

**Evaluación de tres medios de cultivo para la  
inducción de brotes en *Jatropha curcas*  
-variedad hindú- a partir de callo**

**Belkis Yaneth Rodríguez González**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**

**Honduras**

Noviembre, 2013

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación de tres medios de cultivo para la  
inducción de brotes en *Jatropha curcas*  
-variedad hindú- a partir de callo**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Belkis Yaneth Rodríguez González**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2013

# **Evaluación de tres medios de cultivo para la inducción de brotes en *Jatropha curcas* -variedad hindú- a partir de callo**

Presentado por:

Belkis Yaneth Rodríguez González

Aprobado:

---

María Alexandra Bravo, M.Sc.  
Asesora principal

---

Renán Pineda, Ph.D.  
Director  
Departamento de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Asesor

---

Raúl Zelaya, Ph.D.  
Decano Académico

---

Renán Pineda, Ph.D.  
Asesor

## **Evaluación de tres medios de cultivo para la inducción de brotes en *Jatropha curcas* -variedad hindú- a partir de callo**

Belkis Yaneth Rodríguez González

**Resumen:** La *Jatropha curcas* es una planta arbustiva perteneciente a la familia Euphorbiaceae, originaria de México y Centroamérica, se adapta a suelos infértiles, altas temperaturas y sequía. Es una planta importante por su producción de semilla de la cual se extrae aceite, componente esencial para el desarrollo de biocombustible. Las técnicas de propagación convencional promueven variabilidad en la producción, siendo necesario la aplicación de métodos más eficientes como el establecimiento en medio de cultivo *in vitro*. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de 6- bencil aminopurina y sulfato de adenina en el desarrollo de tejido callogénico en *Jatropha curcas*. Se usó hojas inmaduras para el desarrollo de callos, las mismas fueron colocadas en el medio de cultivo basal de Murashige y Skoog (MS) modificado, tres semanas después fueron extraídos los callos, posteriormente se colocaron al medio MS suplementado con bencil aminopurina (BAP), BAP 0.5 mg/L; BAP 2.0 y BAP 2.0 + Sulfato de adenina 10 mg/L, a este último tratamiento se le aumentó el sulfato de adenina a 20 mg/L en la cuarta semana de establecidos los callos. Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, y seis unidades observacionales por repetición. Después de seis semanas las hormonas usadas en el medio promovieron únicamente crecimiento de la masa callogénica.

**Palabras clave:** Auxina, brotes adventicios, coquito, citoquinina, organogénesis, piñón

**Abstract:** *Jatropha curcas* is a shrub belonging to the family Euphorbiaceae, native to Mexico and Central America, it can grow in infertile soils, high temperatures and drought. It is an important plant for the production of seed from which oil is extracted, which is an essential component for the development of biofuel. Conventional propagation techniques promote production variability, requiring the implementation of more efficient methods such as the establishment in culture medium *in vitro*. This study aims to evaluate the effect 6-benzylaminopurine and adenine sulphate in callogenic tissue in *Jatropha curcas*. Inmature leaves were used for the development of calli, they were placed in the basal Murashige and Skoog (MS) modified medium, and after three weeks the calli were removed, then placed in MS medium supplemented with benzyl aminopurine (BAP), BAP 0.5 mg /L; BAP 2.0 y BAP 2.0 + adenine sulphate 10 mg/L, in this last concentration an additional of 20 mg/L adenine sulphate was applied in the fourth week of establishment. A completely randomized design was used, with three treatments and three replicates per treatment with six observational units by repetition. After six weeks, the hormones used in the growth medium only promoted callogenic mass.

**Key words:** auxin, adventitious buds, nutseed, cytokinin, organogenesis, pinion

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas. ....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de cuadros y figuras.....	v
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>4 CONCLUSIONES.....</b>	<b>10</b>
<b>5 RECOMENDACIONES.....</b>	<b>11</b>
<b>6 LITERATURA CITADA.....</b>	<b>12</b>

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo basal para la inducción de callo <i>in vitro</i> en <i>Jatropha curcas</i> - variedad hindú - .....	4
2. Medio basal para observar respuesta del tejido callogénico en <i>Jatropha curcas</i> - variedad hindú - .....	5
3. Peso de los callos de <i>Jatropha curcas</i> - variedad hindú - a los 42 días de establecidos en medio MS modificado y suplementado con bencil aminopurina (BAP) y sulfato de adenina (SA) .....	8

