



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

TOLERANCIA A LA DESECACIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE SEMILLAS DE PIÑÓN MEXICANO (*Jatropha curcas* L.) COLECTADAS EN EL TOTONACAPAN

EDGARDO BAUTISTA RAMÍREZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: “**Tolerancia a la desecación y caracterización química de semillas de piñón (*Jatropha curcas* L.) colectadas en el Totonacapan**”, realizada por el **alumno: Edgardo Bautista Ramírez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
PRODUCCIÓN DE SEMILLAS**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. LEOBIGILDO CÓRDOVA TÉLLEZ

ASESOR:

M.C. JUAN CELESTINO MOLINA MORENO

ASESOR:

DR. JORGE MARTÍNEZ HERRERA

ASESOR:

DR. JESÚS A. CUEVAS SÁNCHEZ

ASESOR

DR. JUAN CIBRIÁN TOVAR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2010

RESUMEN GENERAL

TOLERANCIA A LA DESECACIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE SEMILLAS DE PIÑÓN MEXICANO (*Jatropha curcas* L.) COLECTADAS EN EL TONACAPAN

Edgardo Bautista Ramírez M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

El piñón mexicano (*Jatropha curcas* L.) es una especie de vital importancia debido a su potencial utilitario como alternativa para la generación de biodiesel y alimenticio tanto humano como animal. Dado que es una especie a la que recientemente se le ha prestado atención, se carece de información para la conservación adecuada del germoplasma. Asimismo, se han encontrado colectas o genotipos que presentan altos niveles de compuestos que causan toxicidad. Con la finalidad de dar alternativas para su conservación y utilización, en el presente estudio se evaluó el nivel de tolerancia a la desecación y la longevidad de las semillas; además, se realizó un análisis químico proximal y la medición de compuestos antinutricionales en semillas procedentes de la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz). Para definir la tolerancia a la desecación se utilizó un compuesto de semillas colectadas en tres grupos climáticos de la región del Totonacapan, que se sometieron a secado a niveles de 12 y 5% y se almacenaron por tres y seis meses a -18°C. Además, se almacenaron semillas con 14, 8 y 5 % de humedad por 3 y 6 meses en frascos herméticos que fueron colocados en cuarto frío a 5 °C y condiciones de Ecatlan, Puebla (temperatura media anual >18°C y HR >60%). Para el análisis químico proximal se utilizaron 30 colectas de tres grupos climáticos. Se midió en la harina de la almendra (sin testa) la proteína cruda total, lípidos, cenizas, composición de ácidos grasos y compuestos antinutricionales (Inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y esteroides de forbol). La reducción del contenido de humedad en las semillas

de *Jatropha curcas* hasta 5 % disminuyó en 20 % la viabilidad, incrementó en 70 % la germinación y aumentó en $10 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ la conductividad eléctrica. No se detectaron cambios en estas variables después de 6 meses de almacenamiento a -18°C . El incremento en germinación posiblemente se debió a una reducción en la latencia de la semilla durante el secado. Las semillas almacenadas con 14 % de humedad en Ecatlan, redujeron hasta 51 % su viabilidad, 52 % su germinación, e incrementaron en $28 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ su conductividad eléctrica después de 6 meses, mientras que semillas con 5 % de humedad no fueron afectadas en estas variables en ninguna condición de almacén. En cuanto al análisis químico, la proteína cruda total varió entre 20 y 28 %, el contenido de ácidos grasos totales fluctuó entre 57 y 69 %. Entre los ácidos grasos saturados sobresalen por su concentración el palmítico y el esteárico y entre los insaturados el ácido oleico y el linoléico. La mayoría de las accesiones mostraron valores no detectables o inferiores al rango considerado no tóxico en los compuestos de inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y ésteres de forbol. No se detectó un efecto significativo del grupo climático en las variables evaluadas en el año de colecta, pero se detectó suficiente variación entre las colectas, lo que permite seleccionar, evaluar y realizar mejoramiento genético para incrementar el aprovechamiento de esta especie. Se concluye que las semillas de *Jatropha* pueden ser consideradas del tipo ortodoxas. La longevidad de la semilla se mantiene mejor con 5 % de humedad a temperaturas inferiores a 5°C . Las colectas evaluadas presentan alta concentración de proteína y lípidos, los que no presentan riesgos de toxicidad y pueden ser usadas para el consumo en la alimentación humana, animal e industrial.

GENERAL ABSTRACT

Tolerance to desiccation and chemical characterization of Mexican pine nut (*Jatropha curcas* L.) collected in Totonacapan

Edgardo Bautista Ramirez M.Sc.

Colegio de Postgraduados

Mexican *Jatropha* nut (*Jatropha curcas* L.) is a vitally important species, given its use potential as an alternative bioenergetic and food source. However, there is no information for the conservation of its germoplasm. Also, there are reports on collections of genotypes that have high levels of toxicity when eaten. In order to offer alternatives for its conservation and use, in this study the nuts are evaluated for their the degree of tolerance to desiccation and longevity, as well as their proximal chemical analysis and anti-nutritional components, from nuts collected in the region of Totonacapan (Puebla and Veracruz). To define desiccation tolerance, a mixture of nuts from three climatic groups was used; it was subjected to a 12 and 5% desiccation and stored for 3 and 6 months at -18°C. Moreover, nuts with 14, 8, and 5% humidity were stored for 3 and 6 months in hermetically sealed jars in a cold room at 5°C, in Ecatlan, Puebla (mean annual temperature >18°C, RH >60%). For the proximal chemical analysis, 30 collections from three climatic groups were used; the nut flour (without husk) was measured for total raw protein, lipids, ash, composition of fatty acids, and anti-nutritional compounds (inhibitors of tripsin, phytates, saponins, and phorbol esters). Reducing the humidity content of *Jatropha curcas* nuts to 5% caused a decrease of 20% in viability, increased germination by 70%, and increased electrical conductivity by 10 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. No changes were detected in these variables after 6 months in storage at -18°C. The increase in germination was probably due to a reduction in seed latency during the drying process. The nuts stored with 14% humidity in Ecatlan suffered a decrease in viability of up to 51%, in

germination of up to 52%, and an increase in electrical conductivity of $28 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, after 6 months; while those stored with 5% humidity were not affected in any of the variables under the different storing conditions. As for the chemical analysis, total raw protein varied between 20 and 28%, and the total fatty acid content fluctuated between 57 and 69%. Among the saturated fatty acids, the most outstanding ones, due to their concentration, were palmitic and estereatic acids; and among the unsaturated acids were oleic and linoleic acids. Most accessions showed values that were undetectable or below the range considered as non toxic in compounds that inhibit tripsin, phytates, saponins, and phorbol esters. No significant effect was detected from the climatic group on the evaluated variables in the year of collection, but enough variation was detected to allow for the selection, evaluation, and genetic improvement to increase the usefulness of this species. The conclusion is that *Jatropha* nuts can be considered as orthodox. Seed longevity is better maintained at 5% humidity and temperatures below 5°C. The evaluated collections show a high concentration of proteins and lipids, which represent no risk of toxicity, and can be used as a food source for humans and animals, and for use in industry.

The obtained data indicate that *Jatropha* nuts can be considered as orthodox. Seed longevity was greater when kept at 5% humidity, at temperatures under 5°C.

DEDICATORIA

A mis padres, SR. AGAPITO BAUTISTA NICOLÁS Y SRA. RAQUEL RAMÍREZ FALCÓN; padre, madre, gracias por apoyarme en todo lo que intento, y si en algo les he fallado pido perdón, son lo mejor de mi vida. Este trabajo es más suyo que mío porque gracias a ustedes he llegado a cumplir otro sueño.

A mis hermanos y sobrinos MACARIO L. Y AGAPITO, LUCIO T. y LEONOR, que el día más triste de su futuro no sea peor que el día más feliz de su pasado. Que nunca se les venga el techo encima y que los amigos reunidos debajo de él, nunca se vayan. Que los problemas los abandonen y el cielo los acoja.

A mi papá CHANO[†], sé que me cuidas desde el cielo, y este trabajo también es tuyo, gracias papá Chano, siempre te llevo en mi corazón, la amistad que usted me dio fue mi más grande logro y lo será mientras viva y sienta.

A la Sra. CELIA, mi segunda madre, por apoyarme, escucharme y abrirme las puertas de su casa, porque confió en mí cuando ni siquiera yo lo hacía, porque cuando me invadieron los malos sentimientos usted estuvo ahí para escucharme y tranquilizarme.

A mis hermanos del Alma ELMER, OSCAR D., FELIPE DE JESÚS, ROSA, BEBA y JONATHAN. Y a los amigos que llegaron y nunca se fueron: RAÚL, HUGO, J. LUIS, ANGÉLICA (Tipita hermosa), OMAR MAYA, GERARDO, ROSALBA (La tucita), OMAR C., ÁLVARO, FABIÁN, HONORATO JUDITH, HERNÁN, CÉSAR, SUSY, JIMENA, EVECITA, CHAPIS, Y hasta que nos volvamos a encontrar, que Dios te sostenga con el puño de su mano.

A “JAQUELINE”, que el camino salga a tu encuentro, que el viento siempre esté detrás de ti y la lluvia caiga suave sobre tus campos. Que siempre tengas palabras cálidas en un frío anochecer, una luna llena en una noche oscura y que el camino siempre se abra a tu puerta. Te amo.

A MÉXICO, todo cuanto soy y cuanto conozco lo aprendí pisando en tu suelo, tomando de tu agua y respirando tu aire, amando tus colores y sintiendo tú escudo. MÉXICO, eres tan grande, pero cabes en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

AL COLEGIO DE POSTGRADUADOS, por haberme dado la oportunidad de desarrollarme y lograr un sueño que desde niño fui alimentando.

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT), por contribuir a mi sueño de lograr un posgrado y por las facilidades al realizar el presente trabajo.

AL SISTEMA NACIONAL DE RECURSOS FITOGENÉTICOS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (SINAREFI), por haber brindado el apoyo financiero para la realización de la presente investigación.

AL DR. LEOBIGILDO CÓRDOVA TÉLLEZ, por su confianza y acertadas observaciones, por su amistad y enseñarme que el límite no existe cuando hay disposición de lograr las cosas.

AL M.C. JUAN C. MOLINA MORENO, por su amplio conocimiento de las cosas y por ser una persona modelo que influyó de manera positiva en mi formación.

AL DR. JORGE MARTÍNEZ HERRERA, por ser un gran amigo y profesor, gracias por la motivación y la fe ciega que tuvo en este proyecto y en mi persona.

AL DR. JESÚS A. CUEVAS SÁNCHEZ, a quien respeto y admiro como a un padre, no tengo más que decirle que gracias por todo.

AL DR. JUAN CIBRIÁN, por sus acertadas observaciones y su apoyo en esta tesis

A la DRA. HILDA VICTORIA SILVA ROJAS y DR. AMALIO SANTACRZ VARELA, por sus consejos puntuales, por plantear retos a superar y cultivar en mi persona la inquietud de alcanzar lo inalcanzable.

A los PROFESORES DEL PROGRAMA DE SEMILLAS, que gracias a su conocimiento de diversos temas han contribuido a mi formación y no tengo más que estar agradecidos con ustedes durante toda mi vida.

Al Sr. JUAN HERRERA y LA ING. BIOQ. MIYAMIN, por apoyarme en los trabajos de laboratorio y contribuir con su experiencia al desarrollo de las actividades propuestas en esta investigación.

A DIOS, por permitirme lograr otro sueño.

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	ii
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	4
Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
Conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos	5
Tolerancia a la desecación de semillas.....	6
Clasificación de las semillas con base a su resistencia a la desecación y almacén	8
Características de <i>Jatropha curcas</i> L. y alternativas propuestas para la conservación de su plasma germinal.....	13
Importancia industrial y alimenticia de <i>Jatropha. curcas</i>	14
LITERATURA CITADA.....	17
II. TOLERANCIA A LA DESECACIÓN Y LONGEVIDAD DE LAS SEMILLAS DE PIÑÓN MEXICANO (<i>Jatropha curcas</i> L.)	23
RESUMEN.....	23
SUMMARY	24
INTRODUCCIÓN	25
MATERIALES Y MÉTODOS	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES	40
LITERATURA CITADA.....	41
CAPITULO II. PERFIL QUÍMICO DE 30 ACCESIONES DE <i>Jatropha curcas</i> L. COLECTADAS EN LA REGIÓN DEL TOTONACAPAN (PUEBLA Y VERACRUZ) MÉXICO	45
RESUMEN.....	45
INTRODUCCIÓN	48
MATERIALES Y MÉTODOS	50
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
CONCLUSIONES	68

LITERATURA CITADA..... 69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1. Datos generales de las colectas realizadas en la región del Totonacapan utilizadas en la presente investigación.....	51
Cuadro 3.2. Perfil químico proximal de la harina de 30 colectas de semilla de <i>Jatropha curcas</i> L. de la región del Totonacapan (Puebla-Veracruz).....	57
Cuadro 3.3. Comparación de medias del contenido proteico, grasas totales y cenizas de los tres grupos climáticos de recolecta en la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz).....	59
Cuadro 3.4. Perfil de ácidos grasos saturados (%) de las 30 accesiones colectadas en el Totonacapan (Puebla y Veracruz).....	60
Cuadro 3.5. Perfil de ácidos grasos insaturados (%) de las 30 accesiones colectadas en el Totonacapan (Puebla y Veracruz).....	62
Cuadro 3.6. Comparación de medias entre grupos climáticos para el contenido de ácidos grasos colectados en Puebla y Veracruz (región del Totonacapan).....	63
Cuadro 3.7. Compuestos antinutricionales determinados en harina de almendra de <i>Jatropha curcas</i> L. de 30 accesiones de semilla colectas en la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz).....	66
Cuadro 3.8. Comparación de medias de compuestos antinutricionales observados en harina de <i>Jatropha curcas</i> L. de tres grupos climáticos del Totonacapan (Puebla y Veracruz).....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Protocolo propuesto por Hong y Ellis (1996) para la determinación del grado de recalcitrancia de semillas.....	9
Figura 2.1. Reducción de humedad en semillas de <i>Jatropha curcas</i> en condiciones de laboratorio y silicagel.....	30
Figura 2.2. Viabilidad con diferente contenido de humedad (A), tiempo de almacenamiento (B), la interacción del contenido de humedad y grupo climático (C) y (D) el tiempo de almacén con el contenido de humedad de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.....	31
Figura 2.3. Germinación de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. con diferente contenido de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (C) y el efecto del contenido de humedad durante el almacén (D).....	32
Figura 2.4. Conductividad eléctrica en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L después del secado en distintos niveles de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad con el grupo climático de recolecta (C) y la interacción del contenido de humedad y tiempo de almacén (D).....	33
Figura 2.5. Viabilidad de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L después del secado en tres niveles de humedad (A), con la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (B), el tiempo de almacén y el contenido de humedad (C) así como el ambiente de almacén con el contenido de humedad (D).....	35
Figura 2.6. Germinación de semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. con diferente contenido de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (C) y el efecto del contenido de humedad durante el almacén (D).	36
Figura 2.7. Conductividad eléctrica en semillas de <i>Jatropha curcas</i> L después del secado en distintos niveles de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad con el grupo climático de recolecta (C) y la interacción del contenido de humedad y tiempo de almacén (D).....	37

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las amenazas contra los recursos fitogenéticos son cada día mayores, entre ellas destacan el calentamiento global y el incremento desmesurado de la humanidad, que cada día reclama más bienes y servicios, así como la pérdida de conocimientos y actitudes ancestrales vinculados al manejo, aprovechamiento y conservación de los mismos. En este sentido, resulta improrrogable la aplicación de estrategias mundiales y nacionales para la conservación y uso sustentable de los recursos fitogenéticos. Las diversas técnicas que se han desarrollado para conservar la diversidad de los recursos fitogenéticos se pueden agrupar en *in situ* y *ex situ*, pero hasta ahora, ningún método de conservación satisface todas las necesidades para la preservación del germoplasma (Marshall y Brown, 1975; Gold y Way, 2004).

La alternativa más usada en la conservación *ex situ* involucra la utilización de cuartos fríos (5 a -20°C), para lo cual es necesario secar las semillas (entre 7 y 5%), y en ocasiones inferior a 5%); no obstante, no todas las semillas soportan esos niveles de desecación. Con base a su resistencia a la deshidratación y la longevidad en el almacén estas se pueden clasificar en “ortodoxas” (tolerantes a la desecación) como es el caso de Maíz (Stanwood & Bass, 1981, Priestley, 1986), frijol (Stanwood & Roos, 1979), avena (Harrington, 1972, Priestley, 1986), “recalcitrantes” (que no toleran la desecación) por ejemplo el Mango (Fu *et al.*, 1990), Cacao (Singh, 1968) y por último las denominadas “intermedias” que se caracterizan por tolerar la desecación en menor grado que las ortodoxas pero superior a las recalcitrantes (Roberts, 1973; Hong y Ellis, 1996; Probert y Hay, 2000; Linington y Pritchard, 2001).

El piñón mexicano, (*Jatropha curcas* L.), conocido también como chuta, chota o chut en la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz, México), la semilla es usada para el consumo humano de manera tradicional, en platillos típicos como son: pipián, salsa, en o con frijoles y

en tamales. Esto hace suponer que la semilla de esta región contiene baja o nula toxicidad ó que el proceso de preparación para el consumo hace que los agentes que provocan toxicidad en algunos genotipos se inactiven o bien que ésta característica pueda estar ligada a una selección realizada por la cultura que tienen plantas preferencialmente en los patios o jardines de sus casas, además que no se le encuentra de manera silvestre o como parte de la vegetación natural de esa región.

Lo anterior señala la importancia de generar alternativas para la conservación y uso del plasma germinal de *Jatropha curcas*, con la finalidad de contar con materiales sobresalientes para los trabajos de investigación conducentes a su mejoramiento genético, así como resguardar los diferentes ecotipos existentes en México. Los estudios realizados a la fecha señalan que la semilla puede clasificarse como ortodoxa, (Heller, 1996, Kobilke, 1989), sin embargo los resultados no son fehacientes considerando lo planteado por Hong y Ellis, (1996) ya que aún no se tienen reportes de que la semilla haya sido desecada a valores similares o inferiores a 5% de humedad para después realizar pruebas de viabilidad y germinación. Aunado a ello es importante señalar que se reporta la existencia de reportes que señalan que la semilla presenta cierto grado de latencia.

