZANAS	TOTAL	32,191

Se cuenta con una extensión total de 26.3 manzanas para el establecimiento del Piñón (*Jatropha curcas L.*), distribuidas en diferentes comunidades del municipio de Masagua, para establecer estas parcelas se necesita un total de 32,191 plántulas de piñón, estos datos son iniciales, pues con el transcurso del tiempo se agregaran mas personas que se interesen en establecer el cultivo. Las distancias de siembra que se

utilizan son las tres propuestas y esto depende del propósito que tenga cada agricultor, la distancia mas utilizada es la de 2.5 x 2.5 m, ya que esta permite que exista un mayor espacio entre cada poda de mantenimiento y reduce los gastos de manejo, la distancia de 3 x 3 m, solo la utilizan los agricultores que establecerán cultivos en asocio con el piñón y la distancia de 2 x 2 m, permite tener mas árboles por unidad de área, pero se deben realizar un mayor numero de podas por unidad de tiempo, ya que el espacio entre arboles es bastante reducido.

Cuadro 3: Listado con los propietarios, la ubicación y extensión de cada parcela de Piñón.

PROPIETARIO	UBICACIÓN	EXTENSIÓN
Carlos Alberto Rodríguez	Parc. Cuyuta	2 Manzanas
Francisco Carias	Parc. Cuyuta	1.43 Manzanas
Francisco García Lucero	Parc. Cuyuta	3 Manzanas
Freddy Grajeda Roldán	Las Guacas	5 Manzanas
Gloria Mercedes Portillo	Botón Blanco	5 Manzanas
José Rubén Rivas	Parc. Cuyuta	0.5 Manzanas
Luis Fernando Roca	Llanitos	0.5 Manzanas
Manuel Felipe Arenales	Parc. Cuyuta	2 Manzanas
Miguel Ángel Pirir	Parc. Cuyuta	1 Manzana
Olimpia Hernández	Parc. Cuyuta	3 Manzanas
Salvador Portillo	Pampas	2.8 Manzanas

Cuadro 4: Información obtenida con la boleta de encuesta durante el diagnostico.

Nombre	No. cedula	Comunidad	Cuenta con terreno para establecer piñón		Área (Mz)	Terreno propio	Terreno arrendado	Distancia de siembra		
			Si	No				2x2	2.5x2.5	3x3
Carlos Alberto Rodríguez	E- 5 28,239	Parc. Cuyuta	X		2	X		X		
Francisco Carias	E-5 23,374	Parc. Cuyuta	X		1.43	X				X
Francisco García Lucero	E-5 18,981	Parc. Cuyuta	X		3	X			X	
Freddy Grajeda Roldán	-----	Las Guacas	X		5	X	X			X
Gloria Mercedes Portillo	A-1 350,472	Botón Blanco	X		5	X			X	
Horacio Pichardo	A-1 641,468	Cuyuta	P		---	X				X
José Francisco Alfaro	E-5 33,820	Las Guacas		X	---		X			
José Rubén Rivas	E-5 23,355	Parc. Cuyuta	X		0.5	X			X	
Luis Felipe Contreras	E-5 9,579	Obero		X	---					
Luis Fernando Roca	E-5 18,603	Llanitos	X		0.5	X			X	

Manuel Felipe Arenales		Parc. Cuyuta	X		2	X		X		
Miguel Ángel Pirir	E-5 13,799	Parc. Cuyuta	X		1	X		X		
Miguel Ángel Sandoval	E-5 13,028	Obero		X	---					
Olimpia Hernández Salguero	E-5 28,899	Parc. Cuyuta	X		3	X			X	
Paola morales Monroy	F-6 23,373	Parc. Cuyuta		X	---					
Raymundo Ochoa Revolorio	E-5 10,659	Centro Urbano		X	---					
Salvador Portillo	E-5 157,810	Las Pampas	X		2.8	X		X		
Vinicio Zamora	B-2 28,155	Llanitos	P	X	---	X			X	

En base a la información obtenida durante el diagnóstico, se observa que existen 11 personas que están interesadas en establecer plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*), se cuenta con una extensión total de 26.3 manzanas para lo que se tendrá que producir 32,191 plántulas. Para cubrir la demanda de plántulas de piñón se construirá un vivero, en la comunidad de Llanitos, Masagua Escuintla.

1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se determinó el área que cada uno de los 11 socios establecerá con Piñón (*Jatropha curcas* L.), pudiendo así conocer el área inicial con la que se contara para el establecimiento, siendo esta 18.4 hectáreas o 26.3 manzanas
- En base a la información obtenida por la encuesta se conoció la distancia de siembra que utilizará cada uno de los socios que realizarán el establecimiento de Piñón (*Jatropha curcas* L.), siendo las distancias mas utilizadas las siguientes: 2 X2 m y 2.5 X 2.5 m
- Después de conocer el área a establecer y la distancia de siembra que utilizara cada uno de los socios se pudo determinar el numero de plántulas que se necesita reproducir para cada parcela y el total de plántulas, información que es necesaria para el diseño del vivero de reproducción.
- Debido a que solo el 61% de los socios encuestados esta en la disposición de establecer una parcela de Piñón y asumiendo que en el futuro se integrarán más socios al proyecto, se recomienda realizar nuevamente la encuesta para conocer la cantidad de plántulas que se deben producir para establecimientos futuros.
- Se recomienda realizar periódicamente la encuesta, para conocer si los socios desean incrementar la extensión del área establecida y se existen nuevos socios para conocer si desean establecer una parcela con Piñón (*Jatropha curcas* L.).

1.7 ANEXOS

1. BOLETA DE DIAGNOSTICO PARA REPRODUCCION DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) EN COMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE MASAGUA, DEPARAMENTO DE ESCUINTLA.

Nombre: _____

No. de cedula: _____ No. Tel: _____

Comunidad: _____ Firma: _____

1. Cuenta usted con una extensión de terreno para establecer plantaciones de

Piñón: SI _____ NO _____

Si su respuesta es SI especifique:

El área que le interesa sembrar:

2. El terreno es: Propio _____ Arrendado _____

3. La distancia a la que le interesa sembrar:

2.0 m x 2.0 m _____ 2.5 m x 2.5 m _____ 3.0 m x 3.0 m _____



Figura 2. Reunión Comunal I

A, B y C) presentacion de Diagnostico y planes de servicios durante la Reunión Comunal I

D) entrega de boletas de encuesta para diagnostico.




Figura 3. Llenado de boletas de diagnostico

A) Llenado de boletas y B) Los participantes exponiendo sus dudas

1.8 BIBLIOGRAFIA

1. CONAP (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, GT). 2006. Mapa de zonas de vida de Holdridge (en línea). Guatemala. Consultado 4 abr 2008. Disponible en: <http://www.conap.gob.gt:7778/informacion/arepro/mapas-tematicos/zonas-de-vida-de-holdridge/mapa-tematico-vida-de-holdridge>
2. IGN (Instituto Geográfico Militar, GT). 1985. Mapa topográfico de la república de Guatemala: hoja Escuintla, no. 2058-IV. Guatemala. Esc. 1:50,000. Color.
3. SIM (Servicio de Información Municipal, GT). s.f. Municipio de Masagua (en línea). Guatemala. Consultado 12 mar 2008. Disponible en <http://www.inforpressca.com/municipal>

CAPITULO II



ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL PIÑÓN (*Jatropha curcas L.*), EN DIFERENTES CERCOS DE LAS COMUNIDADES DE LLANITOS Y LAS GUACAS, DEL MUNICIPIO DE MASAGUA, DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA

2.1 RESUMEN

Actualmente a nivel mundial se registra un alza considerable en los precios del petróleo y sus derivados, lo cual influye en forma directa en la economía del país, esto ha obligado la búsqueda de nuevas alternativas que generen energía renovable. Dentro de las nuevas alternativas se encuentra el piñón (*Jatropha curcas L.*), del cual podemos obtener materia prima para la elaboración de biocombustibles, que además de ser renovable y de menor impacto ambiental que los combustibles derivados del petróleo, amplía el nivel de ocupación para el sector rural.

La costa sur por sus condiciones de clima y suelo, cumple con los requerimientos del piñón, convirtiéndose en una zona con mayor potencial para este cultivo pues en la región el piñón crece en áreas marginales sin uso agrícola durante la época seca.

En las comunidades de Llanitos y Las Guacas, se está impulsando por medio de el instituto Borlaug de Texas A&M university, la industria de Biocombustibles a partir de piñón, y aunque se conoce que en estas comunidades se utiliza el piñón como barrera viva en los cercos y podría utilizarse para el establecimiento de plantaciones, por su adaptación, no se conoce que tipo y calidad de material es el que se tiene y es necesario para ello realizar un estudio de este material, que permita conocer la Variabilidad genética del piñón.

Esta investigación se perfila como una herramienta para hacer un buen uso de la riqueza de los recursos fitogenéticos para programas de mejoramiento, pues en la actualidad Guatemala no cuenta con un material mejorado que proporcione altos rendimientos en la producción de aceite de piñón y que lo convierta en una nueva alternativa tanto para el sector agrícola como una nueva fuente de trabajo y también para el país como una nueva fuente de energía renovable, que permita ser competitivos y menos dependientes de los hidrocarburos.

Se presenta un estudio molecular, libre de todo efecto ambiental, de los materiales de *Jatropha curcas L.* de las comunidades de Llanitos y Las Guacas, que brinda información sobre su diversidad genética, en donde se establece que existen relaciones genéticas que guardan los materiales entre si, la información generada es de utilidad para el mejoramiento genético, en la

elección de materiales, el esquema de agrupamiento es útil en taxonomía para definir y verificar taxa menores.

La colecta de los materiales se focalizó en sitios de la siguiente manera, en la comunidad de Llanitos 7 materiales, en la comunidad Las Guacas 6 materiales, todos los árboles fueron muestreados de los diferentes cercos que existen en estas comunidades y cada uno de ellos proviene de una reproducción asexual, ya que esta es la única que se utiliza para reproducir el piñón con fines de establecerlo en los cercos. Los materiales que se utilizaron como referencia, fueron colectados en una región de la costa sur de Guatemala que es considerada como bosque seco y estos arboles provienen de una reproducción sexual, se tomaron 2 en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla.

En general se observa que existe una variabilidad del 60% en el total de muestras estudiadas, y aunque alguna muestras presenten índices de parentesco entre si no existe con certeza ninguna muestra que sea exactamente igual a otra, a pesar de que en la mayoría de muestras proviene de clones que se vienen realizando durante muchas décadas con los establecimientos de cercos para potreros para ganado, conservando así muchos materiales genéticos, lo que deja claro que todo el material que existe en los cercos no se reprodujo del mismo material genético si no a partir de un sin numero de materiales que aun queda por estudiarlos.

Con el programa SPSS se realizó un análisis de componentes principales por medio del cual se determino el porcentaje de contribución que cada una de las bandas aporta para explicar la varianza observada. Se observa que conforme se van agregando bandas, la varianza no explicada disminuye asintóticamente hasta que llega a cero, esto ocurre con la banda número 14. Dado que se obtuvieron 176 bandas, se puede afirmar que el estudio de la diversidad del piñón (*Jatropha curcas L.*), utilizando el marcador molecular AFLPs, es suficiente para estimar la diversidad genética de los materiales de las comunidades de Llanitos y Las Guacas. Se puede confiar en que los modelos elaborados son representativos de la dispersión observada.

2.2 INTRODUCCIÓN

Ante el grave problema de la contaminación ambiental, el hecho de que las reservas de combustibles fósiles se agotarán en un futuro y el incremento del precio internacional del crudo, muchos países han decidido impulsar el desarrollo y uso de fuentes de energía alternativa, que ofrecen grandes ventajas sobre las fuentes actuales, ya sea por su menor efecto contaminante o fundamentalmente por su posibilidad de renovación.

En Guatemala se ha iniciado trabajando con algunas fuentes alternativas, tal es el caso de los Ingenios, que actualmente producen etanol y recientemente se está impulsando la producción de Biodiesel a base de piñón (*Jatropha curcas L.*), el cual no forma parte de los cultivos básicos, resguarda la seguridad alimentaria y que por sus ventajas agronómicas (requerimientos de agua, suelo, temperatura, altitud sobre el nivel del mar, etc.), en comparación con otros cultivos, puede dar un impulso a la agricultura del país.

Se tiene conocimiento de que el piñón (*Jatropha curcas L.*), tiene su origen en México y Centroamérica. En Guatemala se utiliza solo como barrera viva en los cercos y prácticamente crece de forma silvestre en aéreas marginales y sin uso agrícola durante la época seca, demostrando que es una planta adaptada a las condiciones del área, situación que permite la posibilidad de poder utilizar éste material para reproducirlo y establecer plantaciones, para esto es necesario primero realizar un estudio de variabilidad genética y conocer el tipo y calidad del material que existe.

Es importante aclarar que para establecer el piñón no sería necesario sustituir los cultivos existentes, pues podrían utilizarse todas aquellas tierras marginales, sin uso agrícola o no aptas para la agricultura, y de esta manera obtener un ingreso extra con la venta de semilla y/o aceite de piñón. Esta actividad podría resultar muy remunerable para el país principalmente para el sector agrícola, que actualmente atraviesa por una severa crisis.

El presente proyecto de investigación persigue el estudio de la variabilidad de los materiales genéticos del piñón, recolectados en las comunidades de Llanitos y las Guacas y dos recolectados en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla, los cuales fueron incluidos como referencia y cabe mencionar que estos fueron colectados porque provienen de una reproducción sexual, todos los materiales fueron colectados y preservados para su transporte hacia el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía en donde se desarrolló la metodología Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), esta metodología es considerada como uno de los marcadores de mas alta eficacia, se puede emplear en la construcción de mapas genéticos, para discriminar entre individuos cercanamente relacionados y para localizar genes específicos en genomas complejos.

Los resultados muestran que existe una amplia variabilidad entre los materiales en estudio, inclusive la variabilidad es tan alta que un material que proviene de una reproducción asexual y fue colectado en la comunidad Las Guacas presenta un coeficiente de parentesco de 0.78 con una muestra que proviene de una reproducción sexual y que fue colectada en el parcelamiento San Jerónimo de Sipacate, La Gomera Escuintla. Los resultados encontraron dejan de manifiesto que Guatemala es el centro de origen de la *Jatropha Curcas L*

2.3 MARCO TEÓRICO

2.3.1 Marco conceptual

2.3.1.1 Euphorbiaceae

La familia Euphorbiaceae es la sexta familia más diversa de las angiospermas, después de las Orchidaceae, Compositae, Leguminosae, Graminae y Rubiaceae. Presenta cinco subfamilias, 49 tribus, 317 géneros y cerca de 8100 especies, distribuidas en todo el mundo, con excepción de las zonas polares, estando mejor representadas en las regiones tropicales y subtropicales. (31)

Árboles, arbustos, hierbas o trepadoras; plantas monoicas o dioicas. Hojas alternas, a veces opuestas o raramente verticiladas, simples o palmatilobadas, enteras o dentadas, a veces glandulares en el peciolo o en los márgenes; estipuladas persistentes o caducas, a veces reducidas o ausentes. Inflorescencias cimosas, racemosas o espigadas, a veces pseudodánticas; perianto biseriado, uniseriado, reducido o ausente; sépalos mayormente 4 ó 5; pétalos generalmente 4 ó 5, frecuentemente reducidos o ausentes, disco floral entero o disecado, a veces ausente, estambres (1-) 3-20 (-400 o más), libres o unidos, anteras mayormente 2-loculares, con dehiscencia longitudinal; ovario supero, (1) 3 (-20)-carpelar, placentación axial, óvulos 1 ó 2 por lóculo, anátropos o hemítropos, insertados colateralmente debajo de un obturador, estilos libres o unidos, frecuentemente bifidos o multibifidos. Frutos generalmente capsulares y separándose en 3 cocos, o a veces abayados o drupáceos; semillas con una cubierta seca o carnosa, frecuentemente carunculadas, generalmente con endosperma. (31)

Familia con cerca de 317 géneros y 8100 especies, principalmente tropicales. (31)

2.3.1.2 Jatropha L.

Árboles, arbustos o hierbas, a veces suculento, tallos con látex pálido a coloreado; plantas monoicas o dioicas. Hojas alternas a subopuestas cuando están amontonadas en los brotes laterales, simples, no lobadas a palmatilobadas. Inflorescencias cimosas, axilares o terminales, largamente pedunculadas, flores con 5 sépalos imbricados; pétalos 5, disco anular a disecado; flores estaminadas con estambres 8 -10, filamentos connados,

flores pistiladas con ovario generalmente 3-locular, 1 ovulo por lóculo, estilos libres o connados, estigmas enteros o bífidos. Fruto capsular; semillas carunculadas. (31)

Género con cerca de 175 especies de América, África e India, mayormente en regiones secas tropicales o subtropicales. Varias especies, especialmente *J. curcas* L. han sido usadas como medicina; el aceite de las semillas de esta especie se usa como combustible y como laxante. (31)

2.3.1.3 *Jatropha curcas* L., Sp. Pl. 1006. 1753.

Arbustos o árboles, 1-5 m de alto; plantas monoicas. Hojas ovadas, a veces levemente 3-7 lobadas, 10-25 cm de largo y 9-15 cm de ancho, lobos agudos, base ampliamente cordada, glabrescente en el envés, peciolo 8-15 cm de largo, glabro, estípulas obsoletas. Dicasio terminal, 10-25 cm de largo; sépalos enteros, pétalos cohesionados, 5-6 mm de largo, hirsutos por dentro, verdosos o blanco-amarillentos; estambres 10; anteras 1-1.6 mm de largo; ovario glabro. Fruto ovoide a ligeramente 3-lobado, cerca 3 cm de largo y 2 cm de ancho, carnoso pero finalmente dehiscente; semillas de 15-22 mm de largo. (31)

Común en bardas y áreas alteradas especialmente en la zona pacífica; 0-1300 m; florea y fructifica todo el año. (31)

A. Taxonomía

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Filo/división: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Jatropha*

Especie: *Jatropha curcas* L.

