



Oleosomas de semillas de *Jatropha curcas* L. como estimadores de diversidad en poblaciones del Sur de México

M.L. Adriano-Anaya, J.A. Gómez-Pérez, S. Ruiz-González,
J.A. Vázquez-Ovando, M. Salvador-Figueroa e I. Ovando-Medina 

Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera a Puerto Madero
Km 2.0, Tapachula, Chiapas. C.P. 30700. Tel. y Fax: +52 (962) 6427972

Corresponding author: isidro.ovando@unach.mx

Submitted: 18 November 2013; Accepted: 17 March 2014

SUMMARY: *Seed oleosomes of Jatropha curcas L. as diversity estimators in populations of Southern Mexico.* In this work, we used oleosome data to estimate the variability in eight *J. curcas* populations of Southern Mexico, using a multivariate approach. We found spherical oleosomes with diameters between 2.18 μm and 4.15 μm , which have two types of spatial arrangements: clustered and dispersed. A discriminant analysis showed that populations with more differentiation are Oaxaca and Veracruz, while Isthmus was the most diverse. The most informative variables for their contribution to the discriminant functions were oleosome size and number of oleosomes $\cdot \mu\text{L}$ of tissue⁻¹. A heritability study with seeds harvested in two consecutive years showed that the variables oleosomes $\cdot \mu\text{L}$ of tissue⁻¹ and oleosomes per cell have high broad sense heritabilities ($h_{\text{bs}}^2=94.3\%$ and $h_{\text{bs}}^2=92.2\%$, respectively). A cluster analysis revealed high levels of dissimilarity between individuals. Correlation was found between the ratio oleosomes/tissue (volume/volume) and total oil content of the seed. The identification of genotypes with contrasting characteristics could provide the basis for future studies of the inheritance of characters in *J. curcas*.

KEYWORDS: *Diversity; Heritability; Jatropha; Oleosomes; Populations; Variability*

RESUMEN: Se estudiaron los caracteres de oleosomas de la planta para biocombustibles *Jatropha curcas* L. y se estimó la diversidad de ocho poblaciones del sur de México. Se encontraron oleosomas esféricos, con diámetros entre 2.18 μm y 4.15 μm , presentando dos tipos de arreglos espaciales: agrupados y dispersos. Un análisis discriminante mostró que las poblaciones más diferenciadas del resto son Oaxaca y Veracruz, mientras que Istmo fue la más diversa. Las variables más informativas por su contribución a las funciones discriminantes fueron tamaño de oleosoma y número de oleosomas $\cdot \mu\text{L}$ de tejido⁻¹. En un estudio de heredabilidad con semillas cosechadas en dos años consecutivos se encontró que las variables oleosomas $\cdot \mu\text{L}$ de tejido⁻¹ y oleosomas por célula tienen muy altas heredabilidades en sentido amplio ($h_{\text{bs}}^2=94.3\%$ y $h_{\text{bs}}^2=92.2\%$, respectivamente). Un análisis de conglomerados reveló altos niveles de disimilitud entre individuos. Los análisis de asociación de variables encontraron correlación entre la relación porcentual oleosomas/tejido (volumen/volumen) y el contenido total de aceite de la semilla.

PALABRAS CLAVE: *Diversidad; Heredabilidad; Jatropha; Oleosomas; Poblaciones; Variabilidad*

Citation/Cómo citar este artículo: Adriano-Anaya ML, Gómez-Pérez JA, Ruiz-González S, Vázquez-Ovando JA, Salvador-Figueroa M, Ovando-Medina I. 2014. Oleosomas de semillas de *Jatropha curcas* L. como estimadores de diversidad en poblaciones del Sur de México. *Grasas Aceites* 65 (3): e031. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.111313>.

Copyright: © 2014 CSIC. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial (by-nc) Spain 3.0 Licence.

1. INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales son productos agroindustriales de importancia para muchos países, debido a que tienen aplicaciones alimentarias, cosméticas, industriales y energéticas (Chiappella, 2008). Su volumen de producción anual oscila alrededor de 179 millones de toneladas, siendo el aceite de soya el más producido (30.8%; FAO, 2011).

Los aceites vegetales son triglicéridos, con una cadena principal de glicerol invariable en su estructura, pero con cadenas laterales de ácidos grasos que varían considerablemente dependiendo de la especie de donde se extraen (Moreno, 1996).

Los lípidos se acumulan sobre todo en semillas y frutos, pero en ocasiones se encuentran también en cantidades importantes en rizomas y otros órganos subterráneos. Con el fin de almacenar dichos triglicéridos, las plantas han desarrollado compartimientos de almacenamiento, que van de 1 a 10 micrómetros de diámetro, conocidas como “cuerpos de aceites”, “oleosomas”, “órganos de lípidos” y “esferosomas” (Moreau *et al.*, 1980; Huang, 1994; Cardinali *et al.*, 2010). Se ha sugerido que los oleosomas surgen por la acumulación de aceite entre los fosfolípidos del retículo endoplasmático rugoso (Beaudoin *et al.*, 1999) aunque también se ha reportado que se forman en el citosol (Dutta *et al.*, 1991).

Los oleosomas en las semillas son en su mayoría de 0.2 a 2.0 μm de diámetro (Taiz y Zeiger, 2006; Kapchie *et al.*, 2008), aunque el tamaño puede variar entre las especies, por ejemplo, en semillas de soya miden entre 0.2 y 0.5 μm de diámetro y en *Cuphea glutinosa* oscila entre 1.6 y 3.5 μm de diámetro (Cardinali *et al.*, 2010). Existen estudios que demuestran que los oleosomas son similares en semillas de canola y maíz (Millichip *et al.*, 1996).

Entre las plantas oleaginosas de origen forestal, *Jatropha curcas* L. tiene un inmenso potencial para la producción de agroenergéticos, ya que el aceite de sus semillas puede ser transformado en biodiesel mediante un proceso de transesterificación (Jongschaap *et al.*, 2007). La semilla de *J. curcas* contiene entre 12% y 44% de aceite no comestible por población y entre 8% y 54% por individuo (Ovando-Medina *et al.*, 2011). El cultivo sustentable de *J. curcas* no interfiere con la producción de alimentos (Ovando-Medina *et al.*, 2009), por lo que es una opción viable en proyectos de energías renovables al ofrecer ventajas adicionales sobre otros cultivos (Kheira y Atta, 2009).

Las especies del género *Jatropha* presentan gran variabilidad morfológica, ya que se ha encontrado que generalmente plantas de la misma zona climática muestran diferencias morfológicas, en la forma y tamaño de las semillas, así como en su contenido de proteínas y lípidos (Martínez *et al.*, 2010; Ovando-Medina *et al.*, 2011).

Existen trabajos que reportan variaciones morfológicas entre accesiones, como la altura de la

planta, el número de ramas, el tamaño de hojas, frutos y semillas (Heller *et al.*, 1996), aunque se reconoce que además de las variaciones en el genotipo, las diferencias se deben al ambiente en que se encuentran las plantas. Los estudios de acumulación de aceite en las células de *J. curcas* se han centrado sobre todo en la variabilidad de las proteínas que forman la membrana de los oleosomas, llamadas oleosinas (Popluechai *et al.*, 2011), mientras que no se ha dado atención a los oleosomas por sí mismos.

A pesar del creciente cuerpo de conocimiento sobre *J. curcas*, son pocos los estudios sobre la diversidad fenotípica y genotípica en poblaciones mesoamericanas, por lo que se requiere evaluar dicho germoplasma, ya que es una especie nativa de Mesoamérica. Dados los antecedentes sobre variabilidad en el contenido y calidad del aceite de la semilla en poblaciones de *J. curcas* del Sur de México (Ovando-Medina *et al.*, 2011), se espera encontrar alta variabilidad en el número, tamaño y morfología de oleosomas en dichas poblaciones, por lo que en el presente trabajo de investigación se evaluó la variabilidad en oleosomas de poblaciones de *J. curcas* del Sur de México.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

Las semillas se colectaron en el Banco de Germoplasma de *Jatropha* del Centro de Biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas, ubicado en el municipio de Tapachula, Chiapas, México (14.4976 N, 92.4774 O, 58 msnm). La temperatura promedio anual del sitio fue de 30.7 °C, la humedad media anual 80%, la lluvia total fue de 2632 mm (estación meteorológica: 769043 MMTP) y el suelo fue de tipo andosol. La recolección se realizó de agosto de 2011 a junio de 2012. Se tomaron 5 semillas de frutos en madurez comercial (color amarillo) de cada accesión, a las cuales se les retiró la testa dejando el endocarpio al descubierto (Tabla 1).