Figuras	Página
1. Extracción de segmentos de hojas inmaduras de <i>Jatropha curcas</i> L, para la inducción de callo .....	3
2. Callos de <i>Jatropha curcas</i> -variedad hindú- formados a la tercera semana de haber sembrado los explantes de hojas inmaduras. ....	4
3. Tejido callogénico de <i>Jatropha curcas</i> -variedad hindú- establecido en medio suplementado con bencil aminopurina y sulfato de adenina a los 7 y 21 días. ....	7
4. Tejido callogénico de <i>Jatropha curcas</i> -variedad hindú- establecido en medio suplementado con bencil aminopurina y sulfato de adenina a los 28 y 42 días. ....	9

## 1. INTRODUCCIÓN

El ser humano posee un gran reto en buscar fuentes energéticas para biocombustibles contribuyendo a disminuir los gases tóxicos emitidos a la atmósfera por los combustibles fósiles, la *Jatropha curcas* es uno de los cultivos con mayor potencial para la fabricación de biodiesel, además es eficiente en la captación de CO<sub>2</sub> el cual contribuye a mitigar el cambio climático (Sotolongo *et al.* 2009). La fijación de CO<sub>2</sub> en *Jatropha* es dos veces mayor que en las especies maderables (Teco Bravo s.f.), cada planta tiene la capacidad de fijar más de 8 kg de carbono por año (The Cleanergy Group s.f.).

La *Jatropha curcas* pertenece a la familia Euphorbiaceae, es un arbusto perenne cuyo origen se localiza en Mesoamérica, es cultivada en América Central, Sudamérica, Asia, India y África (Heller 1996). Es una planta que puede tolerar la salinidad y se adapta a todo tipo de suelo, crece a una altura de 1.5-8 m y llega a vivir en promedio 50 años. El crecimiento, ramificación, cantidad de flores y frutos, tamaño del fruto y rendimiento depende de las condiciones climáticas y edáficas (Kumar 2009). Las hojas y los frutos son tóxicos ya que contienen ésteres de forbol (Valdés Rodríguez 2012).

Las distintas partes de la planta de *Jatropha* pueden ser usadas para generar distintos tipos de energía: biodiesel a partir del aceite contenido en la semillas, biogás a partir de la fermentación de residuos generados después de la extracción del aceite, etanol a partir de la fermentación de lignocelulosa de la madera, briquetas (combustible sólido) se genera de la compactación de la cascarilla de la semilla (Teco Bravo s.f.). Cada planta por año produce en promedio 5 kg de frutos del cual es 60% es semilla y el 40% es cáscara (Cultivo Energéticos SRL 2012). Pero cada planta puede producir hasta 10-12 kilos de semilla al año (Quiroz s.f.).

La *Jatropha* se adapta a altas temperaturas, sequías y suelos degradados, ayudando así a la recuperación de la tierra y restauración de las áreas erosionadas; y el aceite derivado no es de consumo humano, por ende no compite con la seguridad alimentaria (De La Vega Lozano 2008). El producto residual de la extracción de aceite contiene en promedio 55% de proteína presentando un potencial para emplearse en balanceado para animales, pero su uso es restringido debido al contenido de ésteres de forbol (Quiroz s.f.).

La planta de *Jatropha* puede reproducirse por auto- polinización y polinización cruzada (Rong Wang y Jie Ding 2012). La mayor reproducción se da por polinización cruzada, la cual origina un alto grado de variación genética, siendo imprescindible hacer una buena selección de semillas para lograr una producción estándar en rendimiento, contenido de aceite por semillas, tiempo de floración y relación del número de flores masculinas y femeninas; el cual es posible realizando un buen programa de mejoramiento genético

(Gohil y Pandya 2008). El mejoramiento genético convencional es complementado por técnicas biotecnológicas como el cultivo de tejidos y biología molecular (Prada 2012).

La propagación por semillas es la más usada, sin embargo, este método desarrolla plantas con gran heterocigosidad causando variabilidad en la cantidad de semilla y contenido de aceite por semilla. Las plantas propagadas por esquejes presentan baja longevidad y reducción en la producción de semillas, el crecimiento de sus raíces es lateral lo que limita su absorción de agua y nutrientes en las capas más profundas del suelo (Mukherjee *et al.* 2011).