Nombre común: Coquito, Capate, Tempate, Piñón, Piñoncito, Piñol, Higos del duende, Barbasco, Piñones purgativos, Periyansi (piro); Piñónjoshó (amahuaca); Wapa-wapa

oshe (ese eja); Josho pionis y Huiso pionis (shipibo-conibo), Peaó branco (portugués); Higo de infierno (Bolivia); Purga de fraile (Colombia), Tua tua (Venezuela); Sket'noto (Surinam). (33)



Figura 4. Piñón (*Jatropha curcas L.*)

Fuente: Aponte 1978

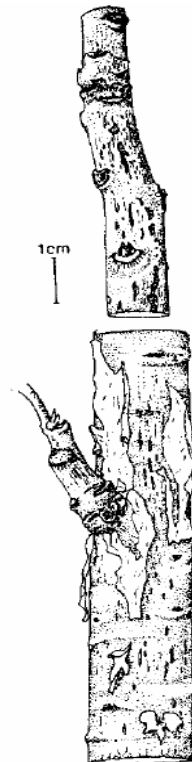


Figura 5. Tallo de piñón (*Jatropha curcas L.*)

Fuente: Aponte 1978

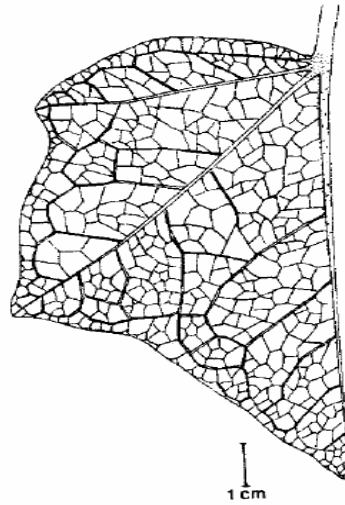


Figura 6. Hoja de piñón (*Jatropha curcas* L.)

Fuente: Aponte 1978

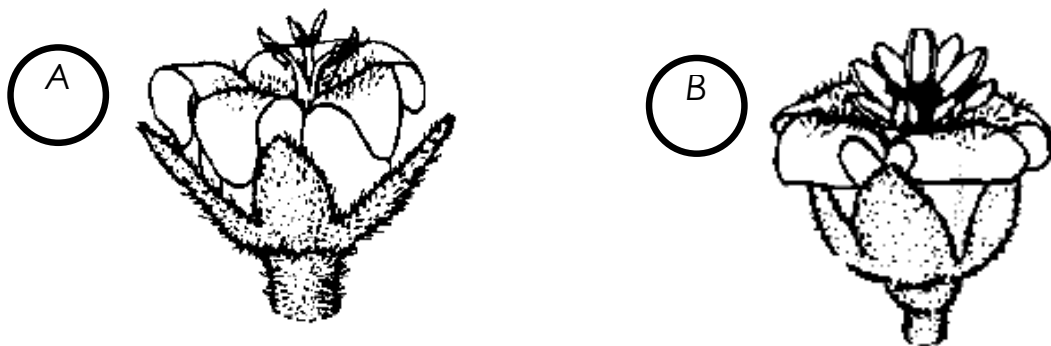


Figura 7. Flor de piñón (*Jatropha curcas* L)

A) Flor Pistilada y B) Flor Estaminada

Fuente: Dehgan 1984

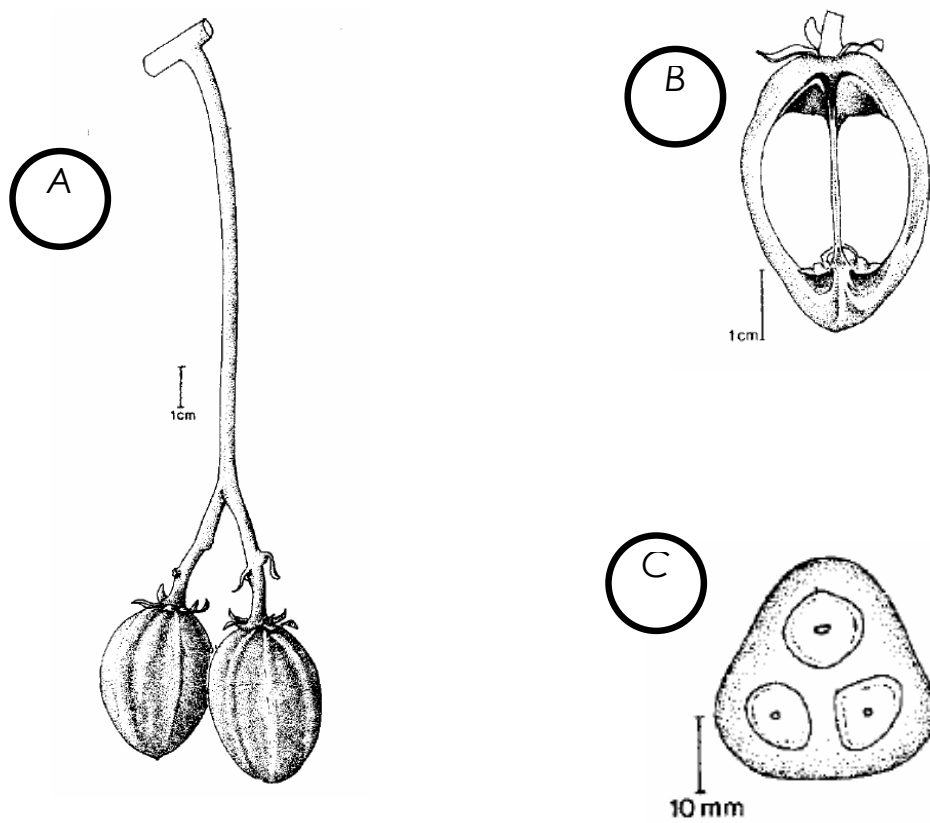


Figura 8. Fruto de piñón (*Jatropha curcas* L.)

A) Frutos, B) Corte longitudinal del fruto y C) corte transversal del fruto

Fuente: Aponte 1984

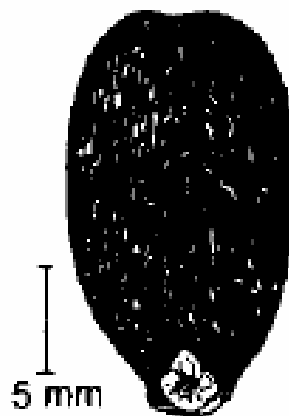


Figura 9. Semilla de piñón (*Jatropha curcas* L.)

Fuente: Aponte 1978

B. Hábitat

Requisitos ecológicos: La *Jatropha* crece casi en cualquier parte, incluso en las tierras cascajosas, arenosas y salinas, puede crecer en la tierra pedregosa más pobre, inclusive puede crecer en las hendeduras de piedras. La materia orgánica de las hojas del cobertizo refuerza la actividad del gusano de tierra alrededor de la zona de la raíz de las plantas que mejoran la fertilidad de la tierra. Climáticamente, *la Jatropha curcas L.* se encuentra en los trópicos y subtrópicos, le gusta el calor aunque también las más bajas temperaturas y puede resistir una escarcha ligera. Su requisito de agua es sumamente bajo y puede resistir períodos largos de sequedad por el derramamiento de la mayoría de sus hojas para reducir la pérdida durante la transpiración. (33)

C. Propagación

Por lo general, la semilla fresca muestra porcentajes altos de germinación (alrededor de 80%) y esta se inicia a los 10-30 días después de la siembra. Como tratamientos pregerminativos se ha utilizado remoción parcial de la testa, remojo en agua corriente durante 24 horas o tiempos alternos de remojo y secado. La siembra puede hacerse en camas de arena o directamente en bolsas, con la cicatriz de la semilla hacia abajo. (22)

En las bolsas se recomienda un sustrato franco a franco arenoso, preferiblemente mezclado con abono orgánico. Las plantas tardan 5-7 semanas para alcanzar alturas apropiadas para su establecimiento en el campo. (22)

D. Características

La planta de piñón (*Jatropha curcas L.*) puede implementarse como una planta productivamente rápida en situaciones adversas, tierras degradadas, clima seco, tierras marginales y al mismo tiempo ser parte de un sistema agrosilvicultural. Puede plantarse en las tierras que estén en período de barbecho y a lo largo de los límites de pastizales porque no crece demasiado alto, así como también es apropiada en los terrenos sin aprovechar junto a las vías férreas, carreteras y canales de irrigación (33)

Las principales bondades de la planta *Jatropha curcas L.*, son:

- Crecimiento en cualquier tipo de suelo.
- Puede sobrevivir períodos largos de sequedad.
- Puede producirse en áreas con bajo régimen de lluvia (250 mm por año).
- La propagación es fácil de implementar
- Produce frutos desde el primer año, se estabiliza en su producción en el quinto año y continúa durante 25-30 años produciendo frutos de buena calidad.
- Produce muchos productos y subproductos que pueden ser aprovechables. (21)

E. Principales usos

El aceite de la semilla es una fuente de energía renovable no convencional, de bajo costo y amigable con el ambiente, además de ser un sustituto para diesel, keroseno y otros combustibles. (22)

Quema sin producir humos y ha sido empleado para iluminación de calles cerca de Río de Janeiro. También se usa para preparar barnices después de ser quemado con óxidos de hierro, o como un excelente sustituto para aceites industriales. En Europa se usa en el hilado de lana y manufacturas textiles. (22)

Contiene toxinas venenosas, lo cual hace que no se pueda consumir y produzca irritaciones en la piel. Se ha usado como barbasco para pescar y para el control de plagas, a menudo con buenos resultados. En Gabón, las semillas molidas y mezcladas con aceite de palma se usan para matar ratas y es altamente tóxico para los humanos. (22)

El jugo de la hoja tiñe de color rojo y las telas de un color negro indeleble. La corteza tiene un 37% de taninos que dan un colorante azul oscuro. La ingestión de 2-3 semillas actúa como un purgante fuerte y se dice que la ingestión de 4-5 semillas puede causar la muerte. (22)

El látex tiene propiedades antibióticas contra algunas bacterias, además de efectos coagulantes y se aplica directamente en heridas y cortes como antiséptico, y para sarpullidos, quemaduras e infecciones de la piel. (22)

La pasta de prensar la semilla para aceite no puede usarse directamente como alimento para animales pues es tóxica para ellos. Sin embargo, si se le pasa por un proceso de destoxificación puede usarse sin problema para alimentar vacuno, cerdos y aves, pues contiene altos niveles de proteína (55-58%). Sin destoxificar, puede usarse como abono orgánico pues tiene un alto contenido en nitrógeno, similar al del estiércol de gallina. El contenido en nitrógeno varía del 3-4 %. Las ramas y hojas tiernas se usan también como abono verde para árboles de coco (*Cocos nucifera*). Es una planta fijadora de nitrógeno. (22)

F. Aportes e impactos.

Los principales aportes e impactos de un agrosistema de *Jatropha curcas L.*, se pueden enmarcar en los beneficios económicos, sociales y medioambientales. (24)

a. Económicos

El país podrá disponer de nuevos combustibles renovables (cáscara, leña y el aceite vegetal para producir biodiesel), lo que tendrá una influencia positiva en el mejoramiento de la matriz energética, así como posibilitará una mayor diversificación de los combustibles que participan en la economía energética, en especial la biomasa (al aportar nuevos combustibles renovables). (24)

Estas materias primas y sus subproductos de los procesos industriales (aceites, glicerol, torta, cáscara, etc.) pueden tener otros empleos económicos (insecticidas, abono, alimento animal, y otros), de acuerdo con la factibilidad económica, así como generar empleos, desarrollo de agroindustrias y reducción de las importaciones de combustibles y otras materias primas, y generar nuevos rubros exportables. (24)

b. Sociales

Puede contribuir a la solución de problemas de energía en el área rural, como un nuevo combustible para las cocinas, lámparas de alumbrado, las maquinarias, etc., lo que influye en una elevación de la calidad de vida. (24)

c. Medioambientales

El desarrollo de un agrosistema de *Jatropha curcas L.*, y el aprovechamiento de su biomasa pueden propiciar un incremento de las áreas boscosas y frenar la deforestación en los ecosistemas más frágiles, en especial en las regiones semiáridas y secas no aprovechadas por la agricultura, la regeneración de esos suelos, el incremento de la biodiversidad, la disminución de las emisiones de gases contaminantes, etc. (24)

2.3.1.4 Biodiesel

Biodiesel como el éster monoalquílico de cadena larga de ácidos grasos derivados de recursos renovables, como por ejemplo aceites vegetales o grasas animales, para utilizarlos en motores Diesel. (4)

Se presenta en estado líquido y se obtiene a partir de recursos renovables como aceites vegetales de soja, colza/canola, girasol, palma *Jatropha curcas*. (4)

Cuadro 5. Rendimiento proyectado por hectárea en plantación piloto en Morelos, México

	AÑO				
	1	2	3	4	5
Rendimiento de semilla (ton/ha)	1.2	2.6	3.1	4.3	5.0
Producción de aceite L/ha (50% ext.)	600	1300	1550	2050	2500
Biodiesel obtenido L/ha (97% conversión)	582	1261	1503.5	1988.5	2425
Pasta residual kg/ha (60% proteína)	600	1300	1550	2050	2500

Fuente: (12)

Cuadro 6. Comparación entre el biodiesel de *J. curcas*, diesel y la norma oficial de la Unión Europea (U.E.) y Estados Unidos (E.U.)

	Biodiesel (<i>J. curcas</i>)	Diesel	Normas E.U.	Normas U.E.
Densidad g/ml (30°C)	0.88	0.85	---	>0.8
Punto de combustión (°C)	192	55	130 min	>55
Viscosidad cinemática 15°C	4.84	2-8	6.0 max	5
Potencial calorífico (MJ/kg)	41	45	---	No definido
No. Cetano	52	47.5	47 min	>48
Contenido de Ester (%)	>99	0	---	>99
Contenido de Azufre (%)	0	<0.5	0.0015 max	<0.55
Carbón residual	0.024	<0.35	0.050 max	<0.1

Fuente: (17)

2.3.1.5 Variabilidad genética

La variabilidad genética, se refiere a la variación hereditaria dentro y entre poblaciones de organismos, cuya base está en los cromosomas (ADN) y puede ser manipulada por la tecnología tradicional y moderna (biotecnología, ingeniería genética, etc.). (18)

Cada especie viva posee en su estructura celular la información codificada necesaria para transmitir a sus descendientes caracteres especiales, que se conocen como hereditarios, o sea, que se heredan de los progenitores. (18)

Las cadenas de ADN están sujetas a cambios, conocidos como mutaciones, que se producen de diversas formas (por recombinación, por radiaciones, etc.). Estas mutaciones pueden ser letales o dar origen a caracteres de adaptación a las condiciones impuestas por el ambiente (clima, resistencia a enfermedades, etc.), dando una ventaja a los individuos que poseen determinadas características. En la población de una especie no existen dos individuos que tengan la misma e idéntica información genética en el ADN, lo que se conoce como variabilidad genética. (18)

La habilidad de las especies para poder adaptarse a los cambios del ambiente a lo largo del tiempo depende del nivel de variabilidad genética que contenga, es decir, que cuantas más diferencias existan entre los individuos, la población en su conjunto tendrá más oportunidades de sobrevivir a los constantes cambios que ocurren en la naturaleza. (19)

Una población que no posea adecuada diversidad genética posiblemente sea incapaz de soportar tales desafíos. En este sentido, los estudios de variabilidad genética resultan útiles para el manejo racional del material, tanto para su conservación como para el pre-mejoramiento. (6)

2.3.1.6 Cuantificación de la variabilidad genética

Para cuantificar de algún modo la variabilidad genética en una población, y estimar las relaciones genéticas entre individuos, se miden, de manera frecuente, varios atributos. (6)

Pueden utilizarse variables continuas (datos de madurez, volumen, fenología), datos biométricos discretos (resistencia a pestes, color, forma) y datos discretos, generados por los marcadores moleculares (por ejemplo AFLP, RADPs, RFLP y secuenciación de genes de la especie en estudio) que pueden ser codificados en forma binaria (presencia/ ausencia de banda) para su posterior análisis. (19)

Cuando se emplean datos moleculares discretos, en muchos de los casos se estiman medidas de similitud genética utilizando el índice de Jaccard (que se calcula considerando la relación de las bandas compartidas respecto de las totales entre pares de individuos). (6)

2.3.1.7 Estudio de variación genética

En todas las poblaciones, los organismos presentan pequeñas variaciones en su genoma o ADN que pueden estar ocultas o manifestarse ligeramente en sus características observables o fenotipo. (20)

Esta variabilidad genética o polimorfismo se debe a que cada individuo es afectado en forma diferente en su interacción con el medio ambiente y sufre pequeños cambios (o mutaciones) en los componentes básicos del ADN, llamados nucleótidos. Estos cambios se dan por la sustitución de un nucleótido por otro, inserciones o eliminaciones, además de otros procesos más complejos que incluyen inversión y re-arreglo de segmentos. El número y grado de mutaciones en la secuencia del ADN definen la variabilidad genética dentro de las especies y permiten identificar a los organismos de una población específica, una cepa de laboratorio, poblaciones de distintas localidades o especies parecidas. Debido a que las modificaciones son en el genoma, éstas solamente pueden ser detectadas por análisis de secuencias del ADN y, una vez definidas, pueden ser utilizadas como un marcador genético. (20)

Las enzimas también han sido utilizadas como marcadores y fueron las primeras herramientas para establecer diferencias entre poblaciones de una especie. Algunas enzimas presentan uno o varios aminoácidos diferentes, y a estas variantes de la enzima se les conocen como alozimas. (20)