2.2. Análisis histológico de oleosomas

Las semillas se utilizaron para realizar un estudio histológico de oleosomas, siguiendo las técnicas de preparación y corte en micrótopo para especies vegetales de Molist *et al.* (2011), modificando los tiempos en la deshidratación y en la inclusión en parafina, al igual que las concentraciones de colorantes y soluciones utilizadas.

2.3. Fijación e infiltración

El proceso de fijación se realizó con formaldehído - alcohol etílico - ácido acético - agua (FAA en relación de volúmenes 5:3:1:1) por un mínimo de 72 horas y un máximo de una semana. Posteriormente, los tejidos se deshidrataron en una

TABLA 1. Acciones de *Jatropha curcas* L. colectadas en el sur de México y evaluadas en condiciones de jardín común

Sitio de colecta	Clave	Número de acciones	Latitud (Norte)	Longitud (Oeste)	Población
Berriozábal	BERR	1	16°47.562'	93°16.191'	Centro
Cintalapa	CIN	1	16°40.993'	93°42.665'	Centro
Ixtapa	IXT	1	16°47.220'	92°54.618'	Centro
Jiquipilas	JIQ	4	16°40.012'	93°39.242'	Centro
Ocozocoautla	OCZ	1	16°46.243'	93°23.641'	Centro
La Concordia	CCR	2	16°06.663'	92°41.035'	Frailesca
Pujilic	PUJ	5	16°16.430'	92°17.850'	Frailesca
Villa Corzo	VCO	3	16°10.171'	93°16.059'	Frailesca
Venustiano Carranza	VCR	1	16°18.311'	92°19.600'	Frailesca
Villa Flores	VIF	1	16°19.475'	93°20.976'	Frailesca
Villa Las Rosas	VLR	1	16°19.243'	92°20.578'	Frailesca
Ciudad Cuauhtémoc	CDCU	4	15°40.473'	92°00.129'	Frontera
Chicomuselo	CHIC	1	15°44.623'	92°16.722'	Frontera
Comalapa	COM	5	15°39.030'	92°08.170'	Frontera
Rizo de Oro	RIZ	2	17° 57.981'	92°28.824'	Frontera
Guatemala, C.A.	GUA	4	14°36.275'	90°29.083'	Guatemala
Arriaga	ARR	5	16°11.231'	93°54.816'	Istmo
Pijijiapan	PIJ	4	15°55.561'	92°59.842'	Istmo
Tonalá	TON	3	16°03.430'	93°50.782'	Istmo
El Coco	ECO	1	15°43.366'	96°33.971'	Oaxaca
Piedra ancha	PA	2	16°11.238'	97°44.825'	Oaxaca
Pinoteca Nacional	PIN	1	16°19.306'	97°53.564'	Oaxaca
Zimatán	ZIM	1	15°50.564'	96°00.154'	Oaxaca
Cacahoatán	CAC	4	14°59.022'	14°59.433'	Soconusco
Acapetahua	ACA	1	15°10.300'	92°35.100'	Soconusco
Huixtla	HUX	6	15°05.115'	92°29.146'	Soconusco
Mapastepec	MAP	6	15°25.505'	92°53.854'	Soconusco
Puerto Chiapas	PC	4	14°43.742'	92°25.935'	Soconusco
Suchiate	SCH	5	14°40.057'	92°10.071'	Soconusco
Pueblillo	PUE	5	20°15.180'	97°15.210'	Veracruz

serie de soluciones de alcohol etílico de 10, 25, 50, 75 y 96 grados Gay-Lussac. En cada solución se mantuvieron por 8 horas. A continuación, los tejidos se embebieron en xilol, para lo cual se sumergieron en una serie de soluciones de xilol diluido en alcohol etílico a concentraciones de 10%, 25%, 50%, 75% y 100%, con un tiempo de sumersión de 3 horas en cada concentración. Posteriormente se infiltró parafina histológica (Paraplast McKormick®, 2 µm) en los tejidos mediante inmersión por 24 horas a 60 °C.

2.4. Incrustación y cortes

Para realizar los cortes con micrótopo se incrustó la muestra preparada en parafina de tal manera que adquiriera forma de cubo (3 cm×2 cm×1.5 cm).

Se procedió al montaje y corte en un micrótopo de rotación (Microm® HM 315), obteniendo cortes con grosor de 5 µm.

2.5. Montaje, tinción y observación microscópica

Para la observación microscópica de la muestra se montaron los cortes en portaobjetos y se cubrieron con solución de alcohol etílico - acetona (5:3 v/v) para desprender la parafina. Una vez fijada la muestra se procedió a teñir con *p*-fenilendiamina (Sigma-Aldrich®) al 4% durante 45 min, posteriormente se hizo un lavado con alcohol etílico y agua. Se utilizó el colorante Sudan III (Meyer®) durante 6 min para teñir los oleosomas, seguido de un lavado con alcohol etílico y agua. Para obtener contraste

se tiñó con azul de metileno durante 5 min, seguido de un lavado con agua. Para obtener preparaciones permanentes se colocó una gota de bálsamo de Canadá sobre el tejido, se calentó ligeramente a la flama y se colocó un cubreobjetos. Las observaciones al microscopio se hicieron con 1000 aumentos y se tomaron microfotografías de campos visuales de 0.005 mm² de área, utilizando el analizador de imágenes AxioVisionLE© (Carl Zeiss®) acoplado a un microscopio Axiolab® (Carl Zeiss®).

2.6. Análisis de heredabilidad

Para conocer el grado de heredabilidad de caracteres de los oleosomas, se seleccionaron semillas almacenadas (colectadas en 2010) de 20 accesiones al azar, las cuales se sometieron al mismo proceso de preparación, corte y observación microscópica. Los datos obtenidos se compararon con los datos de las semillas colectadas en 2011.

2.7. Análisis de datos

A partir de las microfotografías se registraron las variables: número de oleosomas por célula, tamaño medio de oleosomas y tipo de arreglo de los oleosomas. Por otra parte, se usaron los datos de área del campo visual microscópico (0.005 mm²) y el grosor de los cortes de tejidos (5 µm) para calcular el volumen estudiado (2.5×10⁻⁵ mm³ ó µL) y con ello estimar el número de oleosomas·µL de tejido⁻¹, número de células·µL de tejido⁻¹. Además, considerando a los oleosomas como esferas perfectas, se usaron los radios promedio para estimar el volumen ($V = 4/3\pi r^3$) de oleosomas. Este dato se multiplicó por el número de oleosomas·µL de tejido⁻¹ para obtener la relación oleosomas/tejido (V/V). Los datos fueron vertidos en una matriz del programa Excel©, se obtuvieron las estadísticas descriptivas y se realizó una prueba de normalidad de Anderson-Darling (α 0.05).

Se transformaron los datos con base en una escala de 1 a 15, utilizando los rangos de clase calculados a partir de los datos crudos. Los datos fueron procesados mediante análisis multivariado discriminante por población, en el cual se colocaron los caracteres tomados para el estudio y se agruparon en poblaciones. Para visualizar las relaciones entre los individuos se realizó un análisis de conglomerados empleando distancias de Manhattan y el método de agrupación de Ward. En ambos análisis se siguieron dos vías, en la primera se utilizaron todas las poblaciones y en la segunda solo las poblaciones pertenecientes a Chiapas.

Utilizando los datos crudos, se realizaron análisis de varianza para conocer las diferencias en las variables más importantes entre individuos y entre poblaciones. Con los datos de contenido de aceite reportados por Ovando-Medina *et al.* (2011) para

las mismas accesiones, se realizó un análisis de correlación (Pearson α 0.05) entre esa variable y los datos de oleosomas. Para todos los análisis anteriores se utilizó el programa XLStat© versión 2012.

Para el estudio de heredabilidad se arreglaron los datos en forma de multi-temporada con multigenotipos y se analizó la variación genotípica, fenotípica y la heredabilidad en sentido amplio (h_{bs}^2), utilizando el programa PBStat© versión 1.2 (Bayuardi-Suwarno *et al.*, 2008).