La micropropagación es uno de los métodos tecnológicos más eficientes para masificar la producción de *Jatropha c* puesto que permite el desarrollo de un gran número de plantas con el genotipo de interés, por tanto las plantas generadas presentan igual potencial que las plantas madres (Yan Franken 2009). Además se tiene mayor cantidad de plantas en un espacio reducido en menor tiempo, también se tiene mayor control de sanidad del material que se propaga, por consiguiente plantas más sanas. Además se puede transportar material *in vitro* de un país a otro (Prada 2012).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de 6- bencil aminopurina y sulfato de adenina en el desarrollo de tejido callogénico de *Jatropha curcas* - variedad hindú -.



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

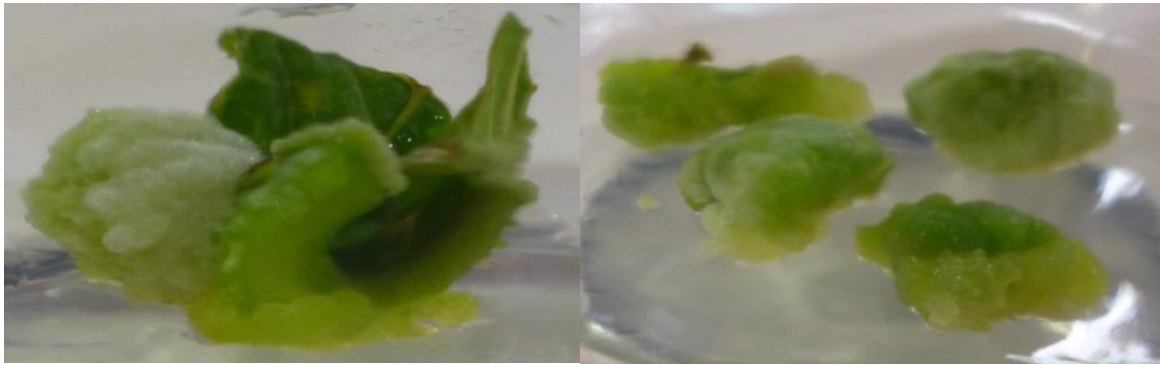
Para la obtención del explante se cortaron hojas inmaduras y fueron llevadas al laboratorio para la inducción de callo. Las hojas fueron lavadas con agua y jabón durante un minuto, luego se colocaron en etanol al 70% durante 15 segundos, posteriormente fueron sumergidas durante 15 minutos, en una solución de NaOCl al 20% (v/v) con dos gotas de Tween<sup>TM</sup> 80 por cada 100 ml, preparado con agua destilada. Después de los 15 minutos fueron llevadas a la cámara de flujo laminar donde se terminó de hacer la desinfección, realizando tres enjuagues con agua destilada estéril. Se usó cloro comercial (Magia Blanca<sup>®</sup> al 4.72% i.a) para preparar la solución de NaOCl (Almeida Montenegro 2011).

Para la inducción de callo se usó el protocolo de Almeida Montenegro (2011). A las hojas desinfectadas se les eliminó el borde y se dividieron en segmentos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> y fueron colocados con el envés hacia el medio de cultivo (Figura 1), luego los explantes se colocaron en el medio de cultivo basal de Murashige y Skoog modificado (Cuadro 1).



**Figura 1.** Extracción de segmentos de las hoja inmaduras de *Jatropha curcas* L, para la inducción de callo.

Tres semanas después, los callos formados (Figura 2) fueron transferidos al medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS) (Cuadro 2), al medio se le adicionaron hormonas según el tratamiento. Para la preparación de todas las soluciones y medio de cultivo se usó agua destilada, el pH fue medido con el pH Meter S20 Seven Easy<sup>TM</sup> y ajustado a 5.8 con HCl o KOH y solidificado con 1.8 g/L de Phytigel<sup>®</sup>. El medio fue dispensado en frascos de vidrio colocando 20 ml del medio por frasco. Posteriormente el medio fue esterilizado en la autoclave, se usó una autoclave Market Forge Sterilmatic STM- E a 15 PSI a 121 °C durante 20 minutos.



**Figura 2.** Callos de *Jatropha curcas* -variedad hindú- formados a la tercera semana de haber sembrado los explantes de hojas inmaduras.

