



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO DE INJERTOS DE
Jatropha curcas (L.) EN PORTAINJERTO DE *Jatropha*
cinerea (Ortega) Muell. Arg.**

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales

(Orientación Agricultura Sustentable)

P r e s e n t a

FEDERICO SOTO LANDEROS

La Paz, Baja California Sur, Febrero de 2017.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12 horas del día 26 del Mes de Enero del 2017, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO DE INJERTOS DE *Jatropha curcas* (L.) EN PORTAINJERTO DE *Jatropha cinerea* (Ortega) Muell. Arg."

Presentada por el alumno:

Federico Soto Landeros

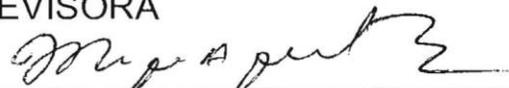
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Agricultura Sustentable

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

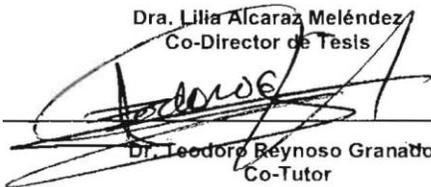
LA COMISIÓN REVISORA



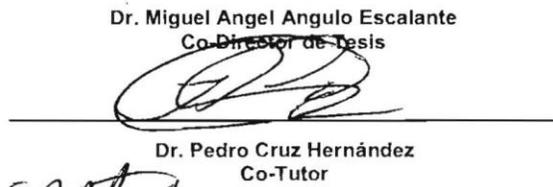
Dra. Lilia Alcaraz Meléndez
Co-Director de Tesis



Dr. Miguel Angel Angulo Escalante
Co-Director de Tesis



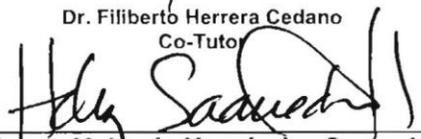
Dr. Teodoro Reynoso Granados
Co-Tutor



Dr. Pedro Cruz Hernández
Co-Tutor



Dr. Filiberto Herrera Cedano
Co-Tutor



Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

COMITÉ TUTORIAL

Co-Directora
Dra. Lilia Alcaraz Meléndez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Co-Director
Dr. Miguel Angel Angulo Escalante
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Tutor
Dr. Teodoro Reynoso Granados
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Tutor
Dr. Pedro Cruz Hernández
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Tutor
Dr. Filiberto Herrera Cedano
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

COMITÉ REVISOR

Dra. Lilia Alcaraz Meléndez
Dr. Miguel Angel Angulo Escalante
Dr. Teodoro Reynoso Granados
Dr. Pedro Cruz Hernández
Dr. Filiberto Herrera Cedano

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dra. Lilia Alcaraz Meléndez
Dr. Miguel Angel Angulo Escalante
Dr. Teodoro Reynoso Granados
Dr. Pedro Cruz Hernández
Dr. Filiberto Herrera Cedano

SUPLENTE

Dr. Enrique Troyo Diéguez
Dr. Héctor Fraga Palomino

Resumen

Jatropha curcas ha sido investigada como fuente para producir biodiesel, debido a que su semilla contiene un alto porcentaje de aceite, además por su adaptabilidad a suelos pobres y clima extremo. *Jatropha cinerea* puede soportar largos períodos de sequía y tolerar hasta 100 mM de NaCl. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta al estrés salino de plantas injertadas, comparándolas con plantas no injertadas de *J. curcas* y *J. cinerea*. Para el estudio, 1) se realizó una descripción morfológica del polen de ambas especies y se incluyeron dos especies más, *J. platyphylla* y *J. vernicosa*. Los resultados palinológicos, muestran que los granos de polen de las variedades estudiadas, tienen similitudes en las características morfológicas y corresponden filogenéticamente a las asignadas al género. 2) Se realizaron injertos entre plantas de *J. curcas* y *J. cinerea*, para conocer su compatibilidad anatómica y porcentaje de sobrevivencia. La compatibilidad de injertos de *J. curcas* sobre portainjertos de *J. cinerea*, fue de 95% de sobrevivencia del total de plantas injertadas. Al comparar los diferentes tejidos, las células de parénquima de *J. curcas* tuvieron menor cantidad de granos de almidón que las de *J. cinerea*. Otra diferencia anatómica fue la amplitud del cambium vascular, en la que *J. cinerea* presentó mayor área que *J. curcas*. 3) Las plantas injertadas desarrolladas, fueron sometidas a diferentes niveles de salinidad (0 a 100 mM de NaCl). En los tratamientos con NaCl, los análisis bioquímicos presentaron un incremento en la actividad enzimática antioxidante (SOD, CAT y POX), en *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*, conforme aumentaba la concentración de NaCl. Las plantas más afectadas fueron *J. curcas* con la concentración de 100 mM. *J. cinerea* y *J. injertada* presentaron mayor tolerancia para la misma concentración (100 mM). 4) Se obtuvieron semillas de plantas injertadas y no injertadas, para conocer el contenido de aceite. Las plantas injertadas presentaron mayor altura (150.7 cm) y contenido de aceite (51.3%) que las plantas no injertadas, (123.5 cm y 49.2%), sin afectar la composición de los ácidos grasos. 5) Los análisis fisiológicos, muestran que *J. cinerea* y *J. injertada*, tienen mayor capacidad para evitar la descomposición de la clorofila, y mantener valores más altos de conductividad, transpiración y asimilación de CO₂, con respecto a *J. curcas*. Por lo que se concluye que, el injerto mejora la altura y desarrollo de las plantas y el peso de la semilla. No afecta la calidad de los ácidos grasos, por lo tanto, el uso de plantas injertadas son una opción para el establecimiento de plantaciones en suelos de baja calidad, con rendimientos homogéneos y en menor tiempo.

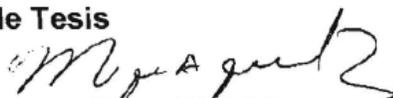
Palabras clave:

Actividad enzimática, Fisiología, Histología, Injerto, *Jatropha cinerea*, *Jatropha curcas*, *Jatropha platyphylla*, *Jatropha vernicosa*, Portainjertos, Salinidad.



Dra. Lilia Alcaraz Meléndez

Vo. Bo. Co-directores de Tesis



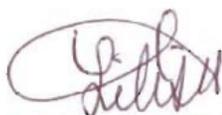
Dr. Miguel Angel Angulo Escalante

Summary

Jatropha curcas has been investigated as a source to produce biodiesel, because its seed contains a high percentage of oil, in addition for its adaptability to poor soils and extreme climate. *Jatropha cinerea* can withstand long periods and tolerate up to 100 mM NaCl. The aim of this study was to evaluate the response to saline stress of grafted plants, comparing them with ungrafted plants of *J. curcas* and *J. cinerea*. For the study, 1) a morphological description of the pollen of both species and two more species were included, *J. platyphylla* and *J. vernicosa*. The palynological results show that the pollen grains of the studied varieties have similarities in the morphological characteristics and correspond phylogenetically to those assigned to the genus. 2) Grafts were performed between plants of *J. curcas* and *J. cinerea*, to know their anatomical compatibility and survival percentage. The compatibility of *J. curcas* grafts on *J. cinerea* rootstocks was 95% of total grafted survival. When comparing the different tissues, the parenchyma cells of *J. curcas* had smaller amounts of starch grains than those of *J. cinerea*. Another anatomical difference was the amplitude of the vascular cambium, in which *J. cinerea* presented greater area than *J. curcas*. 3) The grafted plants developed were subjected to different levels of salinity (0 to 100 mM of NaCl). In the NaCl treatments, the biochemical analyzes presented an increase in the enzymatic activity (SOD, CAT and POX), in *J. curcas*, *J. cinerea* and *J. grafted*, as the NaCl concentration increased. The most affected plants were *J. curcas* with a concentration of 100 mM. *J. cinerea* and *J. grafted* presented higher tolerance for the same concentration (100 mM). 4) Seeds from grafted and ungrafted plants were obtained to determine the oil content. The grafted plants presented higher height (150.7 cm) and oil content (51.3%) than non-grafted plants (123.5 cm and 49.2%), without affecting the composition of the fatty acids. 5) The physiological analyzes show that *J. cinerea* and *J. grafted* have a greater capacity to avoid the decomposition of chlorophyll and to maintain higher values of conductivity, transpiration and assimilation of CO₂ with respect to *J. curcas*. As a result, grafting improves the height and development of plants and the weight of the seed. It does not affect the quality of the fatty acids, therefore, the use of grafted plants are an option for the establishment of plantations in low quality soils, with homogeneous yields and in less time.

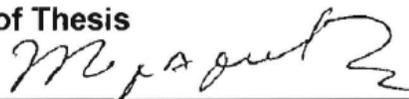
Keywords:

Enzymatic activity, Physiology, Histology, Grafting, *Jatropha cinerea*, *Jatropha curcas*, *Jatropha platyphylla*, *Jatropha vernicosa*, Rootstock, Salinity.



Dra. Lilia Alcaraz Meléndez

Approval. Co-directors of Thesis



Dr. Miguel Angel Angulo Escalante

Dedicatoria

A Dios: que me dio unos padres de los cuales estoy muy orgulloso, por todo el amor, cariño y apoyo que me dan, gracias por darme la vida.

A mi esposa: Josefina Ochoa Félix: con amor, porque me brinda todo el apoyo que necesito, por nuestros hijos Santiago y el bebé que viene en camino, que son el amor de nuestras vidas, por estar en las buenas y las malas, gracias por la confianza que me das y por **AGUANTARME** como soy.

A mis papás: Federico Soto Félix y Dolores Landeros López con todo el amor que les tengo, gracias por el apoyo que me brindan en mis estudios y los consejos que me dan en todo momento, ya que con sus esfuerzos juntos hemos logrado esto.

A mis hermanas y hermano: Margarita, María del Carmen y Francisco Javier por su apoyo y aprecio, gracias hermanas y hermano por haberme hecho tío y compadre.

A mi familia política: mis suegros, José Luis Ochoa y Bertha Alicia Félix, a mis cuñados, José Luis Ochoa (Hijo), María Guadalupe Ochoa, Alberto Ochoa, a mi concuño Obed Baudel Cota y a mi concuña Edelmira A. Gálvez, que me han apoyado en todos los sentidos, este tiempo con mi esposa e hijos.

A mis cuñados: Felipe Castillo y Jesús Mata por brindarme su apoyo y amistad siempre.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada (No. 353132) para realizar este proyecto durante el tiempo que permanecí en el programa de doctorado, y por dos becas mixtas para la realización de estancias nacionales.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), por haberme formado como un buen estudiante y permitirme adquirir los mejores conocimientos, gracias a todos los maestros y doctores, ya que siempre me motivaron a seguir estudiando cada vez más, para lograr terminar mi doctorado.

A la Dirección de Estudios de Posgrado, Dra. Norma Hernández, Lic. Osvelia Ibarra, Lic. Claudia Olachea, Lic. Leticia Rubio, C. Tania Núñez y Lic. Horacio Sandoval.

A mis Co-directores de tesis, Dra. Lilia Alcaraz y Dr. Miguel Angel Angulo Escalante, por apoyarme y brindarme sus conocimientos para realizar este trabajo, gracias por contar con su amistad.

A mis tutores, Dr. Teodoro Reynoso Granados, Dr. Pedro Cruz Hernández y Dr. Filiberto Herrera Cedano, que me brindaron su apoyo en la revisión de este trabajo y por aportar sus conocimientos para perfeccionar la redacción de esta tesis, por su tiempo y responsabilidad.

A investigadores, técnicos, administrativos, alumnos, y personal en general, que laboran en esta institución, por su apoyo técnico y porque estuvieron siempre disponibles cuando los necesité. Margarito Rodríguez, Sergio Real, Mario Arce Montoya, por apoyarme de manera muy cercana y continua en este trabajo, a Ariel Cruz Villacorta por las técnicas de microscopía electrónica, Dra. María del Carmen Rodríguez Jaramillo y María Eulalia Meza Chávez por los análisis histológicos, a Carmen Mercado Guido y Lidia Hilaes Lucero por los análisis fisiológicos, a Álvaro González Michel por la aportación de los datos meteorológicos, a Roberto Hernández Herrera por los análisis bioquímicos, a Manuel Salvador Trasviña Castro por los análisis edafológicos, y finalmente a la maestra Diana Dorantes Salas por la traducción y edición de los artículos científicos. Un agradecimiento muy especial a la Dra. Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar, por su apoyo en las técnicas de laboratorio y por su amistad.