3. RESULTADOS

3.1. Variación en el tamaño, número y arreglo de oleosomas

En el estudio se observó la presencia de oleosomas esféricos, con tamaños que oscilaron entre 2.18 µm y 4.15 µm de diámetro. Los datos siguieron una distribución normal (prueba de Anderson-Darling $A^2=0.641$, $p=0.091$), siendo el rango de tamaños de 2.784 µm a 2.984 µm el más frecuente (Figura 1).

En los análisis de contribución a la varianza total mostró que las variables oleosomas por célula y tamaño de oleosoma fueron las más informativas en los factores 1 y 2, respectivamente. El análisis de varianza por individuo mostró que la accesión MAP-6 tiene el mayor número de oleosomas por célula (22.01), siendo estadísticamente distinta y superior al resto de las 85 accesiones (Tabla 2, Figura 2a). Por su parte, la accesión ARR-7 (9.17, Figura 2b), y ARR-11 (9.36, Figura 2c) presentaron el menor número de oleosomas por célula (Tabla 2). La accesión con oleosomas más grandes (4.15 µm) fue PIJ-2 (Tabla 2, Figura 2d), mientras que las accesiones HUX-7 (2.1 µm, Figura 2e) y ECO-6 (2.2 µm, Figura 2f) tienen los oleosomas más pequeños (Tabla 2).

En el estudio por población, el análisis estadístico mostró que *J. curcas* de Veracruz cuenta con los oleosomas de mayor tamaño (3.31±0.14 µm) y la población Oaxaca tiene los oleosomas más pequeños (2.48±0.22 µm). Por otra parte, la población Soconusco tiene el mayor número de oleosomas por célula (15.98±2.92), mientras que la población que cuenta con el menor número de oleosomas por célula (13.18±1.06) es Frailesca. Se encontró que la población Oaxaca tuvo menor número de células·µL de tejido⁻¹ (4.733×10⁵) que el resto de poblaciones. Respecto al número de oleosomas·µL de tejido⁻¹, la población Soconusco (8.355×10⁶) fue estadísticamente superior a las demás poblaciones (Tabla 3).

Los oleosomas se presentaron en dos tipos de arreglo espacial: dispersos y agrupados (Figura 3). De un total de 85 genotipos estudiados, 44 presentaron oleosomas con arreglo agrupado, mientras que los 41 restantes tienen arreglo disperso. Las accesiones de las poblaciones Soconusco, Oaxaca y Veracruz presentaron oleosomas con arreglo exclusivamente

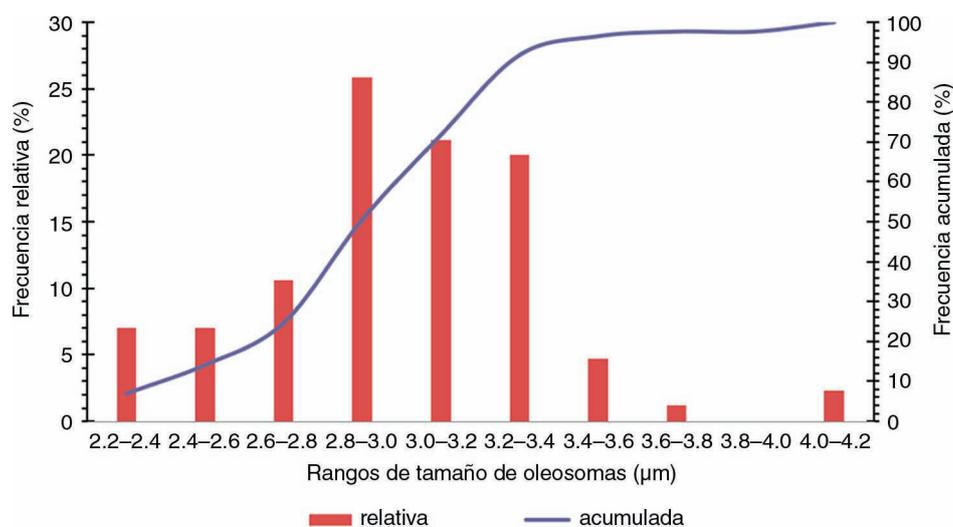


FIGURA 1. Distribución de rangos de diámetros de oleosomas de semillas de 85 accesiones de *Jatropha curcas* L. del sur de México.

agrupado, los individuos de la población Centro presentaron solo arreglo disperso y en las poblaciones Istmo, Frailesca, Frontera y Guatemala no se encontró un patrón único de arreglo de los oleosomas.

3.2. Análisis discriminante de accesiones basado en oleosomas

Para el primer análisis se utilizaron todos los genotipos de *J. curcas* del Sur de México, mediante el cual se encontró que el componente principal 1 (F1), que es el más importante, explicó 57.65% de la variación total y la variable que más contribuyó al F1 fue el tamaño de oleosomas. El componente principal 2 (F2) explicó 34.35% de la varianza, siendo oleosomas- μL de tejido⁻¹ la variable que más aportó a este factor.

En la Figura 4, se muestra el patrón de agrupación de las accesiones de 8 poblaciones, de acuerdo al F1 y F2, los cuales explican en conjunto el 92% de la varianza. Se observa que las accesiones que pertenecen a las poblaciones de Oaxaca y Veracruz se agrupan hacia el F1, mientras que las accesiones que pertenecen a las poblaciones de Soconusco e Istmo se agrupan en el F2. Para visualizar la relación entre poblaciones, se graficaron los centroides, los cuales se muestran en la Figura 5. Se observa como la población de Oaxaca se separa claramente del resto de poblaciones, y en menor medida, Soconusco y Veracruz, mientras que el resto tienen centroides traslapados. Además se puede observar que la población Istmo es la más diversa.

El segundo análisis discriminante estudió exclusivamente las accesiones del Estado de Chiapas, debido a que en dicho lugar existe mayor extensión de cultivo tradicional de *J. curcas*. En el análisis,

el componente principal 1 (F1a), que es el más importante, explicó 61.13% de la variación total y la variable que más aportó a la varianza del F1a fue oleosomas por célula. El componente principal 2 (F2a) explicó 35.19% de la variación, siendo la variable tamaño de oleosoma la más informativa. Se observa que las accesiones que pertenecen a la población de Soconusco e Istmo se agrupan hacia el F1a, mientras que las accesiones de la población Frailesca y Frontera se agrupan en el F2a (Figura 6). Para visualizar la relación entre poblaciones, se graficaron los centroides, los cuales se muestran en la Figura 7, donde se observa que la población Soconusco se separa, mientras que el resto tienen centroides traslapados. Se observa que la población Istmo es la más diversa.

3.3. Análisis de conglomerados basado en oleosomas

Se realizaron dos análisis de clasificación ascendente jerárquica, en el primer análisis se emplearon 85 accesiones del Sur de México, dando como resultado la formación de nueve grupos (considerando la línea de formación de grupos a una disimilitud de 8%; Figura 8). El porcentaje de variación dentro de los grupos fue de 35.03%, mientras que entre grupos fue de 64.97%, es decir la varianza entre los grupos es mayor. Existe un grupo de cinco accesiones (MAP-8, MAP-7, MAP-6, PIJ-5 y HUX-7), todas pertenecientes a la población Soconusco, estas se separan del resto de los individuos formando un grupo con 19% de disimilitud con respecto a las demás accesiones. En el resto de grupos no se observó correlación con su origen geográfico.

