

## Análisis químico-morfológico comparativo de accesiones de *Jatropha curcas* L. del estado de Veracruz\*

### Comparative chemical-morphological analysis of accessions of *Jatropha curcas* L. from the state of Veracruz

Blanca Azucena Cruz Rubio<sup>1</sup>, Arturo Pérez-Vázquez<sup>1§</sup>, Eliseo García Pérez<sup>1</sup>, Felipe Gallardo Lopez<sup>1</sup> y Ramón Marcos Soto Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados. Carretera Federal Veracruz-Xalapa, Rancho Tepetates, km 26.5. C. P. 91690. Municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, Veracruz. México. Tel: 01-2 934 9485. Ext. 3001. (blanca.cruz@colpos.mx; parturo@colpos.mx; felipegl@colpos.mx; geliseo@colpos.mx). <sup>2</sup>Especialidad de Botánica, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, km. 35.5, Montecillo, Estado de México, C. P. 56230, México. Teléfono y Fax: 5 9 52 02 47. (msoto@colpos.mx). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: parturo@colpos.mx.

#### Resumen

El biodiesel producido a partir de semillas de *Jatropha curcas* es técnicamente viable, aunque existe poca experiencia a nivel nacional. Se desconoce si existe variación en los contenidos químicos de las semillas dependiendo del sitio de crecimiento (interacción genotipo-ambiente). Por tanto, el objetivo del presente estudio fue comparar la variación en características morfológicas y las variaciones en el contenido de aceite, proteína, esteroides de forbol, índice de acidez, ácido oleico e índice de saponificación, en semillas de *J. curcas* recolectadas en diferentes zonas agroecológicas del estado de Veracruz y su réplica establecida en el Banco de Germoplasma (BG) del Campus Veracruz. Las semillas fueron recolectadas en agosto de 2013. Para los análisis químicos se usaron técnicas aprobadas por la AOAC. Para los análisis estadísticos se usó el programa Statistic versión 7 y Excel 2010. Se encontró una correlación significativa ( $r \leq 1$ ) entre las variables morfológicas de las semillas, particularmente entre la longitud y peso ( $r \leq 0.75$ ); la menor correlación fue entre ancho y largo ( $p \leq 0.36$ ). El análisis de correlación entre el contenido de aceite y peso de semillas no fue significativo ( $p \leq 0.38$ ). El promedio de aceite en Campo y BG fue de  $38.5 \pm 5.8$ , de ácido oleico  $36 \pm 4.2$ , índice de saponificación  $194 \pm 1.7$ , índice de acidez  $7.1 \pm 0.8$ ,

#### Abstract

Biodiesel produced from *Jatropha curcas* is technically feasible, although there is little national experience. It is unknown whether there is variation in chemical content of the seeds depending on the site of growth (genotype-environment interaction). Therefore, the objective of this study was to compare variation in morphological characteristics and variations in oil content, protein, phorbol esters, acidity index, oleic acid and saponification index, in *J. curcas* seed collected at different agroecological zones from the state of Veracruz and its replica established in the Germplasm Bank (BG) from Campus Veracruz. The seeds were collected in August 2013. For chemical analysis, techniques approved by the AOAC were used. For statistical analysis, the Statistic program, version 7 and Excel 2010 were used. A significant correlation ( $r \leq 1$ ) between morphological variables of seeds, particularly between length and weight ( $R \leq 0.75$ ) was found; the lowest correlation was between width and length ( $p \leq 0.36$ ). Correlation analysis between oil content and seed weight was not significant ( $p \leq 0.38$ ). The average oil in field and BG was  $38.5 \pm 5.8$ , oleic acid  $36 \pm 4.2$ , saponification index  $194 \pm 1.7$ , acidity index  $7.10 \pm 0.8$ , protein  $24.3 \pm 3.7$ , phorbol esters  $0.34 \pm 1.04$ . It was concluded that there were

\* Recibido: septiembre de 2015  
Aceptado: enero de 2015

proteína  $24.3 \pm 3.7$ , ésteres de forbol  $0.34 \pm 1.04$ . Se concluye que hubo diferencias significativas para la variable ésteres de forbol en las condiciones de campo y BG, siendo mayores las concentraciones en las semillas de campo.

**Palabras clave:** ésteres de forbol, tóxica y no tóxica, zonas agroecológicas.

## Introducción

*Jatropha curcas* es uno de los cultivos bioenergéticos que ha tomado importancia en la última década, debido a la gran cantidad de aceite que contiene (Makkar y Becker, 1997; Achten *et al.*, 2010); *Jatropha* se considera como el género más primitivo y grande de la familia Euphorbiaceae, que agrupa más de 165 especies. Es un arbusto de tamaño mediano, nativo de casi todas las regiones tropicales. México alberga dos ecotipos de *Jatropha curcas*, uno tóxico y otro no tóxico (Makkar y Becker, 2009). En los estados de Veracruz y Chiapas, se localizan arbustos cultivados en huertos familiares normalmente la variante no tóxica y en cercos vivos la variante tóxica (Makkar y Becker, 2008).

Las plantas de *Jatropha curcas*, toleran temperaturas de 18 a 28 °C, aunque también pueden soportar una ligera escarcha, se le encuentra mayormente desde el nivel del mar hasta los 1 100 msnm, en planicies y colinas; con precipitaciones de 300 a 2300 mm (Ruiz *et al.*, 1999; Henning, 1988; Zamarripa y Díaz, 2008; CATIE, 2008).

El desarrollo de *J. curcas* en suelos muy pobres es deficiente y limitado a diferencia de suelos con bajo o medio contenido de nutrimentos. Sin embargo, su capacidad como retenedora de suelos es promisoría y conviene establecerla en sitios donde se pretenda mejorar la estabilidad del suelo (Valdés-Rodríguez *et al.*, 2011).

Esta planta es considerada tóxica, ya que sus semillas contienen diterpenos, conocidos como ésteres de forbol, que provocan un efecto purgante y algunos otros síntomas como vómito, laxante y diarrea (Makkar *et al.*, 1997). Sólo en México, se han encontrado materiales no tóxicos, cuyas semillas consumidas directamente después de tostarlas o bien en la preparación de platillos tradicionales por los pobladores de la región de Papantla, Veracruz, Querétaro (Makkar *et al.*, 1998). Estudios realizados por Makkar y

significant differences for the variable phorbol esters in field conditions and BG, being higher the concentrations in seeds from field.

**Keywords:** agro-ecological zones, phorbol esters, toxic and non-toxic.

## Introduction

*Jatropha curcas* is one of the bioenergetics crops that has gained importance in the last decade, due to the large amount of oil it contains (Makkar and Becker, 1997; Achten *et al.*, 2010); *Jatropha* is considered the most primitive and large genus of the Euphorbiaceae family, that groups over 165 species. It is a medium-sized shrub, native to most tropical regions. Mexico hosts two ecotypes of *Jatropha curcas*, a toxic and a nontoxic (Makkar and Becker, 2009). In the states of Veracruz and Chiapas, the nontoxic variant is found in home gardens and toxic variant as life fences (Makkar and Becker, 2008).