A mis compañeros de generación, Ana Ruth Álvarez, Claudia Maytorena, Cristian Cornejo, Elvia Pérez, Fernando Pio, Gregorio Lucero, Humberto Izquierdo Oviedo, Mirella Bastidas, Moisés López, Nidia Araiza, Patricia Carbajal, Teresa Sandoval y Zuamí Villagrán, por compartir juntos momentos buenos y malos, por brindarme su amistad y paciencia.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Lista de Figuras	viii
Lista de Tablas	xi
Abreviaturas	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Salinidad	4
2.2 Estrés salino.....	5
2.3 Estrés oxidativo	6
2.4 Estrategias para mitigar la salinidad	7
2.5 Género <i>Jatropha</i>	7
2.5.1 <i>Jatropha curcas</i>	8
2.5.2 <i>Jatropha cinerea</i>	9
2.5.3 <i>Jatropha platyphylla</i>	10
2.5.4 <i>Jatropha vernicosa</i>	11
2.6 Injertos	12
2.6.1 Tipos de injertos.....	13
2.7 Análisis de polen	14
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. HIPÓTESIS	16
5. OBJETIVOS	16
5.1 Objetivo general	16
5.2 Objetivos particulares	16
6. MATERIAL Y MÉTODOS	18
6.1 Descripción morfológica de polen.....	18
6.2 Elaboración de injertos	19
6.2.1 Material vegetal.....	19

6.2.2 Germinación	20
6.2.3 Método de enjertación.....	21
6.2.4 Medición de crecimiento vegetativo	22
6.3 Análisis histológico	22
6.4 Caracterización de aceite	23
6.4.1 Material vegetal.....	23
6.4.2 Contenido de aceite	24
6.4.3 Composición de ácidos grasos	25
6.5 Condiciones meteorológicas.....	26
6.6 Análisis bioquímicos	27
6.6.1 Material vegetal.....	27
6.6.2 Preparación de extractos	28
6.6.3 Superóxido dismutasa (SOD).....	29
6.6.4 Catalasa (CAT)	29
6.6.5 Peroxidasas (POX)	29
6.6.6 Proteínas totales	30
6.6.7 Prolina	31
6.7 Análisis fisiológicos.....	32
6.7.1 Clorofila.....	32
6.7.2 Tasa de asimilación de CO ₂ y conductividad estomática	32
6.8 Evaluación de biomasa	33
7. RESULTADOS	34
7.1 Polen.....	34
7.2 Injertos	38
7.2.1 Germinación de semillas.....	38
7.2.2 Injerto.....	38
7.2.3 Desarrollo vegetativo	39
7.4.1 Cortes histológicos	39
7.5 Características de las plantas, semilla y contenido de aceite.....	42
7.6 Condiciones meteorológicas	45
7.5 Análisis bioquímicos	48
7.5.1 Proteínas totales	48
7.5.2 Superóxido dismutasa (SOD).....	49

7.5.3 Catalasa (CAT)	50
7.5.4 Peroxidasas totales (POX)	51
7.5.5 Prolina	52
7.6 Análisis fisiológicos.....	53
7.6.1 Clorofila.....	53
7.6.2 Conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO ₂	53
8. DISCUSIÓN	55
8.1 Polen.....	55
8.2 Injertos	57
8.2.1 Germinación de semillas	57
8.2.2 Método de enjertación.....	58
8.2.3 Crecimiento vegetativo.....	58
8.2.4 Cortes histológicos.....	59
8.3 Características de plantas, semillas y contenido de aceite	60
8.3.1 Composición de ácidos grasos	61
8.4 Condiciones meteorológicas.....	61
8.5 Análisis bioquímicos	63
8.5.1 Proteínas totales	63
8.5.2 Superóxido dismutasa (SOD).....	63
8.5.3 Catalasa (CAT)	64
8.5.4 Peroxidasas totales (POX)	64
8.5.5 Prolina	65
8.6 Análisis fisiológicos.....	66
8.6.1 Contenido de clorofila	66
8.6.2 Conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO ₂	66
9. CONCLUSIONES	68
10. LITERATURA CITADA	69
11. ANEXOS	78

Lista de Figuras

Figura 1. Superficie agrícola mundial afectada por salinidad.....	4
Figura 2. Distribución de zonas secas en México (SEMARNAT, 2008).....	5
Figura 3. Generación de especies reactivas de oxígeno durante la reducción del oxígeno a agua (Apel y Hirt, 2004).....	6
Figura 4. Genotipo no tóxico de <i>J. curcas</i> . A) Arbusto, B) inflorescencia monoica, C) hojas y frutos inmaduros y D) fruto maduro y semillas.	9
Figura 5. <i>J. cinerea</i> silvestre. A) Arbusto, B) flor femenina, C) hojas y fruto y D) semilla germinada con una raíz principal y cuatro periféricas.	10
Figura 6. Plantación de <i>J. platyphylla</i> . A) Arboles, B) hoja con lóbulos anchos y redondeados, C) flor femenina y D) frutos inmaduros.	11
Figura 7. <i>J. vernicosa</i> silvestre. A) Arbusto, B) flores masculinas, C) flores femeninas y D) fruto con dos semillas.....	12
Figura 8. Principales tipos de injertos. A) Púa o cuña, B) yema o astilla y C) aproximación.	14
Figura 9. Procesamiento de polen. A) Recolección de flores masculinas, B) secado crítico, C) recubrimiento metálico y D) microscopio electrónico de barrido.	19
Figura 10. Producción de plántulas de <i>Jatropha</i> . A) semillas <i>J. cinerea</i> , B) semillas <i>J. curcas</i> , C) germinación <i>J. cinerea</i> , D) germinación <i>J. curcas</i> , E) emergencia y F) plántulas de <i>J. cinerea</i> y <i>J. curcas</i>	20
Figura 11. Elaboración de injertos. A) plántulas de <i>J. cinerea</i> y <i>J. curcas</i> , B) planta injertada, C) planta injertada en maceta de 5 L y D) plantas en Invernadero.	21
Figura 12. Análisis histológico. A) fragmentos de tallos, B) bloques de parafina, C) cortes en micrótopo y D) microscopio óptico.....	23
Figura 13. Parcela experimental CIBNOR. A) Plantación de <i>J. curcas</i> injertadas y no injertadas, y B) poda a 1 metro de altura.	24
Figura 14. Material vegetal. A) Recolección de frutos y B) semillas de <i>J. curcas</i> injertada y no injertada.....	24
Figura 15. Datos meteorológicos. A) Davis Vantage Pro 2 Plus (CIBNOR) La Paz, B.C.S. y B) Adcon Telemetry® (Estación Dimas) San Ignacio, Sinaloa.	26
Figura 16. Material vegetal. A) Tratamientos con 3 réplicas, B) muestras (hoja, tallo y raíz), C) solución amortiguadora de fosfatos y D) extracto de hoja, tallo y raíz.	28
Figura 17. Análisis enzimático. A) Extracto enzimático (SOD, CAT, y POX), B) muestras procesadas en fresco y C) espectrofotómetro.	30
Figura 18. Determinación de proteínas. A) sobrenadante de hoja, tallo y raíz, B) microplaca (curva patrón, hoja, tallo y raíz).....	31
Figura 19. Análisis fisiológicos. A) fluorescencia de la clorofila y B) conductividad estomática.	33
Figura 20. Micrografía de polen de <i>J. curcas</i> donde se muestra el número de Báculos por 900 μm^2	34

Figura 21. Micrografías de polen de <i>J. curcas</i> tóxica variedad India (BIOD1): A, B; <i>J. curcas</i> no tóxica: C, D; y <i>J. platyphylla</i> : E, F, variedades de Sinaloa, México; verrugas: Δ	36
Figura 22. Micrografías de polen de <i>J. cinerea</i> variedad Sinaloa: A, B; <i>J. cinerea</i> : C, D; y <i>J. vernicosa</i> : E, F, variedades de Baja California Sur.	37
Figura 23. (A) Fragmentos de tallo de <i>Jatropha</i> , (B) cortes transversales de a) <i>J. cinerea</i> , b) <i>J. injertada</i> y c) <i>J. curcas</i> ; (C) corte longitudinal de tallo de <i>Jatropha injertada</i>	38
Figura 24. (A), (B) Cortes transversales de tallo de <i>J. cinerea</i> ; (C) y D) corte transversal <i>J. curcas</i> ; (CE = Elementos de conducción, VC = Cambium vascular, P = Floema, EPF = Fibras extra floemáticas, LC = Canales de látex, PHE = Felodermis, PH = Felógeno, CB = Corteza de corcho).	40
Figura 25. (A) Corte transversal de <i>Jatropha injertada</i> ; (B) corte longitudinal de <i>Jatropha injertada</i> ; (C) corte longitudinal de <i>J. curcas</i> y (D) corte longitudinal de <i>J. cinerea</i> ; (CE = Elementos de conducción, VC = Cambium vascular, M = Médula, SJC = Injerto de <i>J. curcas</i>).	41
Figura 26. A) Precipitación, B) humedad relativa y C) temperaturas, presentadas en el sitio de estudio de CIBNOR, La Paz, BCS. Y Estación Dimas, Sinaloa, para los ciclos de 2014-2015.	47
Figura 27. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl (0, 50 y 100 mM) sobre el contenido de proteína para hoja, tallo y raíz, en plantas de <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>Jatropha injertada</i> . Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.	48
Figura 28. Efecto del NaCl de la actividad enzima de superóxido dismutasa (SOD) para hojas, tallos y raíces en <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>Jatropha injertada</i> . Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.	49
Figura 29. Efecto del NaCl de la actividad de la enzima catalasa (CAT) para hojas, tallos y raíces para <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>J. injertada</i> . Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.	50
Figura 30. Efecto del NaCl de la actividad enzima peroxidasa (POX) para hoja, tallo y raíz para <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>J. injertada</i> . Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.	51
Figura 30. Concentración de prolina, para <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>J. injertada</i> , en hoja, tallo y raíz, con tres concentraciones (0, 50 y 100 mM NaCl). Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.	52
Figura 31. Contenido de clorofila para <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>Jatropha injertada</i> , con tres concentraciones de NaCl (0, 50 y 100 mM) y tres tiempos de evaluación (0, 15 y 30 días).	53
Figura 32. Conductividad estomática (g_s), transpiración (E) y asimilación de CO_2 (A), para <i>J. curcas</i> , <i>J. cinerea</i> y <i>J. injertada</i> , con tres concentraciones (0, 50 y 100	

mM NaCl). Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.54

Lista de Tablas

Tabla I. Número de plantas por tratamientos de plantas injertadas y no injertadas, con tres niveles de salinidad.	27
Tabla II. Conteo de báculos y estudio comparativo de polen de <i>Jatropha</i> , dos variedades cultivadas y 4 silvestres.	35
Tabla III. Comparación de crecimiento entre plantas injertadas y no injertadas.	39
Tabla IV. Características de planta, semilla y contenido de aceite de <i>J. curcas</i> no tóxicas. Promedio de cuatro plantas.	42
Tabla V. Composición de ácidos grasos en aceite obtenido de semillas cosechadas en noviembre de 2015, en la parcela experimental (CIBNOR) de <i>J. curcas</i> en La Paz, Baja California Sur.	44

Abreviaturas

°C: Grados centígrados

μL: Microlitros

μm: Micras

ADN: Ácido desoxirribonucleico

APx: Ascorbato peroxidasa

ASB: Absorbancia

BCS: Baja California Sur

CAT: Catalasa

CIAD: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo

CIBNOR: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

Cl: Cloro

cm: Centímetros

CO₂: Dióxido de carbono

EROs: Especies reactivas de oxígeno

FAA: Formaldehído, alcohol, acético

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

GPx: Glutación peroxidasa

GR: Glutación reductasa

GSH: Glutación S-transferasa

GST: Glutación reducido

H: Horas

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

HNO₃: Ácido nítrico

IND: India

K₂HPO₄: Fosfato dipotásico

m: Metros

M: Molar

mg: Miligramos

min: Minutos

mL: Mililitro

mM: Milimolar

mm: Milímetros

msnm: Metros sobre el nivel del mar

N: Norte

Na: Sodio

NaCl: Cloruro de sodio

NBT: Nitro azul de tetrazolio

nm: Nanómetros

O: Oeste

O₂: Oxígeno

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

OH: Hidroxilo

ONU: Organización de las Naciones Unidas

pH: Potencial de hidrógeno

POX: Peroxidasas

PVP: Polivilnilpirrolidona

rpm: Revoluciones por minuto

SIN: Sinaloa

SO₄: Sulfato

SOD: Superóxido dismutasa

V/V: Volumen/volumen

1. INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) de acuerdo con los resultados de la revisión 2015, menciona que la población mundial alcanzó los 7,300 millones a partir de mediados de 2015 y se prevé que la población crecerá 8,500 millones en 2030, avanzando hacia 9,700 millones en 2050 (ONU, 2015). Este crecimiento demandará más consumo de energía y alimentos. La producción de alimentos tendrá que aumentar un 38% para el año 2025 y 57% para el año 2050. Aunado a esto, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), presentan las perspectivas agrícolas para 2015-2024; donde mencionan que si las variaciones históricas de los rendimientos, los precios del petróleo y el crecimiento económico se proyectan hacia el futuro, existe una alta probabilidad de un duro golpe para los mercados internacionales dentro de los próximos diez años (OCDE/FAO, 2015).

