



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

**RESPUESTA FISIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE  
*Jatropha curcas* Y *Jatropha cinerea* BAJO ESTRÉS  
POR SALINIDAD**

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
( Orientación Agricultura Sustentable )

Presenta

**MASAKO HISHIDA**

La Paz, Baja California Sur, Diciembre de 2013

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 4 del Mes de Noviembre del 2013, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"Respuesta fisiología y bioquímica de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* bajo estrés por salinidad"**

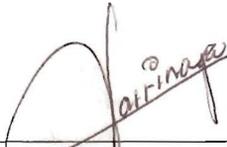
Presentada por el alumno:

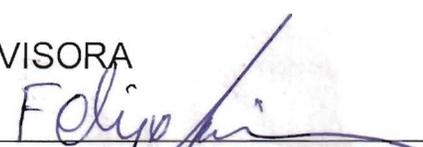
**Masako Hishida**

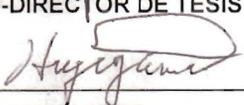
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **AGRICULTURA SUSTENTABLE**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

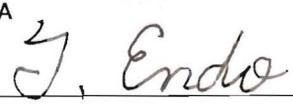
LA COMISION REVISORA

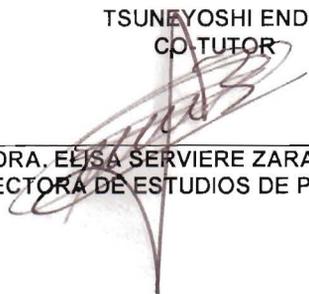
  
JUAN ANGEL LARRINAGA MAYORAL  
CO-DIRECTOR DE TESIS

  
FELIPE ASCENCIO VALLE  
CO-DIRECTOR DE TESIS

  
HIDEYASU FUJIYAMA  
CO-TUTOR

  
ANDRÉS ORDUÑO CRUZ  
CO-TUTOR

  
TSUNEYOSHI ENDO  
CO TUTOR

  
DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,  
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

## **COMITÉ**

### **COMITÉ TUTORIAL**

Dr. Juan Ángel Larrinaga Mayoral	Co-Director	CIBNOR
Dr. Felipe Ascencio de Valle	Co-Director	CIBNOR
Dr. Hideyasu Fujiyama	Co-Tutor	Universidad de Tottori
Dr. Andres Orduño Cruz	Co-Tutor	CIBNOR
Dr. Tsuneyoshi Endo	Co-Tutor	Universidad de Tottori

### **COMITÉ REVISOR DE TESIS**

Dr. Juan Ángel Larrinaga Mayoral	Co-Director	CIBNOR
Dr. Felipe Ascencio de Valle	Co-Director	CIBNOR
Dr. Hideyasu Fujiyama	Co-Tutor	Universidad de Tottori
Dr. Andres Orduño Cruz	Co-Tutor	CIBNOR
Dr. Tsuneyoshi Endo	Co-Tutor	Universidad de Tottori

### **JURADO DE EXÁMEN DE GRADO**

Dr. Juan Ángel Larrinaga Mayoral	CIBNOR
Dr. Felipe Ascencio de Valle	CIBNOR
Dr. Hideyasu Fujiyama	Universidad de Tottori
Dr. Andres Orduño Cruz	CIBNOR
Dr. Rogelio Ramírez Serrano	CIBNOR
Dra. Maria Antonia Guzmán Murillo (Suplente)	CIBNOR

## RESUMEN

*Jatropha curcas* es una especie suculenta tropical nativa de México que tolera condiciones de sequía y produce semillas oleaginosas que son importantes para la industria de los biocombustibles. Bajo este contexto se plantea como un cultivo alternativo para las zonas áridas y semi-áridas de México. Sin embargo, las respuestas a la salinidad que limitan la mayor parte de la producción de biomasa en dichas zonas, aún no se ha examinado suficientemente. Por lo tanto, nuestro trabajo de investigación evaluó la respuesta al estrés salino en *J. curcas*, comparando las respuestas con una especie silvestres de las zonas áridas llamada *J. cinerea*. Para el estudio, primero, las dos especies de *Jatropha* se sometieron al distintos tratamiento de salinidad (0~200 mM de NaCl) para evaluar el efecto de salinidad en los parámetro del crecimiento, fisiología vegetal, contenido de iones e indicadores enzimáticos registrados en la etapa de germinación y desarrollo vegetativo. Posteriormente, las dos especies fueron sometidas a los tratamientos de NaCl (0~100 mM) y nitrógeno (4~8 mM). Las características nutricionales y el efecto del nitrógeno en el crecimiento, contenido de iones y fisiología bajo el estrés de salinidad fueron evaluados. Por último, se determinó el efecto del estrés por salinidad sobre el crecimiento, contenido de iones, fisiología, indicadores enzimáticos y la producción de semillas en esta etapa utilizando aguas salobres (CE=1.9~6.1). Se encontró que la etapa de germinación fue la más sensible a la salinidad durante todo el ciclo de vida en ambas especies. La germinación de *Jatropha* disminuyó en los tratamientos salinos arriba de 50 mM de NaCl. *J. curcas* germinó hasta 50 mM y *J. cinerea* germinó con soluciones salinas de 100 mM. En la etapa de desarrollo vegetativo, la producción se redujo debido principalmente al aumento de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>. La reducción del crecimiento en *J. curcas* fue mayor que en *J. cinerea* por una mayor acumulación de iones. Ambas *Jatropha* mostraron diferentes características en la absorción de nutrientes; el nitrógeno total y el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> fueron mayores en *J. curcas* y el Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> fueron mayores en *J. cinerea*. El incremento de la fertilización nitrogenada contribuyó al aumento de la producción bajo estrés por salinidad debido a la disminución de la absorción de Na<sup>+</sup> y a la reducción del desequilibrio de cationes en *J. curcas*. Por otra parte, se mejoró la estabilidad de la membrana en ambas especies. En la etapa de producción de semillas, la altura de la planta y diámetro del tronco disminuyeron debido al estrés por salinidad. Sin embargo, la producción de semillas no se vio afectada porque las concentraciones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> no llegaron al nivel de toxicidad en ambas especies. Por lo tanto, el cultivo de *J. curcas* puede ser viable para bioenergía en suelos salinos y agua de baja calidad contaminada con sales.

**Palabras clave:** estrés por salinidad, *Jatropha cinerea*, *Jatropha curcas*

---

Vo. Bo. Co-Director  
Dr. Juan Ángel Larrinaga Mayoral

---

Vo. Bo. Co-Director  
Dr. Felipe Ascencio de Valle

## ABSTRACT

*Jatropha curcas* is a tropical succulent plant native to Mexico and one of the most important biodiesel crops resistant to drought stress. However, responses to salinity that limit much of biomass production in arid and semi-arid regions have not been clarified enough to assess its capacity as an alternative plant in saline affected soil. Therefore, we evaluated the responses to salt stress on *J. curcas*, comparing with those of *J. cinerea*, a wild species of arid areas. At first, the two *Jatropha* species were subjected to salinity treatments (0~200 mM of NaCl), and the salinity effects on growth, physiology, ion contents, and biochemistry were measured at germination and seedling stage. Then, the two species were subjected to 0~100 mM of NaCl, and 4 and 8 mM of nitrogen treatment. The nutritional characteristics and nitrogen fertilization effects on growth, ion contents, and physiology under salinity stress were studied. Finally, we clarified the effect of salinity stress on growth, ion contents, physiology, biochemistry, and seed production at this stage using ground water (EC=1.9~6.1). Germination of the two *Jatropha* was inhibited over 50 mM of NaCl. *J. curcas* could germinate up to 50 mM and *J. cinerea* at 100 mM. Germination stage was the most sensitive to salinity during all of life stages in both species. In seedling stage, biomass production decreased mostly due to Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> accumulation. Growth reduction in *J. curcas* was greater than in *J. cinerea* because of higher salt accumulation in leaves. Both *Jatropha* showed different characteristics in nutrient absorption; total nitrogen and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration was higher in *J. curcas* and Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in *J. cinerea* in control. Under salinity stress, an increment of nitrogen fertilization contributed to increase biomass production by the decrease of Na<sup>+</sup> absorption and alleviation of cation imbalance in *J. curcas*. Moreover, membrane stability improved in both species. In seed production stage, plant height and stem width decreased by salinity stress. However, seed production was not affected because Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> concentration in leaves could not reach the toxicity level in both species. Therefore, cultivation of *J. curcas* can be viable for bioenergy using saline affected land and salty water.

**Key words:** *Jatropha cinerea*, *Jatropha curcas*, salinity stress

*DEDICATORIA*

*A mi esposo Edgardo,  
a mis hijos Cruz Tsuyoshi y Hikari  
Y mi Mama y Papa.*

## AGRADECIMIENTO

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), a la Dirección de Estudios de Posgrado, al Departamento de Control Escolar, al Departamento de Becas y Apoyo Estudiantil, al Laboratorio de Cómputo, al Campo Agrícola en CIBNOR, Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal, Biología Molecular de Plantas, Biotecnología Vegetal, Salud Ambiental y Biomedicina, Unidad Guerrero Negro, por todo su apoyo durante la realización de este trabajo.

A la Secretaria de las relaciones exteriores y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca de doctorado otorgada (357589).

Al Comité Tutorial y Comité revisor del documento de tesis: Dr. Juan Ángel Larrinaga Mayoral, Dr. Felipe Asencio Valle, Dr. Hideyasu Fujiyama, Dr. Tsuneyoshi Endo, Dr. Andres Orduño Cruz, por toda su ayuda, apoyo, interés, tiempo, esfuerzo, conocimiento, sugerencias, comentarios, ánimo, observaciones, etc. Muchas gracias por todos estos años de logros y de trabajo.

A Maestra Diana Drante y Dr. Ira Fogel por la edición de artículo científico y tesis. Sin sus apoyos y sugerencias, no pude terminar mis artículos científicos y tesis.

A Ing. Luis Landa Hernández y Miguel Díaz Ramírez, muchas gracias por su sugerencias y conocimientos en el cultivo de *Jatrophas* y el sistema hidropónico.

Al Universidad de Tottori, por el apoyo de estancia en Japón, especialmente al Dr. Fujiyama y los compañeros de laboratorios, por todo su ayuda, apoyo, sugerencias y amistados.

A mi esposo Edgardo Gutiérrez Mendoza, mi hijo Cruz Tsuyoshi, mi hija Hikari, muchas gracias por motivarme y echarme gana para lograr mi meta. A mi suegra, Mama Pati, cuñados, Octavio, Karina, Víctor, Lidya, por ayudarme. A mi mamá Akie, papá Kunji, y mis hermanos, Yuko y Takashi por sus apoyos para seguir adelante.

*Masako Hishida*

## CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS .....	I
LISTA DE TABLAS .....	IV
ABREVIATURAS .....	VI
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Ecosistemas de zonas áridas.....	5
2.2. Concepto de estrés.....	6
2.3. Estrés hídrico y/u osmótico.....	7
2.4. Estrés por salinidad .....	8
2.5. Estrés oxidativo.....	11
2.6. Protocolo de Kioto .....	13
2.7. Biodiesel.....	14
2.8. Producción de alimento y biocombustible .....	15
2.9. Situación y la estrategia de México en su políticas de biocombustibles.....	17
2.10. <i>Jatropha curcas</i> .....	18
2.11. <i>Jatropha cinerea</i> .....	23
3. JUSTIFICACIÓN .....	25
4. PROBLEMA CIENTÍFICO.....	26
5. OBJETIVOS .....	27
5.1 Objetivo General .....	27
5.2. Objetivo Particulares .....	27
6. HIPÓTESIS .....	28
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
7.1. Recolección de semillas .....	29
7.2. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de germinación.....	29
7.2.1. Siembra de semilla .....	29
7.2.2. Evaluación de la germinación y emergencia .....	29
7.2.3. Análisis estadístico .....	30

7.3. Efectos del estrés por salinidad en la etapa vegetativa .....	30
7.3.1. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, estado hídrico, contenidos de minerales y actividad de antioxidantes en la etapa vegetativa .....	30
7.3.1.1. Material vegetal y cultivo.....	30
7.3.1.2. Evaluación del crecimiento .....	31
7.3.1.3. Conductividad estomática .....	32
7.3.1.4. Clorofila .....	32
7.3.1.5. Potencial hídrico.....	32
7.3.1.6. Composición de minerales .....	32
7.3.1.7. Preparación de extractos crudos .....	33
7.3.1.8. Contenido de proteína total .....	34
7.3.1.9. Actividad de la superóxido dismutasa (SOD) total .....	34
7.3.1.10. Actividad de la catalasa (CAT).....	34
7.3.1.11. Actividad de la peroxidasa (POX).....	35
7.3.1.12. Nivel de peroxidación de lípidos (TBARS) .....	35
7.3.1.13. Análisis estadístico .....	36
7.3.2. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> , estado hídrico y contenido de minerales en la etapa vegetativa .....	36
7.3.2.1. Material vegetal y cultivo.....	36
7.3.2.2. Evaluación de crecimiento .....	37
7.3.2.3. Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> en el tejido de las hojas .....	37
7.3.2.4. Contenido de clorofila.....	38
7.3.2.5. Estado hídrico.....	38
7.3.2.6. Composición de minerales .....	39
7.3.2.7. Análisis estadístico .....	39
7.4. Efecto de la fertilización nitrogenada contra el estrés por salinidad en la etapa de crecimiento vegetativo .....	39
7.4.1. Cultivo y análisis de crecimiento .....	39
7.4.2. Análisis de crecimiento .....	40
7.4.3. Clorofila.....	41
7.4.4. Composición de minerales .....	41
7.4.5. Difusión electrolítica .....	41

7.4.6. Estado hídrico en las hojas .....	42
7.4.7. Análisis estadístico .....	42
7.5. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de producción de semillas.....	42
7.5.1. Material vegetal y cultivo .....	42
7.5.2. Crecimiento .....	43
7.5.3. Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> del tejido de las hojas .....	43
7.5.4. Contenido de clorofila .....	43
7.5.5. Estado hídrico en las hojas .....	44
7.5.6. Análisis de minerales de tejido vegetal y solución de nutrientes .....	44
7.5.7. Preparación de extractos crudos .....	45
7.5.8. Contenido de proteína total, SOD, CAT, POX, TBARS.....	45
7.5.9. Análisis estadístico .....	45
8. RESULTADOS .....	46
8.1. Efectos del estrés por salinidad en la etapa de germinación .....	46
8.1.1. Efecto en el porcentaje de germinación.....	46
8.1.2. Efecto en el crecimiento .....	48
8. 2. Efectos del estrés por salinidad en la etapa vegetativa .....	50
8.2.1. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, estado hídrico, contenidos de minerales y actividad de antioxidantes.....	50
8.2.1.1. Efecto en el crecimiento.....	50
8.2.1.2. Conductividad estomática y transpiración .....	55
8.2.2.3. Estado hídrico.....	59
8.2.2.4. Clorofila .....	59
8.2.2.5. Composición de minerales .....	63
8.2.2.6. Efecto de la salinidad en los iones inorgánicos $\Psi_s$ .....	67
8.2.2.7. Antioxidante .....	68
8.2.2.8. Análisis de componentes principales.....	71
8.2.2. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> , estado hídrico y contenido de minerales .....	73

8.2.2.1. Crecimiento .....	73
8.2.2.2. Composición de minerales .....	77
8.2.2.3. Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> del tejido de las hojas .....	82
8.2.2.4. Contenido de clorofila .....	88
8.2.2.5. Estado hídrico .....	90
8.3. Efectos de la interacción salinidad-fertilización nitrogenada .....	92
8.3.1. Producción de la biomasa .....	92
8.3.2. Clorofila.....	94
8.3.3. Estado hídrico y la estabilidad de las membranas .....	94
8.3.4. Composición de minerales .....	97
8.4. Efectos del estrés por salinidad en la etapa de producción de la semilla .....	109
8.4.1. Características físico-químicas de la solución nutritiva .....	109
8.4.2. Crecimiento .....	109
8.4.3. Composición de minerales .....	110
8.4.4. Estado hídrico .....	112
8.4.5. Potencial osmótico de iones inorgánicos.....	114
8.4.6. Parámetros de fotosíntesis .....	115
8.4.7. Contenido de clorofila .....	115
8.4.8. Antioxidantes.....	117
8.4.9. Antioxidantes.....	117
9. DISCUSIÓN .....	120
9.1. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de germinación.....	120
9.2. Efecto del estrés por salinidad en la etapa vegetativa .....	122
9.3. Efectos de la interacción de salinidad y la fertilización nitrogenada .....	134
9.4. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de producción de semillas.....	139
10. CONCLUSIONES .....	147
11. LITERATURA CITADA .....	150
ANEXOS .....	166

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Demanda mundial de energía por diversas fuentes en 2005 (IEA 2007) .....	15
Figura 2. Zona límite del cultivo de <i>Jatropha curcas</i> (FACT, 2007).....	18
Figura 3. Fruto de <i>Jatropha cinerea</i> .....	24
Figura 4. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la germinación acumulada de <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	47
Figura 5. Efecto del NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el peso seco total de <i>Jatropha curcas</i> (A) y de <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	49
Figura 6. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el peso seco total de <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	53
Figura 7. Efecto de NaCl en la conductividad estomática en <i>Jatropha curcas</i> (A) y en <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	56
Figura 8. Efecto de NaCl en la tasa de transpiración en <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B). .....	58
Figura 9.. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el potencial hídrico en <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .. .....	60
Figura 10. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el contenido de agua en <i>Jatropha curcas</i> (◇) y <i>Jatropha cinerea</i> (■).. .....	61
Figura 11. Efecto de NaCl en el contenido de clorofila con el valor de SPAD en <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	62
Figura 12. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el desequilibrio de cationes en <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	66
Figura 13. Efecto de NaCl en nivel de superóxido dismutasa (SOD; A), catalasa (CAT; B), peroxidasa (POX; C), y peroxidación lípido (TBARS; D).....	70
Figura 14. Efecto del NaCl (en 0, 25, 50, 100 mM) en el peso seco de la hoja, tallo y raíz en <i>Jatropha curcas</i> (A) y en <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	75
Figura 15. Relaciones entre la tasa relativa de crecimiento (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y el cociente de superficie foliar (LAR) en <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	76
Figura 16. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la concentración de Na <sup>+</sup> de <i>Jatropha curcas</i> (A–hoja, B–tallo, C–raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (D–hoja, E–tallo, F–raíz)...	79
Figura 17. Relación entre el área foliar vs concentración de Na <sup>+</sup> en las hojas (A: <i>Jatropha curcas</i> , B: <i>Jatropha cinerea</i> ), y el peso seco total vs concentración de Na <sup>+</sup> en las	

hojas (C: <i>Jatropha curcas</i> , D: <i>Jatropha cinerea</i> ) bajo estrés de salinidad..	80
Figura 18. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la concentración de $\text{Cl}^-$ de <i>Jatropha curcas</i> (A–hoja, B–tallo, C–raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (D–hoja, E–tallo, F–raíz)...	81
Figura 19. Efecto de NaCl en la tasa de asimilación de $\text{CO}_2$ (A) de <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	83
Figura 20. Efecto de NaCl en la tasa de transpiración (E) en las hojas de <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B). .....	86
Figura 21. Efecto de NaCl en la conductividad estomática (gs) de <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	87
Figura 22. Cambio de contenido de Clorofila (Chl) a y b en <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B) por tratamiento de NaCl.....	89
Figura 23. Efecto de NaCl en el contenido relativo de agua (RWC: A, B) y en el potencial hídrico ( $\Psi_w$ : C, D) de <i>Jatropha curcas</i> (A, C) y <i>Jatropha cinerea</i> (B, D).....	91
Figura 24. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en el peso seco total (A, B) y área foliar (C, D) de <i>Jatropha curcas</i> (A, C) y <i>Jatropha cinerea</i> (B, D). .....	93
Figura 25. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en el contenido de $\text{Na}^+$ de <i>Jatropha curcas</i> (A: vástago, C: raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (B: vástago, D: raíz). Los barras representan la media±error estándar (n=4). .....	99
Figura 26. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en la relación de $\text{Na}^+$ entre vástago y raíz ( $\text{Na}^+$ S/R) en <i>Jatropha curcas</i> (A) y <i>Jatropha cinerea</i> (B).....	100
Figura 27. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en el contenido de $\text{Cl}^-$ en <i>Jatropha curcas</i> (A: vástago, C: raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (B: vástago, D: raíz).. .....	101
Figura 28. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en la relación de cationes $\text{Na}^+ / (\text{Ca}^{2+} + \text{K}^+ + \text{Mg}^{2+})$ en <i>Jatropha curcas</i> (A: vástago, C: raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (B: vástago, D: raíz). 106	
Figura 29. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en el contenido de $\text{NO}_3^-$ en <i>Jatropha curcas</i> (A: vástago, C: raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (B: vástago, D: raíz).. .....	107
Figura 30. Efecto de NaCl y $\text{N}_2$ en el contenido de total nitrógeno (N-total) en <i>Jatropha curcas</i> (A: vástago, C: raíz) y <i>Jatropha cinerea</i> (B: vástago, D: raíz).. .....	108
Figura 31. Efecto de salinidad en la altura (A, B) y diámetro (C, D) de la planta de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	111
Figura 32. Efecto de salinidad en el potencial hídrico (Fig. A, B; ■= hoja y ◇=suelo), el contenido relativo de agua (RWC) de las hojas (Fig. C, D).. .....	113
Figura 33. Efecto de NaCl en la actividad de superóxido dismutasa (SOD: U SOD·mg proteína <sup>-1</sup> ; Fig. A y B), catalasa (CAT: U CAT·mg proteína <sup>-1</sup> ; Fig. C y D),	

peroxidasa (POX: U POX·mg proteína<sup>-1</sup>; Fig. E y F) y el nivel de peroxidación de lípidos (TBARS; n mol·mg proteína<sup>-1</sup>; Fig. G y H). ..... 118

## LISTA DE TABLAS

Tabla I. Sensibilidad de varios procesos fisiológicos a los cambios en el potencial hídrico.	8
Tabla II. Principales especies reactivas de oxígeno (ERO).....	12
Tabla III. Principales enzimas antioxidantes .....	13
Tabla IV. Composición de la solución de cultivo .....	40
Tabla V. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en peso seco (PS), contenido de agua (CA), la relación entre hipocótilo y radícula (H/R), longitud de radícula e hipocótilo de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	50
Tabla VI. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el crecimiento de <i>Jatropha curcas</i> y de <i>Jatropha cinerea</i> por un periodo de 28 días.. .....	54
Tabla VII. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el área foliar y el número de hojas por planta.....	54
Tabla VIII. Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en RGR ( $\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$ ), NAR ( $\text{g cm}^{-2} \text{day}^{-1}$ ) y LAR ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) de <i>J. curcas</i> y de <i>J. cinerea</i> .....	55
Tabla IX. Correlación entre peso seco, conductividad estomática ( $g_s$ ), clorofila en fluorescencia de la SPAD (Chl), potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), y contenido de $\text{Na}^+$ en las hojas en <i>Jatropha curcas</i> (a) y en <i>Jatropha cinerea</i> (b) bajo salinidad por NaCl.	57
Tabla X. Contenido de $\text{Na}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ en las raíces y en el vástago, y la relación de concentración de $\text{Na}^+$ entre vástago y raíz ( $\text{Na}^+ \text{V/R}$ ) de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	65
Tabla XI. Contenido de minerales en las raíces, tallo y hojas de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	67
Tabla XII. Efecto de NaCl (0, 50, 100 y NaCl 200 mM) en el potencial osmótico de iones inorgánicos ( $\Psi_s$ ) en el vástago y la raíz de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .	68
Tabla XIII. Peso seco total (PS) ( $\text{g plant}^{-1}$ ), longitud (cm), tasa relativa de crecimiento (RGR) ( $\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$ ), tasa de asimilación neta (NAR) ( $\text{g cm}^{-2} \text{day}^{-1}$ ), cociente de superficie foliar (LAR) ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) y el área foliar (AF) ( $\text{m}^2$ ) en <i>Jatropha curcas</i> y en <i>Jatropha cinerea</i> bajo tratamiento de NaCl. ....	74
Tabla XIV. Contenido de minerales ( $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{K}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ y $\text{NO}_3^-$ ) en la hoja de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> bajo tratamiento de NaCl.....	82
Tabla XV. Correlación entre peso seco (PS), tasa de asimilación de $\text{CO}_2$ (A), conductividad estomática ( $g_s$ ), transpiración (E), potencial hídrico ( $\Psi_h$ ), clorofila (Chl) y área foliar (AF).....	84
Tabla XVI. Eficiencia de carboxilación instantánea (A/Ci) y eficiencia del uso de agua	

(A/E) de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	88
Tabla XVII. Interacción del efecto entre el estrés salino y fertilización nitrogenada en la florencia de clorofila (SPAD) en <i>Jatropha curcas</i> y en <i>Jatropha cinerea</i> .....	94
Tabla XVIII. Interacción del efecto entre el estrés salino y fertilización nitrogenada en el potencial osmótico, contenido de agua y difusión electrolítica en <i>Jatropha curcas</i> y en <i>Jatropha cinerea</i> .....	96
Tabla XIX. Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> y K <sup>+</sup> en <i>J. curcas</i> y <i>J. cinerea</i> ..	105
Tabla XX. Característica físico-químicas de la solución nutritiva. Control = agua de riego (100%) + fertilizante NPK20 (150 ppm), salinidad 1 = agua de riego (50%) + agua de pozo (50%) + fertilizante NPK20 (150 ppm), salinidad 2 = agua de pozo (100%) + fertilizante NPK20 (150 ppm).	109
Tabla XXI. Efecto de NaCl en el contenido de minerales (mmol/g) en <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	112
Tabla XXII. Efecto de NaCl (0, 50, 100 y NaCl 200 mM) en el potencial osmótico de iones inorgánicos ( $\Psi_s$ ) en la hoja de <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> ..	114
Tabla XXIII. Efecto de salinidad en la tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> (A) ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), conductividad estomática ( $g_s$ ) ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), transpiración (E) ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), concentración de CO <sub>2</sub> intercelular (Ci) (vpm) y el uso de eficiencia de agua (A/E) en <i>Jatropha curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	116
Tabla XXIV. Efecto de salinidad en el contenido de clorofila a, b y total.....	116
Tabla XXV. Efecto de salinidad en la formación del brote floral y semilla de <i>Jatropha</i> <i>curcas</i> y <i>Jatropha cinerea</i> .....	119

## ABREVIATURAS

<i>A</i>	Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub>
<i>A/Ci</i>	Eficiencia de la carboxilación instantánea
ADN	Acido desoxirribonuclecido
<i>A/E</i>	Eficiencia del uso del agua
AGL	Ácidos grasos libres
ANOVA	Análisis de varianza
APX	Ascorbato peroxidasa
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosín trifosfato
CA	Contenido de agua
CAT	Catalasa
Chl	Clorofila
<i>Ci</i>	Concentración de CO <sub>2</sub> intercelular
CIBNOR	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
CMNUCC	La convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático
DHAR	Dehidroascorbato reductasa
<i>E</i>	Tasa de transpiración
EC	Conductividad eléctrica
ERO	Especies reactivas del oxígeno
FACT	Fuels from agriculture in communal technology
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

<i>gs</i>	Conductividad estomática
GPX	Peroxidasa de guayacol
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
H/R	Relación hipocótilo/radícula
IEA	Instituto de Estadística de Andalucía
LA	Área foliar
LAI	Índice de area foliar
LAR	Cociente de superficie foliar
MDA	Malondialdehído
MDHAR	Monodehidroascorbato reductasa
MDL	Mecanismo de desarrollo limpio
NA	Niveles altos de nitrógeno
NAR	Tasa de asimilación neta
NBT	Nitroazul de tetrazolio
NM	Niveles moderados de nitrógeno
ONU	Organización de las Naciones Unidas
PCA	Análisis de componentes principales
PET	Transporte fotosintético de la cadena de electrones
PMSF	Fenil-metil-sulfonil fluoruro
POX	Peroxidasa
PSI	Fotosistema I
PSII	Fotosistema II

PVPP	Polivinil-polipirrolidona
RFA	La radiación fotosintéticamente activa
RGR	Tasa relativa de crecimiento
RuBP	Rubulosa-1,5-bifosfato
Rubisco	Rubulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa
RWC	contenido relativo de agua
SAGARPA	Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación
SG / GOGAT	Glutamina sintasa / glutamato sintasa
SOD	Superoxido dismutasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Concentración de malondialhído
TCA	Ácido tricloroacético
UNEP	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
$\Psi_w$	Potencial hídrico
$\Psi_s$	Potencial osmótico

## 1. INTRODUCCIÓN

La salinización del suelo es uno de los problemas más serios que limitan el crecimiento y la productividad de las plantas. Más de 800 millones de hectáreas, aproximadamente el 6% de la superficie terrestre del mundo, está afectada por salinidad (Munns, 2005). Se calcula que el 2% de la tierra usada por la agricultura en zonas áridas y el 20% de la tierra bajo riego ha disminuido su productividad al verse afectada por la sal (Munns, 2002). El problema de salinización está generalmente relacionado con la concentración alta de NaCl o Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en la zona de las raíces (Abdelgadir *et al.*, 2005). La salinización ha ido aumentando en las zonas áridas y semiáridas, ocasionada por las sequías, alta evapotranspiración, aumento de temperaturas y el manejo inadecuado del riego (Meloni *et al.*, 2001). Ante la necesidad de mantener la producción vegetal en las zonas áridas, una de las estrategias para aumentar las áreas cultivables es utilizar especies que sean tolerantes a la sales (Maggio *et al.*, 2000).

Generalmente, la salinidad impone un estrés osmótico e iónico en las plantas (Ghoulam *et al.*, 2002). A corto plazo la salinidad induce estrés osmótico, reduciendo la capacidad de absorción de agua, contribuyendo al cierre de los estomas y disminuyendo la disponibilidad y asimilación de CO<sub>2</sub> que lleva a inhibir la fijación de carbono (Marcelis y Van Hooijdonk, 1999). Este déficit de agua rápidamente induce la reducción de la tasa de crecimiento por una disminución de la expansión y la división celular (Munns, 2002). A largo plazo, la salinidad causa estrés iónico que inhibe la actividad enzimática, síntesis de la proteína y daño al ADN por el exceso de la acumulación de sales, provocando una deficiencia de cationes esenciales (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>) por la competencia con Na<sup>+</sup> (Niu *et al.*, 1995, Song y Fujiyama, 1996a, Blumwald, 2000). El estrés iónico también causa senescencia y clorosis

en las hojas, y por lo tanto se pierde o disminuye la superficie disponible para la fotosíntesis (Cramer y Nowak 1992, Tester y Davenport, 2003). Por otra parte, las alteraciones del metabolismo en los procesos fotosintéticos inducen una disminución de ATP, RuBP y de varias enzimas (Tezara *et al.*, 1999, Lawlor y Cornic, 2002, Flexas *et al.*, 2004). En suelo salino, el crecimiento de la planta también se inhibe por el déficit de nitrógeno; la absorción de  $\text{NO}_3^-$  puede ser modificada dándose un antagonismo con las moléculas de  $\text{Cl}^-$  en suelo salino debido a un nivel elevado de la concentración de  $\text{Cl}^-$  (Grattan y Grieve, 1999, Mansour, 2000). Por esta razón, la adición de nitrógeno puede mejorar el crecimiento y/o el rendimiento de las plantas (Hu y Schmidhalter, 2005). Además, la toxicidad de  $\text{Cl}^-$  puede reducirse por el aumento de las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  como se ha reportado para trigo (Hu y Schmidhalter, 1997) y tomate (Papadopoulos y Rendig, 1983). El estrés salino induce un segundo estrés conocido como estrés oxidativo. En estas condiciones aumentan la producción de las especies reactivas del oxígeno (ERO). Las ERO son responsables del daño a las membranas y a otras macromoléculas esenciales, tales como los pigmentos fotosintéticos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos (Sharma *et al.*, 2005). Sin embargo, el grado de daño a estas moléculas depende del equilibrio entre la formación de las ERO y su eliminación por el sistema de defensa antioxidante.

Por lo general, la tolerancia a la salinidad depende de la respuesta de las plantas al estrés iónico y osmótico. Con el fin de evitar los efectos tóxicos en la fotosíntesis y en otros procesos metabólicos principales, algunas plantas son capaces de prevenir la entrada de sal desde la raíz, en un proceso conocido como exclusión de sal y de reducir al mínimo su concentración en el citoplasma por compartimentación de la sal en las vacuolas, conocido

como tolerancia de los tejidos (Munns *et al.*, 2006). Por otra parte, algunas plantas retienen  $\text{Na}^+$  en el tejido leñoso de la raíz o en el tallo para evitar la acumulación de sal en exceso en las hojas (Tester y Davenport, 2003).

*Jatropha curcas* es una especie originaria de México y Centroamérica. Es una planta suculenta y arbustiva. Se cultiva en América Central, Sudamérica, el Sureste Asiático y el continente Africano por su contenido abundante de aceite (27-40%) (Achten *et al.*, 2008). Entre sus características agronómicas importantes está su capacidad de adaptación a la sequía y a la salinidad (Maes *et al.*, 2009, Silva *et al.*, 2010a, Díaz-López *et al.*, 2012a, Sepata *et al.*, 2013); el interés en su cultivo se debe a que se pueden obtener aceite y grasa de la semilla para producir biodiesel sin competir por los recursos naturales usados por los cultivos de uso alimenticio. El aceite producido por *Jatropha* puede ser fácilmente convertido a biocombustible, el cual reúne los estándares requeridos en Estados Unidos y Europa (Achten *et al.*, 2008). Sin embargo, *Jatropha* es todavía una planta silvestre por lo que no se conocen la mayoría de sus bondades y propiedades agronómicas (Fairless, 2007). Existe información disponible sobre la evaluación del contenido de aceite o metodología de transesterificación del aceite de *Jatropha* para la producción de biodiesel; sin embargo, hay pocos estudios científicos sobre su cultivo (Maes *et al.*, 2009). Sin duda, los estudios e investigaciones sobre su cultivo, manejo agronómico y el efecto del estrés biótico y abiótico son necesarios. Así, el efecto del estrés por la salinidad en el crecimiento, en la producción de semillas bajo las condiciones ya mencionadas en las zonas áridas no ha sido examinado suficientemente.

La zona noroeste de México tiene un clima subtropical seco (precipitación anual <200 mm), con períodos frecuentes de sequía prolongadas, donde, *Jatropha cinerea* (Arizona

nettlespurge, ashy jatropha, ashy limberbush, lomboy), es una especie silvestre nativa, que crece en suelos salinos a lo largo de las zonas costeras y rocosas. *J. cinerea* puede soportar largas sequías y su floración se da durante la temporada de lluvias (Junio a Octubre). *J. cinerea* es una planta suculenta que se ha utilizado por los habitantes de estas zonas como una medicina tradicional.

En el presente trabajo de investigación, se ha estudiado el efecto del estrés salino en *J. curcas* para obtener la información básica y evaluar la capacidad de establecer su cultivo en suelos salinos o con riego de agua contaminada con contenidos de sales elevado. Para lograr este objetivo, se evaluó la respuesta en su crecimiento, morfología, fisiología, bioquímica, el contenido de minerales en el tejido vegetal y la producción de semillas ocasionados por el estrés salino en *J. curcas* comparándolo con *J. cinerea*, que es una especie que adaptada a suelo seco y salino. Además se evaluó el efecto de la fertilización nitrogenada como estrategia de manejo para la mitigación el estrés por salinidad en las dos especies.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. *Ecosistemas de zonas áridas*

La precipitación anual de las zonas áridas es inferior a 250 mm, y la de las zonas semiáridas es entre 250 y 500 mm (Meigs, 1953). En estas zonas, la evaporación del suelo excede a la precipitación. De acuerdo con UNEP (1992) el 40% de la superficie total del planeta (6.1 mil millones de hectáreas) se clasifica como zonas áridas. La palabra “desertificación” es definida por la ONU como una reducción del potencial en la producción de la tierra en zonas áridas y semiáridas, que en última instancia puede generar a condiciones similares a las del desierto (Le Houérou, 1996).

Cada año se desertifica y la salinidad del suelo aumenta por la alta evaporación, manejo inadecuado de la irrigación y pastoreo excesivo. En 45 años, la tierra afectada por la sal se incrementó a 77 millones de hectáreas (Munns, 2002). El 7% de la superficie mundial se encuentra afectada por la sal; de las cuales 397 millones hectáreas están afectadas por salinidad y 434 millones hectáreas están asociadas a una condición de sodicidad (FAO, 2005). Se ha estimado que el 10% de la superficie mundial de tierras cultivadas bajo riego (unas 260 millones de hectáreas) se encuentran afectadas en mayor o menor grado por la salinidad (FAO, 2000). Debido a su alta productividad, las tierras de uso agrícolas bajo riego producen una tercera parte de los alimentos del mundo (Munns, 2002). Por esta razón, la prevención del aumento de la salinidad del suelo y el incremento de la tolerancia a la salinidad de los cultivos son problemas mundiales importantes.

En el caso de México, el 60% de su territorio se clasifica en zonas áridas. La mayor parte de las zonas áridas de México se encuentran en el norte y noroeste del país. Madrigal y Meras (2012) mencionan que aproximadamente el 21% de las tierras cultivadas bajo

riego están afectadas por exceso de sales en diferente grado, reduciendo su productividad y como una consecuencia el rendimiento de los cultivos. Debido a que las áreas agrícolas bajo riego son altamente productivas, el aumento de la salinidad es considerado un problema serio.

Debido a su ubicación geográfica y a las condiciones climáticas particulares, el estado de Baja California Sur se caracteriza por tener una precipitación anual baja (110-175 mm/año) y se clasifica como una región árida. Las principales zonas agrícolas en Baja California Sur, como el Valle de Sto. Domingo y el Valle de Vizcaíno, tienen poca precipitación pluvial, tasa de evaporación elevada, agua de riego con alta concentración de sales y una fertilización inorgánica a través del sistema de riego que provocan el ensalitramiento de los campos destinados a la producción de alimentos (Kudo *et al.*, 2008). Por otro lado, el abasto de agua para la agricultura enfrenta la competencia de la demanda de agua para uso doméstico por las ciudades que día a día presentan mayor crecimiento y urbanización (Bermundez-Contreras *et al.*, 2008).

En los valles agrícolas de Baja California Sur, las tierras afectadas por la salinidad o por la falta de infraestructura de riego son abandonadas y no son aprovechadas en una actividad productiva. Una alternativa para incorporar a la producción estas tierras es el establecimiento de cultivos con tolerancia a las condiciones adversas mencionadas como *J. curcas* entre otras.

## 2.2. Concepto de estrés

En biología el término estrés se refiere al “conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular de un organismo diferente al observado bajo

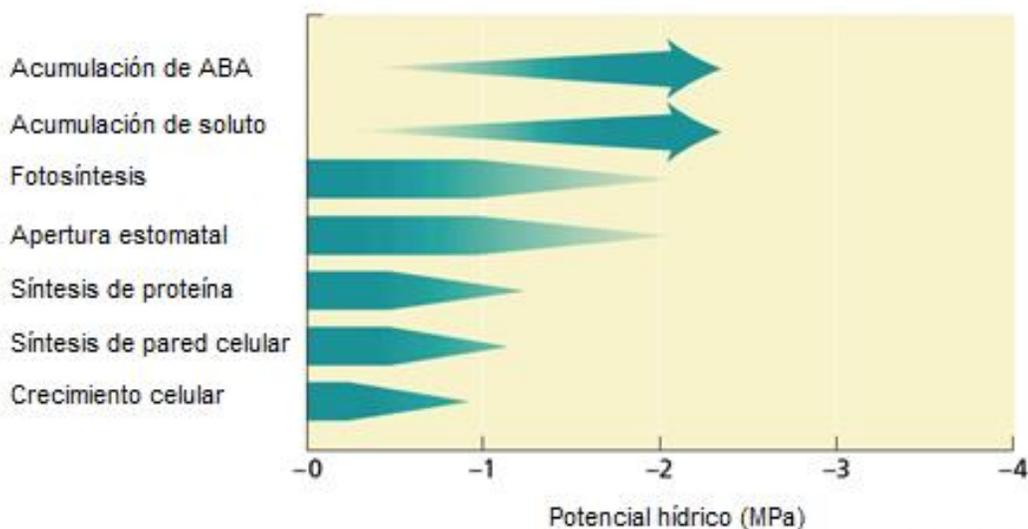
un rango de condiciones optimas” (Benavides, 2002). Asimismo, el término resistencia al estrés se aplicará para definir la capacidad de un organismo para evitar los estímulos ambientales negativos o para permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su fenotipo ideal sea afectado (Benavides, 2002).

### 2.3. Estrés hídrico y/u osmótico

Es probable que el estrés asociado al déficit hídrico sea uno de los más comunes entre las plantas cultivadas y de las comunidades naturales de plantas (Boyer, 1982). Dentro de los procesos biofísicos más afectados por la carencia de agua se encuentran la expansión celular y el crecimiento (Benavides, 2002, Muuns y Tester, 2008). El aporte bajo de agua causa deshidratación asociado con la degradación de las membranas celulares y de los organelos, desnaturalización de las proteínas, una disminución crítica en la síntesis de proteínas e incluso modificaciones en el ADN que causan mutaciones (Tabla I).

Para disminuir el efecto del estrés osmótico, las plantas utilizan solutos compatibles, compuestos orgánicos e/o inorgánicos que son altamente solubles y no interfieren con el metabolismo celular. Sirven como un medio para el ajuste osmótico y también funcionan como acompañantes uniendo a las proteínas y las membranas, lo que impide su desnaturalización (Koyro *et al.*, 2012).

**Tabla I.** Sensibilidad de varios procesos fisiológicos a los cambios en el potencial hídrico.



Fuente: Taiz L., Zeiger E., 2010

#### 2.4. Estrés por salinidad

Los suelos salinos se encuentran naturalmente en las regiones costeras donde el agua subterránea está contaminada con agua de mar. Además, pueden ser inducidos por el hombre en zonas sometidas a riego y/o a drenaje inadecuado. Los suelos salinos se forman en gran medida cuando la evaporación excede a la precipitación por lo menos durante parte del año y las sales están presentes en cantidades moderadas en agua salina a poca profundidad (Meloni *et al.*, 2003).

Desde el punto de vista agrícola, se considera un suelo es salino si su conductividad eléctrica (EC) es igual o superior a 4 dS/m, mientras que desde el punto de vista ecológico se habla de suelos salinos si la concentración de NaCl es superior a los 70 mM, ya que es el límite a partir del cual se observa una flora halófila (plantas poco sensibles) y dificulta el crecimiento de las plantas glicófitas (plantas sensibles) (Benavides, 2002). Los iones predominantes en el suelo salino son  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{Na}^+$  (Mansour, 2000).

Un alto nivel de sal en el agua del suelo inhibe el crecimiento de la planta por estrés osmótico e iónico (Munns, 2005). En primer lugar, el estrés osmótico reduce la capacidad de la planta para absorber agua por el aumento del potencial hídrico del suelo, haciéndola menos disponible en las raíces. El estrés osmótico por salinidad produce efectos dañinos similares al del estrés por sequía en las plantas. Este déficit de agua rápidamente induce la reducción de la tasa de crecimiento por una disminución de la expansión y la división celular (Munns, 2002). La reducción de la expansión de las hojas por salinidad se ha mencionado en el maíz (Cramer y Bowman 1991, Neumann 1993), el arroz (Yeo *et al.*, 1991), el trigo y la cebada (Passioura y Munns, 2000). Posteriormente, este déficit de agua contribuye al cierre de las estomas para evitar la pérdida de agua por transpiración. Sin embargo, esto disminuye la tasa de fotosíntesis por una reducción en la presión parcial de CO<sub>2</sub> en los espacios intercelulares. El cierre de las estomas induce la reducción de la disponibilidad de CO<sub>2</sub> que lleva a inhibir la fijación de carbono (Marcelis y Van Hooijdonk, 1999). En segundo lugar, el estrés iónico por exceso de acumulación de los iones como Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> daña las hojas y las raíces. Por lo tanto, para el área para hacer la fotosíntesis se reduce por la pérdida de las hojas. Además, el estrés iónico afecta a los componentes fotosintéticos tales como las enzimas y los pigmentos (Amirjani, 2011). Esta acumulación de sales causa desequilibrio de iones y desequilibrio de nutrientes como K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> debido a la competencia con Na<sup>+</sup>. Por esta razón, el equilibrio de cationes de Na<sup>+</sup> con (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>) en las plantas se puede utilizar como un indicador de la homeostasis nutricional. La deficiencia de K<sup>+</sup> reduce el crecimiento de las plantas por la limitada expansión celular e inhibe varias actividades enzimáticas (Nieves-Cordones *et al.*, 2012, Oueslati *et al.*, 2010); el Ca<sup>2+</sup> se necesita para el crecimiento de los tejidos (Song y

Fujiyama 1996b) y la deficiencia de  $Mg^{2+}$  induce la inhibición de fotosíntesis (Yang *et al.*, 2012). La absorción de  $NO_3^-$  también se inhibe por el antagonismo de  $Cl^-$  (Grattan y Grieve, 1999, Mansour, 2000). El nitrógeno es el elemento ó nutriente principal y es un constituyente de los componentes celulares, incluyendo los aminoácidos y los ácidos nucleicos. Por lo tanto, la deficiencia de nitrógeno inhibe rápidamente el crecimiento de la planta. La adición de fertilización nitrogenada puede mejorar el crecimiento y/o el rendimiento de la planta (Hu y Schmidhalter, 2005). Hay algunos estudios que reportan que al aumentar la fertilización nitrogenada puede reducir la toxicidad de  $Cl^-$  en el trigo, *Triticum aestivum L.* (Hu *et al.*, 1997), el tomate, *Lycopersicon esculentum L.* (Papadopoulos y Rendig, 1983) y el maíz, *Zea mays L* (Irshad, *et al.*, 2007). Por otra parte, un elevado nivel de nitrógeno mejora la tolerancia a la salinidad debido a que mejora del estado hídrico, mantiene la transpiración y con ella el flujo de agua (Papadopoulos y Rendig, 1983; Abdelgadir *et al.*, 2005; Kabir *et al.*, 2005). Además, hay algunos estudios que indican que la concentración de  $Na^+$  en la cebada, frijol y mostaza disminuye al aumentar la concentración de nitrógeno mejorando la selectividad de las raíces en la absorción de los elementos esenciales y la capacidad de exclusión de  $Na^+$  en los tejidos de las hojas (Shen *et al.*, 1994, Kabir *et al.*, 2005, Nathawat *et al.*, 2007) además, reduce la concentración de  $Na^+$  en el suelo (Nathawat *et al.*, 2007).

Los mecanismos de tolerancia al estrés iónico por salinidad para disminuir el daño pueden clasificarse en dos categorías:

1. Exclusión de  $Na^+$  en las hojas: La exclusión de  $Na^+$  por las raíces sirve para evitar la acumulación de  $Na^+$  en concentraciones tóxicas en las hojas (Munns, 2005).