*Jatropha curcas* tolerate temperatures from 18 to 28 °C, but can also withstand a light frost, it is found mostly from sea level to up to 1 100 masl, in plains and hills; with rainfall of 300 to 2 300 mm (Ruiz *et al.*, 1999; Henning, 1988; Zamarripa and Díaz, 2008; CATIE, 2008).

The development of *J. curcas* in very poor soil is deficient and limited, unlike soils with low or medium nutrient content. However, their capacity as soil retainer is promising and it should be set in places where it is intended to improve soil stability (Valdes-Rodríguez *et al.*, 2011).

This plant is considered toxic because its seeds contain diterpenes, known as phorbol esters, which cause a laxative effect and some other symptoms like vomiting, laxative and diarrhea (Makkar *et al.*, 1997). Only in Mexico, has been found non-toxic materials, whose seeds can be consumed directly after roasting or in the preparation of traditional dishes by the inhabitants of the region of Papantla, Veracruz, Querétaro (Makkar *et al.*, 1998). Studies by Makkar and Becker (1997) showed that the seed has high oil content (60%), and the levels of essential amino acids except lysine, are superior to reference proteins from FAO (Makkar *et al.*, 1997).

Becker (1997), demostraron que la semilla posee un alto contenido de aceite (60%), y los niveles de aminoácidos esenciales excepto para lisina, son superiores a la proteína de referencia de la FAO (Makkar *et al.*, 1997).

El aceite puede ser empleado como biocombustible (Foidl *et al.*, 1996; Openshaw, 2000) y actualmente es tema principal de diversos proyectos de investigación en muchos países (Haas y Mittelbach, 2000). El subproducto más importante de la obtención de aceite es la torta, que se caracteriza por ser rica en proteína, y que podría ser empleada para formular alimentos balanceados para aves, ganado e incluso peces (He *et al.*, 2011). Sin embargo, a la fecha no existen estudios sobre la caracterización química de las semillas de *J. curcas* en función de las diversas accesiones recolectadas en el estado de Veracruz y el efecto de factores edafoclimáticos en los contenidos de ésteres de forbol y de proteína en las semillas.

Este fenómeno ha sido registrado para otras especies en la interacción genotipo-ambiente. El genotipo se define como la constitución hereditaria completa de un organismo (FAO, 2004), el ambiente es la suma total de todas las condiciones externas que afectan el crecimiento y desarrollo de un organismo (Allard, 1964). Por tanto, la interacción genotipo-ambiente se define como: comportamiento relativo diferencial que exhiben los genotipos cuando se les somete a diferentes condiciones ambientales (Márquez, 1976).

Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue comparar química y morfológicamente semillas de diversas accesiones de piñón (*Jatropha curcas*) recolectadas en diferentes zonas agroecológicas del estado de Veracruz, México y su contraparte en el banco de germoplasma.

## Material y métodos

**Material biológico.** Las semillas de *Jatropha curcas* L. fueron recolectadas, en diferentes municipios del estado de Veracruz (campo), durante el mes de agosto de 2013, la accesión 18 pertenece a la localidad de Paso de San Lorenzo; 19 Raya Obscura; 26 Congregación el Tajín; 2 La Mancha; 34 Martínez de la Torre; 42 Paso del Macho; 45 Amatlán de los Reyes; 55 Hueyapan de Ocampo; 57 Acayucan. Los datos de coordenadas geográficas y altitud se muestran en el Cuadro 1. Réplica de estas accesiones fueron plantadas en el Banco de Germoplasma (BG) en el Campus Veracruz, ubicado en las coordenadas 19° 18' latitud norte y de 96° 32' longitud oeste a una altitud de 25 m.

The oil can be used as biofuel (Foidl *et al.*, 1996; Openshaw, 2000) and currently is a topic of several research projects in many countries (Haas and Mittelbach, 2000). The most important byproduct of oil production is bagasse, which is characterized by being rich in protein, and could be used to formulate balanced foods for poultry, cattle and even fish (He *et al.*, 2011). However, to date there are no studies on chemical characterization of *J. curcas* seeds, in function of the various accessions collected in the state of Veracruz and the effect of edaphoclimatic factors on content phorbol esters and protein in seeds.

This phenomenon has been reported for other species in the genotype-environment interaction. The genotype is defined as the complete hereditary constitution of an organism (FAO, 2004) the environment is the sum of all external conditions affecting the growth and development of an organism (Allard, 1964). Therefore, the genotype-environment interaction is defined as: relative differential behavior that genotypes exhibit when subjected to different environmental conditions (Márquez, 1976).

Therefore, the aim of this study was to compare chemically and morphologically seeds from different accessions of Pinion (*Jatropha curcas*) collected in different agroecological zones of the state of Veracruz, Mexico and its counterpart in the genebank.

## Materials and methods

**Biological material.** *Jatropha curcas* L. seeds were collected in different municipalities from the state of Veracruz (campo), during the month of August 2013, the accession 18 belongs to the town of Paso de San Lorenzo; 19 Raya Obscura; 26 Congregation el Tajin; 2 La Mancha; 34 Martínez de la Torre; 42 Paso del Macho; 45 Amatlán de los Reyes; 55 Hueyapan de Ocampo; 57 Acayucan. The data of geographical coordinates and altitude are shown in Table 1. Replication of these accessions were planted in the Germplasm Bank (BG) Campus Veracruz, located at coordinates 19° 18' N and 96° 32' W at an altitude of 25 m.

The climate is type Aw (w) (i) g which corresponds to warm climate with rains in summer and winter, with an annual rainfall of 1 239.5 mm and an average annual temperature of 25 °C, with less than 5% winter precipitation and temperature fluctuation in the range of 5-7 °C. Soil type is sandy clay

El clima es del tipo Aw (w) (i') g que corresponde al clima cálido con lluvias en verano e invierno, con una precipitación media anual de 1 239.5 mm y una temperatura media anual de 25 °C, con menos de 5% de precipitación en invierno y una fluctuación de temperatura en un rango de 5-7 °C el tipo de suelo es franco-arcillo-arenoso (García, 1988). Se recolectaron seis procedencias en clima cálido subhúmedo, tres en clima cálido húmedo y una en templado húmedo, (Cuadro 1). De tal manera que se compararon características químicas y morfológicas de las semillas, tanto de las plantas recolectadas en campo y su réplica presente en el BG del Campus Veracruz.

loam (García, 1988). Six accessions were collected in warm sub humid climate, three in warm humid climate and one in temperate humid climate (Table 1). Chemical and morphological characteristics of seeds were compared from both plants collected in the field and their replicate in BG Campus Veracruz.