Al presentar diferencias en uno o varios aminoácidos, las diferentes formas de la enzima o alozimas pueden ser detectadas por electroforesis, aprovechando que tienen diferente velocidad de migración en el campo eléctrico. Sin embargo, al utilizar una manifestación observable o fenotípica como una medida indirecta del genotipo, la diversidad genética real frecuentemente queda sub-representada y limita su poder resolutivo. (20)

Actualmente es posible utilizar marcadores moleculares basados en las secuencias del genoma y cuyo poder resolutivo es mucho mayor que el de las alozimas, permitiendo diferenciar variaciones genómicas entre especies, poblaciones e, incluso, individuos de la misma familia. Los marcadores moleculares son regiones del ADN que presentan variación en su secuencia sin que, necesariamente, se aprecien cambios sustanciales en las funciones del organismo. Por ello, se consideran herramientas útiles en los programas de mejoramiento genético, ya que, a diferencia de utilizar el fenotipo, es capaz de predecir

la presencia de los caracteres deseados, aún cuando no puedan observarse fácilmente. Además, permite conocer, si la característica deseada ha sido heredada, ya que el análisis se hace en el genoma que, en términos reales, permanece inalterable durante toda la vida del organismo. (20)

2.3.1.8 Marcadores moleculares

Para Valadez y Khal (2000) un marcador se refiere a cualquier molécula de proteína ARN o ADN de tamaño o peso molecular conocido que sirve para monitorear o calibrar la separación de las mismas utilizando electroforesis o cromatografía, y un marcador genético como cualquier gen cuya expresión permite un efecto fenotípico que puede ser detectado fácilmente (por ejemplo, un gen que ocasiona resistencia). (17)

En términos generales, las variaciones a nivel del genotipo se pueden detectar a escala molecular. Tales variaciones (o polimorfismos) se constituyen en herramientas útiles para determinar los grados de parentesco, la variación y la diversidad genética de individuos de una población y entre poblaciones. (28)

Los polimorfismos reflejan un hecho simple pero esencial de la herencia: Un gen sobre un cromosoma donado por uno de los padres no es necesariamente idéntico al gen complementario (el “alelo”) sobre el correspondiente cromosoma del otro padre. La variación alélica (o polimorfismo) es crucial para el trabajo de especialistas en biotecnología agrícola. Cuando los marcadores se registran en la forma de un mapa genético, esta información dota a los científicos de una poderosa herramienta que permite mejorar la base genética de los cultivos y diseñar mejor germoplasma para los agricultores. (28)

Los marcadores moleculares han sido definidos como cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente. Se puede considerar que cualquier molécula, orgánica o inorgánica, que sea característica de un organismo o proceso sea un marcador. Los marcadores idóneos son los de ADN, siendo válido cualquier segmento que se encuentre muy cerca del gen o se de secuencia de interés y que lógicamente no afecte el carácter en estudio (SIDTA 1999). (29)

Los marcadores del ADN se basan fundamentalmente en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias del ADN entre individuos. Las técnicas empleadas para ello son diversas y dan el nombre a los distintos tipos de marcadores, los cuales pueden ser de carácter dominante o codominante (Karp y Edwards 1998). (15)

Algunos ejemplos de ellos son: polimorfismo de la longitud de los fragmento de restricción (RFLP), Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD), Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), microsátélites o Secuencias simples repetidas (SSR), Amplificación aleatoria del polimorfismo de microsátélites (RAMPO), etc. (Rallo et al. 2002). (27)

A. Tipos de marcadores

a. Isoenzimas

Las isoenzimas, o aloenzimas, son las proteínas mas ampliamente usadas como marcadores moleculares y estas fueron los primeros marcadores moleculares usados en genética de plantas. Las isoenzimas son variantes en una misma enzima (son formas funcionales similares de enzimas), que comparten un sustrato en común pero difieren en su movilidad electroforética. Incluyen todos los polímeros de subunidades producidos por diferentes loci o por alelos diferentes en el mismo locus. Diferentes individuos en una población pueden tener diferentes formas moleculares de la misma proteína. Esa variabilidad en cuanto a la estructura de las proteínas es producida por factores genéticos o epigenéticos. (32), (5)

Las isoenzimas han probado ser de gran valor en estudios de mejoramientos tanto en poblaciones naturales como en plantaciones de árboles y mantienen cierto valor de utilidad, especialmente en estudios a gran escala de estructura poblacional y en relación con la resistencia a plagas y enfermedades. (26), (7)

b. Marcadores de ADN

Otro grupo de marcadores son los marcadores de ADN, dentro de este grupo se incluyen tres categorías básicas. Categoría 1: métodos que no se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Categoría 2: técnicas que utilizan iniciadores (“primer”)

arbitrarios o semiarbitrarios. Categoría 3: PCR con sitios “objetivo específico”. Las categorías 2 y 3 son marcadores basados en la PCR. (16)

i. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

El análisis RFLP es una técnica usada en los programas de investigación desde los años 1970. Inicialmente fue empleada para el mapeo físico de los adenovirus y en la construcción de un mapa genético de ligamiento. Se definen como una variación en la longitud de los fragmentos de ADN producida por una endonucleasa de restricción específica a partir de ADNs genómicos de dos o más individuos de una especie. Se generan por arreglos o mutaciones que dan lugar a creación o delección de sitios de reconocimiento para las endonucleasas específicas. Estas variaciones también pueden deberse a la presencia de ADN repetido con diferentes cantidad de copias sobre una región cromosómica específica. (8), (25)

Han sido ampliamente utilizados en plantas con diferentes objetivos: caracterización de germoplasma, estudios filogenéticos, pureza de semillas híbridas, selección y/o localización de genes específicos (mediante análisis de ligamiento) de características agronómicas importantes, etc. Los marcadores RFLPs se comportan como marcadores codominante. (28), (25)

ii. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El análisis PCR es un procedimiento *in Vitro* para la síntesis y duplicación de secuencias específicas de ADN. Esta tecnología utiliza secuencias de oligonucleótidos que inician la síntesis de fragmentación de ADN de longitudes variables, no mayores de 6 Kb en promedio. Usa según la técnica uno o dos oligonucleótidos sintéticos (iniciadores), generalmente entre 10 a 30 pares de bases de longitud y complementarios a la secuencia nucleotídica de los extremos del ADN blanco y diseñados para hibridar en dirección contraria. El método implica la ejecución de una serie repetitiva de ciclos (conocidos como ciclos térmicos), cada uno de los cuales implica la desnaturalización del ADN, la unión del iniciador a la cadena desnaturalizada y la síntesis, a partir del iniciador, de una doble cadena mediante la acción de la polimerasa. La técnica PCR ha suministrado un conjunto de marcadores como por ejemplo: RADPS, SSR, AFLPs, regiones amplificadas de

secuencias caracterizadas (SCARs), amplificación azorosa de las huellas del ADN “ADN Fingerprinting” (RAF) y amplificación directa con ADN microsatélites (DAMD). (27)

iii. Amplificación aleatoria del ADN polimórfico

Este análisis fue descrito por primera vez en 1990 por dos grupos de investigadores independientes. La modificación que le dio origen consistió en sustituir en la tecnología PCR, el uso de iniciadores cuidadosamente diseñados y un pocos largos, por un solo iniciador corto, de alrededor de 10 nucleótidos de longitud y de secuencia arbitraria, con la capacidad de unirse a regiones específicas en el genoma. En el análisis PCR los iniciadores son usados para amplificar secuencias específicas del genoma, y en el análisis RAPD, el iniciador se usa para amplificar secuencias al azar de un patrón complejo de ADN. La eficiencia de los marcadores RADPs, puede estar influenciada por varios factores, entre ellos: el número de ciclos de amplificación, la cantidad de ADN inicial, la longitud del ADN, el iniciador y la temperatura. (25)

iv. Microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR; MP-PCR)

Los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) son regiones de secuencia pequeña (dos a 10 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, las cuales se asume que están distribuidas azorosamente por todo el ADN. Son secuencia de ADN altamente variable dispersas a través de los genomas de hongos, plantas y animales, los cuales pueden o no estar asociadas con genes, son loci altamente mutables que pueden estar presentes en muchos sitios del genoma. Dado que, la repetición por sí misma no codificada para formar ninguna proteína, y debido a que las secuencias de ADN repetitivo pueden recombinarse y expandirse más frecuentemente que otros tipos de secuencias. (25)

Estos marcadores son ideales para el estudio de ligamiento genético en plantas y el mapeo físico, los estudios poblacionales y la identificación de variedades. (25)

v. Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP)

Los AFLPs son considerados marcadores de alta eficacia, permiten el análisis de un elevado número de loci por experimento sin requerir información previa sobre su

secuencia, son en su mayoría dominantes y altamente reproducibles. Sin embargo, la técnica es más complicada de ejecutar que la de los RADP y el SSR, además requiere una mayor cantidad de ADN. Se puede emplear en la construcción de los mapas genéticos en el que se localizan los marcadores codominantes, para discriminar entre individuos cercanamente relacionados y para localizar genes específicos en genomas complejos. (23)

El análisis AFLP combina la digestión con enzimas de restricción con el PCR. El primer paso involucra la digestión del ADN con dos enzimas específicas de restricción, una de las cual corta secuencias precisas y la otra corta más frecuentemente. Es necesario agregar adaptadores para que estos se peguen en los bordes de los fragmentos recién formados y de esta manera proveer una secuencia conocida para poder amplificar mediante PCR. En este paso, también se requiere el uso de ligasas para facilitar la unión entre los bordes de los fragmentos y las secuencias cortas conocidas. El uso de adaptadores es necesario porque las secuencias que quedan en los bordes de los fragmentos, luego de ser cortados, no son adecuadas para actuar como iniciadores. (15)

Si en primer paso se realizó adecuadamente, todos los fragmentos de restricción se amplificarían mediante PCR. Para poder discriminar entre los fragmentos de restricción que se forman, se diseñan los iniciadores de tal manera que incorporen el adaptador de secuencia conocida más uno, dos o tres pares de bases. La amplificación mediante PCR solo ocurrirá en aquellos fragmentos en donde los iniciadores encuentren las secuencias complementarias tanto para el adaptador como para los pares de bases adicionales actúan como nucleótidos selectivos. Si solamente se utiliza uno de estos nucleótidos se amplificarán más fragmentos de los que se podrían amplificar si se utilizan dos nucleótidos. Del mismo modo, si se utilizan tres nucleótidos se obtendrían menos fragmentos amplificados. Por alguna razón técnica, la adición de más de tres nucleótidos selectivos al iniciador resulta en una amplificación PCR no específica. (23)

Durante el PCR normalmente se realizan dos ciclos térmicos selectivos. En el primero se utiliza un único nucleótido selectivo en el segundo ciclo térmico, se utiliza el

anterior nucleótido más uno o dos nucleótidos selectivos adicionales. Los fragmentos amplificados de esta forma pueden ser luego separados en un gel de poliacrilamida mediante electroforesis y los productos de la amplificación pueden ser visualizados mediante fluorescencia. (9)

Los AFLPs surgen a partir de: A) polimorfismo en los sitios de restricción, en donde una secuencia específica para el reconocimiento de una endonucleasa de restricción, está presente o ausente. B) polimorfismo en la longitud de la secuencia, donde el número de las secuencias repetidas arregladas en serie (“tandem”) tienen sitios variables. C) Cambios en los pares de bases de ADN no asociados con sitios de restricción. (23)

La técnica AFLP se basa en la amplificación selectiva, vía PCR, de fragmentos de restricción de DNA genómico. La técnica comprende cuatro etapas:

- Generación de fragmentos de restricción de DNA genómico.
- Ligación de adaptadores específicos a los fragmentos.
- Amplificación selectiva de un grupo de fragmentos vía PCR.
- Separación de los fragmentos amplificados por electroforesis y análisis de los fragmentos amplificados. (2)

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Objetivo general

- Determinar la variabilidad genética del Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes cercos de las comunidades de Llanitos y Las Guacas, del municipio de Masagua, departamento de Escuintla.

2.4.2 Objetivos específicos

- Recolectar muestras en diferentes cercos de las comunidades de Llanitos y Las Guacas.
- Recolectar muestras de árboles silvestres, en un área considerada bosque seco de la región e incluirlas como referencia.
- Realizar análisis de laboratorio mediante la técnica de AFLP, para determinar la variabilidad genética existente.

2.5 METODOLOGÍA

2.5.1 Muestreo

El número de muestras que se tomó fue de 15 las cuales fueron distribuidas de forma uniforme y aleatoria dentro de las comunidades y además se incluirán muestras de especímenes que crecen de forma silvestre, en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla, región que es considerada como bosque seco.

COMUNIDAD LLANITOS	COMUNIDAD LAS GUACAS
<p>LLRS01</p> <p>LLAG07</p> <p>LLDT02 LLFR05</p> <p>LLFR06</p> <p>LLJC03 LLMR04</p>	<p>LGAG11</p> <p>LGAG12 LGDC10</p> <p>LGDC08</p> <p>LGDC09</p> <p>LGHH13</p>

Figura 10. Distribución de muestras colectadas en diferentes cercos de las comunidades de Llanitos y Las Guacas.

Cada unidad de muestreo esta constituida por un árbol, el órgano que se colectara para la muestra serán yemas vegetativas jóvenes, las cuales serán preservadas hasta llegar al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en donde serán procesadas.

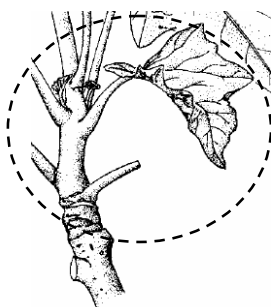


Figura 11. Órgano de la planta tomado para la muestras

Fuente: Aponte 1978

Cada unidad de muestra será identificada con bandas plásticas, la variable de respuesta esta constituida por la variabilidad que se logre determinar a las muestras colectadas en los diferentes cercos y el bosque seco.

2.5.2 Extracción de ADN

2.5.2.1 Soluciones

- Buffer de extracción de ADN genómico
- TE
- 2-propanol
- Etanol 70%

2.5.2.2 Procedimiento

- Cortar del órgano de la planta cuadros de unos 5 mm, e introducir dos trozos en un microtubo.
- Agregar 400 µl de buffer de extracción
- Macerar el tejido de la planta con un pistilo.
- Hacer vortex para mezclar bien y dejar a temperatura ambiente por una hora.
- Centrifugar a 12,000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente.
- Transferir la fase liquida (sobrenadante) a un microtubo nuevo.
- Agregar unos 300 µl de 2-propanol y mezclar.
- Centrifugar a 12,000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente
- Enjuagar la pastilla de ADN con etanol al 70% y secar
- Agregar 100 µl de TE.

2.5.2.3 Cuantificación del ADN extraído

Se cuantificó el ADN extraído con la ayuda de un espectrofotómetro midiendo la absorvancia de la luz ultravioleta de 260 nm. se emplearon estrictamente cubetas de cuarzo, el blanco utilizado fue T.E. 0.1X, ya que este fluido fue empleado como solvente. Para emplear en el análisis de ADN mediante AFLP, se prepararon 25 µL de una dilución de ADN a 25 ng/µL para cada una de las muestras, las muestras se almacenaron a -20°C

- Guardar el stock de DNA digerido y ligado a -20°C .

2.5.3.3 Pre-amplificación del ADN

Estructura general de los partidores:

EcoRI+n: 5'-GAC TGC GTA CCA ATT Cxy z-3'

MseI+n: 5'-GAT GAG TCC TGA GTA Axy z-3'

(Donde x, y, z representan las bases selectivas en el extremo 3' del oligonucleótido).

La preamplificación ayuda a limpiar de suciedad de fondo observada en geles que no han sido preamplificados. Se obtiene también una mayor cantidad de fragmentos ligados.

A. Pre-amplificación (AFLP+1)

Mezcla de reacción (por muestra)

- ADN 1 μL (LIGACIÓN DILUIDO 1:10)
- Pre-amp primer mix 8 μL
- 10x PCR Buffer plus mg 1 μL
- Taq ADN polimerasa (5 unit/ μL) 0.20 μL

Máster de pre amplificación (para tres muestras)

- Pre-amp. Primer mix 8 μL x 3 = 24 μL
- 10x PCR Buffer plus mg 1 μL x 3 = 3 μL
- Taq ADN polimerasa 0.20 μL x 3 = 0.60 μL
- Volumen total = 27.6 μL
- 9.2 μL /microtubo

B. AFLP+1 Programa de temperaturas

- 94°C , 2 min
- 94°C , 30 seg
- 55°C , 1 min
- 72°C , 1 min
- repetir el paso 2 a 4, 20 veces
- 72°C 5 min
- mantener a 4°C .

- Revisar la amplificación analizando 5 μ L de la reacción en agarosa 1%, utilizando un marcador de peso molecular como 100bp para verificar que el tamaño de los fragmentos amplificados es igual y menor a 500 pb.

- **Diluir los productos PCR a una relación de 2:50**

- Guardar la solución de trabajo a 4° C para su uso inmediato, ó a -20° C si el almacenaje es por largo tiempo.

2.5.3.4 Amplificación Selectiva (AFLP+3)

A. Mezcla de reacción para la amplificación

- Seleccionar cada una de las enzimas a utilizar
- Realizar cada una de las combinaciones con las enzimas seleccionada
- Agregar 5 μ L de la dilución 2:50 en un microtubo
- Agregar cada una de las combinaciones al ADN diluido 2:50
- Agregar mix 1
 - Enzimas MseI 13.5 μ L
 - Enzimas EcoRI 1.5 μ L
- Agregar mix 2
 - Agua 237 μ L
 - 10x PCR 60 μ L
 - Taq ADN 3 μ L
 - Volumen 10 μ L/microtubo

B. FLP+3 programa de temperaturas

- 94° C, 4 min
- 94° C, 30 seg
- 65° C, 30 seg, -0.7° C por ciclo partiendo del próximo ciclo, hasta llegar a 56° C
- 72° C, 1 min
- repetir paso 2 a 4, 11 veces
- 94° C, 30 seg
- 56° C, 30 seg
- 72° C, 1 min
- repetir paso 6 a 8, 25 veces

- 72° C, 5 min
- mantener a 4° C
- Tomar 5 ul de reacción y verificar en agarosa al 1.5 % que el tamaño de los fragmento amplificados sea igual y menor a 500 pb.