La superficie agrícola mundial es de alrededor de 5,000 millones de hectáreas, de las cuales 3,500 millones corresponden a pastizales y el resto a áreas cultivables; es importante mencionar que el 18% (900 millones de hectáreas) están afectadas por salinidad (FAO, 2012). La salinidad es una de las principales limitaciones medioambientales para la productividad de los cultivos y su calidad. En México un 10% del área irrigada está afectada por salinidad, y de ésta, aproximadamente el 64% se localiza en la parte norte del país. El problema se agudiza en las zonas áridas y semiáridas, donde los suelos presentan drenaje deficiente y alta evaporación (Ruiz *et al.*, 2007). La salinidad es uno de los principales tipos de estrés abiótico y puede limitar severamente el crecimiento y rendimiento de las plantas. El estrés salino provoca el cierre de estomas, lo cual reduce la disponibilidad de CO₂ en las hojas e inhibe la fijación de carbono, exponiendo a los cloroplastos a una excesiva excitación de energía, lo cual puede incrementar la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) e inducir estrés oxidativo (Parida y Das, 2005; Parvaiz y Satyawati, 2008).

Las ERO tiene el potencial para interactuar con algunos componentes celulares, causando daño significativo a las membranas y otras estructuras celulares. Sin embargo; existe una elaborada red, compuesta de enzimas antioxidantes responsables de mantener los niveles de ERO bajo control. En las células vegetales, las enzimas antioxidantes como: superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa (POX), y catalasa (CAT), son consideradas como un equipo defensivo, que cuando se combinan tienen el propósito de proteger a la célula del daño oxidativo (Miller, 2002).

Para mitigar los daños producidos por la salinidad, los agricultores han implementado una combinación de estrategias, que incluyen: métodos de riego, almacenamiento de agua, reutilización de agua, desalinización de agua y suelo, drenaje subterráneo, aplicación de materia orgánica, yeso agrícola, rotación de cultivos, hidroponía y utilización de portainjertos tolerantes. Los científicos siguen diferentes formas de abordar estos desafíos, por ejemplo: aumento del conocimiento de variedades de distintas especies, exploración de nuevos genes en especies estrechamente relacionadas con especies cultivadas, comprensión de las respuestas fisiológicas al estrés abiótico, colección de semillas de halófitos o especies halo-tolerantes (Iannetta y Colonna, 2006).

Jatropha curcas es una especie tropical nativa de México, que tolera condiciones de sequía y salinidad (50 mM NaCl); produce semillas oleaginosas que son importantes para la industria de los biocombustibles (Hishida *et al.*, 2013). Sin embargo, *J. curcas* se encuentra en etapa de domesticación, las variedades empleadas actualmente tienen rendimientos bajos y variabilidad en la producción (Díaz-López *et al.*, 2012). Para mejorar este cultivo, se requiere obtener genotipos con altos rendimientos, maduración homogénea, resistencia a plagas, enfermedades y tolerancia a la salinidad (Quiroz, 2013). *Jatropha cinerea* es una especie que se distribuye en poblaciones silvestres en el noroeste de México; puede soportar largos periodos de sequía y tolerar hasta 100 mM de NaCl

(Hishida *et al.*, 2013). Esta especie tiene usos medicinales e industriales (Quattrocchi, 2012; Yetman y Van, 2002). Se ha reportado que el látex de *J. cinerea* es útil para curar todos los tipos de heridas y quemaduras; se utiliza en las telas como un mordiente (para la fijación de colores); y también se utiliza como un remedio para eliminar verrugas por sus características astringentes (León de la Luz *et al.*, 2014).

J. cinerea puede emplearse como patrón en el injerto de *J. curcas* mejorando su tolerancia a sequía y salinidad. Injertar, consiste en unir partes de diferentes plantas de tal manera que se acoplen y continúen su crecimiento como una sola planta. En esta práctica cultural se denomina patrón, pie o porta injerto a la planta que suministra la raíz, e injerto, púa o yema, a la parte vegetal que se coloca sobre el patrón y que proporciona la variedad que se desea propagar (Baraona y Sancho, 2010). Para que el injerto tenga éxito es fundamental que ambos, el portainjerto y el injerto sean compatibles. Se ha encontrado que las especies del mismo género pueden ser injertadas entre ellas perfectamente. Las especies de géneros distintos no suelen funcionar, aunque hay excepciones (Irigoyen y Cruz, 2005).

Sosa-Segura *et al.* (2014), mencionan que, los aceites de *J. cinerea*, *J. curcas* y *Jatropha platyphylla* tienen un perfil de ácidos grasos similar a los aceites de ajonjolí, canola y soya respectivamente. La búsqueda de nuevas alternativas de recursos renovables está creciendo, siendo el aceite uno de los principales candidatos. Sin embargo, hasta la fecha no hay estudios de *J. curcas* en relación con plantas injertadas sobre patrón *J. cinerea* y el contenido de aceite en las semillas. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta al estrés salino de plantas injertadas, comparándolas con plantas no injertadas de *J. curcas* y *J. cinerea*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Salinidad

La superficie agrícola mundial representa el 37% (5,000 millones de hectáreas) de la superficie terrestre total (13,400 millones de hectáreas), de las cuales 3,500 millones corresponde a pastizales y 1,500 millones a área cultivable. Sin embargo, es importante mencionar que el 18% (900 millones de hectáreas) están afectadas por salinidad (Fig. 1) (FAO, 2012). La salinidad es una de las principales limitaciones medioambientales que restringen la productividad de los cultivos y su calidad (Munns, 2005). En México, un 10% del área irrigada está afectada por salinidad, y de ésta, aproximadamente el 64% se localiza en la parte norte del país. El problema se agudiza en las zonas áridas y semiáridas, donde los suelos presentan drenaje deficiente y alta evaporación (Fig. 2) (Ruiz *et al.*, 2007).

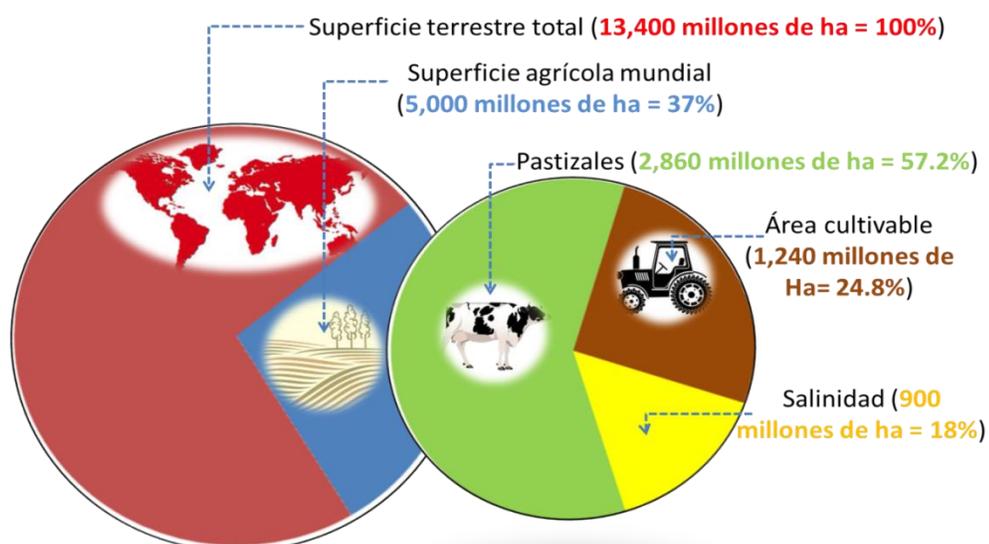


Figura 1. Superficie agrícola mundial afectada por salinidad.

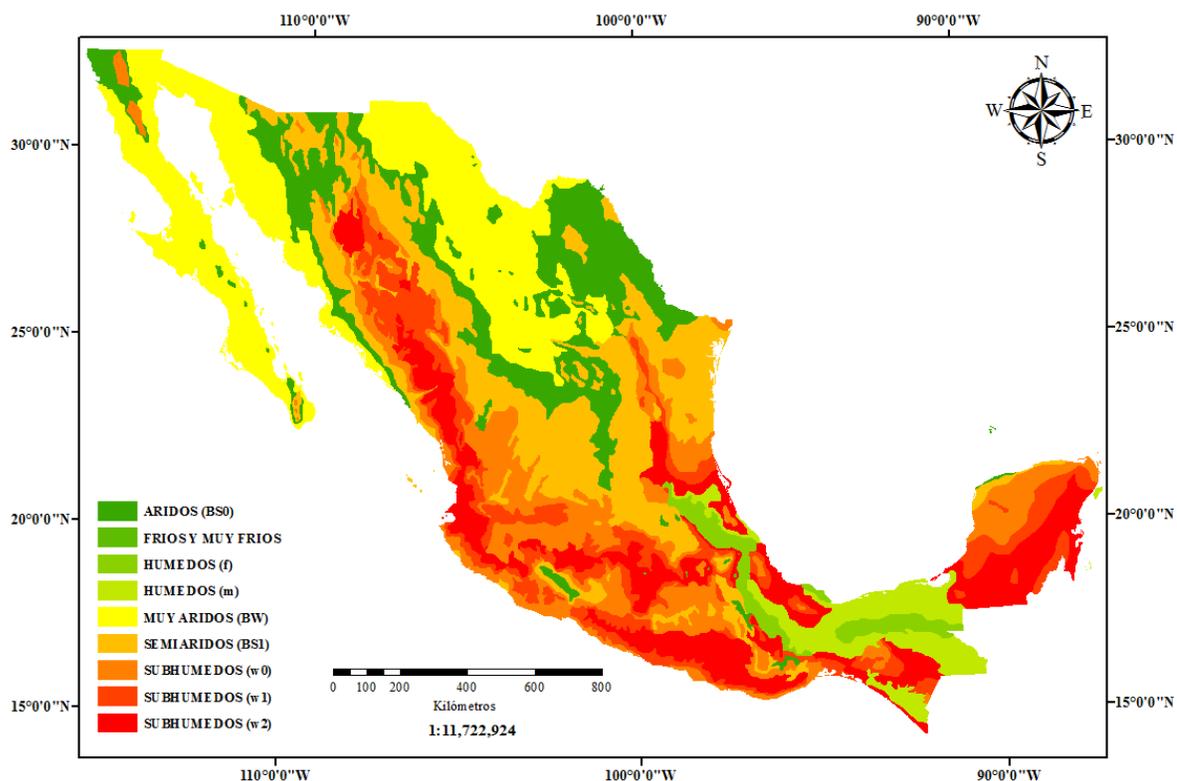


Figura 2. Distribución de zonas secas en México (SEMARNAT, 2008).

2.2 Estrés salino

Se caracterizan como suelos salinos aquellos que contienen sales en cantidades suficiente para interferir con el crecimiento de la mayoría de las especies cultivadas. Esto, sin embargo, no establece una cantidad fija de sal, sino que depende de la especie vegetal, la textura y la capacidad del agua del suelo y la composición de las sales (Navarro y Navarro, 2013). Las sales presentes en la solución del suelo puede reducir la evapotranspiración al ser el agua del suelo menos disponible para su extracción por las raíces de las plantas. Las sales poseen afinidad por el agua, lo que traduce en la necesidad del cultivo de aplicar una mayor fuerza para su extracción del agua de un suelo salino. La presencia de sales en el agua del suelo reduce la energía potencial en la solución. Por otra parte, algunas sales generan efectos tóxicos en las plantas, lo que puede provocar la reducción del metabolismo y crecimiento de las mismas (FAO, 2006).

Las células son protegidas por mecanismos de defensa enzimático y no enzimático. Algunos de los antioxidantes enzimáticos en las plantas son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), ascorbato peroxidasa (APx), glutatión reductasa (GR) y glutatión S-transferasa (GST). Los antioxidantes no enzimáticos en plantas incluyen el glutatión reducido (GSH), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E (α -tocoferol), los carotenoides (β -caroteno) y los compuestos fenólicos, incluyendo a los flavonoides (Aqil *et al.*, 2006).