Circunstancias suscitadas en la actualidad, como la próxima extinción de los combustibles fósiles y la necesidad de generar energías renovables que ayuden a mitigar los problemas de contaminación, han hecho que los investigadores busquen en el reino vegetal alternativas para resolver los problemas venideros. Entre las soluciones planteadas está la bioenergía, la cual en acuerdo con la información difundida por la Red Mexicana de Bioenergía (2007), es la energía que se obtiene de la biomasa. Puede producirse a partir de los biocombustibles sólidos como la leña, el carbón o los residuos agrícolas. A nivel internacional, la bioenergía representa el 11 % del consumo total de energía y el 80 % del consumo de energías renovables. Se estima que

para el año 2050 podría contribuir con 25 % de la energía requerida a nivel mundial (REMBIO, 2007). Entre sus principales beneficios se plantea que reducirá de manera significativa las emisiones de CO₂ y la contaminación local. En los escenarios desarrollados se espera una reducción de emisiones de entre 22 y 79 millones de toneladas de CO₂ a la atmósfera para 2030, con respecto al escenario actual. Esto equivale entre 5 y 16 % de las emisiones totales generadas por los sectores analizados. A las ventajas globales se sumarían numerosos beneficios tangibles localmente. Por ejemplo, el uso de biocombustibles en los vehículos, ayudaría a reducir la contaminación urbana; el aprovechamiento de desechos urbanos y agrícolas reduciría los riesgos sanitarios; las estufas eficientes de leña y biogás permitirían reducir el uso de leña y la contaminación intramuros de las viviendas rurales. (REMBIO, 2007)

Como parte de los bioenergéticos están los denominados biocombustibles, que son en esencia un biocombustible sintético líquido que se obtienen a partir de lípidos naturales como aceites vegetales o grasas animales. El producto fabricado industrialmente por procesos de esterificación y transesterificación, se aplica en la preparación de sustitutos totales o parciales del petrodiesel o gasóleo obtenido del petróleo. Como sustituto total se denomina B100, mientras que otras denominaciones como B5 o B30 hacen referencia a la proporción o porcentaje de biodiesel utilizado en la mezcla. (www.rembio.org.mx)

Jatropha curcas por ser una especie subutilizada causa gran interés debido a que el contenido de ácidos grasos en la semilla, que es igual o mayor a otras oleaginosas (30 a 45%), con un promedio de ácidos grasos saturados en el aceite de entre 20.8 y 22.7 %, mientras que el correspondiente a los ácidos grasos insaturados fluctúa entre 77y 79 %. La pasta residual obtenida contiene grandes cantidades de proteína (20-31 %), así como fibra cruda (3.5-6.1 %). Lo cual evidencia la importancia de esta especie tanto para fines industriales como

alimenticios. Sin embargo, en relación con esta última forma de uso, es importante tomar en consideración que algunos genotipos tienen el inconveniente de presentar contenidos antinutricionales como inhibidores de tripsina (18-26 mg/g), lectinas (51-102 mg/ml) fitatos (7.2-10.1) saponinas (2.0-3.4 %) y además esteroides de forbol, (Makkar *et al.*, 1997, 1998). A la fecha existen reportes de ecotipos existentes en México (Puebla y Veracruz) con baja o nula toxicidad por esteroides de forbol, lo cual resalta la importancia de realizar una caracterización química proximal de los ecotipos existentes en las áreas antes mencionadas, que permita conocer las principales características químicas proximales, así como la obtención de materiales élite para plantear una línea de mejoramiento enfocado a incrementar el contenido de ácidos grasos y de proteínas, así como la disminución de los agentes dañinos al consumo humano y animal.

OBJETIVOS

- 1) Determinar la tolerancia a la desecación de las semillas de *Jatropha curcas* L. provenientes de tres grupos climáticos y su comportamiento en distintos ambientes de conservación, con la finalidad de contribuir en la definición de posibles estrategias de conservación de su germoplasma.
- 2) Realizar la caracterización química proximal de 30 accesiones colectas en tres estratos altitudinales de la región denominada Totonacapan, que involucra parte de los estados de Puebla y Veracruz.

Hipótesis

1. Las semillas de *Jatropha curcas* pueden secarse a contenidos de humedad inferiores a 5%, por lo que su comportamiento es del tipo de las semillas ortodoxas.
2. Las 30 accesiones evaluadas tendrán contenidos similares de proteína y ácidos grasos a los reportados en otros países de 20 a 30% y de 30 a 55%, la diferencia radicará en la presencia de compuestos antinutricionales, que serán menores, principalmente en el contenido de esteres de forbol, ya que en la región de recolecta se reporta su uso en la alimentación humana.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos

Los recursos fitogenéticos se han definido como “el material genético de plantas, que es de valor para las generaciones presentes y futuras” (IPGRI, 1993). Tal enfoque es aplicado de manera tradicional para plantas cultivadas o especies con algún uso potencial. Las actividades a realizar con un recurso fitogenético se pueden englobar en el modelo de exploración planteado por Marshall y Brown (1975), que involucra exploración, clasificación, conservación, evaluación y utilización.

Las amenazas contra la diversidad de especies son permanentes y en aumento, situación que hace urgente la aplicación de acciones de conservación y uso sustentable de dicha diversidad. Las acciones de conservación *ex-situ* complementan en una forma importante las actividades de manejo *in-situ* (Brawn y Marshall, 1995; CDB, 2002), y para elegir la mejor estrategia se

debe considerar la biología de la especie, el tipo de amenaza, los recursos disponibles para la conservación, la capacidad técnica y las necesidades de los usuarios (Gold y Way, 2004).

Farrant *et al.*, (1996); Tweddle *et al.*, (2002) señalan que, la mayoría de las plantas silvestres y cultivadas producen semillas tolerantes a la desecación; mientras que Han *et al.*, (1997) sugiere que las semillas procedentes de los trópicos son menos resistentes a la deshidratación (recalcitrantes): las primeras, al disminuir la temperatura de almacén y su contenido de humedad limitan los procesos fisiológicos de envejecimiento e incrementa su longevidad hasta por 100 años (Ellis, 1998; Probert y Hay, 2000), por ello, entre los diferentes métodos para conservar la diversidad genética *ex-situ*, los bancos fríos de semillas conservan una amplia diversidad de un gran número de especies, en espacios mucho más pequeños y con un costo relativamente más bajo en contraste con la *in situ* (Hawkes *et al.*, 2000; Linington y Pritchard, 2001; Gold y Way, 2004).

Tolerancia a la desecación de semillas

La desecación en las semillas es un proceso natural y puede definirse como la capacidad para perder humedad hasta entrar en equilibrio con el ambiente y poder reanudar las funciones normales al momento de la rehidratación (Bohicchio *et al.*, 1998). Esto ocurre al final de la formación y desarrollo de la semilla del tipo ortodoxas, que es considerada necesaria para completar el ciclo de vida de las plantas, como una estrategia para favorecer la sobrevivencia de la misma durante el periodo de almacén, así como para asegurar la diseminación de las especies (Leprince *et al.*, 1993). La respuesta a la desecación no sólo depende de las características inherentes de la especie, sino también del estado de desarrollo de las semillas, las condiciones de secado, en particular la tasa y la velocidad de deshidratación (Pammenter y P. Berjak, 1999; Pritchard, 2004). Respecto a la etapa de desarrollo, esta variará conforme a la

especie de interés (Hong y Ellis, 1996). En las semillas ortodoxas este proceso, inicia cuando la semilla ha alcanzado la fase de desarrollo, en el cual la longevidad es máxima. Existe evidencia de que el desarrollo y maduración de las semillas ortodoxas no alcanzan la longevidad potencial máxima hasta tiempo después del final de la fase de llenado de semilla, (Kermode y Bewley, 1985; Rao *et al.*, 1991; Demir y Ellis, 1992; Ellis y Hong, 1994; Kermode, 1995). En el mismo contexto, la viabilidad de la semilla en el tiempo de almacén, estará ligada entre otros a las características genéticas de la planta madre, las condiciones climáticas durante la floración, la formación, desarrollo y maduración del fruto, el grado de madurez de la semilla al momento de la cosecha (Carvalho y Nakagawa, 1983).

Para entender la respuesta a la deshidratación de las semillas es necesario comprender los fenómenos que ocurren en los distintos niveles de hidratación, así como los mecanismos involucrados. Se dice que la tolerancia involucra la protección de membranas celulares a los efectos deletéreos causados por la remoción de agua al mantenerse la doble estructura en ausencia de un ambiente hidratado (Crowe *et al.*, 1992; Leprince *et al.*, 1993), además se menciona que es un carácter multifactorial donde cada componente es indispensable. Pollard y Amuti (1977); Kermode (1995), sugieren que el conjunto de proteínas y azúcares acumuladas en el proceso de maduración pueden ser importantes en la adquisición de la tolerancia a la desecación.

Pammenter *et al.*, (1991) sugieren que los diferentes tiempos de secado de las semillas influyen más sobre la sensibilidad a la desecación que la cantidad de agua contenida en ella; la velocidad de secado influye directamente sobre la conservación de las propiedades estructurales de la semilla, ya que en un secado lento, la semilla dispone de mayor tiempo para realizar los ajustes necesarios y poder tolerar grandes pérdidas de agua. Farrant *et al.*, (1988) sugieren que en semillas ortodoxas mientras más rápido se deshidraten las semillas

cosechadas con alto contenido de humedad, la conservación de su viabilidad puede incrementarse significativamente en comparación con las semillas que son almacenadas con altos niveles de humedad, cuya viabilidad suele descender rápidamente.

Clasificación de las semillas con base a su resistencia a la desecación y almacén

Las semillas se pueden clasificar de acuerdo a su resistencia a la desecación, el primer grupo están las “ortodoxas” las cuales, Roberts (1973), las describe como aquellas semillas que pueden tolerar el secado o bajo contenido de agua (pérdida de humedad hasta 95 %), el almacenamiento y la vida útil de la misma aumenta con reducciones tanto en el contenido de humedad y temperatura, en una forma cuantificable y predecible. El hecho que sobrevivan con 5 % de humedad no necesariamente indican que la especie caiga en el grupo de las ortodoxas, por ejemplo, las semillas de *Cattleya aurantica* (*Orchidiaceae*) que es capaz de tolerar la desecación a 3.7 y 2.2 % con una germinación de 94 %, pero la germinación es apenas de 10 % después de 90 días de almacén hermético a 18°C con 3.7% de humedad, mientras que la germinación es de 36 % después de 6 años almacenando la semilla a 5°C con la misma cantidad de humedad (Seaton y Hailes, 1989; Pritchard y Seaton, 1993). Por lo tanto, el montar experimentos que demuestren la sobrevivencia de la semilla en distintos ambientes de almacén, es necesario evaluar su comportamiento a largo plazo y lograr la clasificación de la especie (Hong y Ellis, 1996). Lo anterior propone someter las semillas a distintos niveles de humedad, temperatura y tiempo de almacén. Si se carece de material, es posible almacenar el material a un solo medio ambiente (-20°C con 5 % de humedad). Las mejores condiciones para el almacenamiento de semillas ortodoxas son a -18°C o inferiores, con 5 ± 1 % de contenido de humedad, bajo estas condiciones es donde se tiene mayor cantidad de sobrevivencia de las semillas (Cromarty *et al.*, 1982).

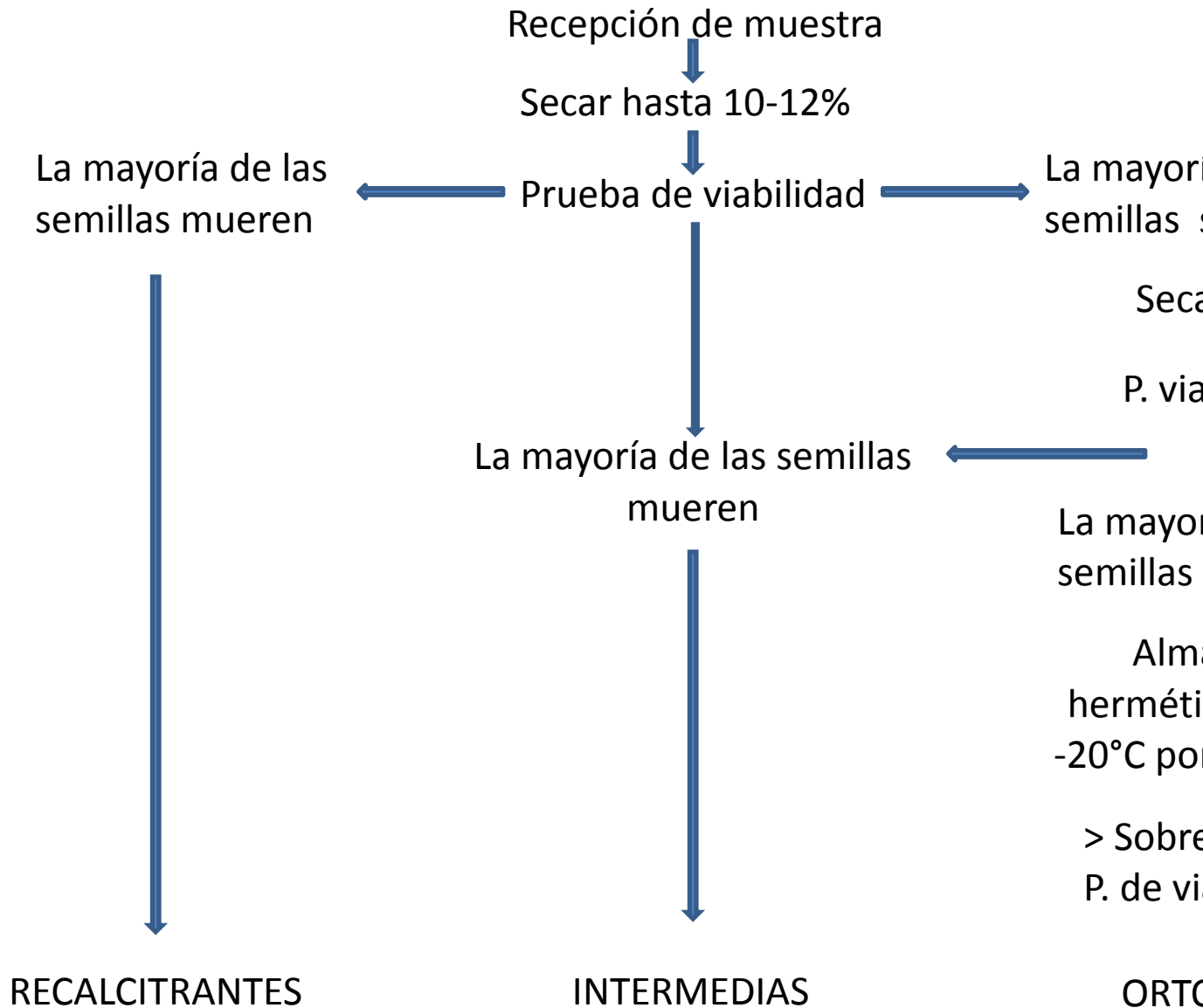


Figura 1.1. Protocolo propuesto por Hong y Ellis (1996) para la determinación del grado de recalcitrancia de las semillas.

El término “recalcitrantes”, que involucra el segundo grupo de importancia de las semillas, son descritas como aquellas que no toleran la desecación al nivel de las ortodoxas (Roberts, 1973), lo que dificulta su almacenamiento a mediano y largo plazo (Greggains *et al.*, 2000).

Las características principales de las semillas recalcitrantes tales como su tamaño (relativamente grande), su corta vida o su susceptibilidad a las bajas temperaturas, deben

considerarse como aspectos importantes de su descripción, pero no como elementos de un diagnóstico sobre su fisiología. Roberts *et al.*, (1984) advirtieron que la conclusión sobre si una cierta clase de semillas son o no recalcitrantes no siempre resulta fácil, de hecho, algunas semillas que originalmente habían sido consideradas como recalcitrantes, hoy se consideran como ortodoxas, tal es el caso de Yuca (Ellis *et al.*, 1981) y del coquito de aceite (Grout *et al.*, 1983). Bonner (1981) y Vásquez (1987), sugieren que, “las semillas recalcitrantes no se pueden conservar en períodos prolongados por sus características fisiológicas y bioquímicas, así como la imposibilidad de soportar el secado inferior a 20 % sin causar alteraciones en la estructura subcelular”.

El grado de sensibilidad de las semillas recalcitrantes a la deshidratación varía entre especies. Por ejemplo, las semillas del "Alcanfor de Borneo" (*Dryobalanops aromatica*) son dañadas cuando su contenido de humedad se aproxima al 35 % (Tamari, 1976); las del cacao (*Theobroma cacao*) sufren daño cuando su humedad es ligeramente inferior al 27 % (Chin, 1975). El contenido crítico de humedad, es decir, aquel en el cual todas las semillas morirían, varía de especie a especie y el rango en el que esto puede suceder es bastante amplio que va de 12 a 31 % (Roberts, 1973).

La mayor parte de las semillas ortodoxas pueden sobrevivir aún a la temperatura del nitrógeno líquido (-196°C). A pesar de lo anterior, conviene saber que no todas las semillas recalcitrantes evidencian la misma susceptibilidad a las bajas temperaturas, tal es el caso de las especies originarias de zonas con clima templado, las cuales presentan una mayor tolerancia al frío. Las semillas de *Quercus spp*, por ejemplo, pueden germinar a 2°C, aún después de haber permanecido almacenadas durante más de ocho meses en condiciones de refrigeración. En contraste, la mayoría de las semillas recalcitrantes pueden llegar a morir aún a temperaturas subambientales o bien sufrir serios daños por frío.

Hong y Ellis (1990), sugieren una categoría “intermedia”, que considera aquellas semillas que toleran los niveles de desecación más inferiores en el grupo de las recalcitrantes, pero no al punto de las semillas ortodoxas. Muchas de las semillas conocidas como intermedias pierden viabilidad rápidamente a temperatura ambiente. Cabe señalar que existe una considerable variación en la tolerancia a la desecación y en el comportamiento de la semilla en almacenamiento aún dentro de la misma especie, lo que ha conducido a una falta de coherencia en la clasificación.

Las estimaciones del contenido de humedad en la semilla están sujetas a error, por ello, la forma correcta para minimizar el error es, determinar la viabilidad después de diferentes tratamientos y grados de desecación. Sin embargo, es muy común que en semillas grandes sean pocas las semillas disponibles para el trabajo experimental, en tal situación es recomendable reducir el número de semillas a germinar en lugar de reducir el número de tratamientos de desecación. En cuyo caso es importante reducir el error durante el proceso de germinación (Figura 1.1) (Hong y Ellis, 1996).

Hong y Ellis (1996) proponen que los resultados de germinación deben ser graficados con respecto al contenido de humedad. Para la interpretación de los resultados existen tres posibles explicaciones:

- a) Todas las semillas toleran la desecación (es decir, no hay pérdida de viabilidad) en alrededor del 5 % o menos de humedad en cuyo caso es probable que muestre un comportamiento del tipo de las semillas ortodoxas.
- b) La gran mayoría de las semillas toleran una desecación de entre 10 y 12.5 % de humedad (es decir, el contenido de humedad de la semilla se encuentra en equilibrio entre 40 y 50 % de humedad relativa), y si la humedad se reduce sucede

lo mismo con la viabilidad, en cuyo caso la semilla presenta un comportamiento intermedio.

- c) La mayoría de las semillas mueren al reducir la humedad entre 15 y 20 % (es decir, el punto de equilibrio con la humedad relativa está por encima del 70 % a 20°C), en cuyo caso es probable que la semilla sea recalcitrante.

Es necesario considerar que los comentarios anteriores, tal como señalan Hong y Ellis (1996), son probabilísticos, la determinación de la tolerancia a la desecación no permite por sí sola la clasificación de la semilla. En concreto, “las conclusiones basadas solo en la tolerancia a la desecación a veces pueden ser erróneas”. Por tanto, el segundo paso en este algoritmo comprende investigaciones de supervivencia de las semillas durante el almacenamiento en diferentes entornos (Figura 1.1).

Para efectos prácticos de almacenamiento de semillas, en particular la conservación de recursos genéticos, la diferencia entre semillas ortodoxas, intermedios y recalcitrantes en una especie ayuda a determinar la conservación a largo plazo (por ejemplo, a una temperatura de -20°C con 5 ± 1 % de humedad), a mediano plazo (por ejemplo, en 10°C con contenido de humedad en equilibrio entre 40 y 50 % de humedad relativa, es decir, entre 7 y 11 % de humedad en la semilla, dependiendo de las especies), o sólo a corto plazo (Hong y Ellis, 1996). La correcta diagnosis de la fisiología de las semillas, es de primordial importancia, ya que de ello dependerá en gran medida la elección de los métodos a aplicar para su conservación.

Las semillas, en general, tienen un periodo de almacén, en el cual el proceso de deterioro continuará, pero las tasas a que éste ocurre dependerán de factores tales como la humedad de la semilla, la composición química, calidad inicial, temperatura y la humedad relativa, entre

otros. Perdomo y Burris (1998) señalan que con humedades y temperaturas altas se puede inducir a la germinación de la semilla o en su defecto el deterioro fisiológico ocasionado por la presencia de microorganismos. Matthews y Powell (1986) sugieren que el envejecimiento de la semilla en el tiempo de almacén es una de las principales causas de la pérdida de vigor, dicho efecto se observa en mayor medida donde la temperatura y humedad son mayores.