C. Preparación de la muestra:

- Mezclar los 20 ul de cada reacción con 10 ul de buffer de formamida (95% formamida, 10 mM EDTA pH 8.0, más azul de bromophenol y xilen cyanol a 1mg/ml).
- Denaturar las muestras por, 5 min a 95° C.
- Colocar las muestras en una gradilla enfriada por un par de horas a -20°C sobre hielo.
- Cargar las muestras en un gel de secuenciación de PAA para su visualización definitiva.

2.5.4 Análisis de la Información

Los resultados obtenidos de la electroforesis, fueron analizados por medio del programa de computación NTSYS, el cual puede leer matrices de datos grabadas, realizando distintos tipos de cálculos hasta obtener un dendrograma, el cual permite observar las diferencias entre los diferentes materiales genéticos colectados de cada unidad de muestreo.

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

2.6.1 Selección de cebador que genera más polimorfismo

Para realizar la selección del cebador que se utilizó, se seleccionó de 64 posibles combinaciones que se pueden realizar, esta se realiza probando las combinaciones y luego se realiza el proceso de selección, las muestras se corren en un gel de agarosa en donde se puede observar si las combinaciones que se utilizaron lograron amplificar fragmentos de ADN de la planta y cual de ellas funciona mejor para el piñón, se inició probando tres combinaciones: E-ACA + M-CAA, E-ACA + M-CAT y E-AGC+M-CAT, combinaciones A,B y C respectivamente, estas se corrieron en gel de agarosa (figura 10), en donde se observó que la combinación “A” (E-ACA + M-CAA), es la que mejor funciona para todas las muestras procesadas.

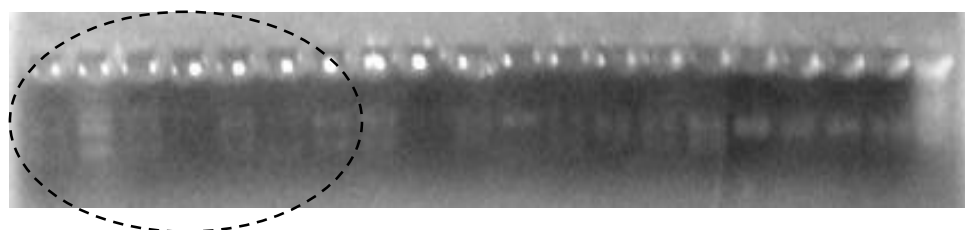


Figura 12. Gel de agarosa, utilizada para seleccionar la combinación que mejor funcione para todas las muestras estudiadas (combinación “A” en el círculo)

2.6.2 Gel de poliacrilamida, corrida en el laboratorio de Biotecnología de la facultad de Agronomía.

Luego de seleccionar la combinación de cebadores que se utilizó, se realizó todo el procedimiento necesario, al total de las muestras, para ser corridas en un gel de poliacrilamida (figura 11), en donde se realizó una lectura de bandas de ADN, se observó que si existen diferencias entre los materiales vegetales en estudio, aunque con la lectura del la gel de poliacrilamida se observan diferencias, es difícil identificar que material tiene parentesco con otro material, por lo que es necesario utilizar un programa de computación que permita observar mejor los resultados

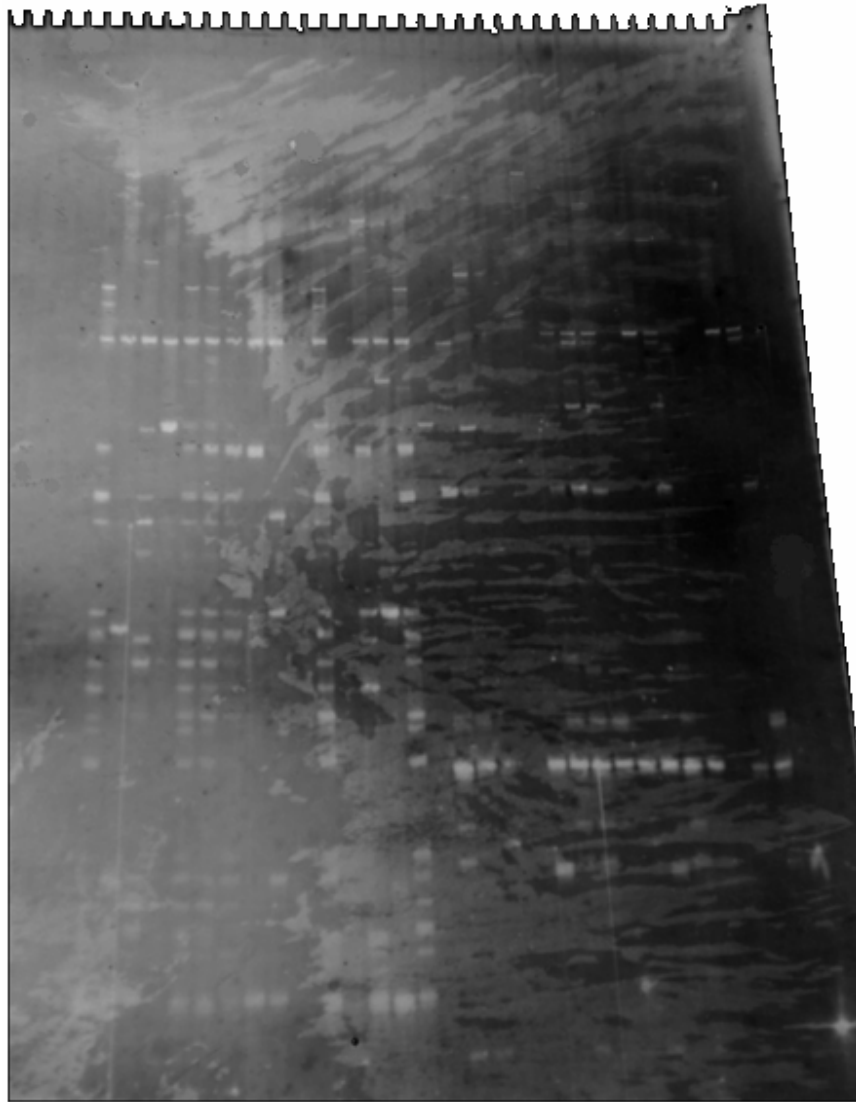


Figura 13. Gel de Poliacrilamida, en donde se representan las 176 posiciones de las bandas, a partir de esta se generó la matriz binaria requerida para utilizar NTSYS-pc.

2.6.3 Análisis de Grupos

El dendrograma fue elaborado con el programa NTSYS-pc, en donde se introduce una matriz con los datos de las lecturas de las bandas de ADN de la planta, utilizando el método de matriz de distancia o análisis cluster de grupos, en donde se crea una matriz de distancia de pares de datos utilizando un índice de similaridad basado en las bandas presentes y el algoritmo más elemental para la matriz de distancia UPGMA.

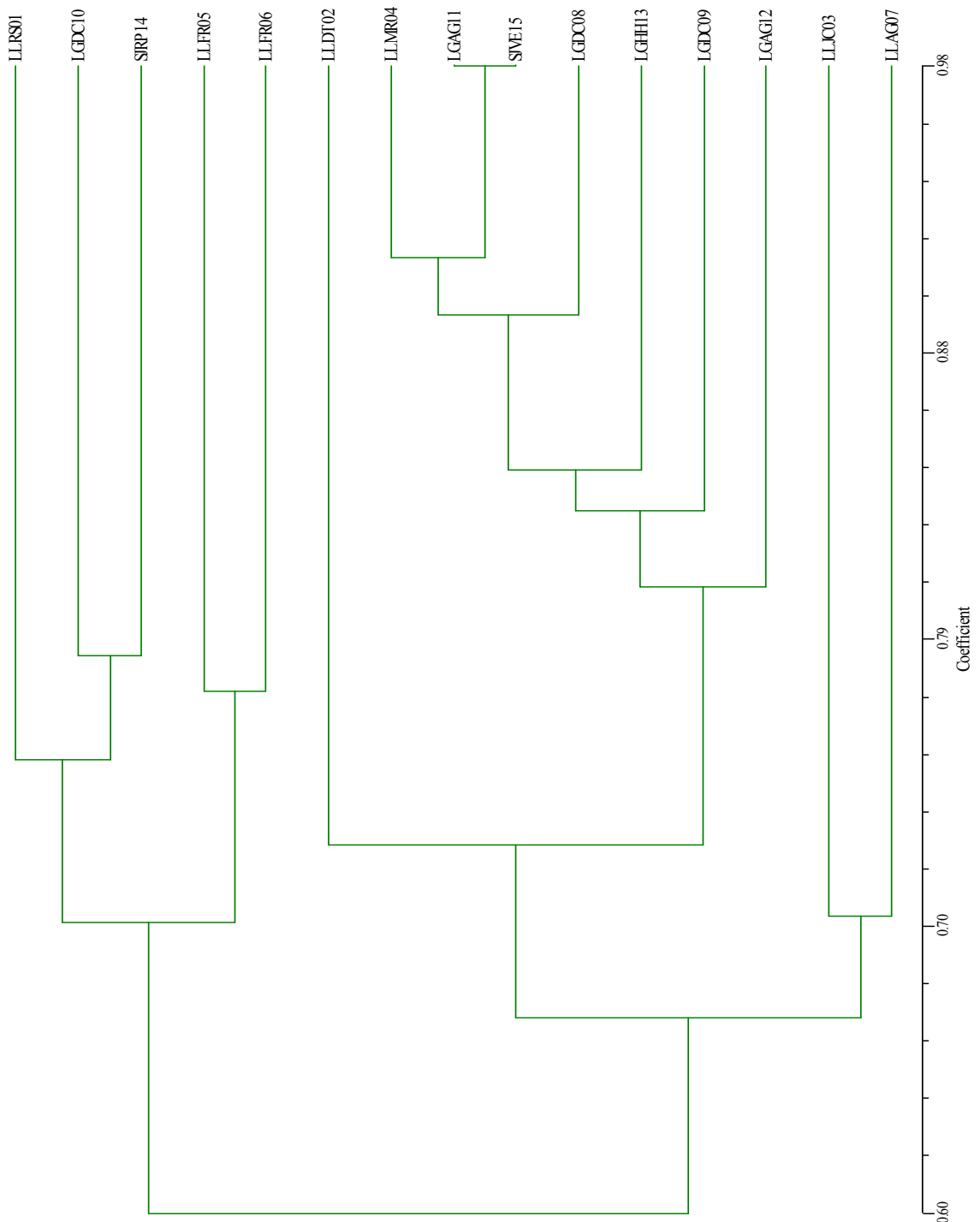


Figura 14. Relaciones genómicas representadas en forma de árbol, producto del análisis de AFLPs de materiales de *Jatropha curcas* L., basado en la presencia/ausencia de bandas en 176 posiciones y transformadas a matriz de distancia utilizando NTSYS-pc.

La colecta de los materiales se focalizó en sitios de la siguiente manera, en la comunidad de Llanitos 7 materiales: LLRS01, LLDT02, LLJC03, LLMR04, LLFR05, LLFR06 y LLAG07, en la comunidad Las Guacas 6 materiales: LGDC08, LGDC09, LGDC10, LGAG11, LGAG12 y LAHH13, todos los árboles fueron muestreados de los diferentes cercos que existen en estas comunidades y cada uno de ellos proviene de una reproducción asexual, ya que esta es la única que se utiliza para reproducir el piñón con fines de establecerlo en los cercos. Los materiales que se utilizaron como referencia, fueron colectados en una región de la costa sur de Guatemala que es considerada como bosque seco y estos arboles provienen de una reproducción sexual, ya que después que los arboles que se encuentran en los cercos concluyen su periodo de fructificación botan sus semillas, y estas germinan después de las primeras lluvias, produciendo gran cantidad de arbolitos, que son eliminados cuando se realizan las rondas de limpia en los cercos, de estos arbolitos se tomaron 2: SJVE15 y SJRP14, en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla.

El dendrograma muestra una figura escalonada en donde se observan 3 grupos, se puede deducir que existe una gran diversidad genética entre los materiales muestreados, los grupos se pueden describir de la siguiente manera: el primer grupo se sitúa el extremo superior del dendrograma y aglomera cinco materiales, se puede observar que la muestra LLRS01 tiene un coeficiente de 0.69 de parentesco con las muestras LGDC10 y SJRP14, mientras que las muestras LGDC10 y SJRP14 presentan parentesco más estrecho entre si con un coeficiente de parentesco de 0.78, es importante mencionar que la muestra LGDC10 fue colectada en un cerco de la comunidad Las Guacas, Masagua Escuintla y proviene de una reproducción asexual, ya que para establecer los cercos solo se utiliza el método de reproducción asexual (por estacas), y la muestra SJRP14 fue colectada en el parcelamiento San Jerónimo de la Gomera Escuintla, y esta muestra proviene de una reproducción sexual ya que cuando a los cercos pasa mucho tiempo sin mantenimiento los arboles que se encuentran en los cercos botan semillas y estas germinan con las primeras lluvias, esto demuestra que existe una gran variabilidad de materiales genéticos en la costa sur de Guatemala, ya que ambas muestras fueron colectadas en lugares diferentes que se encuentran a una distancia considerable entre si, provienen de un tipo de

reproducción diferente. Las muestras LLFR05 y LLFR06 también presentan el mismo coeficiente de parentesco 0.78, pero estas dos fueron colectadas dentro de la misma finca y las dos provienen de una reproducción asexual, porque ambas fueron tomadas de los árboles de los cercos y probablemente ambas fueron reproducidas a partir de plantas cercanas y relacionadas entre si.

En el segundo grupo que se observa se sitúa desde el centro y abarca cerca del extremo inferior del dendrograma, alberga 8 materiales, al inicio de este grupo se encuentra la muestra LLDT02 prácticamente aislada de todo el grupo con un coeficiente de parentesco de 0.71 y aunque se encuentra ligada al resto del grupo el coeficiente de parentesco es mínimo, Las muestras LLMR04 y LGAG11 presentan un coeficiente de parentesco de 0.91, estas muestras son las que mayor coeficiente de parentesco tienen a pesar de que son de diferente comunidad, aunque se observa que la gráfica nos presenta que la muestra SJVE15 es exactamente igual a la muestra LGAG11, no se puede asegurar con total confianza, pues en la gel de poliacrilamida estas dos muestras solo presentaron dos bandas de ADN cada una y estas bandas se encuentran a la misma altura, por lo que el programa determinó que son idénticas, pero dos bandas de ADN no son suficientes para aceptar que sean idénticas, es importante mencionar que la muestra SJVE15 fue colectada en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla, y también proviene de una reproducción sexual y aunque en este caso el parentesco con la muestra LGAG11 no este bien definido, al igual que la otra muestra tomada de semillas germinadas presentan parentesco con plantas que provienen de lugares totalmente diferentes, la única explicación de este evento, es porque Guatemala es considerado centro de origen del piñón por lo que la variabilidad que se puede encontrar es alta. Aunque con menor coeficiente de parentesco 0.90 la muestra LGDC08 esta relacionada con las ultimas tres muestras mencionadas de este segundo grupo, a partir de esta muestra hacia abajo se observa un parentesco escalonado que se hace menos estrecho cada vez, entre las muestras LGDC08, LGHH13, LGDC09 y LGAG12, con coeficientes de parentesco de 0.90, 0.84, 0.83 y 0.80, todas estas muestras pertenecen a la comunidad Las Guacas y como para establecer cercos se utiliza reproducción asexual, esto permite conservar el material genético evitando que se formen nuevos materiales a partir de una

reproducción sexual, esto explica los coeficientes de parentesco estrechos que estas plantas tiene entre si, por otra parte en muchas ocasiones los propietarios de los terrenos se venden estacas de piñón unos a otros por lo que se realiza una distribución de material genético en toda la comunidad, esto también explica del porque en la comunidad de Las Guacas se hallan encontrado coeficientes de parentesco estrechos.

El tercer grupo se encuentra en el extremo inferior del dendrograma, alberga a dos materiales, uno de la comunidad de Llanitos y uno de la comunidad Las Guacas, estos materiales presentan un coeficiente de parentesco de 0.69, siendo este coeficiente el menos estrecho, de todo el dendrograma. Es lógico que las muestras presenten ciertos parentescos entre si, pues por el hecho de pertenecer a la misma especie, presentan características en común.

En general se observa que existe una variabilidad del 60% en el total de muestras estudiadas, y aunque alguna muestras presenten índices de parentesco entre si no existe con certeza ninguna muestra que sea exactamente igual a otra, a pesar de que en la mayoría de muestras proviene de clones que se vienen realizando durante muchas décadas con los establecimientos de cercos para potreros para ganado, conservando así muchos materiales genéticos, lo que deja claro que todo el material que existe en los cercos no se reprodujo del mismo material genético si no a partir de un sin numero de materiales que están distribuidos en el país y que aun queda por estudiar. Con esta investigación se logra dejar claro que Guatemala forma parte de la región en donde se encuentra el centro de origen del piñón, por lo que cuenta con una riqueza en materiales genéticos, esta situación proporciona ventajas en los proyectos de mejoramiento de la planta.

2.6.4 Análisis estadístico de las bandas obtenidas

Con el programa SPSS se realizó un análisis de componentes principales por medio del cual se determinó el porcentaje de contribución que cada una de las bandas aporta para explicar la varianza observada. En la figura 13 se observa el gráfico de sedimentación en donde el eje "X" se encuentran las bandas (176 en total) y en el eje "Y" la varianza acumulada no explicada, se observa que conforme se van agregando bandas, la varianza no explicada disminuye asintóticamente hasta que llega a cero, esto ocurre con la banda número 14. Dado que se obtuvieron 176 bandas, se puede afirmar que el estudio de la diversidad del piñón (*Jatropha curcas L.*), utilizando el marcador molecular AFLPs, es suficiente para estimar la diversidad genética de los materiales de las comunidades de Llanitos y Las Guacas. Se puede confiar en que los modelos elaborados son representativos de la dispersión observada. En el cuadro 4 se encuentra la tabla generada por el programa SPSS, la cual indica con que porcentaje de la varianza contribuye cada banda.