2. Tolerancia en tejido: La compartimentación de  $\text{Na}^+$  a nivel celular e intracelular ayuda a evitar las concentraciones tóxicas dentro del citoplasma, principalmente por canales  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (Munns, 2005).

### 2.5. Estrés oxidativo

El oxígeno sostiene la vida aeróbica de las plantas ofreciéndoles grandes beneficios energéticos, por otro lado los desafía a través de la formación de especies reactivas al oxígeno (ERO). Las ERO se producen de diversas maneras en forma continua como subproductos del metabolismo en diferentes compartimentos celulares, tales como los cloroplastos, mitocondria y peroxisomas (Navrot *et al.*, 2007). Cierta estrés ambiental o defectos genéticos causan que la producción de las ERO exceda la capacidad de equilibrio. Las ERO tienen un rol divergentes en las plantas; mientras que en concentraciones bajas actúan como señalización de moléculas para la activación de las respuestas de defensa bajo estrés, en altas concentraciones causan daños al exacerbar los componentes celulares (Hasanuzzaman *et al.*, 2012). Los efectos del estrés oxidativo en el reino vegetal se ven favorecidos por los cambios ambientales continuos que sufren las plantas como consecuencia de fenómenos naturales o de acciones del ser humano. Entre estos cambios ambientales se encuentran: el envejecimiento, la sequia, la salinidad y la exposición a herbicidas que pueden generar variaciones en la producción de las ERO (Tabla II) y conducir a una pérdida de la función, la destrucción de tejido e incluso la muerte de la planta ocasionado por los procesos oxidativos, como la peroxidación de los lípidos de la membrana, la oxidación de las proteínas, la inhibición de la enzima y daños al ADN y el ARN respectivamente.

**Tabla II.** Principales especies reactivas de oxígeno (ERO)

Radicales		No Radicales	
Superóxido	$O_2^{\cdot -}$	Peróxido de Hidrógeno	$H_2O_2$
Hidroxilo	$\cdot OH$	Acido Hipocloroso	$HOCl$
Peroxilo	$RO_2^{\cdot}$	Ozono	$O_3$
Alcoxilo	$RO^{\cdot}$	Oxígeno sínglate	$^1O_2$
Hidroperoxilo	$HO_2^{\cdot}$	Peroxinitrito	$ONOO^-$

Fuente: Mittler (2002), Sharma *et al.*, 2013

Para evitar que la producción de las ERO alcance niveles incompatibles con el desarrollo normal de las células, éstas han desarrollado en el curso de la evolución sistemas de defensa antioxidante (Tabla III) que incluyen: (1) Liposoluble (p.ej.  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno), (2) Reductantes solubles en agua (p.ej. Glutación, Ascorbato), (3) Enzimáticos (Superoxido dismutasa (SOD), Peroxidasa (POX), Catalasa (CAT) y las enzimas del ciclo de ascorbato-glutación) (Zhang y Kirkham, 1994).

Se han detectado un gran número de sitios de producción de las ERO a nivel subcelular. Los principales orgánulos vegetales productores del antioxidante son los cloroplastos, las mitocondrias, el citosol, los peroxisomas, la pared celular y el apoplasto (Mittler, 2002).

En las células de las plantas, las SOD constituyen la primera línea de defensa contra las ERO. El principal sitio de producción de  $O_2^{\cdot -}$  es la membrana tilacoide: el receptor de electrones del PSI. Las SOD eliminan  $O_2^{\cdot -}$  y generan  $H_2O_2$  y  $O_2$ . Las CAT están presentes en los peroxisomas y los glioxisomas. Las CAT tienen una de las más altas tasas de rotación de todas las enzimas: una molécula de CAT puede convertir alrededor de seis millones de moléculas de  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$  por minuto (Gill y Tuteja, 2010). El ascorbato

peroxidasa (APX) elimina  $H_2O_2$  en el ciclo de APX-GSH, utilizando el ascorbato como un donador de electrones.

**Tabla III.** Principales enzimas antioxidantes

Enzimas antioxidantes	Número EC	Reacciones catalizadas
Superóxido dismutasa (SOD)	EC 1.15.1.1.	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$
Catalasa (CAT)	EC 1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$
Ascorbato peroxidasa (APX)	EC 1.11.1.11	$H_2O_2 + AA \rightarrow 2H_2O + DHA$
Peroxidasa de guayacol (GPX)	EC 1.11.1.7	$H_2O_2 + GSH \rightarrow H_2O + GSSG$
Monodehidroascorbato reductasa (MDHAR)	EC 1.6.5.4	$MDHA + NAD(P)H \rightarrow AA + NAD(P)^+$
Dehidroascorbato reductasa (DHAR)	EC 1.8.5.1	$DHA + 2GSH \rightarrow AA + GSSG$
Glutación reductasa (GR)	EC 1.6.4.2	$GSSG + NAD(P) \rightarrow 2GSH + NAD(P)^+$

Fuente: Gill y Tuteja, 2010.

## 2.6. Protocolo de Kioto

La Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático (CMNUCC) fue adoptada el 9 de mayo de 1992 y entró en vigor el 21 de marzo de 1994. En 1997, los gobiernos acordaron incorporar una adición al tratado, conocida con el nombre de Protocolo de Kioto (ONU, 1998). El protocolo de Kioto contiene tres partes: 1) Mecanismo de desarrollo limpio (MDL); 2) Aplicación de conjuntos; y 3) Comercio de derechos de emisión. Particularmente los MDL hacen conciencia para que cada país logre su meta en la disminución de la reducción de contaminantes. Los proyectos de MDL contiene dos objetivos; uno de ellos es lograr el desarrollo sostenible en los países en desarrollo y el otro

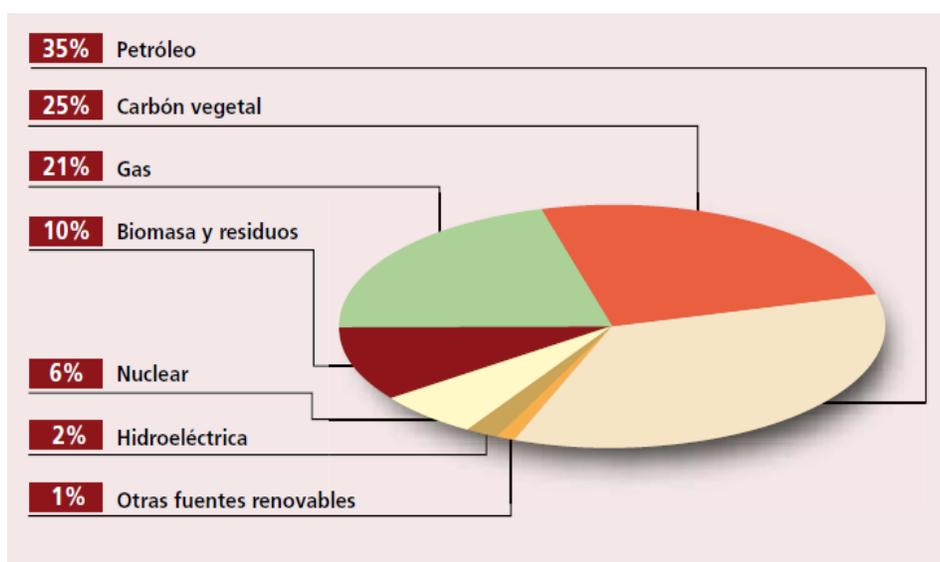
es reducir la producción de los gases efecto invernadero de manera rentable en los países en desarrollo. Desde el comienzo de los MDL en 2005, los proyectos energético-industriales han sido los más importantes entre todos los proyectos registrados, incluyendo los destinados a la bioenergía. De acuerdo a Fenhan (2006), los proyectos de bioenergía representan el 23% del total de los proyectos y contribuyen con 7% de los certificados de emisiones reducidas.

### *2.7. Biodiesel*

La demanda mundial total de energía primaria asciende a unos 11,400 millones de toneladas equivalentes de petróleo por año (IEA, 2007); la biomasa, incluyendo los productos agrícolas y forestales y los desechos y residuos orgánicos representan el 10% de ese total (Figura 1).

El biodiesel se produce a partir de la combinación del aceite vegetal o la grasa animal con un alcohol y un catalizador por medio de un proceso químico conocido como transesterificación (Ma y Hanna, 1999). Se puede extraer aceite para producir biodiesel de casi cualquier cultivo oleaginoso; a nivel mundial las fuentes más populares de biodiesel son la colza en Europa y la soya en Brasil y los Estados Unidos de América. En los países tropicales y subtropicales se produce biodiesel a partir de aceite de palma, coco o jatropha. En la producción de biodiesel también se utilizan pequeñas cantidades de grasa animal extraída del procesamiento del pescado y de otros animales (FAO, 2008, FAO, 2010). Comúnmente, después del proceso de producción de biodiesel se derivan subproductos tales como la pasta de soya para la elaboración de alimento para el ganado y la glicerina. Como el biodiesel se puede producir a partir de una amplia gama de aceites, los

combustibles resultantes exhiben una mayor variedad de propiedades físicas que el etanol, como viscosidad y combustibilidad. El biodiesel puede mezclarse con combustible diesel tradicional o quemarse puro en motores de encendido por compresión. Su contenido de energía oscila entre el 85 y el 95 % del contenido de energía del diesel, pero mejorar la lubricidad de este último y aumentar el índice de cetano, con lo que, en términos generales, uno y otro poseen un rendimiento análogo. El mayor contenido de oxígeno del biodiesel facilita la combustión y reduce así las emisiones de partículas como los contaminantes del aire en monóxido de carbono e hidrocarburos. Al igual que el etanol, el biodiesel contiene sólo una cantidad insignificante de azufre y reduce, por tanto, las emisiones de óxido de azufre de los vehículos (FAO, 2008).



**Figura 1.** Demanda mundial de energía por diversas fuentes en 2005 (Fuente: IEA 2007)

### 2.8. Producción de alimento y biocombustible

El número de personas con una mala nutrición aumentó más de 100 millones en todo el

mundo entre 2006 y 2008, y el número total de personas con desnutrición se calculó en 960 millones en el año 2008 (FAO, 2008). Las causas principales de este comportamiento en las estadísticas de alimentación fueron: el aumento de precio en los alimentos, el crecimiento de la población y la crisis financiera mundial. Particularmente, el precio de la importación de alimentos aumentó rápidamente. Así, por ejemplo, los gastos mundiales en productos alimenticios importados en 2007 aumentaron aproximadamente un 29% por encima del dato histórico del año anterior (FAO, 2008). El alza de los precios afectó más a los países menos desarrollados que necesitan importar sus alimentos, como algunos países africanos y asiáticos. Unas de las causas en el alza del precio en alimentos importados fue debido a que los países que cultivaron alimentos para exportar a otros países cambiaron a la producción de especies útiles en la fabricación de biocombustibles (FAO, 2008).

El aumento del precio de los combustibles fósiles y las políticas de emisiones de gases de efecto invernadero en los últimos años han acelerado el desarrollo y la producción de biocombustible (Basha *et al.*, 2008). Con lo que ha surgido una competencia entre los cultivos destinados a la producción de alimentos y los cultivos de especies útiles a la producción de biocombustible. Por ejemplo, la caña de azúcar, el maíz y el arroz (FAO, 2008).

De esta forma los biocombustibles amenazan la seguridad alimentaria de las personas más vulnerables del mundo. Por lo tanto, es necesario plantear estrategias para la utilización de especies vegetales no comestibles para la producción de los biocombustibles que no compitan con los recursos de agua y suelo que han sido tradicionalmente utilizados para la producción de especies alimenticias, principalmente para no encarecer y dificultar la oferta de alimentos a la población vulnerable en el planeta (FAO, 2008).

### *2.9. Situación y la estrategia de México en su políticas de biocombustibles*

México cuenta con un potencial muy importante en cuestión de recursos energéticos renovables, cuyo desarrollo permitirá al país contar con una mayor diversificación de fuentes de energía, ampliar la base industrial en un área que puede tener valor estratégico en el futuro y atenuar los impactos ambientales ocasionados por la producción, distribución y el uso final de las formas de energía convencionales; en este marco, el país posee vastos recursos naturales para la producción de bioenergéticos, resultado de su gran diversidad agrícola y de sus condiciones climáticas y geográficas idóneas para este propósito (SAGARPA, 2009). En 2007 la producción de energía primaria a partir de la biomasa (incluye bagazo de caña y leña) en México fue del 3.3% (SAGARPA, 2007).

Con base en El Plan Nacional de Desarrollo y el Programa Sectorial de Desarrollo Agropecuario y Pesquero 2007-2012 (SAGARPA, 2007) se tenían los siguientes objetivos: establecer en su política del sector rural el desarrollo humano y sustentable; mejorar los ingresos de los productores incrementando la presencia en los mercados globales, vinculándolos con los procesos de valor agregado y con la producción de insumos para bioenergéticos.

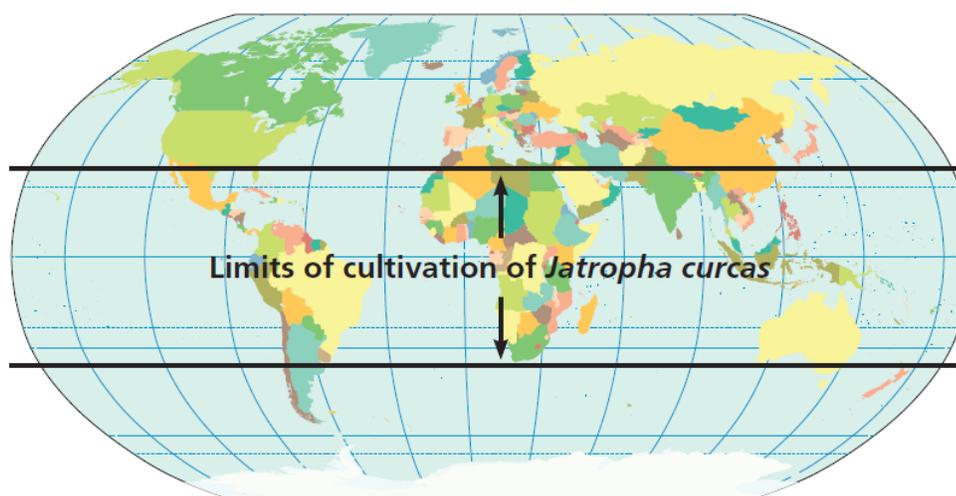
En el mismo sentido, la Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos (2008) establece como objetivo promover y desarrollar los bioenergéticos con el fin de coadyuvar a la diversificación energética y al desarrollo sustentable como condiciones que permitan garantizar el apoyo al campo mexicano e instituir las bases que promuevan la producción de insumos para bioenergéticos, con base en criterios de sustentabilidad considerando un mayor impulso en zonas de alta y muy alta marginalidad, a partir de las actividades agropecuarias, forestales, algales, procesos biotecnológicos y enzimáticos del campo

mexicano sin poner en riesgo la seguridad alimentaria del país.

### 2.10. *Jatropha curcas*

*Jatropha curcas* una planta que pertenece a la familia Euphorbiaceae y crece en climas tropicales y semitropicales. El género *Jatropha* contiene aproximadamente 170 especies conocidas (Kumar y Sharma, 2008). A *J. curcas* se le conoce con diferentes nombres comunes como son: piñón, piñón manso, tempate, physic nut, etc. La planta tiene su área de distribución natural en México, América Central, Brazil, Bolivia, Perú, Argentina y en Paraguay. *Jatropha curcas* es una especie diploide con  $2n=22$  cromosomas (Kumar y Sharma, 2008).

*J. curcas* crece en regiones tropicales y subtropicales con límites de cultivo a  $30^{\circ}$  N y  $35^{\circ}$  S (Figura 2). También crece en altitudes de 0 a 500 m. *J. curcas* no es sensible a la duración del día, por lo que puede ser cultivada en cualquier época del año (Heller, 1996).



**Figura 2.** Zona límite del cultivo de *Jatropha curcas* (Fuente: FACT, 2007)

*Jatropha curcas*, es un árbol pequeño o un arbusto grande que puede alcanzar una altura de tres a cinco metros, pero en condiciones favorables puede alcanzar una altura de ocho a diez metros (Kumar y Sharma, 2008). Tiene una vida aproximada de hasta 50 años. Tiene raíces profundas que la hacen muy adecuada para las condiciones semi-áridas. *J. curcas* puede sobrevivir con un mínimo de 250 a 300 mm de precipitación anual pero necesita por lo menos 600 mm para florecer y formar frutos. La precipitación óptima para la producción de semillas se estima entre 1000 y 1500 (FACT, 2007). Según referencias bibliográficas (Heller, 1996), en el lugar de origen de *J. curcas* las precipitaciones anuales rondan entre los 500 y los 1000 mm y la temperatura anual supera los 18°C. La planta es monoica y las inflorescencias terminales contienen flores unisexuales. La proporción de los machos con el rango de floración de la hembra es de 13:1 a 29:1 (Achten *et al.*, 2008). *Jatropha* puede tolerar altas temperaturas, pero en general se ve principalmente afectada por las heladas, lo que le causa un daño inmediato (Heller, 1996).

En los diferentes países y regiones, los rendimientos de las semillas de *J. curcas* pueden variar de 0.4 a 12 t/ha/año. (Openshaw, 2000). Francis *et al.*, (2005) mencionan que los rendimientos individuales de los árboles oscilan entre 0.2 a 2.0 kg de semillas por año. Los rendimientos potenciales de *J. curcas* en condiciones semiáridas en Andhra Pradesh, India, se pronostica en 1.0 t/ha (Wani *et al.*, 2008). Durante un período de 17 años, las producciones de *J. curcas* en Nashik, India tuvieron como promedio menos de 1.25 t/ha (Ghokale, 2008). Por otra parte, con buena tierra y con el aumento de las precipitaciones más las prácticas óptimas de cultivo, se han reportado rendimientos que van de 5 – 7 t/ha (Achten *et al.*, 2008, FACT, 2007). Abou Kheira y Atta (2009) mencionaron que el estrés hídrico afecta en la producción de semillas y no en las características del aceite. Jongschaap

*et al.* (2007) calcularon un rendimiento teórico de semilla potencial de 7.8 t/ha en condiciones óptimas.

Los árboles *J. curcas* muestran una variabilidad alta en su rendimiento, característica observada esencialmente en las variedades silvestres. Se observó que la variación del rendimiento anual de 19 árboles varía entre 0 y 850 gramos de semilla seca por árbol. Estos datos muestran que la mayor perspectiva de mejorar el rendimiento se encuentra con la mejora del germoplasma. También, se atribuye este comportamiento de rendimientos uniformes a la falta de conocimiento del cultivo y a su manejo agronómico (FAO, 2010).

El aceite de *Jatropha* contiene aproximadamente el 24.60% de proteína cruda, 47.25% de grasa bruta y 5.54% de contenido de humedad (Akintayo, 2004). La fracción de aceite de *Jatropha* contiene ácidos grasos saturados, principalmente el ácido palmítico (16:0) con 14.1% y el ácido esteárico (18:0) con 6.7%. Los ácidos grasos insaturados consisten en ácido oleico (18:1) con un 47% y el ácido linoléico (18:2) con 31.6%. Aceite con alto porcentaje de ácido linoléico, oleico mono insaturados y poli insaturados podría ser un sustituto eficiente para el combustible diesel (Augustus *et al.*, 2002).

La evaluación económica ha demostrado que la producción de biodiesel de *Jatropha* es muy rentable (Foidl *et al.*, 1996). El aceite de *Jatropha* se puede utilizar como combustible en motores diesel directamente y mediante la mezcla con metanol (Gubitz *et al.*, 1999). Berchmans y Hirata (2008) y Tiwari *et al.* (2007) han desarrollado una técnica para producir biodiesel de *Jatropha* con alto contenido de ácidos grasos libres (AGL 15%), en el que fueron desarrolladas en dos etapas del proceso de transesterificación al mejorar el rendimiento de los ésteres metílicos. La primera fase consistía en un proceso de pre-tratamiento ácido para reducir el nivel de ácidos grasos libres en el aceite crudo de

semillas de *Jatropha* a menos del 1% y el segundo fue la base alcalina catalizada por este proceso de trans-esterificación lo que dio 90% de rendimiento de ésteres metílicos.

Con relación al manejo agronómico, *Jatropha* se siembra en densidades que van desde 1,100 a 2,500 plantas por hectárea. Dependiendo de la competencia entre los árboles por el agua, la luz y los nutrientes. En las zonas semiáridas, los sistemas de bajos insumos deben utilizar mayor espaciamiento entre 3.0 x 2.0 x 3.0 o 3.0 x 2.5 x 3.0 m. La plantación debe ser alternada en las filas sucesivas para minimizar el sombreado mutuo. Además, debe considerarse la posibilidad de acceso; por lo menos 2.5 m entre los árboles que permitan un paso más fácil a los recolectores de los frutos, además de un callejón de 5 m en cada cuarta fila para facilitar el acceso de los vehículos recolectores (FAO, 2010).

Una vez establecido el cultivo, el crecimiento es rápido. El brote principal puede alcanzar 1 m de altura en un plazo de cinco meses, con todo el crecimiento vegetativo durante la temporada de lluvias. Los árboles suelen tener sus primeros frutos después de la floración en la segunda temporada de lluvias (Kumar y Sharma, 2008).

Se ha descrito que *Jatropha* tiene un requerimiento bajo de nutrientes, ya que se adapta a suelos pobres, con un pH del suelo no superior a 9. Sin embargo, un cultivo productivo requiere la fertilización correcta y el riego adecuado o lluvias en su caso. Igualmente, los altos niveles de fertilizantes y el riego excesivo pueden inducir la producción de una biomasa total mayor a expensas de la producción de semilla. Yin *et al.* (2012) reportaron el aumento de fertilizante nitrógeno reduce el contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y malondialdehído (MDA). Desafortunadamente, existen pocos datos sobre la respuesta a la fertilización en diferentes condiciones de cultivo que dificultan hacer recomendaciones específicas para la nutrición de los cultivos (Achten *et al.*, 2008). *Jatropha* es todavía una planta silvestre de las cuales

las propiedades básicas agronómicas no son bien conocidas y los efectos ambientales no se han investigado suficiente (Fairless, 2007).

Las influencias negativas de la salinidad en *J. curcas* es principalmente debido a la toxicidad de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  y desequilibrio nutricional causado por disminución de la absorción de  $\text{K}^+$  por antagonismo de  $\text{Na}^+$  (Kumar *et al.*, 2008, Silva *et al.*, 2011, Díaz-López *et al.*, 2012a). Esta mayor acumulación de  $\text{Na}^+$  en las hojas de *J. curcas* muestra que el mecanismo para bloquear la transferencia de  $\text{Na}^+$  no está funcionando eficientemente bajo altas concentraciones de sal (Díaz-López *et al.*, 2012a).

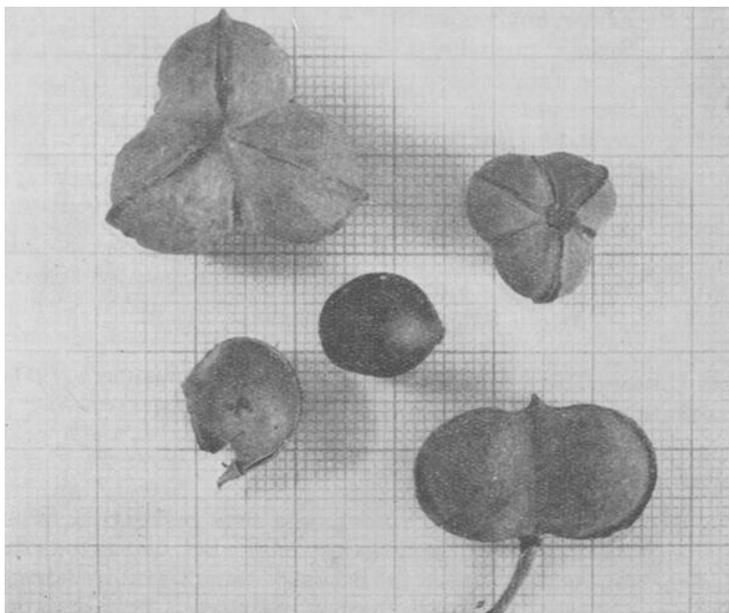
*J. curcas* podría ser considerada una planta que tiene alta capacidad de ajuste osmótico debido a la reducción de la conductividad estomática, reducción de crecimiento, bajo estrés por salinidad y sequía (Silva *et al.*, 2010a, b, 2013, Sapeta *et al.*, 2013). Díaz-López *et al.* (2012b) mencionaron que la disminución de la conductividad estomática se produjo sin ningún cambio en la presión de turgencia, sugieren que el cierre de los estomas es un proceso activo para mantener el estado hídrico de la planta, evitando la pérdida de agua por la transpiración.

Bajo estrés por la salinidad, la acumulación de azúcares solubles totales, prolina y aminoácidos se incrementaron para proteger los daños de radicales libres y desnaturalización (Silva *et al.*, 2013, dos Santos *et al.*, 2013). Además, el estrés salino indujo aumento de la actividad de SOD, CAT, APX y POX, mientras que la peroxidación lípido y la difusión electrolítica se incremento por la salinidad (Kumar *et al.*, 2008, Silva *et al.*, 2013). Posiblemente, el aumento de la actividad antioxidante no podría ser suficiente para detener los efectos negativo de NaCl (Campos *et al.*, 2012).

En general, la salinidad reduce la acumulación de nitrógeno en las plantas. Sin embargo, Patel *et al.*, (2010) reportaron que *J. curcas* aumentó el contenido de nitrógeno con el aumento de la salinidad por incremento del contenido de prolina.

#### 2.11. *Jatropha cinerea*

*Jatropha cinerea* (Arizona nettlespurge, ashy jatropha, ashy limberbush) se conoce en México con el nombre de Lomboy y pertenece a la familia Euphorbiaceae. Es una especie relacionada con *J. curcas*. *J. cinerea* es una más de las especies arbóreas dominantes en Baja California Sur, México (Arriaga y León, 1989). *J. cinerea* se encuentra en la zona costera, así como en la zona no salina y marginal en Baja California Sur. Necesita de una temperatura mínima de 15°C. Se encuentra en tierras marginales con suelo salino a lo largo de las áreas rocosas y costeras. Es un árbol de 1-5 m de altura, con un tamaño de hoja de 2-7 cm. Sus frutos tienen de 3 a 4 de semillas y su tamaño es 1-1.2 cm; cada semilla pesa aproximadamente 0.5 g. La semilla cuenta con los siguientes valores bromatológicos: proteína 28%, fibra 6%, aceite 50%, carbono 4% (Bachstes y Gomez, 1947). En verano, la planta asume una coloración violeta rojizo. Por su succulencia se ha utilizado como medicina tradicional por los habitantes en estas zonas áridas.



**Figura 3.** Fruto de *Jatropha cinerea* (Fuente: Bachstes y Gomez, 1947)

### 3. JUSTIFICACIÓN

Con base al plan de bioenergéticos del país, uno de las estrategias para el desarrollo bioenergético, es promover y desarrollar los cultivos sin poner en riesgo la seguridad alimentaria del país. *Jatropha curcas*, es una planta que contiene elevada concentración de aceite en su semilla, la cual podría ser un cultivo alternativo en las zonas áridas, debido a su alta capacidad de adaptación a tierras marginales con bajo o nulo potencial productivo. Por otra parte, debido a que *J. curcas* es un cultivo con moderada tolerancia a la salinidad, es factible de utilizar como una oportunidad para reintegrar suelos improductivos a la producción agrícola, que generalmente tienen problemas por contaminación de sales y poca disponibilidad de agua, evitando la competencia por los recursos de suelo y agua para la producción de alimentos. Los reportes publicados a la fecha mencionan que el crecimiento y la producción de semilla pueden variar por la salinidad. Sin embargo, no existen suficientes estudios sobre cultivo de *Jatropha curcas* en suelos salinos o en riego con agua contaminada con sales, los cuales son características del desierto. La respuesta de *Jatropha curcas* bajo condiciones de estrés abiótico por salinidad y el efecto de fertilización nitrogenada bajo estrés salino comparando con *Jatropha cinerea*, la cual se adapta a suelo seco y salino, podrá dar un avance para establecer el manejo agronómico de este cultivo en las zonas áridas del noroeste de México.

#### 4. PROBLEMA CIENTÍFICO

Obtener información básica para evaluar el uso de la planta de *Jatropha curcas* como una oportunidad para reintegrar suelos improductivos a la producción agrícola, donde tiene problema de la salinidad con el suelo y agua, plantémoslos siguientes preguntas a resolver en el desarrollo de nuestra investigación.

- Umbral de salinidad para *J. curcas* y *J. cinerea* a tolerar conociendo la respuesta por indicadores del crecimiento, morfología, fisiología, bioquímica y el contenido de minerales a diferentes gradientes de salinidad bajo estudio.
- Conocer la diferencia de ambas especies de *Jatrophas* a la tolerancia a la salinidad en cada etapa de crecimiento.
- Conocer que especie tiene mayor tolerancia a la salinidad, *J. curcas* o *J. cinerea*? que indicador revela nivel de tolerancia a diferente gradientes de salinidad entre dos especies?
- Conocer si la fertilización nitrogenada en las dos especies puede mitigar el efecto de la salinidad por aumento de aplicación.
- Y finalmente, es factible que la especie de *J. curcas* puede tener producción de la semilla evitando el efecto del estrés salino y hasta que niveles de salinidad ?

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 *Objetivo General*

Evaluar la respuesta al estrés salino y la fertilización nitrogenada en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* a través de los cambios en indicadores de crecimiento, morfología, fisiología, bioquímica y el contenido de minerales en el tejido vegetal, así como la producción de semilla que nos de la información básica para determinar la capacidad de establecer su cultivo en suelos salinos irrigados con agua de moderada a elevada salinidad.

### 5.2. *Objetivo Particulares*

1. Evaluar la respuesta al estrés salino en la etapa de germinación de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* por los cambios en los indicadores de crecimiento tales como biomasa y porcentaje de germinación.

2. Evaluar la respuesta al estrés salino en la etapa de desarrollo vegetativo de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* por cambios en los indicadores de biomasa, crecimiento, estado hídrico, actividad fotosintética, pigmentos fotosintéticos, contenido de minerales y actividad enzimática antioxidante.

3. Evaluar la respuesta a la fertilización nitrogenada bajo estrés salino en la etapa de desarrollo vegetativo de *Jatropha curca* y *Jatropha cinerea* por cambios en los indicadores de biomasa, estado hídrico, pigmentos fotosintéticos y contenido de minerales.

4. Evaluar la respuesta al estrés salino en etapa de producción de semilla de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* por cambios en los indicadores de estado hídrico, actividad fotosintética, pigmentos fotosintéticos, contenido de minerales, actividad enzimática antioxidante y rendimiento de semillas.

## 6. HIPÓTESIS

Bajo condiciones de estrés por salinidad, *Jatropha curcas*, que es una especie nativa de las zonas tropicales y *Jatropha cinerea*, la cual se adapta a suelo seco y salino, mostrarán respuestas diferenciadas en la morfología, fisiología y bioquímica que repercutirán en el rendimiento de semillas para aclimatarse al estrés salino. Además, las dos especies de *Jatrophas* mostrarán diferente nivel de tolerancia a la salinidad en la germinación, desarrollo vegetativo y producción de semilla. Por otra parte, el efecto de la salinidad afectara la absorción de iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  y la aplicación de una fertilización nitrogenada aumentara la producción de biomasa y mejorara el estado hídrico de las plantas moderando el efecto del estrés salino.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### *7.1. Recolección de semillas*

Las semillas de *J. curcas* fueron adquiridas en el mercado de las comunidades rurales de la zona de Papantla en el estado de Veracruz en el año de 2009. Por otra parte, las semillas de *J. cinerea* se colectaron en las poblaciones naturales que crecen en el campo experimental del Cproveg (Campo de propagación vegetativa del Gobierno del Estado) en la delegación de El Carrizal, La Paz, BCS el 15 de diciembre de 2009.

### *7.2. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de germinación*

#### *7.2.1. Siembra de semilla*

Las semillas de *J. curcas* y *J. cinerea* se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 0.5% por 10 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada. Se colocaron diez semillas en cajas petri con distintas soluciones de NaCl (0 mM (control), 50 mM, 100 mM, 200 mM) en un ambiente controlado dentro de una cámara de germinación con temperatura de 25°C y ausencia de luz total. La germinación se consideró cuando la radícula alcanzó una longitud de 1 mm.

#### *7.2.2. Evaluación de la germinación y emergencia*

Se evaluaron el porcentaje de germinación, la longitud de la radícula ( $r$ ) y del hipocótilo ( $h$ ) y la relación de  $h/r$  después de los diez días de la siembra. Posteriormente, se registraron los pesos frescos de la radícula y del hipocótilo. Para obtener el peso seco de los tejidos mencionados, las plantas fueron deshidratadas en un horno a 80°C por 48 h, respectivamente.

### 7.2.3. Análisis estadístico

Se efectuó el análisis de varianza (ANOVA) con los datos obtenidos seguido de pruebas post'hoc de Tukey para las comparaciones múltiples ( $p < 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK). Para el análisis de porcentaje de germinación, los datos fueron transformados previamente por con la función arcoseno (Sokal y James, 1988) para ANOVA.

## 7.3. Efectos del estrés por salinidad en la etapa vegetativa

### 7.3.1. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, estado hídrico, contenidos de minerales y actividad de antioxidantes en la etapa vegetativa

#### 7.3.1.1. Material vegetal y cultivo

El 2 de marzo de 2010 semillas de *J. curcas* y *J. cinerea* fueron sembradas en una cámara de germinación a 25°C de temperatura en la obscuridad por 14 días. Posteriormente cuatro plántulas fueron trasplantadas en macetas (4L) con sistema hidropónico con tres réplicas, cambiando la solución nutritiva una vez por semana. Al inicio las plántulas se cultivaron con una solución Hoagland (Hoagland y Snyder, 1933) (pH 5.0) al 50% sin tratamiento de NaCl por un periodo de una semana. Después de este tiempo, se aplicaron los tratamientos de NaCl (0 mM (control), 50 mM, 100 mM, 200 mM) en dicha solución de Hoagland al 50%.

El experimento se realizó en el invernadero con una protección de malla sombra en el campo experimental del Programa de Agricultura en Zonas Áridas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), ubicado en los terrenos costeros

de El Comitán, localizado a 24° 08' latitud norte y 110° 24' longitud oeste, La Paz, Baja California Sur, México. La temperatura promedio durante el periodo del cultivo fue 22.5°C.

### 7.3.1.2. Evaluación del crecimiento

Para obtener los datos de crecimiento, los periodos de recolección de las muestras en los tratamientos estudiados fueron a los 0 y 28 días. Las plántulas se cosecharon, se midió la longitud del tallo y la raíz y se registraron los pesos frescos de tallo, hoja y raíz. Se midió el área foliar con un medidor portátil (LI-3000A, LI-COR Biosciences, Lincoln, NE). Posteriormente, las plantas fueron deshidratadas en un horno a 70°C por 48 hrs para registrar los pesos secos de tallo, hoja y raíz. Además, se calculó la tasa relativa de crecimiento (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR), el cociente de la superficie foliar (LAR), todas ellas referidas por sus siglas en inglés con las fórmulas siguientes:

$$\text{RGR (g g}^{-1} \text{ día}^{-1}) = (\text{InPS}_{t_2} - \text{PS}_{t_1}) / (t_2 - t_1)$$

$$\text{NAR (g cm}^{-2} \text{ day}^{-1}) = [(\text{PS}_{t_2} - \text{PS}_{t_1}) \times (\text{InLAI}_{t_2} - \text{InLAI}_{t_1})] / [(t_2 - t_1) \times (\text{LAI}_{t_2} - \text{LAI}_{t_1})]$$

$$\text{LAR (cm}^2 \text{ g}^{-1}) = (\text{AF}_{t_2} - \text{AF}_{t_1}) / (\text{PS}_{t_2} - \text{PS}_{t_1}) \times [(\text{In PS}_{t_2} / \text{PS}_{t_1}) / (\text{In AF}_{t_2} / \text{AF}_{t_1})]$$

donde, PS = peso seco, LAI (índice área foliar), t = día de cosecha, 1 = primer día de cosecha (0 días después del tratamiento) y 2 = último día de cosecha (28 días después del tratamiento), AF = área foliar.

El contenido de agua fue calculado con la fórmula siguiente:

$$\text{Contenido de agua (\%)} = [(\text{PF} - \text{PS}) / \text{PF}] \times 100$$

donde, PS = peso seco, PF = peso fresco.

#### 7.3.1.3. Conductividad estomática

El registro de la resistencia a la difusión estomática y la tasa de transpiración ( $E$ ) se realizaron con un porómetro (LI-1600, LI-COR Biosciences) a los 14 días de tratamiento. La conductividad estomática ( $g_s$ ) se calculó como el inverso de la resistencia a la difusión estomática. Las mediciones se realizaron dos veces; de las 09:00 a las 10:00 h (mañana) y de las 12:00 a las 13:00 h (mediodía) en el invernadero. La temperatura de la hoja fue  $21.2 \pm 0.8^\circ\text{C}$  en la mañana y  $32.6 \pm 0.4^\circ\text{C}$  a mediodía. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) en el invernadero fue  $388 \pm 72 \text{ mol cm}^2 \text{ s}^{-1}$  en la mañana y  $594 \pm 46 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  a mediodía.

#### 7.3.1.4. Clorofila

El grado de descomposición de la clorofila de las hojas se determinó utilizando un medidor (SPAD-502, Cámara Minolta, Tokio, Japón), para medir la fluorescencia de la clorofila en la tercera hoja desde el ápice una vez por semana durante 4 semanas, respectivamente.

#### 7.3.1.5. Potencial hídrico

El registro de potencial hídrico se llevó a cabo con un higrómetro (WE4-T, Decagon Devices, Pullman, WA) en las hojas de la tercera posición del punto de crecimiento de la planta, en muestras colectadas a los 14 días (10 h de la mañana).

#### 7.3.1.6. Composición de minerales

Las muestras de tejido vegetal de *J. curcas* y *J. cinerea* se deshidrataron en horno a  $70^\circ\text{C}$  por 48 hrs. Los tejidos de las hojas, tallo y raíces se pulverizaron en molino eléctrico

hasta obtener un material completamente fino y homogéneo. Para el análisis de cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ ), se pesaron 0.2 g, realizando su extracción mediante digestión ácida y adicionando 5.0 ml de solución digestiva ( $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HClO}_4:\text{HNO}_3$ ) en la proporción 1:4:10. Las muestras se colocaron en una plancha caliente. Una vez digeridas, se adicionaron 3 ml de ácido clorhídrico al 50%. El contenido de cationes se analizó con un espectrofotómetro de absorción atómica (AA660, SHIMAZU, Kyoto, Japón). Para determinar el análisis de aniones ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{N-NO}_3^{2-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ ), se pesaron 0.3g de cada muestra seca y molida. Para su digestión, las muestras se calentaron durante 1 min en ebullición y se filtraron con papel filtro. El contenido de aniones se determinó mediante cromatografía de iones (HIC-6A, SHIMAZDU, Kyoto, Japón).

Las concentraciones de soluto de tejido fueron convertidos a la osmolaridad basado en el contenido de agua de los tejidos. El potencial osmótico ( $\Psi_s$ ) de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  se calculó de acuerdo a la ecuación de van't Hoff:  $\Psi_s = -nRT/V$ , donde n=número de moléculas de soluto, R=constante universal de los gases, T=temperatura en grados Kelvin, y V=volumen en litros (Song *et al.*, 2006).

#### 7.3.1.7. Preparación de extractos crudos

Para los análisis bioquímicos (proteína total, superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), concentración de malondialhído (TBARS), se tomaron muestras de la tercera hoja de la planta a partir del apice a los 21 días. Después del muestreo las hojas se congelaron con nitrógeno líquido y se mantuvieron a  $-80^\circ\text{C}$  en un ultra congelador hasta analizarlas. Las muestras fueron pulverizadas con nitrógeno líquido utilizando un mortero y un pistilo. Se homogenizaron 0.2 g de muestra con 2 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M,

pH 7.0, además de 0.2 g de polivinil-polipirrolidona (PVPP), 20  $\mu$  de fenil-metil-sulfonil fluoruro (PMSF) 1  $\mu$ M en hielo. Se centrifugó a 10,620 g a 4°C por 10 min. Los extractos crudos obtenidos se dividieron en tubos eppendorf para realizar los análisis bioquímicos.

#### *7.3.1.8. Contenido de proteína total*

El contenido de proteína total se determinó de acuerdo al método descrito por Bradford (1976), el cual consiste en utilizar el colorante azul (Bio-Rad, Cat. 500-0006), que en respuesta a la concentración de proteína reacciona con los residuos de los amino ácidos básicos, especialmente la arginina. La determinación de proteína se realizó por triplicado expresándose en  $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ .

#### *7.3.1.9. Actividad de la superóxido dismutasa (SOD) total*

La actividad enzimática SOD total (E.C. 1.15.1.1) se midió de acuerdo al método descrito por Suzuki (2000). Se utilizó el sistema xantina/xantina oxidasa como un generador constante del radical superóxido, el cual al entrar en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT) lo reduce y forma un producto llamado formazán cuyo cambio puede ser detectado por espectrofotometría cuando la SOD inhibe la reducción del NBT. Se midió el cambio de absorbencia a 560 nm por espectrofotometría (Jenway 6505, Jenway, UK) cada 30 s por 5 min. El método define una unidad de SOD como la cantidad de enzima que causa el 50% de inhibición de NBT a formazán. La determinación de la SOD se realizó por triplicado expresándose en unidad de  $\text{SOD} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ .

#### *7.3.1.10. Actividad de la catalasa (CAT)*

La actividad enzimática CAT (E.C. 1.11.1.6) fue medida de acuerdo al método

descrito por Aebi (1984), mediante la desaparición de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en solución amortiguadora y seguida de una longitud de onda de 240 nm en espectrofotómetro (Jenway 6505, Jenway, UK). La mezcla de la reacción estuvo compuesta por  $H_2O_2$  20 mM en la solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 7.0 y 10  $\mu$ l de extracto de enzima en un volumen total de 1.5 mL. La solución amortiguadora se mantuvo a 25°C y las muestras a 4°C. La determinación de la CAT se realizó por triplicado expresándose en unidad de CAT  $\cdot$  mg proteína<sup>-1</sup>.

#### *7.3.1.11. Actividad de la peroxidasa (POX)*

La actividad enzimática POX (E.C. 1.11.1.7) se midió de acuerdo al método descrito por Kar y Mishra (1976). Se homogenizaron 0.2 g de muestra pulverizada en mortero con buffer de fosfato de potasio 0.1M, pH 6.8. Se centrifugaron 2,124 g a 4°C por 15 min. La mezcla de 2.5 ml de reacción contiene 500  $\mu$ l de enzima, 125  $\mu$ l de buffer de fosfato de potasio, 24.5  $\mu$ l de  $H_2O_2$ . Esta mezcla se incubó a 25°C por 1 min. La reacción se detuvo para adicionar 0.5 ml de  $H_2SO_4$  5% (v/v). La cantidad de purpurogalina se determinó por la medición de la absorbencia a 420 nm por espectrofotometría (Jenway 6505, Jenway, UK).

#### *7.3.1.12. Nivel de peroxidación de lípidos (TBARS)*

La concentración de TBARS se determinó de acuerdo al método descrito por Persky *et al.*, (2000). Los hidroperóxidos y aldehídos lípidos resultantes de la peroxidación de la membrana celular reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar malondialhído (MDA), un pigmento rosa cristalino con absorción máxima de 535 nm. La mezcla de la reacción estuvo compuesta por 250  $\mu$ l de extracto de enzima, 250  $\mu$ l de ácido

tricloroacético (TCA) y 500  $\mu$ l de TBA. La mezcla de la reacción se incubó a 90°C por 30 min. Posteriormente se colocaron en baño de hielo para enfriarlos. Se centrifugaron a 2,655 g a 4°C por 10 min. La medición de malondialdehído se realizó a 535 nm de longitud de onda por espectrofotometría (Jenway 6505, Jenway, UK); el contenido de TBARS se expresó como nmol TBARS  $\cdot$  mg de proteína<sup>-1</sup>.

#### *7.3.1.13. Análisis estadístico*

Los datos obtenidos fueron determinados por el análisis de varianza (ANOVA) seguido de pruebas post'hoc de Tukey ( $P < 0.05$ ) para las comparaciones múltiples utilizando el paquete estadístico STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK). El análisis de componentes principales (PCA:  $P < 0.05$ ) se realizó utilizando el paquete estadístico XLSTAT v. 2013.5.05 (Addinsoft, Paris, France).

#### *7.3.2. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, estado hídrico y contenido de minerales en la etapa vegetativa*

##### *7.3.2.1. Material vegetal y cultivo*

Para evaluar el efecto de NaCl en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, se cultivaron *J. curcas* y *J. cinerea* en el 14 de Julio de 2010. Las semillas fueron sembradas en una cámara de germinación con temperatura a 25°C en la oscuridad por 14 días. Posteriormente, tres plántulas fueron trasplantadas en macetas (4L) con sistema hidropónico, cambiando la solución nutritiva una vez por semana. Al inicio, las plántulas se cultivaron con una solución de Hoagland (pH 5.0) al 50% sin tratamiento de NaCl por una semana. Después de este tiempo, se aplicaron los tratamientos de NaCl (0 mM (control), 25 mM, 50 mM, 100 mM) conteniendo en todos los tratamientos salinos solución de Hoagland al 50%,

respectivamente.

Este experimento se realizó en el mismo lugar del experimento anterior (7.3.1), con cinco repeticiones. La temperatura promedio durante el cultivo fue 26.0°C.

#### 7.3.2.2. Evaluación de crecimiento

Para la obtención de datos de campo, los periodos de recolección de las muestras en los tratamientos estudiados fueron a los 0 y 21 días. Las plántulas fueron cosechadas midiendo la longitud del tallo y de la raíz; se registraron los pesos frescos de tallo, hojas y raíz. Posteriormente, las plantas fueron deshidratadas en un horno a 70°C por 48 hrs para registrar los pesos secos de tallo, hojas y raíz.

#### 7.3.2.3. Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> en el tejido de las hojas

Los registros de la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> ( $A$ ),  $E$ ,  $g_s$  y la concentración de CO<sub>2</sub> intercelular ( $C_i$ ) se midieron con el analizador de gas (LCi, ADC, Hoddesdon, UK) en el periodo de aplicación de los tratamientos a los 18 días. El promedio de la condición de medición ambiental fue en temperatura,  $37 \pm 3^\circ\text{C}$ , la de RFA de  $340 \pm 60 \text{ mol cm}^2 \text{ s}^{-1}$  y 40% de humedad relativa.

La eficiencia de la carboxilación instantánea y eficiencia del uso de agua fue calculada con la fórmula siguiente:

$$\text{Eficiencia de la carboxilación instantánea} = A/C_i$$

$$\text{Eficiencia del uso de agua} = A/E$$

Donde,  $A$  = tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>,  $C_i$  = concentración de CO<sub>2</sub> intercelular,  $E$  = tasa de transpiración.