El segundo análisis se realizó con 71 genotipos, los cuales pertenecen a Chiapas, en este se observa la formación de 14 grupos, considerando la línea de

TABLA 2. Comparación de número y tamaño de oleosomas de 85 accesiones de *Jatropha curcas* L. del Sur de México

Población	Accesión	Tamaño de oleosomas	Oleosomas por células	Población	Accesión	Tamaño de oleosomas	Oleosomas por células
Centro	BERR-2	2.97cdefghi	10.28qrs	Istmo	PIJ-3	3.238abcdeefghi	15.188cdefghijklmnopqr
Centro	CIN-1	3.05bcdefghi	10.964opqrs	Istmo	PIJ-5	2.272ghi	18.45abcdeefgh
Centro	IXT-1	3.052bcdefghi	14.836defghijklmnopqr	Istmo	PIJ-6	2.814cdefghi	14.092efghijklmnopqrs
Centro	JIQ-1	2.672cdefghi	14.336defghijklmnopqrs	Istmo	TON-2	2.39fghi	13.208ijklmnopqrs
Centro	JIQ-2	3.336abcdeefg	14.302efghijklmnopqrs	Istmo	TON-5	2.54cdefghi	15.2cdefghijklmnopqr
Centro	JIQ-4	2.916cdefghi	15.032cdefghijklmnopqr	Istmo	TON-6	3.002cdefghi	14.868cdefghijklmnopqr
Centro	JIQ-5	2.42efghi	11.702klmnopqrs	Oaxaca	ECO-6	2.212i	14.942cdefghijklmnopqr
Centro	OCZ-1	2.726cdefghi	16.384cdefghijklm	Oaxaca	PA-2	2.784cdefghi	12.924ijklmnopqrs
Frailasca	CCR-3	3.388abcdeef	13.886efghijklmnopqrs	Oaxaca	PA-3	2.632cdefghi	17.168abcdeefghi
Frailasca	CCR-5	3.5abcd	13.682ghijklmnopqrs	Oaxaca	PIN-1	2.346fghi	13.878efghijklmnopqrs
Frailasca	PUJ-2	3.28abcdeefgh	13.912efghijklmnopqrs	Oaxaca	ZIM-1	2.4479defghi	16.996abcdeefghij
Frailasca	PUJ-3	3.086bcdeefghi	13.36hijklmnopqrs	Soconusco	ACA-5	3.372abcdeef	10.06trs
Frailasca	PUJ-4	3.326abcdeefg	13.21ijklmnopqrs	Soconusco	CAC-1	3.216abcdeefghi	11.422mnopqrs
Frailasca	PUJ-5	3.132abcdeefghi	13.328hijklmnopqrs	Soconusco	CAC-3	3.074bcdeefghi	12.916ijklmnopqrs
Frailasca	PUJ-6	3.606abc	12.91ijklmnopqrs	Soconusco	CAC-5	2.98cdefghi	18.886abcdeef
Frailasca	VCO-1	3.164abcdeefghi	12.3ijklmnopqrs	Soconusco	CAC-7	2.91cdefghi	16.358cdefghijklm
Frailasca	VCO-2	3.164abcdeefghi	11.11nopqrs	Soconusco	HUX-1	3.458abcde	15.4cdefghijklmnopq
Frailasca	VCO-3	3.194abcdeefghi	11.694lmnopqrs	Soconusco	HUX-11	3.156abcdeefghi	13.42hijklmnopqrs
Frailasca	VCR-1	3.056bcdeefghi	13.258ijklmnopqrs	Soconusco	HUX-3	3.22abcdeefghi	12.858ijklmnopqrs
Frailasca	VIF-3	2.226hi	15.366cdefghijklmnopq	Soconusco	HUX-5	3.206abcdeefghi	16.502cdefghijklm
Frailasca	VLR-1	3.016cdefghi	13.446hijklmnopqrs	Soconusco	HUX-7	2.186i	20.016abc
Frontera	CDCU-1	2.73cdefghi	19.51abcd	Soconusco	HUX-8	2.814cdefghi	13.716fghijklmnopqrs

TABLA 2 (Continuación)

Población	Accesión	Tamaño de oleosomas	Oleosomas por células	Población	Accesión	Tamaño de oleosomas	Oleosomas por células
Frontera	CDCU-2	2.414efghi	12.798ijklmnopqrs	Soconusco	MAP-1	3.334abcdefg	13.672ghijklmnopqrs
Frontera	CDCU-3	2.804cdefghi	13.872efghijklmnopqrs	Soconusco	MAP-3	2.978cdefghi	14.656defghijklmnopqr
Frontera	CDCU-5	2.932cdefghi	13.538hijklmnopqrs	Soconusco	MAP-4	2.444defghi	18.762abcdefg
Frontera	CHIC-1	2.838cdefghi	12.804ijklmnopqrs	Soconusco	MAP-6	3.016cdefghi	22.018a
Frontera	COM-1	2.674cdefghi	14.058efghijklmnopqrs	Soconusco	MAP-7	4.106ab	18.958abcde
Frontera	COM-11	2.718cdefghi	13.266ijklmnopqrs	Soconusco	MAP-8	3.376abcdef	21.696ab
Frontera	COM-12	3.132abcdefghi	16.484cdefghijklm	Soconusco	PC-15	2.914cdefghi	14.3efghijklmnopqrs
Frontera	COM-2	2.68cdefghi	14.29efghijklmnopqrs	Soconusco	PC-3	3.354abcdef	16.286cdefghijklmn
Frontera	COM-3	2.86cdefghi	15.764cdefghijklmno	Soconusco	PC-4	2.778cdefghi	17.412abcdefghi
Frontera	RIZ-2	2.854cdefghi	15.292cdefghijklmnopq	Soconusco	PC-6	3.334abcdefg	16.878abcdeefghijk
Frontera	RIZ-4	2.844cdefghi	17.028abcdeefghi	Soconusco	SCH-1	2.816cdefghi	15.328cdefghijklmnopq
Guatemala	GUA-1	2.958cdefghi	14.014efghijklmnopqrs	Soconusco	SCH-2	2.932cdefghi	15.542cdefghijklmnop
Guatemala	GUA-2	2.956cdefghi	14.902cdefghijklmnopqr	Soconusco	SCH-3	2.97cdefghi	14.254efghijklmnopqrs
Guatemala	GUA-3	2.768cdefghi	15.116cdefghijklmnopqr	Soconusco	SCH-4	2.974cdefghi	16.408cdefghijklm
Guatemala	GUA-4	2.864cdefghi	14.644defghijklmnopqr	Soconusco	SCH-7	2.996cdefghi	15.416cdefghijklmnopq
Istmo	ARR-11	3.134abcdeefghi	9.364s	Veracruz	PUEB-10	3.234abcdeefghi	11.61lmnopqrs
Istmo	ARR-13	2.23hi	16.498cdefghijklm	Veracruz	PUEB-2	3.36abcdef	13.546hijklmnopqrs
Istmo	ARR-16	3.016cdefghi	10.568pqrs	Veracruz	PUEB-3	3.536abc	12.88ijklmnopqrs
Istmo	ARR-3	3.164abcdeefghi	10.592opqrs	Veracruz	PUEB-5	3.292abcdeefgh	11.82ijklmnopqrs
Istmo	ARR-7	3.354abcdef	9.17s	Veracruz	PUEB-6	3.17abcdeefghi	16.738bcdeefghijkl
Istmo	PIJ-2	4.154a	14.93cdefghijklmnopqr				

* Letras distintas en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey α 0.05).

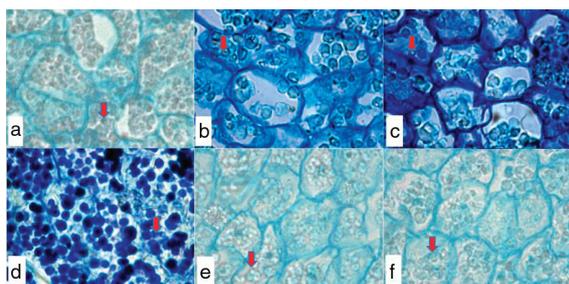


FIGURA 2. Oleosomas en células de *Jatropha curcas* del Banco de Germoplasma del Centro de Biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas, México. Las flechas rojas indican oleosomas de distintos tamaños en las accesiones MAP-6 (a), b) ARR-7, c) ARR-11, d) PIJ-2, e) HUX-7 y f) ECO-6.

formación de grupos a una disimilitud de 7.4%. El porcentaje de variación dentro de los grupos fue de 23.36%, mientras que entre grupos fue de 76.64%, es decir la varianza entre los grupos es mayor. Se observan grupos con un solo individuo (CAC-3, CAC-5, MAP-7, PIJ-2 y TON-2), que, exceptuando a CAC-3, están relacionados entre ellos y pertenecen a poblaciones de la Costa de Chiapas. En general, no existió agrupación de acuerdo al origen geográfico, excepto por el grupo 1 (ARR-16, ARR-11, ARR-3, VCO-3, VCO-2, ARR-7 y ACA-5), el cual contiene a la mayoría de los individuos de la población Istmo (Figura 9).