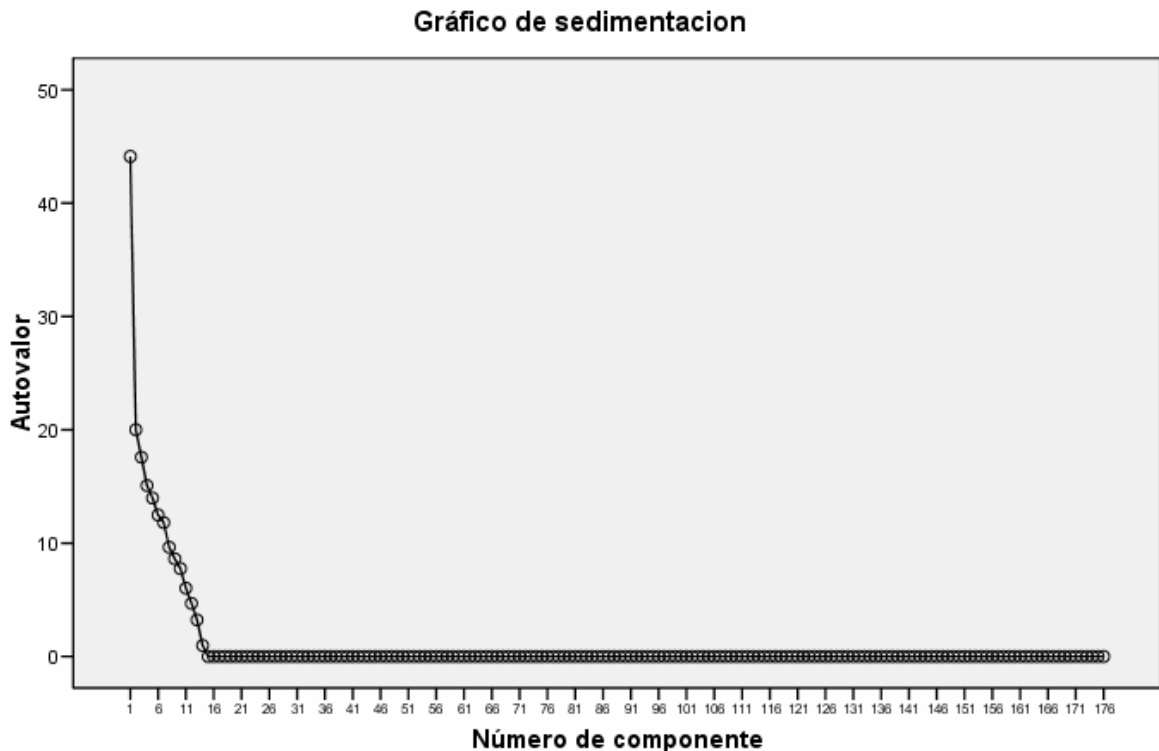


Figura 15. Gráfico SPSS de sedimentación, en donde en el eje "X" se distribuyen las bandas y en el eje "Y" la dispersión acumuladas no explicada.

En la figura 14 se muestra el gráfico de componentes principales generado por el programa SPSS, por fines prácticos se presenta el gráfico resultante para tres componentes que explican aproximadamente el 40% de la dispersión, no se agrega otro porque sería imposible de representarlo en una gráfica y tendríamos que llegar hasta 10 componentes para explicar al menos el 80% de la varianza total. En el cuadro 5 se encuentra la tabla generada por el programa, que incluye el porcentaje de la varianza que explica cada componente. En el cuadro 6 se incluye la tabla con las coordenadas calculadas para cada uno de los materiales que sirvieron para plotear la figura 14.

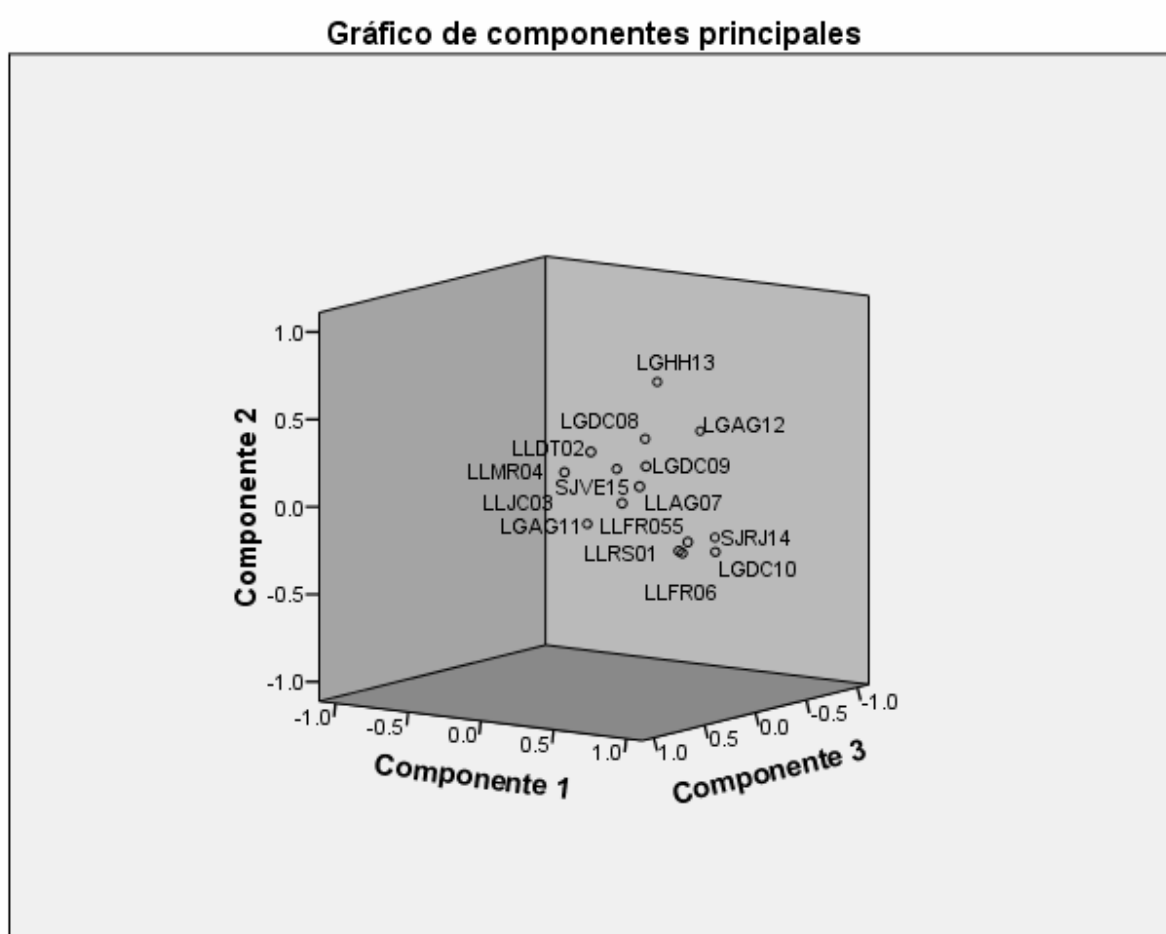


Figura 16. Gráfico SPSS de componentes principales tridimensional para los materiales de *Jatropha curcas* L.

El análisis de componentes principales es congruente con el análisis de grupos ya que se puede observar que todas las muestras que componen el primer grupo que se

observa en el dendrograma, están también agrupada en la grafica, luego hacia el centro se agrupan el resto de muestras excepto por las muestras LGHH13 y LGAG12 que se separan de todo el grupo, en general se puede observar que los materiales se mezclan entre si y que no hay un grupo definido por el lugar de recolección de las muestras, por el contrario en todos los grupos que se forman existen materiales de las dos comunidades y entre ellos se han mezclado los dos materiales de referencia colectados en el parcelamiento San Jerónimo, Sipacate, La Gomera, Escuintla.

2.7 CONCLUSIONES

- Se determinó que existe una alta variabilidad genética de material colectado de la planta de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes cercos de las comunidades de Llanitos y Las Guacas del municipio de Masagua, Escuintla.
- Todos los materiales utilizados son criollos de Guatemala, en su mayoría provienen de una reproducción asexual, porque es la utilizan en las fincas para realizar el establecimiento en los cercos.
- Se utilizaron dos muestras que fueron colectadas en la aldea Sipacate del municipio de la Gomera, la cual se encuentra en una región considerada como bosque seco, estas muestras provienen de una reproducción sexual y fueron utilizadas como referencia, en donde se encontró que existe parentesco entre una muestra que proviene de reproducción asexual colectada en la aldea Las Guacas del municipio de Masagua, lo deja en evidencia que la variabilidad es amplia.
- Se utilizó la metodología AFLP porque esta permite identificar diferencias y parentesco entre individuos de la misma especie, por lo que es una buena herramienta en la determinación la variabilidad genética en una población en determinado lugar.

2.8 RECOMENDACIONES

- Se le debe dar seguimiento al estudio de la variabilidad genética del piñón (*Jatropha curcas L.*), a nivel nacional, incluyendo un mayor número de muestras, para lograr identificar cuantos materiales se tiene para incluirlos en proyectos de mejoramiento y otras investigaciones.
- se debe evaluar otras combinaciones de cebadores, pues algunas permiten ver mas polimorfismo que otras y no todas funcionan con todas las muestras, por que es necesario seguir buscando la combinación que mejor se adapte al piñón (*Jatropha curcas L.*)
- buscar mas árboles de piñón en la región de bosque seco, para ser incluidos en próximas investigaciones, pues como se observa en los resultados estos muestran tener parentesco con los árboles que se utilizan en los cercos.

2.9 BIBLIOGRAFÍAS

1. CONAP (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, GT). 2006. Mapa de zonas de vida de Holdridge (en línea). Guatemala. Consultado 4 abr 2008. Disponible en: <http://www.conap.gob.gt:7778/informacion/arepro/mapas-tematicos/zonas-de-vida-de-holdridge/mapa-tematico-vida-de-holdridge>
2. Contreras, J. 2001. Introducción a la biología molecular. Barquisimeto, Colombia. 185 p. Sin publicar.
3. Dehgan, B. 1984. Phylogenetic significance of interspecific hybridization in *Jatropha* (Euphorbiaceae). *Syst. Bot.* 9(4):467-478.
4. Eco2site.com. 2002. Biodiesel (en línea). Buenos Aires, Argentina. Consultado 10 abr 2008. Disponible en: <http://www.eco2site.com/informes/biodiesel.asp>
5. Forrest, G. 1994. Biochemical markers in tree improvement programmes. *Forestry Abstracts* 55(2):123-153.
6. Franco, J; Crossa, J; Ribaut, JM; Betran, J; Warburton, ML; Khairallah, M. 2001. A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 103:944-952.
7. González-Pérez, MA; Caujape-Castells, J; Sosa, PA. 2004. Allozyme variation and structure of the Canarian endemic palm tree *Phoenix canariensis* (Arecaceae): implications for conservation. *Heredity* 93(3):307-315.
8. Grodzicker, T; Williams, J; Sharp, J; Sambrook, J. 1974. Physical mapping of temperature sensitive mutations of adenoviruses. *In Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Cold Spring Harbor, NY, US, Cold Spring Harbor Press. *Biological Laboratory* 39:439-449.
9. Haines, R. 1994. Biotechnology in forest tree improvement: with special reference to developing countries. Roma, Italia, FAO. 230 p. (Forestry Paper no. 118).
10. Helentjaris, T; King, G; Slocum, M; Siedenstrang, C; Wegman, S. 1985. Restriction fragment length polymorphisms as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. *Plant Molecular Biology* 5:109-118.
11. Hernández, AC. 1986. El piñoncillo, *Jatropha curcas* recurso biótico silvestre del Trópico. Xalapa, Veracruz, México, INIREB. 16 p. (Cuadernos de Divulgación).
12. Herrera Martínez, J. 2007. Piñón mexicano: una alternativa bioenergética para México (en línea). *Revista UNAM* 8(12). Consultado 4 abr 2008. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.8/num12/art88/int88.htm>

- 13.IGN (Instituto Geográfico Militar, GT). 1985. Mapa topográfico de la república de Guatemala: hoja Escuintla, no. 2058-IV. Guatemala. Esc. 1:50,000. Color.
- 14.INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, GT). s.f. Estación sinóptica (en línea). Guatemala. Consultado 2 abr 2008. Disponible en: <http://www.wunderground.com/global/stations/78647.html>GUATEMALA
- 15.Karp, A; Edwards, K. 1998. DNA markers: a global overview. *In* Caetano-Anollés, PMG (eds). DNA markers: protocols, applications and overviews. New York, US, Gresshoff. p. 1-13.
- 16.Karp, A; Kresovich, S; Bhat, K; Aayad, W; Hodgkin, T. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. Roma, Italia, International Plant Genetic Resources Institute. 47 p.
- 17.Knothe, G; Gerpen, VJ; Krahl, J. 2004. The biodiesel handbook. Urbana, Illinois, US, AOCS Press. P. 277–280.
- 18.Ministerio de Agricultura, PE. 2008. Recurso genético (en línea). Perú. Consultado 2 abr 2008. Disponible en: http://www.portalagrario.gob.pe/rnng_var.shtml
- 19.Mohammadi, SA; Prasanna, BM. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43:1235-1248.
- 20.Montaña Pérez, K; Villalpando Canchola, E; Flores Tom, A; Vargas Alvares, F. 2004. Ventajas del uso de marcadores moleculares en los programas de mejoramiento genético (en línea). Guadalajara, México. Consultado 2 abr 2008. Disponible en: <http://www.panoramaacuicola.com/ediciones/PAM%2010-1/18-23.pdf>
- 21.Octagon, GT. 2006. *Jatropha curcas* su expansión agrícola para la producción de aceites vegetales con fines de comercialización energética (en línea). Guatemala. Consultado 22 feb 2008. Disponible en: www.sica.int/busqueda/busqueda_archivo.aspx?Archivo=odoc_9504_1_21062006.pdf
- 22.OFI-CATIE, CR. s.f. *Jatropha curcas* L. (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 2 feb 2008. Disponible en: http://www.semarnat.gob.mx/pfnm2/fichas/jatropha_curcas.htm
- 23.Paterson, A. 1996. Genome mapping in plants. California, US, Academic Press. 330 p.
- 24.Pérez, JA. s.f. Evaluación de las fuentes de energía, sus potencialidades y principales impactos medioambientales en la provincia de Guantánamo. Tesis MSc. Energía. Guantánamo, Cuba, Universidad de Oriente Santiago de Cuba. 125 p.

25. Phillips, W; Rodríguez, H; Fritz, P. 1995. Marcadores de ADN: teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba, Costa Rica, CATIE. 183 p. (Serie Técnica, Informe Técnico no. 252).
26. Powell, W. 1992. Plant genomes, gene markers, and linkage maps. *In* Moss, JP (ed.). Biotechnology and crop improvement in Asia. Patancheru, India, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. p. 297-322.
27. Rallo, P; Belaj, A; Rosa, R De la; Trujillo, I. 2002. Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España, Editorial. Consultado 1 ago 2002. Disponible en http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayojunio_2000/almazara/almazara1.htm
28. Rocha, P. 2003. Marcadores moleculares, una herramienta de útil para la selección genética de palma de aceite. *Palmas (CO)* 24(2):11-25.
29. SIDTA, ES. 1999. Los marcadores moleculares en ingeniería genética y en mejora vegetal (en línea). España. Consultado 1 ago 2002. Disponible en: <http://www.jcyl.es/jcyl/cag/dgiadr/svidta/boletín/dic99/bold.html#los%20marcadores%20moleculares%20en%20ingenieria%20genetica>
30. SIM (Servicio de Información Municipal, GT). s.f. Municipio de Masagua (en línea). Guatemala. Consultado 12 mar 2008. Disponible en <http://www.inforpressca.com/municipal>
31. Stevens, WD; Ulloa, C; Pool, A; Montiel, O. 2001. Flora de Nicaragua. United States of America, Missouri Botanical Garden Press. tomo 1.
32. Tanksley, S; Medina-Filho, H; Rick, C. 1981. The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato basis of an early screening procedure. *Theoretical and Applied Genetics* 60:291.
33. Torres, C. s.f. Ficha técnica de la *Jatropha curcas* (en línea). Buenos Aires, Argentina, El Sitio Agrícola. Consultado 4 abr 2008. Disponible en: http://www.elsitioagricola.com/articulos/cultivosEnergeticos/JatrophaCurcas_FichaTecnica.pdf