#### 7.3.2.4. Contenido de clorofila

Los registros de los contenidos de la clorofila *a*, *b* y total se llevaron a cabo a los 21 días, colectando las muestras de la tercera hoja (3.9cm<sup>2</sup>) y depositándolas en solución de acetona al 80% por 72 horas a 24°C en oscuridad. El contenido de clorofila se determinó con la absorbencia a longitudes de onda de 645 nm y 663 nm en un espectrofotómetro (DU800, Beckman Coulter, CA).

El contenido de clorofila fue calculado con las fórmulas siguientes:

$$\text{Clorofila } a = (A_{663} \times 12.7) - (A_{645} \times 2.59)$$

$$\text{Clorofila } b = (A_{645} \times 22.9) - (A_{663} \times 4.68)$$

$$\text{Clorofila Total} = \text{Clorofila } a + \text{Clorofila } b$$

#### 7.3.2.5. Estado hídrico

Para el registro del potencial hídrico, las colectas de muestras se tomaron de las hojas en la tercera posición del punto de crecimiento de la planta a los 7, 14 y 21 días (11 de la mañana). El potencial hídrico se midió con un higrómetro (WE4-T, Decagon Devices, Inc).

El contenido relativo de agua (RWC) se determinó como un indicador de equilibrio. El RWC se estimó con la modificación del método de Smart y Bingham (1974). Las muestras se tomaron de las hojas en la tercera posición del punto de crecimiento de la planta a los 21 días. El RWC se calculó con las fórmulas siguientes:

$$\text{RWC (\%)} = [(PF-PS) / (PT-PS)] \times 100$$

Donde; PF = peso fresco, PS = peso seco, y PT = peso turgente.

#### *7.3.2.6. Composición de minerales*

Las muestras de tejido vegetal de *J. curcas* y *J. cinerea* se deshidrataron en horno a 70°C por 48 hrs. Los tejidos de las hojas, tallo y raíces se pulverizaron en molino eléctrico hasta obtener un material completamente fino y homogéneo. Para el análisis de cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ), se pesaron 0.2 g, realizando su extracción mediante digestión ácida y adicionando 5.0 ml de solución digestiva ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ : $\text{HClO}_4$ : $\text{HNO}_3$ ) en la proporción 1:4:10. Las muestras se colocaron en una plancha caliente. Una vez digeridas, se adicionaron 3 ml de ácido clorhídrico al 50%. El contenido de cationes se analizó con un espectrofotómetro de absorción atómica (AA660, SHIMAZU, Kyoto, Japón). Para determinar el análisis de aniones ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{N-NO}_3^{2-}$ ), se pesaron 0.3g de cada muestra seca y molida. Para su digestión, las muestras se calentaron durante 1 min en ebullición y se filtraron con papel filtro. El contenido de aniones se determinó mediante cromatografía de iones (HIC-6A, SHIMAZDU, Kyoto, Japón).

#### *7.3.2.7. Análisis estadístico*

Los datos obtenidos se determinaron por el análisis de varianza (ANOVA) seguido de pruebas post'hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ) para las comparaciones múltiples utilizando el paquete estadístico para computadora STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK).

### *7.4. Efecto de la fertilización nitrogenada contra el estrés por salinidad en la etapa de crecimiento vegetativo*

#### *7.4.1. Cultivo y análisis de crecimiento*

Las semillas se sembraron en un sustrato de vermiculita esterilizado a 25°C en la oscuridad para estimular la germinación. En 20 días, las plántulas uniformes en la etapa de

la primera hoja fueron trasplantadas a macetas de 4 L con 4 litros de solución de control para el cultivo hidropónico (Tabla IV) en un invernadero con iluminación natural. Después de 12 días, las plantas se sometieron a dos niveles de concentración de nitrógeno: 4 mM y 8 mM, preparados con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . El tratamiento con N se combinó con tres niveles de NaCl de 0 mM, 50 mM y 100 mM para evaluar el efecto de interacción entre  $\text{N}_2$  y NaCl. Las plantas fueron cultivadas durante tres semanas bajo tratamiento y la solución se cambió cada semana. La solución se mantuvo con aire continuamente y el pH se ajustó a 5.0 utilizando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluido y KOH. El experimento incluyó cuatro réplicas de dos plantas en cada tratamiento. La temperatura promedio durante el cultivo fue 18.0°C.

**Tabla IV.** Composición de la solución de cultivo

	Concentración (mM)					
	Nivel de nitrógeno 4 mM			Nivel de nitrógeno 8 mM		
NaCl	0(Control)	50	100	0	50	100
N	4.0	4.0	4.0	8.0	8.0	8.0
P	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
K	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
Ca	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mg	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
EC(dSm <sup>-1</sup> )	1.1	5.7	9.5	1.2	5.8	9.6

La concentración de micronutrientes ( $\text{g m}^{-3}$ ) fue Fe: 2.0, Mn: 0.5, B: 0.2, Zn: 0.1, Cu: 0.01, Mo: 0.005.

#### 7.4.2. Análisis de crecimiento

Las plantas se cosecharon a los 21 días de tratamiento y se lavaron con agua destilada para eliminar el polvo y otros residuos. Las plantas se separaron en hojas, tallo y raíz y se registró sus pesos frescos. El área foliar se midió con un medidor portátil (LI-3000A,

LI-COR Biosciences, Lincoln, NE). Todas las muestras de raíz, tallo y hojas se deshidrataron en un horno a 70°C durante 48 h para obtener el peso seco.

#### 7.4.3. *Clorofila*

La fluorescencia de la clorofila de la hoja se determinó utilizando un medidor (SPAD-502, Konica-Minolta, Tokio, Japón) en la tercera hoja de la planta a partir del apice una vez por semana por 21 días.

#### 7.4.4. *Composición de minerales*

Las muestras de tejido vegetal se deshidrataron en horno por 48 hrs. Las concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Z-6100, Hitachi, Tokio, Japón) después de la digestión con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{NO}_3^-$  fueron extraídos en agua hirviendo y la concentración se determinó por cromatografía de iones (HIC-6A, Shimadzu, Kyoto, Japón). El nitrógeno total se determinó de acuerdo con los métodos Gunning-kjeldahal.

#### 7.4.5. *Difusión electrolítica*

La difusión electrolítica se utilizó para evaluar la estabilidad de la membrana. La difusión electrolítica se midió basándose en Lutts *et al.* (1996) utilizando un medidor manual de la calidad de agua (D-54, HORIBA, Kyoto, Japón). Un  $\text{cm}_2$  de cinco discos de hoja para cada tratamiento se lavaron tres veces con agua desionizada para eliminar la contaminación superficial. Los discos de las hojas se colocaron en viales cerrados individualmente con 10 ml de agua desionizada y se incubaron en un agitador a 25°C por 24 horas. Después de tomar la lectura de la conductividad eléctrica de la solución ( $\text{EC}_1$ ), las

muestras se trataron en autoclave a 120°C por 20 min y la última lectura (EC<sub>2</sub>) se determinó después de enfriar la solución a 25°C. La EL se define como sigue:

$$\text{Difusión eléctrica (\%)} = EC_1 / EC_2 \times 100$$

#### 7.4.6. Estado hídrico en las hojas

Para realizar la determinación del potencial osmótico de hojas, las hojas totalmente expandidas se molieron en nitrógeno líquido. Las muestras se centrifugaron a 10.000 g por 10 min. El potencial osmótico de la savia se midió mediante un osmómetro de presión de vapor (Vapro Osmómetro 5520, Wescor Inc., UT).

$$\text{El contenido de agua (CA) se calculó como: } CA (\%) = [(PF - PS) / PF] \times 100$$

Donde: PF = peso fresco, PS = peso seco.

#### 7.4.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron determinados por el análisis de varianza (ANOVA) seguido de pruebas post'hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ) para las comparaciones múltiples utilizando el paquete estadístico STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK).

### 7.5. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de producción de semillas

#### 7.5.1. Material vegetal y cultivo

El 2 de Marzo de 2010 las semillas de *J. curcas* y *J. cinerea* fueron sembradas en una cámara de germinación con temperatura a 25°C en la obscuridad por 14 días. Posteriormente fueron trasplantadas en macetas de 4 L con sustrato (50% de musgo de turba y 50% de arena). Al inicio del trasplante, se regaron con una solución de Hoagland (pH 5.0) al 50%. Después de un año, las plantas fueron trasplantadas a macetas de 100 L en

área abierta. Tres meses después del trasplante, iniciaron el tratamiento de salinidad utilizando el agua de pozo con alto contenido de sal y agua para riego. Los tratamientos fueron los siguientes: control (100% de agua de riego), nivel de salinidad 1 (50% de agua de riego + 50% de agua de pozo) y nivel de salinidad 2 (100% de agua de pozo). El agua de riego se mezcló con un fertilizante triple-20 (NPK) para contener 150 ppm de nitrógeno, fósforo y potasio. Las semillas de las plantas fueron cosechadas en abril y agosto de 2012 y se determinó el peso seco y el número de semillas.

#### *7.5.2. Crecimiento*

Para obtener los datos de la altura de planta y diámetro del tallo, los periodos de la recolección de muestras en los tratamientos estudiados fueron a 40 meses. El diámetro de tallo se midió 5 cm arriba de la superficie.

#### *7.5.3. Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> del tejido de las hojas*

Los registros de  $A$ ,  $E$ ,  $g_s$  y  $C_i$  se realizó con el analizador de gas (LCi, ADC, Hoddesdon, UK) el 31 de octubre de 2012. Las evaluaciones se realizaron de las 10:30 a las 11:30 h con iluminación natural en el campo bajo  $41 \pm 1^\circ\text{C}$  de temperatura de aire,  $1500 \pm 200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de RFA (radiación fotosintéticamente activa) y  $200 \pm 1 \mu\text{mol s}^{-1}$  de flujo de aire.

#### *7.5.4. Contenido de clorofila*

Para registrar los contenidos de clorofila  $a$ ,  $b$  y total, se colectaron las muestras de la tercera hoja ( $3.9\text{cm}^2$ ) a partir del ápice de la planta el 31 de noviembre de 2012, depositándolas luego en solución de acetona al 80% en la oscuridad por 72 horas. La clorofila  $a$  y  $b$  se

determinaron a través de la absorbencia en un espectrofotómetro (DU800, Beckman-Coulter, Brea, CA) a 645 nm y 663 nm de longitudes de onda, respectivamente.

El contenido de clorofila fue calculado con las fórmulas siguientes:

$$\text{Clorofila } a = (A_{663} \times 12.7) - (A_{645} \times 2.59)$$

$$\text{Clorofila } b = (A_{645} \times 22.9) - (A_{663} \times 4.68)$$

$$\text{Clorofila Total} = \text{Clorofila } a + \text{Clorofila } b$$

La degradación de clorofila en las hojas se determinó en la tercera hoja desde el ápice utilizando un medidor (SPAD-502, Cámara Minolta, Tokio, Japón) el 31 de octubre 2012.

#### *7.5.5. Estado hídrico en las hojas*

Para el registro del potencial hídrico, se tomaron las hojas del tercer nudo desde el punto de crecimiento de la planta el 1 de noviembre de 2012. Inmediatamente, el potencial hídrico se registró con un higrómetro (WE4-T, Decagon Devices, Pullman, WA) en el laboratorio.

#### *7.5.6. Análisis de minerales de tejido vegetal y solución de nutrientes*

Las muestras del tejido vegetal se deshidrataron en el horno por 48 h. Las concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Z-6100, Hitachi, Tokio, Japón) después de la digestión con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  $\text{Cl}^-$  y  $\text{NO}_3^-$  fueron extraídos en agua hirviendo y la concentración se determinó por cromatografía de iones (HIC-6A, Shimazu, Kyoto, Japón). El nitrógeno total se determinó de acuerdo con el método Kjeldahal.

Las concentraciones de soluto de tejido fueron convertidos a la osmolaridad basado en

el contenido de agua de los tejidos. El potencial osmótico ( $\Psi_s$ ) de iones inorgánicos se calcularon de acuerdo a la ecuación de van't Hoff:  $\Psi_s = -nRT / V$ , donde n = número de moléculas de soluto, R = constante universal de los gases, T = temperatura en grados Kelvin, y V es el volumen en litros (Song *et al.*, 2006).

#### *7.5.7. Preparación de extractos crudos*

Para los análisis bioquímicos (proteína total, SOD, CAT, TBARS), la muestra se tomó el 31 de octubre de 2012 en la tercera hoja de la planta a partir del apice. La preparación de extractos crudos fue realizada con el mismo procedimiento mencionado en el inciso 7.3.1.7.

#### *7.5.8. Contenido de proteína total, SOD, CAT, POX, TBARS*

La determinación del contenido de proteína, la actividad de SOD, CAT, POX y nivel de peroxidación de lípidos (TBARS) fue realizado con el mismo procedimiento especificado en los incisos 7.3.1.8. a 7.3.1.12.

#### *7.5.9. Análisis estadístico*

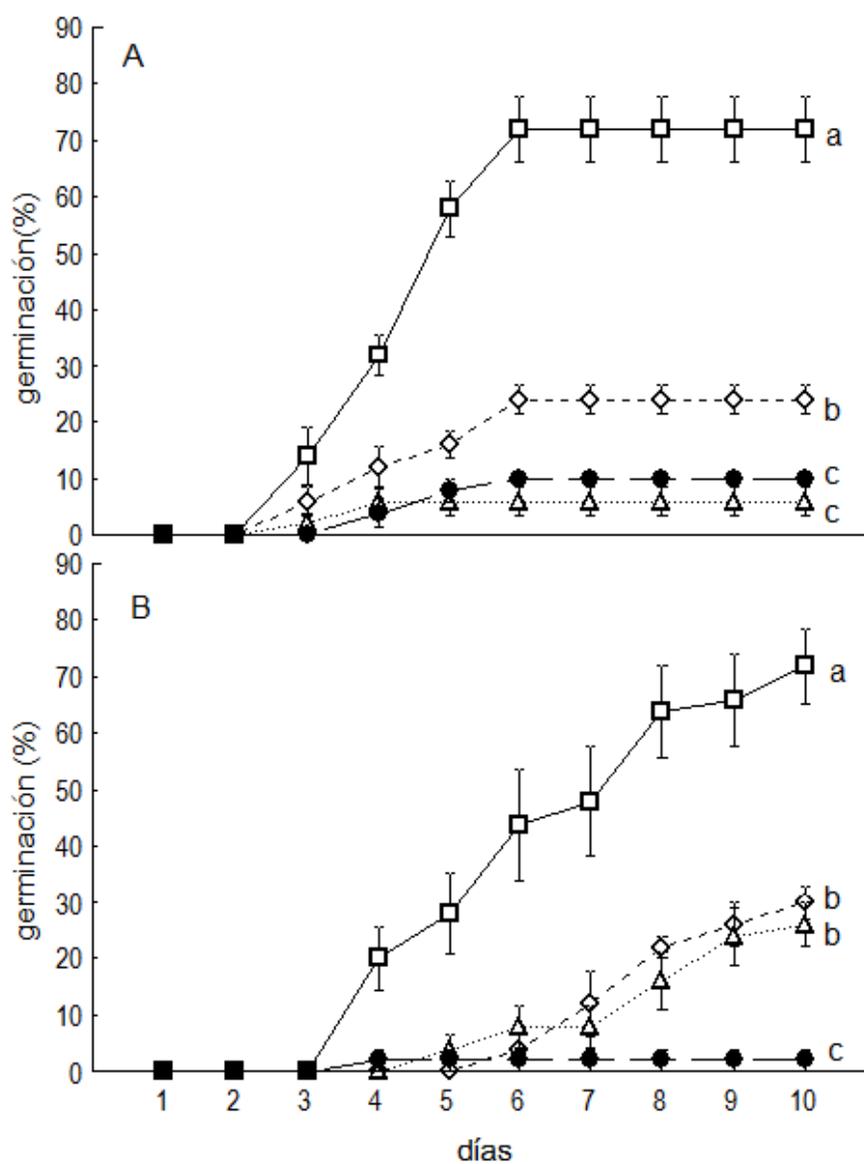
Los datos obtenidos fueron determinados por el análisis de varianza (ANOVA) seguido de pruebas post'hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ) para las comparaciones múltiples utilizando el paquete estadístico STATISTICA v.6 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK).

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Efectos del estrés por salinidad en la etapa de germinación

#### 8.1.1. Efecto en el porcentaje de germinación

La germinación se observó al tercer día en *J. curcas* y al cuarto día en *J. cinerea* (Figura 4). *J. curcas* alcanzó la máxima tasa de germinación al sexto día y *J. cinerea* en el décimo día. Hubo una disminución y un retraso por efecto de la salinidad en las dos especies. Al décimo día, ambas especies se vieron afectadas por la salinidad disminuyendo sus porcentajes de germinación significativamente en el tratamiento de 50 mM de NaCl. En *J. curcas*, la germinación disminuyó una vez más en 100 mM y en *J. cinerea* en 200 mM. En comparación, *J. cinerea* mantuvo un alto porcentaje hasta los 100 mM de NaCl con respecto a *J. curcas*. Por otra parte, *J. curcas* mostró mayor capacidad de germinación a los 200 mM de NaCl.

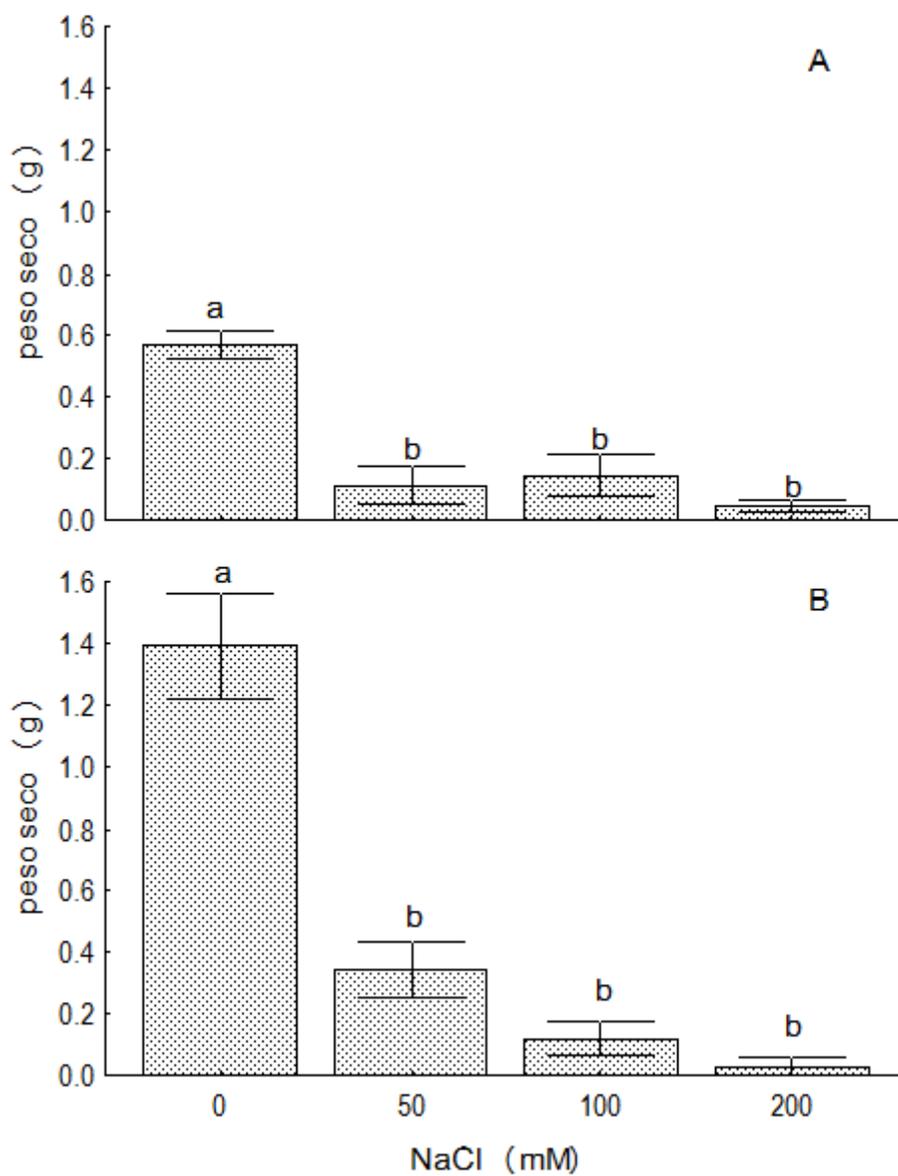


**Figura 4.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la germinación acumulada de *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Los datos representan la media  $\pm$  error estándar (n=5). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).  $\square$ – 0 mM NaCl,  $\diamond$ – 50 mM,  $\triangle$ – 100 mM,  $\bullet$ – 200 mM

### 8.1.2. Efecto en el crecimiento

El peso seco total disminuyó por los tratamientos de salinidad significativamente en 50 mM en las dos especies (Figura 5), de la misma forma el peso seco total de la raíz y del hipocótilo en los mismos 50 mM (Tabla V). Con relación al control, el peso seco de la raíz de *J. curcas* fue 23% en 50 mM, 21% en 100 mM, y 7% en 200 mM; en *J. cinerea* fue 30%, 12%, 1%, respectivamente. El peso seco del hipocótilo de *J. curcas* fue 18% en 50 mM, 35% en 100 mM, y 6% en 200 mM; en *J. cinerea* fue 24%, 8%, y 2%, respectivamente. El peso seco de la raíz y del hipocótilo de *J. curcas* se vio más afectado que los de *J. cinerea* por la salinidad en 50 mM. Sin embargo, *J. cinerea* fue afectada principalmente en altas concentraciones del sal (>100 mM). La relación hipocótilo/raíz (H/R) no se vio afectada por los tratamientos de salinidad en las dos especies (Tabla V).

La longitud de la raíz disminuyó con el aumento en la concentración de NaCl en la solución en ambas especies (Tabla V). *J. curcas* disminuyó su longitud de raíz en 50 mM mientras que *J. cinerea* en 100 mM. Con relación al control, la longitud de la raíz de *J. curcas* fue de 22% en 50 mM, de 17% en 100 mM, y de 8% en 200 mM; en *J. cinerea* fue de 32%, 16% y 1%, respectivamente. La longitud del hipocótilo también significativamente disminuyó por la aplicación del tratamiento de NaCl: en 50 mM en *J. curcas* y en *J. cinerea* en 100 mM (Tabla V). Con relación al control, el hipocótilo de *J. curcas* fue de 20% en 50 mM, de 25% en 100 mM, y de 14% en 200 mM; en *J. cinerea* fue de 30%, 14%, y 2%, respectivamente. Tanto la longitud de la raíz y del hipocótilo de *J. curcas* se vieron más afectadas que en *J. cinerea* por la salinidad en 50 mM. Sin embargo, *J. cinerea* se vio más afectada en altas concentraciones de sales (> 100 mM).



**Figura 5.** Efecto del NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el peso seco total de *Jatropha curcas* (A) y de *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=5). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).

El contenido de agua (CA) no se vió afectado significativamente por los tratamientos de NaCl en ninguna de las dos especies (Tabla V).

**Tabla V.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en peso seco (PS), contenido de agua (CA), la relación entre hipocótilo y radícula (H/R), longitud de radícula e hipocótilo de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio (n=5). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05)

NaCl (mM)	PS(g)		H/R	Longitud(mm)		CA
	radícula	hipocótilo		radícula	hipocótilo	
<i>Jatropha curcas</i>						
0	0.081 <sup>a</sup>	0.487 <sup>a</sup>	6.0 <sup>†</sup>	15.4 <sup>a</sup>	13.9 <sup>a</sup>	75.1 <sup>†</sup>
50	0.019 <sup>b</sup>	0.094 <sup>b</sup>	4.9 <sup>†</sup>	3.3 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>	75.0 <sup>†</sup>
100	0.017 <sup>b</sup>	0.124 <sup>b</sup>	7.6 <sup>†</sup>	2.6 <sup>b</sup>	3.5 <sup>b</sup>	80.2 <sup>†</sup>
200	0.006 <sup>b</sup>	0.039 <sup>b</sup>	6.8 <sup>†</sup>	1.3 <sup>b</sup>	1.9 <sup>b</sup>	85.0 <sup>†</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>						
0	0.079 <sup>a</sup>	1.312 <sup>a</sup>	18.1 <sup>a,b</sup>	25.8 <sup>a</sup>	24.2 <sup>a</sup>	76.3 <sup>†</sup>
50	0.024 <sup>b</sup>	0.315 <sup>b</sup>	12.9 <sup>a</sup>	8.3 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a,b</sup>	79.9 <sup>†</sup>
100	0.010 <sup>b</sup>	0.136 <sup>b</sup>	11.8 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>	3.4 <sup>b,c</sup>	78.3 <sup>†</sup>
200	0.001 <sup>b</sup>	0.027 <sup>b</sup>	26.3 <sup>b</sup>	0.2 <sup>b</sup>	0.6 <sup>c</sup>	87.6 <sup>†</sup>

† = no significativo

## 8. 2. Efectos del estrés por salinidad en la etapa vegetativa

### 8.2.1. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, estado hídrico, contenidos de minerales y actividad de antioxidantes

#### 8.2.1.1. Efecto en el crecimiento

La duración de aplicación del tratamiento de salinidad fue de 28 días; la producción de biomasa disminuyó por la salinidad en las dos especies de *Jatropha* evaluadas en este

estudio. Con relación al control, el peso seco total de *J. curcas* fue 46% en 50 mM, 16% en 100 mM y el 10% en 200 mM de NaCl; el de *J. cinerea* fue 55%, 32% y 8%, respectivamente (Figura 6). La biomasa de *J. curcas* disminuyó ligeramente más que en *J. cinerea* debido a la causa del estrés por salinidad. El crecimiento de *J. curcas* fue más afectado que el de *J. cinerea* en 50 y 100 mM. En 200 mM, las dos especies disminuyeron menos del 10% respecto al control, y el peso seco de la raíz y el vástago de ambas especies de *Jatropha* también se vieron afectados por el tratamiento de NaCl; la producción de biomasa de las raíces y del vástago en *J. curcas* fue más afectada que en *J. cinerea* (Tabla VI). En las raíces, el peso seco de *J. curcas* disminuyó significativamente en 50 mM y el de *J. cinerea* fue en 200 mM. *J. curcas* fue 53% en 50 mM, 23% en 100 mM y 14% en 200 mM de NaCl; en *J. cinerea* fue 64%, 47% y 12%, respectivamente. En el vástago, el peso seco disminuyó significativamente en 50 mM en las dos especies. En *J. curcas* fue 44% en 50 mM, 15% en 100 mM y 9% en 200 mM de NaCl; en *J. cinerea* fue 53%, 29% y 7%, respectivamente. Así, la salinidad afectó en mayor proporción la biomasa del vástago que la de la raíz.

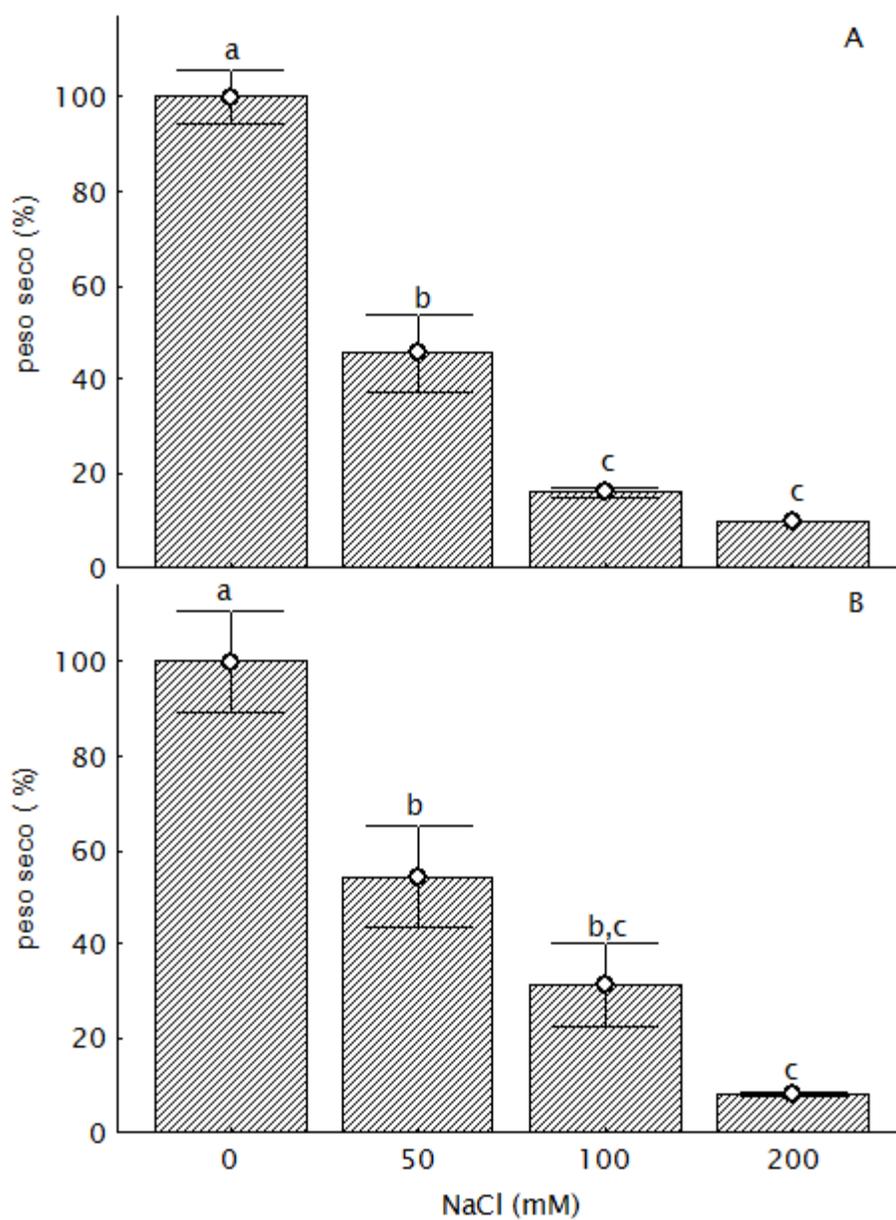
En las dos especies, la longitud del tallo y de la raíz disminuyó significativamente con el aumento de la concentración de NaCl (Tabla VI). En las dos especies, la longitud de la raíz disminuyó significativamente en 200 mM. En cambio la longitud del vástago de *J. curcas* disminuyó en 50 mM y en *J. cinerea* en 100 mM. Comparando el crecimiento de las raíces y del vástago, las raíces fueron afectadas en menor proporción que el vástago por el estrés de salinidad.

En las dos especies, la caída de las hojas se presentó en la primera semana después de la aplicación del tratamiento solo en las concentraciones de 100 mM y 200 mM. El área

foliar y el número de las hojas disminuyeron significativamente con el incremento en los niveles de NaCl en las dos especies (Tabla VII). El área foliar de *J. curcas* fue 48% en 50 mM, 20% en 100 mM y 11% en 200 mM; en *J. cinerea* fue 41%, 25% y 7%, respectivamente. El número de las hojas de *J. curcas* fue 64%, 55% y 36%, respectivamente; en *J. cinerea* fue 71%, 57% y 43%, respectivamente. En ambas especies, el área foliar fue más afectada que el número de las hojas por la salinidad.

La RGR de las dos especies mostró una disminución significativa con el incremento en la concentración de NaCl (Tabla VIII). Con relación al control, la RGR en *J. curcas* fue 63.6% en 50 mM, 18.1% en 100 mM y -3.8% en 200 mM y en *J. cinerea* fue 75.9%, 52.6% y -0.5%, respectivamente. La RGR de *J. curcas* mostró una disminución significativa a partir de los 50 mM y la de *J. cinerea* fue a partir de los 100 mM. Así, *J. curcas* fue afectada en mayor proporción que *J. cinerea* por la salinidad. En las dos especies, se mostró un valor negativo en la RGR en 200 mM; la RGR de *J. curcas* fue -0.003 y para *J. cinerea* fue -0.0004, respectivamente.

La NAR de las dos especies fue afectada con el incremento en la concentración de NaCl (Tabla VIII). En *J. curcas*, la NAR igual que la RGR disminuyó más que en *J. cinerea* ante el aumento de la salinidad. Sin embargo, el LAR no fue afectado significativamente por los tratamientos de salinidad en las dos especies (Tabla VIII).



**Figura 6.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el peso seco total de *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ). Las barras en las columnas representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ).

**Tabla VI.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el crecimiento de *Jatropha curcas* y de *Jatropha cinerea* por un periodo de 28 días. Los datos significan el promedio (n=3). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).

Especies	Tratamiento (mM)	Peso seco (g)		Vástago/ Raíz	Longitud (cm)	
		Raíz	Vástago		Raíz	Tallo
<i>Jatropha curcas</i>	0	0.8 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	6.0 <sup>†</sup>	16.5 <sup>a</sup>	22.3 <sup>a</sup>
	50	0.4 <sup>b</sup>	2.1 <sup>b</sup>	5.1 <sup>†</sup>	16.8 <sup>a,b</sup>	16.3 <sup>b</sup>
	100	0.2 <sup>c</sup>	0.7 <sup>c</sup>	3.9 <sup>†</sup>	12.9 <sup>a,b</sup>	14.3 <sup>b</sup>
	200	0.1 <sup>c</sup>	0.4 <sup>c</sup>	3.8 <sup>†</sup>	8.8 <sup>b</sup>	14.4 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	0.5 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	7.6 <sup>a</sup>	16.6 <sup>a</sup>	23.2 <sup>a</sup>
	50	0.3 <sup>a,b</sup>	1.9 <sup>b</sup>	6.3 <sup>a,b</sup>	18.6 <sup>a</sup>	16.7 <sup>a,b</sup>
	100	0.2 <sup>a,b</sup>	1.1 <sup>b,c</sup>	4.7 <sup>a,b</sup>	16.3 <sup>a,b</sup>	14.3 <sup>b</sup>
	200	0.1 <sup>b</sup>	0.3 <sup>c</sup>	4.7 <sup>b</sup>	9.6 <sup>b</sup>	13.8 <sup>b</sup>

†=no significativo

**Tabla VII.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el área foliar y el número de hojas por planta. Los datos significan el promedio (n=3). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05)

Especies	Tratamiento (mM)	Área foliar(cm <sup>2</sup> )	Número de hojas
<i>Jatropha curcas</i>	0	425.7 <sup>a</sup>	10.5 <sup>a</sup>
	50	202.0 <sup>b</sup>	6.7 <sup>b</sup>
	100	86.2 <sup>c</sup>	5.7 <sup>b</sup>
	200	48.4 <sup>c</sup>	3.8 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	284.9 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>
	50	116.8 <sup>b</sup>	5.2 <sup>a</sup>
	100	71.9 <sup>b</sup>	4.0 <sup>a,b</sup>
	200	15.5 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>

**Tabla VIII.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en RGR ( $\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$ ), NAR ( $\text{g cm}^{-2} \text{day}^{-1}$ ) y LAR ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) de *J. curcas* y de *J. cinerea*. Los datos significan el promedio (n=3).

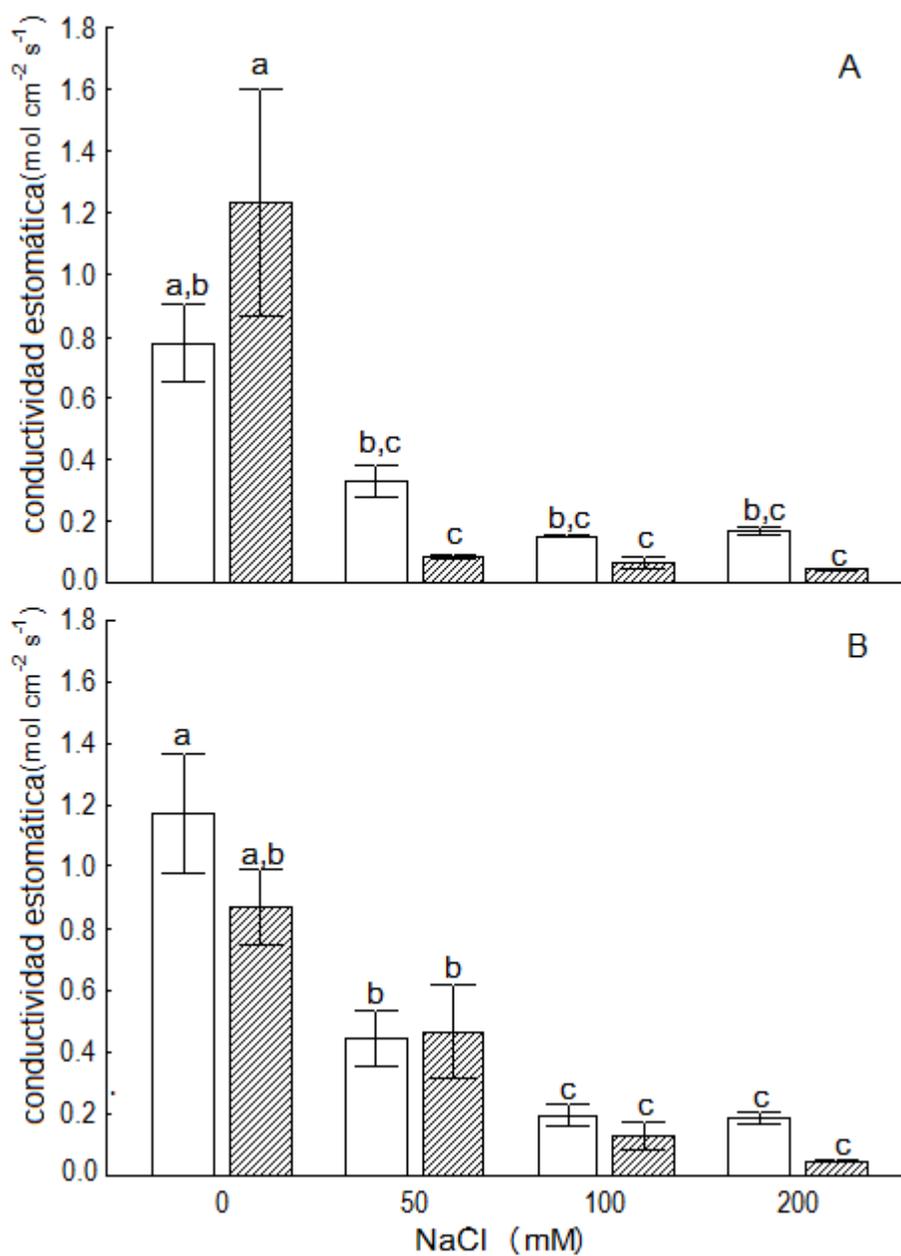
La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ )

Especies	Tratamiento (mM)	RGR	NAR	LAR
<i>Jatropha curcas</i>	0	0.08 <sup>a</sup>	9.9 <sup>a</sup>	0.008 <sup>†</sup>
	50	0.05 <sup>b</sup>	6.0 <sup>b</sup>	0.009 <sup>†</sup>
	100	0.01 <sup>c</sup>	1.5 <sup>c</sup>	0.009 <sup>†</sup>
	200	-0.00 <sup>c</sup>	-0.4 <sup>c</sup>	0.009 <sup>†</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	0.09 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	0.007 <sup>†</sup>
	50	0.07 <sup>a,b</sup>	11.5 <sup>a,b</sup>	0.006 <sup>†</sup>
	100	0.05 <sup>b</sup>	7.7 <sup>b</sup>	0.006 <sup>†</sup>
	200	-0.00 <sup>c</sup>	0.9 <sup>c</sup>	0.003 <sup>†</sup>

<sup>†</sup>=no significativo

#### 8.2.1.2. Conductividad estomática y transpiración

La conductividad estomática ( $g_s$ ) disminuyó con el aumento en la concentración de NaCl en ambas especies (Figura 7). A las 10:00 h, la  $g_s$  llegó casi al mismo nivel en las dos especies. En 50 mM de NaCl, disminuyó a menos de 50% en comparación con control; en *J. curcas* fue 49.1% y en *J. cinerea* fue 46.5%. En 100 mM y en 200mM, la  $g_s$  se redujo aproximadamente a la cuarta parte de control en las dos especies. A las 12:00 h, la  $g_s$  de *J. curcas* disminuyó más que la de *J. cinerea* con el tratamiento de NaCl. Para *J. curcas*, la  $g_s$  con respecto al control fue de 7% en 50 mM, 5% en 100 mM y 4% en 200 mM, respectivamente. Para *J. cinerea*, la  $g_s$  fue 53%, 15% y 5%, respectivamente. La Tabla IX muestra la relación entre los parámetros. La correlación  $g_s$  contra peso seco fue una de las más alta, al igual que el contenido de  $\text{Na}^+$  en las hojas contra peso seco en ambas especies.



**Figura 7.** Efecto de NaCl en la conductividad estomática en *Jatropha curcas* (A) y en *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=3). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).  $\square$ – 10:00 h,  $\text{▨}$ – 12:00 h.

**Tabla IX.** Correlación entre peso seco, conductividad estomática ( $g_s$ ), clorofila en fluorescencia de la SPAD (Chl), potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), y contenido de  $\text{Na}^+$  en las hojas en *Jatropha curcas* (a) y en *Jatropha cinerea* (b) bajo salinidad por NaCl.

(a) *Jatropha curcas*

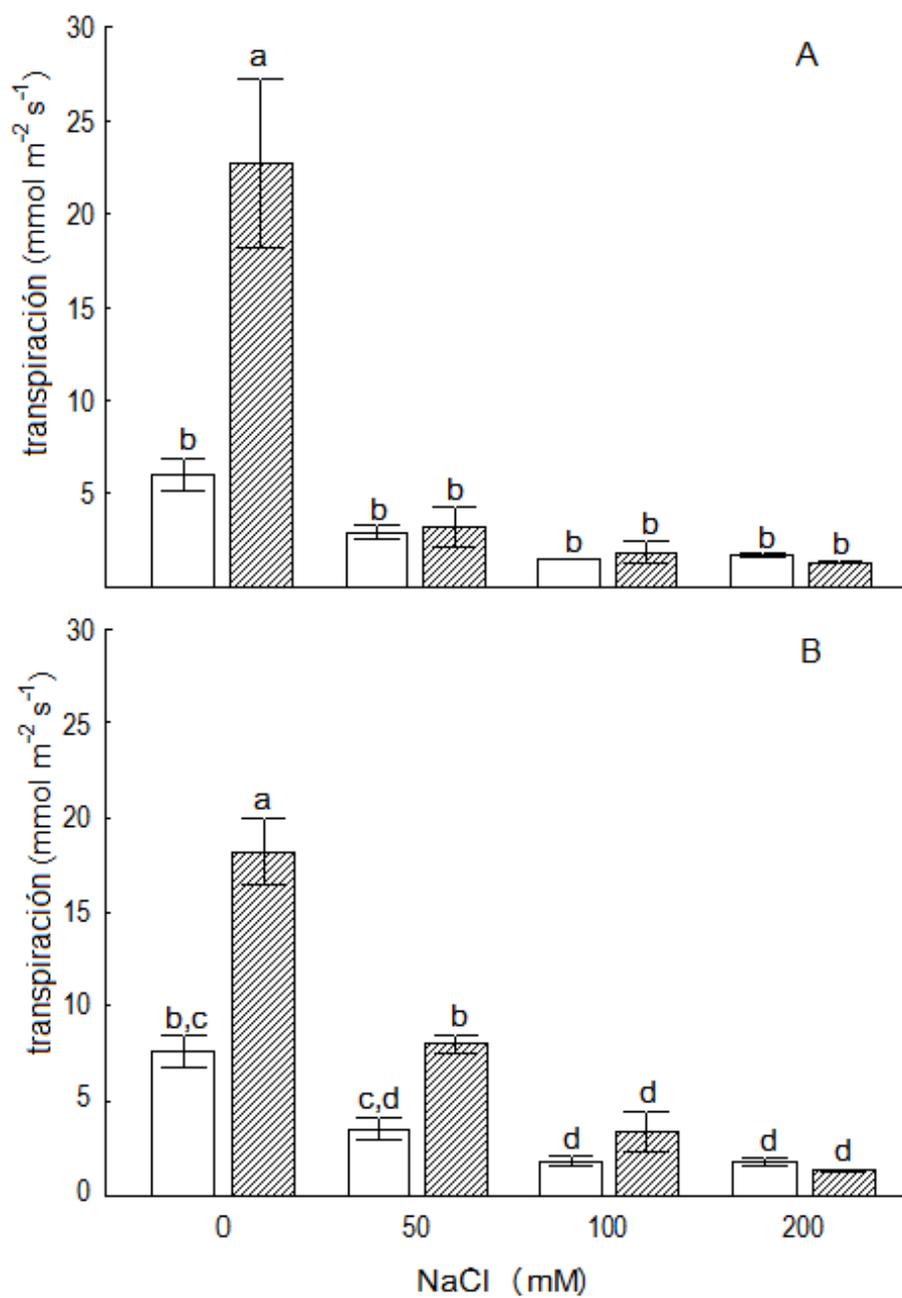
	Peso seco	$g_s$ 10:00 h	$g_s$ 12:00 h	Chl	$\Psi_w$	$\text{Na}^+$
Peso seco	1.00					
$g_s$ 10:00 h	0.95***	1.00				
$g_s$ 12:00 h	0.92***	0.94**	1.00			
Chl	0.87**	0.76*	0.72*	1.00		
$\Psi_w$	0.49	0.39	0.39	0.63*	1.00	
$\text{Na}^+$	-0.90***	-0.88***	-0.93***	-0.67*	-0.90***	1.00

(b) *Jatropha cinerea*

	Peso seco	$g_s$ 10:00 h	$g_s$ 12:00 h	Chl	$\Psi_w$	$\text{Na}^+$
Peso seco	1.00					
$g_s$ 10:00am	0.88**	1.00				
$g_s$ 12:00pm	0.71*	0.89**	1.00			
Chl	0.48	0.62	0.51	1.00		
$\Psi_w$	0.71*	0.54	0.55	0.18	1.00	
$\text{Na}^+$	-0.85**	-0.90***	-0.83**	-0.54	-0.54	1.00

\*, \*\*, \*\*\*=Significancia a nivel de  $p = 0.05, 0.01, 0.001$ , respectivamente

La tasa de transpiración ( $E$ ) fue afectada por el aumento de la salinidad en las dos especies (Figura 8) a las 10:00 h. Sin embargo, en las dos especies la  $E$  en el tratamiento control (0 mM) fue mayor a las 12:00 h que a las 10:00 h. Bajo estrés salino, la  $E$  en *J. curcas* fue similar a las 12:00 h y a las 10:00 h. En cambio *J. cinerea*, mostró un incremento de la  $E$  de las 10:00 h a las 12:00 h.



**Figura 8.** Efecto de NaCl en la tasa de transpiración en *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=3). Las barras con misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).  $\square$ – 10:00 h,  $\text{▨}$ – 12:00 h.