2.4 Estrategias para mitigar la salinidad

Con respecto a la salinización en la agricultura, deben implementarse estrategias de adaptación y mitigación, a los daños producidos por su actividad. Los agricultores se están adaptando al aumento de conductividad eléctrica del suelo y del agua, por medio de una combinación de estrategias que incluyen, una mejor elección de cultivos y variedades, rotación, métodos de regadío, almacenamiento de agua, mezcla de aguas, reutilización del agua, y desalinización. Por otra parte, los investigadores incluyen y relacionan los temas mencionados anteriormente y aportan nuevas formas de afrontar estos desafíos, por ejemplo: aumento del conocimiento de variedades de distintas especies, exploración de nuevos genes en especies estrechamente relacionadas con especies cultivadas, comprensión de las respuestas fisiológicas al estrés abiótico, colección de semillas de halófitas o especies halo-tolerantes (Iannetta y Colonna, 2006).

2.5 Género *Jatropha*

El nombre de *Jatropha* (Euphorbiaceae) se deriva de las palabras griegas "iatros", que significa médico y "trophé" alimentos (Heller, 1996), lo cual es indicativo de su potencial y amplio uso como hierba medicinal en la antigüedad (Sunil *et al.*, 2013). El género *Jatropha* contiene aproximadamente 170 a 175 especies conocidas (Heller, 1996; Dehgan y Webster, 1979), entre ellos *J. curcas*, *J. cinerea*, *J. platyphylla* y *J. vernicosa*.

2.5.1 *Jatropha curcas*

J. curcas (L.) es considerado como la especie más primitiva del género (McVaugh 1945; Wilbur 1954). El origen de esta especie ha sido largamente debatido. Sin embargo, se ha acordado que es nativa de México y América continental (Achten *et al.*, 2010). Existen variedades tóxicas y no tóxicas, en México se han encontrado genotipos no tóxicos (Jongschaap *et al.*, 2007). *J. curcas* es un arbusto o árbol pequeño que puede alcanzar una altura de hasta 5 m (Fig. 4 A). Las plantas son monoicas, es decir, tienen flores masculinas y femeninas en la misma inflorescencia (Fig. 4 B) (Chang-Wei *et al.*, 2007). Los tallos crecen con una discontinuidad morfológica en cada incremento. El tallo es un cilindro verde, robusto, que produce ramas con savia láctea o rojiza viscosa. Normalmente se forman cinco raíces en las plántulas, una central y cuatro periféricas. Las hojas son lobuladas, alternas, con una longitud y anchura de 6 a 15 cm (Fig. 4 C). Las flores están ubicadas en inflorescencias que se forman en las axilas de las hojas (Heller, 1996). Las flores son polinizadas por abejas, moscas, hormigas y trips (Solomon, 2002). Después de la polinización, se forma una fruta elipsoidal trilocular (Fig. 4 C). El exocarpio permanece carnoso hasta que las semillas están maduras. Las semillas son de color negro, de 2 cm de largo y 1 cm de grosor (Fig. 4 D) (Heller, 1996).

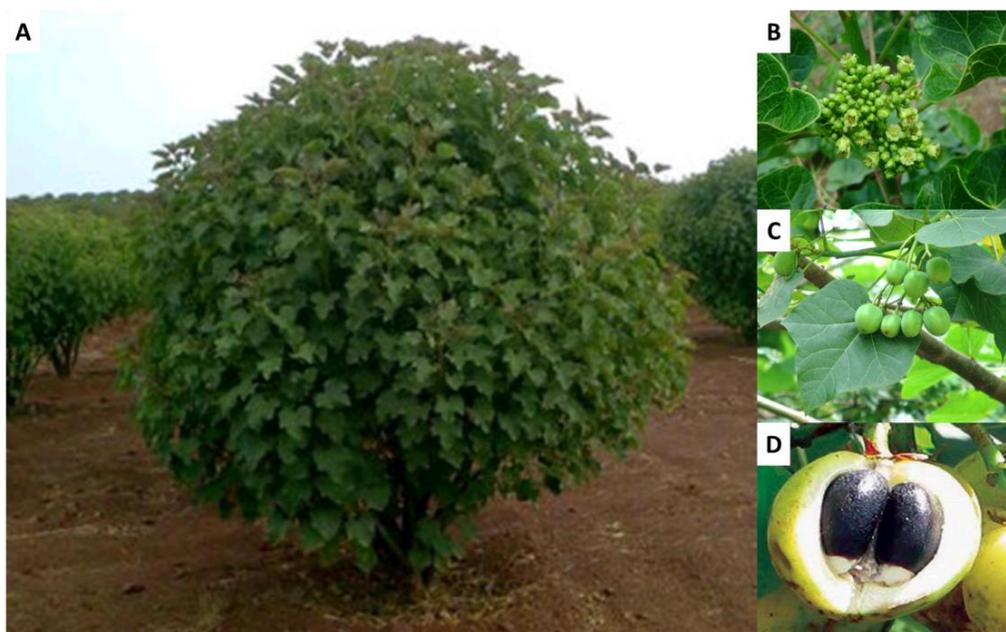


Figura 4. Genotipo no tóxico de *J. curcas*. A) Arbusto, B) inflorescencia monoica, C) hojas y frutos inmaduros y D) fruto maduro y semillas.

2.5.2 *Jatropha cinerea*

J. cinerea [(Ortega) Muell. Arg.] Se distribuye en los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Sinaloa y Sonora, desde la zona de manglar hasta el área de bosque espinoso (Vega-Aviña *et al.*, 2000). *J. cinerea* es un arbusto de 1 a 3 m de altura y pueden encontrarse plantas dioicas y monoicas (Fig. 5 A). Hojas en forma de corazón con 5 cm de diámetro, con venación palmeada. Las flores tienen pétalos de color rojo (Fig. 5 B) y los frutos son de forma trilocular (Fig. 5 C). Las semillas son pequeñas, con testa marrón y germen blanco perla (Fig. 5 D) (Sosa-Segura *et al.*, 2014).

Las personas del medio rural usan de manera medicinal el látex como cicatrizante de heridas y la corteza de la raíz de plantas pequeñas, para preparar una infusión que cura la disentería (Quattrocchi, 2012). De manera industrial utilizan la savia de la raíz como tinte para teñir cobijas de lana (Yetman y Van, 2002). Esta especie que se distribuye en poblaciones silvestres en suelos salinos; puede soportar largos periodos de sequía y tolerar hasta 100 mM de NaCl (Hishida *et al.*, 2013).

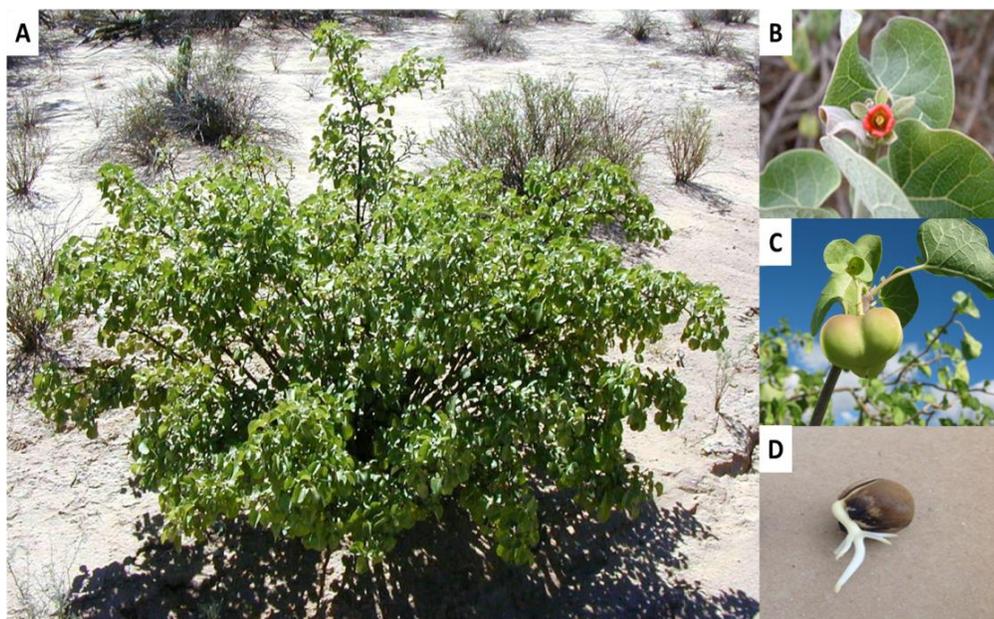


Figura 5. *J. cinerea* silvestre. A) Arbusto, B) flor femenina, C) hojas y fruto y D) semilla germinada con una raíz principal y cuatro periféricas.

2.5.3 *Jatropha platyphylla*

J. platyphylla (Muell. Arg.) Es un arbusto o árbol dioico con ramas gruesas y suculentas; resistente a la sequía, llega a medir de 2 a 5 m de altura (Fig. 6 A). La especie está restringida a áreas cálidas (temperatura promedio 20 a 29 °C) en la costa del Pacífico de Sinaloa a Michoacán, incluyendo los estados de Nayarit y Jalisco, México; y se encuentra generalmente en o alrededor de los bosques caducifolios. Las hojas son peltadas y tienen 15 a 35 cm de ancho con lóbulos anchos y redondeados (Fig. 6 B) (Makkar *et al.*, 2011). Los peciolo son largos y con inflorescencias ramificadas que contienen de 5 a 7 flores, con corolas pistiladas de pétalos blancos, con ovario tricarpelar (Fig. 6 C) y frutos con 3 semillas generalmente. Sin embargo, se pueden encontrar frutos con 4 semillas (Fig. 6 D) (Deghan, 1982).

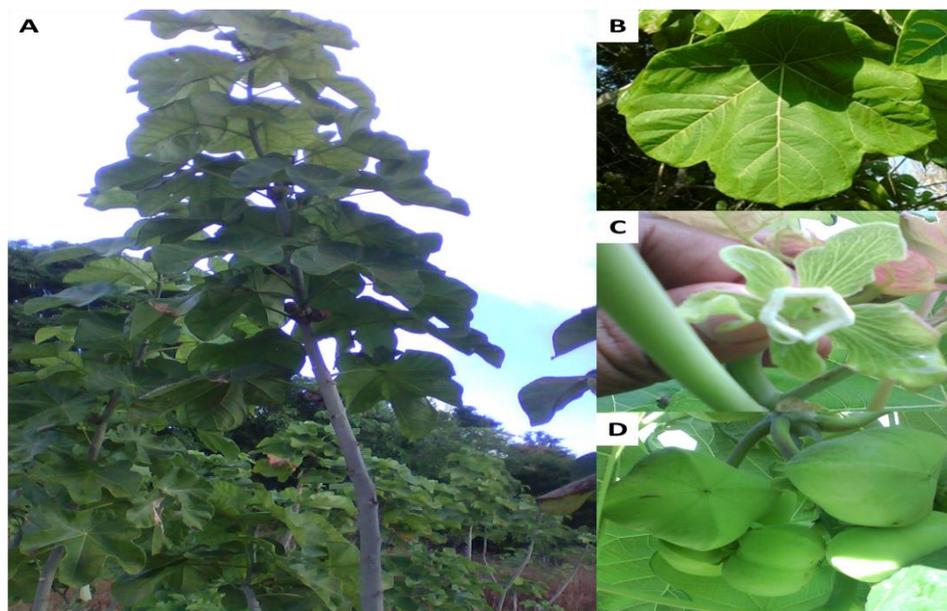


Figura 6. Plantación de *J. platyphylla*. A) Árboles, B) hoja con lóbulos anchos y redondeados, C) flor femenina y D) frutos inmaduros.

J. platyphylla está reconocida como una planta medicinal (Rendón, 1999); se le han encontrado otros usos como leña y postes en Tamazula, Durango, México (SEMARNAT, 2004). El fruto se ha utilizado para elaborar conservas en las localidades de Tacuichamona y el Salado del municipio de Culiacán, Sinaloa, México (Makkar *et al.*, 2010). Estudios realizados al germen de la semilla, muestran que es una especie no tóxica (libre de esteres de forbol) y que contiene niveles altos de aceite (60.3%) y proteína cruda (27.1%) (Sosa-Segura *et al.*, 2014).

2.5.4 *Jatropha vernicosa*

J. vernicosa (Brandeggee) es un arbusto monoico de 2 a 3 m de altura, con hojas simples y brillantes, pediceladas de 5 a 7 cm de largo y de 3 a 5 cm de ancho (Fig. 7 A). La floración se produce en agosto y septiembre, después de las lluvias de verano desarrolla flores blancas masculinas (Fig. 7 B) y femeninas en inflorescencias racemosas (Fig. 7 C). El fruto es una cápsula con 2 a 3 semillas (Fig. 7 D).