3.4. Análisis de heredabilidad

El estudio de las variables con datos de dos años consecutivos mostró un porcentaje muy alto de heredabilidad en sentido amplio de los caracteres oleosomas- μL de tejido⁻¹ ($h_{bs}^2=94.3\%$) y oleosomas por célula ($h_{bs}^2=92.2\%$). En el caso de la variable tamaño de oleosoma no pudo calcularse la heredabilidad, debido a que, aunque existió variación fenotípica, no hubo variación genotípica (Tabla 4).

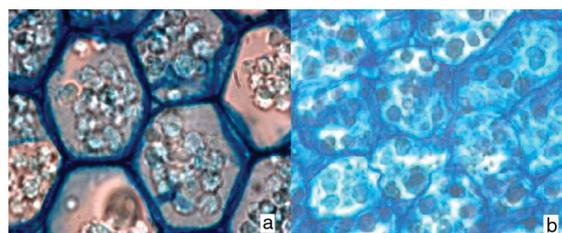


FIGURA 3. Arreglos espaciales de oleosomas dentro de las células del endospermo de *Jatropha curcas* L. del sur de México. a) Forma agrupada (accesión PA-3, población Oaxaca) y b) forma dispersa (accesión ARR-7, población Istmo).

3.5. Análisis de correlación

No se encontró correlación ($p>0.05$) entre las matrices con los datos individuales de oleosomas y las matrices con los datos de cantidad de aceite de la semilla. Sin embargo, la variable emergente relación oleosomas/tejido (% volumen/volumen) presentó correlación estadísticamente significativa y positiva con el contenido de aceite de la semilla determinado por el método de extracción con solventes (Figura 10).

4. DISCUSIÓN

J. curcas es una planta cuyo más probable centro de origen es Mesoamérica (Carels, 2009; Ovando-Medina *et al.*, 2013; Sunil *et al.*, 2013) y es considerada en proceso de domesticación (Achten *et al.*, 2010; Carels, 2013), lo cual, junto con el hecho que en la región mesoamericana es propagada casi exclusivamente por medios vegetativos, podría significar que sus poblaciones tienen baja diversidad. Sin embargo, en varios estudios recientes se ha mostrado que existe alta variabilidad tanto genotípica, detectada con marcadores moleculares (Ovando-Medina *et al.*, 2011; Magaña-Ramos, 2013; Chikara *et al.*, 2013), como fenotípica (Ovando-Medina

TABLA 3. Comparación de caracteres de oleosomas en poblaciones de *Jatropha curcas* L. del Sur de México

Población	Tamaño de oleosoma (μm)	Oleosomas por célula	Células- μL de tejido ⁻¹ ($\times 10^5$)	Oleosomas- μL de tejido ⁻¹ ($\times 10^6$)
Centro	2.89bc	13.47b	5.385a	7.289b
Frailesca	3.16ab	13.18b	5.465a	7.182b
Frontera	2.79cd	14.89ab	5.230a	7.840ab
Guatemala	2.88bcd	14.66ab	5.448a	7.984ab
Istmo	2.94bc	13.51b	5.340a	7.178b
Oaxaca	2.48d	15.18ab	4.733b	7.037b
Soconusco	3.07ab	15.89a	5.269a	8.355a
Veracruz	3.31a	13.31b	5.473a	7.169b

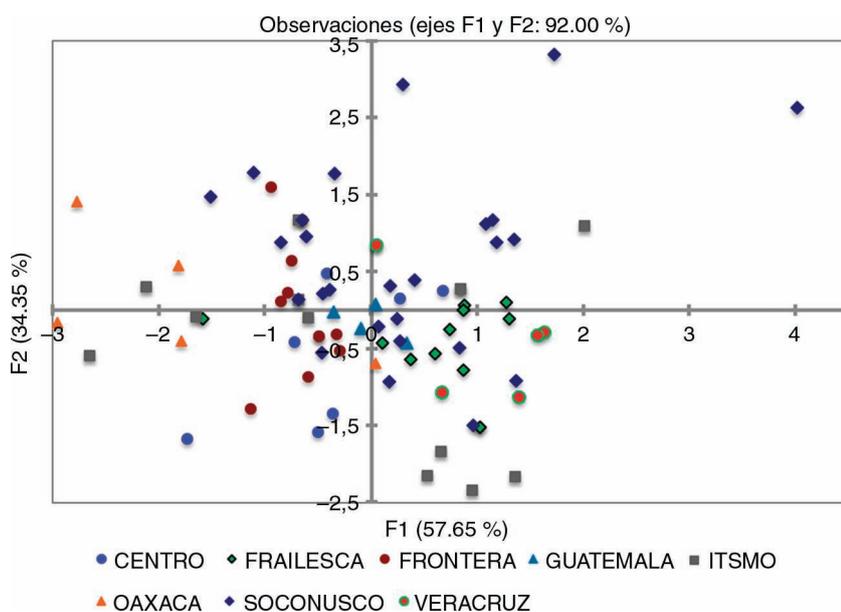


FIGURA 4. Agrupación por poblaciones de 85 accesiones de *Jatropha curcas* L. del Sur de México, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. Basado en análisis discriminante de variables de oleosomas de la semilla.

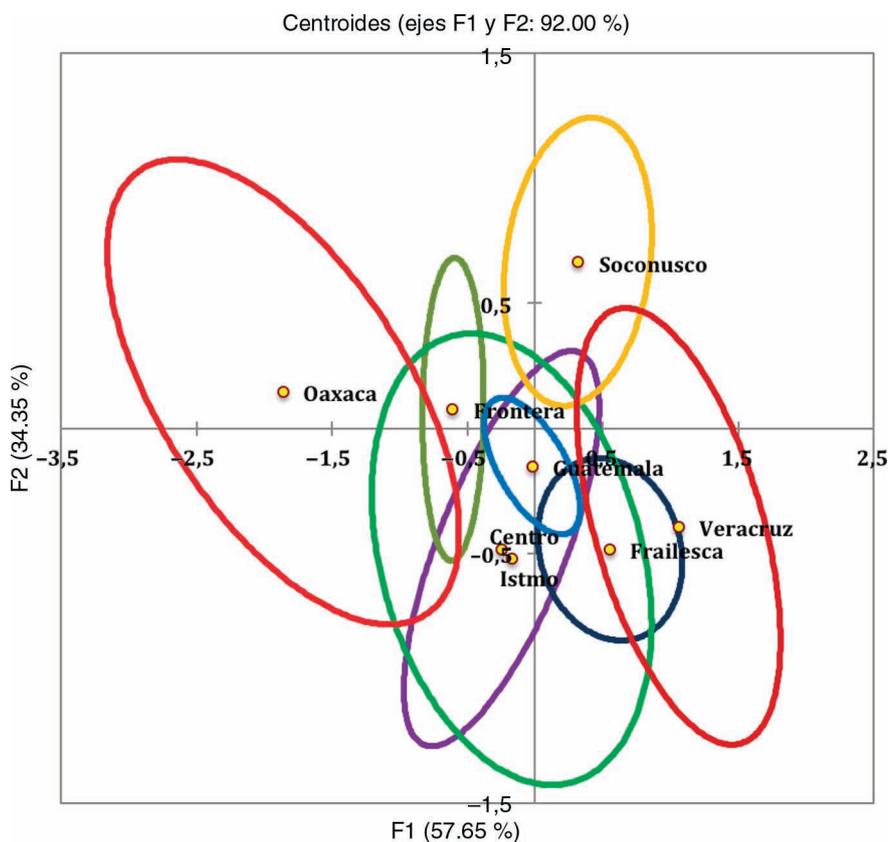


FIGURA 5. Distribución de centroides de ocho poblaciones (85 accesiones) de *Jatropha curcas* L. del Sur de México, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. Basado en análisis discriminante de variables de oleosomas de la semilla.