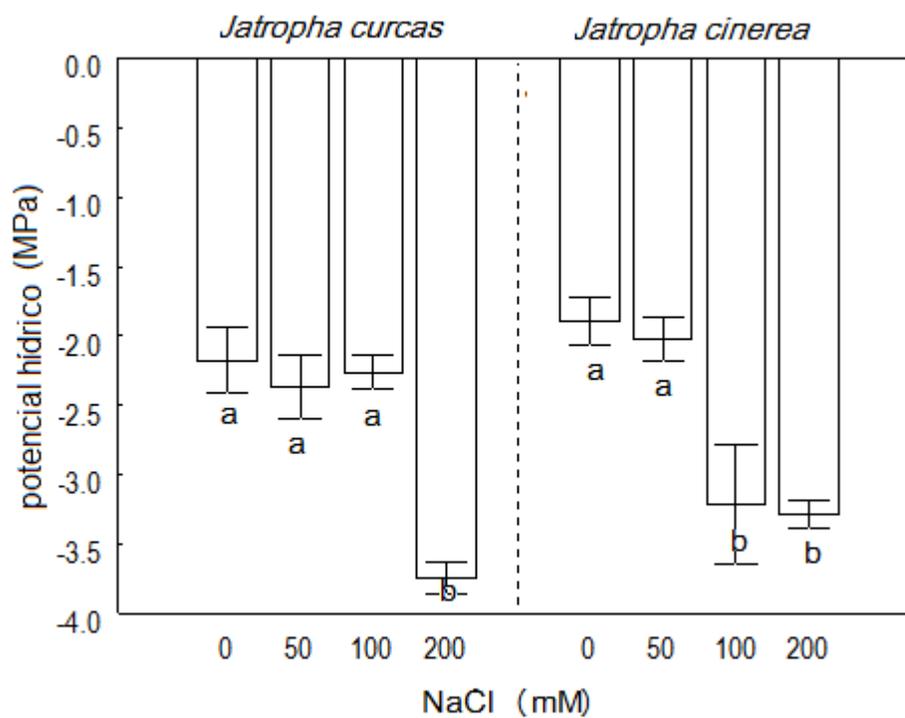
### 8.2.2.3. Estado hídrico

El potencial hídrico fue afectado significativamente por la salinidad en las dos especies (Figura 9). En *J. cinerea* disminuyó significativamente a partir de 100 mM y en *J. curcas* a partir de 200 mM.

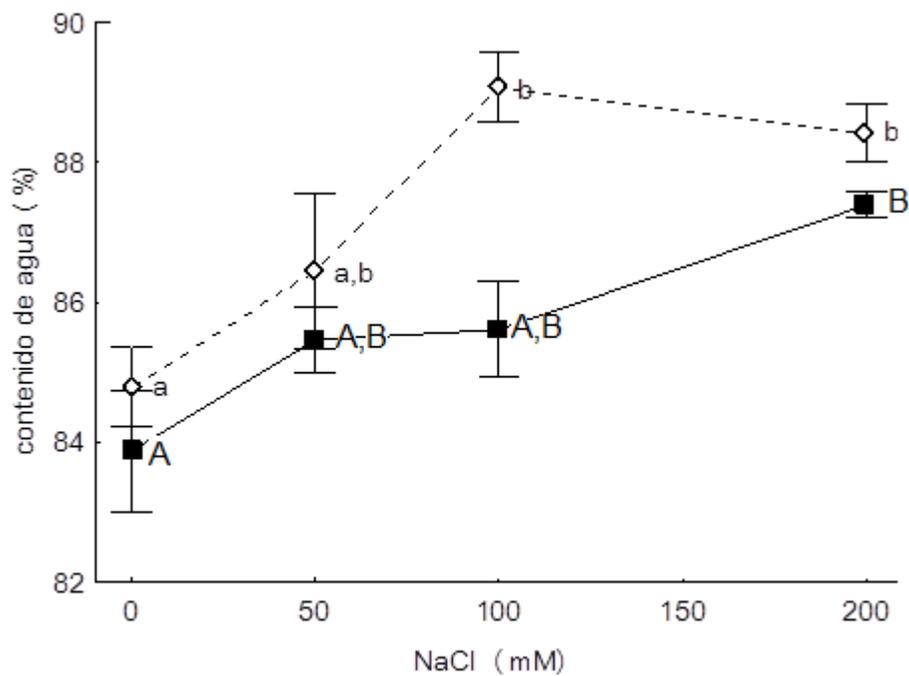
El contenido total de agua se muestra en la Figura 10. En *J. curcas*, el contenido total de agua aumentó significativamente en 100 mM (105% respecto del tratamiento control) y en *J. cinerea* en 200 mM (104% respecto del tratamiento control). El contenido total de agua fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea* en cualquiera de los niveles de sales.

### 8.2.2.4. Clorofila

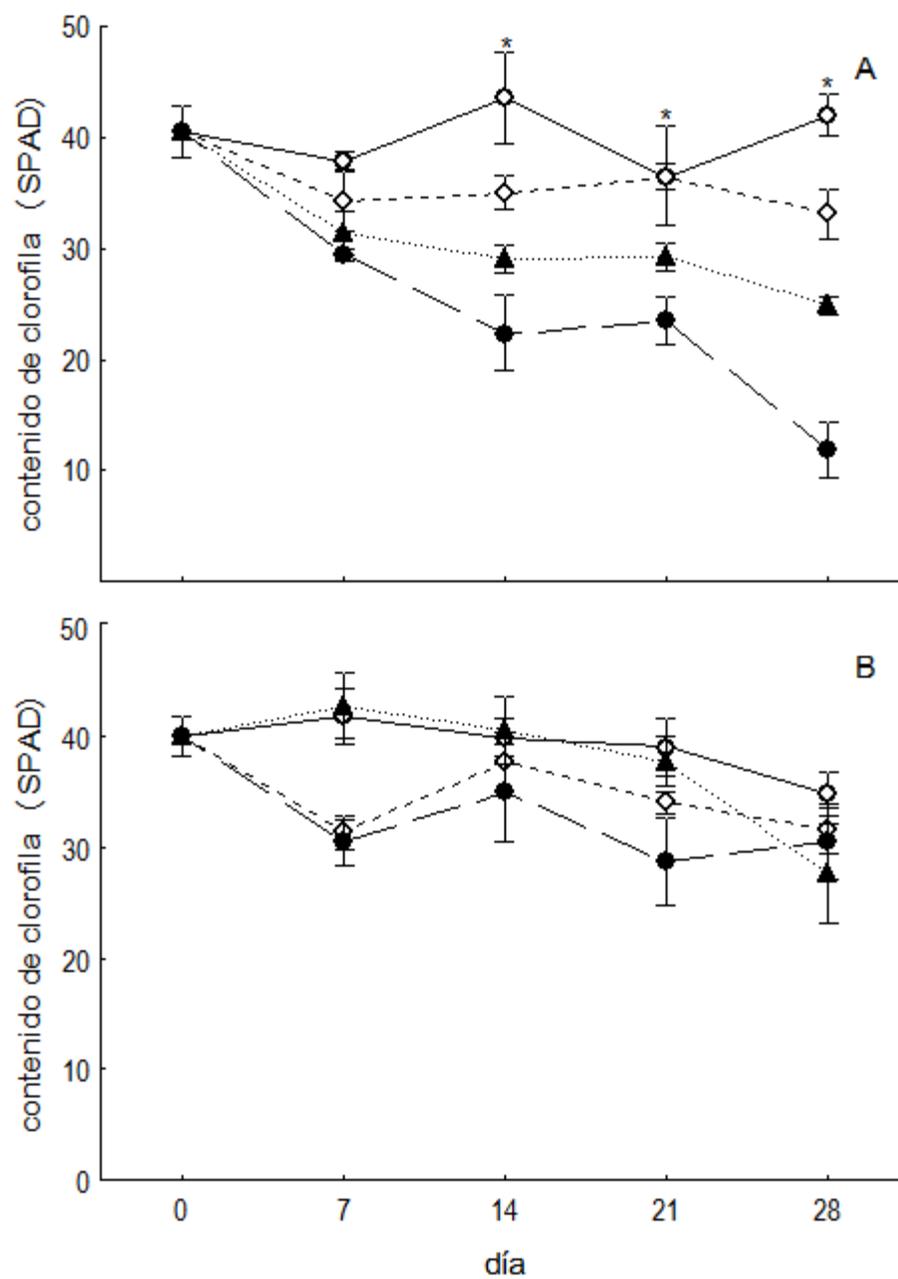
El grado de descomposición de la clorofila fue evaluado con SPAD, medición de flourometría portatil, indicador indirecto de la concentración de la clorofila total. En *J. curcas*, el valor de SPAD disminuyó significativamente a los 14 días de iniciada la aplicación del tratamiento (Figura 11) y con el aumento de la concentración de NaCl. En *J. cinerea*, el contenido de clorofila no fue afectado por el tratamiento de NaCl. Con relación al control, el contenido de clorofila de *J. curcas* fue 79% en 50 mM, 59% en 100 mM y 36% en 200 mM, respectivamente. El de *J. cinerea* fue 91%, 80% y 81%, respectivamente. *J. cinerea* mostró mayor capacidad para evitar la descomposición de clorofila que *J. curcas* bajo el estrés por salinidad. A simple vista, mostró síntomas de clorosis en las hojas en la segunda semana de tratamiento de NaCl, tal como en el resultado obtenido en el valor de SPAD en *J. curcas*. Una correlación alta entre peso seco y clorofila fue encontrada solamente en *J. curcas* (Tabla IX).



**Figura 9.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el potencial hídrico en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ).



**Figura 10.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el contenido de agua en *Jatropha curcas* (◇) y *Jatropha cinerea* (■). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ).



**Figura 11.** Efecto de NaCl en el contenido de clorofila con el valor de SPAD en *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Los datos significan el promedio (n = 3). \*= significativamente diferente del control a  $P < 0.05$  con ANOVA. ○– 0 mM, ◇– 50 mM, ▲– 100 mM, ●– 200 mM.

#### 8.2.2.5. Composición de minerales

La concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el vástago y en la raíz fue aumentando significativamente con el incremento en la concentración de NaCl en la solución nutritiva para las dos especies (Tabla X). En *J. curcas*, la concentración de  $\text{Na}^+$  fue mayor en vástago en comparación con la raíz y en *J. cinerea* la concentración de  $\text{Na}^+$  en vástago fue igual que en la raíz.

En las dos especies, la concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago y en la raíz fue similar en 50 mM de NaCl. En el tratamiento de 100 mM, la concentración de  $\text{Na}^+$  en *J. curcas* aumento y en *J. cinerea* se mantuvo casi el mismo nivel que 50 mM. Así, la concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago de *J. curcas* acumuló mayor proporción de  $\text{Na}^+$  que *J. cinerea* en los tratamientos con alta concentración de NaCl. La concentración de  $\text{Na}^+$  de las raíces no se incrementó como en el vástago en 100 mM. Por lo tanto, la relación de  $\text{Na}^+$  entre vástago y raíz en *J. curcas* aumentó en 100 mM de NaCl comparado con 50 mM. En *J. cinerea*, esta relación se mantuvo igual en 100 mM comparado con 50 mM (Tabla X).

La concentración de  $\text{Cl}^-$  también aumentó con el incremento de la concentración de NaCl en las dos especies (Tabla X). Sin embargo, fue difícil obtener suficiente biomasa en la alta concentración del tratamiento de salinidad para evaluar la concentración de  $\text{Cl}^-$  debido a la reducción de biomasa.

La concentración de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  del vástago y las raíces disminuyó significativamente con el incremento en la concentración de NaCl en las dos especies (Tabla X). La concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  disminuyó solamente en las raíces por el tratamiento de NaCl. La concentración de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  disminuyó principalmente en las raíces que en el vástago de las dos especies. Comparando las dos especies, la concentración de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  fue mayor en

*J. curcas* que en *J. cinerea* excepto por  $\text{Ca}^{2+}$  en la raíz.

El desequilibrio de cationes se observó entre  $\text{Na}^+$  y  $(\text{K}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})$  (Tabla XI), en las dos especies evaluadas se observó aumento en el desequilibrio ante el incremento de concentraciones de NaCl, siendo mayor en las raíces que en el vástago hasta el nivel de 100 mM. El desequilibrio de cationes en las raíces fue mayor en *J. curcas* que *J. cinerea* en cada una de las concentraciones de NaCl. En el vástago, el desequilibrio de cationes fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea* en el nivel de salinidad bajo. Sin embargo, ambos fueron similares en alto nivel de salinidad.

En *J. curcas*, la concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  aumento con el tratamiento de NaCl en el vástago, pero no se observaron efectos en las raíces. En *J. cinerea*, la concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  no fue alterada en las raíces ni en el vástago por el tratamiento de NaCl (Tabla XI).

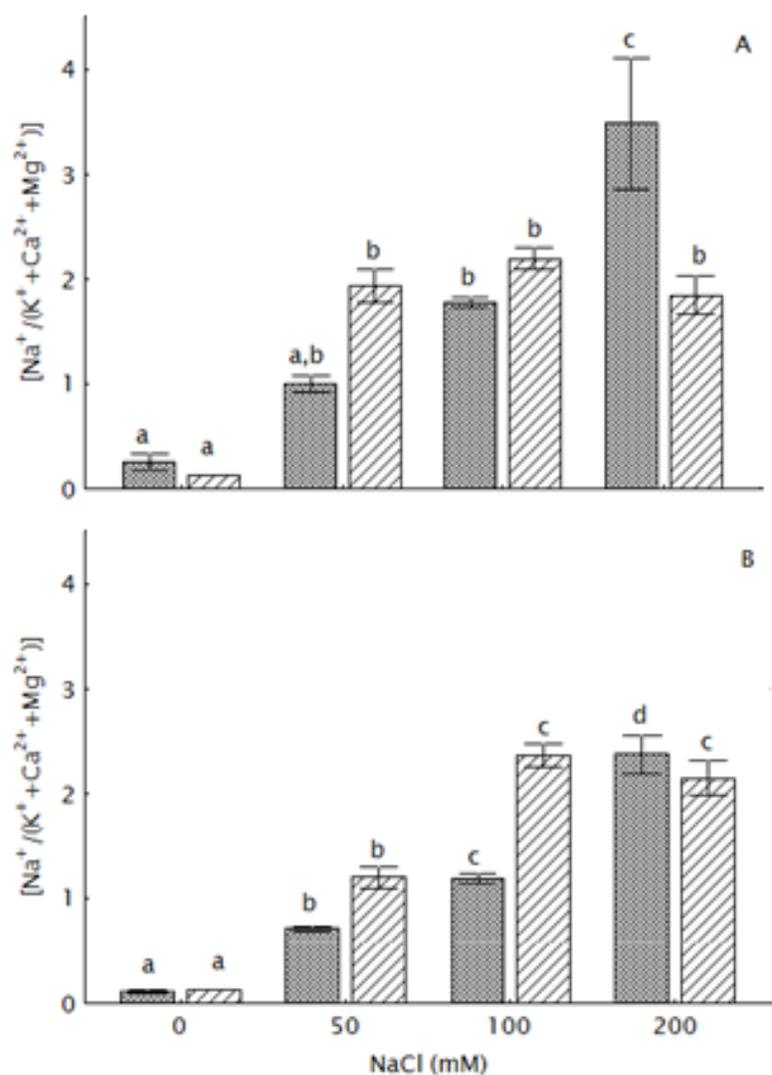
En *J. curcas*, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el vástago no fue afectada por los tratamientos de salinidad, sin embargo en la raíz la concentración de  $\text{NO}_3^-$  disminuyó con el tratamiento de NaCl (Tabla XI). En *J. cinerea*, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  no fue afectada por la salinidad en vástago ni en raíz por los tratamientos de NaCl.

**Tabla X.** Contenido de Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> en las raíces y en el vástago, y la relación de concentración de Na<sup>+</sup> entre vástago y raíz (Na<sup>+</sup> V/R) de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio (n=3). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ).

NaCl (mM)	Na <sup>+</sup> (mmol/g)		Cl <sup>-</sup> (mmol/g)		K <sup>+</sup> (mmol/g)		Ca <sup>2+</sup> (mmol/g)		Mg <sup>2+</sup> (mmol/g)		Na <sup>+</sup> V/R
	Vástago	Raíz	Vástago	Raíz	Vástago	Raíz	Vástago	Raíz	Vástago	Raíz	
<i>Jatropha curcas</i>											
0	0.19 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.94 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.23 <sup>b</sup>	0.21 <sup>†</sup>	0.34 <sup>b</sup>	1.3 <sup>a</sup>
50	1.21 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.30 <sup>b</sup>	0.68 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a,b</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.14 <sup>†</sup>	0.29 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a,b</sup>
100	2.43 <sup>c</sup>	1.19 <sup>c</sup>	0.82 <sup>b</sup>	n.d	0.63 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.23 <sup>a</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.16 <sup>†</sup>	0.31 <sup>b</sup>	2.0 <sup>b</sup>
200	2.29 <sup>c</sup>	1.54 <sup>d</sup>	n.d	n.d	0.67 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.18 <sup>†</sup>	0.17 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a,b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>											
0	0.14 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.80 <sup>b</sup>	0.63 <sup>c</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.13 <sup>†</sup>	0.27 <sup>b</sup>	0.5 <sup>a</sup>
50	1.07 <sup>b</sup>	0.86 <sup>a,b</sup>	0.38 <sup>b</sup>	0.34 <sup>b</sup>	0.34 <sup>a</sup>	0.47 <sup>b</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.08 <sup>†</sup>	0.20 <sup>a,b</sup>	1.2 <sup>b</sup>
100	1.34 <sup>b</sup>	1.16 <sup>b,c</sup>	0.64 <sup>c</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a,b</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.09 <sup>†</sup>	0.20 <sup>a,b</sup>	1.2 <sup>b</sup>
200	1.28 <sup>b</sup>	1.58 <sup>c</sup>	n.d	n.d	0.48 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.10 <sup>†</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a,b</sup>

n.d. = No hay datos. Suficiente material para el análisis de Cl<sup>-</sup> no se pudo obtener por reducción de la producción de biomasa con el tratamiento de sal.

†=no significativo.



**Figura 12.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en el desequilibrio de cationes en *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=3). ■ – raíz, ▨ – vástago.

**Tabla XI.** Contenido de minerales en las raíces, tallo y hojas de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Las datos significan el promedio (n=3). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ).

NaCl (mM)	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> (mmol/g)		NO <sub>3</sub> <sup>-1</sup> (mmol/g)	
	vástago	raíz	vástago	raíz
<i>Jatropha curcas</i>				
0	0.005 <sup>a</sup>	0.011 <sup>†</sup>	0.06 <sup>†</sup>	0.07 <sup>b</sup>
50	0.013 <sup>a,b</sup>	0.010 <sup>†</sup>	0.07 <sup>†</sup>	0.04 <sup>a</sup>
100	0.017 <sup>b</sup>	n.d.	0.08 <sup>†</sup>	n.d.
200	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Jatropha cinerea</i>				
0	0.013 <sup>†</sup>	0.025 <sup>†</sup>	0.04 <sup>†</sup>	0.06 <sup>†</sup>
50	0.023 <sup>†</sup>	0.017 <sup>†</sup>	0.04 <sup>†</sup>	0.06 <sup>†</sup>
100	0.035 <sup>†</sup>	0.017 <sup>†</sup>	0.04 <sup>†</sup>	0.05 <sup>†</sup>
200	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. = no hay datos. Suficiente material para el análisis no se pudo obtener por reducción de la producción de biomasa con el tratamiento de sal. †=no significativo

#### 8.2.2.6. Efecto de la salinidad en los iones inorgánicos $\Psi_s$

En ambas especies, cada uno de los iones inorgánicos  $\Psi_s$  afectados soluto  $\Psi_s$  diferentemente con estrés por salinidad (Tabla I). En el tratamiento control,  $\Psi_s$  de la raíz y vástago fue más afectados por K<sup>+</sup> en ambas especies. En los tratamientos de salinidad, la influencia de K<sup>+</sup> sobre  $\Psi_s$  se redujo, y Na<sup>+</sup> se convirtió en el ion más influyente en la raíz y vástago de ambas especies. En el vástago, el Na<sup>+</sup>  $\Psi_s$  de *J. curcas* se redujo más en comparación con *J. cinerea* debido al tratamiento de salinidad aunque el Na<sup>+</sup>  $\Psi_s$  en la raíz fue similar. Los  $\Psi_s$  de Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> se incrementaron con el estrés por salinidad en ambas especies.

**Tabla XII.** Efecto de NaCl (0, 50, 100 y NaCl 200 mM) en el potencial osmótico de iones inorgánicos ( $\Psi_s$ ) en el vástago y la raíz de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio (n=3). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ).

NaCl (mM)	Na <sup>+</sup> $\Psi_s$ (-MPa)		K <sup>+</sup> $\Psi_s$ (-MPa)		Ca <sup>2+</sup> $\Psi_s$ (-MPa)		Mg <sup>2+</sup> $\Psi_s$ (-MPa)	
	vástago	raíz	vástago	raíz	vástago	raíz	vástago	raíz
<i>Jatropha curcas</i>								
0	0.07 <sup>c</sup>	0.08 <sup>c</sup>	0.41 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	0.07 <sup>†</sup>
50	0.50 <sup>a,b</sup>	0.22 <sup>b,c</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a,b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.05 <sup>a,b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.05 <sup>†</sup>
100	0.60 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a,b</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.10 <sup>a,b</sup>	0.07 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.06 <sup>†</sup>
200	0.40 <sup>b</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.05 <sup>a,b</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.03 <sup>†</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>								
0	0.10 <sup>c</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.48 <sup>a</sup>	0.16 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>
50	0.58 <sup>b</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.31 <sup>b</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.04 <sup>a,b</sup>	0.07 <sup>b</sup>	0.06 <sup>a,b</sup>
100	0.84 <sup>a</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.22 <sup>c</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.04 <sup>a,b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.06 <sup>a,b</sup>
200	0.81 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.24 <sup>c</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>

†=no significativo

#### 8.2.2.7. Antioxidante

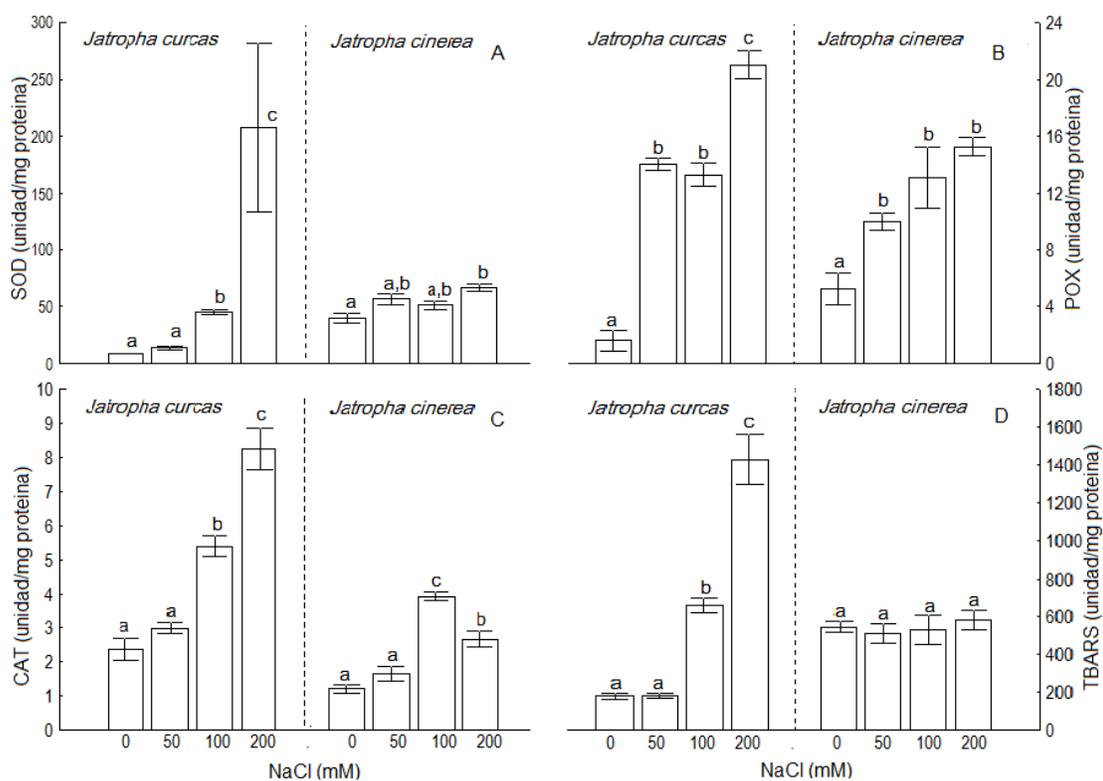
En las dos especies, el nivel de actividad total de SOD se incrementó significativamente por el tratamiento con NaCl en la solución (Figura 13). Comparando las dos especies, *J. curcas* mostró mayor sensibilidad al estrés salino que *J. cinerea*. El nivel de actividad de SOD de *J. curcas* aumentó significativamente en 100 mM y en *J. cinerea* hasta 200 mM.

La actividad de CAT incrementó con el tratamiento de NaCl en las dos especies (Figura 13), siendo mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea*. En las dos especies la actividad de CAT aumentó significativamente en 100 mM. *J. curcas* mostró un incremento constante con el

incremento de la concentración de NaCl a 200 mM. En cambio en *J. cinerea*, mostro un poco de mayor actividad en 100 mM, disminuyendo la en 200 mM aunque su actividad fue más alta que la del tratamiento control.

En las dos especies, la actividad de POX se incremento significativamente en 50 mM con el aumento de la concentración de NaCl (Figura 13). *J. curcas* mostró mayor aumento bajo estrés salino que en *J. cinerea*. Comparando esta actividad se encontró que en 50 mM, la actividad de POX en *J. curcas* aumentó 4 veces más que control y en *J. cinerea* fue 1.5 veces más.

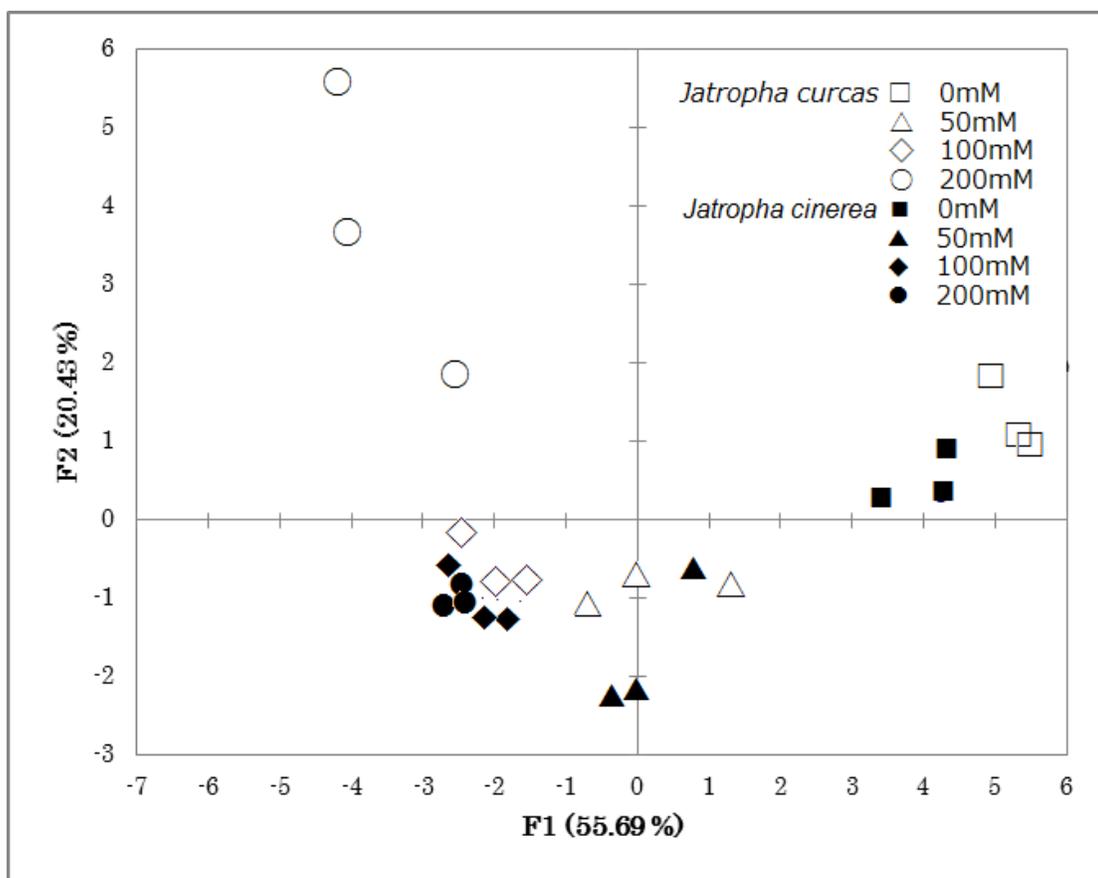
El efecto de salinidad en peroxidación de lípidos estimado como el contenido de TBARS se muestra en la Figura 13. En *J. curcas* fue aumentando con el incremento de la concentración de NaCl significativamente en 100 mM (4 veces de control) y nuevamente en 200 mM (13 veces). En *J. cinerea*, el contenido de TBARS no fue afectado con el tratamiento salino.



**Figura 13.** Efecto de NaCl en nivel de superóxido dismutasa (SOD; A), catalasa (CAT; B), peroxidasa (POX; C), y peroxidación lípido (TBARS; D). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar ( $n=3$ ).

#### 8.2.2.8. Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (PCA) se realizó para obtener una visión general de las diferencias entre las dos especies de *Jatropha* y los tratamientos de salinidad (Figura 14). Los datos se dividen en tres grupos (0 mM, 50 mM y 100 a 200 mM de NaCl) en el primer componente principal, que representa el 55.2% de la varianza total. En ambas especies, el grupo de menor concentración de la sal está a la izquierda del grupo de mayor concentración de sal. Entre los parámetros que más afectan a la separación entre las muestras en el primer componente principal fue: el peso seco, concentración de  $\text{Na}^+$  en las hojas, conductividad estomática, la actividad de POX. En el segundo componente principal, sólo 200 mM de NaCl en *J. curcas* fue en el grupo separado, que representan el 20,4% de la varianza. Entre los parámetros que más afectan a la separación entre las muestras para el segundo componente principal identificado: la peroxidación de lípido, actividad de SOD, concentración de  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en las hojas.



**Figura 14.** Análisis de componentes principal (PCA) de los parámetros fisiológicos, bioquímicos y los contenido de iones en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* bajo estrés salino (0 ~ 200 mM de NaCl). Cada punto representa una muestra. Componentes principales 1 y 2 representan el 76.1% de la varianza en los datos ( $p < 0.05$ ).

### 8.2.2. Efectos del estrés por salinidad en el crecimiento, tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, estado hídrico y contenido de minerales

Para evaluar el efecto en la asimilación de CO<sub>2</sub> ocasionado por el estrés por salinidad en la etapa vegetativa de las dos especies de *Jatropha*, se realizó un experimento con cuatro niveles de NaCl (0, 25, 50, 100 mM) durante tres semanas.

#### 8.2.2.1. Crecimiento

La salinidad indujo una disminución significativa en la biomasa de *J. curcas* y *J. cinerea*. En *J. curcas*, el peso seco total disminuyó en 25 mM NaCl y 100 mM (Tabla XIII). En *J. cinerea* fue en 50 mM. El efecto de la salinidad en la distribución de la biomasa entre la hoja, el tallo, y la raíz se muestra en la Figura 15. Para *J. curcas* el peso seco total disminuyó en 25 mM NaCl en todas las partes de la planta, y en 100 mM en la hoja y el tallo. *J. cinerea* aumentó en la raíz en 25 mM, y disminuyó en la hoja en 50 mM y en el tallo y en la raíz en 100 mM en comparación con control.

La longitud de la raíz no fue afectada por los tratamientos de salinidad. En cambio la longitud del tallo disminuyó en las dos especies con el incremento de las concentraciones de NaCl (Tabla XIII). Al igual que lo observado para peso seco, el crecimiento del tallo fue inhibido más que el de la raíz en las dos especies. En general se observó que el crecimiento de *J. curcas* fue más suprimido que el de *J. cinerea* por los tratamientos de salinidad.

La RGR disminuyó significativamente por la salinidad en 25 mM en *J. curcas* y en *J. cinerea* en 50 mM (Tabla XIII). La NAR disminuyó significativamente sólo en *J. curcas* por el tratamiento salino (Tabla XIII). En cambio en *J. cinerea* aumentó significativamente en 50 mM. Por otro lado, el LAR disminuyó significativamente sólo en *J. cinerea* (Tabla XIII). En *J. curcas* se encontró una correlación fuerte entre RGR y NAR en comparación

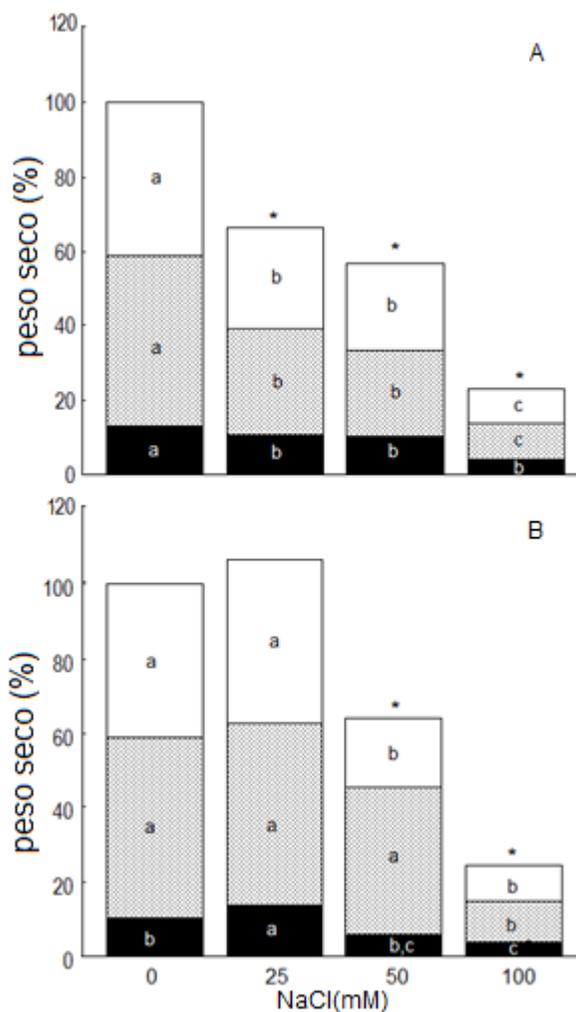
con RGR y LAR, mientras que en *J. cinerea* las relaciones entre estos índices fue inversa (Figura 16).

El área foliar también disminuyó con el aumento de las concentraciones de NaCl en ambas especies (Tabla XIII). En *J. curcas* fue en 25 mM observando una mayor disminución en 100 mM. En *J. cinerea*, disminuyó en 50 mM y en 100 mM. Los síntomas de clorosis foliar fueron observados solamente en *J. curcas* en 100 mM de NaCl.

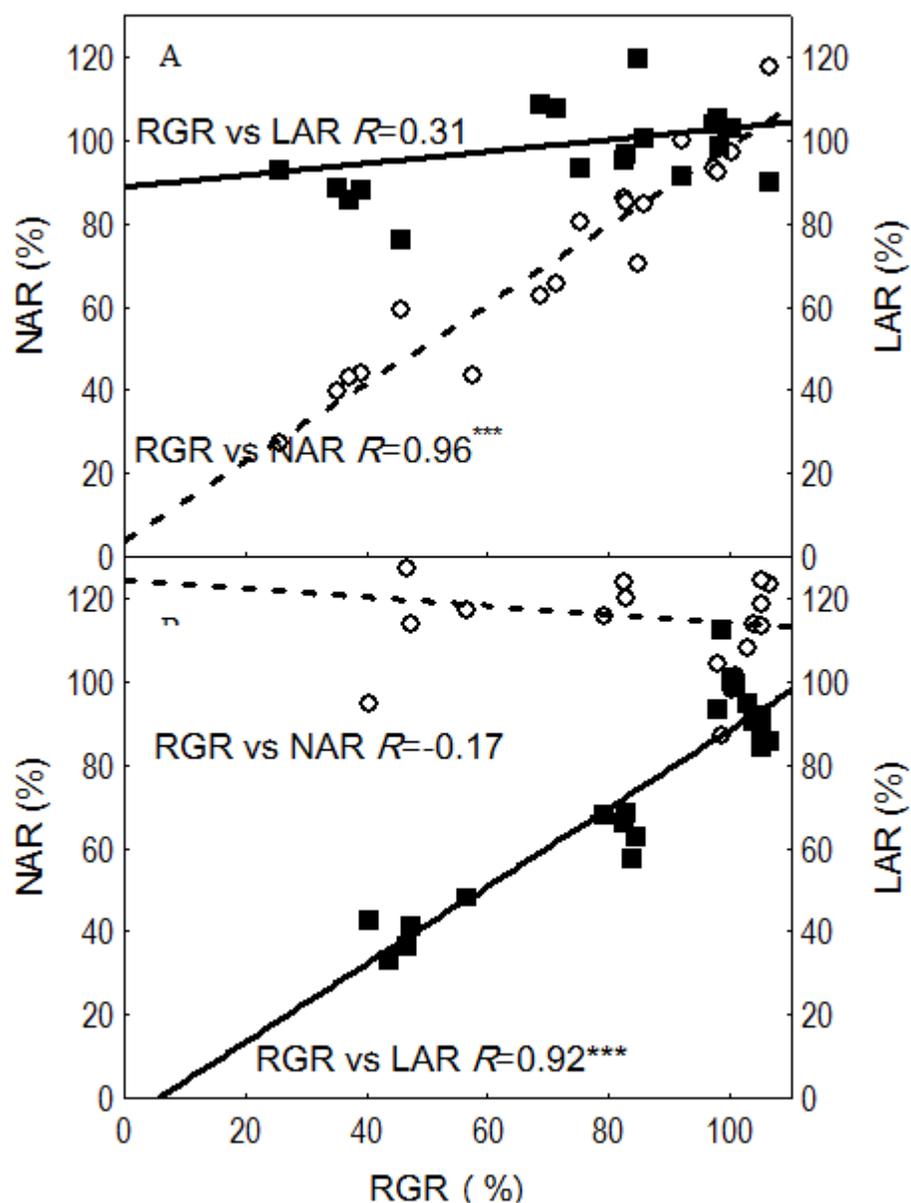
**Tabla XIII.** Peso seco total (PS) ( $\text{g plant}^{-1}$ ), longitud (cm), tasa relativa de crecimiento (RGR) ( $\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$ ), tasa de asimilación neta (NAR) ( $\text{g cm}^{-2} \text{day}^{-1}$ ), cociente de superficie foliar (LAR) ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) y el área foliar (AF) ( $\text{m}^2$ ) en *Jatropha curcas* y en *Jatropha cinerea* bajo tratamiento de NaCl. Los datos significan el promedio ( $n = 5$ ). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).

NaCl (mM)	PS	Longitud		RGR	NAR	LAR	AF
		Raíz	Tallo				
<i>Jatropha curcas</i>							
0	5.8 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a,b</sup>	31.7 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	8.9 <sup>a</sup>	0.015 <sup>†</sup>	0.08 <sup>a</sup>
25	4.3 <sup>b</sup>	22.0 <sup>a,b</sup>	21.5 <sup>b</sup>	0.11 <sup>b</sup>	7.6 <sup>a</sup>	0.015 <sup>†</sup>	0.06 <sup>b</sup>
50	3.3 <sup>b</sup>	25.0 <sup>a</sup>	22.8 <sup>b</sup>	0.09 <sup>c</sup>	5.6 <sup>b</sup>	0.016 <sup>†</sup>	0.04 <sup>b</sup>
100	1.4 <sup>c</sup>	15.7 <sup>b</sup>	14.9 <sup>c</sup>	0.05 <sup>d</sup>	3.8 <sup>b</sup>	0.013 <sup>†</sup>	0.01 <sup>c</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>							
0	4.8 <sup>a</sup>	20.7 <sup>†</sup>	38.8 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	10.6 <sup>a</sup>	0.014 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>
25	5.5 <sup>a</sup>	20.0 <sup>†</sup>	28.3 <sup>b</sup>	0.16 <sup>a</sup>	12.6 <sup>a,b</sup>	0.012 <sup>b</sup>	0.07 <sup>a</sup>
50	3.1 <sup>b</sup>	16.3 <sup>†</sup>	23.0 <sup>c</sup>	0.12 <sup>b</sup>	13.5 <sup>b</sup>	0.009 <sup>c</sup>	0.03 <sup>b</sup>
100	1.2 <sup>c</sup>	18.3 <sup>†</sup>	22.0 <sup>c</sup>	0.07 <sup>c</sup>	12.4 <sup>a,b</sup>	0.006 <sup>d</sup>	0.01 <sup>c</sup>

† = no significativa



**Figura 15.** Efecto del NaCl (en 0, 25, 50, 100 mM) en el peso seco de la hoja, tallo y raíz en *Jatropha curcas* (A) y en *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ). \*= significativamente diferente en peso total del control a  $P < 0.05$  con ANOVA. □— hoja, ▨—tallo, ■—raíz. El control se presenta como 100%.



**Figura 16.** Relaciones entre la tasa relativa de crecimiento (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y el cociente de superficie foliar (LAR) en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. \*, \*\*, \*\*\* = significativo a nivel de  $P = 0.05$ ,  $0.01$  y  $0.001$ , respectivamente El control (0 mM) se representa como 100%. ○=NAR vs RGR, ■=LAR vs RGR.

#### 8.2.2.2. Composición de minerales

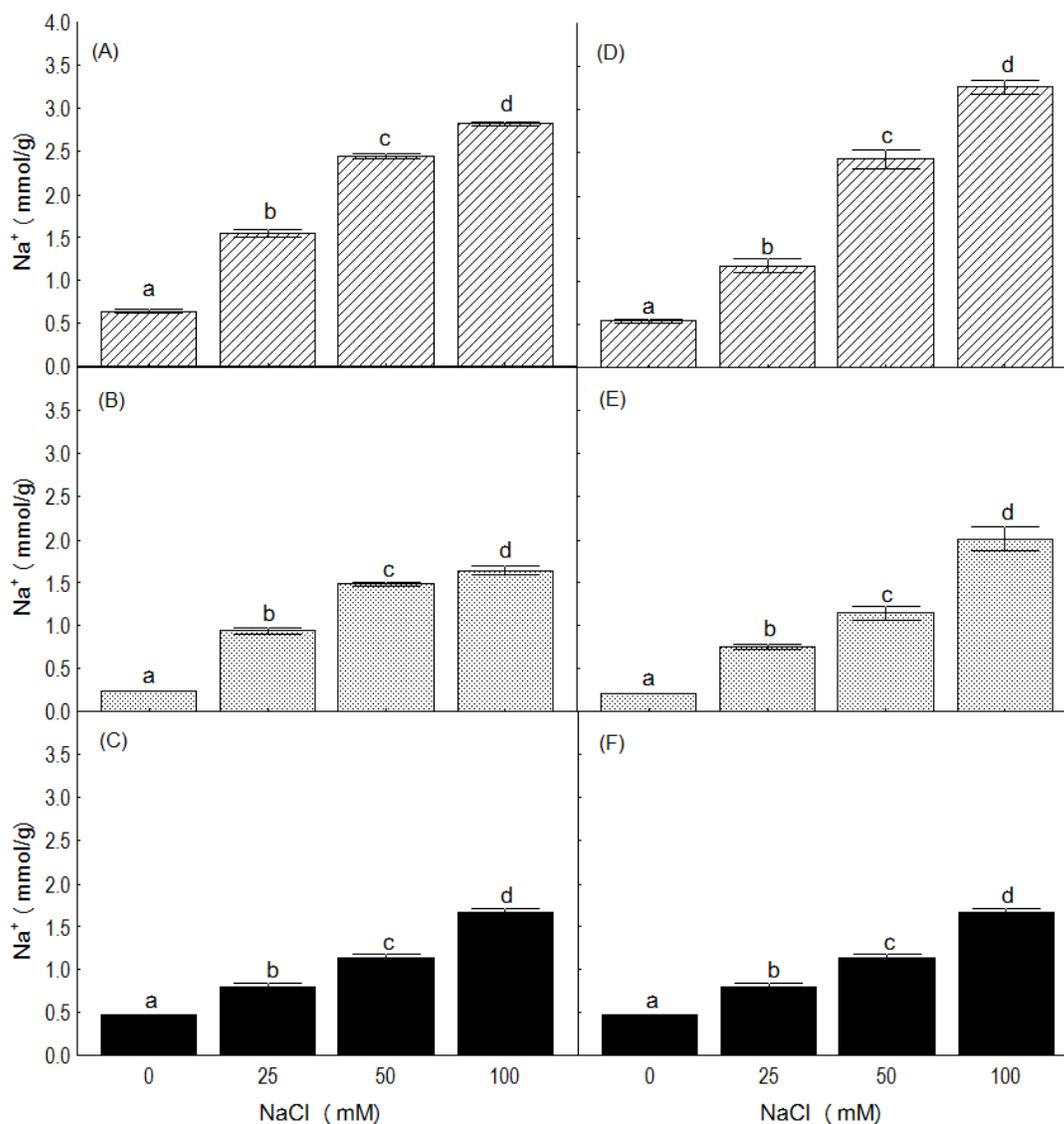
La concentración de  $\text{Na}^+$  se incrementó con el aumento de concentraciones de NaCl en el tejido de *J. curcas* y en *J. cinerea* (Figura 17). En ambas especies, la concentración de  $\text{Na}^+$  fue mayor en la hoja disminuyendo en el tallo y menor en la raíz. En una comparación, la concentración de  $\text{Na}^+$  en hoja y tallo fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea* en 50 mM de NaCl; ésta fue similar en 100 mM. En la raíz, no hubo diferencia en la concentración de  $\text{Na}^+$  en ambas especies en cada tratamiento de NaCl en la solución.

La Figura 18 muestra las relaciones entre la concentración de  $\text{Na}^+$  en hoja versus el peso seco y área foliar en las dos especies. Entre las especies, se observó fuertes relaciones entre el aumento de la concentración de  $\text{Na}^+$  y la disminución de la producción de biomasa y área foliar.