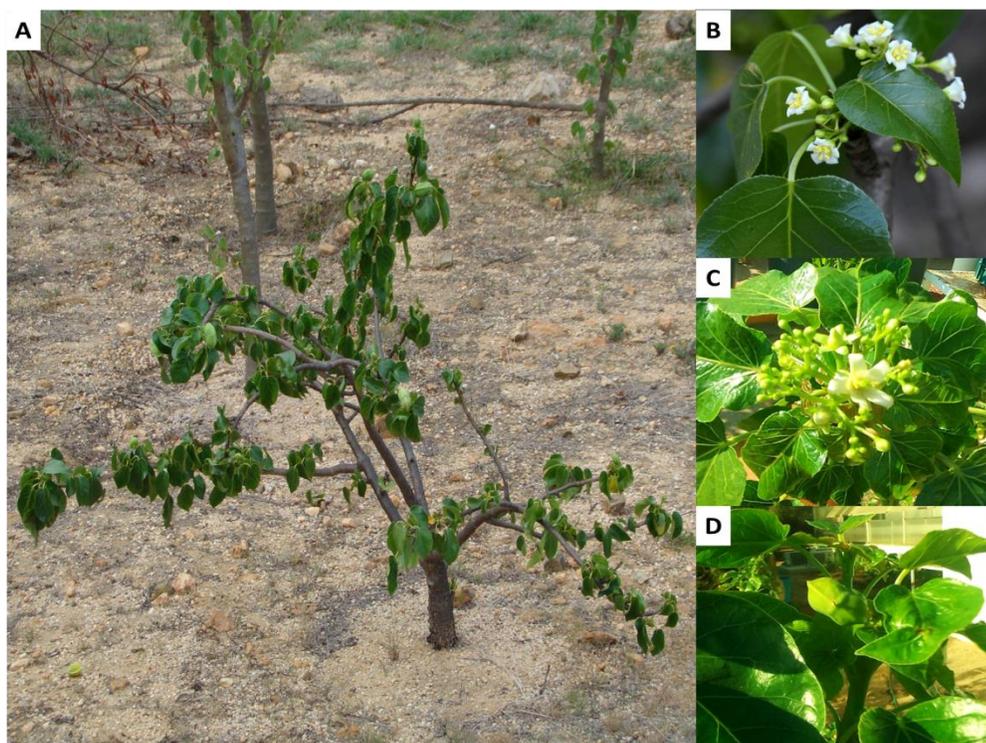


Figura 7. *J. vernicosa* silvestre. A) Arbusto, B) flores masculinas, C) flores femeninas y D) fruto con dos semillas.

Es una especie endémica de Baja California Sur, sólo se encuentra en las zonas montañosas de la Sierra de la Laguna y la Sierra de la Giganta. El látex y la corteza se usan para aliviar el dolor de dientes y curar las heridas (León de la Luz *et al.*, 2014).

2.6 Injertos

La propagación por injerto es un método muy utilizado en la agricultura debido a que presenta varias ventajas como: la reducción del periodo juvenil de las plantas para obtener la fructificación en menor tiempo, homogenizar y mejorar la calidad de los frutos, lograr estructuras vegetativas fuertes y conservar plantas de importancia genética y económica (Rojas *et al.*, 2004). En el injerto se denomina patrón, pie o portainjerto a la planta que dona y forma la raíz, e injerto, púa o yema, a la parte vegetal que se coloca sobre el patrón y que proporciona la parte vegetativa de la variedad que se desea propagar (Baraona y Sancho, 2000).

Para que la unión tenga lugar se necesita que las plantas tengan afinidad filogenética, pero la única regla que existe para predecir el éxito, es que cuando más afines botánicamente sean las plantas a injertar, mayores son las probabilidades de que la unión tenga éxito. Las especies de géneros distintos no suelen funcionar, aunque hay excepciones (Irigoyen y Cruz, 2005). La incompatibilidad del injerto causa pérdidas económicas y el retraso en el lanzamiento de nuevos cultivos (Pereira *et al.*, 2014). Por lo tanto, la identificación de patrones compatibles, y otros beneficios propios del injerto como una técnica de propagación potencializan al injerto como una técnica adecuada (Colla *et al.*, 2010).

2.6.1 Tipos de injertos

Existen diversas formas de unir el injerto al patrón, que se pueden clasificar en tres grupos: a) injertos de yema, b) injertos de púa, e c) injertos de aproximación.

a) Injertos de púa: el material para injertar consiste en una rama con dos a tres yemas desarrolladas. Los injertos de púas más conocidos en fruticultura son: injerto inglés o de lengüeta, injerto de costado lateral o enchapado lateral, injerto de hendidura o cuña (Fig. 8 A).

b) Injertos de yema: el material para injertos es una yema con o sin madera. Los métodos más conocidos para este tipo de yema son: el de escudete, el de parche y el de astilla (Fig. 8 B).

c) Injertos de aproximación: Bajo este método se injertan dos ramas provenientes de dos plantas con sus propias raíces. Después que se ha efectuado la unión, la parte superior de la planta patrón se corta arriba del injerto y la base del injerto se remueve debajo de la unión (Fig. 8 C) (Baraona y Sancho, 2000).

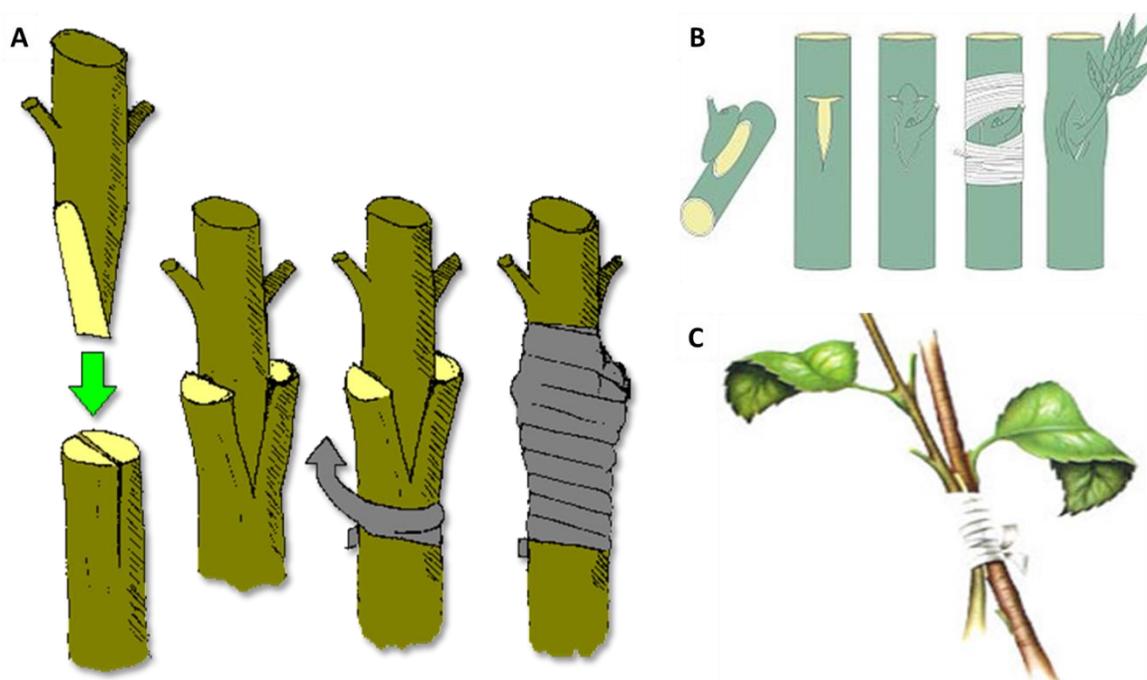


Figura 8. Principales tipos de injertos. A) Púa o cuña, B) yema o astilla y C) aproximación.

2.7 Análisis de polen

Generalmente las especies de *Jatropha* tienen una polinización cruzada, lo que permite un alto grado de variación genética. Esto ofrece amplias posibilidades para analizar y seleccionar características deseadas en los cultivos (Salinas *et al.*, 2010). Las características morfológicas han sido usadas comúnmente para describir la diversidad genética de las especies. Sin embargo, estas herramientas no demuestran la relación taxonómica exacta, debido a que los caracteres morfológicos están influenciados por las condiciones ambientales (Kumar *et al.*, 2008). *J. curcas*, *J. cinerea*, *J. platyphylla* y *J. vernicosa* pertenecen al mismo género; sin embargo, morfológicamente son distintas (tallos, hojas, flores y frutos). El grado de dificultad en la compatibilidad de los injertos, se presenta a medida que las partes a unir estén más alejadas taxonómicamente (Nieto-Ángel y Borys, 1999).

Saenz de Rivas (1976), menciona que la escultura del polen es un buen carácter taxonómico y por su constancia dentro del mismo taxón. La escultura, ornamentación o relieve del grano de polen, suele estar formada por los llamados elementos esculturales, que ofrecen una variada morfología y que se disponen a su vez sobre la superficie del grano de maneras distintas. Erdtman (1956) fue el primero que estudió el polen de *Jatropha* y propuso el epíteto descriptivo “crotonoide”, para caracterizar el tipo de patrón escultórico de la exina, encontrado en algunos miembros de la familia Euphorbiaceae especialmente en la subfamilia Crotonoideae.

3. JUSTIFICACIÓN

J. curcas promoverá el aprovechamiento de suelos en desuso debido a la salinidad. La proteína obtenida del germen de las semillas, podrá usarse como complemento en dietas para animales y el aceite en la elaboración de biodiesel. Como es una especie moderadamente tolerante, su área del cultivo es limitada. *J. cinerea* se desarrolla en suelos arenosos en condiciones de costa y se considera tolerante a la salinidad, por lo tanto, producir plantas de *J. curcas* injertadas sobre patrones de *J. cinerea*, aumentará las áreas de plantación en suelos salinos, sin afectar la calidad del aceite.

4. HIPÓTESIS

Considerando que *Jatropha curcas* presenta tolerancia moderada a la salinidad, mientras que *J. cinerea* es tolerante al desarrollarse en condiciones de salinidad, entonces injertando *J. curcas* en patrones de *J. cinerea* sometidos a estrés salino, se producirán plantas con rendimientos similares o mejores de biomasa y semillas que las plantas de *J. curcas* no injertadas con estrés salino.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue realizar injertos de plántulas de *J. curcas* sobre patrones de plántulas de *J. cinerea* y evaluar la respuesta al estrés salino (NaCl) de plantas injertadas, comparándolas con plantas no injertadas de *J. curcas* y *J. cinerea*.

5.2 Objetivos particulares

- Caracterizar morfología de la estructura externa de los granos de polen de *J. curcas*, *J. cinerea*, *J. platyphylla* y *J. vernicosa*. Para conocer su relación taxonómica y evaluar la posibilidad de realizar injertos.

- Evaluar el crecimiento y desarrollo de las plantas injertadas y no injertadas, mediante la caracterización morfológica (diámetro basal, altura, área foliar y número de ramificaciones).
- Analizar el contenido de aceite en semillas, de plantas injertadas y no injertadas de *Jatropha curcas*.
- Determinar los compuestos antioxidantes enzimáticos de plantas de *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada* bajo condiciones de estrés salino, probando NaCl a 0, 50 y 100 mM.
- Evaluar las respuestas fisiológicas de *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*, bajo condiciones de estrés salino (NaCl 0, 50 y 100 mM).

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Descripción morfológica de polen

Se recolectó polen de *J. curcas* variedad tóxica de la India (BIOD1), de una plantación experimental de la Fundación Produce Sinaloa, (N 25°49'25.7"; O 108°16'08.0"; 85 msnm). Se recolectó polen de *J. curcas* no tóxica procedente de una plantación experimental ubicada en Estación Dimas, Sinaloa, (N 23°46'35.4", O 106°46'48.3"; 42 msnm). Se recolectó polen de plantas silvestres de *J. cinerea* (N 24°44'43.9"; O 108°01'26.6"; 5 msnm), y *J. platyphylla* (N 23°31'52.7"; O 106°30'12.1"; 48 msnm) en el estado de Sinaloa, México. Para las especies del estado de Baja California Sur se recolectó polen de *J. cinerea* silvestre (N 23°45'06.2"; O 110°07'03.5"; 452 msnm) y *J. vernicosa* silvestre (N 23°42'04.1"; O 110°00'56.2"; 601 msnm). Se seleccionaron 4 plantas de cada especie y se colectaron 5 flores de cada una (Fig. 9 A); las flores se mezclaron y se dividieron en 2 muestras, las cuales fueron colocadas en tubos eppendorf con 2 mL de glutaraldehído al 10%. Las muestras fueron deshidratadas gradualmente con etanol al 20, 40, 60, 80 y 100% por periodos de 30 minutos cada uno (Erdtman, 1969), se colocaron en una cámara de secado crítico (Fig. 9 B) (Samdri-PVT-3D®, USA), donde el alcohol es sustituido por CO₂, de esta manera se mantiene la forma del polen. Las muestras fueron colocadas en placas de aluminio y recubiertas con oro (Fig. 9 C) (Denton Vacuum Desk II®, USA). La observación en el microscopio electrónico de barrido (Hitachi, modelo S3000N) se realizó a una distancia de 15 mm y un voltaje de 15.0 kVolts (Fig. 9 D).