Características de *Jatropha curcas* L. y alternativas propuestas para la conservación de su plasma germinal

El nombre del género *Jatropha*, deriva del griego *iatrós* (doctor) y de *trophé* (alimento) que implica aplicaciones medicinales (Makkar y Beker, 1999). Con base en lo anterior se toma de referencia las aplicaciones médicas que se da a *J. curcas* cuyo látex, en pequeñas dosis es empleada para el control del fuego labial y el extracto del aceite de la semilla como purgante; además de otros usos como cerca viva y alimento humano (Martínez, 2006).

Correll y Correll (1982) señalan que “en México, existen 32 especies”, sin embargo en fechas posteriores Jiménez y Contreras (1982); Lott (1984); Jiménez (1992); han agregado 9 *taxas* más, para hacer un total de 41 especies (de las que 75.6 % son estrictamente endémicas de México), lo cual evidencia la falta de un exhaustivo trabajo de campo y por ende el no tener bien representado al género en los herbarios nacionales (Jiménez, 1994).

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

Los trabajos realizados para la conservación del plasma germinal de *Jatropha curcas* toman como referencia que, en el caso particular de las *Euphorbiaceae*, familia a la que pertenece *J.*

curcas presentan semillas ortodoxas (Ellis *et al.*, 1985) con excepción del género *Hevea*. Ensayos previos señalan que las semillas de *J. curcas* pueden ser clasificadas como ortodoxas. Heller (1996) almacenó semillas en bolsas de plástico por 6 meses a temperatura ambiente (20°C) obtuvo una germinación del 62 % en promedio (manejando un rango de 19 a 79 %) en semillas sembradas directamente en campo. Sin embargo, el rango descrito es muy amplio y los datos no son contundentes para aseverar que el comportamiento de la semilla es del tipo de las ortodoxas.

Kobilke (1989) investigó sobre la viabilidad de las semillas almacenadas en distintos tiempos (1 a 24 meses) y observó que las semillas maduras almacenadas por 15 meses bajo condiciones del ambiente reducen su viabilidad por debajo del 50 %. Una explicación a este fenómeno es que la semilla estuvo expuesta a los cambios de temperatura y humedad por un tiempo largo. Existen altos niveles de viabilidad en la semilla pero también un alto nivel de latencia en ellas. Este fenómeno es reportado en la mayoría de las *Euphorbiacea* (Ellis *et al.*, 1985; Kobilke, 1989; Heller, 1996).

Importancia industrial y alimenticia de *Jatropha curcas*.

Como cultivo energético, el piñón (*Jatropha curcas* L.) está dando lugar a muchos titulares. La planta es tolerante a la sequía, crece bien en tierras marginales, exige únicamente un régimen de precipitación moderada de 300 a 1,000 mm anuales, es fácil de propagar, puede ayudar a recuperar tierras erosionadas, entre otros. Estas características atraen a muchos países en desarrollo que, preocupados por la disminución de las áreas forestales y la fertilidad del suelo, buscan cultivos energéticos que minimicen la competencia con los cultivos alimentarios. (FAO, 2008). El piñón es hoy objeto de numerosos estudios para el

aprovechamiento de su proteína y aceite; sin embargo, la semilla, contiene cantidades significativas de esteres de forbol, que han sido reportados como los responsables de la toxicidad de ésta semilla, por causar diversos síntomas tales como pérdida del equilibrio, midriasis y diarrea extrema por mencionar algunos; por ello, en ciertos lugares se conoce como “piñón purgante”, y se le ha considerado como una variedad “tóxica” (Martínez, 2006;).

En México se ha encontrado que semillas de *J. curcas* provenientes del estado de Veracruz, Puebla, Quintana Roo y Yucatán, son consumidas después de tostar para elaborar platillos tradicionales, en tamales, pipián, salsas o consumo directo, por lo cual, a este ecotipo se le ha denominado “no tóxico”; además, de que su contenido de proteína y grasa es muy similar a las variedades tóxicas, pero poseen una menor o nula cantidad de esteres de forbol (< 0.11 mg/g) (Makkar *et al.*, 1997), por ello el estudio de semillas “no tóxicas” provenientes de diversos estados de México resulta importante, pues podría ser utilizada como una fuente alternativa de proteína y ácidos grasos para consumo humano y/o animal, además del industrial.

La composición química de las semillas de *J. curcas* es variada. Se observa variación en los contenidos de proteína cruda (19-31 %), lípidos (43-59%), fibra cruda (3.5-6.1 %) y cenizas (3.4-5.0%). El perfil de ácidos grasos presentes en aceite de *J. curcas* destacan el contenido de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2). El promedio de ácidos grasos saturados en el aceite de *Jatropha* es de entre 20.8 y 22.7 %, mientras que el correspondiente a los ácidos grasos insaturados es de entre 77.2 y 79.6 %, los estudios realizados hasta la fecha demuestran que los contenidos tanto de ácido grasos como de proteínas cumplen con los requisitos planteados por la FAO (Heller, 1996; Makkar *et al.*, 1997; Martínez *et al.*, 2006).

A pesar de los importantes proyectos e inversiones que se están llevando a cabo donde se toma como base los resultados de análisis químicos observados en muchos países, no existen

datos científicos fiables sobre el manejo agronómico de *Jatropha curcas* (FAO, 2008). Se tienen pruebas de su desconocimiento, de las cuales se pueden enumerar las siguientes:

1. la gran diversidad de rendimientos que no pueden ser relacionadas con parámetros pertinentes como la fertilidad del suelo y la disponibilidad de agua (Jongschaap *et al.*, 2007).
2. Las experiencias con las plantaciones de *Jatropha* en la década de 1990, por ejemplo el «Proyecto Tempate» en Nicaragua, que funcionó de 1991 a 1999 y terminó en un rotundo fracaso (Euler y Gorriz, 2004).

El piñón ha sido adaptado como un cultivo con un rendimiento estable. Existe temor de que las prisas injustificadas por extender su siembra, no solo provoquen pérdidas económicas, sino que además acabe con la confianza de los productores para empezar con las plantaciones comerciales, si es que los resultados de las investigaciones son favorables. Por ello se necesita realizar mayor investigación sobre el germoplasma, los aspectos agronómicos, comerciales y de conservación involucrados para la obtención del respaldo científico requerido.

Por otro lado, *J. curcas* y el resto de las especies del género son recursos fitogenéticos de amplio interés, por ello, es necesario realizar una exploración, para poder proponer un esquema de aprovechamiento sustentable basado en la evaluación y en la utilización, así como la forma idónea para la conservación.

LITERATURA CITADA

- Bonner F T (1981)** “Storage principals for tropical tree seeds”. *In*: Reunión sobre problemas de semillas forestales. Tomo I. Pub. Esp. 35. INIF/SARH. México.
- Brown A H D, D R Marshall (1995)** A basic sampling strategy: theory & practice. *In*: Collecting Plant Genetic Diversity. Guarino L, V. Ramanatha Rao and R. Reid. (eds), CABI. 75-91 p.
- Bohicchio A, Vazzana C, S Puliga, S Alberti, S Singanelli, P Vernieri (1998)** Moisture content of the dried leaf is critical to desiccation tolerance in attached leaves of the resurrection plant *Boea hygroskopica*. *Plan Growth Regulation* 24, 163-170.
- CDB (2002)** Convenio Sobre la Diversidad Biológica. Decisión VI/9. Estrategia mundial para la conservación de las especies vegetales.<http://www.biodiv.org/decisions/default.aspx?lg=1&dec=VI/9>
- Chin H F (1975)** Germination and storage of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seeds. *Malaysian Agriculture Research* 4, 173-180.
- Correll D S, H B Correll (1982)** Flora of the Bahama Archipelago. J. Cramer, Vaduz (eds)
- Cromarty A S, H R Ellis, H E Roberts (1982)** The Design of Seed Storage Facilities for Genetic Conservation. International Board for Plant Genetic Resources. Rome, Italy.
- Demir I, H R Ellis (1992)** Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. *Seed Science Research*. 2, 81-87.

- Ellis R H (1998)** Longevity of seeds stored hermetically at low moisture contents. *Seed Science Research* 1, 9-10.
- Ellis R H, D T Hong (1994)** Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 73: 501–506.
- Ellis R H, H E Roberts (1981)** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*. 9, 373-409.
- Ellis R H, T D Hong, E H Roberts (1985)** Handbooks for Genebanks No. 3. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol. II. Compendium of Specific Germination Information and Test Recommendations. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Euler H, D Gorriz (2004)** Case study ‘‘*Jatropha curcas*’’. Frankfurt: Global Facilitation Unit for Underutilized Species and Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit.
- FAO (2008)** El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Biocombustibles: perspectivas, riegos y oportunidades. FAO, Roma Italia.
- Farrant J M, N W Pammenter, P Berjak (1988)** Recalcitrance –a current assessment. *Seed Science and Technology* 16, 155-166.
- Farrant J M, W N Pammenter, P Berjak, Farnsworth, W C Vertucci (1996)** Presence of dehydrinlike proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seed may be related to habitat. *Seed Science Research* 6:175-182.
- Fu J R, B Z Zhang, X F Wang, Y Z Qiao, X L Huang (1990)** Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. *Seed Science Technology* 18, 743-754.

- Greggains V, S W E Finch, P W Quick, M N Atherton (2000)** Putative desiccation tolerance mechanism in orthodox and recalcitrant seed of the genus *Acer*. *Seed Science Research* 10:317-327.
- Grout B W W, K Shelton, W H Pritchard, (1983)** Orthodox behavior of oil palm seed and cryopreservation of the excised embryo for genetic conservation. *Annals of Botany* 52, 381-384.
- Han B, P Berjak, N Pammenter, Farrant N, J Kermode (1997)** The recalcitrant plant species, *Castanospermum austral* and *Trichilia dregana*, differ in their ability to produce dehydrin-related polypeptides during seed maturation and in response to ABA or water-deficit-related stresses. *Journal of Experimental Botany*.48, 1717-1726
- Harrington, J F (1972)** Seed Storage and longevity. *In: Seed Biology Volume III*. Kozlowski T T (eds). Press Academic New York & London.
- Hawkes J G, N Maxted, B V Ford-Lloyd (2000)** The *Ex Situ* Conservation of Plant Genetic Resources. Kluwer Academic Publishers NL.
- Heller J (1996)** Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant ResearchGatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Hong T D, H R Ellis, (1990)** A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatonus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589–596.
- Hong T D, R H Ellis (1996)** A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI Technical Bulletin No. 1. Engels J M M, J. Toll (eds) International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- IPGRI (1993)** Diversity for development. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Jogs-Chaap R E E, J W Corre, W A Brandenburg (2007)** Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Glogal *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Plant Research International. Wageningen UR. 5-23 p.
- Kermode A R (1995)** Regulatory mechanism in the transmittion from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. *In: Seed Development and germination*. Galili G, J Kigel (eds).Marcel Dekker, New York. 273-332 pp.
- Kermode A R, J D Bewley (1985)** The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. *Journal of Experimental Botany* 36, 1906-1915.
- Kobilke H (1989)** Untersuchungen zur Bestandesbegründung von Purgiernus (*Jatropha curcas* L.). Diploma thesis. University Hohenheim, Stuttgart.
- Leprince O, A G F Hendry, D B McKersie (1993)** The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 3: 231–246.
- Linington S H, H W Pritchard (2001)** Gene Banks *In: Encyclopedia of Biodiversity*, Volume3. Levin, S.A (ed). Academic Press, New York. 165-181 pp
- Makkar H P S, K Becker, F Sporer, M Wink (1997)** Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 45, 3152-3127.

- Marshall D R, D H Brown (1975)** Optimum sampling strategies in conservation, pp. 53-80. In: O.H. Frankel and J.G. Hawkes (eds). Crop genetic resources for today and tomorrow. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Martínez H J, P Siddhuraju, G Francis, G O Dávila, K Becker (2006)** Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. Food Chemistry. 96, 80–89.
- Pammenter N M, P Berjak (1999)** A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. Seed Science Research 9: 13–38.
- Pammenter N W, W C Vertucci, P Berjak (1991)** Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landolphia kirkii*. Plant Physiology 96: 1093–1098.
- Priestley D A (1986)** Seed Aging. Cornell University Press Ithaca.
- Pritchard H W (2004)** Classification of seed storage ‘types’ for *ex situ* conservation in relation to temperature and moisture. In: Ex situ Plant Conservation: supporting species survival in the wild. Guerrant E, K. Havens, M. Maunder (eds). Press Island, Covelo, CA, USA.
- Pritchard H W, T P Seaton (1993)** Orchid seed storage: historical perspective, current status, and future prospects for long-term conservation. Sebyana 14, 89-104.
- Probert R J, R F Hay (2000)** Keeping seeds alive, pp 375–410. In: Seed technology and its biological basis. Black M, D Bewley (eds). Press Sheffield Academic, Sheffield, UK.
- Rao K N, Appa R S, H M Mengesha, H R Ellis (1991).** Longevity of pearl millet (*Pennisetum glaucum* R.Br.) seeds harvested at different stages of maturity. Annal of Applied. Biology. 119, 97-103.

- Roberts E H (1973)** Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*. 1: 499–514.
- Roberts E H, W M King, H R Ellis (1984)** Recalcitrant seeds: their recognition and storage. *In* *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation*. Holden J H W, J T Williams. London: George Allen and Unwin. 38-52 pp.
- Seaton P T, J S N Hailes (1989)** Effect of temperature and moisture content on the viability of *Cattleya aurantiaca* seed. *In* *Modern Methods in Orchid Conservation: The Role of Physiology Ecology and Management*. Pritchard H W (ed) Press Cambridge University. 17-29 pp.
- Singh L B (1968)** The Mango. Botany, Cultivation and Utilization. London: Leonard Hill.
- Stanwood P C, E E Roos (1979)**. Seed storage of several horticultural species in liquid nitrogen (-186°C). *HortScience* 14, 628-630.
- Stanwood P C, L N Bass (1981)** Seed germoplasm preservation using liquid nitrogen. *Seed Science and Technology* 9, 423-437.
- Steinmann V W (2002)** Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana* 61: 61-93.
- Tamari C (1976)** Phenology and Seed Storage Trials of Dipterocarps. Research Pamphlet No 69. The Forestry Department. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Tweddle J C, R M Turner, J B Dickie (2002)** Seed Information Database (release 3.0, Jul.2002) <http://www.rbgekew.org.uk/data/sid>

II. TOLERANCIA A LA DESECACIÓN Y LONGEVIDAD DE LAS SEMILLAS DE PIÑÓN MEXICANO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMEN

La desecación en las semillas es considerada una cualidad que confiere protección a los tejidos durante la deshidratación y a la vez determina la estrategia de conservación *ex situ* de la especie. En el presente estudio se evaluó el nivel de tolerancia a la desecación y la longevidad de las semillas de *Jatropha curcas* L. Semillas colectadas en tres grupos climáticos de la región del Totonacapan (Puebla-Veracruz) se sometieron a secado a niveles de 12 y 5 % y se almacenaron por tres y seis meses a -18°C . Además, se almacenaron semillas con 14, 8 y 5 % de humedad por 3 y 6 meses en frascos herméticos que fueron colocados en cuarto frío a 5°C y condiciones de Ecatlan, Puebla (temperatura media anual $>18^{\circ}\text{C}$ y HR $>60\%$). La reducción del contenido de humedad en las semillas de *Jatropha curcas* hasta 5 % se reflejó por una reducción de 20 % en la viabilidad, un incremento de 70 % en la germinación y un aumento de $10\ \mu\text{S cm}^{-1}\ \text{g}^{-1}$ en la conductividad eléctrica. No se detectaron cambios en estas variables después del almacenamiento hasta por 6 meses a -18°C . El incremento en germinación posiblemente se debió a una reducción en la latencia de la semilla durante el secado. Las semillas almacenadas con 14 % de humedad en Ecatlan, redujeron hasta 51 % su viabilidad, 52 % su germinación, e incrementaron en $28\ \mu\text{S cm}^{-1}\ \text{g}^{-1}$ su conductividad eléctrica después de 6 meses, mientras que semillas con 5 % de humedad no fueron afectadas en estas variables en ninguna condición de almacén. Los datos obtenidos indican que las semillas de *Jatropha* pueden ser consideradas del tipo ortodoxas. La longevidad de la semilla fue mayor cuando se resguardó con 5 % de humedad a temperaturas inferiores a 5°C .

Palabra clave: Desecación, *Jatropha curcas* L. ortodoxa, almacenamiento.

SUMMARY

Desiccation in seeds is considered as a quality that provides protection to the tissues during dehydration and also determines the strategy for *ex situ* conservation of the species. In this study the level of tolerance to desiccation and longevity of seeds of *Jatropha curcas* L. were evaluated. Seeds collected at three climatic groups in the Totonacapan (Puebla-Veracruz) region were submitted to drying levels of 12 and 5% and stored for three and six months at -18 °C. In addition, seeds were stored with 14, 8 and 5% moisture for 3 and 6 months into hermetic jars which were placed into a cold room at 5°C and under room conditions at Ecatlan, Puebla (mean annual temperature > 18 °C and RH > 60%). Reduction of the moisture content in the seeds of *Jatropha curcas* up to 5% was reflected into a reduction of 20% in viability, an increase of 70% in germination and an increase of 10 $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ in electrical conductivity. There were no changes in those variables after storage for up to 6 months at -18°C. The increased germination was probably due to a reduction in seed dormancy during drying. Seeds stored with 14% moisture at Ecatlan reduced up to 51% viability, 52% germination and increased 28 $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ the electrical conductivity after 6 months, while seeds with 5% moisture were not affected on those variables in any storage condition. Data indicate that seeds of *Jatropha* should be considered under the orthodox type. Seed longevity was higher when it was stored with 5% moisture at temperatures below 5°C.

Keywords: Desiccation, *Jatropha curcas* L. orthodox, storage.

INTRODUCCIÓN

La desecación es considerada una cualidad que confiere protección a los tejidos que pueden sufrir daños durante la deshidratación (Vertucci y Farrant, 1995), si bien es necesaria para completar el desarrollo de la semilla antes de la germinación (Koster y Leopold, 1988; Kermodé, 1995), también ocasiona daños cuando el agua removida es crítica para la supervivencia de la semilla (Walters *et al.*, 2001). Las semillas que toleran reducciones considerables de humedad (7 a 3%) sin afectar su viabilidad se consideran ortodoxas (Roberts, 1973) como es el caso de Maíz (Priestley, 1986), frijol (Stanwood y Roos, 1979), avena (Harrington, 1972, Priestley, 1986), mientras aquellas en las que su viabilidad se ve afectada negativamente al reducir su humedad por abajo del 30 % se consideran recalcitrantes (Roberts, 1973), por ejemplo el Mango (Fu *et al.*, 1990) y Cacao (Singh, 1968).

Las recomendaciones internacionales para la conservación de germoplasma a largo plazo señalan un contenido de humedad en la semilla de entre 5 ± 2 % y temperaturas inferiores a cero (Ellis *et al.*, 1990; FAO/IPGRI, 1994), lo que bien aplica para las semillas del tipo ortodoxas, por ejemplo *Cicer arietinum* L. (2 a 3.4%), *Ricinus communis* L. (3.2 a 5%), *Sesamum indicum* L. (2 a 4.5%), *Guizotia abyssinica* L. (2.3 a 4%), *Arachis hypogaea* L. (2 a 4.8%), *Gossypium hirsutum* L. (2 a 3%), (Singh *et al.*, 2003).

En general entre más bajo sea el contenido de humedad de la semilla y la temperatura de almacén la longevidad de la semilla será mayor. En este sentido, para el resguardo de germoplasma en cuartos fríos a largo plazo se recomienda una temperatura de -20°C con 5 ± 1 % de humedad de la semilla, a mediano plazo 5°C y contenido de humedad entre 7 y 11 % (Hong y Ellis, 1996).