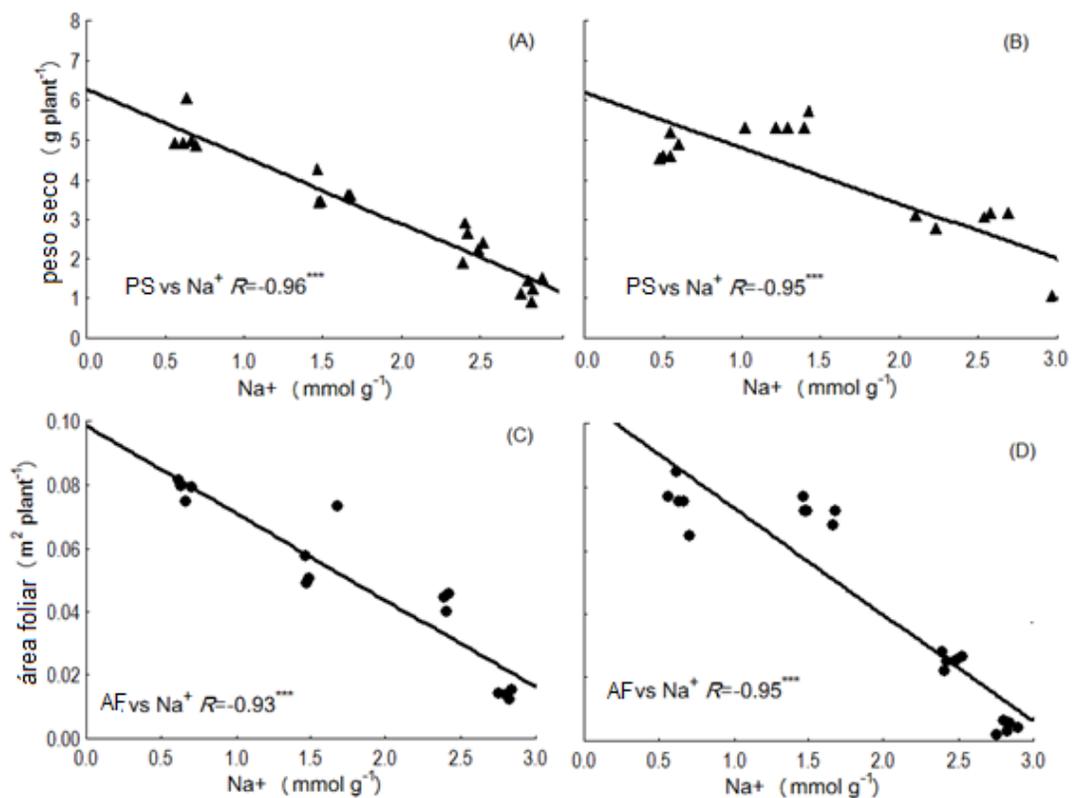
La concentración de  $\text{Cl}^-$  aumentó por el tratamiento con NaCl en las dos especies (Figura 19). La concentración de  $\text{Cl}^-$  en *J. curcas* fue más alta en el tallo y raíz que hoja. La concentración de  $\text{Cl}^-$  en *J. cinerea* fue mayor en el orden de la hoja, tallo y raíz. Comparando las concentraciones en las dos especies de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , la de  $\text{Na}^+$  fue mayor que la de  $\text{Cl}^-$ , específicamente en las hojas.

Por otra parte, las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en las hojas disminuyeron con el aumento de las concentraciones de NaCl (Tabla XIV). La concentración de  $\text{K}^+$  disminuyó significativamente en 25 mM en ambas especies. Comparando con otros minerales, la reducción de  $\text{K}^+$  por el tratamiento salino en las dos especies fue más notable. Así para el tratamiento de 25 mM, en *J. curcas* la concentración de  $\text{K}^+$  en la hoja fue 66% con relación a la del control y 73% en *J. cinerea*. Las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  disminuyeron en *J. curcas* en 25 mM y en *J. cinerea* en 50 mM. La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en *J. curcas* a 25

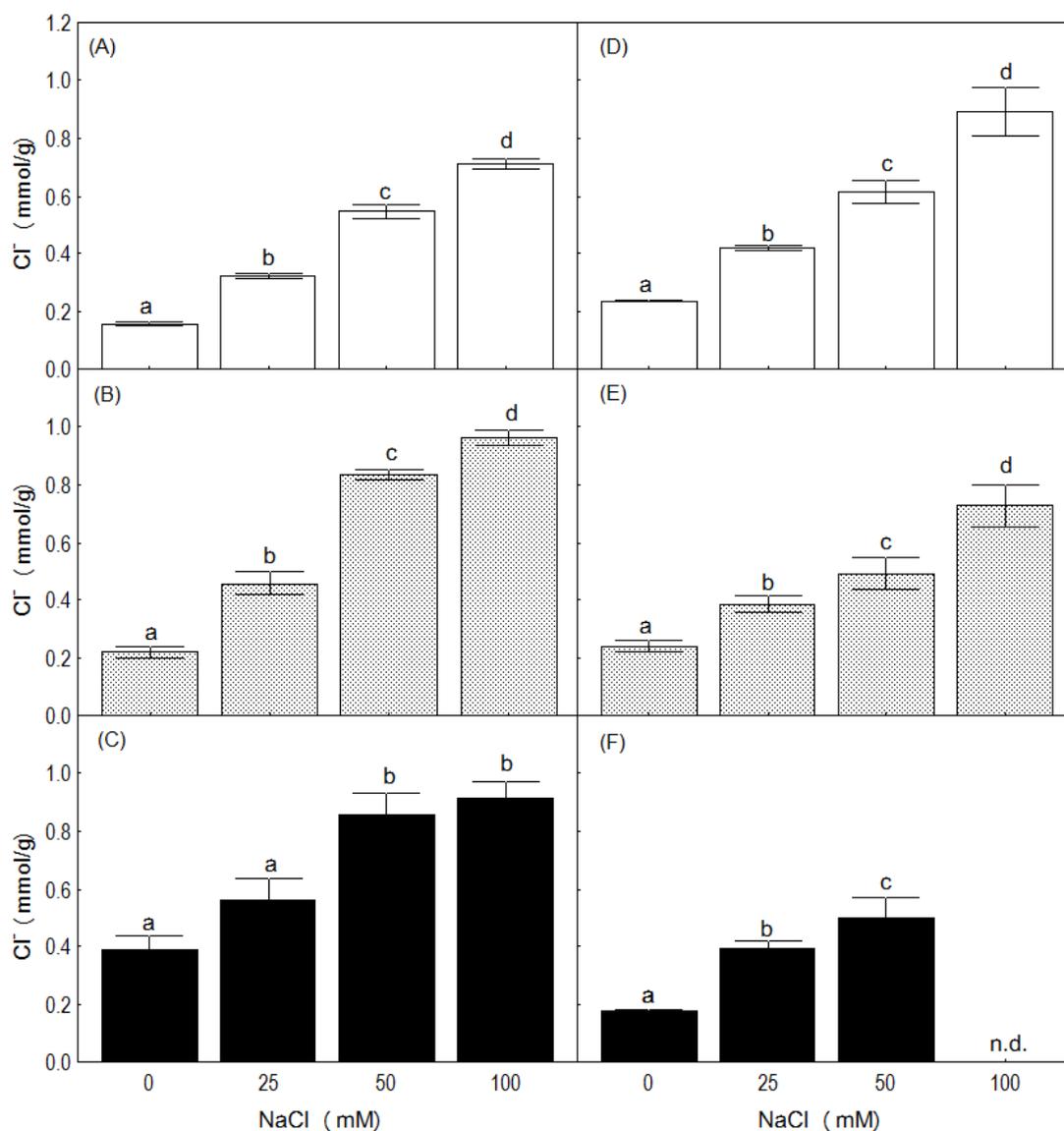
mM fue 71% y en *J. cinerea* fue 86%, y para  $Mg^{2+}$  a 25 mM fue 73% y 83%, en cada especie, respectivamente. La concentración de  $NO_3^-$  en *J. curcas* se incrementó con la salinidad mientras que la de *J. cinerea* no fue afectada.



**Figura 17.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la concentración de  $\text{Na}^+$  de *Jatropha curcas* (A–hoja, B–tallo, C–raíz) y *Jatropha cinerea* (D–hoja, E–tallo, F–raíz). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ).



**Figura 18.** Relación entre el área foliar vs concentración de Na<sup>+</sup> en las hojas (A: *Jatropha curcas*, B: *Jatropha cinerea*), y el peso seco total vs concentración de Na<sup>+</sup> en las hojas (C: *Jatropha curcas*, D: *Jatropha cinerea*) bajo estrés de salinidad. PS=Peso seco, AF=Área foliar.\*\*\* significativo a nivel de  $P = 0.001$ .



**Figura 19.** Efecto de NaCl (0, 50, 100, 200 mM) en la concentración de Cl<sup>-</sup> de *Jatropha curcas* (A–hoja, B–tallo, C–raíz) y *Jatropha cinerea* (D–hoja, E–tallo, F–raíz). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05). Las barras representan la media ± error estándar (n = 5). n.d. = Suficiente material para el análisis de Cl<sup>-</sup> en la raíz no se pudo obtener por reducción de la producción de biomasa con el tratamiento de sal.

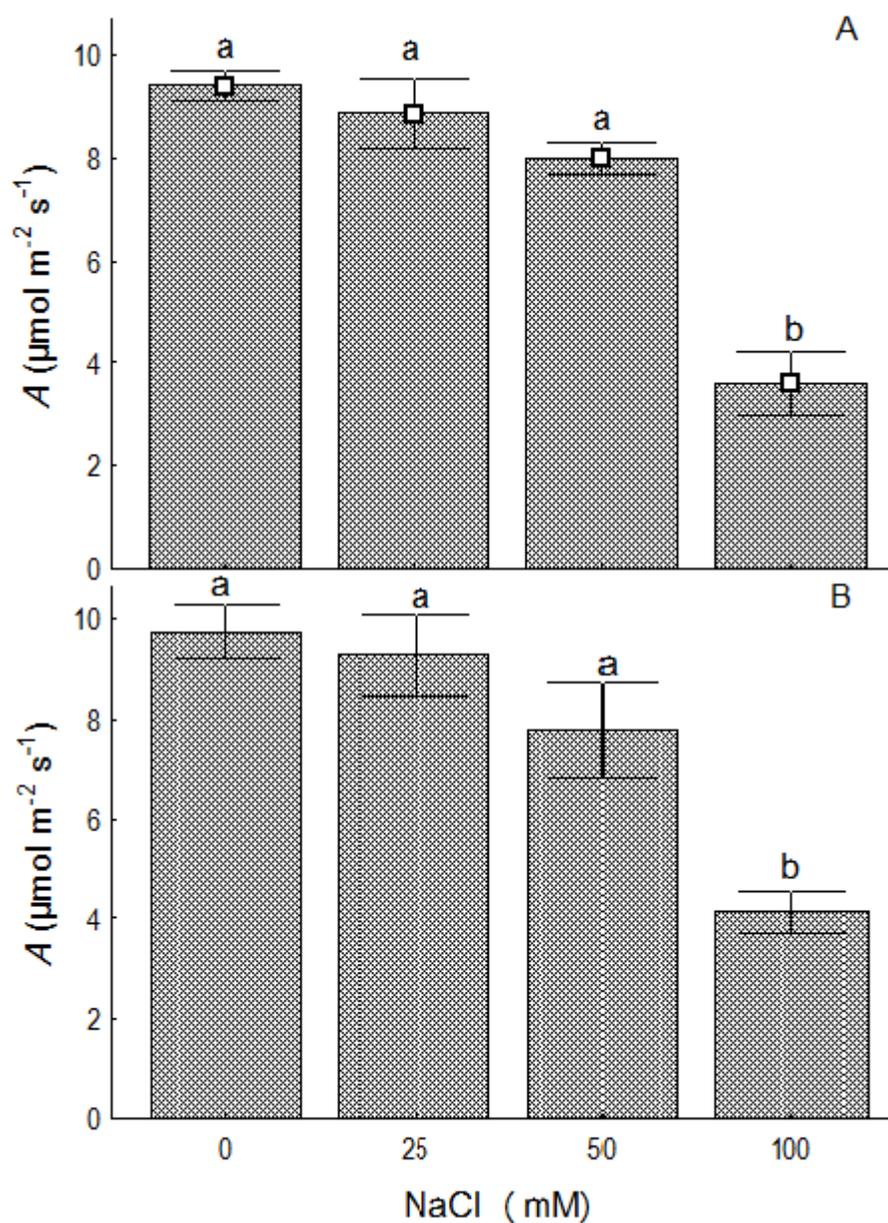
**Tabla XIV.** Contenido de minerales ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{NO}_3^-$ ) en la hoja de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* bajo tratamiento de NaCl. Los datos significan el promedio ( $n = 5$ ). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).

NaCl (mM)	$\text{Ca}^{2+}$ (mmol/g)	$\text{K}^+$ (mmol/g)	$\text{Mg}^{2+}$ (mmol/g)	$\text{NO}_3^-$ (mmol/g)
<i>Jatropha curcas</i>				
0	0.44 <sup>a</sup>	1.18 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>
25	0.31 <sup>b</sup>	0.77 <sup>b</sup>	0.27 <sup>b</sup>	0.09 <sup>a,b</sup>
50	0.26 <sup>b</sup>	0.52 <sup>c</sup>	0.20 <sup>c</sup>	0.11 <sup>b</sup>
100	0.17 <sup>c</sup>	0.54 <sup>c</sup>	0.14 <sup>c</sup>	0.13 <sup>c</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>				
0	0.32 <sup>a</sup>	1.30 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>	0.08 <sup>†</sup>
25	0.28 <sup>a</sup>	0.95 <sup>b</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.07 <sup>†</sup>
50	0.21 <sup>b</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0.14 <sup>b</sup>	0.06 <sup>†</sup>
100	0.19 <sup>b</sup>	0.40 <sup>d</sup>	0.14 <sup>b</sup>	0.06 <sup>†</sup>

† = no significativo

### 8.2.2.3. Tasa de asimilación de $\text{CO}_2$ del tejido de las hojas

La tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ) de la hoja disminuyó con el aumento de las concentraciones de sal en ambas especies (Figura 20); mantuvieron  $A$  en más del 80% en comparación con el control hasta los 50 mM (*J. curcas*: 95% del control en 25 mM y 83% en 50 mM; *J. cinerea*: 95% y 80%, respectivamente) y la redujeron significativamente en 100 mM de NaCl (*J. curcas*: 39% respecto al control, *J. cinerea*: 42%). La  $A$  obtuvo una alta correlación en comparación con la tasa de transpiración ( $E$ ), la conductividad estomática ( $g_s$ ), el área foliar ( $AF$ ) y el peso seco ( $PS$ ) en las dos especies (Tabla XV). En *J. cinerea*, la correlación entre la  $A$  y el contenido de clorofila ( $Chl$ ) fue menor que en los otros factores.



**Figura 20.** Efecto de NaCl en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (A) de *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media ± error estándar (n = 5). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05).

**Tabla XV.** Correlación entre peso seco (PS), tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (A), conductividad estomática ( $g_s$ ), transpiración ( $E$ ), potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), clorofila (Chl) y área foliar (AF).

	PS	A	$g_s$	$E$	$\Psi_w$	Chl	AF
<i>Jatropha curcas</i>							
PS		0.782***	0.950***	0.731***	0.496*	0.892***	0.951***
A	0.782***		0.859***	0.950***	0.155	0.763***	0.876***
$g_s$	0.950***	0.859***		0.840***	0.141	0.838***	0.956***
$E$	0.731***	0.950***	0.840***		0.078	0.670**	0.817***
$\Psi_w$	0.496*	0.155	0.141	0.078		0.599**	0.372
Chl	0.892***	0.763***	0.838***	0.670**	0.599**		0.861***
AF	0.951***	0.876***	0.956***	0.817***	0.372	0.861***	
<i>Jatropha cinerea</i>							
PS		0.869***	0.873***	0.856***	0.414	0.515	0.959***
A	0.869***		0.947***	0.876***	0.409	0.381	0.858***
$g_s$	0.873***	0.947***		0.947***	0.557*	0.460***	0.889***
$E$	0.856***	0.876***	0.947***		0.484	0.442	0.845***
$\Psi_w$	0.414	0.409	0.557*	0.484		0.369	0.584*
Chl	0.515	0.381	0.460***	0.442	0.369		0.405
AF	0.959***	0.858***	0.889***	0.845***	0.584*	0.405	

\*, \*\*, \*\*\*=significativo a nivel de  $p = 0.05, 0.01$  y  $0.001$ , respectivamente

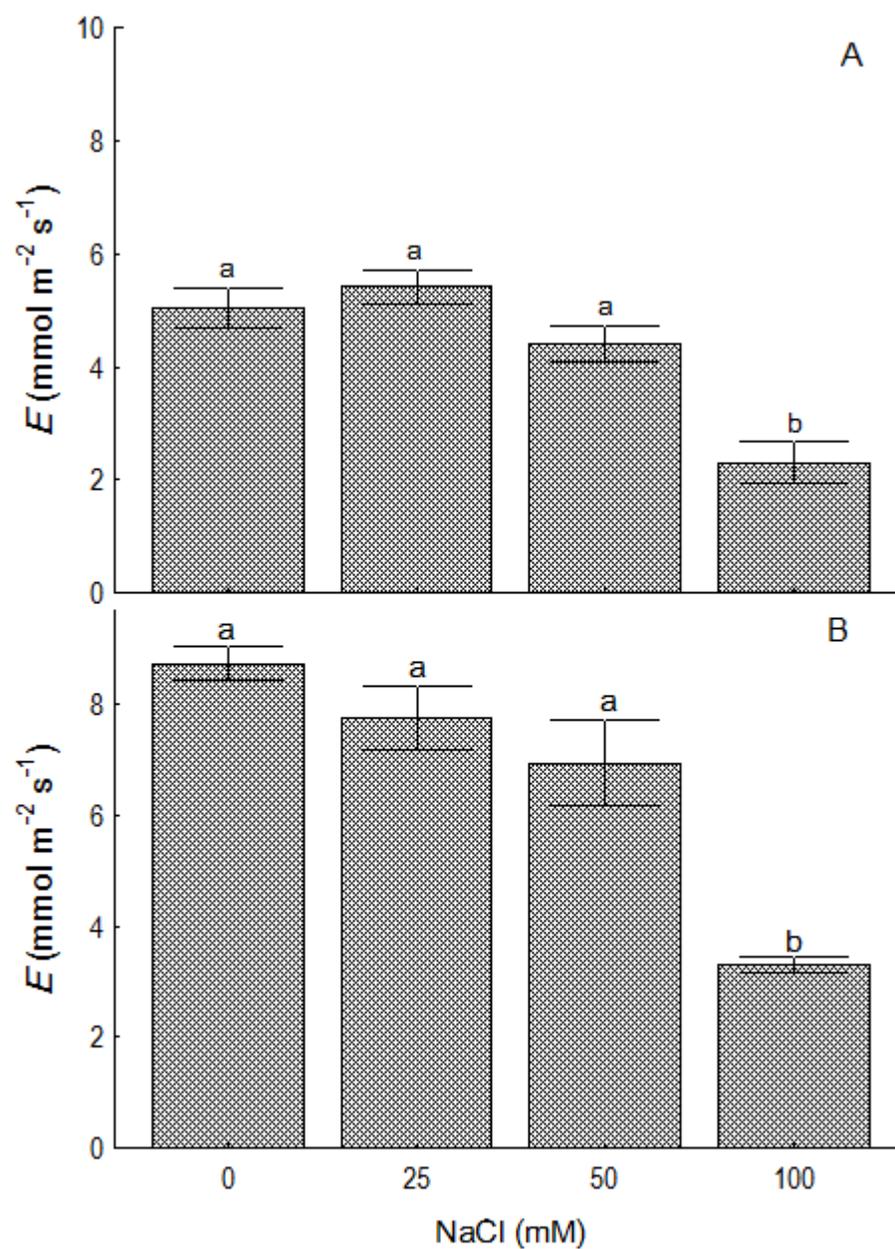
En *J. curcas*, la  $E$  mostró un ascenso en 25 mM, y disminuyó con el aumento de las concentraciones de NaCl (Figura 21). En cambio en *J. cinerea* solo disminuyó con el aumento de las concentraciones de NaCl en una tendencia constante. En ambas especies, la  $E$  disminuyó significativamente en 100 mM; en relación al control, con un 45% en *J. curcas* y en *J. cinerea* con 38%.

La  $g_s$  disminuyó significativamente en ambas especies con el aumento de las concentraciones de sal en relación con el control (Figura 22). En el tratamiento de 50 mM;

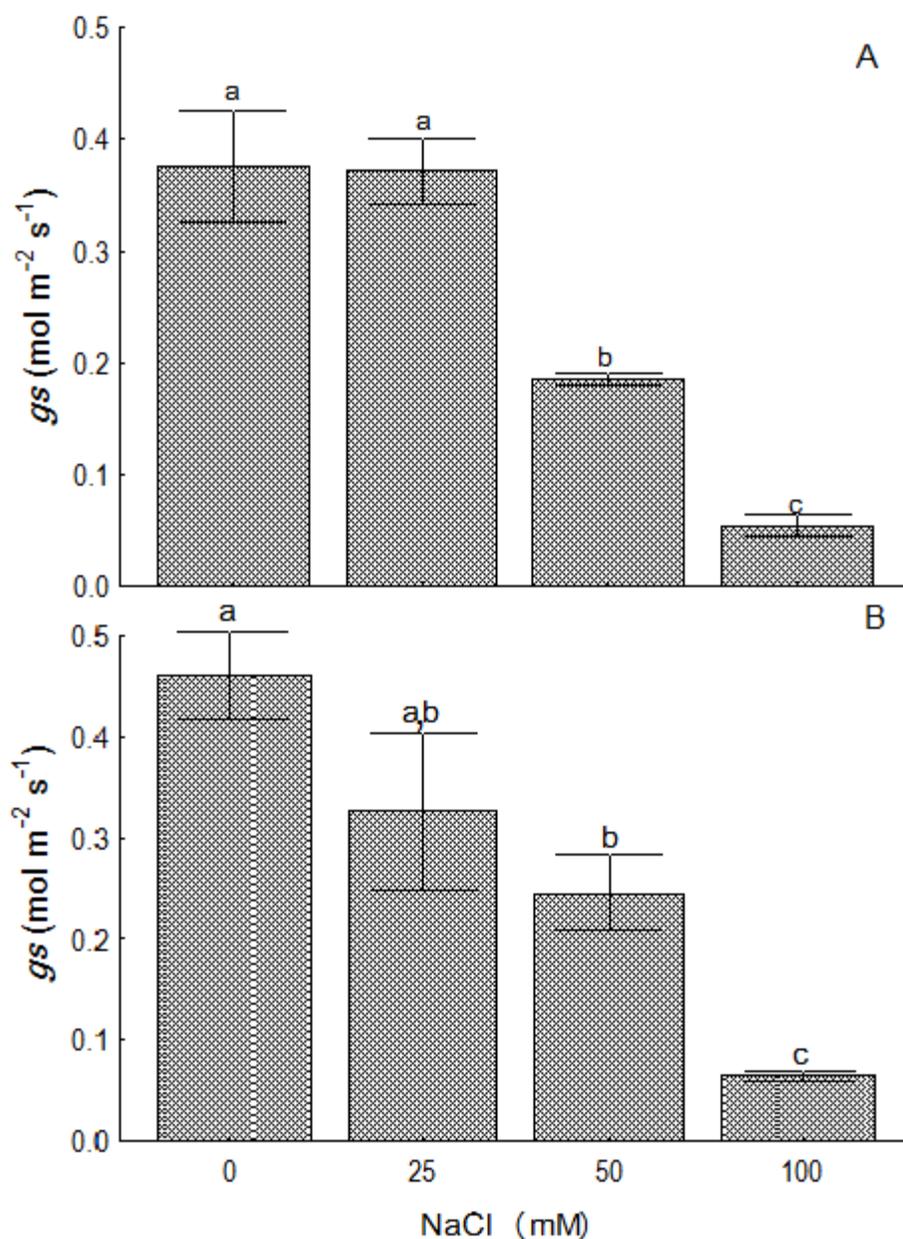
para *J. curcas* la  $g_s$  fue 38% y 53% para *J. cinerea*. En general, la  $g_s$  fue más sensible a la salinidad que *A* y *E*.

La eficiencia de la carboxilación instantánea (*A/Ci*) presenta el efecto de la salinidad en la fotosíntesis del mesófilo. La *A/Ci* mantuvo el mismo nivel hasta los 50 mM, sin embargo, disminuyó significativamente en 100 mM en ambas especies (Tabla XVI).

La eficiencia del uso del agua (*A/E*) fue determinada mediante la relación a la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y la transpiración (Tabla XVI); la que no fue afectada por la salinidad en las dos especies. En comparación con control, *J. curcas* fue 86% en 25mM, 98% en 50mM, 83% en 100mM; mientras que para *J. cinerea* fue 113%, 104% y 110%, respectivamente.



**Figura 21.** Efecto de NaCl en la tasa de transpiración ( $E$ ) en las hojas de *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n = 5). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).



**Figura 22.** Efecto de NaCl en la conductividad estomática ( $g_s$ ) de *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n = 5). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05).

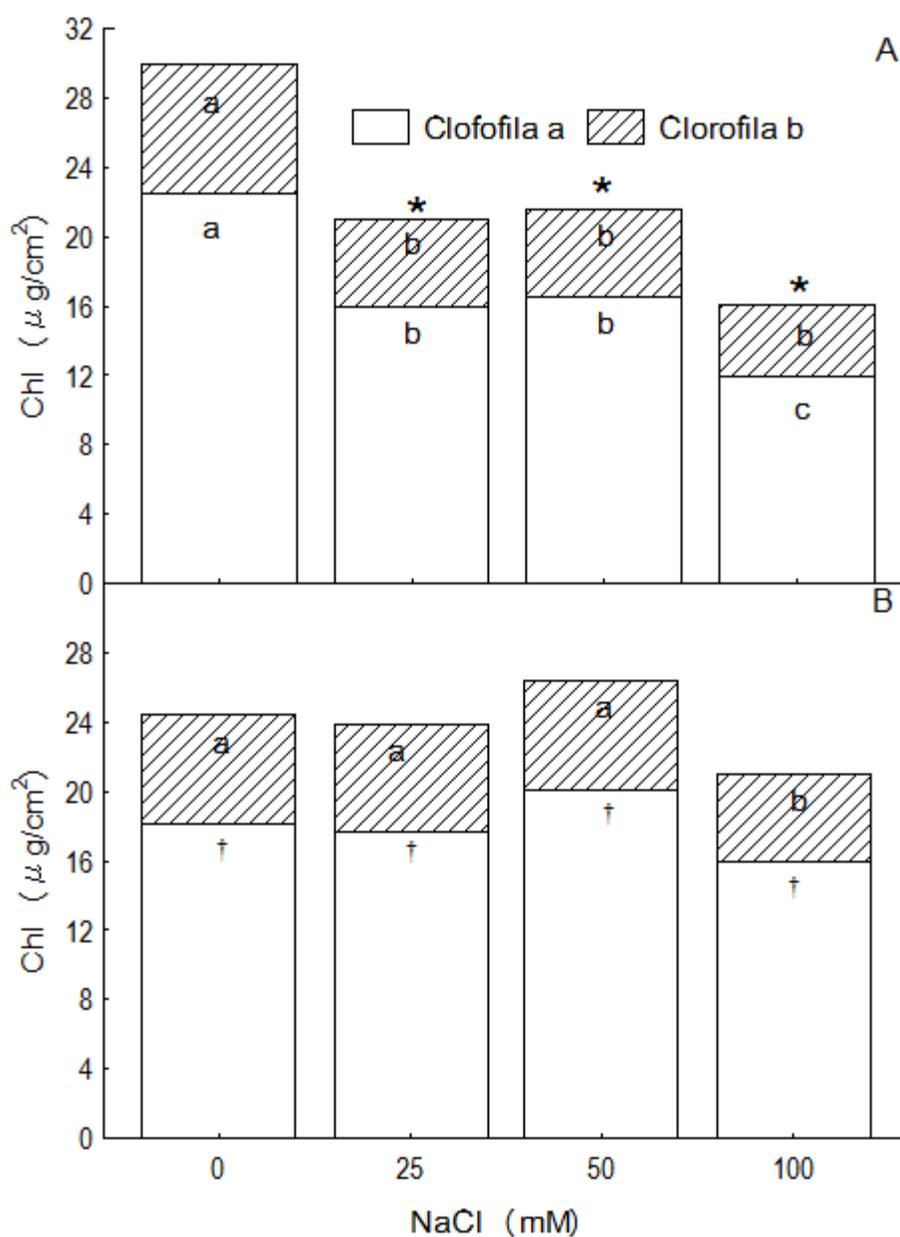
**Tabla XVI.** Eficiencia de carboxilación instantánea ( $A/Ci$ ) y eficiencia del uso de agua ( $A/E$ ) de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio ( $n = 5$ ). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).

Especies	NaCl (mM)	$A/Ci$	$A/E$
<i>Jatropha curcas</i>	0	0.03 <sup>a</sup>	1.9 <sup>†</sup>
	25	0.03 <sup>a</sup>	1.6 <sup>†</sup>
	50	0.03 <sup>a</sup>	1.8 <sup>†</sup>
	100	0.02 <sup>b</sup>	1.6 <sup>†</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	0.03 <sup>b</sup>	1.1 <sup>†</sup>
	25	0.04 <sup>a</sup>	1.3 <sup>†</sup>
	50	0.03 <sup>b,c</sup>	1.2 <sup>†</sup>
	100	0.02 <sup>c</sup>	1.2 <sup>†</sup>

† = no significativo

#### 8.2.2.4. Contenido de clorofila

En una tendencia general se encontró que el contenido de clorofila (Chl) total en *J. curcas* disminuyó con el aumento de contenido de NaCl en la solución nutritiva (Figura 23). Para *J. curcas* el contenido de Chl *a* y *b* fue afectado en la misma proporción por la salinidad disminuyendo significativamente en 25 mM; la Chl *a* de *J. curcas* fue 71% en 25 mM, 73% en 50 mM, y 52% en 100 mM; la Chl *b* fue 67%, 67% y 56%, respectivamente. En *J. cinerea*, el contenido de Chl *a* no fue afectado por la salinidad, 98% en 25 mM, 111% en 50 mM, y 81% en 100 mM, en relación con control. Por otro lado, la Chl *b* si disminuyó por la salinidad, 100% en 25 mM, 100% en 50 mM y 81% en 100 mM.

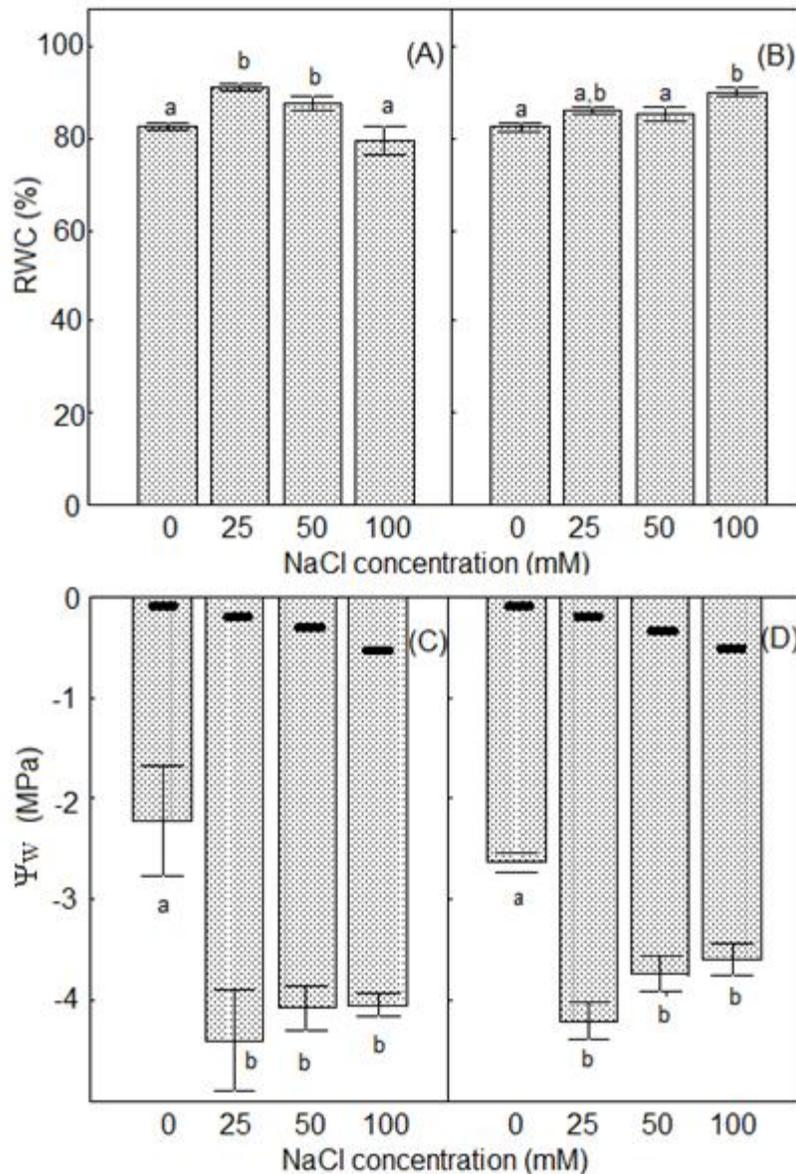


**Figura 23.** Cambio de contenido de Clorofila (Chl) *a* y *b* en *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B) por tratamiento de NaCl. Las barras representan el promedio ( $n = 5$ ). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ). \*= significativamente diferente en clorofila total del control a  $P < 0.05$  con ANOVA. † = no significativo.

#### 8.2.2.5. Estado hídrico

El contenido relativo de agua (RWC) en las dos especies se vio afectado de manera diferente por los tratamientos (Figura 24AB). En *J. curcas* el RWC, mantuvo una tendencia ascendente en 25 mM y 50 mM con 89% y 88% en comparación con el tratamiento control. Sin embargo en 100, mostró una disminución del 81%. En *J. cinerea*, se observó que el RWC se incrementó del 82% (control) a 90% (100 mM) con el aumento de las concentraciones de NaCl en la solución nutritiva.

El potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) del tejido foliar, disminuyó significativamente con los tratamientos de salinidad en las dos especies (Figura 24CD). En *J. curcas*  $\Psi_w$  del tejido foliar fue de -4.2 MPa en el tratamiento de 25 mM NaCl y de -2.6 MPa en el tratamiento de control. En *J. cinerea*  $\Psi_w$  del tejido foliar fue de -4.4 MPa en el tratamiento de 25 mM y de -2.8 MPa en el tratamiento control. En ambas especies, el  $\Psi_w$  no cambió significativamente de 25 mM a 100 mM de NaCl. Comparando los  $\Psi_w$  del tejido foliar y a solución nutritiva, todos los  $\Psi_w$  del tejido foliar fueron menores que de la solución nutritiva en todas las concentraciones de NaCl de ambas especies.



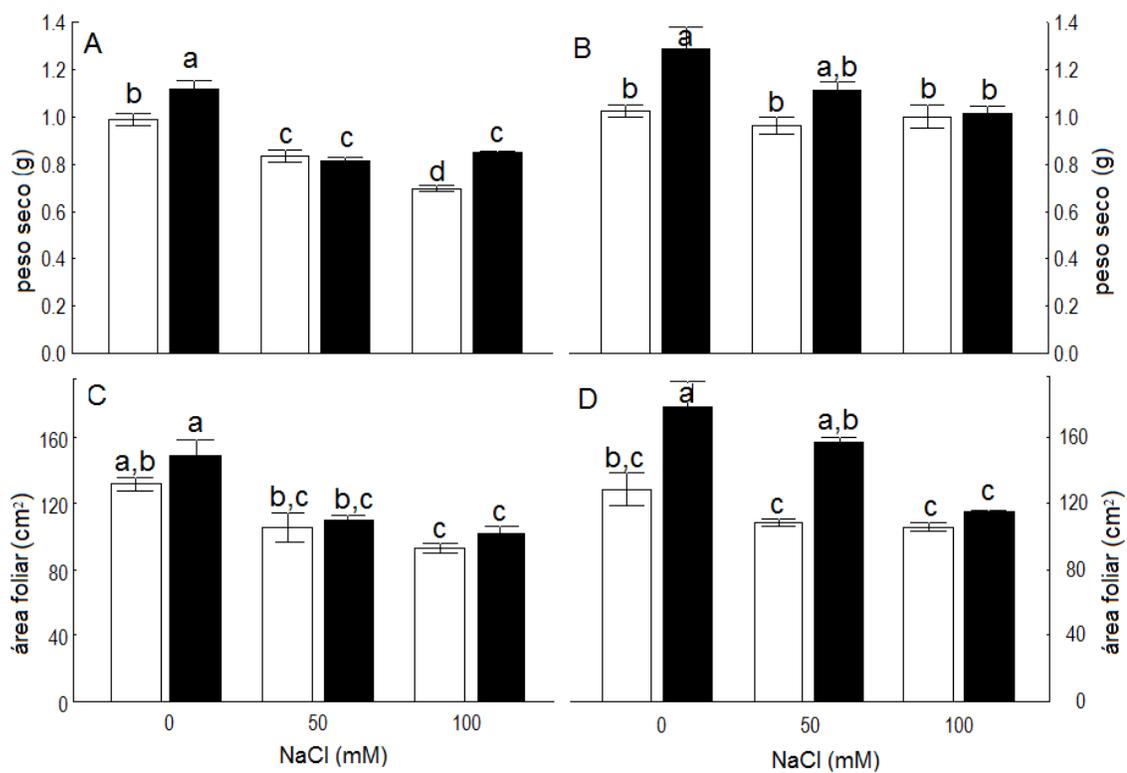
**Figura 24.** Efecto de NaCl en el contenido relativo de agua (RWC: A, B) y en el potencial hídrico ( $\Psi_w$ : C, D) de *Jatropha curcas* (A, C) y *Jatropha cinerea* (B, D). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n = 5). en C-D es la potencial hídrico de la cada solución salina. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05).

### 8.3. Efectos de la interacción salinidad-fertilización nitrogenada

#### 8.3.1. Producción de la biomasa

La producción de biomasa en *J. curcas* se vio afectada por la salinidad (Figura 25). El peso seco disminuyó con el aumento de las concentraciones de sales en los niveles moderados de nitrógeno (NM). El efecto de nitrógeno adicionado fue confirmado en 0 y 100 mM de NaCl en niveles altos de nitrógeno (NA). Sin embargo, no hubo diferencia significativa en peso seco entre NM y NA a 50 mM. En *J. cinerea*, la producción de la biomasa no fue afectada por los tratamientos de sales, y en NA el efecto de nitrógeno adicionado fue confirmado solamente en 0 mM.

El área foliar en *J. curcas* también disminuyó con el aumento de las concentraciones de sal (Figura 25), pero el efecto de nitrógeno no fue confirmado. Por el contrario el área foliar de *J. cinerea* no fue afectado por el tratamiento de sales al igual que su peso seco. El efecto de nitrógeno adicionado fue confirmado en 0 y 50 mM de NaCl, pero no en 100 mM.



**Figura 25.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el peso seco total (A, B) y área foliar (C, D) de *Jatropha curcas* (A, C) y *Jatropha cinerea* (B, D). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=4). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p=0.05$ ). □– niveles moderados de nitrógeno (NM), ■– niveles altos de nitrógeno (NA)

### 8.3.2. Clorofila

El grado de descomposición de la clorofila se evaluó con el medidor SPAD. El contenido de clorofila se redujo con el aumento de las concentraciones de NaCl en ambas especies (Tabla XVII). La clorofila de *J. curcas* fue más sensible a la salinidad, disminuyendo significativamente en *J. curcas* en 50 mM de NaCl y en *J. cinerea* en 100 mM. El efecto de nitrógeno adicional no se confirmó en las dos especies.

**Tabla XVII.** Interacción del efecto entre el estrés salino y fertilización nitrogenada en la fluorescencia de clorofila (SPAD) en *Jatropha curcas* y en *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio (n=4). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). NM–niveles moderados de nitrógeno, NA– niveles altos de nitrógeno.

Especies	NaCl (mM)	Clorofila (SPAD)	
		NM	NA
<i>Jatropha curcas</i>	0	36 <sup>a</sup>	39 <sup>a</sup>
	50	29 <sup>b</sup>	30 <sup>b</sup>
	100	27 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	35 <sup>a,b</sup>	37 <sup>a</sup>
	50	31 <sup>b,c</sup>	35 <sup>a,b</sup>
	100	30 <sup>c</sup>	31 <sup>b,c</sup>

### 8.3.3. Estado hídrico y la estabilidad de las membranas

El potencial osmótico de las dos especies fue afectado por la salinidad (Tabla XVIII), disminuyendo significativamente en *J. curcas* en 100 mM y en *J. cinerea* en 50 mM. El nitrógeno adicional aumentó el potencial osmótico de *J. curcas* en 100 mM, al contrario de *J. cinerea* donde disminuyó en 50 mM.

El efecto de salinidad y nitrógeno adicional no afectó el estado hídrico de las plantas de *Jatropha* (Tabla XVIII). Por otra parte, el nitrógeno adicional tampoco afectó las relaciones hídricas en las dos especies.

La difusión electrolítica aumentó significativamente en 100 mM en ambas especies (Tabla XVIII) al incrementar la concentración de NaCl. Además, el efecto de nitrógeno adicionado en esta difusión se presentó en 100 mM en las dos especies siendo menor en NA que en NM. En comparación, el efecto de la salinidad en la difusión electrolítica fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea*.

**Tabla XVIII.** Interacción del efecto entre el estrés salino y fertilización nitrogenada en el potencial osmótico, contenido de agua y difusión electrolítica en *Jatropha curcas* y en *Jatropha cinerea*. Los datos representan el promedio (n=4). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). NM–niveles moderados de nitrógeno, NA–niveles altos de nitrógeno.

† = no significativo

Especies	NaCl (mM)	Potencial Osmótico (mmol /kg)		Contenido de Agua (%)		Difusión electrolítica (%)	
		NM	NA	NM	NA	NM	NA
<i>Jatropha curcas</i>	0	-1.1 <sup>a</sup>	-1.1 <sup>a</sup>	90 <sup>†</sup>	84 <sup>†</sup>	13.2 <sup>a</sup>	14.3 <sup>a</sup>
	50	-1.5 <sup>a,b</sup>	-1.4 <sup>a,b</sup>	90 <sup>†</sup>	88 <sup>†</sup>	21.3 <sup>a</sup>	22.2 <sup>a</sup>
	100	-2.6 <sup>c</sup>	-1.8 <sup>b</sup>	87 <sup>†</sup>	87 <sup>†</sup>	69.1 <sup>c</sup>	40.6 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>	0	-1.2 <sup>a</sup>	-1.2 <sup>a</sup>	81 <sup>†</sup>	81 <sup>†</sup>	17.7 <sup>a,b</sup>	15.3 <sup>a</sup>
	50	-1.7 <sup>b,c</sup>	-1.4 <sup>a,b</sup>	87 <sup>†</sup>	86 <sup>†</sup>	24.8 <sup>b</sup>	21.7 <sup>a,b</sup>
	100	-2.0 <sup>d</sup>	-1.6 <sup>b,c</sup>	83 <sup>†</sup>	85 <sup>†</sup>	38.3 <sup>c</sup>	19.6 <sup>a,b</sup>

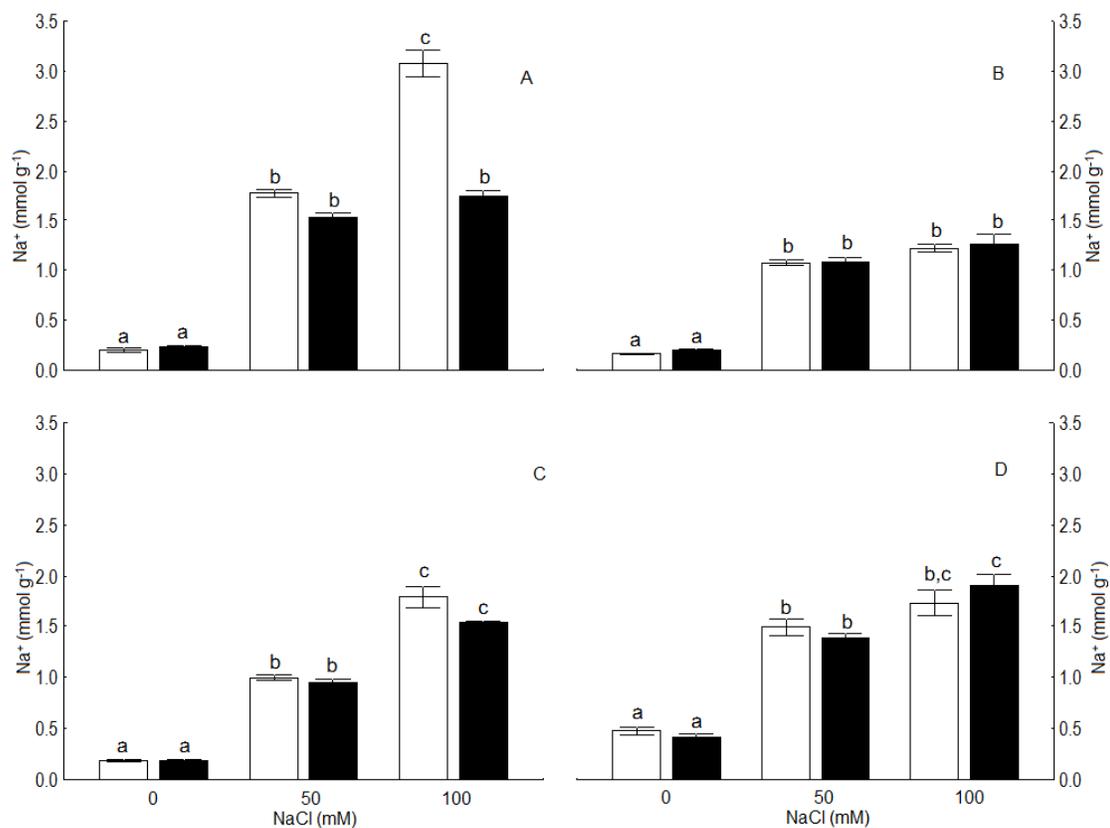
#### 8.3.4. Composición de minerales

Comparando la concentración de  $\text{Na}^+$  en las dos especies evaluadas, se encontró que la concentración de  $\text{Na}^+$  del vástago fue similar en el tratamiento control (Figura 26). Por el contrario, en la raíz la concentración de  $\text{Na}^+$  fue 2.5 veces más alta en *J. cinerea* que en *J. curcas*. La concentración de  $\text{Na}^+$  aumentó con el incremento de la concentración de NaCl en las raíces y vástagos en ambas especies. La concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago aumento mayor proporción en *J. curcas* que en *J. cinerea* por los tratamientos de salinidad. El cambio de la concentración de  $\text{Na}^+$  en la raíz fue similar en las dos especies. El efecto de nitrógeno adicional fue confirmado solamente en la concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago en *J. curcas*, disminuyendo significativamente en 100 mM con el nitrógeno adicional. Sin embargo, su efecto no fue observado en la concentración de  $\text{Na}^+$  de la raíz de *J. curcas*. En *J. cinerea*, la concentración de  $\text{Na}^+$  no fue afectada por el nitrógeno adicional en el vástago ni en la raíz en cualquiera de los niveles de salinidad. Bajo el estrés salino, la concentración de  $\text{Na}^+$  fue mayor en vástago que en la raíz en *J. curcas*, y en el orden inverso en *J. cinerea*.