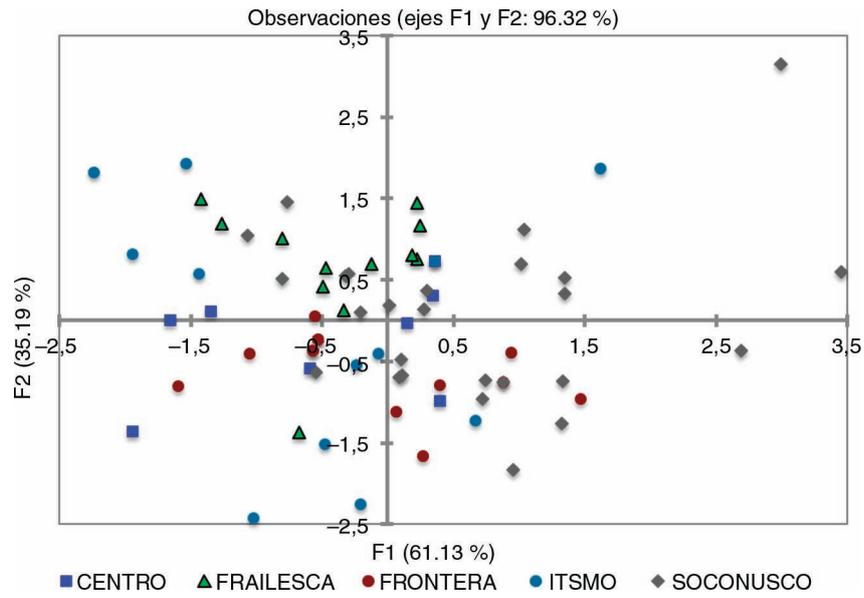


FIGURA 6. Agrupación de 71 accesiones de *Jatropha curcas* L. del Estado de Chiapas, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. Basado en análisis discriminante de variables de oleosomas de la semilla.

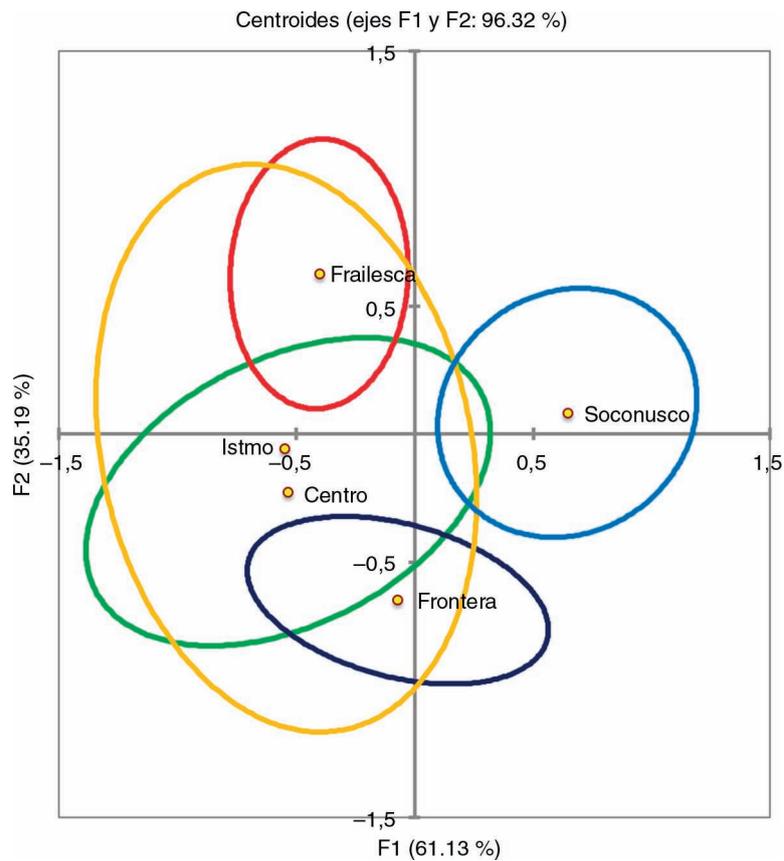


FIGURA 7. Distribución de centroides de cinco poblaciones (71 accesiones) de *Jatropha curcas* L. del Estado de Chiapas, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. Basado en análisis discriminante de variables de oleosomas de la semilla.

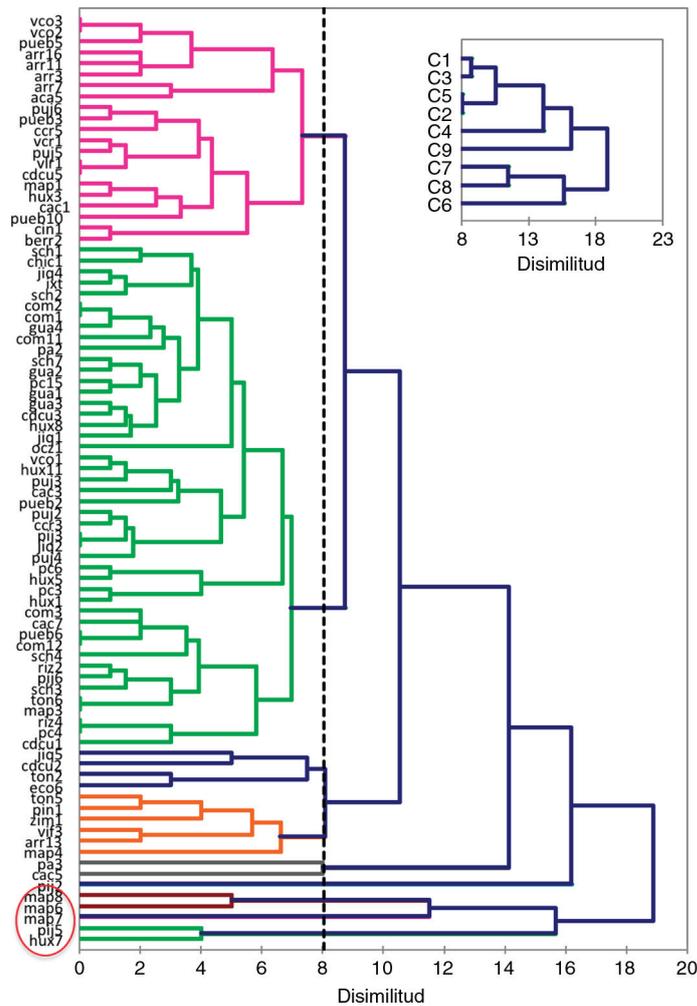


FIGURA 8. Dendrograma de disimilitud de 85 accesiones de *Jatropha curcas* L. del sur de México, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. El recuadro muestra los nueve grupos principales formados. El óvalo muestra el grupo más diferenciado.

et al., 2011; Pérez-Castillo, 2012). El hecho que las características de oleosomas presenten altos niveles de heredabilidad (Tabla 4) indica que se trata de caracteres conservados y permite su utilización como estimadores de diversidad genética. Esta es la primera vez que se utilizan datos de oleosomas de la semilla para estimar la variabilidad poblacional en esta especie.

Aunque en los últimos diez años se ha incrementado sustancialmente el número de investigaciones con la planta *J. curcas* (Achten *et al.*, 2010; Carels, 2013), impulsado por el interés en la obtención de materia prima para fabricar biocombustibles, se ha dado poca atención al estudio microscópico de los oleosomas de la semilla. Los estudios de proteómica de los oleosomas de *J. curcas* son abundantes (Hui *et al.*, 2009; Ming-Feng *et al.*, 2009; Mao-Sheng *et al.*, 2011; Popluechai *et al.*, 2011), sin embargo,

solo dos reportes se enfocaron en el análisis de los oleosomas por sí mismos (Gu *et al.*, 2012; Ishii *et al.*, 2013).