La caracterización de los granos de polen se realizó basado en el glosario de términos palinológicos de Sáenz (2004). Se contó el número de báculos de 60 granos de polen utilizando una escala de 900 μm^2 , el área de conteo fue el centro del grano de polen y se subdividió en cuadrados de 10 μm^2 , el conteo se realizó procesando las micrografías en el programa Paint. Se realizó la prueba estadística ANOVA, la prueba de comparación media de Tukey con el software MINITAB 17,

para comparar la longitud del eje ecuatorial de 60 granos de polen y el número de báculos de las especies estudiadas.

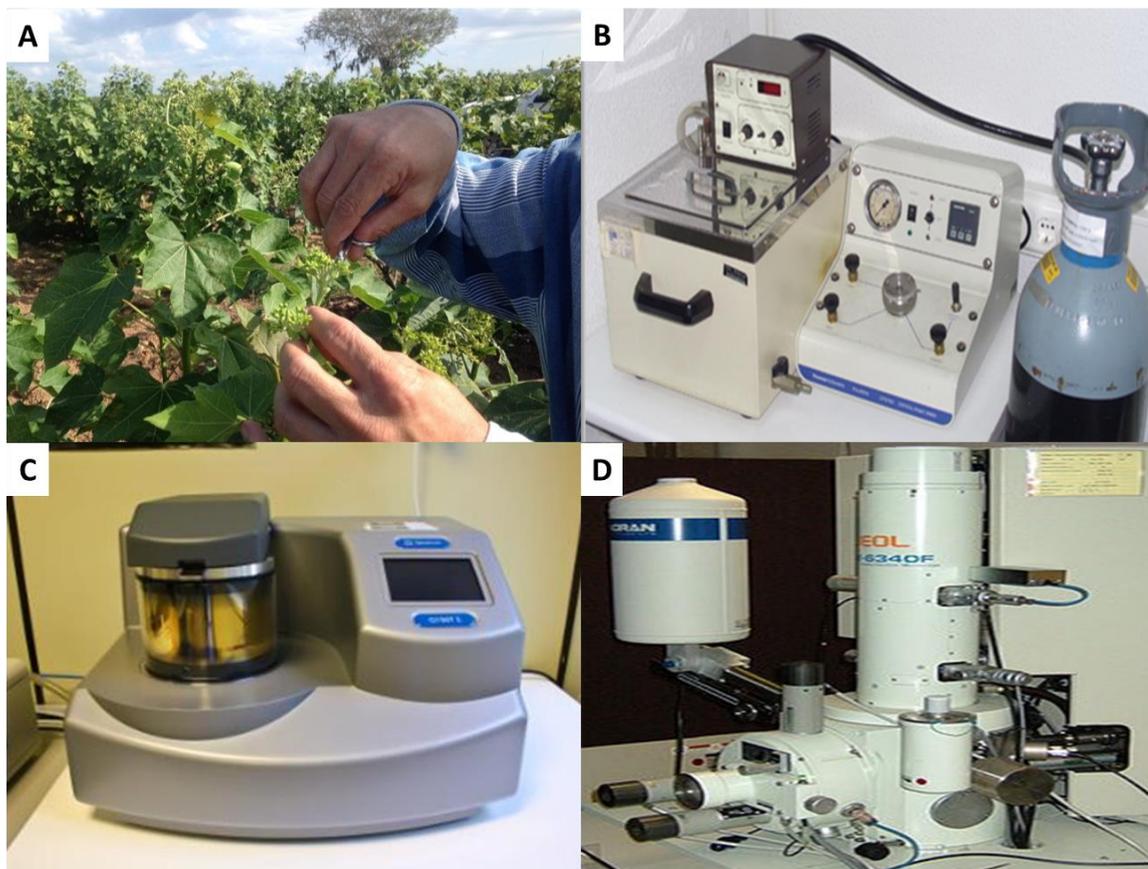


Figura 9. Procesamiento de polen. A) Recolección de flores masculinas, B) secado crítico, C) recubrimiento metálico y D) microscopio electrónico de barrido.

6.2 Elaboración de injertos

6.2.1 Material vegetal

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIBNOR, en La Paz, Baja California Sur, México. Se utilizaron de semillas de *J. curcas* no tóxica cultivadas que fueron recolectadas en una parcela experimental ubicada en Estación Dimas, Sinaloa (N 23°46'35.4", O 106°46'48.3"; 42 msnm). Las semillas de *J. cinerea*, se recolectaron de plantas silvestres ubicadas en el poblado El Tambor, Navolato, Sinaloa (N 24°44'43.9"; O 108°01'26.6"; 5 msnm).

6.2.2 Germinación

Se lavaron 200 semillas de cada especie con detergente Axion® (Colgate-Palmolive, México City, MX) por 10 minutos y posteriormente se trataron con hipoclorito de sodio comercial al 30% durante 15 minutos y se enjuagaron 5 veces con agua destilada para eliminar el cloro, después se embebieron las semillas en agua destilada, por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente, con el objetivo de ablandar la testa de la semilla y permitir una germinación homogénea (Willan, 2000). Las semillas embebidas se colocaron en papel humedecido para su germinación (Fig. 10 A y B) y se incubaron en una cámara de crecimiento a 25 ± 2 °C en condiciones de oscuridad. Una vez ocurrida la germinación (Fig. 10 C y D), se sembraron en vasos de polipropileno de 250 mL, perforados en la base y con sustrato Sogemix® (Canadá), un total de 100 vasos por especie (Fig. 10 E). Las semillas germinadas se incubaron en cámaras de crecimiento a 25 ± 2 °C y periodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Una vez desarrolladas las plántulas se colocaron en un invernadero en condiciones de luz y temperatura ambiente controlada de 28 ± 7 °C, y se evaluó el porcentaje de plántulas obtenidas (Fig. 10 F).

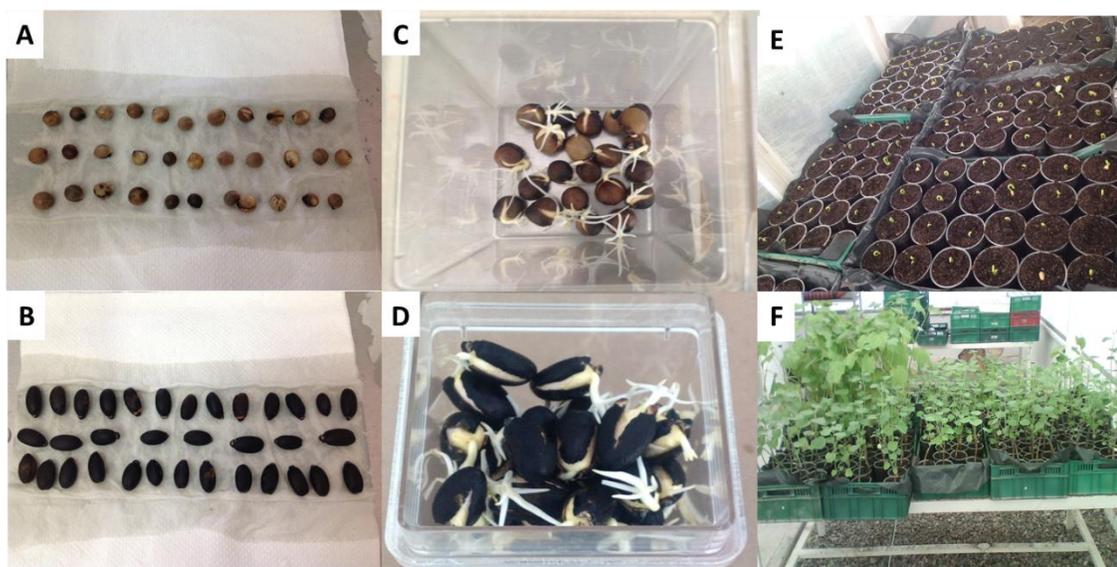


Figura 10. Producción de plántulas de *Jatropha*. A) semillas *J. cinerea*, B) semillas *J. curcas*, C) germinación *J. cinerea*, D) germinación *J. curcas*, E) emergencia y F) plántulas de *J. cinerea* y *J. curcas*.

6.2.3 Método de enjertación

Se tomaron plántulas de ambas especies de 30 días de emergidas, similares en diámetro de tallo y altura. Se cortaron 50 plántulas de *J. cinerea*, para utilizarse como patrón o portainjerto y se les realizó un corte en forma de “V” por debajo de los cotiledones, desechando la parte aérea; esto con la finalidad de evitar el crecimiento de brotes axilares de la yemas encontradas en el nudo de las hojas cotiledonales. Por otra parte, las plantas de *J. curcas* (injerto), se cortaron por encima de los cotiledones para evitar las yemas en el área de unión en forma de flecha de manera que embone con el patrón y desechando la parte de la raíz (Dhillon *et al.*, 2009 y Cholid *et al.*, 2014). Se unieron las partes del injerto perfectamente y se cubrió con cinta Parafilm® (American National Can, CT, U.S.A.), para sujetar e impedir la entrada de aire. Las plántulas recién injertadas se colocaron en una cámara de crecimiento a una temperatura de 27 ± 2 °C y humedad relativa de 70 a 80%. Las plántulas injertadas de 3 meses, fueron transferidas a macetas de 5 L con sustrato Sogemix® (Canadá) y perlita (Grupo Perlita, Torreón, Coahuila, México) (75% y 25%, V/V respectivamente) (Fig. 11).

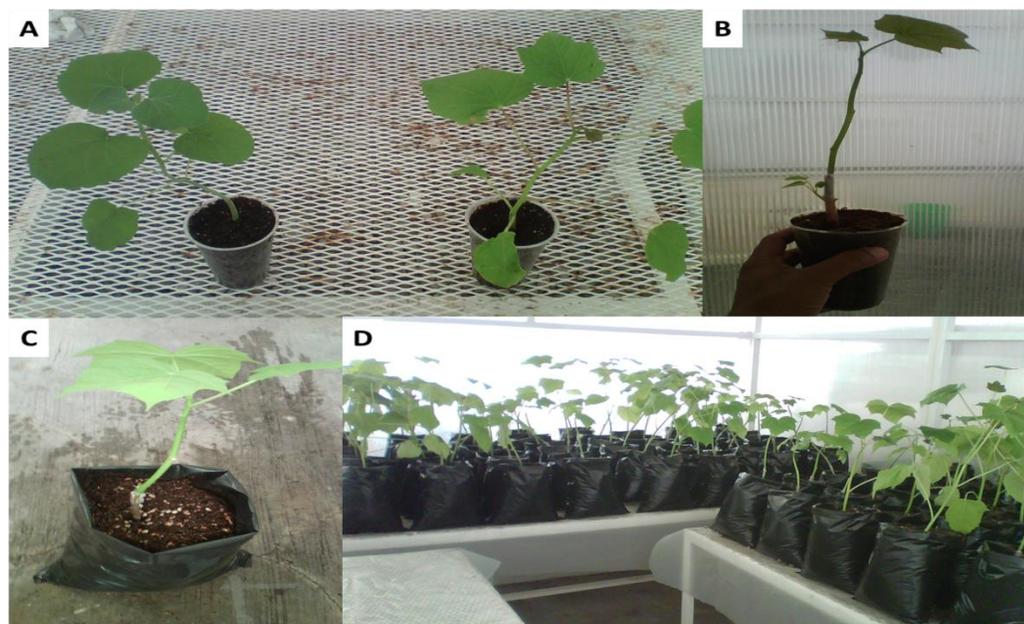


Figura 11. Elaboración de injertos. A) plántulas de *J. cinerea* y *J. curcas*, B) planta injertada, C) planta injertada en maceta de 5 L y D) plantas en Invernadero.

6.2.4 Medición de crecimiento vegetativo

La medición del crecimiento vegetativo inició 3 meses después del injerto, se usó un diseño de bloques completos. Las variables estudiadas incluyeron: porcentaje de sobrevivencia de plantas injertadas, crecimiento de la planta (altura de la planta y diámetro del tallo por encima de la unión del injerto) (Cholid *et al.*, 2014). La prueba estadística ANOVA y la prueba de comparación media de Tukey se realizaron en el software MINITAB 17 para comparar la altura de la planta y el diámetro del tallo de las especies de *Jatropha* estudiadas.