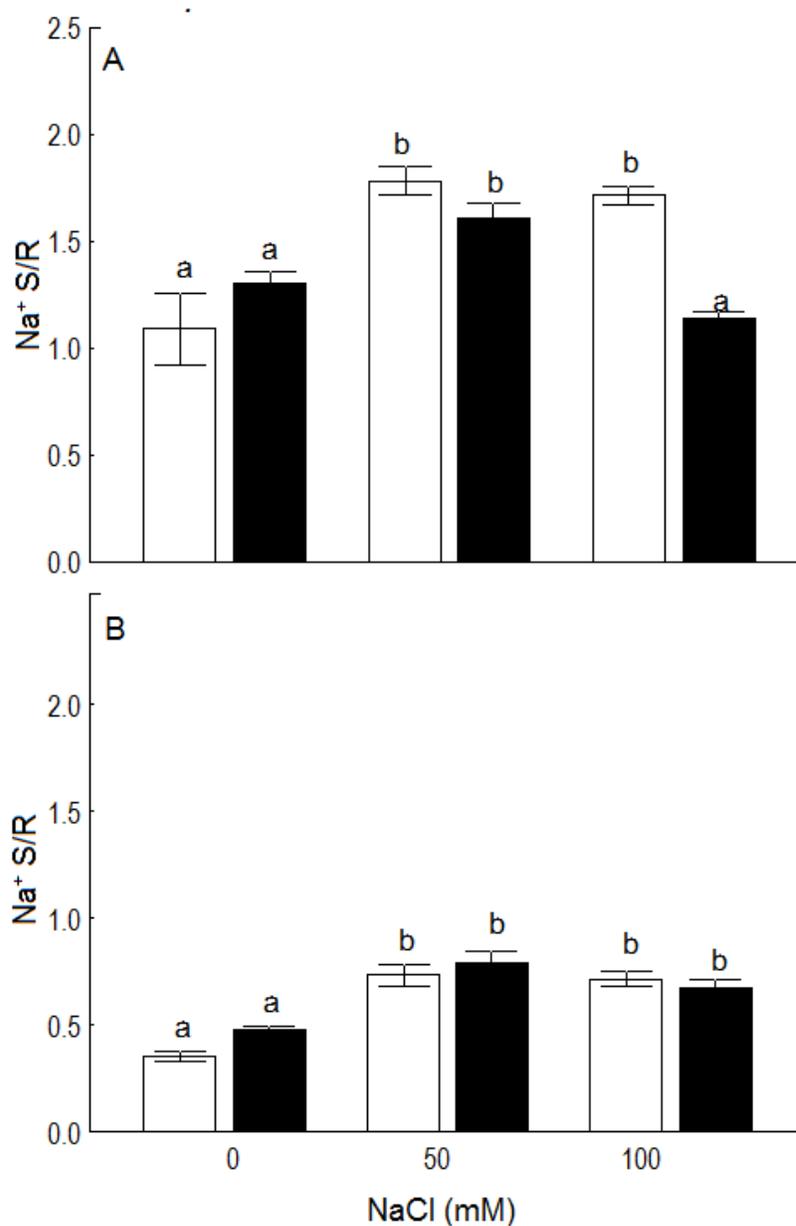
La relación de  $\text{Na}^+$  entre vástago y raíz ( $\text{Na}^+ \text{ V/R}$ ) se incrementó por la salinidad en *J. curcas* (Figura 27). El efecto de nitrógeno adicional fue confirmado en 100 mM de NaCl y la relación  $\text{Na}^+ \text{ V/R}$  se mantuvo en el mismo nivel de 0 mM. En *J. cinerea*,  $\text{Na}^+ \text{ V/R}$  se incrementó por la salinidad. Sin embargo, el efecto del nitrógeno adicional no fue confirmado.

Comparando la concentración de  $\text{Cl}^-$  en las dos especies evaluadas, se encontró que en el vástago la concentración fue similar en el tratamiento control (Figura 28). Por otro lado, en la raíz la concentración de  $\text{Cl}^-$  fue 2.5 veces más alta en *J. cinerea* que en *J. curcas*. La concentración de  $\text{Cl}^-$  aumentó con el incremento de la concentración de NaCl en las raíces y

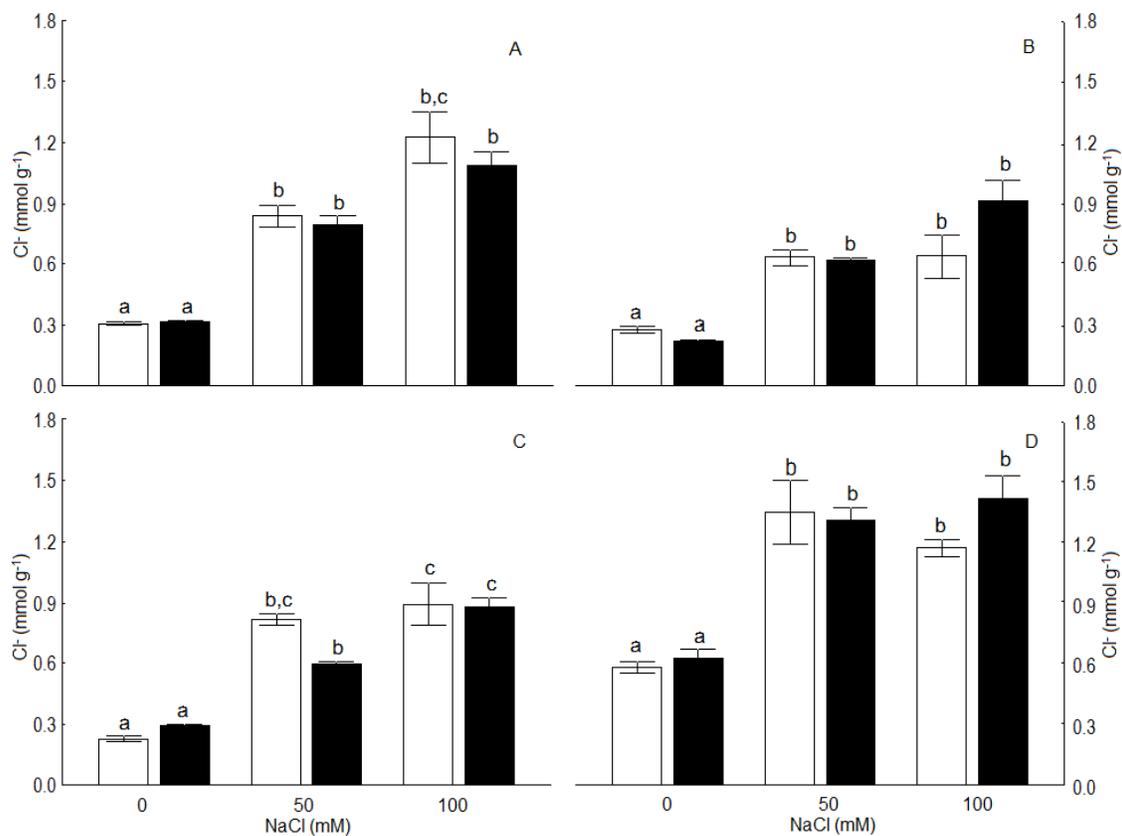
vástagos en ambas especies. La concentración de  $\text{Cl}^-$  en el vástago aumento en mayor proporción en *J. curcas* que en *J. cinerea* debido a las tratamientos de salinidad. Para la raíz la concentración de  $\text{Cl}^-$  fue mayor en *J. cinerea* que en *J. curcas*. Con la aplicación de nitrógeno adicional, no se presentaron cambios en la concentración de  $\text{Cl}^-$  en vástago ni en raíz en comparación con la concentración de NM. En *J. curcas* la concentración de  $\text{Cl}^-$  fue mayor en el vástago que en la raíz y en *J. cinerea* fue mayor en la raíz que en el vástago en ambos niveles de nitrógeno bajo estrés salino.



**Figura 26.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de Na<sup>+</sup> de *Jatropha curcas* (A: vástago, C: raíz) y *Jatropha cinerea* (B: vástago, D: raíz). Los barras representan la media ± error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). □– niveles moderados de nitrógeno (NM), ■– niveles altos de nitrógeno (NA)



**Figura 27.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en la relación de Na<sup>+</sup> entre vástago y raíz (Na<sup>+</sup> S/R) en *Jatropha curcas* (A) y *Jatropha cinerea* (B). Las barras representan la media ± error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). □– niveles moderados de nitrógeno (NM), ■– niveles altos de nitrógeno (NA).



**Figura 28.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de Cl<sup>-</sup> en *Jatropha curcas* (A: vástago, C: raíz) y *Jatropha cinerea* (B: vástago, D: raíz). Las barras representan la media ± error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). □– niveles moderados de nitrógeno (NM), ■– niveles altos de nitrógeno (NA).

Se encontró que la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en las dos especies fue similar en el tratamiento control (0 mM de NaCl) (Tabla XIX). En *J. curcas*, la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  no se modificó en la raíz y el vástago al aplicar nitrógeno adicional junto con los tratamientos de NaCl y se observó un incremento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el vástago cuando el estrés salino no se presentó. En *J. cinerea*, la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en raíz y vástago disminuyó con el incremento de la concentración de NaCl. El efecto de nitrógeno adicional no fue confirmado en la raíz o el vástago.

La concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea* en el tratamiento control (Tabla XIX). Bajo estrés salino la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en *J. curcas* fue mayor en la raíz en dos niveles de nitrógeno evaluados. Sin embargo, la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en vástago no fue afectada por los tratamientos de NaCl. En condición elevada de nitrógeno, la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en el vástago fue mayor en el tratamiento control. La concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en *J. cinerea*, en la raíz no se vio afectada con los tratamientos de NaCl; sin embargo en el vástago la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  se redujo con los tratamientos con NaCl. El efecto de nitrógeno adicional no fue confirmado en la raíz, y en el vástago bajo los tratamientos de salinidad, excepto que la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  se incrementó solamente en el tratamiento sin la presencia de sal.

De forma general, la concentración de  $\text{K}^+$  fue más alta en *J. curcas* que en *J. cinerea* en el tratamiento control, y disminuyó en ambas por los tratamientos de NaCl (Tabla XIX). La concentración de  $\text{K}^+$  de la raíz no fue afectada con nitrógeno adicional en los tratamientos de salinidad en ninguna de las dos especies. En el vástago, no mostró cambios en la concentración de  $\text{K}^+$  en *J. curcas*; para *J. cinerea* la concentración de  $\text{K}^+$  disminuyó y el efecto de nitrógeno adicional se observó en el tratamiento control en esta especie.

El equilibrio de cationes entre  $\text{Na}^+$  y  $(\text{Ca}^{2+} + \text{K}^+ + \text{Mg}^{2+})$  aumentó con el incremento de las concentraciones de NaCl en ambas especies (Figura 29). En *J. curcas*, el desequilibrio de cationes se observó en mayor proporción en el vástago que en la raíz, y en *J. cinerea* el desequilibrio de cationes se observó en mayor proporción en la raíz que en el vástago. Con nitrógeno adicional, el desequilibrio de cationes de *J. curcas* mejoró en 100 mM de NaCl en la raíz y en el vástago. En *J. cinerea* no presentó desequilibrio de cationes.

La concentración de  $\text{NO}_3^-$  fue más alta en *J. curcas* que en *J. cinerea* en el vástago solo bajo el tratamiento control. Sin embargo, en la raíz la concentración de  $\text{NO}_3^-$  fue similar en las dos especies (Figura 30). En las raíces y vástagos de *J. curcas* la concentración de  $\text{NO}_3^-$  no se afectó por la salinidad y nitrógeno adicional. En *J. cinerea*, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el vástago disminuyó con los tratamientos de salinidad, pero no se observó afectados en la raíz. Con nitrógeno adicional, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el vástago se incrementó en el tratamiento de 100 mM y en la raíz aumentó en el tratamiento control. En forma generalizada, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en *J. curcas* fue igual en la raíz que en el vástago y en *J. cinerea* la concentración de  $\text{NO}_3^-$  fue mayor en la raíz que en el vástago en los dos niveles de nitrógeno evaluado.

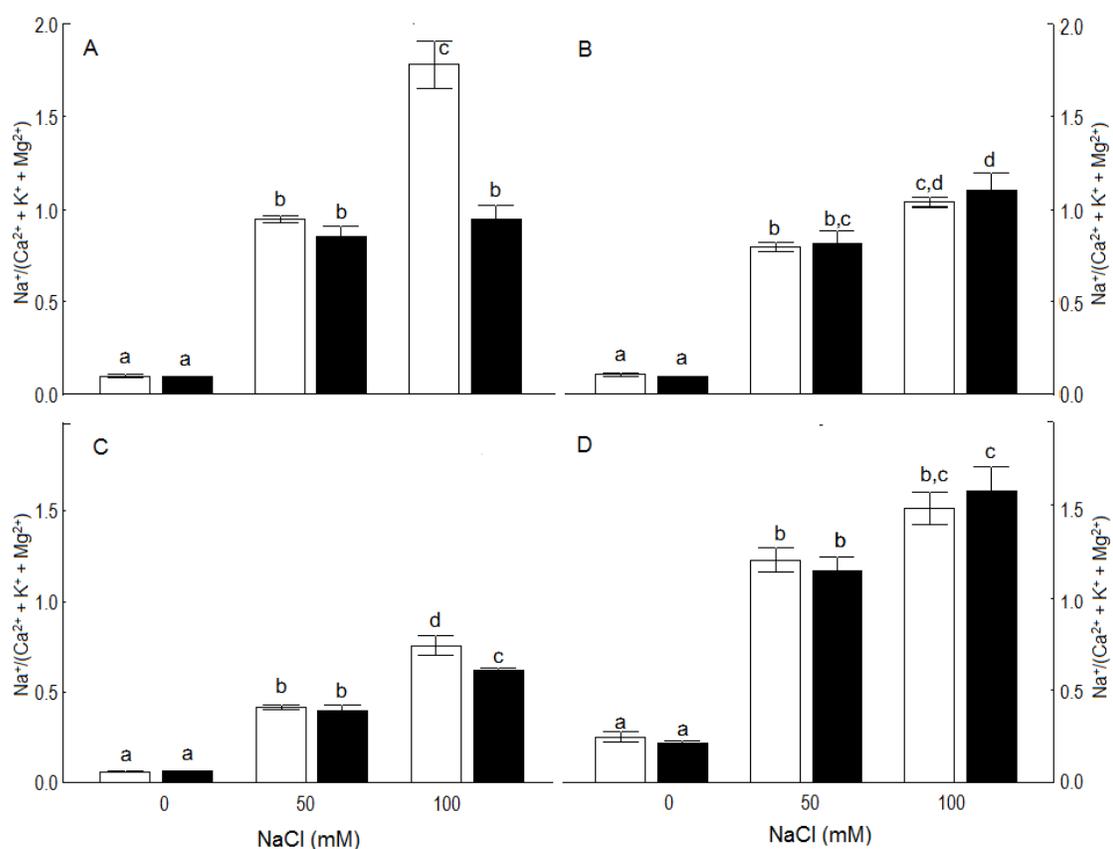
El nitrógeno total de la raíz y del vástago en el tratamiento control fue mayor en *J. curcas* que en *J. cinerea* (Figura 31). El nitrógeno total de la raíz y el vástago de *J. curcas* fue afectado por los tratamientos de salinidad. Con nitrógeno adicional, el nitrógeno total de la raíz de *J. curcas* aumentó con el tratamiento de NaCl, y la concentración de nitrógeno del vástago se incremento solo hasta el tratamiento de 50 mM de NaCl. En *J. cinerea*, el nitrógeno total no fue afectado en la raíz ni en el vástago con el tratamiento de NaCl. En la raíz de *J. cinerea* la concentración de nitrógeno aumentó con nitrógeno adicional y en el

vástago solamente en los tratamientos con los niveles de 0 y 100 mM de NaCl. En una tendencia general se encontró que el nitrógeno total en *J. curcas* fue mayor en el vástago que en la raíz y en *J. cinerea* fue igual en la raíz que en el vástago.

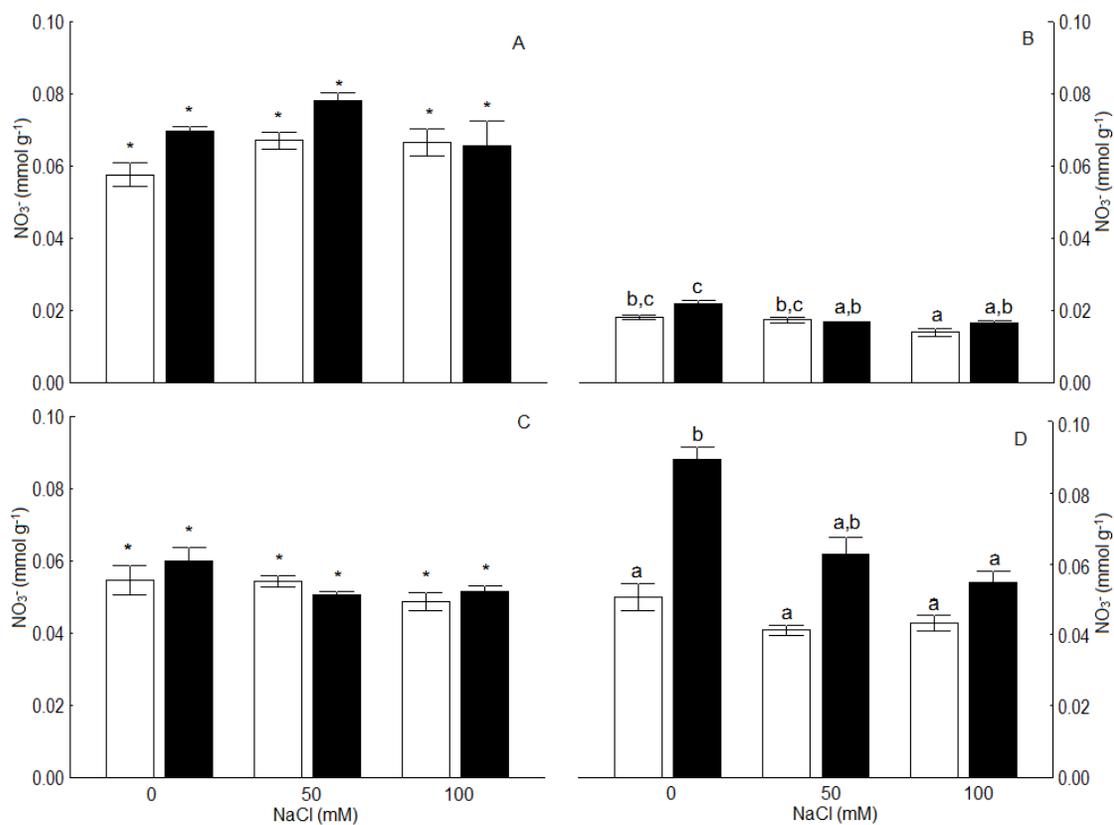
**Tabla XIX.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  en *J. curcas* y *J. cinerea*. Los datos significan el promedio (n=4). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). NM: nivel moderado de nitrógeno, NA: nivel alto de nitrógeno.

NaCl (mM)	$\text{Ca}^{2+}$ (mmol g <sup>-1</sup> )				$\text{Mg}^{2+}$ (mmol g <sup>-1</sup> )				$\text{K}^+$ (mmol g <sup>-1</sup> )			
	Raíz		Vástago		Raíz		Vástago		Raíz		Vástago	
	NM	NA	NM	NA	NM	NA	NM	NA	NM	NA	NM	NA
<i>Jatropha curcas</i>												
0	0.01 <sup>†</sup>	0.02 <sup>†</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.23 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	1.65 <sup>c</sup>	1.59 <sup>b,c</sup>	1.05 <sup>a,b</sup>	1.25 <sup>b</sup>
50	0.01 <sup>†</sup>	0.01 <sup>†</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a,b</sup>	0.91 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>
100	0.01 <sup>†</sup>	0.01 <sup>†</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.31 <sup>b</sup>	0.34 <sup>c</sup>	0.21 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	1.22 <sup>a</sup>	1.26 <sup>a,b</sup>	0.84 <sup>a</sup>	0.90 <sup>a</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>												
0	0.02 <sup>b</sup>	0.01 <sup>a,b</sup>	0.05 <sup>b,c</sup>	0.06 <sup>c</sup>	0.15 <sup>a,b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.24 <sup>c</sup>	1.05 <sup>b</sup>	1.04 <sup>b</sup>	0.74 <sup>b</sup>	1.01 <sup>c</sup>
50	0.01 <sup>a,b</sup>	0.01 <sup>a,b</sup>	0.04 <sup>a,b</sup>	0.03 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a,b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a,b</sup>	0.68 <sup>a,b</sup>
100	0.01 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a,b</sup>	0.03 <sup>a</sup>	0.03 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a,b</sup>	0.18 <sup>a,b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>	0.56 <sup>a</sup>

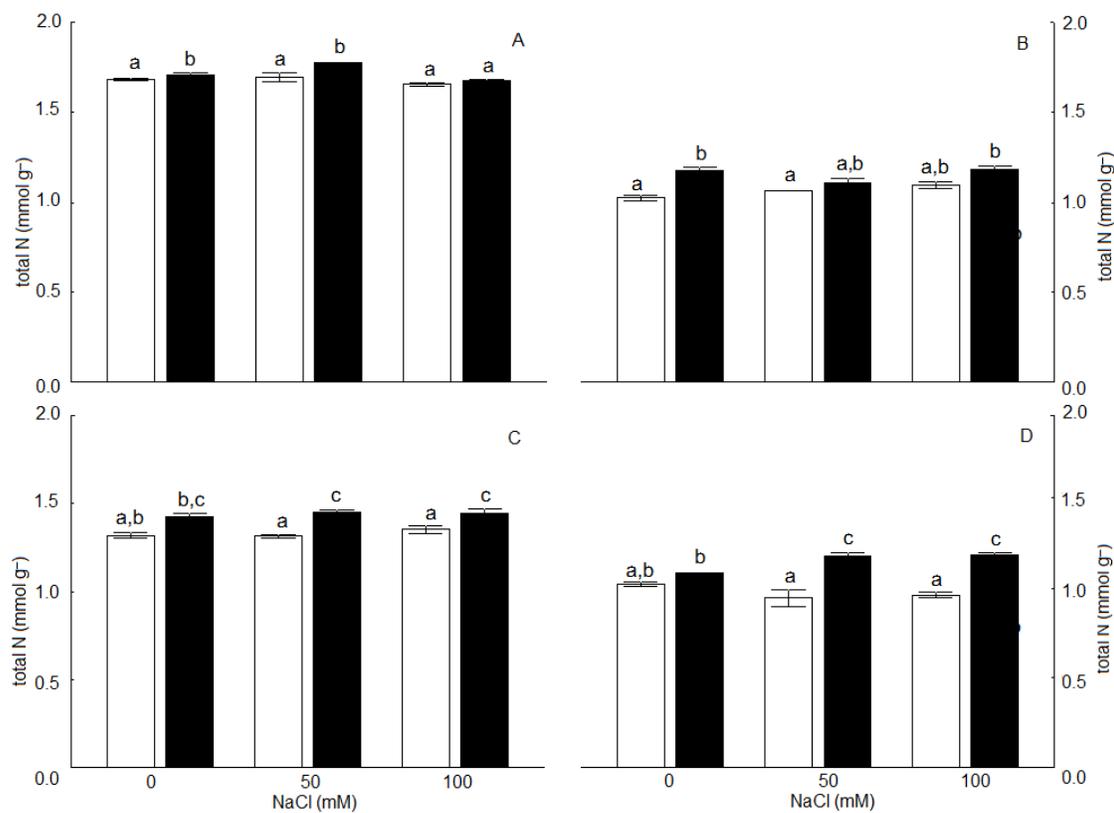
<sup>†</sup> = no significativo



**Figura 29.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en la relación de cationes Na<sup>+</sup>/ (Ca<sup>2+</sup>+ K<sup>+</sup>+ Mg<sup>2+</sup>) en *Jatropha curcas* (A: vástago, C: raíz) y *Jatropha cinerea* (B: vástago, D: raíz). Las barras representan la media±error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). □- niveles moderados de nitrógeno (NM), ■- niveles altos de nitrógeno (NA).



**Figura 30.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de  $\text{NO}_3^-$  en *Jatropha curcas* (A: vástago, C: raíz) y *Jatropha cinerea* (B: vástago, D: raíz). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). \*= no significativo. □– niveles moderados de nitrógeno (NM), ■– niveles altos de nitrógeno (NA).



**Figura 31.** Efecto de NaCl y fertilización nitrogenada en el contenido de total nitrógeno (N-total) en *Jatropha curcas* (A: vástago, C: raíz) y *Jatropha cinerea* (B: vástago, D: raíz). Las barras representan la media±error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). □— niveles moderados de nitrógeno (NM), ■— niveles altos de nitrógeno (NA).

#### 8.4. Efectos del estrés por salinidad en la etapa de producción de la semilla

##### 8.4.1. Características físico-químicas de la solución nutritiva

Algunas características físico-químicas de la solución nutritiva se muestran en la Tabla XX. La conductividad eléctrica (EC) del agua de pozo fue mayor que la del agua de riego. En una comparación general se encontró que el agua de pozo contiene mayor concentración de sales que el agua para riego. Algunas de estas sales en alta concentración en el agua de pozo fueron  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Cl}^-$ . Por otra parte, la concentración de  $\text{NO}_3^-$ , N-total y  $\text{PO}_4^{2-}$  fueron similares en ambas fuentes de agua.

**Tabla XX.** Característica físico-químicas de la solución nutritiva. Control = agua de riego (100%) + fertilizante NPK20 (150 ppm), salinidad 1 = agua de riego (50%) + agua de pozo (50%) + fertilizante NPK20 (150 ppm), salinidad 2 = agua de pozo (100%) + fertilizante NPK20 (150 ppm).

	EC	$\text{Na}^+$	$\text{Cl}^-$	$\text{NO}_3^-$	N-total	$\text{PO}_4^{2-}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{K}^+$
	( $\text{dSm}^{-1}$ )	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)
Control	1.9	120	195	78	167	185	24	21	176
Salinidad 1	3.8	311	658	94	153	212	80	68	173
Salinidad 2	6.1	675	1344	82	164	195	257	154	212

##### 8.4.2. Crecimiento

El crecimiento de *J. curcas* disminuyó bajo estrés por salinidad (Figura 32). En *J. cinerea*, se observó una tendencia a la disminución de altura por los tratamientos salino. La altura de *J. curcas* fue 82% en salinidad 1 y 87% en salinidad 2; en *J. cinerea* fue 89% y

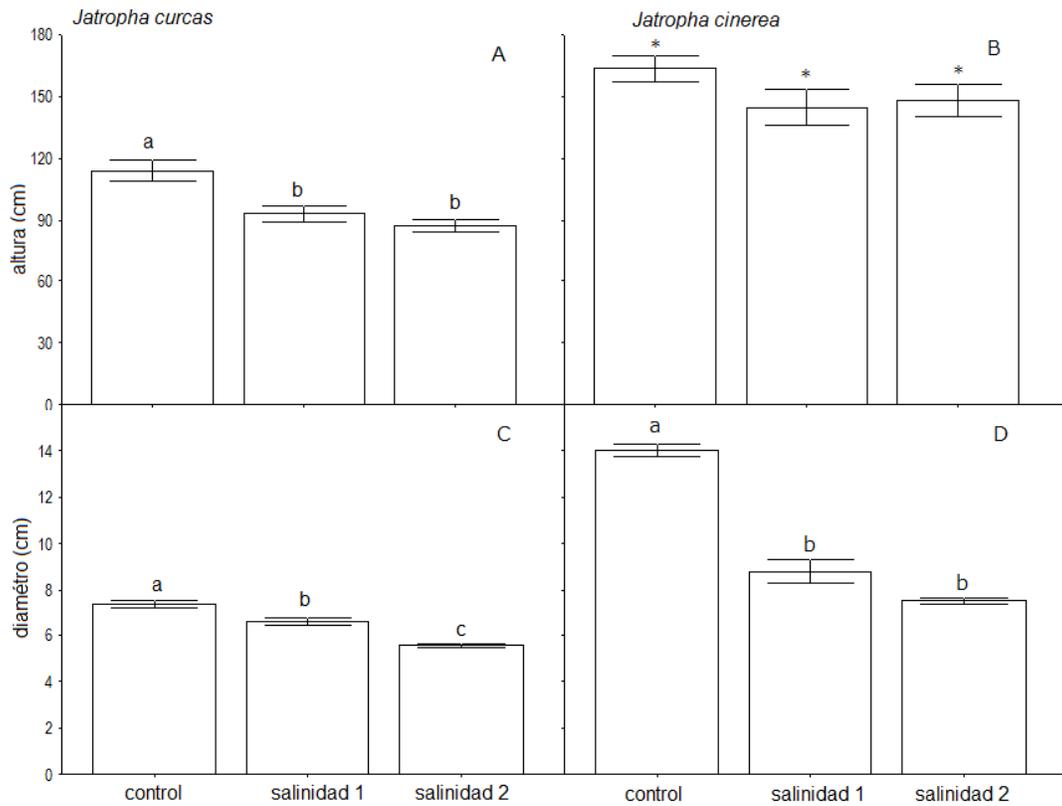
91%, en relación al control respectivamente. El diámetro del tallo disminuyó en las dos especies por el efecto de la salinidad (Figura 32). En *J. curcas* fue 89% en el nivel de salinidad 1 a 78% en el nivel de salinidad 2; en *J. cinerea* la disminución fue de 82% a 77%, respectivamente. Así, la altura y diámetro de *J. curcas* fueron afectados en una proporción similar, mientras que en *J. cinerea* el diámetro fue más afectado que la altura.

#### 8.4.3. Composición de minerales

La concentración de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Cl}^-$  en las hojas se incrementó con el aumento de los niveles de salinidad en las dos especies (Tabla XXI). Comparando las dos especies, se encontró que la concentración de  $\text{Na}^+$  fue similar en el tratamiento control. Sin embargo, la concentración de  $\text{Cl}^-$  en *J. cinerea* fue mayor que en *J. curcas*.

En los tratamientos de salinidad, la concentración de  $\text{Cl}^-$  se incrementó en una proporción similar en las dos especies y la concentración de  $\text{Na}^+$  fue mayor en *J. cinerea* que en *J. curcas*.

En las dos especies, la concentración de  $\text{K}^+$  en las hojas disminuyó significativamente por los niveles de salinidad (Tabla XXI). La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$  y nitrógeno total (N-total) disminuyeron solamente en *J. curcas* (Tabla XXI). En *J. cinerea*, la salinidad no afectó la absorción de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$  y N-total.



**Figura 32.** Efecto de salinidad en la altura (A, B) y diámetro (C, D) de la planta de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). \*= no significativo.

**Tabla XXI.** Efecto de NaCl en el contenido de minerales (mmol/g) de las hojas en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos se refieren a los valores medios (n = 4). La misma letra en la columna indica que son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05).

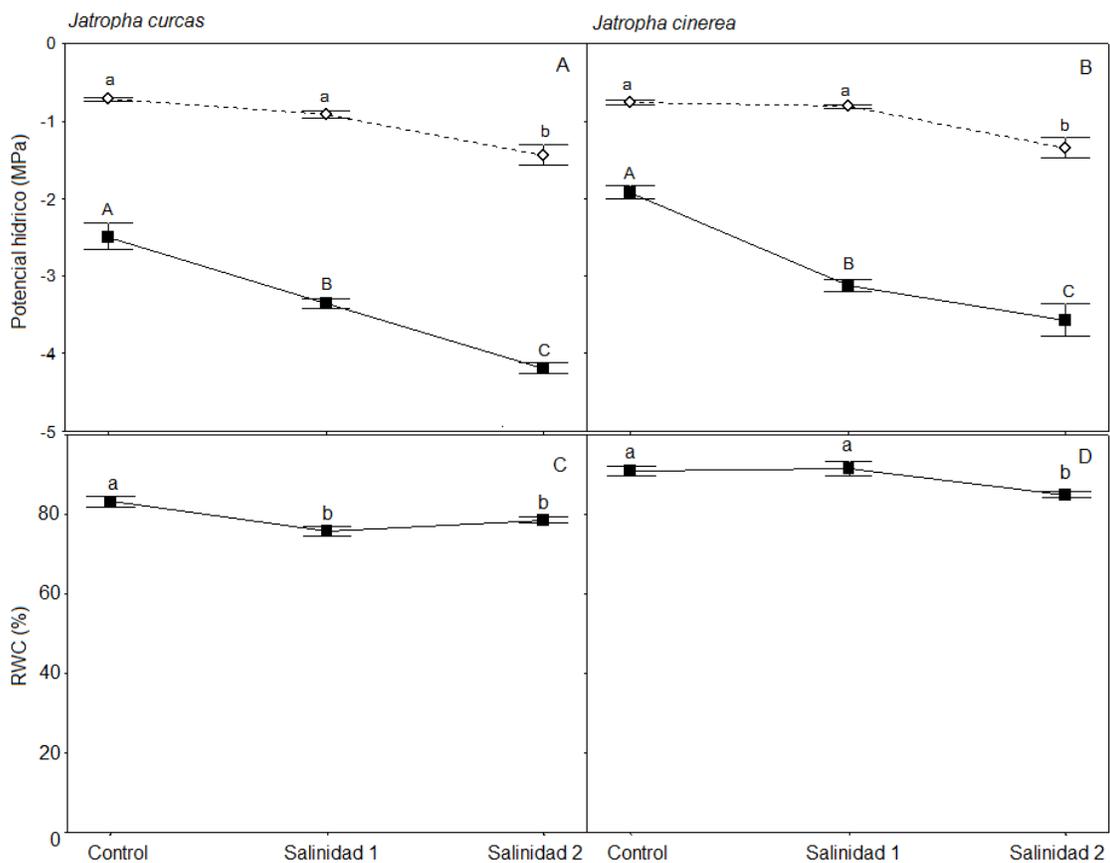
Tratamiento	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	N-total	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<i>Jatropha curcas</i>							
Control	0.52 <sup>a</sup>	0.20 <sup>a</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>	3.27 <sup>a,b</sup>	0.05 <sup>b</sup>
Salinidad 1	1.10 <sup>b</sup>	0.31 <sup>b</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.34 <sup>a</sup>	3.96 <sup>b</sup>	0.03 <sup>a</sup>
Salinidad 2	1.28 <sup>c</sup>	0.43 <sup>c</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	2.57 <sup>a</sup>	0.03 <sup>a</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>							
Control	0.56 <sup>a</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.17 <sup>†</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.27 <sup>†</sup>	2.49 <sup>†</sup>	0.07 <sup>†</sup>
Salinidad 1	1.20 <sup>b</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.17 <sup>†</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.24 <sup>†</sup>	2.50 <sup>†</sup>	0.06 <sup>†</sup>
Salinidad 2	1.64 <sup>c</sup>	0.44 <sup>b</sup>	0.17 <sup>†</sup>	0.42 <sup>a</sup>	0.25 <sup>†</sup>	2.40 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>

† = no significativo

#### 8.4.4. Estado hídrico

En las dos especies, el potencial hídrico de la hoja disminuyó por el efecto de los tratamientos de salinidad (Figura 33). El potencial hídrico de las dos especies disminuyó significativamente en el nivel de salinidad 1; en una tendencia constante el potencial hídrico disminuyó también en el nivel de salinidad 2. El potencial hídrico del suelo también disminuyó con el incremento del contenido de sal en la solución nutritiva (Figura 33). Al comparar el potencial hídrico foliar y el potencial hídrico del suelo, se encontró que el potencial hídrico fue menor en planta que en suelo.

El contenido relativo de agua disminuyó en las dos especies por los tratamientos de salinidad en las dos especies (Figura 33). En *J. curcas*, el RWC disminuyó significativamente en salinidad 1 y en *J. cinerea* esta disminución se presentó en el nivel de salinidad 2.



**Figura 33.** Efecto de salinidad en el potencial hídrico (Fig. A, B; ■ = hoja y ◇ = suelo), el contenido relativo de agua (RWC) de las hojas (Fig. C, D). Las barras representan la media ± error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05).

#### 8.4.5. Potencial osmótico de iones inorgánicos

En ambas especies, cada uno de los iones inorgánicos afectó al  $\Psi_s$  en forma diferente a ante el estrés por salinidad (Tabla XXII). En el tratamiento control, el  $\Psi_s$  de la hoja fue más afectado por  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en ambas especies. Con el tratamiento de salinidad, la influencia de  $\text{K}^+$  sobre el  $\Psi_s$  se redujo, y  $\text{Na}^+$  fue el ion más influyente en la hoja de ambas especies. La influencia de  $\text{Cl}^-$  también aumentó con los tratamientos de salinidad, sin embargo su influencia representó solo la tercera parte de  $\text{Na}^+$ , similar a  $\text{K}^+$ . La influencia del  $\text{Ca}^{2+}$  y del  $\text{Mg}^{2+}$  al  $\Psi_s$  se redujo por la salinidad en ambas especies. La influencia de  $\text{NO}_3^-$  disminuyó solamente en *J. curcas*. El  $\Psi_s$  total disminuyó con el aumento en la concentración de sal en las dos especies.

**Tabla XXII.** Efecto de NaCl (0, 50, 100 y NaCl 200 mM) en el potencial osmótico de iones inorgánicos ( $\Psi_s$ ) en la hoja de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio (n = 4). La misma letra indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).

NaCl (mM)	$\text{Na}^+ \Psi_s$ (-MPa)	$\text{Cl}^- \Psi_s$ (-MPa)	$\text{K}^+ \Psi_s$ (-MPa)	$\text{Ca}^{2+} \Psi_s$ (-MPa)	$\text{Mg}^{2+} \Psi_s$ (-MPa)	$\text{NO}_3^- \Psi_s$ (-MPa)	Total $\Psi_s$ (-MPa)
<i>Jatropha curcas</i>							
Control	0.31a	0.12a	0.38 <sup>†</sup>	0.22 <sup>†</sup>	0.10 <sup>†</sup>	0.03b	1.10a
Salinidad 1	0.63b	0.18a	0.30 <sup>†</sup>	0.19 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>	0.02a	1.35a,b
Salinidad 2	0.76b	0.25b	0.27 <sup>†</sup>	0.20 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>	0.02a	1.56b
<i>Jatropha cinerea</i>							
Control	0.25a	0.16a	0.27 <sup>†</sup>	0.12 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>	0.03 <sup>†</sup>	0.89a
Salinidad 1	0.53b	0.13a	0.26 <sup>†</sup>	0.10 <sup>†</sup>	0.07 <sup>†</sup>	0.03 <sup>†</sup>	1.10a,b
Salinidad 2	0.70b	0.19b	0.18 <sup>†</sup>	0.10 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>	0.03 <sup>†</sup>	1.18b

<sup>†</sup>=no significativo

#### 8.4.6. Parámetros de fotosíntesis

Para *J. curcas*, la  $g_s$ ,  $E$ , y  $A$  disminuyeron como una consecuencia de la aplicación de los tratamientos de salinidad. En particular la  $g_s$ ,  $E$ , y  $A$  disminuyeron significativamente en el nivel de salinidad 2 (Tabla XXIII); en cambio la  $C_i$  no fue afectada por los niveles de salinidad. Por otra parte, la eficiencia de carboxilación instantánea ( $A/C_i$ ) disminuyó por el nivel de salinidad 1 y la eficiencia de uso de agua ( $A/E$ ) disminuyó por el nivel de salinidad 2. Para *J. cinerea*, los niveles de salinidad no afectaron a la  $g_s$ ,  $E$ ,  $C_i$  ni  $A$ . Además no se observaron diferencias en  $A/C_i$  y  $A/E$  entre los tratamientos.

En general se encontró que la  $g_s$ ,  $E$  y  $A$  fueron mayores en *J. curcas* que en *J. cinerea* en el tratamiento sin salinidad. Sin embargo, los tratamientos con salinidad afectaron principalmente la  $g_s$ ,  $E$ , y  $A$  de *J. curcas* que las de *J. cinerea*.

#### 8.4.7. Contenido de clorofila

Para *J. curcas*, la clorofila (Chl) disminuyó debido a los tratamientos de salinidad. En un análisis individual de Chl  $a$  y Chl  $b$ , se encontró que disminuyeron significativamente en el nivel de salinidad 2 (Tabla XXIV). La relación entre Chl  $a$  y  $b$  (Chl  $a/b$ ) disminuyó en el nivel de salinidad 1; se observó que la Chl  $a$  es más sensible que la Chl  $b$  a la salinidad. En el nivel de salinidad 2, *J. curcas* mostró que la Chl  $a$  fue de 85% en el nivel de salinidad 2 y Chl  $b$  fue 93%. En *J. cinerea*, la salinidad no afectó al contenido de Chl total,  $a$ ,  $b$  y Chl  $a/b$ .

**Tabla XXIII.** Efecto de salinidad en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), conductividad estomática ( $g_s$ ) ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), transpiración ( $E$ ) ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), concentración de CO<sub>2</sub> intercelular ( $C_i$ ) (vpm) y el uso de eficiencia de agua ( $A/E$ ) en *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Los datos significan el promedio ( $n = 4$ ). La misma letra en la columna indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ).

Tratamiento	$A$	$g_s$	$E$	$C_i$	$A/C_i$	$A/E$
<i>Jatropha curcas</i>						
Control	9.8 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>	5.7 <sup>a</sup>	226 <sup>†</sup>	0.04 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>
Salinidad 1	3.0 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	2.2 <sup>b</sup>	192 <sup>†</sup>	0.02 <sup>b</sup>	1.7 <sup>a,b</sup>
Salinidad 2	2.8 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>	229 <sup>†</sup>	0.01 <sup>b</sup>	1.1 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>						
Control	5.4 <sup>†</sup>	0.08 <sup>†</sup>	4.1 <sup>†</sup>	209 <sup>†</sup>	0.03 <sup>†</sup>	1.3 <sup>†</sup>
Salinidad 1	4.2 <sup>†</sup>	0.06 <sup>†</sup>	3.3 <sup>†</sup>	211 <sup>†</sup>	0.02 <sup>†</sup>	1.3 <sup>†</sup>
Salinidad 2	4.9 <sup>†</sup>	0.07 <sup>†</sup>	2.8 <sup>†</sup>	182 <sup>†</sup>	0.03 <sup>†</sup>	1.8 <sup>†</sup>

† = no significativo

**Tabla XXIV.** Efecto de salinidad en el contenido de clorofila  $a$ ,  $b$  y total. Los datos se refieren a los valores medios ( $n = 4$ ). La misma letra en la columna indica que son estadísticamente iguales (Tukey  $p = 0.05$ ). † = no significativo

Tratamiento	Clorofila $a$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Clorofila $b$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Clorofila total ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Clorofila $a/b$
<i>Jatropha curcas</i>				
Control	21.6 <sup>a</sup>	5.6 <sup>a</sup>	27.2 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>
Salinidad 1	18.4 <sup>a,b</sup>	5.2 <sup>a,b</sup>	23.6 <sup>a,b</sup>	3.5 <sup>b</sup>
Salinidad 2	15.8 <sup>b</sup>	4.5 <sup>b</sup>	20.3 <sup>b</sup>	3.6 <sup>b</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>				
Control	20.0 <sup>†</sup>	5.5 <sup>†</sup>	25.5 <sup>†</sup>	3.6 <sup>†</sup>
Salinidad 1	20.2 <sup>†</sup>	5.6 <sup>†</sup>	25.8 <sup>†</sup>	3.6 <sup>†</sup>
Salinidad 2	19.7 <sup>†</sup>	5.1 <sup>†</sup>	24.8 <sup>†</sup>	3.8 <sup>†</sup>

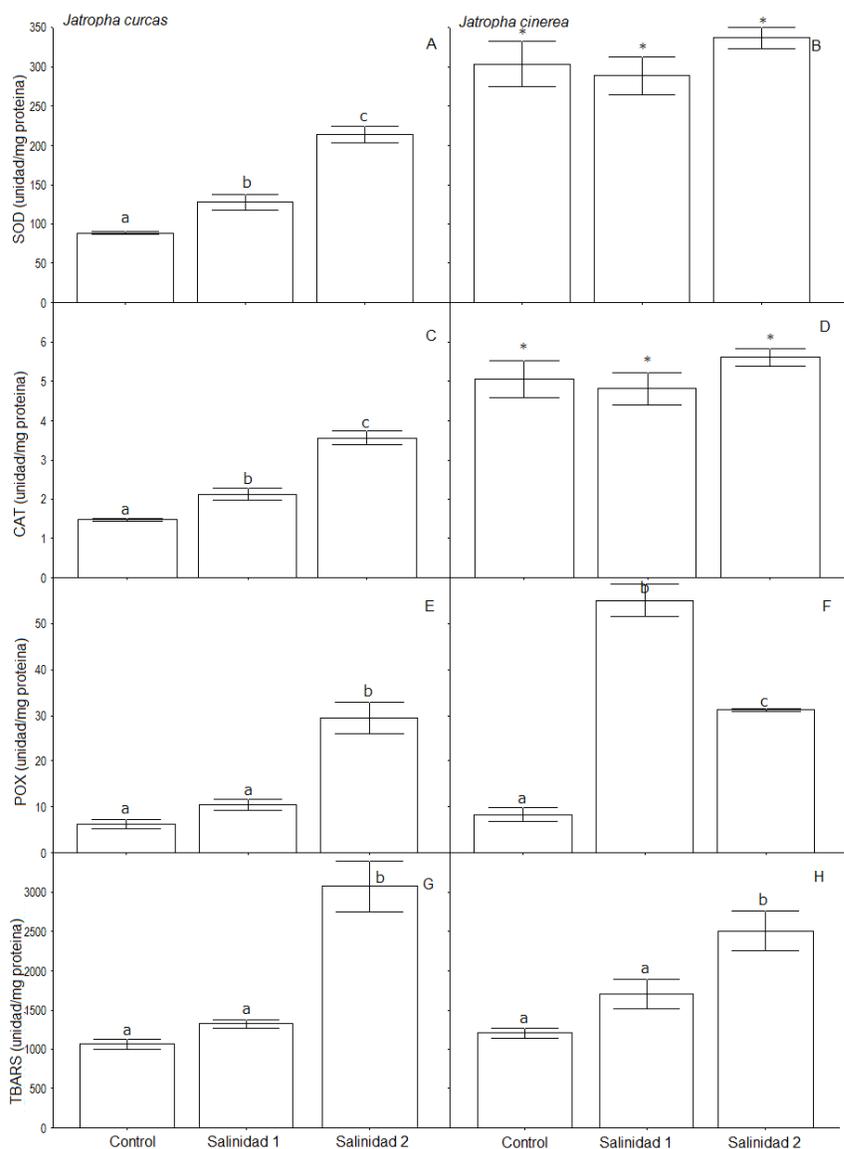
#### 8.4.8. Antioxidantes

La actividad de SOD en *J. curcas* aumentó con el incremento de los niveles de salinidad (Figura 34). En *J. cinerea*, la actividad de SOD no fue afectada por los niveles de salinidad aunque cuantitativamente su actividad fue mayor que en *J. curcas* en cualquiera de los niveles de salinidad.