El patrón de envejecimiento de las semillas es, en general, descrito en términos de su contenido de humedad durante el almacenamiento (Walters, 1998; Tang *et al.*, 1999), que en consecuencia por su alta tasa respiratoria aumenta la temperatura, ataque de microorganismos y con ello notablemente la reducción en la longevidad de la semilla (Matthews y Powell, 1986; Perdomo y Burris, 1998; McDonald, 1999). Tang *et al.*, (1999) encontró que la longevidad de un lote de semillas de maíz fue de 190 y de 90 días, cuando la humedad fue de 14 y 16 %, respectivamente, a una temperatura constante de 30°C.

Por lo anterior, en la conservación de germoplasma, resulta fundamental conocer el tipo de semilla (ortodoxa o recalcitrante), el nivel de desecación que esta tolera, ya que en las mismas ortodoxas existen variaciones entre especies, así como el comportamiento en el almacenamiento de la especie en cuestión. Las semillas de *J. curcas* se han considerado del tipo ortodoxas; no obstante, en la literatura no se encontró información contundente que sustentara dicha aseveración. Al respecto, Heller (1996) almacenó semillas por 6 meses a temperatura ambiente (20°C) manteniendo una germinación de 62 %. Por otro lado, Kobilke (1989) observó que las semillas maduras almacenadas por 15 meses bajo condiciones ambientales reducen su viabilidad por debajo del 50%.

Con la finalidad de contribuir en el manejo adecuado en la conservación *ex situ* del germoplasma de *J. curcas* se determinó su tolerancia a la desecación y su longevidad en dos ambientes de almacenamiento mediante cambios en viabilidad, germinación y conductividad eléctrica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Se utilizó semilla de *Jatropha curcas* colectada en la Sierra Norte del Estado de Puebla y parte de Veracruz (Región del Totonacapan). Para la colecta, la región se dividió por grupos climáticos: en Templado húmedo C(f), Templado subhúmedo (A)Cf y Cálido húmedo C(w). En cada una se recolectaron accesiones de frutos amarillos, que se colocaron en bolsas de plástico Ziploc con aserrín húmedo para evitar desecación durante el transporte al laboratorio. Una vez que las semillas fueron extraídas del fruto, de cada accesión se tomó una muestra de semillas y se formó una muestra compuesta por grupo climático para evaluar el grado de tolerancia a la desecación y en otra muestra longevidad de las mismas, como se describe a continuación.

Tolerancia a la desecación

Se utilizó el protocolo de Hong y Ellis (1996), que consiste en reducir el contenido de humedad de las semillas hasta 12 y 5 %, medir en seguida la viabilidad y almacenarlas por 3 meses a -18 °C y evaluar nuevamente su viabilidad. La reducción de humedad se realizó en condiciones de laboratorio (25-27 °C y 60-75 % humedad relativa) y con silicagel en proporción de 2:1 (semilla y silicagel) en frascos de vidrio herméticos (Rao *et al.*, 2007) para alcanzar 5 % de humedad. Adicionalmente, en el presente experimento se evaluó la viabilidad nuevamente a los 6 meses posteriores al almacenamiento. En este sentido, se evaluaron tres niveles de desecación (≈ 40 % o inicial, 12 y 5 %) y dos periodos de almacenamiento a -18 °C (3 y 6 meses) para cada grupo climático se midió la reducción de humedad y la viabilidad, germinación y conductividad eléctrica de la semilla.

Humedad en semilla: Se usó el método de la estufa (ISTA, 2005), a 103°C por 72 h en 3 repeticiones de 10 semillas enteras para cada grupo climático de recolecta, expresando el resultado en porcentaje.

Viabilidad: Se usó cloruro de tetrazolio (ISTA, 2005), que consiste en someter las semillas a imbibición por 12 h previo a la prueba. En el presente trabajo se removió la testa y se hizo un corte transversal al embrión en tres repeticiones de 25 semillas por tratamiento (combinación de grupo climático, niveles de humedad y periodo de almacenamiento), que fueron sumergidas en una solución de cloruro de tetrazolio al 0.5% por 24 h a temperatura ambiente (25-27 h). Se consideraron viables aquellas semillas con coloración de sus estructuras vitales para establecimiento de una plántula normal y el resultado se reporta en porcentaje.

Germinación: Se utilizó arena de río esterilizada como sustrato en cajas de plástico tipo sandwicheras, en las que se sembraron tres repeticiones de 25 semillas por tratamiento y se colocaron en una cámara de germinación entre 27 y 30°C. Se realizaron conteos a los 7 y 14 días de siembra (ISTA, 2005) y otro adicional a los 21 días, con el fin de reducir el efecto potencial de latencia reportada en las semillas. El resultado se reporta en porcentaje de semillas germinadas, considerando la suma de las plántulas normales de los tres conteos.

Conductividad eléctrica: Se realizó modificando lo propuesto por Pandey (1992), usando tres repeticiones de 10 semillas escarificadas en su totalidad (testa eliminada, debido a la liberación de sustancias que afectan la lectura) en 75 ml de agua des ionizada a 20 °C por 24 h. Las lecturas se tomaron con un medidor Oacton PC 300, que reporta valores en micro-Siemens por centímetro por gramo ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$).

Diseño experimental: Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamiento, donde los factores fueron: 1) humedad en la semilla (12 y 5 % y como testigo la humedad inicial con un promedio de alrededor de 40 %), 2) el grupo climático de recolecta (templado húmedo, templado subhúmedo, y cálido húmedo) y tiempo de almacenamiento (3 y 6 meses donde el testigo fue el valor de cada variable después del nivel de secado y previo al almacenamiento).

Longevidad de la semilla

Con la finalidad de obtener mayor información acerca de la longevidad de la semilla, se obtuvieron muestras de semillas durante el proceso de desecación con 14, 8 y 5 % de humedad de cada grupo climático, las que se colocaron en frascos herméticos y se almacenaron en el poblado de Ecatlan, municipio de Jonotla (zona de colecta), Puebla, que presenta una temperatura media anual mayor a 18°C y una HR superior a 60% y en un cuarto frío con condiciones de colecciones de trabajo (5 °C y 20 % de HR), por 0 (testigo), 3 y 6 meses. Las variables respuestas fueron la viabilidad, germinación y conductividad eléctrica, realizadas mediante los procedimientos descritos con antelación.

El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos, considerando como factores niveles de humedad en las semillas (14, 8 y 5%) y el ambiente de almacén (Ambiente de Ecatlan y cuarto frío) y tiempo de almacén (0, 3 y 6 meses) y grupo climático.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tolerancia a la desecación

Humedad de la semilla: Las semillas de *J. curcas* obtenidas de frutos amarillos presentan en promedio 40 % de humedad (Figura 2.1). La reducción de humedad de las semillas de los tres grupos climáticos en condiciones de laboratorio (25-27°C y 60-75 % HR), sigue una tendencia sigmoïdal, alcanzando un equilibrio a las 54 h de 8.5 % de humedad, por lo que fue necesario el uso de silicagel para reducir la humedad a 5%.

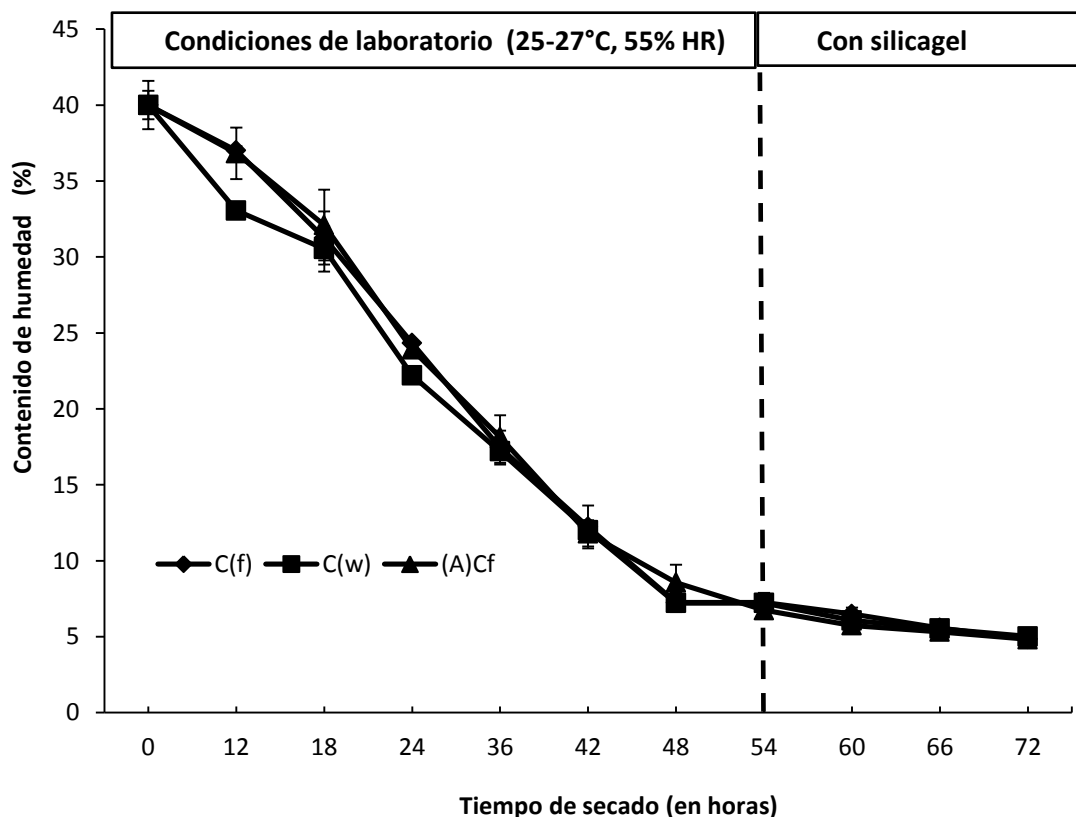


Figura 2.1. Reducción de humedad en semillas de *Jatropha curcas* en condiciones de laboratorio y silicagel.

Viabilidad: Solo la reducción de humedad causó efecto significativo en esta variable. Con humedad inicial (40 %) la viabilidad fue de 90 %, la que disminuyó en 15 y 20 % cuando la

humedad se redujo a 12 y 5 %, respectivamente (Figura 2.2A). Durante el almacenamiento a -18 °C la viabilidad se redujo en 5 % a los tres meses y en 10 % a los 6 meses, diferencias que no resultaron significativas (Figura 2.2B). En promedio, los tres grupos climáticos mantuvieron una viabilidad superior a 70 %, sin diferencia significativa (Información no mostrada). El efecto interactivo de los factores resultó estadísticamente no significativo y los resultados de las variables no muestran una tendencia definida (Figura 2.2 C y D).

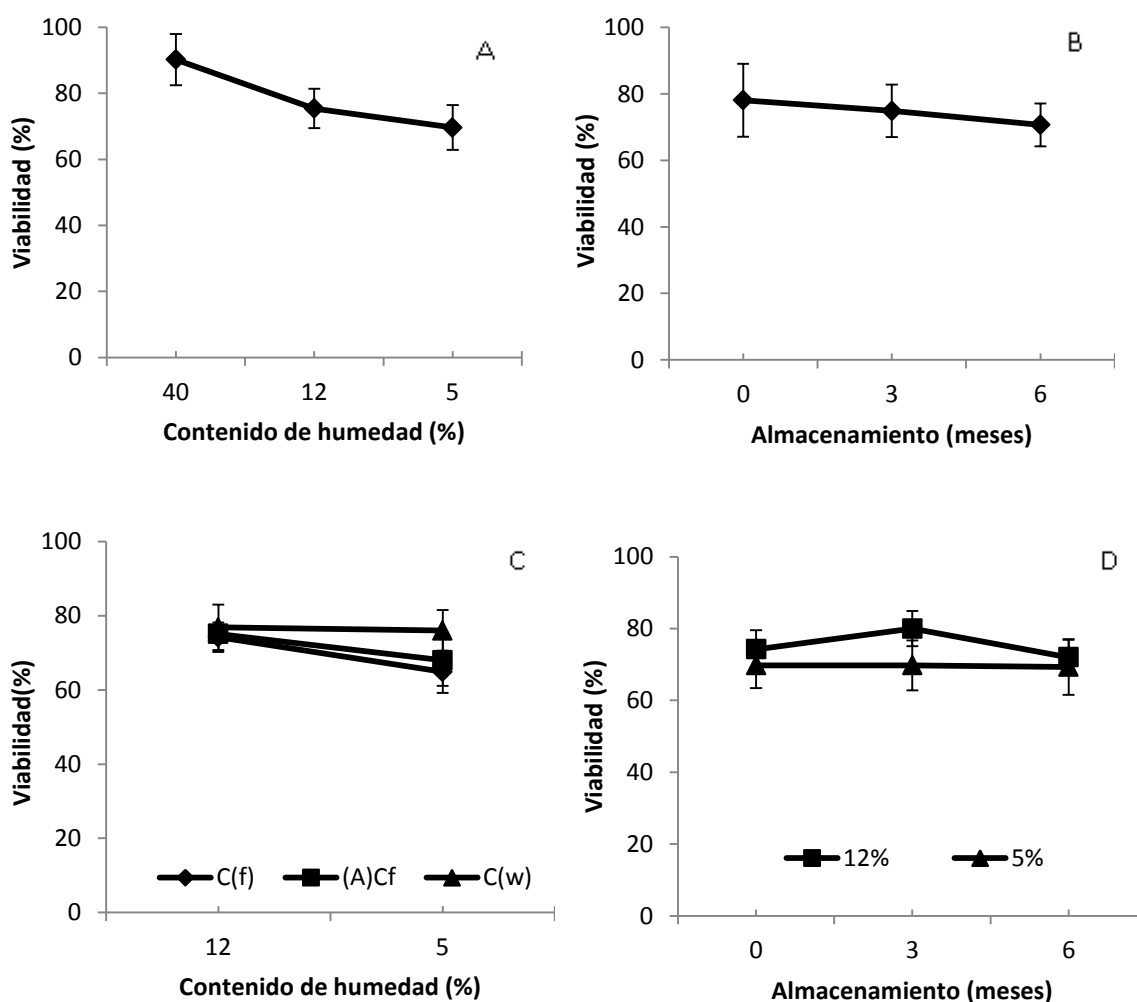


Figura 2.2. Viabilidad con diferente contenido de humedad (A), tiempo de almacenamiento (B), la interacción del contenido de humedad y grupo climático (C) y (D) el tiempo de almacén con el contenido de humedad de las semillas de *Jatropha curcas* L.

Germinación: La semilla recién extraída de frutos amarillos con humedad promedio de 40 % no presentó germinación, la que se incrementó a 70 % al reducir la humedad a 12 y 5 % (Figura 2.3A). Aun cuando el tiempo de almacenamiento resultó no significativo, la germinación se incrementó en 20 % después de 3 y 6 meses (Figura 2.3B).

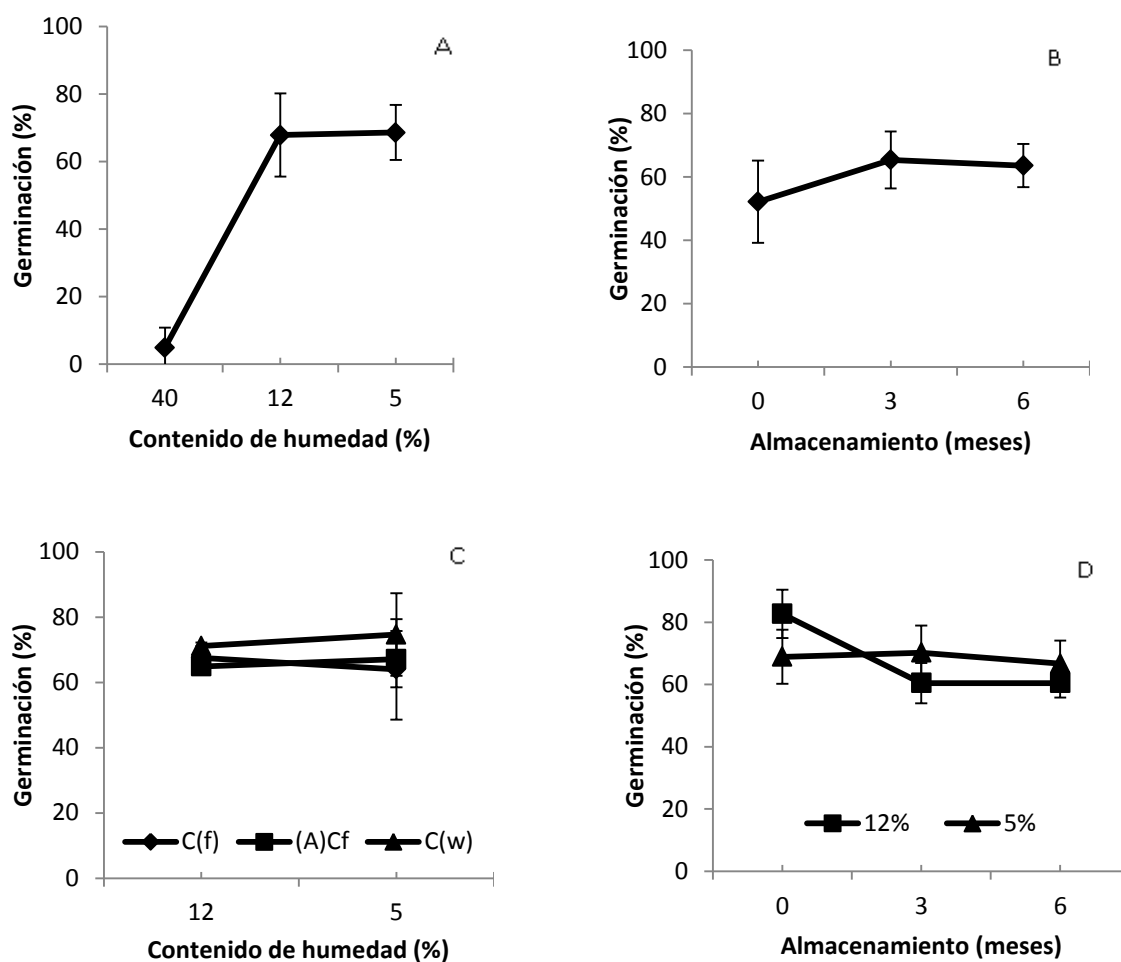


Figura 2.3. Germinación de semillas de *Jatropha curcas* L. con diferente contenido de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (C) y el efecto del contenido de humedad durante el almacén (D).

La interacción de humedad por grupo climático se reflejó por un incremento promedio de 60 % de germinación al reducir la humedad a 12 % (Figura 2.3C). El resto de los factores e interacciones no afectaron estadísticamente esta variable (Figura 2.3D).

Conductividad eléctrica: El secado y su interacción con el grupo climático afectaron significativamente la membrana celular, evaluado de manera indirecta con la prueba de conductividad eléctrica. La reducción del contenido de humedad de la semilla de 40 % a 12 y 5 % incrementó la conductividad eléctrica en $10 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ (Figura 2.4A), valor que fue similar para los tres grupos climáticos (Figura 2.4C). El resto de los factores simples e interacciones no afectaron significativamente dicha variable (Figura 2.4 B y D).