Los hallazgos mostraron que los oleosomas de *J. curcas* del sur de México son esféricos con tamaños que varían entre 1 y 4 μm (Figura 1), lo cual contrasta con lo reportado por Ishii *et al.* (2013), quienes estudiaron plantas de *J. curcas* colectada en Filipinas encontrando oleosomas con rango de tamaños de 1 a 12 μm . Si se toma en cuenta el tamaño máximo reportado por esos autores, habría solamente dos oleosomas por célula considerando que el tamaño de las células de *J. curcas* es de 24 μm de diámetro en promedio. Por otra parte, se ha reportado que la diversidad de esta especie en poblaciones de Asia es baja, estimada tanto por marcadores moleculares (Mao-Sheng *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2011), como morfológicos (Sujatha y Mukta,

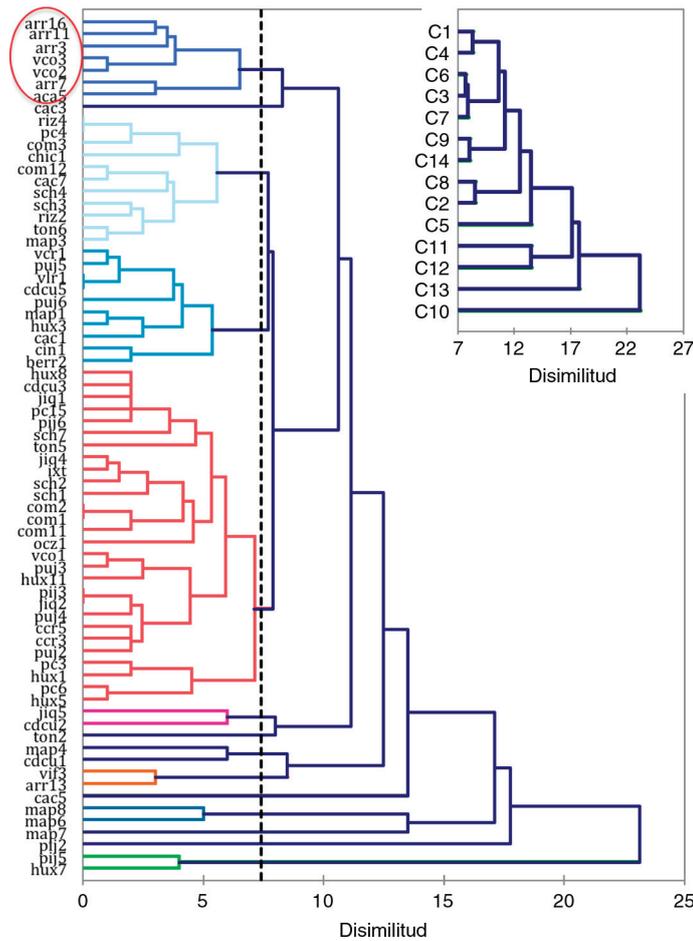


FIGURA 9. Dendrograma de disimilitud de 71 accesiones de *Jatropha curcas* L. del Estado de Chiapas, del Banco de *Jatropha* del CenBio de la Universidad Autónoma de Chiapas. El recuadro muestra los 14 grupos principales formados. El óvalo muestra el grupo más diferenciado.

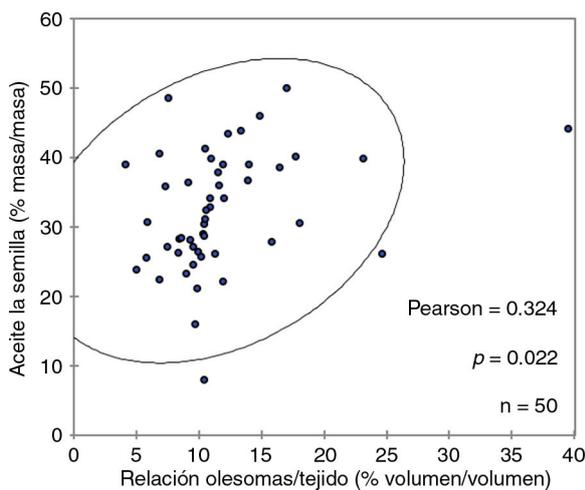


FIGURA 10. Correlación entre la variable relación porcentual oleosomas/tejidos (volumen/volumen) y el contenido de aceite en 50 genotipos de *Jatropha curcas* L. colectados en el Sur de México.

1996; Yu *et al.*, 2010), por lo que resulta sorprendente que el rango de tamaños de los oleosomas de plantas colectadas en Filipinas sea más amplio de lo encontrado en poblaciones mesoamericanas.

Tanto los análisis de varianza por carácter individual (Tablas 2 y 3), como los análisis multivariados mostraron alta variabilidad en las accesiones evaluadas, lo cual se puede verificar por la elevada dispersión de puntos en los gráficos bidimensionales de los análisis de discriminante (Figuras 4 y 6) y por los altos índices de disimilitud entre individuos en los análisis de conglomerados (Figuras 8 y 9). Lo anterior concuerda con la alta diversidad encontrada en poblaciones de *J. curcas* de México (Basha *et al.*, 2009), en particular de Chiapas (Ovando-Medina *et al.*, 2011; Pecina *et al.*, 2011), así como de Guatemala (Azurdia *et al.*, 2008).

Los análisis por accesiones individuales no mostraron agrupación congruente con el origen geográfico, lo cual coincide con lo encontrado por Sánchez-Gutiérrez (2010) y Pérez-Castillo (2012),

TABLA 4. Análisis de heredabilidad de 20 accesiones de *Jatropha curcas* L. pertenecientes al Banco de Germoplasma del Centro de Biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas, México

Variable	Estimación de la heredabilidad			
	V _G	V _{G×T}	V _F	h _{bs} ² (%)
Oleosomas·μL de tejido ⁻¹	1,214.73	39.2774	1,288.16	94.3
Células·μL de tejido ⁻¹	0.5664	0.1337	0.6907	81.99
Oleosomas por célula	0.7254	0.7254	7.9687	92.2
Tamaño de oleosomas	0	0.1191	70.0697	0

V_G: Variación genotípica; V_{G×T}: Interacción de la variación genotípica con la temporada; V_F: Variación fenotípica; h_{bs}²: Heredabilidad en sentido amplio.

quienes utilizaron las mismas accesiones que en el presente estudio. El primer autor estudió la variación molecular por polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP, por sus siglas en inglés) de *J. curcas* del estado de Chiapas y el segundo autor estudió la variabilidad floral de *J. curcas* del sur de México, encontrando ambos, mediante análisis de conglomerados, que las accesiones están agrupadas sin un patrón geográfico.

No obstante lo anterior, el análisis por poblaciones (discriminante) mostró que al menos dos poblaciones están claramente diferenciadas (Veracruz y Soconusco). Esto coincide con los estudios de Ovando-Medina *et al.* (2013), quienes estudiaron la diversidad genética estimada con AFLPs, microsatélites, ácidos grasos de la semilla y caracteres de la flor, utilizando los mismos genotipos que en este trabajo, encontrando que *J. curcas* de la población Soconusco está diferenciada con respecto al resto de poblaciones. Es posible que en la región Soconusco los altos niveles de precipitación (hasta 4000 mm) hayan funcionado como factor de selección de los genotipos, los cuales se adaptaron diferenciándose, incluso reproductivamente de otras poblaciones. De los sitios de origen de las accesiones estudiadas ninguno tiene más de 1500 mm de precipitación anual. En el trabajo de Ovando-Medina *et al.* (2013) no se incluyeron accesiones de Veracruz, por lo que se requieren investigaciones adicionales con los genotipos de esa región.

La correlación encontrada entre obtener la variable emergente relación oleosomas/tejido (% volumen/volumen) y el contenido de aceite medido por el método convencional posibilita la estimación del potencial productivo de accesiones de *J. curcas* cuando la cantidad disponible de semillas es limitada, como en los programas de mejoramiento genético, donde se obtienen unas cuantas semillas producto de la hibridación interespecífica.

5. CONCLUSIONES

Los caracteres de oleosomas de la semilla de *J. curcas* tienen alta heredabilidad en sentido amplio por lo que al utilizarlos como estimadores de la

diversidad en poblaciones del sur de México revelaron que existe alta variabilidad, con dos poblaciones, Veracruz y Soconusco, diferenciadas del resto evaluado. La relación porcentual volumen de oleosomas por volumen de tejido está correlacionada con la cantidad de aceite acumulada en la semilla. La identificación de accesiones con caracteres contrastantes (valores muy altos y muy bajos) permitirá en futuras investigaciones realizar estudios de la herencia de caracteres en *J. curcas*, contribuyendo al mejoramiento genético de esta especie para mejorar su producción de aceites.