**Cuadro 1.** Medio de cultivo basal para la inducción de callo *in vitro* en *Jatropha curcas* -variedad hindú-.

Componente	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	$\text{KNO}_3$	Nitrato de potasio	1,900.000
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	Nitrato de amonio	1,650.000
Microelementos	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Ácido bórico	6.200
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes Orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Ácido nicotínico	0.500
		Piridoxina	0.500
		Tiamina	0.100
		AIB	0.500
		BAP	0.500
		Sacarosa	30,000.000

Fuente: Almeida Montenegro (2011)

**Cuadro 2.** Medio basal para observar respuesta del tejido callogénico en *Jatropha curcas* -variedad hindú-.

Componente	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	$\text{KNO}_3$	Nitrato de potasio	1,900.000
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	Nitrato de amonio	1,650.000
Microelementos	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Ácido bórico	6.200
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes Orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Ácido nicotínico	0.500
		Piridoxina	0.500
		Tiamina	0.100
		AIB	0.500
		Sacarosa	30,000.000
	Phytigel	1,800.000	

Fuente: Kyte (1987)

**Tratamientos.** Se usó bencil aminopurina (BAP) en concentraciones de 0.5 mg/L y 2.0 mg/L y sulfato de adenina (SA) 10 mg/L, obteniendo así los siguientes tratamientos:

- A- BAP 0.5 mg/L
- B- BAP 2.0 mg/L
- C- BAP 2.0 mg/L + SA 10.0 mg/L

En la cuarta semana se cambió los callos a medio de cultivo fresco y al tratamiento que contenía 10 mg/L de sulfato de adenina se aumentó la dosis a 20 mg/L.

**Preparación y siembra del material vegetal.** Se desinfectó la cámara de flujo laminar antes de hacer la siembra, con alcohol al 70%, las pinzas y bisturíes fueron esterilizados a 250°C, para la esterilización de los mismos se usó el esterilizador de calor seco Z3378550- Steri 250, AC input 120V.

Los callos formados fueron extraídos con pinzas y bisturíes estériles; se usó papel manila esterilizado como base para hacer el corte de los callos presentes en los explantes de hojas inmaduras. Una vez cortados se colocaron 2-3 callos por frasco de vidrio, el cual contiene 20 ml del medio de cultivo, luego se sellaron y se procedió a colocarlos en el cuarto de crecimiento a 22°C con una humedad relativa de 50%. La intensidad de luz fue de 2000 Lux con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, se usó lámpara fluorescente del tipo Philips- twister 23W 110-127V.