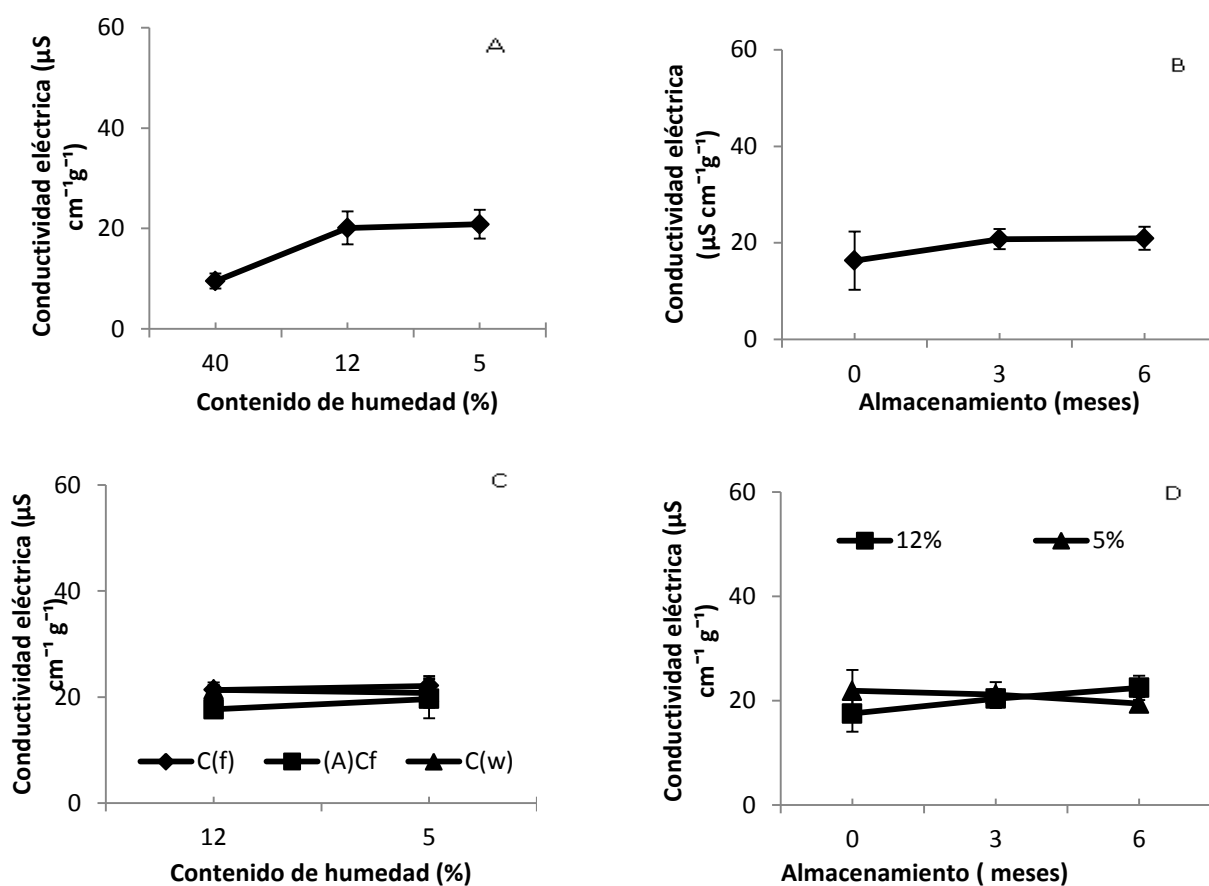


Figura 2.4. Conductividad eléctrica en semillas de *Jatropha curcas* L después del secado en distintos niveles de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad con el grupo climático de recolecta (C) y la interacción del contenido de humedad y tiempo de almacén (D).

Longevidad de la semilla

Viabilidad: El contenido de humedad fue el que más afectó la viabilidad de la semilla (Figura 2.5). Aunque no es significativo, la semilla resguardada con 5 % mantuvo una viabilidad de 7 % superior a la resguardada con 14 % (Figura 2.5A). La semilla conservada con 14% de humedad redujo su germinación en 51 % después de 6 meses de almacenamiento, mientras que las resguardadas con 8 y 5 % de humedad no manifestaron reducción significativa (Figura 2.5C). La combinación de contenido de humedad y ambiente de almacenamiento de Ecatlan provocaron un mayor deterioro, sobre todo con 14 % de humedad (Figura 2.5D).

Germinación: Las interacciones contenido de humedad, tiempo y ambiente de almacenamiento afectaron significativamente la germinación (Figura 2.6). La germinación se redujo en 52 % a los 6 meses de almacenamiento cuando fue almacenada con 14 % de humedad, comparado con 14 % cuando se almacenó con 5% de humedad (Figura 2.6C). El mayor deterioro, reflejado por la germinación ocurrió en ambiente de Ecatlan y con 14 % de humedad (Figura 2.6D).

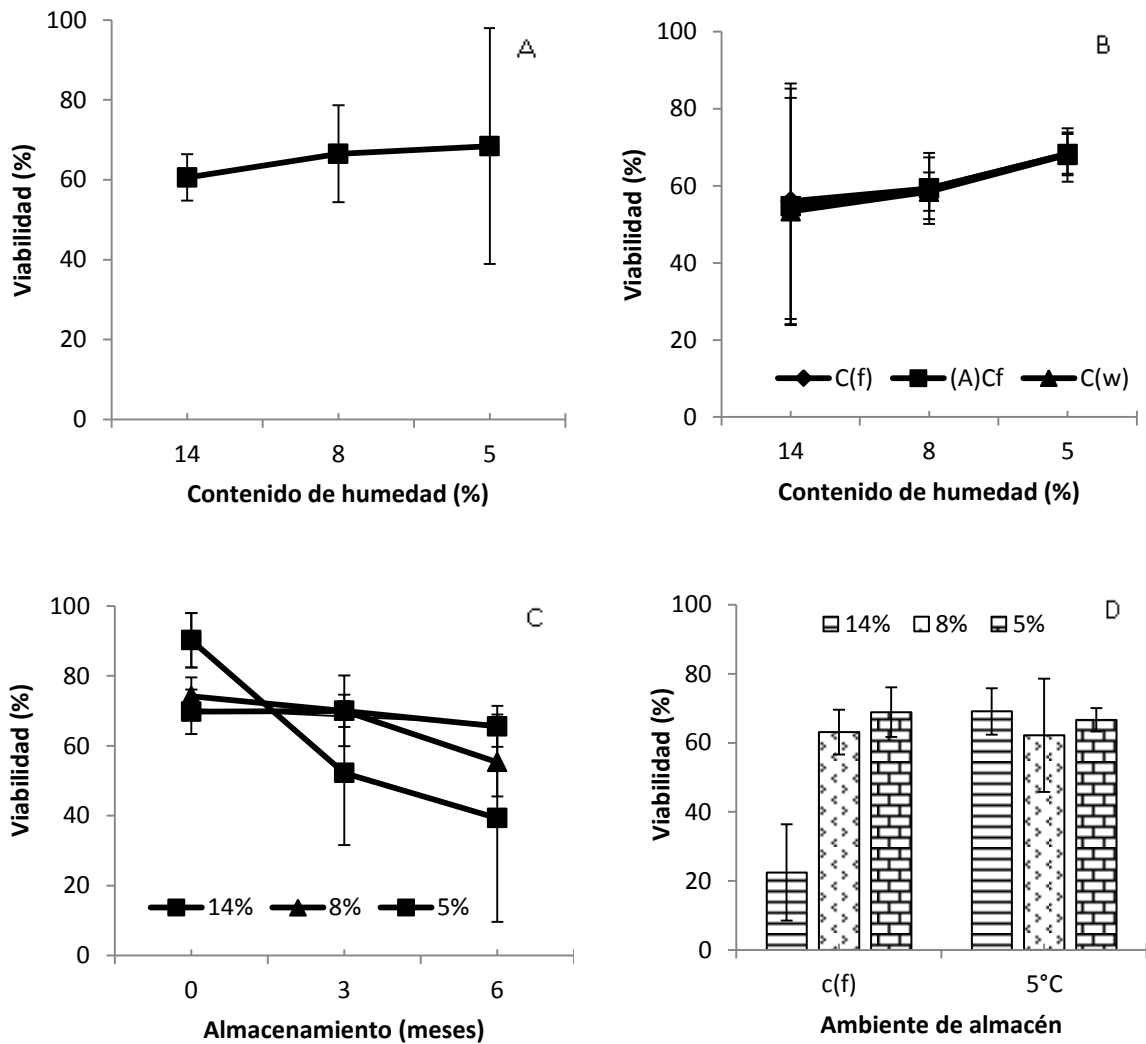


Figura 2.5. Viabilidad de semillas de *Jatropha curcas* L. después del secado en tres niveles de humedad (A), con la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (B), el tiempo de almacén y el contenido de humedad (C) así como el ambiente de almacén con el contenido de humedad (D).

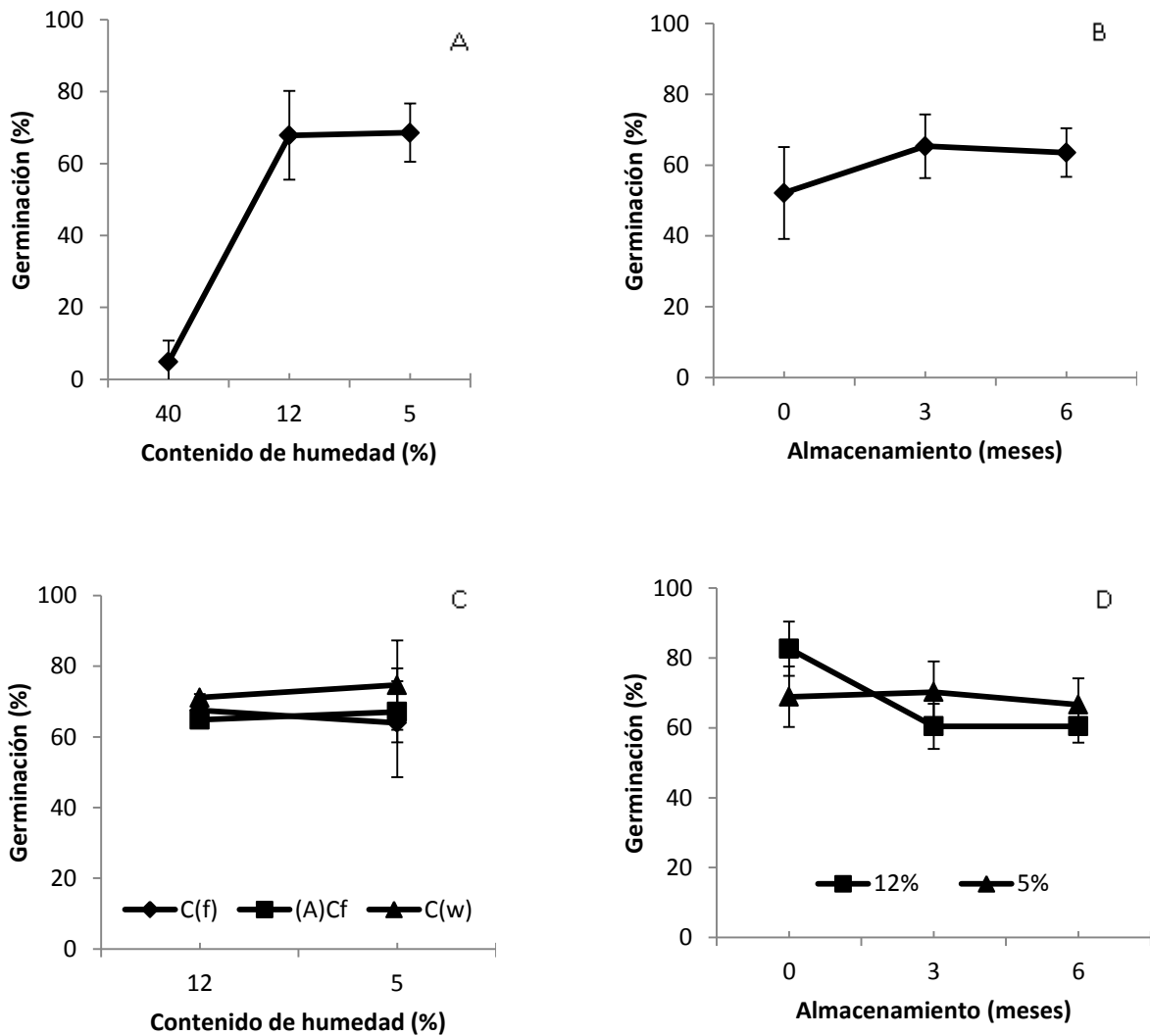


Figura 2.6. Germinación de semillas de *Jatropha curcas* L. con diferente contenido de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad y el grupo climático de recolecta (C) y el efecto del contenido de humedad durante el almacén (D).

Conductividad eléctrica: Las interacciones contenido de humedad, tiempo y ambiente de almacenamiento afectaron significativamente la conductividad eléctrica (Figura 2.7). A mayor contenido de humedad y tiempo de almacenamiento mayor conductividad eléctrica, detectando un incremento de $28 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 6 meses con 14% de humedad, mientras que con 5 % no cambió en absoluto la conductividad (Figura 2.7C). Entre más baja es la humedad

de la semilla la conductividad es menor, independientemente de las condiciones de almacenamiento evaluados en el presente estudio (Figura 2.7D).

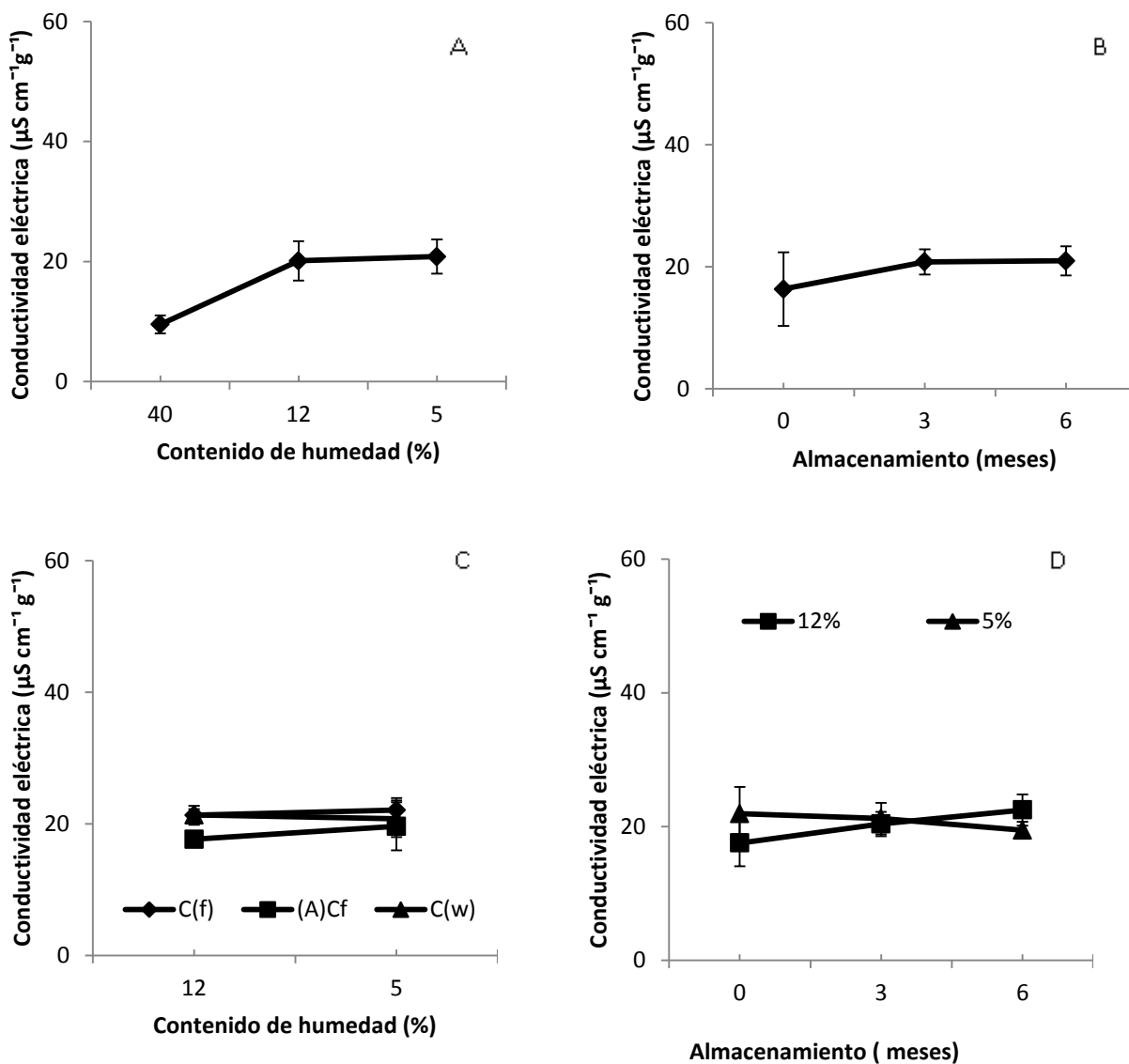


Figura 2.7. Conductividad eléctrica en semillas de *Jatropha curcas* L después del secado en distintos niveles de humedad (A), en tres tiempos de almacén (B), la interacción del contenido de humedad con el grupo climático de recolecta (C) y la interacción del contenido de humedad y tiempo de almacén (D).

DISCUSIÓN

Tolerancia a la desecación

La reducción del contenido de humedad en las semillas de *Jatropha curcas* hasta 5% se reflejó en una reducción de 20 % en la viabilidad de la semilla, mientras que la germinación se incrementó en 70 %, así como un incremento en la conductividad eléctrica de $10 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. No hubo efecto del de los grupos climáticos de colecta, tiempo de almacenamiento, ni sus interacciones. La reducción en la viabilidad es indicativo de daño por secado, el que depende en gran medida de la velocidad a la que se realiza, ya que en un secado lento (condiciones de ambiente), la semilla dispone de mayor tiempo para realizar los ajustes necesarios y poder tolerar grandes pérdidas de agua (Pritchard, 2004). La tasa de secado 0.69 puntos porcentuales por hora, fue superior a la registrada en embriones de maíz (0.6) durante el secado artificial (Cordova y Burris, 2002), por lo que se puede inferir que el daño en *Jatropha curcas* se debió a la velocidad de secado no a que la semilla sea del tipo recalcitrante. Asimismo, no se encontró información que indique si con humedad de 40 % la semilla ya ha adquirido la tolerancia a la desecación, lo que resulta motivo de estudios posteriores.

El incremento en germinación después del secado es un indicativo de la presencia de latencia, característica del género (Heller, 1996), en la semilla fresca o con humedad inicial (40 %), debido probablemente a una alta concentración de ácido abscísico (Koornneef *et al.*, 1982) que haya impedido la germinación con ese nivel de humedad. Durante el secado el ácido abscísico disminuye (Karssen *et al.*, 1983 y Hole *et al.*, 1989), lo que posiblemente permitió el incremento observado en germinación. Ramírez *et al.*, (2007) reportaron incrementos en germinación de las semilla de maíz conforme el contenido de humedad disminuyó, lo que concuerda con lo observado en el presente estudio.

El incremento en conductividad eléctrica indica, de manera indirecta, daño en las membranas celulares, reflejado por la pérdida de solutos. El incremento observado en el presente estudio fue tres veces inferior al observado por Ramírez *et al.*, (2007) y Córdova y Burris (2002), lo que no corresponde con la gran reducción observada en viabilidad y máxima germinación (70 %) al final del secado. Lo que sugiere que el daño en las membranas posiblemente no sea lo único que se ocasiona por el secado, como lo señala Córdova y Burris (2002) y Pammenter *et al.*, (1999).

Dado que las semillas de *Jatropha curcas* mantuvieron una viabilidad superior a 70 % después de haber reducido su humedad a 5 % y almacenarlas por 3 meses a -20°C (Hong y Ellis, 1996) se pueden considerar en la categoría de ortodoxas. En el presente experimento, además, se observó que la germinación se mantuvo en ese porcentaje y la conductividad inferior a 10 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 6 meses de almacenamiento. Desde el punto de vista de conservación del germoplasma, la semilla de esta especie permite su resguardo a 5 °C en bancos de colecciones activas y a -18 °C en bancos de colección a largo plazo, con niveles de humedad de hasta 5 % en la semilla.