2.10 ANEXOS



Figura 17. Árbol muestreado en la aldea Llanitos LLMR04



Figura 18. Árbol muestreado en la aldea Las Guacas LGAG11

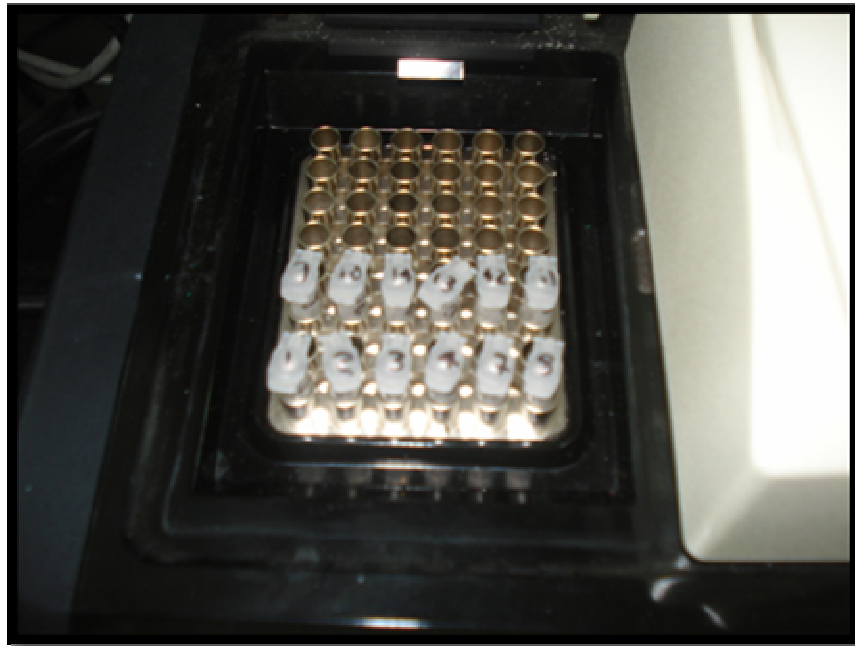


Figura 19. Muestras en termociclador, en proceso de PCR

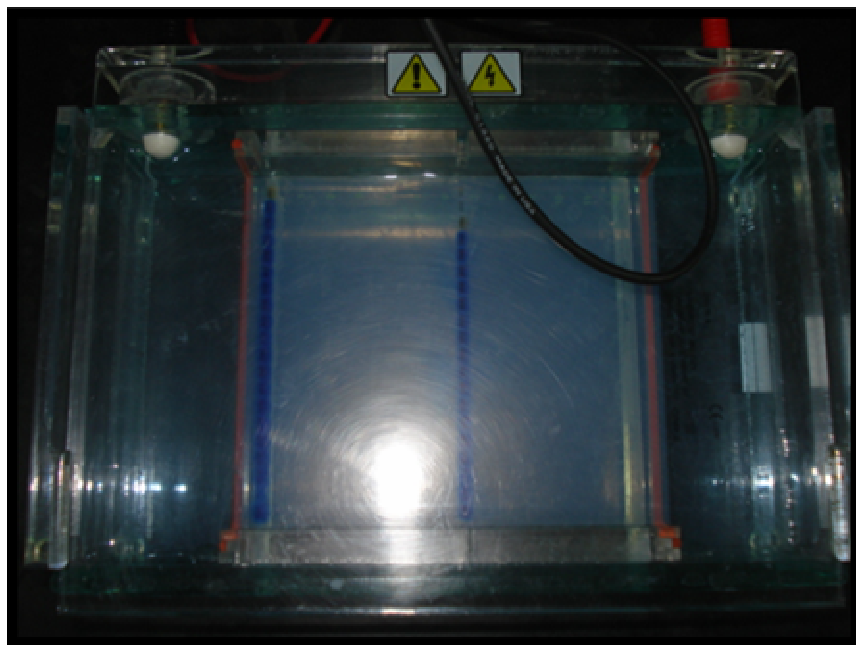


Figura 20. Corrida de muestras en gel de agarosa, en equipo de electroforesis.

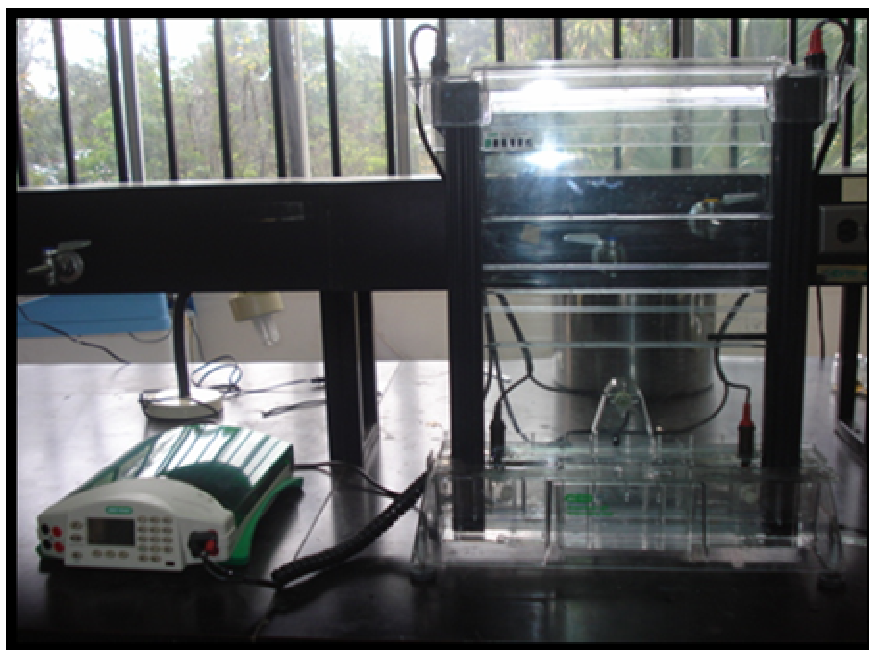


Figura 21. Equipo de electroforesis para gel de poliacrilamida.

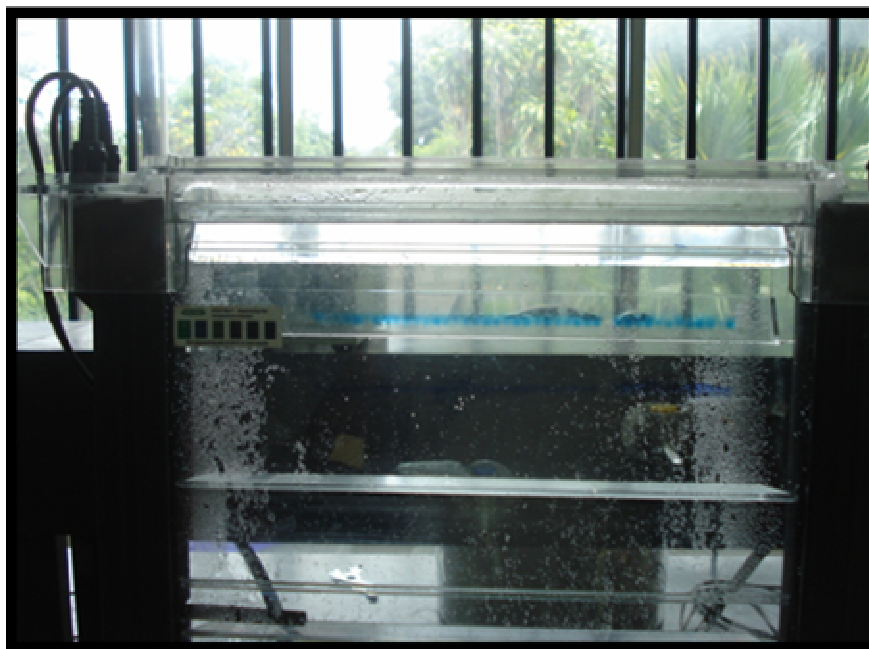


Figura 22. Corrida de muestras en gel de poliacrilamida.



Figura 23. Proceso de revelado, gel en solución de tinción.

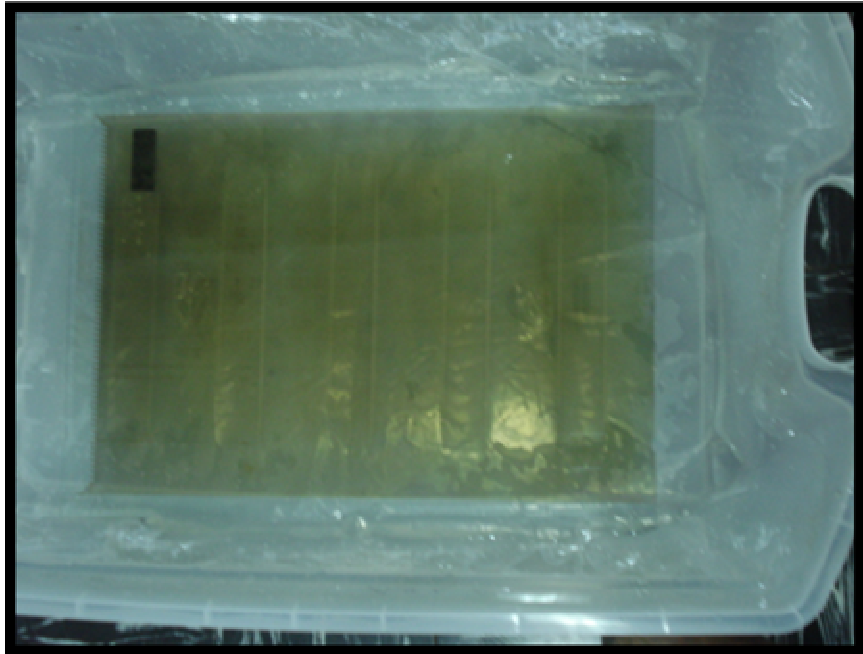


Figura 24. Proceso de revelado, gel en ácido acético.



Figura 25. Proceso de lectura de bandas de ADN en gel de poliacrilamida

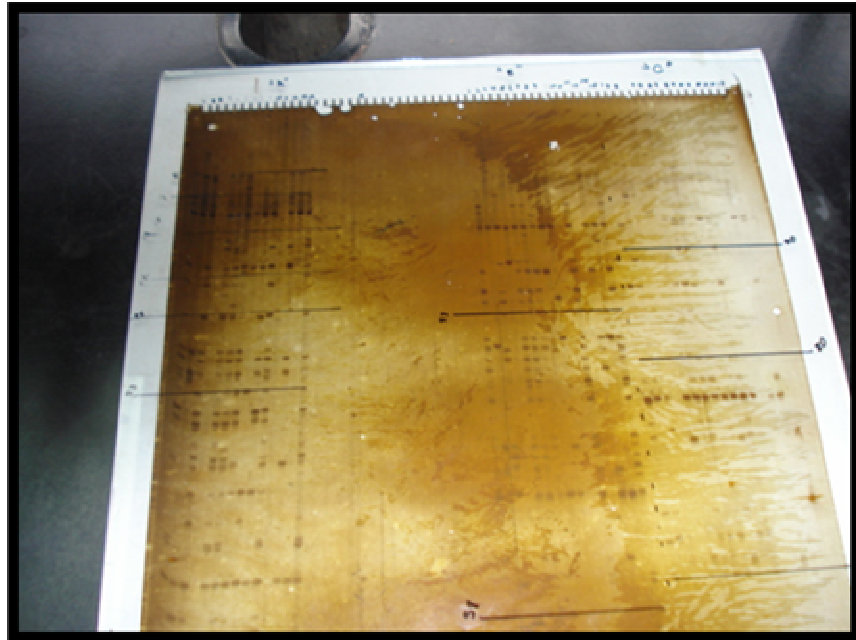


Figura 26. Gel de poliacrilamida después de realizada la lectura de bandas de ADN

Cuadro 7. Tabla SPSS varianza total explicada por las bandas amplificadas

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de las saturaciones al cuadrado de la extracción		
	Total	% de la varianza	% Acumulado	Total	% de la varianza	% Acumulado
1	44.116	25.066	25.066	44.116	25.066	25.066
2	20.007	11.367	36.434	20.007	11.367	36.434
3	17.585	9.991	46.425	17.585	9.991	46.425
4	15.083	8.570	54.995	15.083	8.570	54.995
5	13.975	7.940	62.935	13.975	7.940	62.935
6	12.486	7.094	70.029	12.486	7.094	70.029
7	11.815	6.713	76.742	11.815	6.713	76.742
8	9.637	5.476	82.218	9.637	5.476	82.218
9	8.620	4.898	87.116	8.620	4.898	87.116
10	7.758	4.408	91.524	7.758	4.408	91.524
11	6.028	3.425	94.949	6.028	3.425	94.949
12	4.687	2.663	97.612	4.687	2.663	97.612
13	3.228	1.834	99.446	3.228	1.834	99.446
14	.975	.554	100.000	.975	.554	100.000
15	2.30E-014	1.30E-014	100.000			
16	1.52E-014	8.66E-015	100.000			
17	7.94E-015	4.51E-015	100.000			
18	5.49E-015	3.12E-015	100.000			
19	5.30E-015	3.01E-015	100.000			
20	4.81E-015	2.73E-015	100.000			
21	4.13E-015	2.34E-015	100.000			
22	3.62E-015	2.06E-015	100.000			
23	3.21E-015	1.83E-015	100.000			
24	2.87E-015	1.63E-015	100.000			
25	2.75E-015	1.56E-015	100.000			
26	2.42E-015	1.38E-015	100.000			
27	2.14E-015	1.21E-015	100.000			
28	2.07E-015	1.18E-015	100.000			
29	1.53E-015	8.70E-016	100.000			
30	1.39E-015	7.90E-016	100.000			
31	1.25E-015	7.12E-016	100.000			
32	1.15E-015	6.56E-016	100.000			
33	1.12E-015	6.34E-016	100.000			
34	1.09E-015	6.18E-016	100.000			
35	9.89E-016	5.62E-016	100.000			
36	9.44E-016	5.36E-016	100.000			
37	8.83E-016	5.02E-016	100.000			
38	8.70E-016	4.94E-016	100.000			
39	8.39E-016	4.76E-016	100.000			
40	8.07E-016	4.59E-016	100.000			
41	7.93E-016	4.51E-016	100.000			
42	7.68E-016	4.36E-016	100.000			

43	7.49E-016	4.25E-016	100.000
44	6.94E-016	3.94E-016	100.000
45	6.67E-016	3.79E-016	100.000
46	6.51E-016	3.70E-016	100.000
47	6.02E-016	3.42E-016	100.000
48	5.91E-016	3.36E-016	100.000
49	5.79E-016	3.29E-016	100.000
50	5.74E-016	3.26E-016	100.000
51	5.41E-016	3.07E-016	100.000
52	5.37E-016	3.05E-016	100.000
53	5.06E-016	2.87E-016	100.000
54	4.92E-016	2.79E-016	100.000
55	4.85E-016	2.76E-016	100.000
56	4.63E-016	2.63E-016	100.000
57	4.44E-016	2.52E-016	100.000
58	4.41E-016	2.50E-016	100.000
59	4.23E-016	2.40E-016	100.000
60	4.21E-016	2.39E-016	100.000
61	3.94E-016	2.24E-016	100.000
62	3.91E-016	2.22E-016	100.000
63	3.72E-016	2.11E-016	100.000
64	3.32E-016	1.89E-016	100.000
65	3.13E-016	1.78E-016	100.000
66	3.08E-016	1.75E-016	100.000
67	3.02E-016	1.72E-016	100.000
68	2.79E-016	1.58E-016	100.000
69	2.63E-016	1.50E-016	100.000
70	2.45E-016	1.39E-016	100.000
71	2.41E-016	1.37E-016	100.000
72	2.25E-016	1.28E-016	100.000
73	2.22E-016	1.26E-016	100.000
74	2.09E-016	1.19E-016	100.000
75	1.99E-016	1.13E-016	100.000
76	1.94E-016	1.11E-016	100.000
77	1.73E-016	9.82E-017	100.000
78	1.61E-016	9.16E-017	100.000
79	1.45E-016	8.24E-017	100.000
80	1.33E-016	7.55E-017	100.000
81	1.18E-016	6.69E-017	100.000
82	9.33E-017	5.30E-017	100.000
83	7.80E-017	4.43E-017	100.000
84	6.37E-017	3.62E-017	100.000
85	5.86E-017	3.33E-017	100.000
86	4.82E-017	2.74E-017	100.000
87	4.41E-017	2.50E-017	100.000
88	3.11E-017	1.77E-017	100.000
89	1.89E-017	1.07E-017	100.000

90	1.56E-017	8.86E-018	100.000
91	1.32E-017	7.51E-018	100.000
92	7.03E-018	3.99E-018	100.000
93	1.56E-018	8.86E-019	100.000
94	4.19E-019	2.38E-019	100.000
95	2.04E-031	1.16E-031	100.000
96	8.26E-032	4.70E-032	100.000
97	3.15E-032	1.79E-032	100.000
98	2.07E-032	1.18E-032	100.000
99	1.00E-033	5.70E-034	100.000
100	-1.60E-032	-9.11E-033	100.000
101	-2.61E-032	-1.48E-032	100.000
102	-2.79E-032	-1.59E-032	100.000
103	-1.05E-031	-5.98E-032	100.000
104	-2.87E-019	-1.63E-019	100.000
105	-8.64E-019	-4.91E-019	100.000
106	-1.32E-018	-7.49E-019	100.000
107	-2.79E-018	-1.59E-018	100.000
108	-9.03E-018	-5.13E-018	100.000
109	-2.39E-017	-1.36E-017	100.000
110	-3.04E-017	-1.73E-017	100.000
111	-4.05E-017	-2.30E-017	100.000
112	-4.37E-017	-2.48E-017	100.000
113	-5.24E-017	-2.98E-017	100.000
114	-6.65E-017	-3.78E-017	100.000
115	-7.26E-017	-4.12E-017	100.000
116	-8.56E-017	-4.86E-017	100.000
117	-9.48E-017	-5.39E-017	100.000
118	-1.05E-016	-5.99E-017	100.000
119	-1.11E-016	-6.33E-017	100.000
120	-1.26E-016	-7.16E-017	100.000
121	-1.42E-016	-8.06E-017	100.000
122	-1.45E-016	-8.23E-017	100.000
123	-1.60E-016	-9.09E-017	100.000
124	-1.65E-016	-9.39E-017	100.000
125	-2.06E-016	-1.17E-016	100.000
126	-2.14E-016	-1.22E-016	100.000
127	-2.21E-016	-1.26E-016	100.000
128	-2.34E-016	-1.33E-016	100.000
129	-2.46E-016	-1.40E-016	100.000
130	-2.60E-016	-1.48E-016	100.000
131	-2.80E-016	-1.59E-016	100.000
132	-2.84E-016	-1.61E-016	100.000
133	-3.25E-016	-1.85E-016	100.000
134	-3.32E-016	-1.89E-016	100.000
135	-3.51E-016	-1.99E-016	100.000
136	-3.80E-016	-2.16E-016	100.000