### Variables recorded

Morphological. The morphological characteristics of the seeds, which were randomly selected; for this a digital caliper (accuracy 0.01 mm) was used; variables of length,

**Cuadro 1. Datos de localización geográfica de las accesiones recolectadas en el estado de Veracruz.**  
**Table 1. Geographic location of the accessions collected in the state of Veracruz.**

Accesión	Coordenadas geográficas LO - LW	Altitud (m)	Características edafoclimáticas			
			Temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Suelo (textura)	Tipo de Clima
018	21.251-97.563	12	23	2500	FA	Aw2
019	21.391-97.536	30	23	2500	FR	Aw2
026	20.461-97.488	108	26	1100 a 1600	FAL	Aw2
02	19.725-96.433	12	26	1100 a 1300	FAL	Aw2
034	20.272-96.988	95	26	1 900 a 2 100	FAL	Am (f)
042	19.380-96.747	418	26	1100 a 1600	FAR	Aw2
043	18.941-96.841	498	26	1400 a 1600	AR	C(f)
045	18.95-96.955	690	24	1900 a 2600	FAR	Aw2
055	18.1583-95.258	492	28	1 100 a 4 100	AR	Am(f)
057	18.052-95.113	73	28	1400 a 1600	FAL	Am (f)

AR= arcilloso; FAL= franco-arcillo-arenoso; FA= franco-arcilloso; FAR= franco-arenoso; C(f)= clima templado húmedo; Am(f)= clima cálido húmedo; Aw2= clima cálido subhúmedo.

### Variables a registrar

Morfológicas. Se determinaron las características morfológicas de las semillas, las cuales fueron seleccionadas al azar, para lo cual se utilizó un vernier digital (precisión 0.01 mm), donde se evaluaron variables de largo, ancho y grosor de veinte accesiones, con un total de mil semillas, así mismo se evaluó la variable peso para cada una de las semillas mencionadas, esto con la utilización de una balanza analítica.

Análisis químicos. Previo al análisis químico se determinó la humedad de las semillas mediante la técnica AOAC 952.08. Posteriormente se preparó la muestra, para ello se

width and thickness from twenty accessions were evaluated; with a total of one thousand seeds, thus the variable weight was evaluated for each of the seeds mentioned, using an analytical scale.

Chemical analyzes. Prior to chemical analysis, seed moisture was determined by AOAC 952.08 technique. Subsequently the sample was prepared, for this the seeds were ground using an electric mill for grain and vegetable samples, with which the whole seed and testa was ground to make the process easier, subsequently testa is removed, making more efficient oil extraction, since the seed was completely ground. Phorbol ester content was determined

molieron las semillas utilizando un molino eléctrico tipo laboratorio para muestras de granos y vegetales, el cual trituro las semillas con todo y la testa para hacer más sencillo el proceso, posteriormente se separó la testa, esto hizo la extracción del aceite más eficiente, ya que la semilla quedó totalmente molida. Se determinó el contenido de ésteres de forbol mediante la técnica propuesta por Makkar *et al.* (1997), sometida a ciertas modificaciones, usando una columna Lichrosorb C-18 en lugar de una Lichrospher C-18, se utilizó como estándar el 12-miristato-13-acetatoforbol (PMA) a una concentración de 0.5 mg/ml. El contenido de aceite se determinó mediante la técnica de ultrasonido, utilizando hexano como disolvente.

La determinación cuantitativa de proteínas (nitrógeno total) se realizó con el Método Kjeldahl, de acuerdo a la norma REF AOAC 945.18-18. Para la determinación del índice de acidez y porcentaje de ácido oleico se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NMX-F-101-1987; ANIMC, 1987), para alimentos, aceites y grasas vegetales o animales. La determinación de índice de saponificación se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NMX-F-174-S 1981 (ANIMC, 1987). Estos análisis se basaron en las técnicas aprobadas por la Asociación Oficial de Métodos químicos analíticos Association of Official Analytical Chemist Methods, por sus siglas en inglés (AOAC, 1995).

Análisis estadístico. Los datos obtenidos fueron registrados y sometidos a un análisis estadístico con ayuda del programa Statistica versión 7 y Excel 2010. Se utilizó una prueba de Tukey y *t* de Student ( $p \leq 0.05$ ) para encontrar diferencias estadísticas entre accesiones. Se realizaron análisis de correlación para determinar la relación de la concentración de aceite con respecto al contenido de ésteres de forbol y entre variables morfológicas de las semillas.

## Resultados y discusión

Características morfológicas de las semillas. Las semillas recolectadas de las diferentes zonas agroecológicas variaron significativamente entre características morfológicas de las diferentes accesiones, resultados similares se reportan por Ghosh y Singh (2011), en un estudio de semillas de *Jatropha curcas* procedentes de diferentes regiones de la India, con diferentes condiciones agroecológicas y encontraron diferencias significativas entre las diferentes características morfológicas (longitud, ancho y peso). Hubo diferencias

using the technique proposed by Makkar *et al.* (1997), subject to certain modifications, using a Lichrosorb C-18 column instead of a Lichrospher C-18, was used as standard 12-myristate-13-acetatoforbol (PMA) at a concentration of 0.5 mg / ml. Oil content was determined through the ultrasound technique, using hexane as solvent.

Quantitative determination of proteins (total nitrogen) was performed using Kjeldahl method according to standard REF AOAC 945.18-18. For the determination of acidity index and percentage of oleic acid was performed according to the Official Mexican Standard (NMX-F-101-1987; ANIMC, 1987), for food, oils and vegetable or animal fats. Determination of saponification index is performed according to the Official Mexican Standard NMX-F-174-S 1981 (ANIMC, 1987). These analyzes were based on techniques approved by the Association of Official Analytical Chemical Methods (AOAC, 1995).

Statistical analysis. The data was recorded and subjected to statistical analysis using Statistica software version 7 and Excel 2010. Tukey test and Student *t* test ( $p \leq 0.05$ ) was used to find statistical differences between accessions. Correlation analyzes were performed to determine the relationship of oil concentration regarding phorbol esters content and between morphological variables from seeds.

## Results and discussion

Morphological characteristics of the seeds. Seeds collected from different agro-ecological zones differ significantly between morphological characteristics of different accessions, similar results were reported by Ghosh and Singh (2011), in a study of *Jatropha curcas* seeds from different regions of India, with different ecological conditions and found significant differences between different morphological characteristics (length, width and weight). There were highly significant differences between the 45 accessions and 2 from BG and field, regarding to variable seed weight ( $p < 0.0003$ ) with a standard deviation  $\leq 0.1$  and thickness ( $p \leq 0.001$ ) with a standard deviation  $\geq 0.1$ . Significant differences between BG and field, for variable length of seeds ( $p < 0.006$ ) (Table 2 and 3) were found.



altamente significativas entre las accesiones 45 y 2 de BG y campo, respecto a la variable peso de semillas ( $p < 0.0003$ ) con una desviación estándar  $\leq 0.1$  y grosor ( $p \leq 0.001$ ) con una desviación estándar  $\geq 0.1$ . Se encontraron diferencias significativas entre BG y campo, para la variable largo de semillas ( $p < 0.006$ ), (Cuadro 2 y 3).