Longevidad de la semilla

En general, el contenido de humedad, el tiempo y las condiciones de almacenamiento ejercen un efecto interactivo en la viabilidad, germinación y conductividad eléctrica. El almacenamiento de semilla con 14 de humedad en condiciones de Ecatlan, Puebla, (temperatura media anual >18°C y HR >60%) causaron una reducción de hasta 51 % en la viabilidad, 52 % en la germinación e incrementos de 28 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ en conductividad eléctrica después de 6 meses de almacenamiento, mientras que estas variables se mantuvieron sin

cambios significativos cuando la humedad de la semilla fue de 5 %, independientemente del tiempo y de las condiciones del almacén. Resultó evidente que la interacción del contenido de humedad y la temperatura de almacén son los que más afectaron la longevidad de la semilla, tal como lo señala Harrington (1972). Aguirre y Peske (1991) reportaron incremento en 1.7 veces en la longevidad de semillas de frijol por cada reducción en 1 % en el contenido de humedad. Tang *et al.*, (1999) encontró que la longevidad de la semilla de maíz fue de 190 y de 90 días con contenidos de humedad de 14 y 16 %, respectivamente, a una temperatura constante de 30°C. Esto indica, que el contenido de humedad tiene una mayor influencia en el deterioro, lo que también se reflejó en el presente estudio, ya que al reducir la humedad a 5 % el tiempo y ambiente de almacén no causaron efecto significativo en las variables evaluadas. Este nivel de humedad es el recomendado para la conservación a largo plazo de semillas con alto contenido de aceite (Ellis *et al.*, 1990, FAO/IPGRI, 1994, Singh *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

Las semillas de *J. curcas* toleran niveles de desecación de 5 %, no manifiestan reducción en la viabilidad y germinación después de 6 meses de almacenamiento a -18 °C, por lo que se pueden considerar en la categoría de ortodoxas. La longevidad de la semilla de *J. curcas*, en términos de viabilidad, germinación y conductividad eléctrica se incrementa con humedades de 5 %, por lo que es el nivel recomendable para la conservación en bancos de germoplasma.

LITERATURA CITADA

- Aguirre R, S T Peske (1991)** Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seed? *Seed Science and Technology* 1:89-125.
- Cordova T L, J S Burris (2002)** Alignment of lipid bodies along the plasma membrane during the acquisition of desiccation tolerance in maize seed. *Crop Science* 42: 1982-1988.
- Ellis R H, D T Hong, H E Roberts (1990)** Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibitional damage. *Seed Science and Technology* 18: 131–137.
- FAO/IPGRI (1994)** Genebank Standards. FAO/IPGRI. Rome, Italy. 13 p.
- Fu J R, Zhang B Z, Wang X.F, Qiao Y Z, Huang X L (1990)** Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. *Seed Science and Technology* 18, 743-754.
- Harrington J F (1972)** Seed storage and longevity *In: Seed Biology*. Vol. III. T.T. Kozlowski (eds.). Academic Press. New York. 145-240 p.
- Heller, J (1996)** Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. Italy. 66 p.
- Hole D J, J D Smith, B G Cobb (1989)** Regulation of embryo dormancy by manipulation of abscisic acid in kernels and associated cob tissue of *Zea Mays* L. cultured in vitro. *Plant Physiology* 91: 101-105.

- Hong T D, H R Ellis (1996)** A Protocol To Determine Seed Storage Behaviour. IPGRI Technical Bulletin No. 1. Engels J M M, J Toll, (eds.) International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- ISTA (2005)** International Rules for Seed Testing. Edit (2005).
- Karssen C M, D L C Brinkhorts-Van Der Swan, A E Breekland, M Koornneef (1983)** Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. *Planta* 157: 158-165.
- Kermode A R (1995)** Regulatory mechanism in the transmission from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. *In: Seed Development and germination*. Galili G, J Kigel (eds) Marcel Dekker Inc. New York. 273-332 p.
- Kobilke H (1989)** Untersuchungen zur Bestandesbegründung von *Purgiernus (Jatropha curcas* L.). Diploma thesis. University Hohenheim, Stuttgart.
- Koornneef M, M L Jorna, D L C Brinkhorst-Van Der Swan, C M Karssen (1982)** The isolation of abscisic acid (ABA) deficient mutants by selection of induced revertants in non-germinating gibberellins sensitive lines of *Arabidopsis thaliana* L. *Theoretical and Applied Genetics*. 61: 385-393.
- Koster K L, A C Leopold (1988)** Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology* 88, 829-832.
- Matthews S, A A Powell (1986)** environmental and physiological constraints on field performance of seeds. *HortScience* 21, (5): 1125-1128.
- McDonald M B (1999)** Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology* 27:177-237.

- Pammenter N W, P Berjak (1999)** A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research* 9, 13-37.
- Pandey D K (1992)** Conductivity testing of seeds. *In: Seed Analysis. Molecular Methods of Plant Analysis.* H.F. Linskens and J.F. Jackson (eds). New Series Vol. 14 Springer-Verlag. London. 273-304 p.
- Perdomo A, J S Burris (1998)** Histochemical, physiological and ultrastructural changes in the maize embryo during artificial drying. *Crop Science* 38: 1236-1244.
- Pritchard H W (2004)** Classification of seed storage types for *ex situ* conservation in relation to temperature and moisture. *In: Ex situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild.* Guerrant E, K Havens, M Maunder (eds). Island Press, Covelo, CA, USA, 2004. 139–161 p.
- Roberts E H (1973)** Predicting the storage life of seed. *Seed Science and Technology* 1, 499-514.
- Singh L B (1968)** *The Mango. Botany, Cultivation, and Utilization.* Press: Leonard Hill London. 438 p.
- Neeta Singh, Anurudh K. Singh and Baldev S. Dhillon (2003)** Effect of ultra-drying on *ex situ* seed conservation. *In: Seed Conservation, Turning Science into practice.* R D Smith, J B Dickie, S H Linington, H W Pritchard, R J Probert (eds) Kew Publishing. 1,046 p.
- Tang S, D M Tekrony, D B Egli, P L Cornelius (1999)** Survival characteristics of corn seed during storage: II. Rate of seed deterioration. *Crop Science* 39: 1400-1406.
- Vertucci CW, J M Farrant (1995)** Acquisition and loss of desiccation tolerance. *In: Seed development and germination.* Kigel J, G Galili (eds). Marcel Dekker Inc. New York pp 237-271.

Walters C W (1998) Understanding the mechanisms and kinetics of seed ageing. *Seed Science Research* 8:223-244.

Walters C, N W Pammenter, P Berjak, J Crane (2001) Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research* 11:135-148.

Rao N K, J Hanson, M E Dulloo, K Ghosh, D Nowell, M Larinde (2007) Manual of seed handling in genebanks. *Handbooks for Genebanks No. 8*. Bioversity International, Rome, Italy.

Ramírez J A, L T Córdova, L O Mendoza, M T L Colinas (2007) El retraso del secado artificial y la calidad fisiológica de la semilla de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30, 443-451.

**CAPITULO II. PERFIL QUÍMICO DE 30 ACCESIONES DE *Jatropha curcas* L.
COLECTADAS EN LA REGIÓN DEL TOTONACAPAN (PUEBLA Y VERACRUZ)
MÉXICO**

Bautista Ramírez Edgardo¹, Córdova Téllez Leobigildo¹, Martínez Herrera Jorge², Molina
Moreno Juan C¹, Cuevas Sánchez Jesús A y Juan Cibrian Tovar^{1,3}

RESUMEN

Las semillas de *J. curcas* presentan altos contenidos de aceite y proteína, lo que la hace una especie potencial en la alimentación humana, animal e industrial, sobre todo para la elaboración de biodiesel. En el presente trabajo se identificaron algunas características químicas proximales y compuestos antinutricionales de colectas de semillas procedentes de la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz). Se realizaron 30 colectas considerando los grupos climáticos Templado húmedo C(f), Templado subhúmedo (A)Cf y Cálido húmedo C(w). Se midió en la harina de la almendra (sin testa) la proteína cruda total, lípidos, cenizas, composición de ácidos grasos y compuestos antinutricionales (Inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y esteres de forbol). La proteína cruda total varió entre 20 y 28 %, el contenido de ácidos grasos totales fluctuó entre 57 y 69 %. Entre los ácidos grasos saturados sobresalen por su concentración el palmítico y el esteárico y entre los insaturados el ácido oleico y el linoléico. La mayoría de las accesiones mostraron valores no detectables o inferiores al rango considerado no tóxico en los compuestos de inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y esteres de forbol. No se detectó un efecto significativo del grupo climático en las variables evaluadas en el año de colecta, pero se detectó suficiente variación entre las colectas lo que

permite seleccionar, evaluar y realizar mejoramiento genético para incrementar el aprovechamiento de esta especie. Se concluye que las colectas evaluadas presentan alta concentración de proteína y lípidos, los que no presentan riesgos de toxicidad y pueden ser usadas para el consumo en la alimentación humana, animal e industrial.

Palabra clave: *Jatropha curcas*, ácidos grasos, proteínas, totonacapan, forbol

**CHAPTER II. CHEMICAL PROFILE OF 30 ACCESSIONS OF *Jatropha curcas* L.
COLLECTED IN THE REGION OF TOTONACAPAN (PUEBLA AND VERACRUZ),
MEXICO**

ABSTRACT

The nuts of *J. curcas* show high contents of oils and proteins, and thus make it a potential species for food sources and industry. In this work, the proximal chemical characteristics and anti-nutritional compounds were identified in collections from Totonacapan (Puebla and Veracruz). Thirty collections were done taking into account the following climatic groups: Template humid C(f), Template sub-humid (A)Cf, and Warm humid C(w). The nut flour (without husk) was measured for: total raw protein, lipids, ash, composition of fatty acids, and anti-nutritional compounds (inhibitors of tripsin, phytates, saponins, and phorbol esters). Total raw protein varied between 20 and 28%, while total fatty acids varied between 57 and 69%. Among the saturated fatty acids, the most outstanding ones were palmitic and estereatic acids, and among the unsaturated acids are oleic and linoleic acids. Most accessions show values that are not detectable or below the range considered as non toxic in anti-nutritional agents. No significant effect was detected from the climatic group, although there were differences among collections, which allows for a genetic improvement for the better use of this species.

Key words: *Jatropha curcas*, fatty acids, proteins, Totonacapan, phorbol

INTRODUCCIÓN

Las semillas de *J. curcas* son una buena fuente de aceite, que puede ser utilizado como sustituto del diesel, gracias a sus propiedades físico-químicas (Makkar *et al.*, 1997), pero su uso se ha limitado a la fabricación de medicamentos, cosméticos y jabón en varios países tropicales (Heller, 1996). Makkar *et al.*, (1997) señalan que la composición química de las semillas de *J. curcas*, procedentes de diferentes países presentan variación en los contenidos de proteína cruda (19-31 %), lípidos (43-59%), fibra cruda (3.5-6.1 %) y cenizas (3.4-5.0 %). No obstante, debido a la toxicidad que presentan algunos ecotipos de Sudamérica, la India, Madagascar (Jogschaap *et al.*, 2007) y México (Martínez, 2006) su uso en la alimentación ha sido restringido. El consumo directo de la semilla de ecotipos tóxicos en humanos provoca mareo, vómito, diarrea y en altas concentraciones hasta la muerte (Becker y Makkar, 1998).

Entre otros limitantes en la utilización de la pasta residual se señalan algunos componentes antinutricionales como los esteres de forbol, identificado como el principal agente tóxico (Makkar *et al.*, 1997), Inhibidores de tripsina (IT) saponinas y fitatos, que requieren tratamiento térmico (tostado) (Makkar, *et al.*, 1998) para su eliminación. El uso de solventes como el etanol al 80 y 92 % o con calor constante de 100, 130 y 160°C con humedad de 67 y 85 % por una hora eliminó la toxicidad de la harina extraída (Makkar y Becker, 1997). Con el mismo procedimiento Gross *et al.*, (1997), observó que la ingesta de la harina destoxificada por ratones y peces no afectó su crecimiento normal. Los estudios realizados a la harina integral de las semillas de *Jatropha curcas* “tóxicas” y “no tóxicas”, han demostrado tener niveles altos de proteína disponible y aceite. El perfil de aminoácidos cubre los requerimientos establecidos por la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1998) excepto en lisina, que sería el aminoácido limitante (Heller, 1996; Makkar *et al.*, 1997; Trabi *et al.*, 1997).

Se han identificado colectas de la región de Veracruz, Quintana Roo y Sierra Norte de Puebla, México con cantidades insignificantes de esteres de forbol, consideradas como “no tóxicas”, pero que contiene niveles similares de inhibidores de tripsina (IT) (Makkar y Becker, 1999; Martínez *et al.*, 2006). Los habitantes de estas regiones consumen las semillas ya sea tostada o en platillos tradicionales como el “pipián. Makkar *et al.*, (1998), estos autores encontraron que las colectas de Quintana Roo, México presentan altos niveles de proteínas, lípidos y ceniza, mientras que el contenido de agentes antinutrientes como los IT varían en no detectables hasta 28.7 mg/g, fitatos (8 a 10 %), saponinas (1.8 a 2.3 %), y no se detectaron esteres de forbol, considerando a estas colectas menos tóxicas que las procedentes de Veracruz, México.

En el perfil de ácidos grasos presentes en aceite de *J. curcas* destacan el contenido de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2). El promedio de ácidos grasos saturados en el aceite de *Jatropha* varía de 20.8 a 22.7 %, mientras que el correspondiente a los ácidos grasos insaturados fluctúa entre 77.2 y 79.6 % (Benerji *et al.*, 1985; Foild *et al.*, 1996). El hecho de que el aceite de *J. curcas* no pueda ser usado con propósitos nutricionales sin una previa destoxificación, ha dado lugar a su uso preferente como una fuente de energía muy atractiva para la producción de biodiesel (Shah *et al.*, 2005). Para tal fin se tiene que realizar un proceso de trasesterificación que consiste en un intercambio de un grupo alcoxi de un ester por otro alcohol. La extracción del aceite puede ser con hexano (98 % del total), con agua (38 % del total), así como con enzimas que ofrece una alternativa no tóxica a la extracción con disolventes orgánicos, lo cual facilitaría el uso de la pasta residual para el consumo humano y animal (Martínez *et al.*, 2006), por ejemplo, el rendimiento que alcanza empleando una proteasa alcalina es del 86 %, mientras que la extracción con celulasas y hemicelulasas es de 73 % (Wink *et al.*, 1997).

Con el fin de contribuir al conocimiento sobre el aprovechamiento de *J. curcas* tanto a nivel industrial como alimenticio se realizó el presente estudio en el que se identificaron las principales características químico proximal de las semillas procedentes de la la región del Totonacapan (Norte de Puebla y Veracruz), así como el contenido de antinutrientes y compuestos biológicamente activos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de semillas

La colecta se realizó en los estados de Puebla y Veracruz (Cuadro 3.1), en la región del Totonacapan, zona habitada por el grupo étnico de los Totonacos, que de manera tradicional emplean la semilla de *J. curcas* para la elaboración de platillos típicos como pipián, tamales, salsas entre otros.

Determinación de humedad de harina.

Se utilizó la termobalanza (OHAUS, MB 200), en la que se colocaron dos gramos de almendra molida a una temperatura de 95 °C, por 60 minutos, método sugerido por la AOAC (1995) para la determinación de humedad en harinas para el consumo humano.

Análisis químico proximal

La determinación de proteína cruda, lípidos y ceniza fueron determinados de acuerdo al método estándar de la AOAC (1995) descritos a continuación:

Cuadro 3.1. Datos generales de las colectas realizadas en la región del Totonacapan utilizadas en la presente investigación.

Grupo climático	Accesión	Paraje/localidad	Mpio	Estado	Elevación (msmm)	Latitud	Longitud	
C(f)	Chumatlan 1	Rancho las Vegas	Chumatlan	Veracruz	420	20°12'34.5"	97°36'37.5"	
	Ecatlan 1	Ecatlan	Jonotla	Puebla	600	20°03'49.3"	97°33'28.4"	
	Ecatlan 2	Ecatlan	Jonotla	Puebla	610	20°03'30.1"	97°33'51.3"	
	Espinal 1	Espinal	Espinal	Veracruz	150	20°15'30"	97°24'53.1"	
	F. Magón 1	Flores Magón	Tuzamapan	Puebla	430	20°07'03"	95°44'33"	
	Kuwichuchut 1	Kuwichuchut	Huehuetla	Puebla	600	20°05'34.1"	97°58'38.1"	
	Nectepec 1	Nectepec	Cuetzalan	Puebla	730	20°04'16.2"	97°31'12.4"	
	Nectepec 2	Nectepec	Cuetzalan	Puebla	760	20°04'20.4"	97°31'14.6"	
	San Rafael 1	san Rafaél	Huehuetla	Puebla	542	20°04'38.7"	97°38'12.5"	
	Tetelilla 1	Tetelilla	Tuzamapan	Puebla	500	20°08'43"	97°38'0.4"	
	Tetelilla 2	Tetelilla	Tuzamapan	Puebla	489	20°04'49.3"	97°33'02.9"	
	Tuzamapan 1	Tuzamapan	Tuzamapan	Puebla	550	20°03'01"	97°40'38"	
	Tuzamapan 2	Tuzamapan	Tuzamapan	Puebla	545	20°03'54.4"	97°34'39.2"	
(A)Cf	Xonalpu 1	Xonalpu	Huehuetla	Puebla	530	20°06'0.4"	97°38'31.4"	
	Amatlán 1	Amatlán	Zoquiapan	Puebla	148	20°07'41"	97°27'15"	
	El Anayal 1	El Anayal	Espinal	Veracruz	384	20°07'08"	97°50'35"	
	Martínez 1	Martínez de la Torre	Martínez de la Torre	Veracruz	82	20°03'56.22"	97°02'18.52"	
	Martínez 2	Martínez de torre	Martínez de la Torre	Veracruz	191	20°02'12.7"	97°05'44.15"	
	Nanacatepec 1	Nanacatepec	Ayotoxco	Puebla	305	20°06'03"	97°25'08"	
	Nanacatepec 2	Nanacatepec	Ayotoxco	Puebla	305	20°06'03"	97°25'08"	
	Teteyahualco 1	Teteyahualco	Hueytamalco	Puebla	600	19°57'58"	97°16'18.1"	
	Tlapacoyan 1	Tlapacoyan	Tlapacoyan	Veracruz	487	19°57'23.83"	97°17'10.20"	
	Tlapacoyan 2	Tlapacoyan	Tlapacoyan	Veracruz	347	19°58'36"	97°12'30.26"	
	C(w)	Caxhuacan 1	Caxhuacan	Caxhuacan	Puebla	650	20°03'56.1"	97°36'16.7"
		Caxhuacan 2	Caxhuacan	Caxhuacan	Puebla	450	20°03'54.1"	97°36'20.5"
		Papantla 1	Plan de Hidalgo	Papantla	Puebla	800	20°23'57.1"	97°26'34.4"
Papantla 2		San Pablo	Papantla	Veracruz	530	20°27'45"	97°11'25"	
Sastychuchut 1		Sastychuchut	Huehuetla	Puebla		20°05'34.1"	97°58'38.1"	
Zozocolco de Hgo 1		Zozocolco de Gro.	Zozocolco de Hidalgo.	Veracruz	630	20°05'40"	97°40'37.1"	
Zozocolco de Gro. 1		Zozocolco de Hidalgo	Zozocolco de Hgo	Veracruz	560	20°05'41.7"	97°40'38.5"	

Determinación de contenido de grasas

Se pesaron 3 gramos de muestra, las cuales se depositaron en cartuchos soxhlet y se colocaron en el extractor de grasa. En un vaso desgrasado y con peso constante se colocó éter de petróleo para el arrastre de grasa de la muestra durante 4 h. Posterior se realizó la evaporación del exceso de éter con ayuda de una parrilla. La muestra recolectada se colocó en un desecador por una hora para eliminar el restante de éter de petróleo y se determinó el peso del vaso con la muestra. Los resultados son expresados en porcentaje.