137	-3.99E-016	-2.27E-016	100.000		
138	-4.14E-016	-2.35E-016	100.000		
139	-4.41E-016	-2.50E-016	100.000		
140	-4.49E-016	-2.55E-016	100.000		
141	-4.68E-016	-2.66E-016	100.000		
142	-4.90E-016	-2.79E-016	100.000		
143	-5.34E-016	-3.03E-016	100.000		
144	-5.52E-016	-3.13E-016	100.000		
145	-5.88E-016	-3.34E-016	100.000		
146	-6.07E-016	-3.45E-016	100.000		
147	-6.16E-016	-3.50E-016	100.000		
148	-6.86E-016	-3.90E-016	100.000		
149	-6.94E-016	-3.94E-016	100.000		
150	-7.31E-016	-4.15E-016	100.000		
151	-7.43E-016	-4.22E-016	100.000		
152	-7.74E-016	-4.40E-016	100.000		
153	-8.37E-016	-4.76E-016	100.000		
154	-8.68E-016	-4.93E-016	100.000		
155	-8.91E-016	-5.06E-016	100.000		
156	-9.39E-016	-5.34E-016	100.000		
157	-1.02E-015	-5.79E-016	100.000		
158	-1.06E-015	-6.04E-016	100.000		
159	-1.13E-015	-6.42E-016	100.000		
160	-1.24E-015	-7.03E-016	100.000		
161	-1.31E-015	-7.43E-016	100.000		
162	-1.32E-015	-7.49E-016	100.000		
163	-1.52E-015	-8.62E-016	100.000		
164	-1.88E-015	-1.07E-015	100.000		
165	-2.07E-015	-1.18E-015	100.000		
166	-2.37E-015	-1.34E-015	100.000		
167	-2.53E-015	-1.44E-015	100.000		
168	-3.50E-015	-1.99E-015	100.000		
169	-3.89E-015	-2.21E-015	100.000		
170	-4.29E-015	-2.44E-015	100.000		
171	-5.00E-015	-2.84E-015	100.000		
172	-5.06E-015	-2.88E-015	100.000		
173	-6.42E-015	-3.65E-015	100.000		
174	-7.37E-015	-4.19E-015	100.000		
175	-1.16E-014	-6.57E-015	100.000		
176	-2.43E-014	-1.38E-014	100.000		

Cuadro 8. Tabla SPSS varianza total explicada por los componentes principales calculados

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de las saturaciones al cuadrado de la extracción		
	Total	% de la varianza	% Acumulado	Total	% de la varianza	% acumulado
1	3.121	20.807	20.807	3.121	20.807	20.807
2	1.227	8.182	28.989	1.227	8.182	28.989
3	1.169	7.796	36.784	1.169	7.796	36.784
4	1.142	7.616	44.400	1.142	7.616	44.400
5	1.052	7.015	51.415	1.052	7.015	51.415
6	.935	6.234	57.649			
7	.894	5.957	63.606			
8	.847	5.646	69.251			
9	.819	5.458	74.710			
10	.766	5.110	79.820			
11	.754	5.029	84.848			
12	.688	4.585	89.434			
13	.568	3.787	93.221			
14	.537	3.579	96.800			
15	.480	3.200	100.000			

Método de extracción: Análisis de componentes principales

Cuadro 9. Tabla SPSS Coordenadas calculadas para todos los materiales de *Jatropha curcas L.*, para plotear el grafico de componentes principales:

	Componente		
	1	2	3
LLRS01	.650	-.220	.095
LLDT02	.279	.357	.430
LLJC03	.403	.057	.299
LLMR04	.049	.207	.360
LLFR05	.674	-.175	.041
LLFR06	.638	-.242	.042
LLAG07	.543	.170	.327
LGDC08	.297	.359	-.079
LGDC09	.463	.252	.150
LGDC10	.676	-.270	-.227
LGAG11	.059	-.118	.151
LGAG12	.349	.343	-.545
LGHH13	.197	.637	-.340
SJRP14	.582	-.216	-.356
SJVE15	.197	.197	.057

Método de extracción: Análisis de componentes principales.
a 3 componentes extraídos.

Cuadro 10. Tabla SPSS Matriz primaria de similitud. Coeficientes Bloques de Ciudad

Case	City Block Distance														
	1:LLRS01	2:LLDT02	3:LLJC03	4:LLMR04	5:LLFR055	6:LLFR06	7:LLAG07	8:LGDC08	9:LGDC09	10:LGDC10	11:LGAG11	12:LGAG12	13:LGHH13	14:SJRJ14	15:SJVE15
1:LLRS01	.000	29.000	32.000	36.000	24.000	21.000	25.000	34.000	34.000	19.000	32.000	35.000	31.000	24.000	33.000
2:LLDT02	29.000	.000	21.000	21.000	37.000	40.000	28.000	15.000	17.000	38.000	13.000	22.000	16.000	31.000	14.000
3:LLJC03	32.000	21.000	.000	24.000	32.000	33.000	25.000	20.000	20.000	33.000	18.000	25.000	23.000	24.000	19.000
4:LLMR04	36.000	21.000	24.000	.000	38.000	39.000	31.000	14.000	16.000	35.000	12.000	21.000	19.000	36.000	13.000
5:LLFR055	24.000	37.000	32.000	38.000	.000	15.000	23.000	36.000	34.000	19.000	38.000	35.000	35.000	24.000	39.000
6:LLFR06	21.000	40.000	33.000	39.000	15.000	.000	24.000	39.000	35.000	18.000	39.000	36.000	36.000	23.000	40.000
7:LLAG07	25.000	28.000	25.000	31.000	23.000	24.000	.000	31.000	27.000	30.000	31.000	30.000	28.000	23.000	32.000
8:LGDC08	34.000	15.000	20.000	14.000	36.000	39.000	31.000	.000	12.000	35.000	4.000	11.000	7.000	30.000	5.000
9:LGDC09	34.000	17.000	20.000	16.000	34.000	35.000	27.000	12.000	.000	31.000	10.000	15.000	11.000	28.000	11.000
10:LGDC10	19.000	38.000	33.000	35.000	19.000	18.000	30.000	35.000	31.000	.000	35.000	32.000	32.000	19.000	36.000
11:LGAG11	32.000	13.000	18.000	12.000	38.000	39.000	31.000	4.000	10.000	35.000	.000	9.000	7.000	28.000	1.000
12:LGAG12	35.000	22.000	25.000	21.000	35.000	36.000	30.000	11.000	15.000	32.000	9.000	.000	10.000	27.000	8.000
13:LGHH13	31.000	16.000	23.000	19.000	35.000	36.000	28.000	7.000	11.000	32.000	7.000	10.000	.000	25.000	8.000
14:SJRJ14	24.000	31.000	24.000	36.000	24.000	23.000	23.000	30.000	28.000	19.000	28.000	27.000	25.000	.000	29.000
15:SJVE15	33.000	14.000	19.000	13.000	39.000	40.000	32.000	5.000	11.000	36.000	1.000	8.000	8.000	29.000	.000

	171	172	173	174	175	176
LLRS01	1	0	1	0	0	1
LLDT02	1	1	0	0	0	0
LLJC03	0	1	0	0	0	0
LLMR04	0	0	0	1	0	0
LLFR05	1	1	0	1	0	0
LLFR06	0	1	0	1	0	1
LLAG07	0	1	0	1	0	1
LGDC08	1	0	0	1	1	0
LGDC09	0	1	0	0	0	0
LGDC10	1	0	0	0	0	0
LGAG11	0	0	0	0	0	0
LGAG12	0	0	0	0	0	0
LGHH13	0	0	0	0	1	0
SJRP14	0	0	0	0	0	0
SJVE15	0	0	0	0	0	0

2.10.1 Glosario

- **ADN: Acido Desoxirribonucleico:** ácido nucleico formado por nucleótidos en los que el azúcar es desoxirribosa, y las bases nitrogenadas son adenina, timina, citosina y guanina. Excepto en los retrovirus que tienen ARN, el ADN codifica la información para la reproducción y funcionamiento de las células y para la replicación de la propia molécula de ADN. Representa la copia de seguridad o depósito de la información genética primaria, que en las células eucarióticas está confinada en la caja fuerte del núcleo.
- **AFLP:** Tecnología para la amplificación de fragmentos de longitud polimórfica.
- **Alelo:** cada uno de los dos genes presentes en el mismo lugar (locus) del par de cromosomas homólogos. En general, uno de los diferentes estados alternativos del mismo gen.
- **Algoritmo UPGMA:** Mas simple método para la construcción de árboles, asume que el rango de cambio a lo largo de las ramas del árbol es constante, las distancias son ultra métricas (equidistantes a la raíz todos los OTUS).
- **Análisis cluster:** El Análisis Cluster, también conocido como Análisis de Conglomerados, Taxonomía Numérica o Reconocimiento de Patrones, es una técnica estadística multivariante **cuya finalidad es dividir un conjunto de objetos en grupos** (cluster en inglés) de forma que los perfiles de los objetos en un mismo grupo sean muy similares entre sí (cohesión interna del grupo) y los de los objetos de clusters diferentes sean distintos (aislamiento externo del grupo).
- **Análisis de componentes principales:** es una técnica utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. Técnicamente, el PCA busca la proyección según la cual los datos queden mejor representados en términos de

mínimos cuadrados. En términos menos formales, puede usarse para determinar el número de factores subyacentes explicativos tras un conjunto de datos, que expliquen la variabilidad de dichos datos. PCA se emplea sobre todo en análisis exploratorio de datos y para construir modelos predictivos. PCA comporta el cálculo de la descomposición en autovalores de la matriz de covarianza, normalmente tras centrar los datos en la media de cada atributo.

- **Anátropos:** óvulo más frecuente en angiospermas que se caracteriza por sufrir un giro de 180°, de modo que el funículo (o pie) se suelda lateralmente al tegumento externo constituyendo la rafe y manteniendo la nucela recta.
- **Barbecho:** Período (de un año o más) en el que no se siembra la tierra y se deja descansar para su recuperación. Normalmente es cada tres años que una tierra se pone en barbecho
- **Bioteología:** toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos en usos específicos.
- **Carunculada:** Arilo micropilar de pequeñas dimensiones que se observa en algunas semillas.
- **Cebador:** Pequeña cadena de nucleótidos a partir de la cual la ADN polimerasa inicia la síntesis de una molécula nueva de ADN.
- **Codominante:** Alelo que contribuye por igual al fenotipo cuando se expresan en un heterocigoto.
- **Coeficiente de parentesco:** que se define como la probabilidad de que dos gametos, tomados cada uno de un individuo sean idénticos por descendencia

- **Connado:** Dícese de los órganos que aparecen más o menos unidos entre sí congénitamente. De manera general se dice de las hojas opuestas soldadas por sus bases, formando un solo cuerpo
- **Cromatografía:** La cromatografía es un método de separación en el que los componentes a desglosar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye un lecho estacionario de amplio desarrollo superficial y la otra es un fluido que pasa a través o a lo largo del lecho estacionario.
- **Delección:** pérdida de un trozo de cromosoma que se rompe y separa del material genético
- **Dioica:** Se dice que una especie es dioica cuando sus flores solo tienen gametos masculinos o femeninos.
- **Diversidad genética:** Variedad en los diferentes tipos de genes en una especie o población. La diversidad genética es en realidad una forma de biodiversidad.
- **Dominante:** referido a un gen, el que sólo necesita una dosis para expresarse por lo que enmascara la presencia de su alelo recesivo. La mayoría de los alelos dominantes representan el estado evolucionado y completamente funcional del gen.
- **EcoRI:** Enzimas de restricción que realiza cortes a través de ambas hélices del ADN. Por ejemplo, la enzima de restricción EcoRI reconoce la siguiente secuencia.

G-A-A-T-T-C-

C-T-T-A-A-G-

EcoRI hace un corte bien preciso entre la G y A en cada hélice dejando el ADN de esta forma:

G y A-A-T-T-C-

C-T-T-A-A y G-

- **EDTA:** compuesto químico que quela cationes divalentes como Ca^{2+} ($\log_{10} K_{\text{app}}$ a pH 7.0 : 7.22) y Mg^{2+} ($\log_{10} K_{\text{app}}$ a pH 7.0 : 5.37). El EDTA se usa para remover cationes divalentes en soluciones de ADN y así prevenir la actividad de la ADNasa.
- **Electroforesis:** Técnica para separar moléculas iónicas mediante la migración diferencial en un soporte sólido de acuerdo con el tamaño y la carga iónica de las moléculas en el campo eléctrico. Las moléculas separadas se localizan mediante su teñido o revelado.
- **Endonucleasa:** Enzima que corta un enlace fosfodiéster de una hebra de ADN y la fragmenta en dos más pequeñas.
- **Endosperma:** Membrana o tejido compuesto en el saco embrionario que rodea a las semillas de las plantas espermatofitas, gimnospermas y angiospermas, que les sirve de alimento.
- **Energía renovable:** Recursos energéticos continuamente disponibles o renovables (p.ej.: solar, eólica, marea, biomasa, hidroeléctrico, geotérmico).
- **Enzimas:** catalizador biológico, normalmente una proteína, que mediatiza y promueve un proceso químico sin ser ella misma alterada o destruida. Son catalizadores extremadamente eficientes y muy específicamente vinculados a reacciones particulares.

- **Enzimas de restricción:** Enzimas bacterianas sintetizadas como reacción defensiva frente a la invasión de ADN extraño, como, por ejemplo, bacteriófagos ADN, a los que degrada mientras que el propio está protegido por metilaciones específicas. Cada una de estas enzimas escinden el ADN siempre en el mismo sitio, en *loci* específicos o secuencias objetivo. Son las tijeras de la ingeniería genética que abrieron las puertas a la manipulación genética.
- **Epigenético:** cualquier control que ejerza algún metabolito o proteína externa a la secuencia de ADN, sobre la expresión genética.
- **Estigma:** Engrosamiento terminal del estilo de la flor en cuya superficie se recibe el polen.
- **Fenotipo:** conjunto de todos los caracteres aparentes expresados por un organismo, sean o no hereditarias.
- **Gen:** unidad física y funcional del material hereditario que determina un carácter del individuo y que se transmite de generación en generación. Su base material la constituye una porción de cromosoma (locus) que codifica la información mediante secuencias de ADN.
- **Genoma:** conjunto de todos los genes de un organismo, de todo el patrimonio genético almacenado en el conjunto de su ADN o de sus cromosomas.
- **Genotipo:** constitución genética, de uno o más genes, de un organismo en relación a un rasgo hereditario específico o a un conjunto de ellos.
- **Germoplasma:** la variabilidad genética total, representada por células germinales, disponibles para una población particular de organismos.

- **Glabro:** Desprovisto absolutamente de pelos.
- ***in vitro*:** literalmente en el vidrio, en el tubo de ensayos del laboratorio, investigado y manipulado fuera del organismo vivo.
- **Kilobase (Kb):** unidad empleada para medir la longitud de los fragmentos de ADN constituidos por una serie de bases. 1 Kb = 1.000 bases.
- **Ligasas:** Enzima que puede reparar la rotura de una cadena de ADN sintetizando un puente entre nucleótidos vecinos. En ciertas circunstancias este enzima puede unir extremos sueltos de cadenas de ADN e incluso reparar también moléculas de ARN.
- **Loci:** en latín, plural de locus.
- **Locus:** en genética, punto de un cromosoma ocupado por un gen.
- **Mapa genético:** diagrama descriptivo de los genes en cada cromosoma
- **Marcador molecular:** Los marcadores moleculares están situados en lugares específicos del genoma. Se usan para “marcar” la posición de un gen en concreto o la herencia de una característica particular. En un cruzamiento genético, las características de interés seguirán generalmente unidas a los marcadores moleculares.
- **Msel:** Enzimas de restricción que realiza cortes a través de ambas hélices del ADN. Por ejemplo, la enzima de restricción Msel reconoce la siguiente secuencia

-T-T-A-A-

-A-A-T-T-

Msel hace un corte bien preciso entre la G y A en cada hélice dejando el ADN de esta forma:

-T y T-A-A-

-A-A-T y A-

- **Mutación:** cambio del material genético. Puede afectar a cambios en un par de bases del ADN, en un gen específico o en la estructura cromosómica. La mutación en la línea germinal o relativa a las células sexuales, puede conducir a patologías genéticas o a cambios substanciales de la evolución biológica. En relación a las células somáticas la mutación constituye el origen de algunos cánceres y de ciertos aspectos del envejecimiento.
- **Nucleótido:** monómero de los ácidos nucleicos, integrado por la combinación de una base nitrogenada (purina o pirimidina), un azúcar (ribosa o desoxirribosa) y un grupo fosfato. Se obtiene como producto de la hidrólisis de ácidos nucleicos por acción de nucleasas.
- **Oligonucleótido:** Secuencia lineal de nucleótidos unidos por enlaces fosfo-diéster, habitualmente no mayor de 50 nucleótidos.
- **PCR: Reacción en cadena de polimerasa:** técnica de análisis del genoma mediante la amplificación ilimitada de porciones específicas del ADN, aunque sean minúsculas. Es un método revolucionario de amplificación exponencial del ADN por la intervención de una enzima termoestable, la Taq polimerasa, inventado por el

americano Kary Mullis en 1985 por lo que se le concedió en 1993 el premio Nobel. Es el proceso fundamental para la secuenciación del Proyecto Genoma Humano.