6.3 Análisis histológico

El análisis histológico se realizó utilizando fragmentos de tallo de *J. curcas*, *J. cinerea* y *Jatropha* injertada de 1 cm conservados en una solución fijadora de 5 mL formaldehído al 4%, 1 mL ácido acético y 90 mL etanol al 70% (FAA) (Fig. 12 A). Los fragmentos se deshidrataron en series de alcohol etílico en dilución acuosa: 70, 80, 90, 96° y finalmente etanol absoluto, en periodos de 1 hora para cada concentración. Para clarificar el material se utilizó xilol puro por 12 horas. La infiltración de la parafina se realizó en una estufa Thermo Scientific® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, U.S.A.) a 60 °C por 12 horas. El sistema de inclusión utilizado fue el modelo LEICA® EG 1150 (Leica Biosystems, Germany) utilizando moldes de acero inoxidable, el material seleccionado fue embebido en parafina y enfriados a 5 °C, posteriormente se colocaron en el congelador para obtener los bloques (Fig. 12 B). Los cortes histológicos se realizaron utilizando un micrótopo (Fig. 12 C) LEICA® RM 2155 (Leica Biosystems, Germany); se obtuvieron cortes de 4 µm de espesor en sentido transversal y longitudinal. Las secciones se montaron en portaobjetos y tratadas con alcohol. La tinción fue combinada: safranina-verde rápido, especial para la tinción de estructuras vegetales (D' Ambrogio, 1986). El medio de montaje utilizado fue agua destilada y glicerina al 50%. Las observaciones se realizaron en un microscopio óptico Olympus® con aumentos de 4X, 10X y 20X (Fig. 12 D).

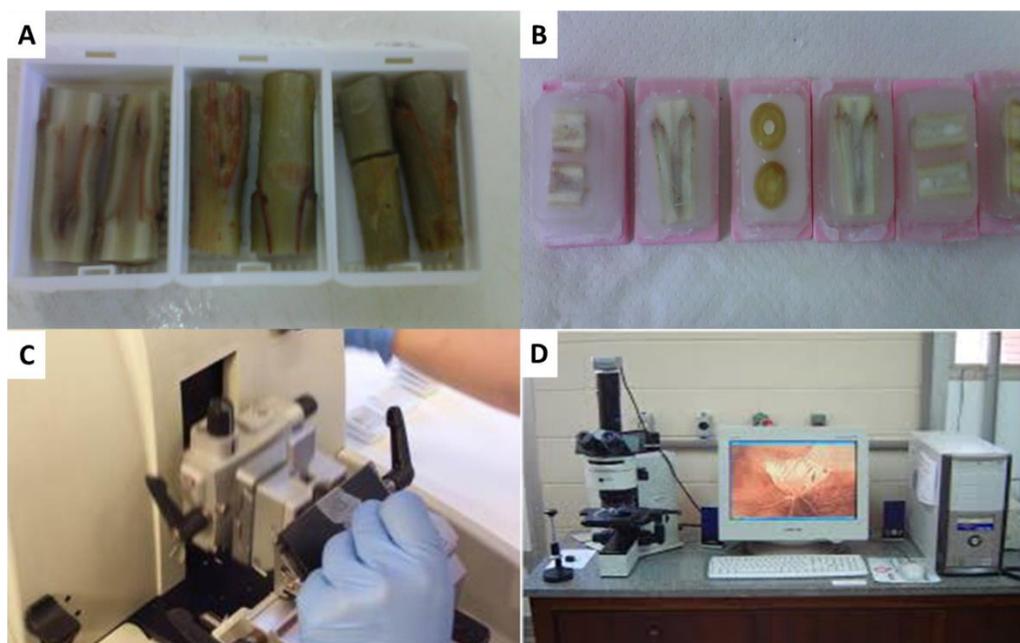


Figura 12. Análisis histológico. A) fragmentos de tallos, B) bloques de parafina, C) cortes en micrótopo y D) microscopio óptico.

6.4 Caracterización de aceite

6.4.1 Material vegetal

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIBNOR, La Paz, B.C.S., México. Se utilizaron plantas injertadas (Tratamiento 1) y no injertadas (Tratamiento 2) de 5 meses, subsecuentemente fueron plantadas en una parcela experimental en septiembre del 2014, con un interlineado de 2 metros y una distancia entre plantas de 2 metros (4 plantas por línea con 3 réplicas para ambos tratamientos) (Fig. 13 A). Las mediciones iniciaron 1 mes después de haber sido plantadas; los parámetros observados incluyeron: crecimiento de la planta (altura de planta y diámetro de tallo por arriba de la unión del injerto). En diciembre del 2014, las plantas fueron podadas a 1 metro de altura (Fig. 13 B). En la siguiente temporada 2015, se realizó un análisis de suelo (pH, conductividad eléctrica, materia orgánica y textura), las plantas fueron fertilizadas con 50 gramos de NPK (17-17-17) por cada planta. Las observaciones morfológicas se reanudaron en abril del 2015. Los frutos de *Jatropha* de los 2 tratamientos fueron colectados en noviembre del 2015 (Fig. 14 A).



Figura 13. Parcela experimental CIBNOR. A) Plantación de *J. curcas* injertadas y no injertadas, y B) poda a 1 metro de altura.

6.4.2 Contenido de aceite

Las semillas obtenidas de las plantas injertadas y no injertadas fueron enviadas al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), unidad Culiacán, Sinaloa, México (N 24°44'01.5", O 107°27'15.6"; 26 msnm). Se tomaron veinticinco semillas por cada planta de cada tratamiento (Fig. 14B), se midió la longitud y el diámetro con un vernier digital Truper® (México) a cada una de ellas.

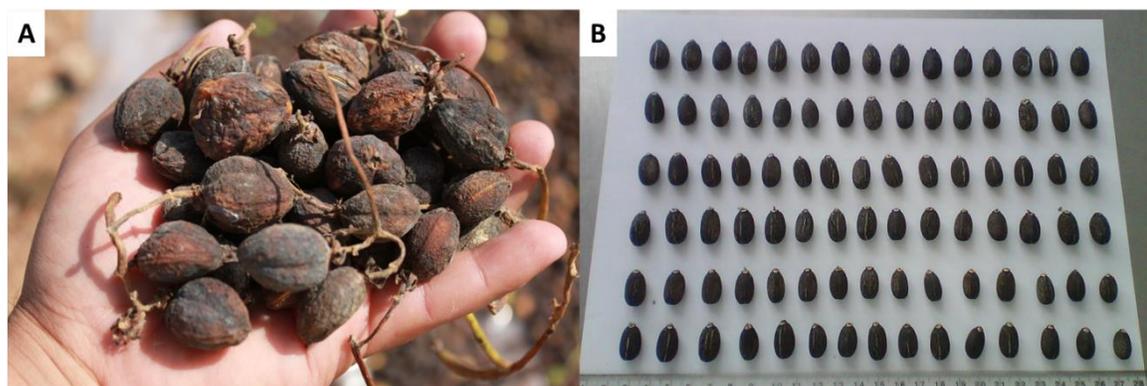


Figura 14. Material vegetal. A) Recolección de frutos y B) semillas de *J. curcas* injertada y no injertada.

Para determinar el peso se usó una balanza analítica, con una precisión de ± 0.2 mg. Las semillas fueron manualmente escarificadas usando unas pinzas de presión, la testa fue cuidadosamente removida y el germen se almacenó en un desecador para preparar las muestras. Se pesaron 5 gramos de germen y se colocaron en un mortero previamente tarado y se molió la muestra. El contenido de humedad de las muestras se determinó usando una estufa de secado, hasta obtener peso constante. Se colocaron 2 gramos de la muestra en un dedal de extracción previamente pesado y se colocó en el extractor Soxhlet, durante 16 h empleando hexano. El solvente se separó por destilación al vacío en un rotavapor (30 °C) (Buchi, 816HE). El dedal se colocó en una estufa (Yamato DKN602C) a 103 ± 2 °C por 24 h para eliminar los residuos del solvente, se enfrió en un desecador y se pesó en una balanza analítica (Sartorius AX124). El resultado fue expresado como el porcentaje de aceite en materia seca. El aceite se almacenó a 5 °C en frascos ámbar para su posterior análisis fisicoquímico.

6.4.3 Composición de ácidos grasos

La composición de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases (Agilent, 7820). La metilación del aceite se realizó utilizando el método 920.33 (A.O.A.C., 1998). Las muestras de aceite fueron analizadas, utilizando una columna capilar de 30 m x 0.32 mm x 25 μ m (Omega wax 320). La temperatura del inyector fue de 260 °C. El gas acarreador fue Helio, se mantuvo con un flujo constante de 1 mL/minuto por un tiempo de 40 minutos. El análisis se realizó por triplicado utilizando una muestra comercial (Supelco, Bellefonte, PA) con 37 ácidos grasos (Sosa-Segura *et al.*, 2014). El porcentaje de los ácidos grasos individuales se calculó por comparación de las áreas de los picos con estándar comercial y fue expresada como la proporción total de ácidos grasos en cada fracción de lípidos (Araiza-Lizarde *et al.*, 2015). La prueba estadística ANOVA y la prueba de comparación media de Tukey se realizaron con el software MINITAB 17, para comparar el contenido de aceite y composición de ácidos grasos de las semillas

de *J. curcas* injertada y no injertada, cultivadas en condiciones semiáridas y de baja precipitación.

6.5 Condiciones meteorológicas

Las condiciones ambientales diarias (precipitación, humedad relativa y temperatura) se registraron en una estación automatizada Davis Vantage Pro 2 Plus (Davis Instruments, California, USA) (Fig. 15 A), localizada en la parcela experimental (CIBNOR). Los datos meteorológicos del sitio de cultivo ubicado en Estación Dimas, Sinaloa, México; fueron obtenidos de una estación climática automatizada Adcon Telemetry® (Viena, Austria) (Fig. 15 B), localizada a 5 kilómetros en una región tropical, donde *J. curcas* crece de manera silvestre (N 23°44'01", O 106°49'11"; 4 msnm).

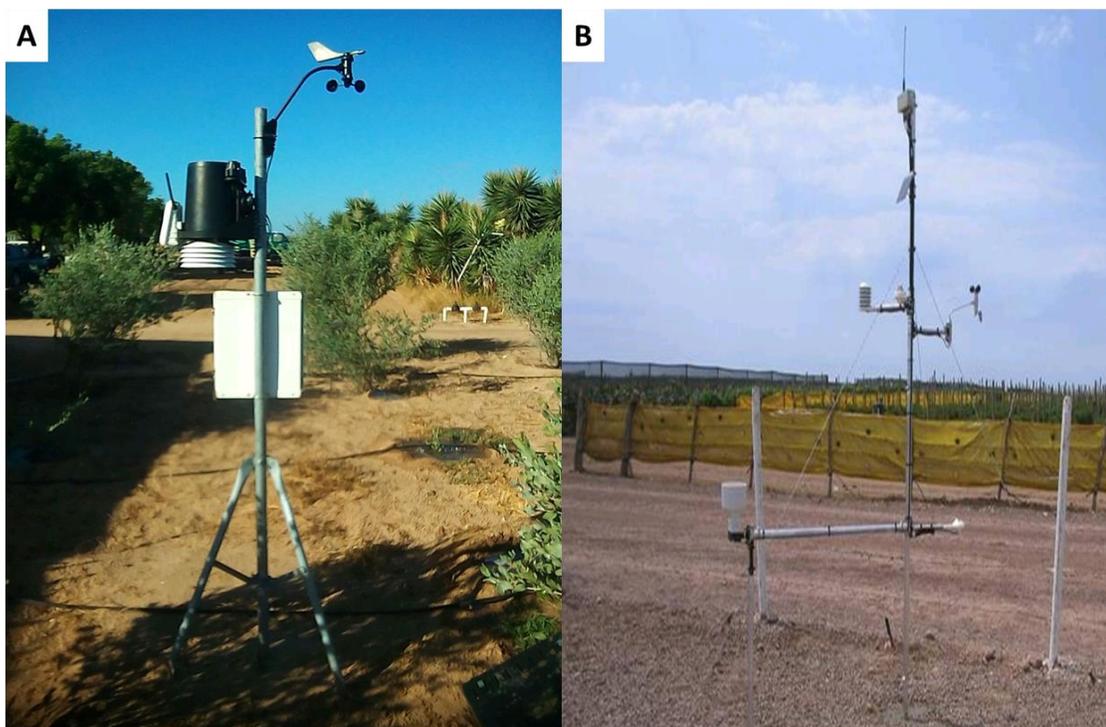


Figura 15. Datos meteorológicos. A) Davis Vantage Pro 2 Plus (CIBNOR) La Paz, B.C.S. y B) Adcon Telemetry® (Estación Dimas) San Ignacio, Sinaloa.

6.6 Análisis bioquímicos

6.6.1 Material vegetal

El experimento se llevó a cabo en un invernadero ubicado en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIBNOR, La Paz, B.C.S., México. Se utilizaron plantas de *J. curcas*, *J. cinerea* y *J.* injertada de 4 meses, sembradas en macetas de 5 L con sustrato Sogemix® (Canadá) y perlita (Grupo Perlita, Torreón, Coahuila, México) (75% y 25%, V/V respectivamente) en condiciones de luz y temperatura ambiente de 28 ± 7 °C. Se establecieron 9 tratamientos con un diseño factorial 3 x 3, con dos factores (Especie y Salinidad), con tres niveles (*J. curcas*, *J. cinerea* y plantas injertadas) y 0, 50, y 100 mM de NaCl respectivamente, cada tratamiento contenía seis plántulas con tres replicas (Tabla I).