Determinación de proteínas. (Método de Kjendahl de la AOAC, 1995)

El principal componente de las proteínas es el nitrógeno (N), la relación entre el nitrógeno proteico ingerido y el perdido se llama balance de nitrógeno. Por lo tanto, esta determinación nos indica que tan grande es el aporte de proteínas que nos daría una muestra. La técnica se llevó a cabo en tres etapas: digestión, destilación y titulación. Para la digestión se utilizó de 0.3 a 0.4 g de muestra, la que se vertió en un matraz de micro-kjendahl, con 1 g de tableta catalítica previamente pulverizada y mediante una parrilla para calentamiento se le adicionó 4 mL de H₂SO₄. El proceso de destilación se realizó con ayuda de la unidad de destilación BÜCHI 323. Para la titulación se retiró el matraz receptor de nitrógeno y se tituló con una solución de HCl 0.1N. Los resultados se expresan en porcentaje de proteína con base al contenido de nitrógeno.

Determinación de cenizas

Se pesaron con precisión 5g de muestra en un crisol de porcelana, la muestra fue precalcinada con ayuda de un mechero y por último en la mufla (Thermolyne 6000 furnace), cuidando que la temperatura no pasara de 550°C, para evitar que los cloruros se volatizaran, se suspendió el calentamiento cuando las cenizas se presentaron blancas o grises. El proceso

de enfriamiento fue en un desecador por 1 h y se cuantificó el peso final. Los resultados se expresan en porcentaje de cenizas.

Composición de ácidos grasos

El aceite de la semilla se extrajo con éter de petróleo (40-60°C) en una relación de 1:20 (w/v) por 8 h bajo condiciones de agitación a temperatura ambiente. Después de centrifugar, el disolvente fue removido usando nitrógeno gaseoso. Los metil éster se obtuvieron por el método de la AOAC (1995). Los ácidos grasos fueron analizados por cromatografía de gases (GC-14A, Shimadzu, Japón) usando un instrumento con un automuestreador (AOC-20s, Shimadzu, Japón), auto inyector (AOC-20i) y una columna Varian capilar carbowax (50 m × 0.25 mm ID) y un detector de ionización de flama (FID). Temperatura programada de 160°C a 225°C, el gas acarreador es nitrógeno, flujo de 1 mL/min. Una mezcla de metil ésteres fue corrida y los tiempos de retención fueron usados para la identificación de los picos de la muestra. El contenido de ácido grasos se estimó en términos de porcentaje de acuerdo al área total de cada uno de los picos.

Determinación de compuestos antinutricionales e inhibidores de tripsina

Los inhibidores de tripsina se determinaron modificando lo propuesto por Smith *et al.*, (1980). La tripsina se añade en el último paso como sugirieron Liu y Markakis (1989). A las muestras de harina (libres de grasa) se les añadió NaOH 0.01M, se ajustó el pH entre 9.4 y 9.6 con NaOH 1M o HCl 1M, y se centrifugó a 3600 rpm por 15 min. El sobrenadante fue colectado lentamente entre el residuo y la capa de aceite que se encuentra en la superficie, para transferirlo a tubos eppendorf (2 mL). Se centrifugó a 15,000 rpm por 10 min, el nivel de la

absorbancia se midió a 410 nm contra agua destilada. De este valor se calculó la actividad de los Inhibidores de tripsina (IT), en términos de miligramos de tripsina por gramo de muestra.

Determinación de fitatos

Los fitatos presentes en la harina desgrasada de *J. curcas* fueron extraídos con HCl al 3.5 % mediante agitación por 1 h y centrifugación a 3400 rpm por 10 min. La medición del ácido fítico fue de acuerdo al método espectrofotométrico de Vaintraub y Lapteva (1988), los resultados se expresan como porcentaje de ácido fítico.

Determinación de saponinas

Se realizó de acuerdo al método de Hiai *et al.*, (1976) en el que se pesan 0.5 g de muestra desgrasada en tubos falcón de 50 mL, donde se añaden 10 mL de metanol acuoso al 80 % en cada tubo y se mantienen en agitación magnética toda una noche. Posteriormente se someten a centrifugación y se colecta el sobrenadante en tubos de 25 mL de capacidad. A los tubos conteniendo el remanente de la muestra se les agregó de nueva cuenta 5 mL de metanol al 80 % y se centrifugaron a 3800 rpm por 10 min, se colectó el sobrenadante y se repetí este paso dos veces más, hasta obtener un volumen total de 25 mL. Para la preparación de la curva estándar se usó 200 μ l + 50 μ l de metanol acuoso, que es serve de referencia, por tanto se corre a la par de la muestra. Los resultados se expresan como equivalente de diosgenina.

Extracción y cuantificación de esteres de forbol

Se efectuaron de acuerdo al método propuesto por Makkar *et al.*, (1998) que consiste en usar una muestra de 2 g, agregar 20 mL de metanol y con ayuda del ultrarrax se agita

la muestra por 30 segundos, se centrifuga a 3500 rpm con la finalidad de separar el sobrenadante, el cual se deposita en un matraz y se coloca en un rotavapor; para obtener una mayor concentración de la muestra se repite los pasos anteriores, la muestra obtenida se transfiere a un tubo falcon de 15 mL, se le agrega 4 mL de alcohol y 2 mL de tetrahidrofurano, con ayuda del termoblock se concentra la muestra a 2 mL que es centrifugado a 15000 rpm para ser inyectado al HPLC Se utilizó como estándar 12,13-miristato forbol (sigma), el cual presenta un tiempo de retención de 25 min. Los resultados se expresaron como mg g^{-1} muestra equivalente a 12,13-miristato forbol.

Diseño experimental de los tratamientos

El diseño experimental y análisis de la información fue en un completamente al azar, usando dos repeticiones por accesión en cada determinación, considerando a éste el idóneo para la aplicación en laboratorio donde los factores son controlados en amplia media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico proximal

Contenido de Humedad: El contenido de humedad en la harina de las 30 accesiones analizadas varió en 2 %, con un promedio de 4.46 % (Cuadro 3.2), inferior al reportado en harina de soya (7 %) y al requerido por las normas de la FAO(1990) donde sugieren un humedad de 4 a 7 % en harinas de trigo, maíz entre otros. El 23% de las accesiones mostraron un contenido de humedad en la harina superior a 5%, mientras que en un 30 % su contenido de humedad fue inferior a 4 %. El valor promedio de humedad en la harina de las 30 accesiones es similar al reportado por Martínez (2006). El contenido de humedad en semillas con testa y sin moler varió entre 6 y 8 %, lo que sugiere que la transformación de la semilla a harina favoreció la reducción de humedad al exponer los tejidos directamente al medio donde ocurrió la molienda. La reducción de humedad prolonga la conservación de la harina sin afectar sus propiedades, mediante la disminución de reacciones deteriorantes y acción microbiana en consecuencia (Cheftel y Cheftel, 1992). No existen diferencias significativas entre los grupos climáticos (Cuadro 2.3).

Contenido Proteico: Se encontró un promedio de 25.12 % de proteína cruda en las 30 accesiones evaluadas, con una variación de ± 7.77 %. En 6 de las colectas la concentración fluctuó entre 26 y 28 % de proteína total, en 18 entre 24 y 26 %, en 3 accesiones varió entre 22 y 24 % y en otras 3 entre 20 y 22 % de proteína total. Estas observaciones son similares a los reportados por Martínez *et al.*, (2006), quien evaluó semillas procedentes de Veracruz y Morelos. Solo el 10 % de las colectas presentan valores proteicos en el rango de 27 y 30 % que serían similares a los reportados por Makkar *et al.*, (1998) en semillas colectadas en

Quintana Roo. No se encontró un efecto significativo del grupo climático en la expresión de esta variable en el año de colecta (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.2. Perfil químico proximal de la harina de 30 colectas de semilla de *Jatropha curcas* L. de la región del Totonacapan (Puebla-Veracruz).

Grupo climático	Accesión	Humedad harina (%)	Proteína (%)	Aceite (%)	Cenizas (%)
C(f)	Chumatlan 1	3.75bcd	24.79abcde	60.61ijk	4.23a
	Ecatlan 1	4.25abcd	24.20abcde	60.81ij	4.70a
	Ecatlan 2	3.60cd	26.83ab	62.99defghi	4.38a
	Espinal 1	4.70abcd	24.68abcde	64.65cdef	4.86a
	F. Magón 1	5.00abc	26.63ab	62.22defghi	4.42a
	Kuwichuchut 1	5.10ab	24.68abcde	63.69cdefg	4.44a
	Nectepec 1	3.70abc	23.48bcde	64.79bcd	4.26a
	Nectepec 2	3.95abcd	25.07abcd	65.89bc	4.2a
	San Rafael 1	3.40d	21.92cde	65.76bc	4.34a
	Tetelilla 1	4.25abcd	25.40abcd	62.24defghi	5.3a
	Tetelilla 2	5.30a	26.99ab	61.30ghij	4.62a
	Tuzamapan 1	4.90abc	24.23abcde	60.94ij	4.65a
	Tuzamapan 2	4.60abcd	24.51abcde	60.55ijkl	4.65a
	Xonalpu 1	5.25a	20.47e	67.24ab	5.13a
	(A)Cf	Amatlán 1	4.15abcd	24.51abcde	61.63fghij
El Anayal 1		4.10abcd	24.87abcd	61.32ghij	4.01a
Martínez 1		3.35d	25.65abc	63.57cdefgh	4.35a
Martínez 2		3.90abcd	27.00ab	57.02m	4.65a
Nanacatepec 1		4.40abcd	24.18abcde	63.03defghi	4.14a
Nanacatepec 2		4.25abcd	23.52abcd	61.18hij	4.25a
Teteyahualco 1		4.20abcd	26.82ab	59.12jklm	4.15a
Tlapacoyan 1		5.10ab	26.17abc	60.83ij	4.15a
Tlapacoyan 2		5.35a	27.63ab	58.00 lm	4.98a
C(w)	Caxhuacan 1	4.15abcd	25.36abcd	60.51ijkl	4.37a
	Caxhuacan 2	5.25a	26.88ab	59.24jklm	4.61a
	Papantla 1	3.35d	24.52abcde	64.11cdef	4.64a
	Papantla 2	4.8abcd	28.24a	58.06klm	4.69a
	Sastychuchut 1	4.30abcd	21.27de	69.14a	4.21a
	Zozocolco de Hgo 1	3.35d	24.77abcde	61.08hij	4.33a
	Zozocolco de Gro. 1	3.90abcd	24.61abcde	62.15efghi	4.39a

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

Contenido total de ácidos grasos. El contenido de ácidos grasos totales en la harina de las colectas evaluadas varía entre 57 y 69 %, con un promedio de 61.67 % (Cuadro 3.2). Seis de las colectas presentaron en su harina un contenido de ácidos grasos totales entre 57 y 60 %, 14 accesiones entre 60 y 63 %, 8 accesiones fluctuaron entre 63 y 66 % y solo 2 entre 66 y 69 %. Makkar *et al.*, (1998) reportaron valores entre 52 y 62 % en harina de muestras procedentes de Quintana Roo. Los valores obtenidos en el presente estudio superan esos valores, ya que 14 de las muestras evaluadas supera el 62 % y ninguna mostró valores inferiores a 57 %. Esta diferencia posiblemente se debe a que los valores de proteína total reportada por estos autores son superiores a los encontrados en el presente estudio y existe una correlación negativa entre contenido proteico y ácidos grasos. Los resultados también concuerdan con los obtenidos por Martínez (2006) en colectas de Veracruz (55 y 58 %), y solo en dos accesiones fueron similares a los resultados de Aderibigbe *et al.*, (1997) (>57%) quien evaluó semillas procedentes de Cabo Verde y Nicaragua sin observar diferencia significativa en estas dos accesiones (58 % de ácidos grasos en almendra). Al igual que en las variables anteriores, no se observó diferencia significativa por el grupo climático (Cuadro 3.3).

Contenido de cenizas. De las variables del análisis químico proximal esta es la que no mostró diferencias significativas, con una variación de entre 3 y 5 % entre las muestras y un promedio de 4.49 % (Cuadro 3.2). Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los reportados por Makkar *et al.*, (1997) quienes reportan valores de entre 3 y 5% de cenizas en semillas de *Jatropha curcas* L. colectadas en Quintana Roo. El contenido de cenizas es una variable poco influenciada por el genotipo y ambiente en esta especie (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Comparación de medias del contenido proteico, grasas totales y cenizas de los tres grupos climáticos de recolecta de la región del Totonacapan (Puebla-Veracruz).

Grupo climático	Humedad harina	Proteína	Aceites totales	Cenizas
C(f)	4.48a	24.39a	62.85a	4.66a
(A)Cf	4.46a	25.88a	60.14a	4.35a
C(w)	4.16a	25.09a	62.04a	4.46a

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

Composición de ácidos grasos:

Ácidos grasos saturados: Se detectó la presencia del ácido caprílico $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_6 \text{COOH}$, ácido cáprico $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8 \text{COOH}$, ácido mirístico $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$, ácido palmítico $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$ y ácido esteárico $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{16} \text{COOH}$ (Cuadro 3.4). Los tres primeros se encontraron en concentraciones relativamente bajas y en los dos primeros en varias accesiones no fue posible detectar su presencia con la técnica utilizada. El ácido caprílico se detectó en 18 de las colectas con una variación entre 0.20 y 1.29 % y con un promedio de 0.63 %; en el mismo sentido, el ácido cáprico se detectó en 12 de las colectas con valores entre 0.11 y 3.93% y un promedio de 1.44 %; por otro lado, el ácido mirístico se encontró en todas las colectas con una variación entre 0.20 y 1.40 % y un promedio de 0.50 %. Por el contrario el ácido palmítico y esteárico se encontraron en concentraciones relativamente altas, que para el caso del palmítico fluctuó entre 13.73 y 26.81, con un promedio de 21.50%, mientras que para esteárico varió de 2.66 a 24.18 % con un promedio de 12.11 %.

Cuadro 3.4. Perfil de ácidos grasos saturados (%) de las 30 accesiones colectadas en el Totonacapan (Puebla y Veracruz)

Ácidos grasos saturados							
Grupo climático	Accesión	ácido caprílico	ácido cáprico	ácido mirístico	ácido palmítico	ácido esteárico	
C(f)	Chumatlan 1	0.29de		1.01bc	23.72abcdef	18.63abcd	
	Ecatlan 1			1.1bc	24.18abcdef	20.54ab	
	Ecatlan 2	1.09ab		0.2efg	24.61abcde	22.31a	
	Espinal 1	0.2de	0.13de	0.19fg	19.21cdefghi	7.41efg	
	F. Magón 1	1.14a		0.5d	25.08abcd	24.08a	
	Kuwichuchut 1	0.37d		0.48de	18.37efghi	9.33efg	
	Nectepec 1		2.74abc	1.4a	22.53abcdefg	25.54a	
	Nectepec 2	1.21a		0.28defg	25.68abc	11.56def	
	San Rafael 1	0.15de		0.28defg	20.56abcdefg	6.37efg	
	Tetelilla 1	0.31de		0.29defg	20.57abcdefg	4.44fg	
	Tetelilla 2	1.11a		0.36defg	23.8abcdef	3.55fg	
	Tuzamapan 1	0.74bc	3.3ab	0.3defg	19.7bcdefghi	8.98efg	
	Tuzamapan 2		1.03cde	0.29defg	18.33fghi	6.31efg	
	Xonalpu 1		0.95de	0.52d	26.27ab	9.76efg	
	(A)Cf	Amatlán 1		1.43cde	0.97c	18.95defghi	20.91ab
El Anayal 1		0.36d	0.37de	0.3defg	18.63defghi	2.66g	
Martínez 1		0.73c		0.27defg	20.47abcdefgh	8.25efg	
Martínez 2		0.21de	0.11e	0.27defg	17.61fghi	7.1efg	
Nanacatepec 1				0.45def	13.81hi	8.62efg	
Nanacatepec 2		0.44cd		0.29defg	21.94abcdefg	10.91defg	
Teteyahualco 1			1.03cde	1.13abc	18.97defghi	24.18a	
Tlapacoyan 1				0.29defg	26.81a	10.88defg	
Tlapacoyan 2				0.27defg	23.31abcdef	13.39bcde	
C(w)		Caxhuacan 1	0.21de	0.41de	0.29defg	24.28abcdef	9.94efg
		Caxhuacan 2			1.29ba	22.7abcdefg	20.15abc
		Papantla 1	1.25a	1.87bcd	0.28defg	26.3ab	11.76cdef
		Papantla 2	1.29a		1.28ba	26.53a	11.97cdef
		Sastychuchut 1		3.93a	0.21efg	22.01abcdefg	13.01bcde
		Zozocolco de Hgo 1	0.36d		0.16g	16.54ghi	5.48efg
	Zozocolco de Gro. 1			0.19fg	13.73i	5.39efg	

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05)

Ácidos grasos insaturados: Se detectó la presencia del ácido palmitoleico (omega-7 monoinsaturado) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$, Ácido oleico (omega-9 monoinsaturado) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$, ácido linoleico (Omega-6 poliinsaturado) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ y α -ácido linolénico (Omega-3 poliinsaturado) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ (Cuadro 3.5). El ácido palmitoleico se encontró en concentraciones que variaron de 0.53 a 1.97 % con un promedio de 1.37 %, mientras que el ácido linolénico solo se detectó en una de las accesiones. El ácido oleico mostró la mayor concentración con una media de 39.68 % que varió entre 58.86 y 28.82 %, en 15 de las accesiones la concentración de este ácido fluctuó entre 28 y 38 %, en 13 accesiones entre 38 y 48 % y solo en 2 accesiones entre 48 y 58 %. Por otro lado, el ácido linoléico mostró una mayor variación, que va de 1.77 a 42.00 %, con una media de 23.55 %. En 2 de las accesiones la concentración de este ácido fue inferior a 15 %, mientras que en 10 accesiones fluctuó entre 15 y 22% y 10 accesiones entre 22 y 29%, en 6 de accesiones la concentración fue entre 29 y 36% y solo en 2 entre 36 y 43%. Ninguno de estos compuestos se vio afectado por el grupo climático de la región en el año de colecta (Cuadro 3.6)

Los resultados observados en general son similares a los reportados por Banerji *et al.*, (1985); Gübitz *et al.*, (1999); Heller (1996), Nasir *et al.*, (1988), Makkar *et al.*, (1997) en diferentes países. Los valores detectados en estos análisis son similares a los publicados por Martínez (2006); Makkar *et al.*, (1997) y los reportados por Heller (1996). Tales valores sugieren que el aceite de *J. curcas* tiene mayor potencial para la alimentación que su uso industrial.