Estos resultados han sido comparados con los resultados obtenidos por Sotolongo *et al.* (2007). Estos autores señalan que las semillas de *Jatropha* pueden medir como promedio alrededor de 17.41 mm de largo (entre 16-20 mm) y 11.45 mm de ancho (entre 9-11 mm). El peso promedio de la semilla de 0.84 g en la variedad nativa. Estos mismos resultados concuerdan con los reportes de Martínez *et al.* (2010); Makkar *et al.* (1997, 2008); Valdés-Rodríguez *et al.* (2013).

These results were compared with results obtained by Sotolongo *et al.* (2007). These authors point out that *Jatropha* seed can be measured as average around of 17.41 mm long (between 16-20 mm) and 11.45 mm wide (between 9-11 mm). The average seed weight of 0.84 g in native variety. These same results are consistent with reports from Martínez *et al.* (2010); Makkar *et al.* (1997, 2008); Valdes-Rodriguez *et al.* (2013).

Regarding to morphological variables of toxic and nontoxic seeds, significant differences were found between weight ( $p \leq 0.003$ ) with a standard deviation for toxic seeds of 0.65 and non-toxic seeds of 0.63 and width ( $p \leq 0.0001$ ) with a standard deviation of 0.50 for toxic and 0.37 for non-toxic seeds.

**Cuadro 2. Valor promedio del peso, largo, ancho y grosor de semillas de *Jatropha curcas* de accesiones de Banco de Germoplasma.**

**Table 2. Average value of weight, length, width and thickness of *Jatropha curcas* seeds from germplasm bank accessions.**

Accesiones de Banco de Germoplasma				
Accesión	Peso promedio $\pm$ Dst (Valor min- max)	Largo promedio $\pm$ Dst (Valor min- max)	Ancho promedio $\pm$ Dst (Valor min- max)	Grosor promedio $\pm$ Dst (Valor min- max)
18	0.68 $\pm$ 0.06 (0.57-0.93)	18.14 $\pm$ 0.72 (16.10-21.1)	10 $\pm$ 0.44 (8.7-10.7)	8.61 $\pm$ 0.41 (7.91-9.92)
19	0.62 $\pm$ 0.04 (0.52-0.7)	17.40 $\pm$ 0.54 (16.5-19.8)	9.5 $\pm$ 0.42 (8.6-10.34)	8.3 $\pm$ 0.35 (7.2-9.32)
26	0.5 $\pm$ 0.06 (0.49-0.72)	18.04 $\pm$ 0.85 (16.7-20.8)	9.4 $\pm$ 0.45 (8.2-10.6)	8.3 $\pm$ 0.52 (7.07-9.21)
2	0.68 $\pm$ 0.08 (0.41-0.87)	17.53 $\pm$ 1.2 (10.4-19.5)	10.6 $\pm$ 0.35 (9.9-11.5)	9.11 $\pm$ 0.34 (8.42-10.41)
34	0.73 $\pm$ 0.06 (0.56-0.89)	18.6 $\pm$ 0.6 (17.4-19.7)	10.09 $\pm$ 0.38 (9.14-10.9)	9.06 $\pm$ 0.38 (8.21 $\pm$ 10.22)
42	0.64 $\pm$ 0.06 (0.45-0.76)	18.02 $\pm$ 0.72 (16.2-19.3)	9.5 $\pm$ 0.41 (8.75-10.2)	8.71 $\pm$ 0.44 (7.32-9.43)
43	0.59 $\pm$ 0.06 (0.5-0.86)	18.04 $\pm$ 0.76 (17.7-21.7)	9.4 $\pm$ 0.41 (7.9-10.1)	8.3 $\pm$ 0.46 (7.31-9.52)
45	0.78 $\pm$ 0.1 (0.5-1.02)	20.3 $\pm$ 0.94 (17.4-22.1)	10.4 $\pm$ 0.38 (9.6-11.3)	8.9 $\pm$ 0.46 (7.71-10.28)
55	0.71 $\pm$ 0.05 (0.55-0.83)	19.54 $\pm$ 0.78 (17.5-21)	10 $\pm$ 0.37 (9.12-10.7)	8.8 $\pm$ 0.25 (8.15-9.3)
57	0.6 $\pm$ 0.07 (0.51-0.83)	18.3 $\pm$ 0.72 (16.5-20.1)	10.49 $\pm$ 0.46 (9.6-11.4)	8.6 $\pm$ 0.34 (7.7-9.3)

**Cuadro 3. Valor promedio del peso, largo, ancho y grosor de semillas de *Jatropha curcas* de accesiones de Banco de Germoplasma.****Table 3. Average value of weight, length, width and thickness of *Jatropha curcas* seeds from germplasm bank accessions.**

Accesión	Accesiones de campo			
	Peso promedio± dst (valor min- max)	Largo promedio± dst (valor min- max)	Ancho promedio± dst (valor min- max)	Grosor promedio± dst (valor min- max)
18	0.5±0.06 (0.4-0.7)	16.6±0.7 (0.5-0.83)	9.40±0.29 (8.9-10.1)	8.1±0.23 (7.8-8.7)
19	0.63±0.05 (0.45-0.74)	17.42±0.58 (16.04-18.7)	9.9±0.44 (8.7-10.7)	8.5±0.39 (7.4-9.2)
26	0.69±0.06 (0.52-0.81)	18.7±0.63 (17.5-20)	9.7±0.36 (8.9-10.6)	8.7±0.45 (7.5-9.6)
2	0.7±0.06 (0.54-0.87)	18.1±0.62 (16.6-19.6)	10.8±0.37 (9.8-11.3)	9.3±0.38 (8.7-10.5)
34	0.8±0.05 (0.6-0.9)	19.1±0.54 (17.9-20.3)	11.2±0.4 (10.3-12.09)	9.1±0.37 (7.8-9.9)
42	0.52±0.44 (0.4-0.63)	16.9±0.54 (15.9-18.4)	9.2±0.24 (8.7-9.7)	7.9±0.33 (7-8.9)
43	0.6±0.05 (0.51-0.79)	18.9±0.69 (17.4-20.4)	9.4±0.32 (8.6-10.02)	7.9±0.28 (7.4-8.8)
45	0.87±0.11 (0.68-1.5)	20.3±0.81 (19.06-22.2)	10.6±0.48 (9.3-11.5)	9±0.3 (8.4-9.7)
55	0.75±0.06 (0.58-0.9)	19.5±0.85 (17.4-21.2)	10.01±0.46 (9.04-11.1)	8.8±0.25 (8.3-9.5)
57	0.66±0.08 (0.5-0.83)	18.3±0.66 (17.2-19.9)	10.73±0.43 (9.9-11.5)	8.7±0.34 (8-9.3)

Respecto a las variables morfológicas de semillas tóxicas y no tóxicas, se encontraron diferencias significativas entre el peso ( $p \leq 0.003$ ) con una desviación estándar para las semillas tóxicas de 0.65 y las no tóxicas de 0.63 y ancho ( $p \leq 0.0001$ ) con una desviación estándar de 0.5 para las semillas tóxicas y 0.37 para las no tóxicas.