#### **Datos evaluados**

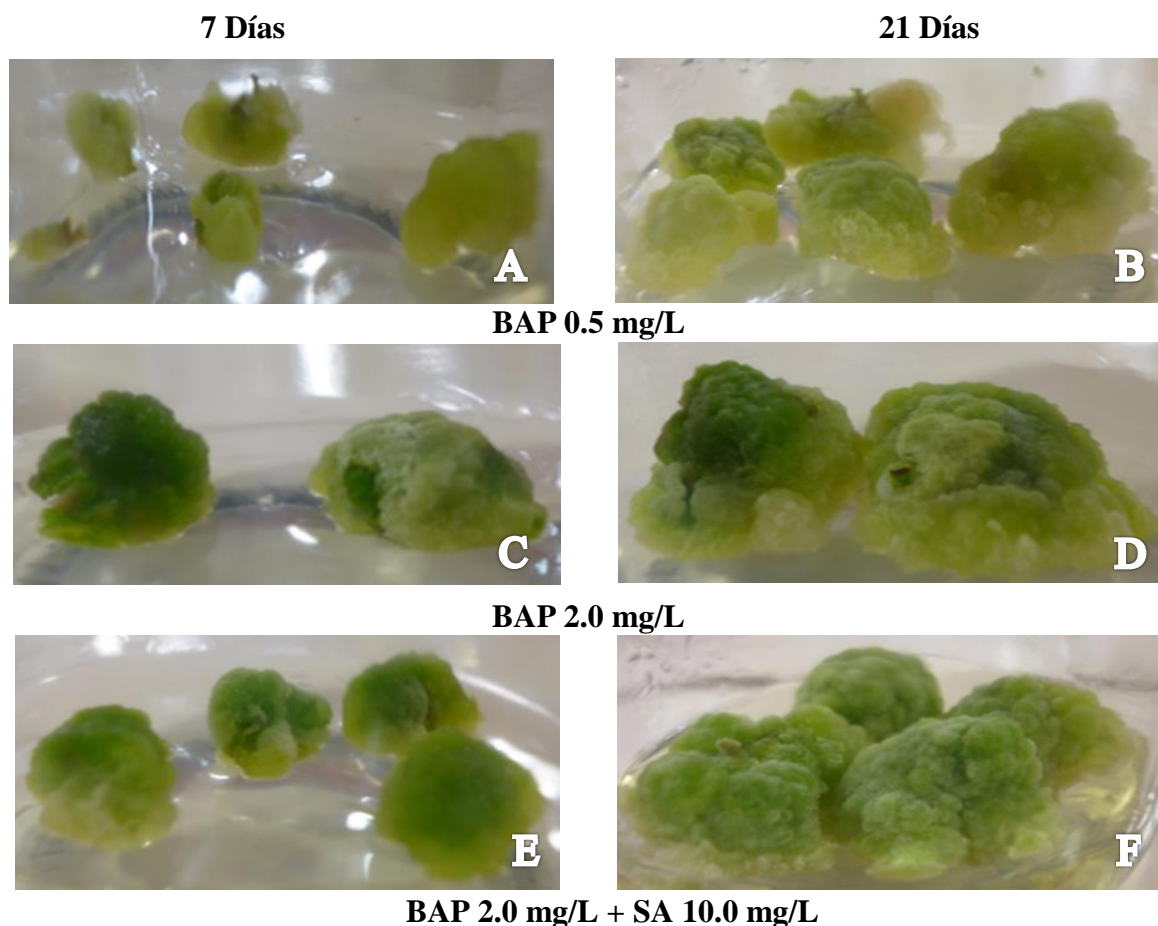
Se observaron y fotografiaron los explantes cada 7 días y a los 48 días de establecido se pesaron 45 explantes para determinar la influencia de las hormonas en el tamaño de los callos.

#### **Diseño experimental**

Se usó un diseño completamente al azar, con tres tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, y cada repetición contenía seis unidades experimentales. Se realizó un análisis de varianza, ANDEVA. Se empleó el método Duncan para la separación de medias con un nivel de significancia ( $P \leq 0.05$ ). Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.0<sup>®</sup>).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 7 a 21 días se observó un incremento en el tamaño de los tejidos callogénicos, esto fue más evidente cuando se aplicó BAP 2.0 mg/L (Figura 3 C y D). Los callos bajo los tratamientos BAP 2.0 mg/L (Figura 3 C y D) y BAP 2.0 mg/L + SA 10.0 mg/L (Figura 3 E y F) presentaron mayor tamaño que la dosis de BAP a 0.5 mg/L (Figura 3 A y B). El incremento en tamaño es producto de la división celular, las auxinas y citoquininas actúan sinérgicamente para inducir la división celular, diferenciación y crecimiento del tejido (Mukherjee *et al.* 2011). La combinación de sulfato de adenina con BAP no estimuló la formación de brotes (Figura 3 E y F).



**Figura 3.** Tejido callogénico de *Jatropha curcas* -variedad hindú- establecido en medio suplementado con bencil aminopurina (BAP) y sulfato de adenina (SA) a los 7días y 21días.

Durante el periodo de 28 a 42 días solamente se observó incremento en el tamaño de los callos, esto fue más notorio en los callos bajo los tratamientos BAP 2.0 mg/L (Figura 4 C y D) y BAP 2.0 mg/L + SA 20.0 mg/L (Figura 4 E y F) no así en los callos bajo la dosis BAP 0.5 mg/L (Figura 4 A y B). Según García *et al.* (2012) el sulfato de adenina estimula formación de callo e induce formación de brotes, en este estudio el aumento de dosis de sulfato de adenina no estimuló formación de brotes (Figura 4 E y F), esta falta de respuesta pudo deberse a que la dosis usada fue baja. Un estudio realizado por Shrivastava y Banerjee (2008) indica que a partir de dosis mayores a 20 mg/L de sulfato de adenina hay formación de brotes.