Cuadro 3.5. Perfil de ácidos grasos insaturados (%) de las 30 accesiones colectadas en el Totonacapan (Puebla y Veracruz)

Ácidos grasos insaturados						
Grupo climático	Accesión	ácido palmitoléico	Ácido oleico	ácido linoléico	ácido linolénico	
C(f)	Chumatlan 1	1.67abc	35.16bcdef	19.31defg		
	Ecatlan 1	1.72abc	33.58cdef	18.67defgh		
	Ecatlan 2	1.78abc	31.92def	18.03defgh		
	Espinal 1	1.19abcde	42.34abcdef	29.23abcdef		
	F. Magón 1	1.83ab	30.21ef	16.79efgh		
	Kuwichuchut 1	1.81abc	32.94cdef	36.5abc		
	Nectepec 1	1.89ab	28.82f	16.75efgh		
	Nectepec 2	0.58de	58.86a	1.77h		
	San Rafael 1	1.18abcde	44.48abcdef	26.89abcdef		
	Tetelilla 1	0.95cde	47.8abcd	25.27bcdef		
	Tetelilla 2	1.4abcd	46.97abcde	22.19cdefg		
	Tuzamapan 1	1.41abcd	47.34abcd	18.02defgh		
	Tuzamapan 2	1.47abc	46.88abcde	25.36bcdef		
	Xonalpu 1	1.58abc	36.81bcdef	23.98cdef		
	(A)Cf	Amatlán 1	1.8abc	35.68bcdef	20.04cdefg	
El Anayal 1		1.06bcde	45.1abcdef	31.3abcdef		
Martínez 1		1.5abc	40.73bcdef	27.75abcdef		
Martínez 2		1.16abcde	41.82bcdef	31.64abcde		
Nanacatepec 1		1.45abc	32.76cdef	42.12ab		
Nanacatepec 2		1.97a	34.97bcdef	29.41abcdef		
Teteyahualco 1		1.15abcde	35.13bcdef	18.08defg		
Tlapacoyan 1		1.13abcde	35.5bcdef	24.62cdef		
Tlapacoyan 2		1.14abcde	38.47bcdef	23.15cdefg		
C(w)		Caxhuacan 1	0.96cde	48.96abc	14.54fgh	
		Caxhuacan 2	1.91ab	32.07def	21.62cdefg	
		Papantla 1	0.53e	50.97ab	6.68gh	
		Papantla 2	1.49abc	41.48bcdef	15.6efgh	
		Sastychuchut 1	1.17abcde	34.82bcdef	24.15cdef	
		Zozocolco de Hgo 1	1.1bcde	41.44bcdef	34.87abcd	
Zozocolco de Gro. 1	1.18abcde	36.68bcdef	42.4a	0.34		

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

Cuadro 3.6. Comparación de medias entre grupos climáticos para el contenido de ácidos grasos colectados en Puebla y Veracruz (región del Totonacapan).

Grupo climático	Ácidos grasos saturados					Ácidos grasos insaturados		
	Ácido caprílico	Ácido caprico	Ácido mirístico	Ácido palmítico	Ácido estearico	Ácido palmitoleico	Ácido oleico	Ácido linoleico
C(f)	0.22a	0.26a	0.41a	20.56a	10.80a	1.44a	37.60a	28.34a
(A)Cf	0.54a	0.67a	0.62a	23.63a	14.20a	1.49a	40.53a	22.84ab
C(w)	0.44a	0.88a	0.53a	21.72a	11.10a	1.19a	40.92a	18.02a

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

Inhibidores de tripsina: La actividad de los IT (mg de tripsina inhibida por gramo de muestra) para la harina desgrasada varió entre 11 y 36 mg g⁻¹, con una media de 28.56 mg g⁻¹ (Cuadro 3.7). En 24 accesiones la concentración fluctuó entre 25 y 35 mg g⁻¹, en 2 accesiones entre 15 y 25 mg g⁻¹, en 3 accesiones la concentración fue inferior a 15 mg g⁻¹ y solo una superó los 35 mg g⁻¹. Los IT interfieren con el funcionamiento normal de las enzimas proteolíticas del páncreas en no rumiantes, provocando una depresión severa del crecimiento (White *et al.*, 1989). Es posible, que el efecto deletéreo sea debido a su interacción con enzimas proteolíticas y una reducción correspondiente en la digestibilidad de las proteínas de la dieta (Hajos *et al.*, 1995). Los IT son termolábiles y pueden ser parcialmente o completamente desnaturalizados cuando se exponen a temperaturas elevadas (Martínez *et al.*, 2006), por ello, aunque estén presentes, no se tiene registro de sus efectos en el consumo de la semilla, particularmente en la región del Totonacapan donde se tienen registros de que las personas la consumen, pero para ello las someten a un proceso de tostado, para poder consumirlas directamente o en la elaboración de platillos. Martínez (2006) observó que, en muestras procedentes de Veracruz y Morelos los IT varían de 33 a 36 mg g⁻¹, valor similar a solamente una accesión observado en este experimento. Makkar *et al.*, (1997) observaron que en muestras procedentes de distintas partes del mundo el valor más bajo detectado fue de 18.4 mg g⁻¹ (procedente de Nigeria) y en el presente estudio se detectaron 3 accesiones que fueron

inferiores a este valor. El promedio de los valores observados, en este estudio son mayores a los reportados por Makkar *et al.*, (1998) en colecta procedentes de Quintana Roo (21.6 mg g⁻¹), lo que sugiere, que las semillas procedentes del Totonacapan son más tóxicas que las procedentes de Quintana Roo.

Fitatos: En el caso de fitatos la variación osciló entre 0.54 y 11.3 % con una media de 6.5 %, pero 8 accesiones presentan entre 9 y 12 %, 10 accesiones entre 6 y 9% , 9 entre 3 y 6 % y solo 3 accesiones mostraron una concentración de éste compuesto inferior a 3 % (Cuadro 3.7). No se detecto efecto del grupo ambiental en esta variable (Cuadro 3.8). Tres de las accesiones (Amatlán, Xonalpu 1 y Tetelilla 1) evaluadas en el presente estudio presentaron valores inferiores a 1.5 % reportado para harina de soya (Aderibigbe *et al.*, 1997). Este mismo autor encontró una variación entre 8.7 y 10.1 % para harina de muestras de *Jatropha curcas* L., rango en el que caen algunas de las accesiones evaluadas en el presente estudio. Los valores de otras colectas coinciden con el rango (7 a 8 %) reportado por Makkar *et al.*, (1997) para semillas de *Jatropha curcas* L procedentes de Veracruz, México. Reddy y Pierson (1994) señalan que el nivel de fitatos presente en harina de *J. curcas* puede disminuir la biodisponibilidad de minerales (especialmente Ca²⁺ y Fe²⁺), también han sido implicados en la disminución de la digestibilidad de la proteína formando complejos, así como la interacción con enzimas tales como tripsina y pepsina. No obstante, recientemente se ha reportado por Fox y Eberl (2002) que hay un gran número de estudios en animales que muestran que el ácido fítico, compuesto de los fitatos, exhibe propiedades anti-neoplásticas en cáncer de mama, hígado, colon, próstata, sarcomas, leucemia y piel, sin embargo los mecanismos de acción aún no han sido descritos.

Saponinas: Este compuesto mostró menor variación, que fluctuó entre 1.93 y 4.76 %, con un promedio de 3.33 %; 9 de las accesiones exhibieron una concentración superior a 4 %, 11 accesiones entre 3 y 4 %, 7 accesiones entre 2 y 3 % y solo 3 accesiones mostraron una concentración inferior a 2 % (Cuadro 3.7). Estos valores de saponinas se encuentran en menor o igual concentración al reportado para harina de soya (4.7 %) reportado por Aderibigbe *et al.*, (1997); asimismo la mayoría de las accesiones mostraron valores inferiores al 3.4 reportado por Makkar *et al.*, (1998) para una mezcla de muestras de semilla cruda comestible de *Jatropha curcas* L. Este mismo autor encontró que los niveles de saponinas no disminuyen fue con el tostado de la semilla. Reddy y Pierson (1994) también reportan que las saponinas no son destruidas por cocción. El efecto de las saponinas de algunas plantas produce efectos adversos mientras que otras confieren beneficios como la disminución del colesterol en la sangre así como incrementar la permeabilidad de la mucosa intestinal (Fenwick *et al.*, 1991; Liener, 1994; Cuadrado *et al.*, 1995).

Esteres de forbol: Solo en 6 accesiones fue posible detectar este compuesto con la técnica utilizada, de las que en cuatro la concentración fluctuó entre 0.05 a 0.06 mg g⁻¹ y en las otras dos entre 0.01 a 0.02 mg g⁻¹ (Cuadro 3.7). No se detecto efecto de los grupos climáticos evaluados (Cuadro 3.8). Los valores detectados son inferiores al reportado (0.11 mg g⁻¹) en una mezcla de semilla comestibles de Veracruz, México reportado por Makkar *et al.*, (1997). El mismo autor, encontró una variación entre 0.15 a 0.2 mg g⁻¹ para varias accesiones analizadas, lo que coincide con los valores de dos de las accesiones en las que se detecto este compuesto; dicho autor también muestra que el tostado no reduce la concentración de dicho compuesto. Los valores más altos encontrados coinciden con lo reportado por Martínez *et al.*, (2006) para colectas de Pueblillo Veracruz y Morelos. Estudios químicos de *J. curcas* han

permitido asumir que el aceite contiene cuatro diferentes esteres de forbol. Debido a su baja abundancia y extrema inestabilidad, la determinación de su estructura sólo ha sido posible para el diester intramolecular 12-deoxi-16-hidroxi-forbol (Martínez *et al.*, 2006).

Cuadro 3.7. Compuestos antinutricionales determinados en harina de almendra de *Jatropha curcas* L. de 30 accesiones de semilla colectas en la región del Totonacapan (Puebla y Veracruz).

Grupo climático	Accesión	Inhibidores de tripsina (mg/g)	Fitatos (%)	Saponinas (%)	Esteres de forbol (mg/g)
(A)Cf	Amatlán 1	31.96abc	1.1lm	3.49abc	ND
	el Anayal 1	30.12abc	8.35abcdef	2.52abc	ND
	Martínez 1	32.47abc	7.05defghi	3.58abc	0.06a
	Martínez 2	11.81e	3.04klm	2.32abc	0.05a
	Nanacatepec 1	32.72abc	5.05ghijk	4.12abc	ND
	Nanacatepec 2	31.21abc	6.41efghij	4.31abc	ND
	Teteyahualco 1	33.04ab	4.24hijkl	2.16bc	ND
	Tlapacoyan 1	27.54bcd	8.49abcde	3.91abc	0.06a
	Tlapacoyan 2	30.7abcd	7.18cdefghi	4.08abc	0.06a
C(f)	Chumatlan 1	31.96abc	10.8ab	4.12abc	ND
	Ecatlan 1	23.31cd	9.25abcde	2.68abc	ND
	Ecatlan 2	20.11de	10.99ab	1.93c	ND
	Espinal 1	31.46abc	9.18abcde	3.87abc	ND
	F. Magón 1	32.28abc	3.13jklm	4.47abc	ND
	Kuwichuchut 1	27.16bcd	7.21cdefghi	2.25abc	ND
	Nectepec 1	28.3abcd	9.83abcd	3.99abc	ND
	Nectepec 2	32.78ab	9.55abcde	3.66abc	ND
	San Rafael 1	11.21e	7.49cdefgh	3.57abc	0.02a
	Tetelilla 1	32.09abc	0.54m	2.37abc	ND
	Tetelilla 2	31.46abc	10.47abc	2.32abc	ND
	Tuzamapan 1	33.16ab	7.82bcdefg	4.4abc	ND
	Tuzamapan 2	13.14e	4.88ghijk	3.62abc	ND
	Xonalpu 1	31.14abc	1.15lm	1.98c	ND
	C(w)	Caxhuacan 1	26.03bcd	4.04ijkl	3.02abc
Caxhuacan 2		27.12bcd	6.93defghi	3.01abc	ND
Papantla 1		30.32abc	3.97ijkl	1.98c	ND
Papantla 2		30.11abc	7.41cdefh	4abc	ND
Sastychuchut 1		32.72abc	11.13a	3.03abc	ND
Zozocolco de Hgo 1		32.53abc	5.16fghijk	4.61ab	ND
Zozocolco de Gro. 1		36.89abc	3.19jklm	4.76a	0.01a

ND = no detectada en la prueba

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

Cuadro 3.8. Comparación de medias de compuestos antinutricionales observados en harina de *Jatropha curcas* L. de tres grupos climáticos del Totonacapan (Puebla y Veracruz).

Grupo climático	Inhibidores de tripsina	Fitatos	Saponinas
C(f)	30.96a	6.03a	3.49a
(A)Cf	28.27a	5.35a	3.23a
C(w)	30.82a	5.98a	3.49a

*Medidas con letras iguales son estadísticamente iguales (*Tukey*, 0.05)

En general la harina de la almendra de la semilla de *Jatropha curcas* L. presentó abundantes niveles de proteína y lípidos comparados con soya, se tiene la presencia de cinco ácidos grasos saturados, en el que sobresale por su abundancia el ácido palmítico; asimismo, se detectó la presencia de ácidos grasos insaturados, entre los que sobresale por su abundancia el ácido oleico y linoleico, demandados por la industria alimenticia. En cuanto a los compuestos antinutricionales, para todos se encontraron valores iguales e inferiores comparados con los encontrados en harina de soya, lo que indica que las accesiones evaluadas no presentan riesgos en su consumo y esto corrobora la razón por la cual es consumida en población la región del Totonacapan, donde fueron colectadas las muestras evaluadas en el presente estudio. Por otro lado, resultó evidente la gran variación presente de los compuestos evaluados entre las colectas, lo que resulta favorable para los programas de selección y mejoramiento genético. Cabe señalar que no se encontró diferencias significativas para todas las variables evaluadas para el grupo climático en el año de colecta.

CONCLUSIONES

1. La harina proveniente de las almendras de las semillas de *J. curcas* de las colectas contiene entre 20 y 28 % de proteína cruda. La mayoría de las accesiones mostraron valores no detectables o inferiores al rango considerado no tóxico en los compuestos de inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y ésteres de forbol; lo que resultan atractivas para el consumo directo en la alimentación animal y humano.
2. La harina de almendra de *J. curcas* de las colectas evaluadas contiene entre 57 y 69 % de ácidos grasos totales. Entre los ácidos grasos saturados sobresalen por su concentración el palmítico y el esteárico y entre los insaturados el ácido oleico y linoléico.
3. Se detectó variación entre las colectas para las variables evaluadas, lo que permite seleccionar, evaluar y realizar mejoramiento genético para incrementar su aprovechamiento en el consumo humano, animal e industrial.

LITERATURA CITADA

- Aderebigbe A O, E L O C Jhonson, S P H Makkar, K Becker, N Foild (1997)** Chemical composition and effect of heat on organic matter and nitrogen degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal Animal Feed Science Technology 67:223-243.
- A.O.A.C. (1995)** Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemist, 15th Ed. Washington D.C.
- Banerji R, A R Chowdhury, G Misra, G Sudarsanam, C S Verma, S G Srivastava (1985)** *Jatropha* seed oils for energy, Biomasa, 8, 277-282.
- Becker K, S P H Makkar (1998)** Effects of phorbol esters in carp (*Cyprinus cario* L.) Veterinary and. Humany Toxicology. 40, 82-86.
- Cheftel J C, H Cheftel (1992)** Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Primera edición. Editorial Acribia S. A. España.
- Cuadrado C, M Múzquiz, L M Robredo, G Ayet, C Burbano (1995)** Determinación de factores antinutritivos termoresistentes en leguminosas. III. Fitatos. Invest. Agraria Prod. y protección veg. 10,157-165.
- Gübitz G M, M Mittelbach, M Trabi (1999)** Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. Biores. Technol. 67, 73-82.
- Gross H, G Foidl, N Foidl (1997)** Detoxification of *J. curcas* press cake and oil and feeding experiments on fish and mice. In: Biofuels and Industrial Products from *Jatropha curcas*. Proceedings from a symposium held in Managua, Nicaragua, February 1997 (eds) Gübitz G.M., Mittelbach M., Trabi M.) Technical University of Graz, Graz, Austria. pp. 179-183.

- Hajos G, E Gelenser, A Pusztai, G Grant, M Sakhri, A S Bardocz (1995)** Biological effects and survival of trypsin inhibitors and agglutinin from soybean in the small intestine of the rat. *Journal Agriculture Food Chemistry* 43, 165-170.
- Heller, Joachim. (1996)** Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.
- Hiai S, H Oura T Nakajima (1976)** Color reaction of some saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Medica* 29, 116-122.
- FAO/WHO (1998)**, Protein quality evaluation *In* Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp 23 Farrel R.E. RNA Methodologies: A laboratory guide for isolation and characterization. Academic Press. 531 p.
- Fenwick G.R., Price K.R., Tsukamoto C. y Okubo K. 1991.** Saponins. *In: Toxic Substances in crop plants* (eds) D`Mello J P, C M Duffus, J H Duffus, La Real Academia de Química. 285-327 p.
- Fox C H, M Eberl (2002).** Phytic acid (IP6), novel broad spectrum anti-neoplastic agent: a systematic review. *Complementary therapies in medicine*, 10, 229-234.
- Jogschaap R E E, W J Corre, W A Brandenburg (2007)** Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Plant Research International. Wageningen UR. 5-23 p.
- Liener I E (1994)** Implications of antinutritional components in soybean foods. *Crit. Rev Food Science and Nutrition*. 34, 31–67.

- Nasir M K A, M G Memon, M U Valhari, M L Khatri, (1988)** Studies on fixed oil of *Jatropha curcas* seeds. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research. 31, 566-568.
- Makkar H P S, K Becker, B Schmook (1998)** Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of México and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. Plant Food for Human Nutrition 52, 31-36.
- Makkar H P S, K Becker, F Sporer, M Wink (1997)** Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. Journal Agriculture Food Chemistry 45, 3152-3127.
- Makkar H P S, K Becker (1999).** Nutritional studies on rats and fish (carp *Cyprinus carpio*) fed diets containing unheated and heated *Jatropha curcas* meal of a non-toxic provenance. Plant Food for Human Nutrition 52,183-192.
- Makkar H PS, K Becker; F Sporer, M Wink (1997)** Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. Journal Agriculture Food Chemistry 45, 3152-3127.
- Martínez H J, Siddhuraju P, Francis G, Dávila O, Becker K (2006)** Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. Food Chemistry 96, 80-89
- Martínez H J (2006)** “El piñón (*Jatropha curcas*) una planta nativa de México con potencial alimentario y agroindustrial”. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. IPN.
- Reddy N R, D M Pierson (1994)** Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. Food Research International 27, 281-290.

- Shah S, A Sharma, N M Gupta (2005)** Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction. *Bioresource Technology* 96, 121-123.
- Trabi M, M G Gubitz, W Steiner, y N Foidl (1997)** Toxicity of *Jatropha curcas* seeds. *In: Biofuels and Industrial Products from Jatropha curcas*. Proceedings from a symposium held in Managua, Nicaragua, February 1997. Gubitz G M, Mittelbach M, Trabi M (eds) Technical University of Graz, Graz, Austria.
- White C E, R D Campbell, G E Combs (1989)** Effect of moisture and processing temperature on activities of trypsin inhibitors and urease in soybeans fed to swine. *In Recent Advances in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Huisman J, T.F.B. Van Der Poel, I.E. Liener (eds). Puduc, Wageningen. 230-234 p.
- Wink K, C Koschmieder, M Sauerwein, F Sporer (1997)** Phorbol esters of *J. curcas* biological activities and potential applications. *In: Biofuels and Industrial Products from Jatropha curcas*. Gubitz G M, Mittelbach M, Trabi M (Eds).160-166 pp.
- Vaintraub I A, N A Lapteva (1988)** Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry*, 175, 227-230.

CONCLUSIONES GENERALES

Las semillas de *J. curcas* con 5 % de humedad y después de un periodo de almacenamiento de 6 meses, en condiciones recomendadas para la conservación de germoplasma (-18°C) no manifiestan reducción en viabilidad y germinación, por lo que se pueden considerar en la categoría de ortodoxas. La longevidad de la semilla de *J. curcas*, referente a viabilidad, germinación y conductividad eléctrica incrementa con humedades de 5%, por tanto es el nivel recomendable para la conservación de la semilla en bancos de germoplasma.

Considerando la polémica generada sobre el uso de *Jatropha curcas* para fines industriales o alimenticios se destacan que, la harina proveniente de las almendras de las colectas contiene entre 20 y 28 % de proteína cruda, 57 a 69 % de ácidos grasos, entre los que sobresalen los insaturados (>70 %) como el oléico y linoleico, además que la mayoría de las accesiones mostraron valores no detectables o inferiores al rango considerado no tóxico en los compuestos de inhibidores de tripsina, fitatos, saponinas y ésteres de forbol; por tanto estas accesiones son idóneas para su uso como alternativa alimenticia tanto en humanos como en animales. Aunado a lo anterior, las colectas evaluadas presentaron variación en las variables evaluadas, lo que permitirá seleccionar, evaluar y realizar trabajos de mejoramiento genético, que contribuya al incremento del aprovechamiento de la especie tanto para fines alimenticios en humanos y animales, así como industria.