La accesión 45 se ubica a 690 msnm, con un peso de 43.5 g (peso de 50 semillas) mientras que la que se encuentra en BG tuvo un peso de 39.5 g. La diferencia de pesos fue de 4.03 g, lo cual de acuerdo a la prueba de *t* de Student ( $p < 0.05$ ) no fue significativo. Esto indica que no hubo diferencias entre las semillas de condiciones de campo respecto a su contraparte en el BG. Es decir, no se aprecia que exista efecto por el tipo de suelo y la altitud en las características morfológicas de las semillas.

The accession 45 is located at 690 masl, weighing 43.5 g (50 seed weight) while the one in BG had a weight of 39.5 g. The difference in weight was 4.03 g, which according to Student *t* test ( $p < 0.05$ ) was not significant. This indicates that there was no difference between seeds under field conditions and its counterpart in BG. Meaning that apparently there is no effect of soil type and altitude on the morphological characteristics of seeds.

Regarding to morphological variables of toxic and nontoxic seeds, significant differences were found between weight ( $p \leq 0.003$ ) with a standard deviation for toxic seeds of 0.65 and non-toxic seeds of 0.63 and width ( $p \leq 0.0001$ ) with a standard deviation of 0.5 for toxic seeds and 0.37 for non-toxic seeds.

Respecto a las variables morfológicas de semillas tóxicas y no tóxicas, se encontraron diferencias significativas entre el peso ( $p \leq 0.003$ ) con una desviación estándar para las semillas tóxicas de 0.65 y las no tóxicas de 0.63 y ancho ( $p \leq 0.0001$ ) con una desviación estándar de 0.50 para las semillas tóxicas y 0.37 para las no tóxicas.

Correlación de variables morfológicas de semillas. Las correlaciones entre el peso y el largo, ancho y grosor de semillas de *Jatropha curcas* fueron significativas ( $p < 0.05$ ). La correlación más alta y significativa se obtuvo entre largo y el peso de las semillas ( $p \leq 0.75$ ) y la menor correlación fue entre largo y ancho ( $p \leq 0.36$ ), resultados que fueron similares a los datos reportados por Valdés-Rodríguez *et al.* (2013) mencionan que la mayor correlación positiva fue entre el peso y la talla de las semillas en variedades procedentes del estado de Veracruz.

**Cuadro 4. Análisis de correlación entre las variables morfológicas de semillas de *Jatropha curcas* L.**  
**Table 4. Correlation analysis between morphological variables of *Jatropha curcas* L. seeds.**

Variable	Peso	Largo	Ancho	Grosor
Peso	1.00	0.75*	0.65*	0.67*
Largo		1.00	0.36	0.41
Ancho			1.00	0.59
Grosor				1.00

\*todas las correlaciones marcadas son significativas  $p < 0.0500$ ,  $N = 1\ 000$ .

El análisis estadístico de correlación ( $p < 0.05$ ) entre el peso de las semillas y la concentración de aceite no fue significativa ( $p \geq 0.38$ ), dato que concuerda con los resultados reportados por Rao *et al.* (2008), en un estudio realizado para la variabilidad genética de diferentes accesiones de *Jatropha curcas* L. donde se evaluaron características morfológicas de semillas, mostrando que no hubo correlación ( $p < 0.34$ ) entre el peso de las semillas y el contenido de aceite, de acuerdo a la prueba Tukey ( $p < 0.05$ ), al igual que la correlación entre esteres de forbol y la concentración de aceite ( $p \geq 0.4$ ), estos resultados son similares a estudios realizados por Corzo-Valladares *et al.* (2013), los cuales reportan que la concentración de diferentes metabolitos secundarios en *Jatropha curcas* no es significativa en relación al contenido de aceite.

Caracterización química de semillas de *Jatropha curcas*. El contenido de humedad de las semillas osciló entre 7 y 8%, dato que es similar a los reportados por Brittain y Litaladio (2010). El índice de saponificación (IS) para las condiciones de campo y su contraparte BG, se encontró en un intervalo de 192 a 196 mg KOH<sup>-1</sup>g de aceite, mostrando que no hay

Seeds correlation of morphological variables. The correlations between weight and length, width and thickness of *Jatropha curcas* seeds were significant ( $p < 0.05$ ). The highest and significant correlation was obtained between length and weight of seeds ( $p \leq 0.75$ ) and the lowest correlation was between length and width ( $p \leq 0.36$ ), results were similar to data reported by Valdés-Rodríguez *et al.* (2013) mentions that the largest positive correlation was between the weight and size of the seed in varieties from the state of Veracruz.

Statistical analysis of correlation ( $p < 0.05$ ) between seed weight and oil concentration was not significant ( $p \geq 0.38$ ), finding consistent with the results reported by Rao *et al.* (2008), in a study for the genetic variability of different accessions of *Jatropha curcas* L. seed, where morphological characteristics were evaluated, showing that there was no

correlation ( $p < 0.34$ ) between seed weight and oil content, according to Tukey test ( $p < 0.05$ ), as well as the correlation between phorbol esters and oil concentration ( $p \geq 0.4$ ), these results are similar to studies by Corzo-Valladares *et al.* (2013), which reported that the concentration of different secondary metabolites in *Jatropha curcas* is not significant in relation to oil content.

Chemical characterization of *Jatropha curcas*. The moisture content of seeds ranged between 7 and 8%, data that is similar to those reported by Brittain and Litaladio (2010). The saponification index (IS) for field conditions and its counterpart BG, was in a range of 192-196 mg KOH<sup>-1</sup>g oil, showing no significant differences between the two conditions ( $p < 0.05$ ). IS data for *Jatropha curcas* oil are consistent with data reported by Castillo *et al.* (2011). Free fatty acids are allowed in small amounts in the oil, the results are similar to those reported in a chemical study of *Jatropha curcas* oil where the interval for acidity index is from 2 to 20 mg KOH<sup>-1</sup>g oil (Rathbauer *et al.*, 2012; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2012).



diferencias significativas entre las dos condiciones ( $p < 0.05$ ). Los datos reportados de IS para aceite de *Jatropha curcas* coinciden con los datos reportados por Castillo *et al.* (2011). Los ácidos grasos libres están permitidos en cantidades pequeñas en el aceite, los resultados obtenidos son similares a los que se reportan en un estudio químico de aceite de semillas de *Jatropha curcas* donde el intervalo de índice de acidez que se reporta es de 2 a 20 mg KOH<sup>-1</sup> g de aceite (Rathbauer *et al.*, 2012; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2012).

La FAO reporta que para aceites comestibles el IS debe de estar entre 187-198 mg KOH<sup>-1</sup> g de aceite, lo cual nos abre un panorama diferente del uso que hasta la actualidad se le ha estado dando a *Jatropha curcas*, aunque se tiene el inconveniente de que algunas variedades son tóxicas, lo cual hace complicado su consumo. El contenido de aceite para cada una de las accesiones encontrada fue de 31 a 49%, el cual se encuentra dentro de los intervalos reportados por Makkar, Becker, Sporer y Wink (1997), los cuales reportan 43 a 56% de aceite, de acuerdo a los resultados de los análisis estadísticos no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de aceite para las condiciones de BG y Campo ( $p \geq 0.07$ ), (Cuadro 5).