La actividad de CAT en *J. curcas* aumentó con el incremento de los niveles de salinidad (Figura 34). Para *J. cinerea*, la actividad de CAT no fue afectado por los niveles de salinidad aunque su actividad fue mayor que en *J. curcas* en cualquiera de los niveles de salinidad estudiados.

La actividad de POX de *J. curcas* y *J. cinerea* se incrementó con el aumento de los niveles de salinidad (Figura 34). Para *J. cinerea* se observó un nivel de actividad de la POX similar al de *J. curcas* en el tratamiento control, y la máxima actividad de POX en el nivel de salinidad 1. La actividad de POX en el nivel de salinidad 2 fue mayor que de control, sin embargo fue menor que de salinidad 1.

El nivel de peroxidación de lípidos (TBARS) aumentó significativamente con el incremento de los niveles de salinidad (Figura 34) en ambas especies en el nivel de salinidad 2, donde se observó que en *J. curcas* fue 2.9 y en *J. cinerea* fue 2.1 veces mayor con respecto al tratamiento de control.



**Figura 34.** Efecto de NaCl en la actividad de superóxido dismutasa (SOD: U SOD·mg proteína<sup>-1</sup>; Figura. A y B), catalasa (CAT: U CAT·mg proteína<sup>-1</sup>; Figura. C y D), peroxidasa (POX: U POX·mg proteína<sup>-1</sup>; Figura. E y F) y el nivel de peroxidación de lípidos (TBARS; n mol·mg proteína<sup>-1</sup>; Figura. G y H). Las barras representan la media±error estándar (n=4). Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey p=0.05). \*= no significativo.

#### 8.4.9. Producción de semillas

En las dos especies, la salinidad no afectó la formación de yemas florales y la producción de semillas (Tabla XXV). El peso seco de semillas por árbol no disminuyó con el aumento en los niveles de salinidad. Además, el número de semilla y el peso seco de una semilla tampoco fue afectado por el aumento en los niveles de salinidad en las dos especie.

**Tabla XXV.** Efecto de salinidad en la formación de yemas florales y semilla de *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea*. Las datos significan el promedio (n = 4). La misma letra en la columna indica que son estadísticamente iguales (Tukey p = 0.05).

Tratamiento	Primer día de yemas	Formación del yemas	Peso seco (g/planta)	Número de semilla	Peso seco (g/semilla)
<i>Jatropha curcas</i>					
Control	20/Oct/2012	21 <sup>†</sup>	7.1 <sup>†</sup>	25 <sup>†</sup>	0.3 <sup>†</sup>
Salinidad 1	24/Oct/2012	22 <sup>†</sup>	12.5 <sup>†</sup>	36 <sup>†</sup>	0.3 <sup>†</sup>
Salinidad 2	14/Oct/2012	19 <sup>†</sup>	11.7 <sup>†</sup>	34 <sup>†</sup>	0.3 <sup>†</sup>
<i>Jatropha cinerea</i>					
Control	n.d.	12 <sup>†</sup>	34.9 <sup>†</sup>	78 <sup>†</sup>	0.5 <sup>†</sup>
Salinidad 1	n.d.	8 <sup>†</sup>	14.5 <sup>†</sup>	33 <sup>†</sup>	0.4 <sup>†</sup>
Salinidad 2	n.d.	15 <sup>†</sup>	21.3 <sup>†</sup>	41 <sup>†</sup>	0.5 <sup>†</sup>

†= no significativo

n.d. = la formación de yemas florales en *J. cinerea* se observó todo el año y fue difícil decidir cuál fue el primer día de la formación de yemas florales.

## 9. DISCUSIÓN

### 9.1. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de germinación

Las plantas usan diferentes estrategias para contrarrestar los efectos del estrés biótico y abiótico en cada etapa de su desarrollo para asegurar su crecimiento y productividad (Munns, 1993). En la mayoría de las plantas cultivadas, las etapas de germinación y de plántula son las más susceptibles al estrés (Sekhar *et al.*, 2010, Mito *et al.*, 2011). En las zonas áridas, la salinidad es la mayor causa de estrés abiótico que limita el crecimiento y la productividad de la planta. Generalmente, la germinación de las semillas disminuye fuertemente por concentraciones moderadas y/o elevadas de sales (Bliss *et al.*, 1986). Los efectos de la salinidad en la germinación se manifiestan por un bajo potencial osmótico y por la toxicidad de los iones (Almansouri *et al.*, 2001); ambas condiciones causan una reducción en la absorción de agua y en la disminución del crecimiento de la planta (Kent y Lauchli, 1985). Se ha encontrado que la salinidad reduce la hidratación de proteínas (Mansour, 2000), aumenta el contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Nounjan y Theerakuplisut, 2012) y afecta las actividades en varias enzimas (Dubey y Rani, 1990, Dionisio-Sese y Tobita, 1998).

De acuerdo con nuestros resultados, la germinación de las dos *Jatropha* evaluadas fue sensible al estrés salino. Así, se encontró una disminución en la tasa de germinación y un retraso en la germinación (Figura 4). Patel *et al.* (2010) mencionó que *J. curcas* es relativamente tolerante a la salinidad en la etapa de germinación según sus resultados; el porcentaje de germinación en *J. curcas* fue más del 50% en 4.8 dSm<sup>-1</sup> de NaCl. Sin embargo, en este estudio las dos especies de *Jatropha* no presentaron una tolerancia tan alta a la salinidad. En comparación con el control, el porcentaje de germinación en *J. curcas* fue 33% en 50mM (6.7dSm<sup>-1</sup>), 8% en 100mM (11.7dSm<sup>-1</sup>), 17% en 200mM (20.0dSm<sup>-1</sup>); y en

*J. cinerea* fue 42% en 50mM, 36% en 100mM, 3% en 200mM. La tolerancia a la salinidad en la etapa de germinación de *J. curcas*, una especie nativa de la zona tropical fue inferior a la de *J. cinerea*, una especie nativa de la zona árida aunque el máximo nivel de salinidad en la que se observó la germinación fue de 100 mM de NaCl para ambas especies. Posiblemente *J. cinerea* tiene mayor capacidad de absorber agua, ajustar la entrada de sales al interior de la semilla y/o disminuir la toxicidad de los iones comparada con *J. curcas*. De acuerdo con el resultado de la tasa de germinación, ambas especies superaron la toxicidad de la sal para germinar de manera normal en 200mM de NaCl.

En la etapa de emergencia, el desarrollo de la radícula y del hipocótilo también fue afectado por la salinidad en las dos especies (Tabla V). Normalmente, el crecimiento de la radícula es menos sensible a la salinidad que el del hipocótilo (Bernstein y Kafkafi, 2002). Sin embargo, el desarrollo de la radícula y del hipocótilo fue suprimido por la salinidad en la misma proporción en las dos especies según la relación de H/R (Tabla V).

Dado que el contenido de agua no fue afectado por la salinidad en las dos especies (Tabla V), la toxicidad de los iones podría ser la mayor causa de la reducción del porcentaje de germinación en las dos especies aunque en este estudio no medimos el contenido de minerales. Almansouri *et al.* (2001) mencionaron que el efecto del estrés salino en la germinación del trigo está probablemente más relacionado a la acumulación de iones que al estrés osmótico, y para ajustar su potencial osmótico puede utilizar el NaCl por sus características de penetración en la célula.

Comparando los resultados de cada etapa de crecimiento, las etapas de germinación y emergencia fueron las más sensibles al estrés por salinidad en las dos especies. Así, se encontró que el peso seco en la etapa de emergencia fue menor a 25% del control en las dos

especies con 50 mM de NaCl; para la etapa vegetativa fue 50% del control. Por lo tanto, se sugiere germinar las semillas en semillero con menor concentración de sales y trasplantar cuando las plantas tengan mejor capacidad de tolerancia a la salinidad para asegurar su crecimiento.

### 9.2. Efecto del estrés por salinidad en la etapa vegetativa

Como se menciona anteriormente, *J. cinerea* es una especie nativa de las zonas áridas en el noroeste de México donde la precipitación es menor a los 200 mm. En cambio *J. curcas* es una especie nativa de las zonas tropicales del sur de México donde la precipitación está por encima de los 500 a los 1000 mm (Heller, 1996). El crecimiento de las dos especies de *Jatropha* disminuyó por los tratamientos de salinidad (Figura 6, Tabla XIII). La producción de biomasa en *J. cinerea* fue ligeramente mayor que en *J. curcas*. La RGR también indicó que *J. cinerea* tiene más capacidad para tolerar el estrés salino (Tabla VIII, Tabla XIII) aunque ambas mostraron poder tolerarlo hasta los 100 mM de NaCl; la RGR fue negativa en las dos especies en 200 mM (Tabla VI, Tabla XIII). En 200 mM, la NAR que tiene gran influencia a RGR, se redujo a valores cercanos a cero. Esto muestra que los dos *Jatropha* no tienen capacidad de producir biomasa nueva arriba de 200 mM. Este nivel de salinidad fue igual a la máxima concentración de NaCl en la que las dos especies germinaron.

En las zonas áridas y semiáridas, algunas especies mantienen su crecimiento modificando su morfología y fisiología para reducir el estrés por salinidad (Koyro, 2006). La asignación y utilización de los recursos son aspectos estratégicos fundamentales de supervivencia de las plantas (Shi *et al.*, 2004). La disminución de la RGR en *J. curcas*

estuvo fuertemente relacionada con la reducción de la NAR (Figura 16), el cual es un índice de la capacidad fotosintética de la planta por unidad del área foliar. De otra forma en *J. cinerea* la RGR estuvo fuertemente relacionada con el LAR (Figura 16), lo cual es un índice de la fracción del peso total de la planta asignada a las hojas. Además, la reducción por salinidad en la NAR de *J. curcas* fue mayor que en la de *J. cinerea*, y el LAR fue mayor en *J. cinerea* (Tabla VI, Tabla XIII). Estos resultados sugieren que las dos especies de *Jatropha* respondieron morfológica y fisiológicamente diferente para aclimatarse al estrés salino. Es decir que *J. curcas* mantuvo el área foliar para compensar la disminución de la capacidad fotosintética, en cambio *J. cinerea* disminuyó el área foliar y mantuvo alta su capacidad fotosintética. De acuerdo con la RGR; el aumento del biomasa por unidad de peso seco por la planta, podría ser más adecuada para minimizar el efecto por salinidad en *J. cinerea*.

El crecimiento vegetativo de las dos *Jatropha*, mostró que la reducción del crecimiento en el vástago es mayor que en las raíces debido al estrés por salinidad (Tabla VI). Bernstein y Kafkafi (2002) mencionaron que las raíces de las plantas generalmente tienen menos sensibilidad que el vástago a los tratamientos de salinidad. Específicamente, la reducción de las hojas fue más afectada por la salinidad en las dos especies (Tabla VI, Tabla XIII). Munns (2005) manifestó que algunas plantas con alta tolerancia a la sal tienen la capacidad de disminuir el transporte del sal al vástago y compartimentar la sal utilizando los canales de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  para proteger las hojas, donde se produce la biomasa a través de la fotosíntesis. Debido al mayor daño en parte de las hojas y al aumento de la concentración de sal en éstas podría decirse que las dos especies de *Jatropha* no tienen esos mecanismos tan eficientes. Por otra parte, el estrés salino generalmente induce a una reducción en el

área foliar disminuyendo la expansión y la división celular por la reducción del potencial de turgencia (Munns, 2002). Esta reducción en el área foliar también se considera como un mecanismo para reducir la pérdida de agua y con ello, controlar su flujo de transpiración a través de la modificación de la anatomía de la hoja (Abbruzzese *et al.*, 2009). Por lo tanto, se considera que las dos especies podrían haber respondido suficientemente al estrés por salinidad disminuyendo el área foliar. Silva *et al.* (2010a) también mencionaron que *J. curcas* tiene una estrategia para escapar del estrés por salinidad por medio de la restricción del área foliar.

Los resultados de la NAR (Tabla XIII) y la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (Figura 20) sugieren que *J. curcas* podría tener mayor tasa de respiración que *J. cinerea* para aumentar el consumo de energía y protegerse del estrés salino. Según lo mencionado por Silva *et al.* (2013), *J. curcas* aumenta la concentración de azúcar soluble y prolina bajo estrés por salinidad; el uso de solutos orgánicos y la nutrición mineral para un ajuste osmótico son parte de un proceso que consume la energía a nivel celular (Geissler *et al.* 2009).

Como se ha mencionado anteriormente, el incremento en la absorción de sales en las plantas resulta en un desequilibrio y toxicidad de iones. En este estudio, confirmamos el aumento de la concentración de sales y la relación de  $\text{Na}^+ / (\text{K}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})$  con el tratamiento de salinidad. Encontramos una alta correlación negativa entre el peso seco y la concentración de  $\text{Na}^+$  en las dos especies (Tabla IX) y PCA mostró que la concentración de los iones como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$  es un factor predominante que explica las diferencias en la respuesta al diferente nivel del estrés salinidad (Figura 14). En las dos especies, el vástago, específicamente en las hojas, tuvo mayor acumulación de sales y desequilibrio nutricional que el tallo y las raíces con el aumento en los niveles de NaCl en la solución nutritiva

(Figura 17, Figura 19). Munns (2002) afirmó que las plantas sensibles a la sal se distinguen por su incapacidad para evitar que la sal alcance los niveles tóxicos en las hojas. Tester y Davenport (2003) mencionaron que la reducción en el crecimiento del vástago es mayor que en las raíces porque generalmente el  $\text{Na}^+$  se acumula más en el vástago. Comparando las dos especies, se encontró que *J. curcas* acumuló mayor concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el vástago que *J. cinerea* (Tabla X). Lo que podría indicar que *J. curcas* tiene menor capacidad de controlar el transporte de sales. Munns (2005) mencionó que la sal se acumula rápidamente en el citoplasma e inhibe la actividad enzimática, además induce a la deshidratación de la célula. Según la relación entre la biomasa y la concentración de  $\text{Na}^+$  en la hoja (Figura 18), es importante en las dos especies de *Jatropha* controlar la concentración de  $\text{Na}^+$  en la hoja para evitar mayor reducción de biomasa. Por lo tanto, la mayor reducción de biomasa en *J. curcas* fue causada posiblemente por una mayor acumulación de sal comparado con la de *J. cinerea*.

Al mismo tiempo, la salinidad impidió absorber la nutrición necesaria para el crecimiento y desarrollo normal. La literatura reporta que la inhibición de la absorción de los cationes esenciales (e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) es causada por el antagonismo de  $\text{Na}^+$  en suelo salino (Cramer *et al.*, 1990, Colmer *et al.*, 1996, Song y Fujiyama, 1999a, b, Kaya *et al.*, 2002, Chartzoulakis *et al.*, 2006, Megdiche *et al.*, 2007). La deficiencia de  $\text{K}^+$  reduce el crecimiento de las plantas por la expansión celular limitada e inhibe muchas actividades de las enzimas (Oueslati *et al.*, 2010, Nieves-Cordones *et al.*, 2012); el  $\text{Ca}^{2+}$  se necesita para que los tejidos crezcan activamente (Song y Fujiyama, 1996a); y la deficiencia de  $\text{Mg}^{2+}$  induce a la inhibición de la fotosíntesis (Yang *et al.*, 2012). En este estudio, los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  también disminuyeron por la salinidad en las dos especies (Tabla X,

Tabla XIV). Por lo tanto las plantas de las dos especies de *Jatropha* tuvieron déficit de nutrientes, lo cual podría ser una causa de la reducción de su biomasa. En comparación, *J. curcas* sufrió más por el desequilibrio de cationes que por la reducción de los cationes esenciales. El estrés por salinidad generalmente provoca una reducción en la absorción de  $\text{NO}_3^-$  por el antagonismo con  $\text{Cl}^-$  (Kafkafi *et al.*, 1992; Peuke *et al.*, 1996, Rubinigg *et al.*, 2003). Sin embargo, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en *J. curcas* aumentó y en *J. cinerea* no se observó efecto en la acumulación de  $\text{NO}_3^-$  por estrés de salinidad (Tabla XIV). Esto sugiere que las dos especies de *Jatropha* tienen mejor selectividad para absorber  $\text{NO}_3^-$  en condiciones de alta concentración de  $\text{Cl}^-$ . Por otra parte, el aumento en la concentración de nitrato también puede derivarse de la inhibición de la actividad de la reductasa, lo que se ha observado en muchas especies por estrés hídrico (Sivaramakrishnan *et al.*, 1998, Kameli *et al.*, 1995, Patakas *et al.*, 2002). Asimismo, el aumento de la concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  en las plantas estresadas podría atribuirse a la reducción de la incorporación en los aminoácidos (Kameli *et al.*, 1995).

Munns (2005) encontró que la salinidad provoca un déficit hídrico por la reducción en la capacidad de la absorción de agua y por lo tanto la reducción en el crecimiento. En ambas especies, el potencial hídrico disminuyó para permitir la absorción de la solución salina (Figura 9, Figura 24CD). Normalmente, el  $\text{K}^+$  representa el catión principal en las células de las plantas y se encarga de uno de los factores importante en el potencial osmótico de las células (Reggiani *et al.*, 1995, Essa, 2002). En este estudio el  $\text{K}^+$  en ambas especies también fue el catión principal en el tratamiento control (Tabla XII) Sin embargo, el  $\text{Na}^+$  reemplazó la existencia de sal en el tratamiento. La acumulación de la concentración del  $\text{Na}^+$  contribuyó a una mayor disminución del potencial hídrico. Los iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$

pueden contribuir a mantener la turgencia a pesar de que no sean capaces de sustituir a las funciones específicas de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  como se mencionó anteriormente, tal como la expansión celular y la activación de enzimas (Song y Fujiyama, 1996a,b, Oueslati *et al.*, 2010, Nieves-Cordones *et al.*, 2012). Como varios autores han mencionado (Fujimaki y Kikuchi 2010, Silva *et al.*, 2010a), ambas especies de *Jatropha* tienen un mecanismo eficiente para ajustar el estado hídrico de las células a través de la disminución del potencial hídrico, la regulación de cierre de las estomas y la modificación de la morfología de la hoja.

Muchas plantas suculentas acumulan savia en su tallo para disminuir el efecto tóxico del  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  (Naidoo y Rughunanan, 1990, Maggio *et al.*, 2000, Khan *et al.*, 2005) e inducir a la expansión célula (Khan *et al.*, 2000) por el estrés de salinidad. Las dos especies de *Jatropha* mantuvieron y/o aumentaron el contenido de agua y la RWC con los tratamientos de salinidad (Figura 10, Figura 24AB). Al parecer mejoraron su estado hídrico y disminuyeron la toxicidad de iones aumentando el contenido de agua. Kumar *et al.* (2008) también mencionaron que el contenido de agua de *Jatropha* en cultivo de tejidos aumento por el estrés de salinidad. Además, Maes *et al.* (2009) reportaron que *J. curcas* utiliza la succulencia del tallo para ajustar el estado hídrico cuando existe la pérdida de agua en las hojas por el estrés hídrico. Sin embargo, no se podría descartar por completo que el transporte de agua en la planta se dificultara notablemente aparte del potencial hídrico negativo (Geissler *et al.*, 2009). Una limitación en la absorción de agua conduce a una disminución del potencial de turgencia, necesario en la división y la expansión celular. Como consecuencia, esto podría contribuir a una reducción mayor en la biomasa de *Jatropha*, especialmente en el área foliar de *J. cinerea*.

La fotosíntesis de las dos especies de *Jatropha* mostró la misma respuesta en cada una de las concentraciones de sal y mantuvo una estrategia similar para disminuir el efecto de la salinidad. La tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> se vio afectada sólo por arriba de los 100 mM de NaCl en ambas especies (Figura 20). La conductividad estomática se redujo por el efecto del estrés salino a partir de los 50 mM en las dos especies (Figura 7, Figura 22). La conductividad estomática es importante para la difusión del CO<sub>2</sub> en las células del mesófilo y para el mantenimiento de la transpiración (Jarvis *et al.*, 1999, Khan y Abdullah, 2003). El PCA mostró que la conductancia estomática es un factor importante para explicar el efecto del estrés por salinidad (Figura 14). Sojka *et al.* (2005) indicaron que a una mayor acumulación de Na<sup>+</sup> y una disminución de la concentración de K<sup>+</sup> se pueden inducir a la disminución de la *gs* por el cierre de los estomas. En este estudio también confirmamos una alta correlación negativa entre la *gs* y la concentración de Na<sup>+</sup> en las hojas (Tabla IX). El mayor grado de apertura de las estomas en las concentraciones de sales moderadas (0 a 50 mM de NaCl), podría atribuirse a que ambas especies mantienen la tasa de fotosíntesis y la producción de biomasa, así como una alta correlación positiva entre la *gs* y biomasa (Tabla IX, Tabla XV). La sensibilidad de la *gs* por el estrés salino en las dos especies fue mayor que la tasa de fotosíntesis. Sapeta *et al.* (2013) también reportaron que la conductividad estomática de *J. curcas* mostró una reducción anterior a la fotosíntesis bajo estrés de sequía. Así, la alta correlación entre *gs* y el potencial hídrico indica que la reducción de *gs* a través del cierre de la estoma podría ser una respuesta positiva contra la salinidad para evitar mayor pérdida de agua y acumulación de sales con menor efecto en la actividad de la fotosíntesis. En los dos experimentos, la *gs* disminuyó cerca de cero en los tratamientos mayores a los 100 mM de NaCl. Comparando con los resultados de A, este nivel de *gs*

podría inhibir la actividad de la fotosíntesis. Silva *et al.* (2010a) también mencionaron que la disminución en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y la transpiración podría deberse en parte por el cierre de las estomas inducido por el estrés salino. Por otra parte, *J. cinerea* mostró la mayor *g<sub>s</sub>* bajo temperatura alta del aire (Figura 7). Así, *J. cinerea* podría tener mayor adaptación en su sistema fotosintético bajo estrés por salinidad. Dadkhah (2011) informó que un cambio en la eficiencia de carbonización (*A/C<sub>i</sub>*) con la salinización se debe a una limitación de factores no estomáticos como una menor actividad de la enzima Rubisco y en la regeneración de rubulosa-1,5-bifosfato (RuBP). Munns (2005) afirmó que la acumulación de iones de sal reduce algunas actividades enzimáticas importantes porque los iones se acumulan rápidamente en el citoplasma e inhiben la actividad de la enzima, o se acumulan en las paredes de las células deshidratándola. Brugnoli y Björkman (1992) encontraron que los factores no-estomáticos; la reducción de la actividad de Rubisco y el aumento del exceso de energía de excitación, impiden la fotosíntesis en un alto nivel de salinidad. Ya que no se observó cambio en la relación de *A/C<sub>i</sub>* hasta los 50 mM de NaCl (Tabla XVI), la concentración de Na<sup>+</sup> en la hoja parecía no haber alcanzado el nivel tóxico en este nivel que puede provocar una inhibición severa en las actividades enzimáticas y un aumento de la peroxidación de lípidos por el estrés oxidativo. Por lo tanto, el resultado de *A/C<sub>i</sub>* indica que la limitación de factores no-estomáticos afectó la actividad fotosintética sólo en los 100 mM, donde se observó aún más disminución en el contenido de la clorofila y la tasa de fotosíntesis (Figura 20, Figura 23).

Con relación a la tasa de transpiración, ésta disminuyó con el incremento de los tratamientos de salinidad (Figura 8, Figura 21). Como se menciona anteriormente, el control del flujo de transpiración es importante para disminuir la pérdida de agua y evitar

mayor acumulación de sales en las plantas bajo estrés salino (Munns, 2002). Por otra parte, la transpiración tiene un rol importante para mantener la temperatura óptima en la hoja. La temperatura alta de la hoja pudiera afectar la actividad de la fotosíntesis por la alteración del transporte de electrones, la reducción de la eficiencia fotoquímica del PSII y la disminución de la actividad de Rubisco (Silva *et al.*, 2010c). Así, la reducción de la *E* podría afectar la producción de biomasa a través del aumento de la temperatura de la hoja. *J. cinerea* mostró mayor *E* que *J. curcas* al aumentar los tratamientos de salinidad (Figura 8). Posiblemente, *J. cinerea* tenga mayor capacidad para controlar la temperatura de la hoja que *J. curcas*, lo que le permitió mantener mayor *gs*.

Por otro lado, *J. curcas* mostró una mayor eficiencia en el uso de agua que *J. cinerea* como resultado de un mayor índice en la tasa de transpiración (Figura 21, Tabla XVI). Como consecuencia, se sugiere que *J. curcas* debe tener una capacidad mucho mayor para utilizar el agua disponible de manera más eficiente.

En este estudio la producción de biomasa fue mucho más sensible a la salinidad que la tasa de fotosíntesis. Esta baja relación entre la producción de biomasa y la tasa de fotosíntesis se ha reportado en varias otras plantas bajo estrés salino (Ball y Farquhar, 1984, Koyro, 2006, Kafi *et al.*, 2010). Algunos estudios informaron que la tasa de fotosíntesis en las plantas con tratamiento de sal no muestra variaciones debido a los cambios de otros aspectos morfológicos y fisiológicos (Downton *et al.*, 1985, Maggio *et al.*, 2000, James *et al.*, 2002). Por lo tanto, no se puede decir que la tasa de fotosíntesis sea un factor fisiológico vital en la producción de biomasa de las dos especies en los tratamientos de sal debajo a 50 mM NaCl.

La acumulación de sales en las hojas induce la descomposición de la clorofila (James

*et al.*, 2002, Khan y Abhullah, 2003). En las plantas, el estrés por salinidad puede conducir a la reducción de la disponibilidad de CO<sub>2</sub> e inhibir la fijación de carbono, exponiendo a los cloroplastos a excesiva energía de excitación que podría aumentar la generación de ERO (Gill y Tuteja 2010). Esta respuesta provoca el agotamiento de NADP<sup>+</sup>, que actúa como un aceptor final de los electrones en el fotosistema I, y, alternativamente, aumenta el flujo de electrones a O<sub>2</sub>, formando O<sub>2</sub><sup>·-</sup>. La degradación de la clorofila puede inducir deficiencia en la reacción del transporte de electrones hacia el PSII para abastecer energéticamente el mecanismo de la fijación de CO<sub>2</sub> (carboxilación) en el ciclo de Calvin (James *et al.*, 2002). Barber (1995) ha mencionado la fotoinhibición induce mayor degradación en clorofila *a* por daño de oxígeno singlete en el proceso de PSII como consecuencia de la fotoinhibición. Como se ha informado, una disminución del contenido de clorofila se debe a una pérdida de la eficiencia en el intercambio de iones en muchas especies de plantas bajo condiciones de salinidad (Ziska *et al.*, 1990, Sultana *et al.*, 1999). Los efectos inhibitorios de sal en la clorofila también podría deberse a la ausencia de enzimas específicas, las cuales son responsables de la síntesis de los pigmentos verdes (Campos *et al.*, 2012). Por lo tanto, el contenido de la clorofila se ha utilizado como un parámetro sensible a la presencia de sales en las plantas. El contenido de la clorofila disminuyó en mayor proporción en *J. curcas* que *J. cinerea* (Figura 11, Figura 23). Específicamente, el contenido de la clorofila *a* y *b* fue afectado por la salinidad en *J. curcas*. En *J. cinerea*, el hecho que disminuyera solo clorofila *b* y mantuviera clorofila *a* en las hojas de las plantas tratadas con sal, podría estar relacionado con una menor concentración de sal en las hojas y/o tiene mayor capacidad de evitar la sobreproducción de ERO. La disminución en el nivel de la clorofila total en las plantas estresadas con sal se atribuye principalmente a la destrucción de la clorofila *a*, que

se supone es más sensible a la salinidad que la clorofila *b* (Tjus *et al.*, 2001). Los resultados mostraron que *J. cinerea* puede minimizar el efecto de la salinidad en la fotosíntesis manteniendo la clorofila integra.

Al interior de la célula, la enzima superóxido dismutasa (SOD), constituye la primera línea en la defensa contra los ERO (Alscher *et al.*, 2002). En el análisis de PCA, la actividad de SOD fue un factor muy importante en las dos especies (Figura 14). En ambas especies, la actividad de SOD aumentó por el estrés salino (Figura 13A). En *J. cinerea*, no se observó un aumento fuerte en la actividad de SOD como en *J. curcas* aunque *J. cinerea* mantuvo mayor actividad de SOD que *J. curcas* hasta los 100 mM de NaCl. El estrés salino indujo una reducción de la conductividad estomática, lo que reduce la disponibilidad de CO<sub>2</sub> en las hojas e inhibe la fijación de CO<sub>2</sub>, y por lo tanto expone al cloroplasto a un excitación excesiva de energía dando como resultado, un estado de estrés a nivel bioquímico conocido como estrés oxidativo (Rengel, 1999). Además, la toxicidad de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> por el estrés salino puede interrumpir el transporte de electrones fotosintéticos y provocar mayor generación de O<sub>2</sub><sup>-</sup> por el flujo de electrones al O<sub>2</sub> (Hasanuzzaman *et al.*, 2012). En las plantas sensibles a la salinidad como el arroz y el chícharo, se ha reportado que hubo una disminución más grande en la conductividad estomática (Hernández *et al.*, 2000, Moradi y Ismail, 2007). Hernández *et al.* (1995) mencionó que el aumento de la producción de ERO fue observado en los cloroplastos de las plantas sensibles a la salinidad, relacionado por una disminución de la concentración de CO<sub>2</sub> en el interior del cloroplasto ante el cierre de los estomas. Una disminución mayor en la conductividad estomática de *J. curcas* posiblemente indujo a una reducción mayor en la concentración de la NADP<sup>+</sup> disponible para aceptar electrones del fotosistema I. Esta situación fue causada por la

disminución de  $\text{CO}_2$  en el interior del cloroplasto, y por lo tanto *J. curcas* podría iniciar la reducción de más  $\text{O}_2$  con la generación consecuente de más ERO, específicamente en las altas concentraciones de NaCl. Sin embargo, esto no significa que *J. cinerea* estuvo experimentando estrés oxidativo ya que mostró actividades elevadas en CAT y POX aunque la actividad de SOD no aumentó mucho con el tratamiento de NaCl. Esto implica que *J. cinerea* posiblemente no esté dependiendo principalmente de la actividad de SOD para la desintoxicación de  $\text{O}_2^{\cdot-}$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$ , y podría usar otros antioxidantes como la ASC (Noctor y Foyer, 1998), y/o la actividad de SOD podría ser suficiente para enfrentar el estrés salino impuesto.

CAT y POX tiene funciones esenciales como eliminar la toxicidad de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En este estudio, las actividades de CAT y POX se incrementaron como respuesta al estrés salino (Figura 13BC), donde el aumento de estas actividades de enzimas en *J. curcas* fue notable. La POX mostró mayor actividad y una mayor tasa de aumento en ambas especies. Por lo tanto, la POX podría tener una mayor capacidad para la detoxificación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  generado por la SOD en ambas especies de *Jatropha*.

Se observó una mayor actividad antioxidante en *J. curcas* en comparación con *J. cinerea*, sin embargo, su actividad no fue suficiente para proteger *J. curcas* de una peroxidación de lípidos, porque el daño oxidativo por ERO aumentó más rápidamente que las actividades antioxidantes en *J. curcas* (Figura 13D). El daño de la membrana bajo estrés salino está relacionado con un aumento de la producción de ERO, y la oxidación de los lípidos de la membrana es uno de los síntomas más comunes atribuidos al daño oxidativo (Hernández *et al.*, 1995). En *J. curcas*, el efecto de los antioxidantes fue menor que la toxicidad impuesta por los tratamientos de salinidad mayores a los 100 mM de NaCl. La

peroxidación de lípido entró al segundo componente principal, lo que separó la respuesta a la salinidad de dos especies en 200 mM de NaCl. Por lo tanto, esto significa que *J. cinerea* puede mantener la producción de ERO más baja y/o tiene un sistema más eficaz para mantener un equilibrio entre la producción de ERO y los antioxidantes para la prevención del daño oxidativo bajo la salinidad.

En la etapa de desarrollo vegetativa, la reducción de biomasa por estrés salino en *J. curcas* fue ligeramente mayor que en *J. cinerea*. Sin embargo, el análisis por PAC mostró que los parámetros fisiológicos, bioquímicos y contenido de iones de *J. curcas* fueron similar que en *J. cinerea*; que es una especie silvestre de las zonas áridas solo hasta 100 mM de NaCl. Eso sugiere que *J. curcas* tiene buena capacidad de adaptar a estrés salino y capacidad de desarrollar en suelo salino. Además, el estado hídrico de las hojas no fue un factor importante como la acumulación de sales en las hojas. El cultivo de *J. curcas* en etapa desarrollo vegetativa en suelo salino es viable, si la concentración de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en las hojas puede mantenerse a un nivel más bajo que el nivel toxico.

### 9.3. Efectos de la interacción de salinidad y la fertilización nitrogenada

Entender las características de la absorción de nutrientes y el efecto de la fertilización en el crecimiento de la planta tiene gran importancia económica para el cultivo en suelo salinos (Papadopulos y Rending, 1983, Chen *et al.*, 2010). Además, es esencial para la agricultura sostenible conocer el efecto del los fertilizantes en las plantas y en los suelos, un desbalance en su aplicación puede inducir a una salinización del suelo aumentando los efectos negativos sobre el crecimiento de las plantas (Meloni *et al.*, 2001).

La absorción de nutrientes en las dos especies de *Jatropha* fue distinta en el tratamiento sin sal en la solución nutritiva. Específicamente, la diferencia se encontró en el contenido de nitrógeno total y en el  $\text{NO}_3^-$ ; la concentración de nitrógeno total en *J. cinerea* fue 78% en la raíz y 61% en el vástago respecto a lo observado en *J. curcas* (Figura 31). La concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el vástago de *J. cinerea* fue solamente el 32% con respecto a *J. curcas* (Figura 30). Además, la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  en *J. curcas* también fue mayor que la de *J. cinerea* (Tabla XIX). En consecuencia, *J. cinerea* podría requerir menos nutrientes que *J. curcas* en el crecimiento normal mientras que *J. cinerea* acumula más  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en la raíz en el tratamiento sin salinidad (Figura 26, Figura 28). Posiblemente *J. cinerea* absorba los iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en mayor concentración estratégicamente para utilizar estos iones para ajustar el potencial osmótico. La producción orgánica de sustancias para regular el potencial osmótico de la planta es metabólicamente costosa y limita potencialmente el crecimiento de las plantas por el consumo de cantidades significativas de carbono que de otro modo podrían ser utilizadas para el crecimiento (Greenway y Munns, 1980). Una alternativa a la producción orgánica de sustancias osmóticas es que las plantas acumulan un alto contenido de iones inorgánicos desde el suelo. El costo energético del ajuste osmótico utilizando iones inorgánicos es mucho menor que el de la utilización de moléculas orgánicas sintetizadas en las células (Yeo, 1983, Hu y Schmidhalter, 1998). Por lo tanto, mediante el uso de este mecanismo alternativo de acumulación de iones inorgánicos para ajustar el potencial osmótico, *J. cinerea* parece ahorrar energía, lo que le permite crecer en las condiciones menos favorables. Por lo tanto, consideramos que *J. cinerea*, una especie silvestre de zonas áridas, que tiene una acumulación selectiva de

nutrientes más conveniente en un ambiente seco y salino donde encuentra una alta concentración de sales en suelo y los nutrientes están muy limitados (Mansour, 2000).

La salinidad afectó la producción de biomasa en las dos *Jatropha*; la producción disminuyó solamente en *J. curcas* (Figura 25). Por otra parte, la producción de las dos especies se incrementó con la fertilización nitrogenada adicionada. Unas de las razones por las que *J. cinerea* podría mantener su crecimiento sería por la menor concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el vástago, mejor balance de cationes y menor daño a la membrana en comparación con *J. curcas* (Figura 26, Figura 28, Tabla XVIII). *J. cinerea* podría tener alta capacidad de disminuir el transporte de sales al vástago de la raíz. La concentración de  $\text{Na}^+$  del vástago de *J. curcas* fue 40% respecto de *J. cinerea* en el tratamiento con 100 mM de NaCl y la concentración de  $\text{Na}^+$  en la raíz fue similar en las dos especies. La concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago se relacionó fuertemente con la reducción de peso seco en *J. curcas*. Muuns (2005) comentó que la planta transpira 50 veces más agua que el contenido de agua de la hoja, por tal razón la exclusión de  $\text{Na}^+$  en las hojas y la supresión del transporte de  $\text{Na}^+$  al vástago es importante en la tolerancia a la salinidad. Khan y Panda (2002) mencionaron que los cultivares de arroz sensibles a la salinidad, absorben mayor cantidad de  $\text{Na}^+$ , disminuyeron el peso seco, mientras los cultivares de alta tolerancia a la salinidad mostraron menor concentración de  $\text{Na}^+$  y el efecto en la producción de biomasa fue menor.

Varios estudios sobre la interacción de la salinidad y el fertilizante de nitrógeno han reportados que la disminución de la producción está relacionada con la deficiencia de nitrógeno causando una disminución de  $\text{NO}_3^-$  por antagonismo de  $\text{Cl}^-$  (Kafkafi *et al.*, 1992, Peuke *et al.*, 1996, Rubinigg *et al.*, 2003). Sin embargo, las dos especies de *Jatropha*

podieron continuar la absorción de  $\text{NO}_3^-$  eficientemente y mantuvieron una adecuada concentración de nitrógeno hasta los 100 mM de NaCl (Figura 30). Patel *et al.* (2010) también mencionaron que la concentración de nitrógeno en *J. curcas* aumenta por la salinidad, y este aumento del contenido de nitrógeno en tejidos se relaciono con el aumento del contenido de prolina. Como hemos mencionados anteriormente, las dos especies de *Jatropha* pueden crecer sin problema del déficit de nitrógeno por mejor selectividad al  $\text{NO}_3^-$  para poder absorber nutrientes normalmente en el suelo salino. Por esta razón, la reducción de la producción en *J. curcas* por el estrés de salinidad no estaría relacionada directamente con la deficiencia de nitrógeno.

La salinidad tampoco provocó un deterioro en el estado hídrico porque las dos especies mantuvieron el contenido de agua normal (Tabla XVIII). Como se ha mencionado por Fujimaki y Kikuchi (2010), es probable que *J. curcas* tenga un mecanismo eficiente para evitar la deshidratación celular. Por otra parte, el potencial osmótico se redujo por el tratamiento de sal para que las plantas continuaran con la absorción el agua de la solución salina. Las plantas minimizan los efectos negativos del estrés por salinidad a través de la acumulación de solutos orgánicos y/o inorgánicos para disminuir el potencial osmótico y ayudar a mantener la turgencia por el ajuste osmótico (Meloni *et al.*, 2001). Como se mencionó anteriormente, las dos especies de *Jatropha* utilizan los iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  para ajustar su potencial osmótico para ahorrar energía, lo que les permite crecer en condiciones menos favorables.

El nitrógeno adicionado alivio el efecto de salinidad en la producción de biomasa y mejoró la estabilidad de la membrana en *J. curcas* aunque la salinidad no indujo a la deficiencia del nitrógeno. El efecto favorable en la producción de biomasa por el aumento

de la fertilización nitrogenada tampoco podría ser causado por la disminución de  $\text{Cl}^-$ , ya que la concentración de  $\text{Cl}^-$  se mantuvo ante la fertilización con nitrógeno (Figura 28).

El estrés por salinidad causa la reducción de la tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  que induce a un desequilibrio en el proceso general de la fotosíntesis, en particular en la presencia de alta intensidad de la luminosa. Bajo estas condiciones, el exceso de electrones de la fase fotoquímica se acumula en las membranas del tilacoides, lo que provoca la fotoinhibición (Parvaiz y Satyawati, 2008). La reacción de los nitratos es un gran consumidor alternativo para el transporte fotosintético de la cadena de electrones (PET), recuperando ferredoxina oxidada al aceptar nuevos electrones del PSII y PSI. El amoníaco producido es asimilado rápidamente por el ciclo SG / GOGAT, que consume dos electrones de la reducción de ferredoxina y una molécula ATP de amoníaco por asimilados (Neto *et al.*, 2013). Aragañ *et al.* (2012) mencionaron que los efectos positivos inducidos por una mayor aplicación del fertilizante de nitrato estuvieron posiblemente asociados con la estimulación de la vía de asimilación de nitrato. Este proceso podría haber actuado en *J. curcas* como un consumidor de electrones de las membranas tilacoides para minimizar el daño de fotosíntesis y estimular la asimilación de  $\text{CO}_2$  bajo la salinidad.

Kabir *et al.* (2005) mencionan que el aumento de la fertilización de nitrógeno mejora la absorción de los elementos esenciales y la capacidad de exclusión del  $\text{Na}^+$ . Por otra parte, Nathawat *et al.* (2007) demostraron que los nutrientes del suelo son importantes, ya que influyeron en la concentración y la cantidad de NPK y disminuyeron la concentración de  $\text{Na}^+$  en el vástago de mostaza creciendo en suelos con salinidad. El incremento en la fertilización nitrogenada, no sólo disminuyó la concentración de  $\text{Na}^+$  en la planta, sino que también disminuyó el desequilibrio de cationes, sin embargo, el aumento de la

concentración de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  se confirmaron sólo en las plantas con los tratamiento sin sal. Además, se considera que la concentración de  $\text{Na}^+$  en la solución del cultivo se diluyó con el aumento de la concentración de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  por la aplicación de fertilizantes con nitrógeno. Por otra parte, el transporte y la exclusión de  $\text{Na}^+$  en el vástago mejoró, lo que podría contribuir a la reducción de la concentración de  $\text{Na}^+$  y al mejoramiento del desequilibrio en la absorción de los cationes en *J. curcas*.

#### 9.4. Efecto del estrés por salinidad en la etapa de producción de semillas

La salinidad es un problema ambiental cada vez mayor en todo el mundo (Debez *et al.*, 2004). *J. curcas* se caracteriza por su alta tolerancia a la sequía, la salinidad (Maes *et al.*, 2009, Silva *et al.*, 2010a), alto contenido de aceite, el crecimiento rápido y su capacidad de adaptación a una amplia gama de condiciones agroclimáticas (Divakara *et al.*, 2010). El efecto de la salinidad es diferente a un corto plazo y un largo plazo (Munns y Tester, 2008). En este estudio, el efecto de la salinidad a largo plazo en la etapa de producción de semilla fue determinado utilizando los indicadores de estado hídrico, actividad fotosintética, pigmentos fotosintéticos, contenido de minerales, actividad enzimática antioxidante y el rendimiento de semillas en *J. curcas* y *J. cinerea*.

El exceso de sal en los suelos y el agua tiene un efecto perjudicial en el rendimiento de los cultivos, especialmente en las zonas áridas y semi-áridas. En las dos especies de *Jatropha* estudiadas el crecimiento: la altura de árbol y diámetro de tronco, disminuyeron ante el incremento de la concentración de sal en la solución nutritiva (Figura 32).

La concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  aumentó con el incremento de la sal en la solución nutritiva en las dos especies. Comparando con los resultados de anteriores, la acumulación

de  $\text{Na}^+$  en las hojas en el tratamiento de salinidad 2 (1.28 mol/g: Tabla XXI) fue similar a la de 25mM de NaCl (1.56 mmol/g: Figura 17), y la de  $\text{Cl}^-$  (0.43 mmol/g: Tabla XXI) fue menor que la de 50 mM de NaCl (0.55 mmol/g: Figura 19). Se han reportado síntomas de la toxicidad por salinidad en *J. curcas* en la concentración de 100 mM de NaCl (Silva *et al.*, 2011, Díaz-López *et al.*, 2012a). En este experimento se encontraron las síntomas de toxicidad cuando la concentración de NaCl en la solución nutritiva aumento arriba de 100 mM en las dos especies. En el tratamiento de agua salobre en el largo plazo, no se observaron síntoma de toxicidad por la salinidad. Ese resultado sugiere que la acumulación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en las hojas utilizando agua salobre (EC=6.1) no parece haber alcanzado el nivel toxico.

A largo plazo, el estrés salino indujo más deficiencia nutritiva en *J. curcas* que en *J. cinerea* (Tabla XXI). En *J. curcas*, la salinidad disminuyó la concentración de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , además, el contenido de nitrógeno total y la concentración de  $\text{NO}_3^-$ . En *J. cinerea*, la salinidad disminuyó solamente la concentración de  $\text{K}^+$ . El incremento de la concentración de  $\text{Na}^+$  y la reducción de la concentración de  $\text{K}^+$  en el tejido foliar cierra los estomas (Sojka *et al.*, 2005). Solamente en *J. curcas*, encontramos una alta correlación entre la  $g_s$  y la concentración de  $\text{Na}^+$  ( $R = -0.93$ ,  $P < 0.001$ ) y  $\text{K}^+$  en la hoja ( $R = 0.76$ ,  $P < 0.01$ ). Posiblemente, *J. cinerea* mantuvo los estomas abiertos por ser menor sensible al cambio de la concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en el tejido foliar. A pesar de su papel importante en la estructura de la clorofila y como un co-factor de la glutamina sintetasa, otra importante función de  $\text{Mg}^{2+}$  en las plantas es en transporte de los productos de la fotosíntesis, la deficiencia de  $\text{Mg}^{2+}$  puede provocar daño y conducir a una mayor degradación de la clorofila en las hojas debido al aumento de la actividad oxigenasa de Rubisco (Marschner y

Cakmak 1989, Cakmak y Marschner, 1992, Ramoliya *et al.*, 2004). Una causa de mayor reducción en la tasa de fotosíntesis de *J. curcas* podría ser por el déficit de  $Mg^{2+}$ . El contenido de nitrógeno total en *J. curcas* fue más alto que el de *J. cinerea* en el tratamiento de control, similar al experimento anterior; en *J. curcas* fue 1.3 veces mayor que el de *J. cinerea* (Tabla XXI). Por otra parte, el contenido de nitrógeno total y la absorción de  $NO_3^-$  disminuyeron solamente en *J. curcas* por el estrés salino. Una comparación entre dos experimentos realizados con anticipación sugieren que *J. cinerea* puede crecer con menor cantidad de nutrientes que *J. curcas*. Además está adaptada al medio ambiente de las zonas áridas, donde puede acumular nitrógeno y absorber  $NO_3^-$  eficientemente en suelo salino. Por otro lado, se encontró una disminución de la absorción nitrógeno en *J. curcas* posiblemente debido al tiempo especialmente largo del estrés salino, aunque no encontró un efecto claro en la absorción de nitrógeno y  $NO_3^-$  en un plazo corto del estrés (Figura 30, Figura 31). Este déficit de nutrientes nitrogenados podría reducirse por el incremento en la aplicación de fertilizantes nitrogenados.