Bermejo Cruz (2010) usando BAP 0.5 mg/L en su estudio obtuvo formación de callos a los 28 días mientras Purna *et al.* (2013) usaron BAP 6.0 mg/L y obtuvieron 10 brotes/callo a los 42 días. La ausencia en formación de brotes por callo en todos los tratamientos usados en este estudio podría deberse a la baja dosis de citoquininas usadas. Se encontraron estudios realizados por Deore y Johnson (2008), Sujatha y Mukta (1996), Valle Gough *et al.* (2013) y Zhong Guang *et al.* (2012) que enfatizan que el uso de Thidiazuron induce formación de brotes y su ausencia induce formación de callo. La ausencia de Thidiazuron en los tratamientos pudo también haber afectado la formación de brotes.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los pesos de los callos que estaban en BAP 2.0 mg/L y BAP 2.0 + SA 20.0 mg/L, pero el peso de estos callos fue mayor con respecto a los callos establecidos en BAP 0.5 mg/L (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Peso de callos de *Jatropha curcas* -variedad hindú- a los 42 días de establecidos en medio MS modificado y suplementado con bencil aminopurina (BAP) y sulfato de adenina (SA).

Tratamientos (mg/L)	Peso (g)
BAP 2.0	3.25 a*
BAP 2.0 + SA 20.0	3.03 a
BAP 0.5	2.51 b

\*Los promedios seguidos con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba Duncan ( $P \leq 0.05$ ).