FAO reports that for edible oils the IS must be between 187-198 mg KOH<sup>-1</sup> g oil, which opens up a different picture of the use that until now has been given to *Jatropha curcas*, although it has the disadvantage that some varieties are toxic, which makes their consumption difficult. The oil content for each of the accessions was 31 to 49%, which is within the ranges reported by Makkar Becker, Sporer and Wink (1997), which reported 43 to 56% of oil, according to the results of the statistical analysis no significant differences were found between oil concentrations for BG and field conditions ( $p \geq 0.07$ ), (Table 5).

The concentration of oleic acid in the field and BG accessions ranged between 33 to 42%, data found within the ranges reported by Gubitza *et al.* (1999), who report from 34 to 45%, which is consistent with the results from Castillo *et al.* (2011), similar data are reported by Foidl, Mittelbach *et al.* (1996); Heller (1996) and Nasir *et al.* (1988) from other countries. The correlation analysis shows a negative correlation between total content of oleic acid and temperature of the different agro-ecological conditions. However, there is a tendency that at higher temperature, the higher concentration of oleic acid (Figure 1). The same data is reported on phorbol esters correlation with respect to temperature (Figure 2).

#### Cuadro 5. Comparación de variables químicas de accesiones de BG y campo.

Table 5. Comparison of chemical variables from BG and field accessions.

Accesión	Contenido de aceite (%)		Índice de acidez (mg KOH <sup>-1</sup> g)		Ácido oleico (%)		Proteína (%)		Esteres de forbol (mg <sup>-1</sup> g)	
	BG*	Campo	BG	Campo	BG	Campo	BG	Campo	BG	Campo
18	40.27	40.28	8.4	7.8	42.3	39.48	23.5	22.9	0.415	0.637
19	33.12	37.25	7.8	7.8	39.48	39.48	24.46	23.7	0.474	0.075
26	31.05	36.46	7.8	8.4	39.48	42.3	19.12	24.78	0.168	0.299
2	35.99	36.04	5.8	6.2	29.32	31.58	23.34	19.67	0.553	1.537
34	33.89	39.26	6.7	5.6	33.84	28.2	24.03	25.34	0.649	0.811
42	37.61	34.9	6.9	7.8	34.96	39.48	25.49	29.21	0.094	1.116
43	48.4	46.21	7.8	7.8	39.48	39.48	27.04	21.69	1.4615	2.893
45	43.35	46.43	6.7	6.5	33.84	32.71	25.22	29.55	0.28	0.177
55	47.19	48.72	7.4	6.7	37.22	33.84	27.04	31.59	2.345	2.692
57	32.56	36.54	7.4	7.1	37.22	36.09	24.88	21.85	2.083	2.649

\*que corresponde a Banco de Germoplasma (BG).

La concentración de ácido oleico en las accesiones de campo y BG variaron entre 33 a 42%, datos que se encontraron dentro de los intervalos encontrados por Gubitza *et al.* (1999), quienes reportan de 34 a 45%, dato que coincide con los resultados de Castillo *et al.* (2011), datos similares

Garcés *et al.* (1992) in a study on sunflower oil, mentions that oleic acid concentrations are related with high temperatures. This due to oleyl-CoA desaturase enzyme decreases its activity, causing oleic-linoleic ratio to increase (Garcés *et al.*, 1992). Protein concentration is between 19 and 27%, which

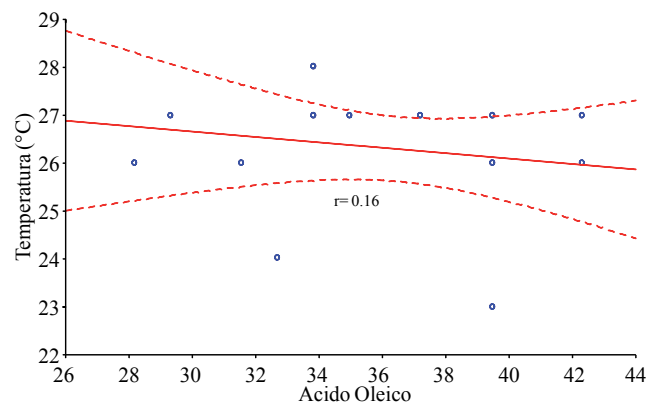
se reportan por Foidl, Mittelbach *et al.* (1996); Heller (1996) y Nasir *et al.* (1988) de otros países. El análisis de correlación muestra una correlación negativa entre el contenido total de ácido oleico y la temperatura de las diferentes condiciones agroecológicas. Sin embargo, se observa una tendencia que a mayor temperatura mayor concentración de ácido oleico (Figura 1). El mismo dato se reporta en la correlación de esteres de forbol con respecto a la temperatura (Figura 2).

Garcés *et al.* (1992), en un estudio acerca del aceite de girasol, menciona que las concentraciones de ácido oleico, están relacionadas con las altas temperaturas. Esto debido a que la enzima oleil-Coa-desaturasa disminuye su actividad, provocando que la relación oleico-linoleico aumente (Garcés *et al.*, 1992). La concentración de proteína encontrado esta entre 19 y 27%, está dentro del intervalo reportado por Marrufo-Marrufo-Estrada *et al.* (2013), quienes realizaron un análisis químico para determinar cantidad de proteína cruda y fibra, donde el contenido de proteína fue de 28%. Para semillas provenientes del estado de Veracruz, se reportan valores similares de porcentaje de proteína (Makkar y Becker, 1997; Martínez *et al.*, 2006; Valdés-Rodríguez *et al.*, 2013). Para municipios como Papantla, Puebla y Veracruz; otros estados como Quintana Roo y Puebla.

La India, Nicaragua, Cabo Verde (Makkar *et al.*, 1998). No hubo diferencias significativas entre las accesiones de BG y Campo, respecto a las variables químicas ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, las desviaciones estándar fueron menores en las procedencias del BG, (esto aplica para todas las variables evaluadas en los análisis químicos) con respecto a las accesiones en Campo. La concentración de esteres de forbol se encontraron de 0-2.8 mg<sup>-1</sup>g, tuvieron una diferencia significativa entre las accesiones de BG y campo ( $p \leq 0.03$ ).