REFERENCIAS

- Achten WMJ, Nielsen LR, Aerts R, Lengkeek AG, Kjaer ED, Trabucco A, Hansen JK, Maes WH, Graudal L, Akinnifesi FK, Muys B. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels* **1**, 91–107. <http://dx.doi.org/10.4155/bfs.09.4>.
- Azurdia C, Asturias R, Barillas E, Montes L. 2008. Caracterización molecular de las variedades de *Jatropha curcas* L. en Guatemala con fines de mejoramiento, Informe Final, Proyecto AGROCYT 12: CONCYT, MAGA, OCTAGON, S.A. & AGEXPORT. 46 pp.
- Basha SD, Francis G, Makkar HPS, Becker K, Sujatha M. 2009. A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. *Plant Sci.* **176**, 812–823. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.03.008>.
- Bayuardi-Suwarno W, Sobir, Aswidinnoor H, Syukur M. 2008. PBSTAT: a web-based statistical analysis software for participatory plant breeding. En Memorias de The 3rd International Conference On Mathematics And Statistics, Bogor, Indonesia.
- Beaudoin F, Lacey DJ, Napier JA. 1999. The biogenesis of the plant seed oil body: Oleosin protein is synthesized by ER-bound ribosomes. *Plant Physiol. Biochem.* **37**, 481–490. [http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428\(99\)80053-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428(99)80053-9).
- Cardinali FJ, Thevenon MA, Arias ME. 2010. Estudio morfoanatómico de la semilla y de las reservas proteicas y lipídicas en tejidos cotiledonales de *Cuphea glutinosa* (lythraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* **45**, 47–55.
- Carrels N. 2009. *Jatropha curcas*: a review, En Kader JC, Delseny M (Eds), *Advances in Botanical Research*. Elsevier, Amsterdam, 39–86.
- Carrels N. 2013. Towards the domestication of *Jatropha*: the integration of sciences, En Bahadur B, Sujatha M, Carrels N (Eds), *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, New York, 263–299.
- Chiappella JS. 2008. Reciclado de aceites vegetales usados: de la cocina al motor. *Bol. Inst. Nal. Tecnol. Agrop. Uruguay* **75**, 1–5.

- Chikara J, Prakash AR, Mastan SG, Ghosh A. 2013. Genetic improvement in *Jatropha curcas* through selection and breeding. En Bahadur B, Sujatha M, Carels N (Eds), *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, New York, 119–133.
- Dutta, Appelquist PC, Gunnarsson L, Von-Hofsten AS. 1991. Lipid bodies in tissue culture somatic and zygotic embryo of *Daucus carota* L. a qualitative and quantitative study, *Plant Sci.* **78**, 259–268.
- FAO. 2011. FAOSTAT. Disponible en <http://faostat.fao.org>.
- Gu K, Yi C, Tian D, Sangha JS, Hong Y, Yin Z. 2012. Expression of fatty acid and lipid biosynthetic genes in developing endosperm of *Jatropha curcas*. *Biotechnol. Biofuels* **5**, 47. <http://dx.doi.org/10.1186/1754-6834-5-47>.
- Heller J. 1996 *Physic nut. Jatropha curcas L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Huang AH. 1994. Structure of plant seed oil bodies. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **4**, 493–498. [http://dx.doi.org/10.1016/S0959-440X\(94\)90210-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-440X(94)90210-0).
- Huang AH. 1996. Oleosins and oil bodies in seeds and other organs, *Plant Physiol.* **110**, 1055–1061. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.4.1055>.
- Hui L, Yu-Jun L, Ming-Feng Y, Shi-Hua S. 2009. A comparative analysis of embryo and endosperm proteome from seeds of *Jatropha curcas*. *J. Int. Plant Biol.* **51**, 850–857. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7909.2009.00839.x>.
- Ishii M, Uchiyama S, Ozeki Y, Kajiyama S, Itoh K, Fukui K. 2013. Visualization of oil body distribution in *Jatropha curcas* L. by four-wave mixing microscopy. *Jpn. J. Appl. Phys.* **52**, 062403. <http://dx.doi.org/10.7567/JJAP.52.062403>.
- Jongschaap REE, Corré WJ, Bindraban PS y Brandenburg WA. 2007. Claims and facts on *Jatropha curcas* L., Plant Research International, Wageningen.
- Kapchie VN, Wei D, Hauck C, Murphy PA. 2008. Enzyme assisted aqueous extraction of oleosomes from soybeans (*Glycine max*). *J. Agric. Food. Chem.* **56**, 1766–1771. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0721390>.
- Kheira AA, Atta A MM. 2009. Response of *Jatropha curcas* L. to water deficits: yield, water use efficiency and oilseed characteristics. *Biomass Bioenerg.* **33**, 1343–1350. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.05.015>.
- Magaña-Ramos. 2013. Diversidad genética de poblaciones de *Jatropha curcas* en su centro de origen. Tesis de Licenciatura, Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, México.
- Mao-Sheng C, Gui Juan W, Ru-Ling W, Jun W, Song-Quan S, Zeng-Fu X. 2011. Analysis of expressed sequence tags from biodiesel plant *Jatropha curcas* embryos at different developmental stages. *Plant Sci.* **181**, 696–700. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.08.003>.
- Millichip M, Tatham AS, Jackson F, Griffiths G, Shewry PR, Stobart AK. 1996. Purification and characterization of oil-bodies (oleosomes) and oil-body boundary proteins (oleosins) from the developing cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Biochem. J.* **314**, 333–337.
- Ming-Feng Y, YU-Jun L, Yun L, Hui C, Fan C, Shi-Hua S. 2009. Proteomic analysis of oil mobilization in seed germination and post-germination development of *Jatropha curcas*. *J. Proteom. Res.* **8**, 1441–1451. <http://dx.doi.org/10.1021/pr800799s>.
- Molist GP, Pombal MA, Megías PDM. 2011. Atlas de histología vegetal y animal, [en línea]: <http://webs.uvigo.es/mmegias/6-tecnicas/1-proceso.php>
- Moreau RA, Liu K DF, Huang A HC. 1980. Spherosomes of castor bean endosperm: membrane components, formation, and degradation. *Plant Physiol.* **65**, 1176–1180. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.65.6.1176>.
- Moreno CP. 1996. *Vida y obra de granos y semillas*, Fondo de Cultura Económica, México, 208 pp.
- Ovando-Medina I, Adriano-Anaya L, Vázquez-Ovando A, Ruiz-Gonzales S, Rincón-Rabanales M, Salvador-Figueroa M. 2013. Genetic diversity of *Jatropha curcas* in Southern Mexico. En Bahadur B, Sujatha M, Carels N (Eds), *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, New York, 219–250.
- Ovando-Medina I, Espinosa-García F, Núñez-Farfán J, Salvador-Figueroa M. 2009. Does Biodiesel from *Jatropha curcas* represent a sustainable alternative energy source? *Sustainability* **1**, 1035–1041. <http://dx.doi.org/10.3390/su1041035>.
- Ovando-Medina I, Espinosa-García FJ, Núñez-Farfán J, Salvador-Figueroa M. 2011. Genetic variation in Mexican *Jatropha curcas* L. estimated with seed oil fatty acids. *J. Oleo Sci.* **60**, 301–311. <http://dx.doi.org/10.5650/jos.60.301>.
- Ovando-Medina I, Sánchez-Gutiérrez A, Adriano-Anaya L, Espinosa-García F, Núñez-Farfán J, Salvador-Figueroa M. 2011. Genetic diversity in *Jatropha curcas* populations in the State of Chiapas, Mexico. *Diversity* **3**, 641–659. <http://dx.doi.org/10.3390/d3040641>.
- Pecina V, Anaya JL, Zamarripa A, Montes N, Nuñez CA, Solís JL, Aguilar MR, Gill HR, Mejía DJ. 2011. Molecular characterisation of *Jatropha curcas* L. genetic resources from Chiapas, México through AFLP markers. *Biomass Bioenerg.* **35**, 1897–1905. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.027>.
- Pérez-Castillo E. 2012. Variabilidad floral de *Jatropha curcas* L. del sur de México. Tesis de Licenciatura, Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, México.
- Sánchez-Gutiérrez A. 2010. Diversidad genética de poblaciones de *Jatropha curcas* L. del Estado de Chiapas, México. Tesis de Licenciatura, Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, México.
- Sujatha M, Mukta N. 1996. Morphogenesis and regeneration from tissue culture of *Jatropha curcas*. *Plant Cell Tiss. Org.* **44**, 135–141.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. *Plant physiology*, 4a ed. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Xu R, Wang R, Liu A. 2011. Expression profiles of genes involved in fatty acid and triacylglycerol synthesis in developing seeds of *Jatropha (Jatropha curcas L.)*. *Biomass Bioenerg.* **35**, 1683–1692. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.001>.
- Yu C, Daokun S, Guojiang W, Junhua P. 2010. ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. *Biomass Bioenerg.* **34**, 1739–1750. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.001>.