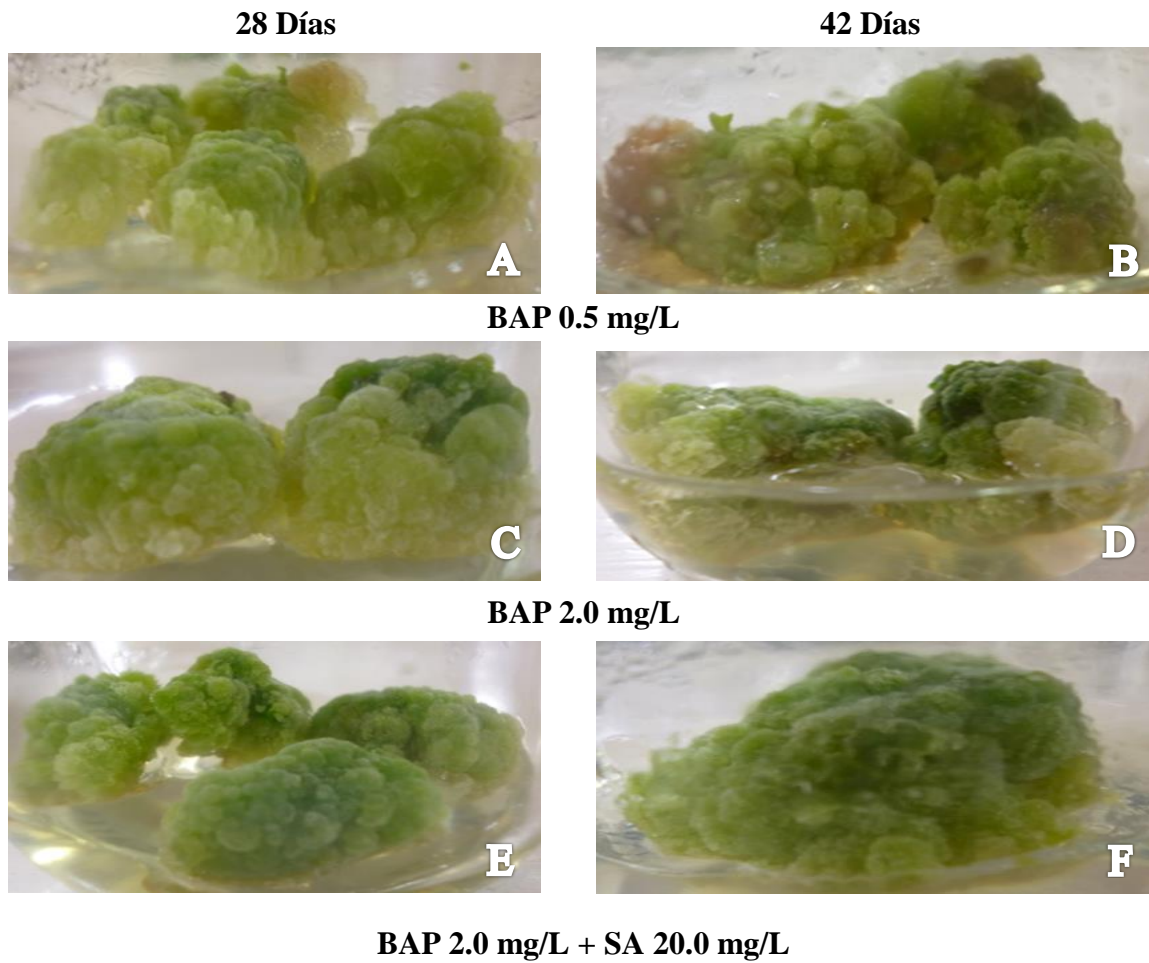


Figura 4. Tejido callogénico de *Jatropha. curcas* -variedad hindú- establecido en medio suplementado con bencil aminopurina (BAP) y sulfato de adenina (SA) a los 28 días y 42 días

#### **4. CONCLUSIONES**

- Las hormonas usadas en el medio promovieron únicamente crecimiento de la masa callogénica.
- Se observó aumento de tamaño de la masa callogénica de los 7 a los 42 días en todos los tratamientos.



## 5. RECOMENDACIONES

- Hacer experimentos aumentando las concentraciones de auxina a 0.6 mg/L, citoquinina a 6 mg/L y sulfato de adenina a 25 mg/L.
- En próximos ensayos agregar al medio de cultivo la citoquinina Thidiazuron.
- Establecer *in vitro* la *Jatropha* mediante organogénesis directa a partir de meristemas.
- Hacer evaluaciones con explantes proveniente de hojas inmaduras y hojas maduras para observar si el estado fisiológico de las hojas tiene influencia en la formación de brotes.

## 6. LITERATURA CITADA

Almeida Montenegro, A.D. 2011. Establecimiento *in vitro* de *Jatropha curcas* L. a partir de hojas cotiledonares y su respuesta a 6-Benciladenina y Ácido indol-3-butírico. Tesis Ing. Agr., Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 22 p.

Bermejo Cruz, M.E.G. 2010. Cultivo *in vitro* de *Jatropha curcas* para la obtención de curcina. Tesis M.Sc., Yauatepec de Zaragoza, México, Instituto Politécnico Nacional. 78 p.

Cultivos Energéticos SRL. 2012. *Jatropha Curcas* L, un cultivo no tradicional con múltiples beneficios (en línea). Consultado 11 de septiembre de 2013. Disponible en <http://www.es.slideshare.net/jatrofita/proyecto-Jatropha1>

De la Vega Lozano, J.A. 2008. *Jatropha curcas* L. Agro – Energía (en línea). Consultado 18 de mayo de 2013. Disponible en <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Documento/JatrophaContrataciones/MANUAL-JATROPHA.pdf>

Deore, A. y T.S. Johnson. 2008. High frequency plant regeneration from leaf disc cultures of *Jatropha curcas* L.: an important biodiesel plant. *Plan Biotechnology Reports* 2: 7-11.

García, L.R., I. Bermúdez Caraballozo, N. Veitía, R. Collado, D Torres y C. Romero. 2012. Efecto del sulfato de adenina en la regeneración y elongación de brotes de frijol común. *Biología vegetal* 12: 59-62

Gohil, R.H. y J.B. Pandya. 2008. Genetic diversity assessment in physic nut -*Jatropha curcas* L. (en línea). Consultado 12 de septiembre de 2013. Disponible en <http://www.cabdirect.org/abstracts/20083307472.html;jsessionid=1CB0FE583D269DA2BDD67CCA93643F0A>

Heller, J. 1996. Physic Nut *Jatropha curcas* L (en línea). Promoting the conservation and Use of Underutilized and Neglected crops. I. Institute and Plant genetics and Crops Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetics Research, Roma. Consultado 19 de mayo de 2013. Disponible en <http://www.bionica.info/biblioteca/Heller1996Jatropha.pdf>.

Kyte, L. 1987. Plants from test tubes an introduction to micro propagation. Portland, Oregon, Timber Press. 160 p.

Kumar, A. 2009. *Jatropha curcas* L: A Potential Plant For Bio-Fuel (en línea). Consultado 9 de septiembre de 2013. Disponible en [http://www.science20.com/humboldt\\_fellow\\_and\\_science/blog/jatropha\\_curcas\\_potential\\_plant\\_biofuel\\_1](http://www.science20.com/humboldt_fellow_and_science/blog/jatropha_curcas_potential_plant_biofuel_1)

Mukherjee, P., A. Varshney, T. Sudhakar Johnson y T. Baran Jha. 2011. *Jatropha curcas*: a review on biotechnological status and challenges. Plant Biotechnology Reports 5:197-215.