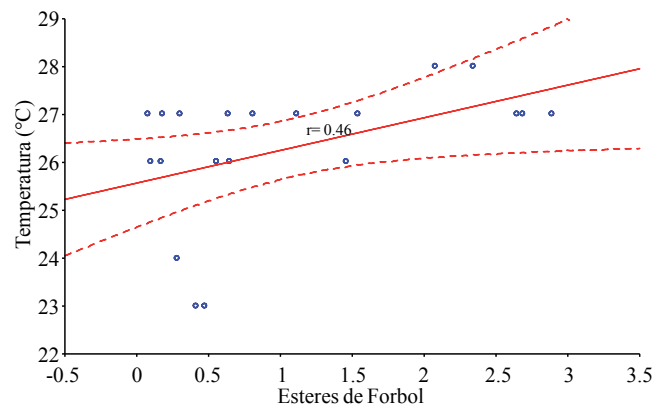
Y una desviación estándar de 0.66 en las accesiones del BG, esto indica que las procedencias del BG contienen menor cantidad de esteres de forbol respecto a las que se encuentran en campo, al compararse los contenidos de esteres de forbol en semillas analizadas por Martínez *et al.* (2010), Makkar y Becker (1997) procedentes de estados de México como Veracruz, las concentraciones de las accesiones analizadas estuvieron dentro de los intervalos reportados por estos autores (0.01 a 0.02 mg<sup>-1</sup>g y 0.87 a 3.32 mg<sup>-1</sup>g) y resultados de otros países como la India, Madagascar, Cabo Verde y Nicaragua (Adolf *et al.*, 1984; 1997; Wink *et al.*, 1997).

is within the range reported by Marrufo-Marrufo-Estrada *et al.* (2013), who carried out a chemical analysis for amount of crude protein and fiber, where protein content was 28%. Similar values on percentage of protein (Martínez *et al.*, 2006; Makkar and Becker, 1997; Valdés-Rodríguez *et al.*, 2013) are reported for seeds from the state of Veracruz. For municipalities like Papantla, Puebla and Veracruz; other states like Quintana Roo and Puebla.



**Figura 1. Correlación de diferentes temperaturas con concentración de ácido oleico.**

**Figure 1. Correlation of different temperatures with oleic acid concentration.**



**Figura 2. Correlación de diferentes temperaturas con concentración de esteres de Forbol.**

**Figure 2. Correlation of different temperatures with phorbol esters concentration.**

India, Nicaragua, Cabo Verde (Makkar *et al.*, 1998). There were no significant differences among accessions of BG and field, regarding to chemical variables ( $p < 0.05$ ). However, standard deviations were lower in accessions from BG, (this applies to all variables evaluated in chemical analysis) regarding accessions from field. Phorbol esters concentrations were 0-2.8 mg<sup>-1</sup>g, having a significant difference between accessions of BG and field ( $p \leq 0.03$ ).

Se encontró que el tipo de clima y de suelo no inciden en las concentraciones de ácido oleico, proteínas, aceite e índice de acidez en las semillas de *Jatropha curcas*, de acuerdo al análisis de varianza ( $p < 0.05$ ).

## Conclusión

Las accesiones de *Jatropha curcas* provenientes de diferentes zonas agroecológicas del estado de Veracruz, mostraron diferencias significativa en cuanto a variables morfológicas, donde la accesión proveniente de Martínez de la Torre mostró diferencias significativas al compararlas con las que se encuentran establecidas en el banco de germoplasma del campus Veracruz, donde estas diferencias pueden estar determinadas por la altitud sobre nivel del mar, el tipo de suelo y la temperatura. Sin embargo, hacen falta estudios acerca de la interacción genotipo-ambiente y caracterizar morfológicamente semillas tóxicas y no tóxicas para corroborar los resultados obtenidos. En relación a las concentraciones de ácidos grasos libres encontrados en el aceite de *Jatropha curcas* una alternativa de uso, podría ser comestible, debido a las concentraciones de ácido oleico y también al índice de saponificación (IS) que presenta, los cuales se encuentran en un intervalo de 192 a 196 mg KOH<sup>-1</sup>g de aceite. Respecto a los resultados de ésteres de forbol encontrados se habrá un panorama de oportunidades de estudios, debido a la importancia citotóxica, antitumoral y antibacteriana que estos tienen, en relación a la salud humana; de la misma manera hacen falta estudios de la interacción genotipo ambiente.

## Literatura citada

- Achten, W. M. J.; Nielsen, L. R.; Aerts, R.; Lengkeek, A. G.; Kjær, E. D.; Trabucco, A.; Hansen, J. K.; Maes, W. H.; Graudal, L.; Akinnifesi, F. K. and Muys, B. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas*: a review. *Biofuels*. 1(1):91-107.
- Adolf, W.; Opferkuch, H. J. and Hecker, E. 1984. Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. *Phytochemistry*. 23:129-132.
- Allard, R. W. and Bradshaw, A. D. 1964. Implication of genotype environment interaction, in applied plant breeding. *Crop Sci*. 4:503-509.
- Brittaine, R. and Litaladio, L. 2010. *Jatropha*: a smallholder bioenergy crop. The potential for pro-poor development. Integrated crop management. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy. 96 p.
- And a standard deviation of 0.66 in BG accessions, this indicates that accessions from BG contain fewer phorbol esters regarding to those found in the field, when comparing phorbol esters contents in seeds analyzed by Martínez *et al.* (2010), Makkar and Becker (1997) from State of Mexico and Veracruz, the concentrations of the analyzed accessions were within the ranges reported by these authors (0.01 to 0.02 mg/g and 0.87 to 3.32 mg/g) and results from other sites like India, Madagascar, Cabo Verde and Nicaragua (Adolf *et al.*, 1984; 1997; Wink *et al.*, 1997).
- It was found that type of climate and soil do not affect the concentrations of oleic acid, protein, oil and acidity index in *Jatropha curcas* seeds, according to analysis of variance ( $p < 0.05$ ).

## Conclusion

The accessions of *Jatropha curcas* from different agroecological zones of the state of Veracruz, showed significant differences in morphological variables, where the accession from Martínez de la Torre showed significant differences when compared with those found in the germplasm bank campus Veracruz, where these differences may be determined by the altitude above sea level, soil type and temperature. However, it requires studies on genotype-environment interaction and to morphologically characterize toxic and nontoxic seeds to corroborate the results obtained. In relation to the concentrations of free fatty acids found in the oil of *Jatropha curcas* an alternative use, it may be edible, due to the concentrations of oleic acid and the saponification index (IS) present, which are in the interval of 192 to 196 mg KOH<sup>-1</sup>g oil. Regarding to the results of phorbol esters found an overview opens studies opportunities due to cytotoxic, antitumor and antibacterial importance that these have in relation to human health; in the same way studies are needed in ambient genotype interaction.

End of the English version



- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. (CATIE). 2008. árboles de centroamérica: un manual para extensionista. Costa Rica. 624 p.
- Corzo-Valladares, P.; Fernández-Cuesta, A. A.; Fernández- Martínez, J. M. and Velasco, L. 2013. Variability of phytosterols in *Jatropha curcas* germoplasm. *J. Am. Chem. Soc.* 90(11):1713-1718.

