



#### RESUMEN

La curcina es una proteína inactivadora de ribosomas tipo I con interés farmacéutico por su actividad antitumoral. Este metabolito ha sido aislado de forma *ex vitro* en semilla, hoja y tallo de *Jatropha curcas* L. de genotipos tóxicos y no tóxicos, mientras que en material cultivado *in vitro* no ha sido reportada. La propagación de *J. curcas* mediante cultivo de células y tejidos vegetales representa una alternativa para la obtención de esta proteína. Por lo que el objetivo de este trabajo fue establecer las condiciones *in vitro* para la inducción de brotes y callos, así como identificar la presencia de curcina en el material *in vitro* obtenido. Se estableció un sistema de desinfección de explantes de segmentos nodales de tallo con solución jabonosa, tween 20 al 1% e hipoclorito de sodio al 1%. El cultivo *in vitro* se estableció en medio semisólido de Murashige y Skoog (MS) con AIB (0, 0.1, 0.25 y 0.5 mg·L<sup>-1</sup>) combinado con BAP (0, 0.1, 0.25 y 0.5mg·L<sup>-1</sup>), con lo que se obtuvo callos friables en el tratamiento AIB 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + BAP 0.25 mg·L<sup>-1</sup> a los 21 días de incubación en el 100% de los explantes. La brotación se presentó en todos los tratamientos, obteniéndose plántulas completas y brotes múltiples, siendo el mejor AIB (0.1, 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + BAP 0.25 mg·L<sup>-1</sup>). Se evaluó la cinética de crecimiento celular del callo resultando un tiempo de duplicación celular de 6.64 días y una velocidad específica de crecimiento de 0.151 d<sup>-1</sup>. Se prepararon extractos de las muestras en búfer salino de fosfatos a pH 7.2, los cuales fueron fraccionados por cromatografía de exclusión molecular. Los perfiles de elución molecular de los extractos mostraron dos picos para los extractos de plántulas *in vitro* y tres picos para los de callo. De las fracciones resultantes, así como de los extractos crudos de material *in vitro* se cuantificó la concentración de proteína cruda por el método del ácido bicinonínico. De estas fracciones y extractos crudos se realizaron los perfiles electroforéticos para identificar bandas de 28-32 kDa las cuales podrían corresponder a la curcina.



#### ABSTRACT

The curcin is a ribosome inactivating protein type I with pharmaceutical interest for its antitumor activity. This metabolite has been isolated in seed, leaf and stem of *Jatropha curcas* L. of toxic and nontoxic genotypes, while *in vitro* material has not been reported. The propagation of *J curcas* using cell and plant tissue culture is an alternative for the production of this protein. So the aim of this study was to establishment *in vitro* conditions for induction of shoots and callus, and identify the presence of curcin in the material obtained *in vitro*. A system for disinfecting stem nodal explants with soap solution, 1% Tween 20 and sodium hypochlorite 1%. *In vitro* culture was established in semisolid Murashige and Skoog (MS) with IBA (0, 0.1, 0.25 and 0.5 mg·L<sup>-1</sup>) combined with BAP (0, 0.1, 0.25 and 0.5 mg·L<sup>-1</sup>). Friable callus were obtained in the treatments IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+ BAP 0.25 mg·L<sup>-1</sup> at 21 days of incubation in 100% of the explants. Sprouting occurred in all treatments, obtaining seedlings and shoot multiplication, being the best AIB (0.1, 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+ BAP 0.25 mg·L<sup>-1</sup>). Cell growth kinetics of callus was evaluated, resulting a cell doubling time of 6.64 days and a specific growth rate of 0.151 d<sup>-1</sup>. Extracts from samples were prepared in phosphate buffer saline at pH 7.2, which were fractionated by size exclusion chromatography. Were obtained two peaks for the extracts of seedlings *in vitro* and three peaks for callus. From the resulting fractions and extracts of material *in vitro* was quantified the crude protein concentration by bicinchoninic acid method. Of these fractions and crude extracts were performed electrophoretic profiles to identify bands of 28-32 kDa which could correspond to the curcin.