Prada, J.A. 2012. Regeneración de plantas vía organogénesis y crioconservación de *Jatropha curcas* L (en línea). Consultado 18 de agosto de 2013. Disponible en <http://www.orton.catie.ac.cr/repdoc/A10265E/A10265E.PDF>

Purna, S., M. Vijay, B. Daksha y R. Pushpa. 2013. Efficient Method For Direct and Indirect Organogenesis In Biofuel Crop *Jatropha curcas*. Internacional Journal of Pharma and Bio Sciences 4(1): 673-682.

Quiroz, M. s.f. *Jatropha curcas*: La gran promesa verde para el biodiesel (en línea). Consultado 9 de septiembre de 2013. Disponible en <http://www.redagricola.com/reportajes/tecnologia/jatropha-la-gran-promesa-verde-para-el-biodiesel>

Rong Wang, X. y G. Jie Ding. 2012. Reproductive biology characteristic of *Jatropha curcas* -Euphorbiaceae- (en línea). Consultado 12 de septiembre de 2013. Disponible en <http://www.revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/2070>

Shrivastava, S. y M. Banerjee. 2008. *In vitro* clonal propagation of physic nut (*Jatropha curcas* L.): Influence of additives. International Journal of Integrative Biology 3: 73-79

Sotolongo, S.A., M. del C. Vigil, R. Figueroa, O. Marquetti, S. Montes de Oca, Y. Valle, D. Rodríguez, O. Garrido, W. García y A. Díaz. 2009. *Jatropha curcas* L: Principio para su sustentabilidad (en línea). Consultado 18 de mayo de 2013. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/bvuzamoranosp/docDetail.action?docID=10311271&p00=jatropha%20biocombustible>

Sujatha, M. y N. Mukta. 1996. Morphogenesis and regeneration from tissue cultures of *Jatropha curcas*. Plant cell, Tissue and Organ Culture 44: 135-141.

Teco Bravo, J.I. s.f. Captura de Carbono y Producción de Biomasa de Germoplasma de *Jatropha curcas* L. para la producción de energía en Yucatán, México (en línea). Consultado 11 de septiembre de 2013. Disponible en [http://www.cambioclimatico.yucatan.gob.mx/energias-renovables/documentos\\_posgrados\\_cicy/Captura\\_carbono\\_biomasa\\_Jatropha\\_Jalsen\\_Teco.pdf](http://www.cambioclimatico.yucatan.gob.mx/energias-renovables/documentos_posgrados_cicy/Captura_carbono_biomasa_Jatropha_Jalsen_Teco.pdf)

The Cleanergy Group. s.f. *Jatropha curcas* L (en línea). Consultado 13 de septiembre de 2013. Disponible en [http://www.thecleanergygroup.com/?page\\_id=8](http://www.thecleanergygroup.com/?page_id=8)

Valdés Rodríguez, O.A. 2012. Estudio de *Jatropha curcas* L. no toxica: semillas, plántulas y primeros estadios del sistema de raíces (en línea). Consultado 12 de septiembre de 2013. Disponible en <http://www.uv.mx/det/files/2012/06/AndreaValdes.pdf>

Valle Gough, R.E., A. Canto Flick, I.Hernández Arceo, E. Balam y N. Santana Buzzy. 2013. Morphogenic response of non –toxic *Jatropha curcas* L. using different explants and plant growth regulators. International Journal of Integrative Biology 14: 17-22.

Yan Franken, Y. 2009. Manual de *Jatropha curcas*: Establecimiento y Manejo de plantaciones (en línea). Consultado 12 de septiembre de 2013. Disponible en [http://www.fact-foundation.com/media\\_en/The\\_Jatropha\\_Handbook\\_Espanol](http://www.fact-foundation.com/media_en/The_Jatropha_Handbook_Espanol)

Zhong Guang, L., M. Gong, Y. Shi Zhong y L. Wei Biao. 2012. Efficient callus induction and indirect plant regeneration from various tissues of *Jatropha curcas*. Africa journal of Biotechnology 11(31): 7843- 7849.