- Castillo, O. A.; Velásquez, J. J. y Cuartas, Z. P. 2011. Obtención de biodiesel a partir de aceite de *Jatropha curcas* L. por transesterificación etanólica. *Rev. Invest. Aplic.* 5(1):1-8.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2008. Oportunidades y desafíos de la producción de biocombustibles para la seguridad alimentaria y del medio ambiente en América Latina y el Caribe. *In:* 30ª Conferencia Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 14 al 18 de abril, FAO, Brasilia, Brasil. 8 p.
- Foidl, N.; Foidl, G.; Sánchez, M.; Mittelbach, M. and Hackel, S. 1996. *Jatropha curcas* L. as a source for the production of biofuel in Nicaragua. *Bio. Technol.* 58:77-82.
- Garcés, R.; Sarmiento, C. and Mancha, M. 1992. Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Planta* 186:461-465.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 4ª (Ed.). Offset Larios, México.
- Ghosh, L. and Singh, L. 2011. Variation in seed and seedling characters of *Jatropha curcas* L. with varying zones and provenances. *Tropical Ecol.* 52(1):113-122.
- Gubitz, G. M.; Mittelbach, M. and Trabi, M. 1999. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bio. Technol.* 67:73-82.
- Haas, W. and Mittelbach, M. 2000. Detoxification experiments with the seed oil from *Jatropha curcas* L. *Industrial Crops and Products.* 12:111-118.
- He, W.; King, A. J.; Khan, M. A.; Cuevas, J. A.; Ramiaramananana, D. and Graham, I. A. 2011. Analysis of seed phorbol-ester and curcumin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. *Plant Physiol. Biochem.* 49(10):1183-1190.
- Heller, J. 1996. *Physic nut. Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of plant genetics and crop plant- international plant genetic resources institute. Gatersleben, Germany-Rome, Italy. 35-40 pp.
- Henning, R. K. 1998. Use of *Jatropha curcas* L. (JCL): a household perspective and its contribution to rural employment creation. Regional workshop on the potential of *Jatropha curcas* in Rural Development and Environmental Protection. Harare, Zimbabwe. 5 p.
- Márquez, S. F. 1976. El problema de la interacción genético-ambiental en genotecnia vegetal. Universidad Autónoma Chapingo (UACH)- Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Fitotecnia. Ed. Patena, A. C., México D. F. 113 p.
- Makkar, H. P. S.; Aderibidbe, A. O. and Becker, K. 1997. Comparative evaluation of non-toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chem.* 62(2):207-215.
- Makkar, H. P. S.; Becker K.; Sporer, F. and Wink, M. 1997. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *J. Agric. Food Chem.* 45:3152-3157.
- Makkar H. P. S.; Aderibidbe A. O. and Becker K. 1998. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chem.* 62(2): 207-215.
- Makkar, H. P. S. and Becker, K. 2009. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. *J. Lipid Sci. Technol.* 111:773-787.
- Makkar, H. P. S. and Becker, K. 1997. Potential of *Jatropha* seed meal as a protein supplement to livestock feed and constraints to its utilization. Proceedings of *Jatropha: international symposium on biofuel and industrial products from Jatropha curcas* and other tropical oil seed plants. Managua, Nicaragua. 23-27.
- Makkar, H. P.; Martinez, H. J. and Becker, K. 2008. Variations in seed, number of fruit, seed physical parameters and contents of oil, protein and phorbol ester in toxic and non-toxic genotypes of *Jatropha curcas*. *J. Plant Sci.* 3(3):260-265.
- Martínez, H. J.; Martínez, A. A. L.; Makkar, H.; Francis, G. and Becker, K. 2010. Agroclimatic conditions, chemical and nutritional characterization of different provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *Eur. J. Sci. Res.* 39(3):396-407.
- Marrufo-Estrada, D. M.; Segura-Campos, M. R.; Chel-Guerrero, L. A. and Betancur-Ancona, D. A. 2013. Defatted *Jatropha curcas* flour and protein isolate as materials for protein hydrolysates with biological activity. *Food Chem.* 138:77-83.
- NMX-F-101-1987. Alimentos. Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación del índice de acidez. foods. vegetables or animals oils and fats. acidity index determination. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- Nasir, M. K. A.; Memon, G. M.; Valhari, M. U. and Khatri, L. M. 1988. Studies on fixed oil of *Jatropha curcas* seeds. *Pak. J. Sci. Ind. Res.* 31:566-568.
- Openshaw, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biom. Bioenergy.* 19:1-15.
- Rao, G. R.; Korwar, G. R.; Shanker, A. K. and Ramakrishna, Y. S. 2008. Genetic associations, variability and diversity in seed characters, growth, reproductive phenology and yield in *Jatropha curcas* (L.) accessions. *Trees.* 22(5):697-709.
- Ruiz, C. J. A.; Medina, G. G.; González, A. I.; Ortiz, T. C.; Flores, L. H. E.; Martínez, P. R. and Byerly, M. K. F. 1999. Requerimientos agroecológicos de cultivos. INIFAP. CIRPAC. Libro técnico Núm.3. Guadalajara, México. 324.
- Rodríguez-Martínez, C.; Lafargue-Pérez, F.; Sotolongo-Pérez, J. Á.; Rodríguez-Poveda, A. y Chitue de Assuncao Nascimento, J. 2012. Determinación de las propiedades físicas y carga crítica del aceite vegetal *Jatropha curcas* L. *Ingeniería Mecánica.* 15(3):170-175.
- Rathbauer, J.; Sonnleitner, A.; Pirot, R.; Zeller, R. and Bacovsky, D. 2012. Characterisation of *Jatropha curcas* seeds and oil from Mali. *Biom. Bioenergy* 47:201-210.
- Sotolongo, J. A.; Díaz, A.; Montes de Oca, S. y Atala y García, S. 2007. Potencialidades energéticas y medioambientales del árbol *Jatropha curcas* L. en las condiciones edafoclimáticas de la región semiárida de la provincia de Guantamo. *Tecnología Química.* 27(2):76-81.
- Torres, C. 2007. *Jatropha curcas*: desarrollo fisiológico y técnico. *In:* Boletín Cubaenergía. Centro de Gestión de la Información y Desarrollo de la Energía. La Habana, Cuba. 7 p. <<http://www.cubaenergia.cu/>>.
- Valdés, R. O. A.; Sánchez, S. O.; Pérez, A. y Zavala del Ángel, I. 2013. Alometría de semillas de *Jatropha curcas* L. mexicanas. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5:967-978.
- Valdes, R. O. A.; Sánchez, S. O.; Pérez, V. A. and Ruiz, B. R. 2011. Soil texture effects on the development of *Jatropha* seedlings Mexican variety 'piñón manso'. *Biomass and Bioenergy.* 35(8):3529-3536.

Wink, M.; Koschmieder, C.; Sauerwein, M. y Sporer, F. 1997. Phorbol esters of *J. curcas*- biological activities and potential applications. Instituto para la farmacología botánica de la Universidad de Heidelberg, Alemania. 123 p.

Zamarripa, C. y Díaz, P. 2008. Áreas de potencial productivo de piñón *Jatropha curcas* L., como especie de interés bioenergético en México. Proyecto de biocombustibles del INIFAP. INIFAP. 324 p.