- **Poliacrilamida:** Matriz gelatinosa, formada por una mezcla de acrilamida y bisacrilamida, que se emplea en técnicas de electroforesis de proteínas y ácidos nucleicos.
- **Polimerasa:** Enzima que cataliza el ensamblaje de los trifosfatos de desoxirribonucleósido en el ADN, sirviendo como patrón una cadena simple de ADN.
- **Polimorfismo:** Locus genético que está presente en dos o más alelos distintos, de forma que el alelo más raro tiene una frecuencia mayor o igual a 1% (0,01) en la población general. Un polimorfismo puede ser transitorio (las frecuencias alélicas tienden a cambiar debido a una ventaja selectiva) o estable (las frecuencias alélicas permanecen constantes durante muchas generaciones).
- **Toxina:** proteína responsable de la especificidad funcional de ciertas bacterias, que es venenosa para determinados organismos. Entre las mejor conocidas, tanto por su estructura como por los mecanismos de acción, figuran las toxinas colérica y tetánica que interaccionan con las células diana a través de gangliósidos de membrana.

CAPITULO III

SERVICIOS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE PLANTACIONES DE PIÑÓN (*Jatropha curcas L.*), EN DIFERENTES COMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE MASAGUA, DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA.



3.1 PRESENTACION

Ante el grave problema de la contaminación ambiental, el hecho de que las reservas de combustibles fósiles se agotarán en un futuro y el incremento del precio internacional del crudo muchos países han decidido impulsar el desarrollo y uso de fuentes de energías alternativas, que ofrecen grandes ventajas sobre las fuentes energéticas actuales, ya sea por su menor efecto contaminante o fundamentalmente por su posibilidad de renovación.

En Guatemala se ha iniciado trabajando con algunas fuentes alternativas, tal es el caso de los Ingenios, que actualmente producen Etanol y recientemente se está impulsando la producción de Biodiesel a base de Piñón (*Jatropha curcas L.*), es necesario mencionar que esté no forma parte de los cultivos básicos y que por sus ventajas agronómicas puede dar un impulso a la agricultura del país.

Es importante aclarar para producir el piñón no sería necesario sustituir los cultivos existente por este; podrían utilizarse todas aquellas tierras marginales, sin uso agrícola o no aptas para la agricultura, y de esta manera obtener un ingreso extra con la venta de semilla y/o aceite de piñón. Esta actividad podría resultar muy remunerable para el sector agrícola del país, que actualmente atraviesa por una severa crisis.

De una forma inicial se cuenta con 11 personas que están interesadas en establecer plantaciones de piñón en sus terrenos, pero para ello es necesario brindarles plántulas de piñón y asesoría para el establecimiento y para el manejo del cultivo, actualmente se cuenta con un total de 26.3 manzanas disponibles para el establecimiento, para ello se necesita producir 32,191 plántulas de piñón.

Durante el desarrollo de las actividades del ejercicio profesional supervisado se generaron una serie de servicios orientados a establecer plantaciones de piñón (*Jatropha curcas L.*), se diseño un vivero para la reproducción de plántulas de piñón, se establecieron plantaciones sembrando de forma directa durante la época lluviosa y se brindaron una serie de capacitaciones teóricas y practicas, para el manejo y cuidado de las plantaciones.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo General

- Establecer plantaciones de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, departamento de Escuintla, Guatemala.

3.2.2 Objetivos Específicos

- Construir un vivero para la reproducción de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en la comunidad Llanitos, municipio de Masagua, departamento de Escuintla.
- Realizar establecimiento de plantaciones de Piñón (*Jatropha curcas L.*), con siembra directa en diferentes comunidades del municipio de Masagua, departamento de Escuintla.
- Brindar asesoría técnica para el manejo de plantaciones de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, departamento de Escuintla.

3.3 METODOLOGÍA

Construcción de vivero para la reproducción de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en la comunidad Llanitos, municipio de Masagua, departamento de Escuintla.

- Ubicar el área para el establecimiento del vivero
- Determinar el área del vivero
- Establecer la capacidad del vivero
- Adquirir los materiales necesarios
- Coordinar con personal
- Construcción del vivero

Establecimiento de piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla.

- Mecanización del terreno
- Recolección de la semilla
- Preparación de la semilla
- Preparación del terreno
- Siembra

Asesoría técnica para el manejo de plantaciones de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla.

- CAPACITACIONES TEORICAS
 - Se realiza una exposición teórica, utilizando equipo multimedia y se elaboran manuales que sean prácticos e ilustrativos, de estas se entrega un ejemplar a cada uno de los participantes.
- CAPACITACIONES PRACTICAS
 - Este tipo de capacitaciones se realizan en una parcela, en donde se lleva todo el equipo necesario, se da una charla y se ejecuta de forma practica lo que se ha expuesto.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Construcción de vivero para la reproducción de Piñón (*Jatropha curcas L.*)

3.4.1.1 Diseño del vivero

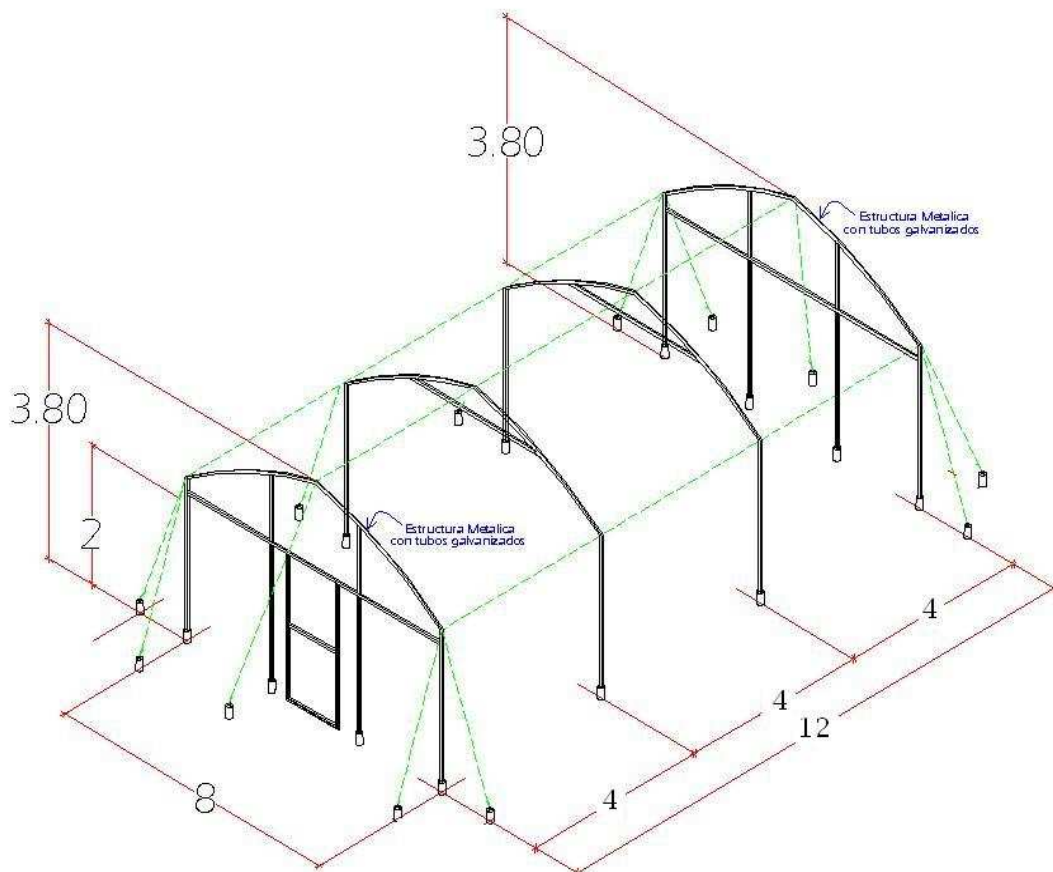


Figura 27. Diseño del vivero

Toda la estructura del vivero es de tubo galvanizado, los tensores son de cable de acero, la cubierta es de sarán, será construido en la comunidad Llanitos del municipio de Masagua, Escuintla, a un costado del centro de acopio de la empresa Mazat Agui S.A., km 85.5 antigua carretera al puerto San José.

3.4.1.2 Capacidad del vivero

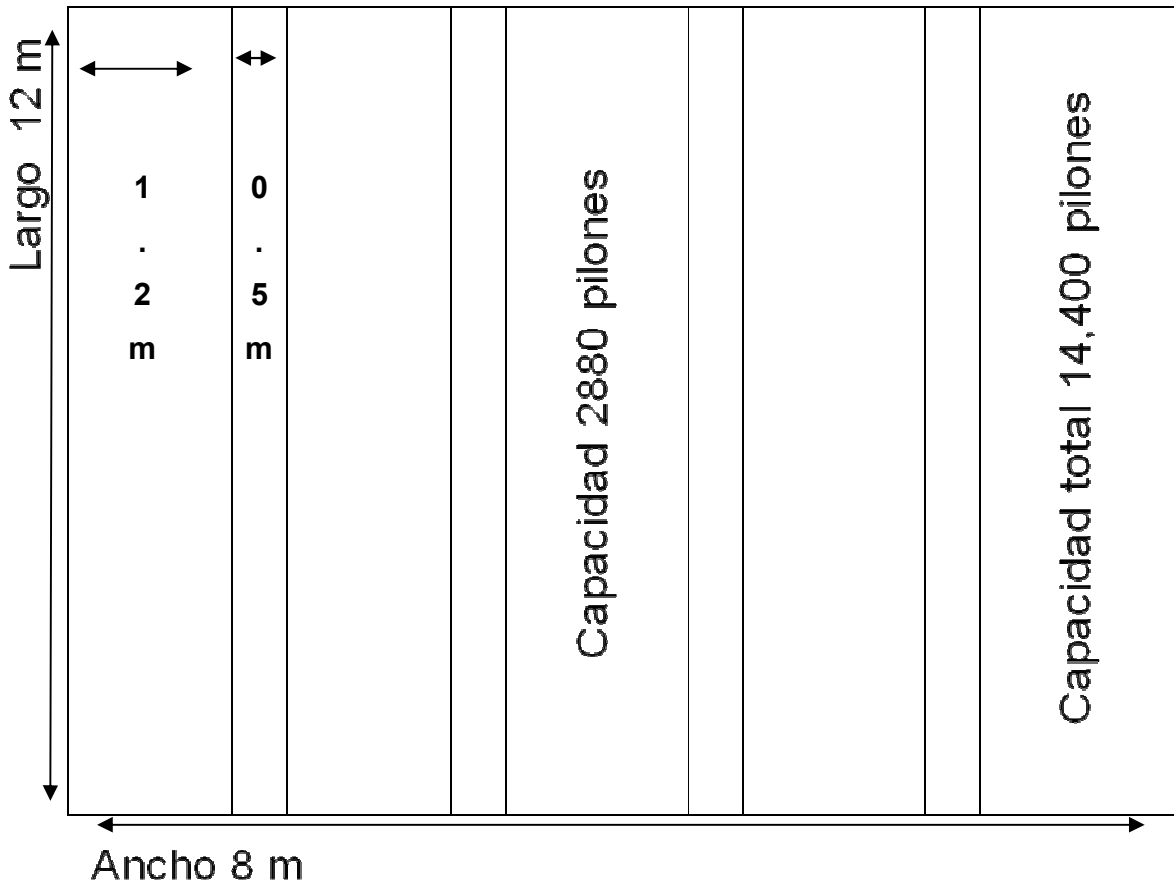


Figura 28. Capacidad del vivero

El vivero cuenta con cinco camas de 1.20 m de ancho por 12 m de largo, cada cama tiene una capacidad 2,880 pilones, con una capacidad total de 14,400 pilones, entre cada cama existe una calle de 0.5 m de ancho.

Este vivero funcionara para la reproducción de plántulas de piñón con fines de establecimiento de parcelas productoras de materia prima para biodiesel, para socios de la empresa Mazat Agui S.A., para el uso del mismo la junta directiva de dicha empresa se encargara de organizar y calendarizar la producción de las plántula así como del manejo y cuidados del mismo.

3.4.2 Establecimiento de piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla

Cuadro 12. Parcelas establecidas con piñón (*Jatropha curcas L.*)

Propietario	Extensión	Ubicación
Pedro Julio Higueros	1 manzana	Parcelamiento el pilar
Gloria Portillo Noguera	3 manzanas	Botón blanco
Francisco García	2 manzanas	Parcelamiento Cuyuta
Francisco García	1 manzana	Parcelamiento Cuyuta
Freddy Grajeda	3 manzanas	Parcelamiento Cuyuta



Figura 29. Establecimiento de parcelas de piñón

A) Preparación de la semilla **B)** Preparación del terreno

Previo a realizar la siembra, fue necesario realizar la preparación de la semilla aplicándole un químico preventivo para plagas del suelo, luego se procedió a la preparación del terreno que consiste en establecer los puntos en donde se realizara la siembra tomando en cuenta la distancia de siembra deseada, al momento de la siembra, esta se realizó colocando 3 semillas por postura. Después de germinación se realizó un raleo dejando un arbolito por postura. Las parcelas recibieron manejo de malezas, podas y fertilizaciones.



Figura 30. Establecimiento de parcelas de piñón

A) Momento de la Siembra y B) Parcela de 7 días después de la germinación



Figura 31. Parcela de piñón

A) Parcela de 2 meses después de la germinación

B) Parcela de 3 meses después de la germinación

Estas cinco personas son las que lograron establecer su plantación en la época de invierno, por lo que la siembra se realizó de forma directa al suelo, el resto de personas realizarán un almácigo para poder establecer su plantación en un futuro.

3.4.3 Asesoría técnica para el manejo de plantaciones de Piñón (*Jatropha curcas L.*), en diferentes comunidades del municipio de Masagua, Escuintla.

Los temas de las capacitaciones que se brindaron son los siguientes:

3.4.3.1 Muestreo de suelos

- La calidad del muestreo
- Cuando se debe realizar
- Selección del lugar y el método a utilizar
- Patrones de muestreo
- Numero de muestras y submuestras
- La profundidad del muestreo
- La época del muestreo
- La periodicidad del muestreo
- Herramientas necesarias
- Cuidados necesarios
- Como aplicar la técnica
- Preparación de la muestra
- Etiquetado de la muestra

3.4.3.2 Muestreo de agua

- Generalidades del muestreo de agua
- Características de los recipientes
- Volumen
- Almacenaje
- Técnicas de muestreo
- Equipo de muestreo

3.4.3.3 Muestreo foliar

- Criterios básicos
- Usos del análisis de plantas

- Problemática del muestreo
- Metodologías alternativas de diagnóstico
- Generalidades del muestreo
- Parámetros del muestreo foliar
- Criterios de muestreo para diferentes cultivos

3.4.3.4 Interpretación de resultados de análisis de suelo

- Propiedades del suelo
- Análisis químico del suelo
- Fertilizantes
- Concentración de los nutrientes en los fertilizantes
- Ejemplo de cálculos

3.4.3.5 Equipo de aplicación

- Equipos de aplicación
- Revisión del equipo
- Como desarmar una bomba de pistón
- Boquillas
- Componentes de las boquillas
- Selección de boquillas
- Descarga de aplicación y área cubierta
- Tipos de boquillas
- Calibración

3.4.3.6 Control de malezas

- Concepto de maleza
- importancia del control de malezas
- tipos de herbicidas
- como seleccionar el herbicida correcto

- información de la etiqueta del herbicida
- equipo de protección

3.4.3.7 Poda

- Tipos de podas
- Cuando realizarlas
- Importancia de las podas
- Cuidados en las podas
- Aplicación de fungicidas



Figura 32. Capacitaciones teóricas

A y B) Muestreo de suelos, **C)** Muestreo de agua y tejido vegetal y **D)** Interpretación de resultados de análisis de suelos



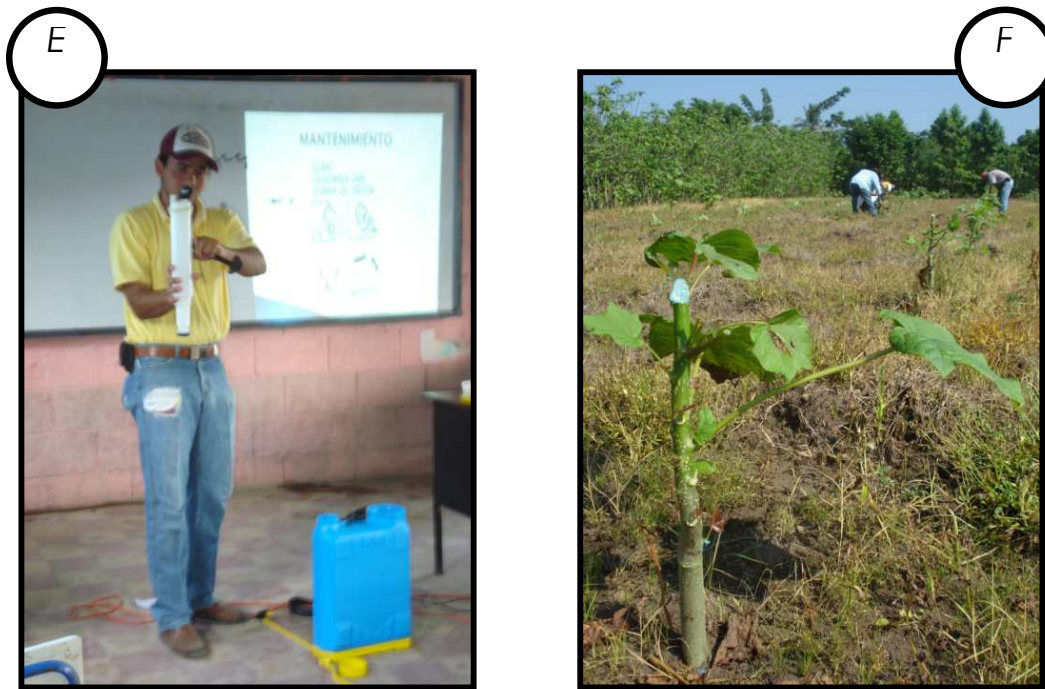


Figura 33. Capacitaciones Prácticas

A y D) Importancia del control de malezas, **B)** Equipo de protección, **C)** Aplicación de herbicidas, **E)** Mantenimiento del equipo de aplicación y **F)** Podas.