El potencial hídrico foliar disminuyó bajo estrés por salinidad en las dos especies (Figura 33), lo cual indica la deshidratación de la hoja y/o el ajuste osmótico (Blum *et al.*, 1996). Todos los resultados obtenidos en este estudio mostraron que las plantas de *Jatropha* tienen una capacidad alta para mantener su estado hídrico en un estrés por salinidad (Figura 9, Figura 10, Figura 24, Tabla XVIII). Se encontró que el potencial osmótico de los iones inorgánicos observados mostraron una reducción de potencial hídrico, que fue relacionada con el aumento de la concentración de  $Na^+$  en el tejido de la hoja (Tabla XXII). Por otra parte, la concentración de  $Cl^-$  representa menos que una tercera parte de  $Na^+$ . Sin embargo, todavía no se conoce cuál de los elementos,  $Na^+$  o  $Cl^-$  tiene mayor toxicidad a *Jatropha*

(Díaz-López *et al.*, 2012a). Por lo menos, las dos especies de *Jatropha* utilizan los iones de  $\text{Na}^+$  más que  $\text{Cl}^-$  para el ajuste osmótico para mejorar estado hídrico manteniendo la concentración en niveles más bajos que el nivel de toxicidad.

A pesar de que las dos especies tienen buena capacidad de ajuste osmótico, estos no fueron suficientes para mantener el estado hídrico normal bajo el estrés por salinidad a largo plazo (Figura 33). Este déficit hídrico posiblemente indujo la reducción del crecimiento (Figura 32). Sairam *et al.* (2002) ha mencionado que una variedad de arroz con alta tolerancia a la salinidad se mantuvo una alta RWC que una especie con tolerancia moderada a la salinidad bajo estrés por salinidad. *J. cinerea* podría tener mayor tolerancia a la salinidad debida que mantuvo mayor RWC que *J. curcas* en todos niveles de salinidad evaluados.

Haciendo una comparación entre las dos especies de *Jatropha* en el tratamiento control (100% de agua para riego), se encontró que *J. curcas* mostró mayor tasa de fotosíntesis que *J. cinerea* (Tabla XXIII). Además, *J. curcas* tuvo mayor eficiencia en el uso de agua. Estos resultados indica que *J. curcas* puede tener mayor productividad que *J. cinerea* bajo un ambiente árido sin problemas de salinidad en el suelo. Tomlinson *et al.* (2013) mencionaron que en las especies de hoja perennes de las zonas áridas uno de los caracteres foliares es reducir la eficiencia en el uso de agua para maximizar el enfriamiento de la hoja a través de la evaporación. Por otra parte, una temperatura alta pueden dañar las enzimas y estimular la producción de oxidantes (Feierabend, 2005, Logan *et al.*, 2006, Silva *et al.*, 2010c). En Figura 8, *J. cinerea* mostró mayor tasa de transpiración que *J. curcas* en temperatura alta. Por lo tanto, la menor eficiencia en el uso de agua podría ser una estrategia de *J. cinerea* para sobrevivir en el medio ambiente de las zonas áridas. Por otra parte, la tasa de

fotosíntesis de *J. curcas* disminuyó a 28 % en el tratamiento de salinidad 2, con respecto al tratamiento control. Su conductividad estomática también se redujo al igual que la tasa de fotosíntesis. Estas variables con *J. cinerea* no fueron alterada por el estrés salino. Posiblemente, los parámetros de fotosíntesis en *J. cinerea* mostraron efecto menores por la salinidad a debido a la menor sensibilidad de los estomas. En consecuencia, *J. cinerea* es una especie que tiene mayor adaptación a la ambiente áridos, y puede crecer eliminando y evitando el daño de estrés salino. Díaz-López *et al.* (2012a) encontraron que la tasa de fotosíntesis alcanzo un valor próximo a cero en los tratamientos con valores por arriba de 60 mM de NaCl. En el presente estudio, la reducción de la tasa de fotosíntesis fue confirmada en *J. curcas* con los tratamientos de la salinidad. Sin embargo, la tasa de fotosíntesis no fue cercana a cero en todos nivel de salinidad evaluados, y siempre fue mayor a una tercera parte de la observada en el tratamiento control. Como se observó en los resultados anteriores, el efecto de los tratamientos de salinidad en *gs* no mostró cambios drásticos (Figura 7, Figura 22). Lo que nos indica que *J. curcas* puede mantener actividad fotosintética necesaria para mantener su metabolismo y seguir creciendo controlando el efecto negativo de la salinidad cuando se utiliza para su riego agua salobre.

Al igual que en la etapa desarrollo vegetativa (Figura 23), el efecto del contenido de clorofila en *J. curcas* fue mayor que en *J. cinerea* (Tabla XXIV). La reducción en el contenido de clorofila podría ser debido a la inhibición de la biosíntesis y la degradación de la clorofila por la salinidad (Moorthy y Kathiresan, 1997, James *et al.*, 2002, Khan y Abhullah, 2003). En este caso, *J. cinerea* deberá de tener un buen mecanismo para proteger las clorofilas bajo estrés por salinidad. Rout *et al.*, 1998, Nandy *et al.*, (2007) encontraron que el grado de tolerancia a la salinidad en las plantas puede ser evaluado por los cambios

en la relación de Chl *a/b*. Así, la disminución de la relación Chl *a/b* es considerada como un síntoma de la condición de estrés oxidativo (Shaw, 1995, Rout y Shaw, 2001). La disminución de relación Chl *a/b* es debido a la destrucción diferencial de las clorofilas *a* y *b*, comparativamente mayor reducción en Chl *a* que en Chl *b*, como resultado de su reacción con el oxígeno singlete, lo que fue producido por fotoinhibición en PSII (Barber, 1995). Por lo tanto, la mayor reducción en la relación Chl *a/b* de *J. curcas* podría dar un indicio de que *J. curcas* tuvo mayor estrés oxidativo por la disminución de la fotosíntesis.

Las plantas deben tener un sistema antioxidante eficiente para protegerse del daño oxidativo que se producen por condiciones que favorecen el aumento del estrés oxidativo como: baja o alta temperatura, salinidad y déficit de agua (Sairam *et al.*, 2002). Igual que resultados anteriores, la actividad de SOD en el tratamiento control fue mayor en *J. cinerea* que *J. curcas* y no se observó un aumento fuerte en la actividad de SOD en *J. cinerea* como en *J. curcas*, aunque *J. cinerea* mantuvo mayor actividad de SOD que *J. curcas* en todos niveles donde se uso solución salina (Figura 34). Posiblemente, la actividad de SOD en *J. cinerea* es alta y no depende de la presencia o ausencia de estrés salino. Como en el estudio con variedades de arroz con alta tolerancia a la salinidad donde no se observó aumento en la actividad de SOD bajo estrés por salinidad (Dionisio-Sese y Tobita, 1998, Vaidyanathan *et al.*, 2003). Además, *J. cinerea* debe de tener alta actividad de antioxidantes porque la tasa de fotosíntesis y Chl *a/b* no mostraron cambios por el estrés salino (Gupta *et al.*, 1993, Sevengor *et al.*, 2011).

La catalasa, ascorbato peroxidasa y varias peroxidases catalizan la descomposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En plantas con alta tolerancia a la salinidad, la actividad de CAT y POX fue alta y pudo proteger a estas especies del estrés oxidativo (Sairam *et al.*, 2002, Meloni *et al.*, 2003).

La actividad elevada de SOD, sin el aumento en la capacidad de eliminar  $H_2O_2$  puede resultar en una mayor citotoxicidad por el radical hidroxilo que se genera a partir de  $H_2O_2$  (Gossett *et al.*, 1994). En las dos especies, las actividad de CAT y POX aumentaron bajo estrés por salinidad (Figura 34) igual que el experimento anterior (Figura 13). La elevada actividad de CAT y POX en las dos especies evaluadas permitieron desintoxicar de  $H_2O_2$  rápidamente, y mantuvieron las ERO en un nivel bajo en condiciones de estrés por salinidad. Vaidyanathan *et al.* (2003) mencionaron que una variedad de arroz con alta tolerancia a la salinidad, mostro mayor actividad de POX y CAT en comparación con una variedad de menor tolerancia. Posiblemente, *J. cinerea* tuvo mayor tolerancia bajo estrés por salinidad por un nivel alto y una rápida actividad de los antioxidantes.

A largo plazo la acumulación de las sales en las hojas, y el nivel de la peroxidación de lípido aumentó en las dos especies, y se confirmó el aumento de la actividad de antioxidante (Figura 34). En *J. curcas*, TBARS aumentó tres veces más y *J. cinerea* aumentó dos veces más en el tratamiento de salinidad 2 comparada con el tratamiento control. En una comparación con los resultados de experimento anterior (Figura 13), el aumento de TBARS en las dos especies no fue tan alto; *J. curcas* en 200 mM de NaCl fue 13 veces más que el control y *J. cinerea* fue 4 veces más en el experimento anterior. El nivel de TBARS sugiere que en un plazo largo con estrés salino utilizando agua salobre para el riego, no se indujo a un nivel de peroxidación de lípido extremadamente grave.

La producción de las semillas no fue afectada por salinidad, en las dos especies. Sin embargo, el crecimiento y los parámetro fisiológicos si fue afectado por la salinidad en las dos especies (Tabla XXV). Zhang *et al.* (2002) mencionaron que la salinidad no reduce significativamente en el rendimiento del cultivo hasta que se excede un valor límite.

Hoffman *et al.* (1989) reportaron que árboles de ciruelos con tratamientos de alta salinidad pasaron a la dormancia o reposo cuando la acumulación de sales en la planta llegó a nivel límite para permitir un crecimiento normal. En este estudio, se confirmó que la concentración de sal no llegó a un nivel tóxico en las yemas florales y el tejido de las hojas en las dos especies en todos los niveles del tratamiento salino. En varios estudios se ha encontrado que el estrés salino induce mayor formación de yemas florales y aceleración de la maduración del fruto (Downton, 1978, Walker y Douglas, 1983, Myer *et al.*, 1995, Okubo *et al.*, 2000). La formación de yemas florales en *J. curcas* sucedió más temprano en los tratamientos salinos en comparación con el tratamiento de control. Además, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad en el número de yemas florales. Las hojas de *J. curcas* iniciaron su dehiscencia a finales de Octubre por el cambio estacional del clima. Bajo estas condiciones, la aceleración de la formación de yemas florales por el estrés de salinidad podría ayudar a extender el período de floración y utilizar los productos fotosintéticos para el desarrollo de semilla más efectivamente. Los resultados sugieren que la formación de yemas florales, la polinización y el desarrollo de semilla no fueron afectados por la buena capacidad de ajuste osmótico ante la absorción de sales que ocurrió bajo el estrés por salinidad. Por otra parte, *J. curcas* y *J. cinerea* mantuvieron la capacidad de transporte de sus productos fotosintéticos eficientemente para producción de semilla bajo estrés salino. Por lo tanto, la producción de semilla de *J. curcas* utilizando agua, con alta concentración de sales es posible. Sin embargo, todavía hay necesidad de investigar el efecto de salinidad en la calidad del aceite de semillas.

## 10. CONCLUSIONES

Bajo estrés por salinidad, *Jatropha curcas* y *Jatropha cinerea* mostrarán diferentes respuestas en el crecimiento, morfología, fisiología y bioquímica en cada etapa del desarrollo. Las dos especies presentaron diferente tolerancia a la salinidad: *J. curcas* fue ligeramente más sensible que *J. cinerea* en todas las etapas.

Comparando la sensibilidad al estrés salino en cada etapa de desarrollo, la etapa de germinación fue más sensible que las otras etapas en las dos especies. La toxicidad de NaCl influyó en la germinación en las dos especies, para *J. curcas* la germinación se presentó en niveles inferiores de salinidad de hasta 50 mM de NaCl y *J. cinerea* la germinación se presentó hasta los 100 mM.

En la etapa desarrollo vegetativa, el crecimiento se redujo en las dos especies por el efecto de la salinidad. *J. curcas* presentó mayor sensibilidad a la salinidad por su menor capacidad de controlar la sal y el mayor desequilibrio de cationes en alto nivel de salinidad. Por otra parte, al analizar los parámetros en PCA, *J. curcas* presentó una respuesta similar a *J. cinerea* a el estrés por salinidad hasta 100 mM de NaCl. Las dos especies presentaron una alta capacidad para mantener su estado hídrico utilizando la acumulación de los iones para disminuir el potencial osmótico, controlando el crecimiento y cerrando las estomas para evitar la deshidratación. La RGR indica que el límite de acumulación de NaCl en *J. curcas* y *J. cinerea* fue con el tratamiento de los 100 mM de NaCl debido a la reducción de la capacidad de fotosintética (NAR). Se observó que en 200 mM de NaCl en la solución nutritiva, la producción biomasa nueva se suspende y solo se gastan los productos fotosintéticos. Para evitar el daño de las hojas por toxicidad de NaCl en las hojas, se recomienda cultivar con una solución menor a los 50 mM en ambas especies.

La absorción de nutrientes, *J. cinerea* fué menor que en *J. curcas*, específicamente nitrógeno total y  $\text{NO}_3^-$ . *J. cinerea* es una especie adaptada a ambientes de zonas áridas donde son frecuentes los suelos salinos y con déficit de nutrientes. *J. cinerea* podría ser una especie adecuada en ambientes de zonas áridas donde son frecuentes los suelos salinos y con déficit de nutrientes. La fertilización nitrogenada adicionalmente ayudó a reducir el efecto perjudicial de la salinidad mediante la reducción de la absorción de  $\text{Na}^+$ , disminuyó el desequilibrio de cationes y estimulo la estabilidad de la membrana. Sin embargo, el incremento en la aplicación del fertilizante nitrogenado no afectó la concentración de  $\text{Cl}^-$ .

El nitrógeno adicional tampoco afectó el estado hídrico en las dos especies. Sin embargo, se observó mayor sensibilidad a la salinidad *J. curcas* al ser comparad con *J. cinerea*, de esta forma, la aplicación adecuada de fertilización nitrogenada podría disminuir el efecto perjudicial de la salinidad.

Bajo el estrés salino la producción de semillas en *J. curcas* no fue afectada a diferencia de los parámetros de crecimiento y la fisiología que si fueron afectados. Las dos especies de *Jatropha* mostraron la capacidad para producir la biomasa necesaria para la producción de semillas ya que el nivel de salinidad en las hojas fue inferior al nivel de toxicidad y hubo alta actividad de los antioxidantes para evitar la sobreproducción de las ERO.

Por lo tanto, bajo los resultados alcanzados en la presente investigación, podemos deducir que el cultivo de *J. curcas* es una alternativa para ser cultivado en suelos de zonas áridas como producción de materia prima para su aplicación en el campo de la bioenergía produciendo aceite para la elaboración de biodiesel, permitiendo integrar suelos improductivos caracterizados por presentar niveles de salinidad no aptos para la mayoría de las especies en la producción de alimentos, así como el recurso de agua con elevado

contenido de sales, que las hace imprácticas producir alimentos en el campo de las zonas áridas en general, adicionando cantidades adecuadas de fertilizante para disminuir el efecto de la salinidad. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto de la salinidad sobre la calidad de los componentes del aceite de *J. curcas* producidas bajo estrés salino.

## 11. LITERATURA CITADA

- Abbruzzese, G., I. Beritognolo, R. Muleob, M. Piazzaia, M. Sabattia, G.S. Mugnozza, E. Kuzminsky. 2009. Leaf morphological plasticity and stomatal conductance in three *Populus alba* L. genotypes subjected to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 66(3):381-388.
- Abdelgadir, E.M., M. Oka, H. Fujiyama. 2005. Nitrogen nutrition of rice plants under salinity. *Biologia Plantarum* 49(1):99-104.
- Abou Kheira, A.A., N.M.M. Atta. 2009. Response of *Jatropha curcas* L. to water deficits: Yield, water use efficiency and oilseed characteristics. *Biomass and Bioenergy*. 33(10):1343-1350.
- Achten, W.M.J., L. Verchot, Y.J. Franken, E. Mathijs, V.P. Singh, R. Aerts, B. Muys. 2008. *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass and Bioenergy*. 32(12): 1063-1084.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. En: Packer L. (ed) *Methods in Enzymology*. V. 105. Academic. EE.UU., Nueva York. 121-126p.
- Akintayo, E.T. 2004. Characteristics and composition of *Parkia biglobbosa* and *Jatropha curcas* oils and cake. *Bioresource Technology*. 92(3):307-310.
- Almansouri, M., J.M. Kinet, S. Lutts. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil*. 231(2):243-254.
- Alscher, R.G., N. Erturk, L.S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53 (372):1331-1341.
- Amirjani, M.R. 2011. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7(1):73-81.
- Aragão R.M., E.N. Silva, C.F. Vieira, J.A.G. Silveira. 2012. High supply of NO<sub>3</sub> mitigates salinity effects through an enhancement in the efficiency of photosystem II and CO<sub>2</sub> assimilation in *Jatropha curcas* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 34(6):2135-2143.
- Arriaga, L., J. León. 1989. The Mexican tropical deciduous forest of Baja California Sur: a floristic and structural approach. *Plant Ecology*. 84(1): 45-52.
- Augustus, G.D.P.S., M. Jayabatan, J. Seiler. 2002. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. *Biomass and Bioenergy* 23(3):161-164.
- Bachstes, M., P.A.R. Gomez. 1947. Beiträge zur Kenntnis mexikanischer Drogen, Pflanzen

- und Nahrungsmittel. Plant foods for human nutrition. 1: 375-377 XIV. Oel aus den Samen von *Jatropha Cinerea* (Lomboi).
- Ball, M.C., G.D. Farquhar. 1984. Photosynthetic and stomatal responses of two mangrove species *Agaveceras corniculatum* and *Avicennia marina*, to long-term salinity and humidity conditions. *Plant Physiology*. 74(1): 1-6.
- Barber, J. 1995. Molecular basis of the vulnerability of photosystem II to damage by light. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22(2):201-208.
- Basha, S.A., K.R. Gopal, S. Jebaraj. 2008. A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13(6-7): 1628-1634.
- Benavides, M. A. 2002. Estrategias para el uso de los mecanismos naturales de tolerancia al estrés en plantas. [http://www.abenmen.com/a/confabm\\_uanl.pdf#search='benavides 2002 estres](http://www.abenmen.com/a/confabm_uanl.pdf#search='benavides 2002 estres)
- Berchmans, H.J., S. Hirata. 2008. Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids. *Bioresource Technology*. 99(6):1716-1721.
- Bermudez-Contreras, A., M. Tomson, D.G. Infield. 2008. Renewable energy powered desalination in Baja California Sur, Mexico. *Desalination*. 220(1-3):431-440.
- Bernstein, N., U. Kafkafi. 2002. Root growth under salinity stress. En: Waisel, Y., A. Eshel, U. Kafkafi (Eds). *Plant Roots, the hidden half*. Third edition. Marcel Dekker, Inc., EE.UU., Nueva York. 787p.
- Bliss, R.D., K.A. Platt-Aloia, W.W. Thomson. 1986. The inhibitory effect of NaCl on barley germination. *Plant, Cell and Environment*. 9(9):727-733.
- Blum, A., R. Munns, J.B. Passioura, N.C. Turner, R.E. Sharp, J.S. Boyer, H.T. Nguyen, T.C. Hsiao, D.P.S. Verma, Z. Hong. 1996. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: how to interpret osmotic relations? *Plant Physiology*. 110(4): 1051-1053.
- Blumwald, E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current Opinion In Cell Biology* 12(4):431-434.
- Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. *Science*. 29(218): 443-448.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2):248-254.
- Brugnoli, E., O. Björkman. 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress

- influence on allocation pattern stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*.187(3):335–347.
- Campos, M.L.O., B.S. Hsie, J.A.A. Granja, R.M. Correia, J.S. Almeida-Cortez, M.F. Pompelli. 2012. Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L., under salt stress. *Brazilian society of plant physiology*. 24(1):55-67.
- Chartzoulakis, K., G. Psarras, S. Vemmos, M. Loupassaki, M. Bertaki. 2006. Response of two olive cultivars to salt stress and potassium supplement. *Journal of Plant Nutrition*. 29(11):2063-2078.
- Cakmak, I., H. Marschner. 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*. 98(4) : 1222-1227.
- Chen, W., Z. Hou, L. Wu, Y. Liang, C. Wei. 2010. Effects of salinity and nitrogen on cotton growth in arid environment. *Plant and Soil*. 326(1-2): 61-73.
- Colmer, T.D., T.W-M. Fan, R.M. Higashi, A. Läuchli. 1996. Interactive effects of Ca<sup>2+</sup> and NaCl salinity on the ionic relations and proline accumulation in the primary root tip of *Sorghum bicolor*. *Physiologia plantarum*. 97(3):421-424.
- Cramer, G.R., E. Estein, A. Läuchli, 1990. Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. I. Growth analysis. *Physiologia Plantarum*. 80(1):83-88.
- Cramer G.R., D.C. Bowman. 1991. Kinetics of maize leaf elongation 1. Increased yield threshold limits short-term, steady-state elongation rates after exposure to salinity. *Journal of Experimental Botany*. 42(11):1417-1426.
- Cramer, G.R., R.S. Nowak. 1992. Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. *Physiologia Plantum*. 84(4): 600-605.
- Dadkhah, A. 2011. Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 13(7):1001-1012.
- Debez, A., K.B. Hamed, C. Grignon, C. Abdelly. 2004. Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant and Soil* 262(1-2): 179-189.
- Díaz-López, L., V. Gimeno, V. Lidón, I. Simón, V. Martínez, F. Gracia-Sánchez. 2012a. The tolerance of *Jatropha curcas* seedling to NaCl: An ecophysiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry* 54: 34-42.
- Díaz-López, L., V. Gimeno, I. Simón, V. Martínez, W.M. Rodríguez-Ortega, F.

- García-Sánchez. 2012b. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. *Agricultural water management*.105:48-56.
- Dionisio-Sese, M.L., S. Tobita. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*. 135(1):1-9.
- Divakara, B.N., H.D. Upadhyaya, S.P. Wani, C.L.L. Gowda. 2010. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. *Applied Energy*. 87(3):732-742.
- Dos Santos, C.M., V. Verissimo, H.C.L.W. Filho, V.M. Ferreira, P.G.S. Cavalcante, E.V. Rolim, L. Endres. 2013. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. *Industrial crops and products*. 41 203-213.
- Downton, W.K.S. 1978. Growth and flowering in salt-stressed avocado trees. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29(3):523-534.
- Dubey, R.S., M. Rani. 1990. Influence of NaCl salinity on the behavior of protease, aminopeptidase and carboxyl-peptidase in rice seedlings in relation to salt tolerance. *Australian Journal of Plant Physiology*. 17(2):215-224.
- Essa, T.A. 2002. Effect of Salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *Journal Agronomy & Crop Science*. 188(1):86-93.
- FACT. 2007. Position paper on *Jatropha curcas* L. State of the art, small and large scale project development. Fuels from agriculture in communal technology. (<http://www.fact-fuels.org>)
- Fairless, D. 2007. Biofuel: The little shrub that could - maybe. *Nature* 449:652-655.
- FAO. 2000. Crops and drops: making the best use of water for agriculture. Advance Edition. Rome.
- FAO. 2005. Global network on integrate soil management for sustainable use of salt-affected soils. Land plant nutrition management service, Rome.
- FAO. 2008. The state of food and agriculture. Rome.
- FAO. 2010. Integrated crop management *Jatropha*: a smallholder bioenergy crop the potential for pro-poor development. Rome.
- Fenhann, J. 2006. UNEP Risø CDM Pipeline.
- Feierabed, J. 2005. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defence. En: N Smirnoff (ed) *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in*

- Plants. Blackwell. UK, Oxford. 101-140p.
- Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic, T.D. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*. 6(3):1–11.
- Foidl, N., G. Foidl, M. Sanchez, M. Mittelbach, S. Hackel. 1996. *Jatropha curcas* L. as a source for the production of Biofuel in Nicaragua. *Bioresource Technology*. 58(1): 77-82.
- Francis, G., R. Edinger, K. Becker. 2005. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. *Natural Resources Forum* 29:12-24.
- Fujimaki, H., N. Kikuchi. 2010. Drought and salinity tolerances of young *Jatropha*. *International agrophysics*. 24:121-127.
- Geissler, N., S. Hussin, H.-W. Koyro. 2009. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L. *Environmental and Experimental Botany*. 65(2-3):220-231.
- Ghokale, D. 2008. *Jatropha*: experience of agro-forestry and wasteland development Foundation, Nashik, India. In: International consultation on Pro-poor *Jatropha* development. 10-11 April 2008, IFAD, Roma. (<http://www.ifad.org/events/jatropha/>)
- Ghoulam, C., A. Foursy, K. Fares. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugars. *Environmental and Experimental Botany* 47(1): 39–50.
- Gill S.S., N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(12): 909-930.
- Gossett, D.R., E.P. Millhollon, M.C. Lucas. 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. *Crop Science*. 34(3):706-714.
- Grattan, S.R., C.M. Grieve. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 78(1-4):127-157.
- Greenway, H., R. Munns. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. 31: 149-190.

- Gubitz, G.M., M. Mittelbech, M. Trabi. 1999. Exploitation of tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*. 67(1):73-82.
- Gupta, A.S., J.L. Heinen, A.S. Holaday, J.J. Burke, R.D. Allen. 1993. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*. 90(4):1629-1633.
- Hasanuzzaman, M., M.A. Hossain, J.A.T. Teixeira de Silva, M. Fujita. 2012. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. En: Venkateswarlu B., A.K. Shanker, C. Shanker, M. Maheswari.(eds) *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies*. Springer. EE.UU., Nueva York. 261-315p.
- Heller, J. 1996. Physic nut, *Jatropha curcas*. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome.
- Hernández, J.A., E. Olmos, F.J. Corpas, F. Sevilla, L.A. del Río. 1995. Salt-induced oxidative stress in chloroplast of pea plants. *Plant Science*. 105(2):151-167.
- Hernández, J.A., A. Jiménez, P.M. Mullineaux, F. Sevilla. 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant, cell & environment*. 23(8): 853-862.
- Hoagland D.R., W.C. Snyder. 1933. Nutrition of strawberry plants under controlled conditions. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 302:88-296.
- Hoffman, G.J., P.B. Gatlin, R.M. Mead, R.S. Johnson, L.E. Francois, D. Goldhamer. 1989. Yield and foliar injury response of mature plum trees to salinity. *Irrigation Research*. 10(3):215-229.
- Hu, Y., U. Schmidhalter. 1997. Interactive effects of salinity and macronutrient level on wheat. II. Composition. *Journal of Plant Nutrition*. 20(9): 1169-1182.
- Hu, Y., U. Schmidhalter. 1998. Spatial distributions of inorganic ions and sugars contributing to osmotic adjustment in the elongating wheat leaf under saline soil conditions. *Australian Journal of Plant Physiology*. 25(5):591-597.
- Hu, Y., U. Schmidhalter. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on

- mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 168(4): 541-549.
- Irshad, M., S. Yamamoto, A.E. Eneji, T. Endo, T. Honna. 2002. Urea and Manure effect on growth and mineral contents of maize under saline conditions. *Journal of Plant Nutrition* 25(1):189-200.
- IEA. 2007. *World Energy Outlook 2007*. IEA. Paris.
- James, R.A., A.R. Rivelli, R. Munns, S.V. Caemmerer. 2002. Factors affecting CO<sub>2</sub> assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat. *Functional Plant Biology*. 29(12):1393-403.
- Jarvis, A.J., T.A. Mansfield, W.J. Davies. 1999. Stomatal behavior, photosynthesis and transpiration under rising CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell & Environment*. 22:639-648.
- Jongschaap, R.E.E., W.J. Corré, P.S. Bindraban, W.A. Brandenburg. 2007. Claims and facts on *Jatropha curcas* L. *Plant research international report* 158.
- Kabir, M.E., A. Hamid, M.M. Haque, E. Nawata, M.A. Karim. 2005. Effect of Nitrogen Fertilizer on salinity tolerance of mungbean (*Vigna radiata* L. Wiczek). *Japanese Journal of Tropical Agriculture*. 49(2):119-125.
- Kafi, M., H. Asadi, A. Ganjeali. 2010. Possible utilization of high-salinity waters and application of low amounts of water for production of the halophyte *Kochia scoparia* as alternative fodder in saline agroecosystems. *Agricultural Water Management*. 97(1):139–147.
- Kafkafi, U., M.Y. Siddiqi, R.J. Ritchie, A.D.M. Glass, T.J. Ruth. 1992. Reduction of nitrate (<sup>13</sup>NO<sub>3</sub>) influx and nitrogen (<sup>13</sup>N) translocation by tomato and melon varieties after short exposure to calcium and potassium chloride salts. *Journal of Plant Nutrition*. 15(6-7):959-975.
- Kameli, A., D.M. Lösel. 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Journal of Plant Physiology*. 145(3): 363-366.
- Kar M., D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57(2):315-319.
- Kaya, C., D. Higgs, K. Saltali, O. Gezerel. 2002. Response of strawberry grown at high salinity and alkalinity to supplementary potassium. *Journal of Plant Nutrition*.

25:1415-1427.

- Kent, L.M., A. Lauchli. 1985. Germination and seedling growth of cotton: salinity-calcium interactions. *Plant, Cell and Environment*. 8:155-159
- Khan, M.A., I.A. Ungar, A.M. Showalter. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environment*. 45(1):73-84.
- Khan, M.H., S.K. Panda. 2002. Induction of oxidative stress in roots of *oryza sativa* L. in response to salt stress. *Biologia Plantarum*. 45(4):625-627.
- Khan, M.A., Z. Abdullah. 2003. Salinity-sodicity induced changes in reproductive physiology of rice (*Oriza sativa*) under dense soil conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 49(2): 145-157.
- Khan, M.A., I.A. Ungar, A.M. Showalter. 2005. Salt stimulation and tolerance in an intertidal stem-succulent halophyte. *Journal of Plant Nutrition*. 28(8):1365-1374.
- Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*. 56(2):136-146.
- Koyro, H-W., P. Ahmad, N. Geissler. 2012. Abiotic stress responses in plant an over view in environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change. Springer. New York.
- Kudo, N., S. Yamada, J. Larrinaga-Mayoral, H. Fujiyama. 2008. Responses of crops to soil salinization in South Baja California, Mexico. *Journal of Plant Nutrition*. 31(10):1800-1810.
- Kumar, A., S. Sharma. 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcs* L.): A review. *Industrial Crops and Products*. 28(1):1-10.
- Kumar, N., D.V.N. Pamidimarri, M. Kaur, G. Boricha, M.P. Reddy. 2008. Effects of NaCl on growth, ion accumulation, protein, proline contents and antioxidante enzymes activity in callus cultures of *Jatropha curcas*. *Biologia*. 63(3): 378-382.
- Lawlor, D.W., G. Cornic. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*. 25(2): 275-294.
- Le Houérou, H.N. 1996. Climate change, drought and desertification. *Journal of Arid Environments*. 34(2): 133-185.
- Logan, B.A., D. Kornyejev, J. Hardison, A.S. Holaday. 2006. The role of antioxidant enzymes in photoprotection. *Photosynthesis Research*. 88(2): 119-132.

- Lutts, S., J.M. Kinet, J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78(3): 389-398.
- Ma, F., M.A. Hanna. 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*. 70(1): 1-15
- Madrigal L.P., J.G. Meraz. 2012. Salinidad de suelos en distritos de riego, sensores remotos y cambio climatico. XXII congreso nacional de hidraulica.
- Maes, W.H., W.M.J. Achten, B. Reubens, D. Raes, R. Samon, B. Muys. 2009. Plant-water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Journal of Arid Environments* 73(10): 877-884.
- Maggio, A., M.P. Reddy, R.J. Joly. 2000. Leaf gas exchange and solute accumulation in the halophyte *Salvadora persica* grown at moderate salinity. *Environmental and Experimental Botany* 44(1): 31-38.
- Mansour, M.M.F. 2000. Nitrogen containing compound and adaptation of plants to salinity stress. *Biologia Plantarum*. 43(4): 491-500.
- Marcelis, L.F.M., J. Van Hooijdonk, 1999. Effect of salinity on growth, water use and nutrient use in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant and soil* 215(1):57-64.
- Marschner, H., I. Cakmak. 1989. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc, potassium and magnesium deficient bean *Phaseolus vulgaris* plants. *Journal of Plant Physiology*. 134(3): 308-315.
- Meigs, P. 1953. World distribution of arid and semi-arid homoclimates. En: UNESCO (ed) *Reviews of Research on Arid Zone Hydrology*. Paris. 203-209p.
- Megdiche, W., N.B. Amor, A. Debez, K. Hessini, R. Ksouri, Y.F. Zuily, C. Abdelly. 2007. Salt tolerance of the anual halophyte *Cakile maritima* as affected by the proveance and the developmental stage. *Acta Physiol Planta*. 29(4):375-384.
- Meloni, D.A., M.A. Oliva, H.A. Ruiz, C.A. Martinez. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 24(3): 599-612.
- Meloni, D.A., M.A. Oliva, C.A. Martinez, J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and experimental Botany*. 49(1):69-76
- Mito, T., M. Seki, K. Shinozaki, M. Ohme-Takagi, K. Matsui. 2011. Generation of chimeric repressors that confer salt tolerance in *Arabidopsis* and rice. *Plant Biotechnology Journal*. 9(7):736-746.

- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 7(9): 405-410.
- Moorthy, P., K. Kathiresan. 1998. Influence of ultraviolet-B radiation on photosynthetic and biochemical characteristics of a mangrove *Rhizophora apiculata*. *Photosynthetica*. 34(3):465-471.
- Moradi, F., A.M. Ismail. 2007. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Annals of Botany*. 99(6):1161-1173.
- Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*. 16(1):15-24.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25(2): 239–250.
- Munns, R. 2005. Genes and tolerance: bringing them together. *New phytologist*. 167(3):645-663.
- Munns R., R.A. James, A. Läuchli. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experiment of Botany*. 57(5):1025-1043.
- Munns, R., M. Tester. 2008. Mechanism of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59:651-681.
- Myers, B.A., D.W. West, L. Callinan, C.C. Hunter. 1995. Long term effects of saline irrigation on the yield and growth of mature Williams pear trees. *Irrigation Science*. 16(1):35-46.
- Naidoo, G., R. Rughunanan. 1990. Salt tolerance in the succulent, coastal halophyte, *Sarcocornia natalensis*. *Journal of experimental botany*. 41(4):497-502.
- Nandy, P., S. Das, M. Ghose, R. Spooner-Hart. 2007. Effects of salinity on photosynthesis, leaf anatomy, ion accumulation and photosynthetic nitrogen use efficiency in five Indian mangroves. *Wetland ecology management*. 15(4):347-357.
- Nathawat, N.S., M.S. Kuhad, C.L. Goswami, A.L. Patel , R. Kumar. 2007. Interactive effects of nitrogen source and salinity on growth indices and ion content of indian mustard. *Journal of Plant Nutrition*. 30(4): 569-598.
- Navrot, N., N. Rouhie, E. Gelhaye, J.P. Jaquot. 2007. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum*. 129(1):185-198.
- Neto, M.C., A.K.M. Lobo, M.O. Martins, A.V. Fontenele, J.A.G. Silveira. 2013.

- Dissipation of excess photosynthetic energy contributes to salinity tolerance: A comparative study of salt-tolerant *Ricinus communis* and salt-sensitive *Jatropha curcas*. *Journal of Plant Physiology*. En prensa.
- Neuman P.M. 1993. Rapid and reversible modifications of extension capacity of cell walls in elongating maize leaf tissues responding to root addition and removal of NaCl. *Plant, Cell and Environment* 16(9):1107-1114.
- Nieves-Cordones, M., F. Alemán, M. Fon, V. Martínez, F. Rubio. 2012. N<sup>+</sup> nutrition, uptake, and its role in environmental stress in plants. En: Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (eds), *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. Springer. EE.UU., New York. 85-112p.
- Niu, X., R.A. Bressan, P.M. Hasegawa, J.M. Pardo. 1995. Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments. *Plant Physiology*. 109(3): 735-742.
- Noctor, G., C. Foyer. 1988. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review plant physiology and plant molecular biology*. 49:249-279.
- Nounjan, N., P. Theerakulpisut. 2012. Effects of exogenous proline and trehalose on physiological responses in rice seedlings during salt-stress and after recovery. *Plant, Soil and Environment*. 58 (7): 309-315.
- Okubo, M., Y. Furukawa, T. Sakuratani. 2000. Growth, flowering and leaf properties of pear cultivars grafted on two Asian pear rootstock seedlings under NaCl irrigation. *Scientia horticulturae*. 85(1-2):91-101.
- ONU. 1998. Protocolo de kyoto de la convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático. ONU. EE.UU. Nueva York. 1800-1810p.
- Openshaw, K., 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy*. 19(1):1-15.
- Oueslati, S., N. Karray-Bouraoui, H. Attia, M. Rabhi, R. Ksouri, M. Lachaal, 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 32(2): 289-296.
- Papadopoulos, I., V.V. Rendig. 1983. Interactive effects of salinity and nitrogen on growth and yield of tomato plants. *Plant and Soil*. 73(1): 47-57.
- Parvaiz, A., S. Satyawati. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants—a

- review. *Plant Soil and Environment*. 54(3):89-99.
- Passioura J.B., R. Munns. 2000. Rapid environmental changes that affect leaf water status induce transient surges or pauses in leaf expansion rate. *Australian Journal of Plant Physiology*. 27(10): 941-948
- Patakas, A., N. Nikolaou, E. Zioziou, K. Radoglou, B. Noitsakis. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant science*. 163(2):361-367.
- Patel, A.D., N.S. Panchal, I.B. Pandey, A.N. Pandey. 2010. Growth, Water status and nutrient accumulation of seedlings of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) in response to soil salinity. *Anales de Biologia*. 32:59-71.
- Peuke, A.D., J. Glaab, W.M. Kaiser, W.D. Jeschke. 1996. The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. IV. Flow and metabolism of inorganic nitrogen and malate depending on nitrogen nutrition and salt treatment. *Journal of experimental botany*. 47(3):377-385.
- Persky A.M., P.S. Green, L. Stublely, C.O. Howell, L. Zaulyanov, G.A. Brzaeau, J.W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 223(1):59-66.
- Ramoliya, P.J., H.M. Patel, A.N. Pandey. 2004. Effect of salinization of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Salvadora persica* (Salvadoraceae). *Forest Ecology and Management*. 202(1-3):181-193.
- Reggiani, R., A. Bertani, S. Bozo. 1995. The effect of salinity on early seedling growth of seeds of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*. 75(1): 175-177.
- Rengel, Q.Y.Z. 1999. Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutases in narrow-leafed lupins, *Plant Science*. 142(1):1-11.
- Rout, N.P., S.B. Tripathi, B.P. Shaw. 1998. Effect of salinity on chlorophyll and proline contents in three aquatic macrophytes. *Biologia Plantarum*. 40 (3) :453-458.
- Rout, N.P., B.P. Shaw. 2001. Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science* 160 (3): 415-423.
- Rubinigg, M., F. Posthumus, M. Ferschke, J.T.M. Elzenga, I. Stulen. 2003. Effects of NaCl salinity on <sup>15</sup>N-nitrate fluxes and specific root length in the halophyte *Plantago maritima* L. *Plant and Soil*. 250(2):201-213.
- SAGARPA. 2007. El programa sectorial de desarrollo agropecuario y pesquero

- 2007-2012.(<http://www.sagarpa.gob.mx/transparencia/pot2008/XV-inf/Programa-Sectorial2007-2012.pdf>)
- SAGARPA. 2009. Programa de producción sustentable de insumos para bioenergéticos y de desarrollo científico y tecnológico. ([http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Documents/PROINBIOS\\_20091013.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Documents/PROINBIOS_20091013.pdf))
- Sairam P.K., K.V. Rao, G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*. 163:1037-1046.
- Sapeta, H., J.M. Costa, T. Lourenço, J. Maroco, P. van der Linde, M.M. Oliveira, 2013. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. *Environment and Experimental Botany* 85:76-84.
- Sekhar, K., B. Priyanka, V.D. Reddy, k.V. Rao. 2010. Isolation and characterization of a pigeonpea cyclophilin (CcCYP) gene, and its over-expression in *Arabidopsis* confers multiple abiotic stress tolerance. *Plant, Cell and Environment*. 33(8):1324-1338.
- Sevengor, S., F. Yasar, S. Kusvuran, S. Ellialtioglu. 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. *African Journal of Agricultural Research*. 6(21):4920-4924.
- Sharma N, N.K. Gupta, S. Gupta, H. Hasegawa. 2005. Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate, and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotypes. *Photosynthetica* 43(4): 609-613.
- Sharma, P., R.P. Singh. 2013. Evaluation of antioxidant activity in foods with special reference to TEAC method. *American journal of Food Technology*. 8(2):83-101.
- Shaw, B.P. Changes in the levels of photosynthetic pigments in *Phaseolus aureus* Roxb. exposed to Hg and Cd at two stages of development: a comparative study, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 55 (4):574-580.
- Shen, Z., Q. Shen, Y. Liang, Y. Liu. 1994. Effect of nitrogen on the growth and Photosynthetic Activity of Salt-Stressed Barley. *Journal of Plant Nutrition* 17(5):787-799.
- Shi, L., Z.J. Zhang, C.Y. Zhang, J.Z. Zhang. 2004. Effects of sand burial on survival, growth, gas exchange and biomass allocation of *Ulmus pumila* seedlings in the *Hunshandak sandland*, China. *Annals of Botany*. 94(4):553-560.
- Silva, E.N., R.V. Ribeiro, S.L. Ferreira-Silva, R.A. Viegas, J.A.G. Silveira. 2010a. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations

- and growth of *Jatropha curcas* plants. *Journal of Arid Environments*. 74(10):1130-1137.
- Silva, E.N., S.L. Ferreira-Silva, R.A. Viégas, J.A.G. Silveira. 2010b. The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. *Environmental and Experimental Botany*. 69(3):279-285.
- Silva, E.N., S.L. Ferreira-Silva, A.V. Fontenele, R.V. Ribeiro, R.A. Viegas, J.A.G. Silveira. 2010c. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. *Journal of Plant Physiology*. 167(14):1157-1164.
- Silva, E.N., R.V. Ribeiro, S.L. Ferreira-Silva, R.A. Viegas, J.A.G. Silveira. 2011. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. *Scientia agricola*. 68(1):62-68.
- Silva EN, R.V. Ribeiro, L.F.A. Ponte, S.L. Ferreira-Silva, J.A.G. Silveira. 2013. Contrasting physiological responses of *Jatropha curcas* plants to single and combined stresses of salinity and heat. *Journal of Plant Growth Regulation*. 32(1):159 -169.
- Sivaramakrishnan, S., Z. Viloo, D.J. Patell, J., M. Flower. 1998. Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid-season drought stress. *Physiologia Plantarum*. 74(3): 418-426.
- Smart, R.E., G.E. Bingham. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*. 53(2): 258-260.
- Sojka, R.B., D.M. Oosterhuis, H.D. Scott. 2005. Root oxygen deprivation and the reduction of leaf stomatal aperture and gas exchange. En: Pessaraki, M. (Ed.) *Handbook of photosynthesis*. Taylor & Francis Group, EE.UU., Florida. 310-325p.
- Sokal, R., R. James. 1988. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. (3rd edn). Freeman & Co, EE.UU., San Francisco, CA.
- Song, J.Q., H. Fujiyama. 1996a. Difference in response of rice and tomato subjected to sodium salinization to the addition of calcium. *Soil Science and Plant Nutrition*. 42(3):503-510.
- Song, J.Q., H. Fujiyama. 1996b. Ameliorative effect of potassium on rice and tomato subjected to sodium salinization. *Soil Science and Plant Nutrition*. 42(3):493-501.
- Song, J., X. Ding, G. Feng, F. Zhang. 2006. Nutritional and osmotic roles of nitrate in a euhalophyte and a xerophyte in saline conditions. *New Phytologist*. 171(2):357-366.
- Song, J., M. Chen, G. Feng, Y. Jia, B. Wang, F. Zhang. 2009. Effect of salinity on growth,

- ion accumulation and the roles of ions in osmotic adjustment of two populations of *Suaeda salsa*. *Plant and Soil*, 314:133-141.
- Sultana, N., I. Ikeda, R. Itoh. 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*. 42(3):211-220.
- Suzuki K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu,Zn-SOD. En: Taniguchi N., J. Gutteridge. (eds) *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species*. Oxford University Press, Ingraterra, Oxford. 91-95p.
- Taiz, L., E. Zeiger. 2002. *Plant physiology* (Third edition). Sinauer Associates, Inc., Publishers. EE.UU., Sunderland, MA.
- Tester, M., R. Davenport. 2003. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany*. 91(5): 503-527.
- Tezara, W., V.J. Mitchell, S.D. Driscoll, D.W. Lawlor,. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*. 401: 914-917.
- Tiwari, K.A., A. Kumar, H. Raheman. 2007. Biodiesel production from *Jatropha oil* (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids an optimized process. *Biomass Bioenergy* 31(8):569-575.
- Tjus, S.E., H.V. Scheller, B. Andersson, B.L. Møller. 2001. Active oxygen produced during selective excitation of photosystem I is damaging not only to photosystem I, but also to photosystem II. *Plant Physiology*. 125(4): 2007-2015.
- Tomlinson, K.W., P. Lourens, F.J. Sterck, F. Borghetti, D. Ward, S. de Bie, F. van Langevelde. 2013. Leaf adaptations of evergreen and deciduous trees of semi-arid and humid savannas on three continents. *Journal of Ecology*. 101(2):430-440.
- UNEP, 1992, *World Atlas of Desertification*, London.
- Vaidyanathan, H., P. Sivakumar, R. Chakrabarty, G. Thomas. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)-differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*. 165 (6) :1411-1418.
- Walker, R.R., T.K. Douglas. 1983. Effects of salinity level on uptake and distribution of chloride, sodium and potassium ions in citrus plant. *Australian Journal of Agricultural Research*. 34(2):145-153.
- Wani, S.P., M. Osman, E. D`Siva, T.K. Sreedevi. 2006. Improved livelihoods and environmental protection thorough biodiesel plantations in Asia. *Asian Biotechnology and Development Review*. 8(2):11-29.
- Yang, G.H., L.T. Yang, H.X. Jiang, Y. Li, P. Wang, L. Chen. 2012. Physiological impacts of

- magnesium-deficiency in Citrus seedlings: Photosynthesis, antioxidant system and carbohydrates. *Trees*. 26(4):1237-1250.
- Yeo, A.R. 1983. Salinity resistance: physiologies and prices. *Physiologia Plantarum*. 58 (2):214-222.
- Yeo A.R., K.-S. Lee, P. Izard, P.K. Boursier, T.J. Flowers. 1991. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*. 42(7) 881-889.
- Yin C, X. Pang, K. Chen, R. Gong, G. Xu, X. Wang. 2012. The water adaptability of *Jatropha curcas* is modulated by soil nitrogen availability. *Biomass and Bioenergy* 47:71-81.
- Zhang, J., M.B. Kirkham. 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant and Cell Physiology*. 35(5): 785-791.
- Zhang, X., R.R. Walker, R.M. Stevens, L.D. Prior. 2002. Yield-salinity relationships of different grapevine (*Vitis vinifera* L.) scion-rootstock combinations. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 8(3):150-156.
- Ziska, L.H., J.R. Seemann, T.M. DeJong. 1990. Salinity induced limitations on photosynthesis in *Prunus salicina*, a deciduous tree species. *Plant Physiology*. 93(3):864-870.