Tabla I. Número de plantas por tratamientos de plantas injertadas y no injertadas, con tres niveles de salinidad.

Especie	Salinidad		
	0 mM (NaCl)	50 mM (NaCl)	100 mM (NaCl)
<i>J. curcas</i>	9	9	9
<i>J. cinerea</i>	9	9	9
Injerto	9	9	9

Concluido el periodo de ambientación, se tomaron 3 plantas por tratamiento con sus respectivas replicas, con un total de 9 plantas por tratamiento (Fig. 16 A). Se tomaron las primeras plantas control (0 mM NaCl) como el tiempo cero. Las soluciones salinas de 50 y 100 mM (NaCl), se aplicaron al resto de las plantas, las cuales se regaron cada quinto día durante todo el experimento. El primer muestreo fue a los 20 días tomando 3 plantas por tratamiento. El segundo muestreo fue con el mismo número de plantas y fue se tomaron a los 40 días.

6.6.2 Preparación de extractos

Para los análisis bioquímicos (SOD, CAT, POX, proteínas totales y prolina), se tomaron muestras: 1) de la tercera hoja a partir del ápice (Hishida *et al.*, 2013); 2) de tallo a la altura de la unión del injerto; y 3) de raíz, para cada muestreo y tratamiento (Fig. 16 B). Para el análisis de las enzimas antioxidantes, las muestras se procesaron en fresco. Para la determinación de proteínas y prolina, las muestras se congelaron en un ultracogelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para la determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes se pesaron 500 mg de cada uno de los tejidos (hoja, tallo y raíz) de *Jatropha* y se homogenizaron en frío con 4 mL de la solución amortiguadora de fosfatos (K_2HPO_4 , 50 mM, pH 6.8) y 0.2 g de polivinilpirrolidona (PVP) (Fig. 16 C), utilizando un ultraturrax Polytron®. El homogenizado se centrifugó a $2,100 \times g$ por 15 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, en tubos eppendorf con 2 mL (Beyer y Fridovich, 1987). El sobrenadante se empleó inmediatamente para cuantificar la actividad de las enzimas antioxidantes (Fig. 16 D).

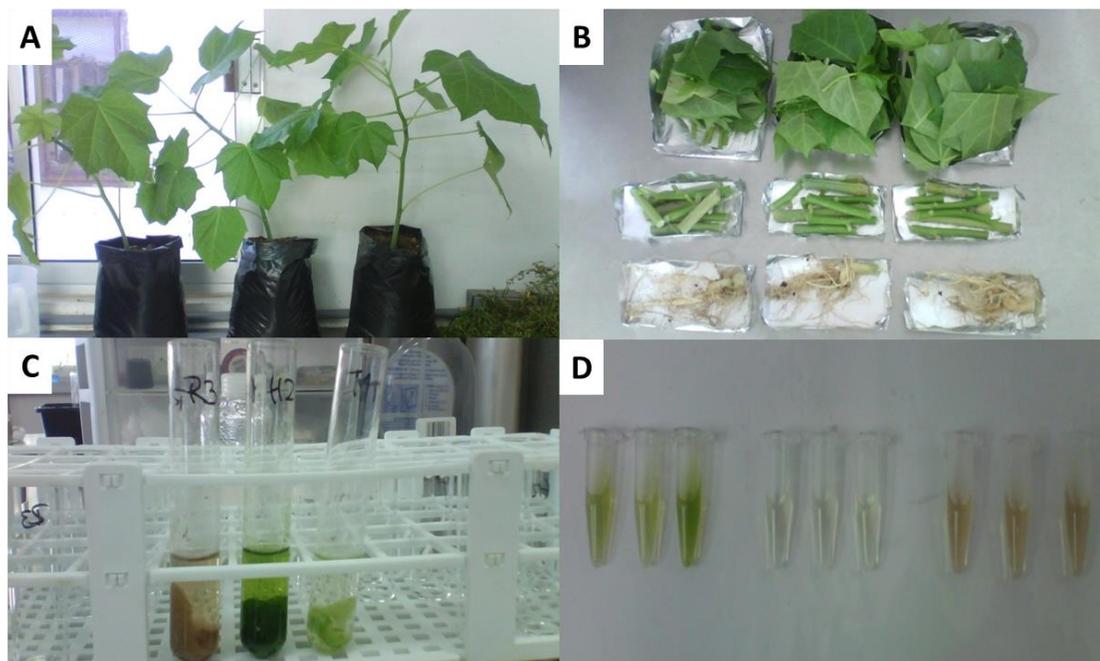


Figura 16. Material vegetal. A) Tratamientos con 3 réplicas, B) muestras (hoja, tallo y raíz), C) solución amortiguadora de fosfatos y D) extracto de hoja, tallo y raíz.

6.6.3 Superóxido dismutasa (SOD)

Para la determinación de SOD, se utilizó el sistema xantina/xantina oxidasa como generador constante de radical superóxido, el cual al entrar en contacto con el nitro azul de tetrazolio (NBT) lo reduce y forma un producto llamado formazán, cuyo cambio puede ser detectado por espectrofotometría cuando el SOD inhibe la reducción del NBT (Suzuki, 2000). Posteriormente, se midió el cambio de absorbancia a 560 nm cada 30 segundos durante 5 minutos en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU-800, CA, EUA) (Fig. 17 C), el cual se calibró con agua desionizada en celdas de plástico a 560 nm. La determinación de SOD se realizó por triplicado expresándose en unidad de SOD · mg de proteína⁻¹.

6.6.4 Catalasa (CAT)

Se preparó la solución de trabajo en fresco utilizando peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 20 mM) y solución amortiguadora de fosfatos (100 mM) (Fig. 17 A). La solución de trabajo se mantuvo en un baño de agua a 25 °C y las muestras en hielo (Fig. 17 B). El espectrofotómetro se calibró con agua destilada en una celda de cuarzo a 240 nm. A una celda de cuarzo se agregó 1.5 mL de la solución de trabajo con 10 µL del extracto enzimático y se registró el cambio en la absorbancia (decremento del H₂O₂) a 240 nm cada 15 segundos durante 3 min en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800) (Aebi, 1984) (Fig. 17 C). La determinación de CAT se realizó por triplicado expresándose en unidad de CAT · mg de proteína⁻¹.

6.6.5 Peroxidasas (POX)

La actividad de las POX se determinó mediante la técnica descrita por Kar y Mishra (1976). Para la extracción enzimática se homogenizó 0.5 g de tejido de hoja, tallo y raíz en solución amortiguadora de fosfatos (0.1 M, pH 6.8). El homogeneizado se centrifugó a 3,000 rpm durante 15 min a 4 °C; el sobrenadante se utilizó como extracto enzimático (Fig. 17 A). Se preparó la mezcla de reacción, utilizando 1350 µL de agua, 125 µL de buffer, 24.5 µL de H₂O₂, 500 µL de pirogalol

y 500 μ L de extracto enzimático. La actividad se determinó a 420 nm en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800) durante 90 segundos (Fig. 17 C). La actividad se reportó como el cambio de la absorbancia por minuto por mg de proteína⁻¹.



Figura 17. Análisis enzimático. A) Extracto enzimático (SOD, CAT, y POX), B) muestras procesadas en fresco y C) espectrofotómetro.

6.6.6 Proteínas totales

Para determinar el contenido de proteínas solubles se utilizó un Kit de Bio-Rad® adaptado a microplaca (Fig. 18 B), basado en el método descrito por Bradford (1976). Se utilizó el colorante azul de Coomassie®, en respuesta a la concentración de proteínas, reacciona con los residuos de aminoácidos básicos, especialmente la arginina. Se pesaron 500 mg de cada una de las muestras y se homogenizaron en frío con 5 mL de solución amortiguadora de fosfatos (K_2HPO_4) 50 mM, a pH 6.8 y 0.2 g de PVP. El homogenizado se centrifugó a 2,500 x g por

15 min a 4 °C. El sobrenadante se empleó en la determinación de proteínas totales (Fig. 18 A). Al mismo tiempo, se corrió una curva de albúmina sérica bovina (ASB, Sigma) en un rango de concentraciones de 0.005 a 0.2 mg mL⁻¹. Los resultados fueron expresados en mg de proteína · g⁻¹ de tejido.

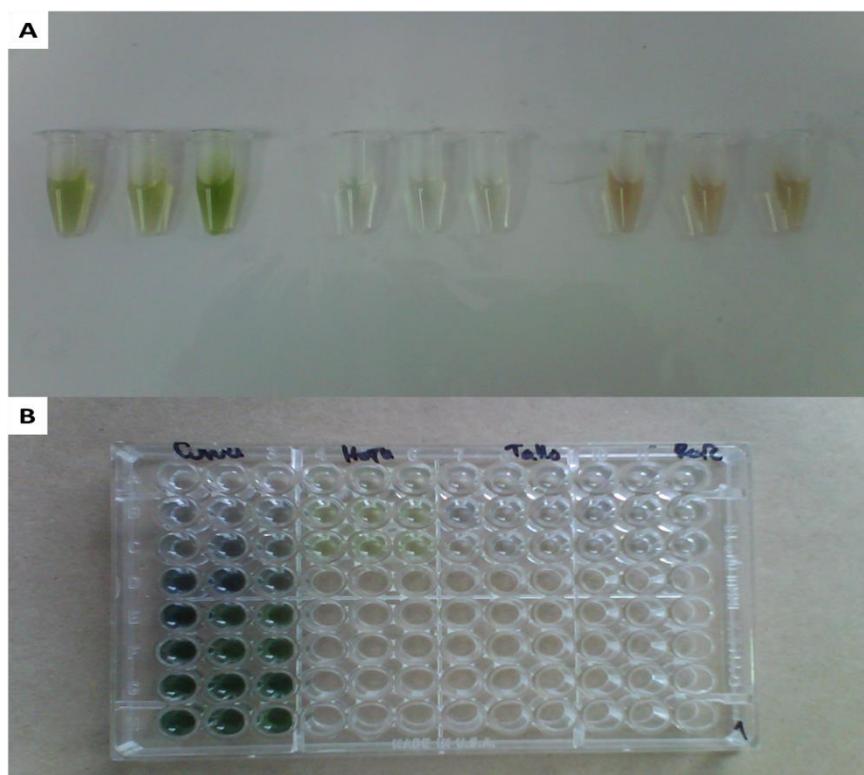


Figura 18. Determinación de proteínas. A) sobrenadante de hoja, tallo y raíz, B) microplaca (curva patrón, hoja, tallo y raíz).

6.6.7 Prolina

Se pesaron 500 mg de cada una de las muestras y se homogenizaron en frío con 5 mL de ácido sulfosalicílico al 3% para precipitar las proteínas. Posteriormente se filtró el homogenizado con papel filtro Whatman no. 2. En tubos de ensaye se agregó 2 mL del homogenizado y se mezcló con 2 mL de ácido acético glacial y 2 mL de ninhidrina ácida. Posteriormente esta solución se agitó y se incubó a 100 °C durante 1 h. Después de la incubación se detuvo la reacción en un baño con hielo. A cada tubo de ensaye se le agregaron 1 mL de tolueno y

se mezclaron con un vortex durante 15 a 20 segundos. Posteriormente se separaron 2 fases y se recuperó la fase orgánica (fase de tolueno) y se realizaron las mediciones en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800) a una longitud de onda de 520 nm. La curva de calibración se realizó usando prolina (50 μM), evaluando cada nivel de concentración por triplicado. Con los cálculos obtenidos (absorbancia y concentración) se realizó una regresión lineal, y los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/g}$ de peso fresco.

6.7 Análisis fisiológicos

6.7.1 Clorofila

El contenido de clorofila en las hojas se determinó utilizando un medidor portátil (SPAD-502, Cámara Minolta), para medir la fluorescencia de la clorofila en la tercera hoja desde el ápice (Hishida *et al.*, 2013), una vez por semana, dos veces en cada medición (0, 20 y 40 días) (Fig. 19 A).

6.7.2 Tasa de asimilación de CO_2 y conductividad estomática

El registro de la tasa de asimilación de CO_2 (A), la resistencia a la difusión estomática y la tasa de transpiración (E) se realizaron con un porómetro (LI- 1600, LI-COR Biosciences) una vez cada tiempo de medición (0, 20 y 40 días). La conductividad estomática (g_s) se calculó con el inverso de la resistencia a la difusión estomática. Las mediciones se realizaron dos veces; de 9:00 a 10:00 a.m. y de 12:00 a 13:00 p.m. (Fig. 19 B).

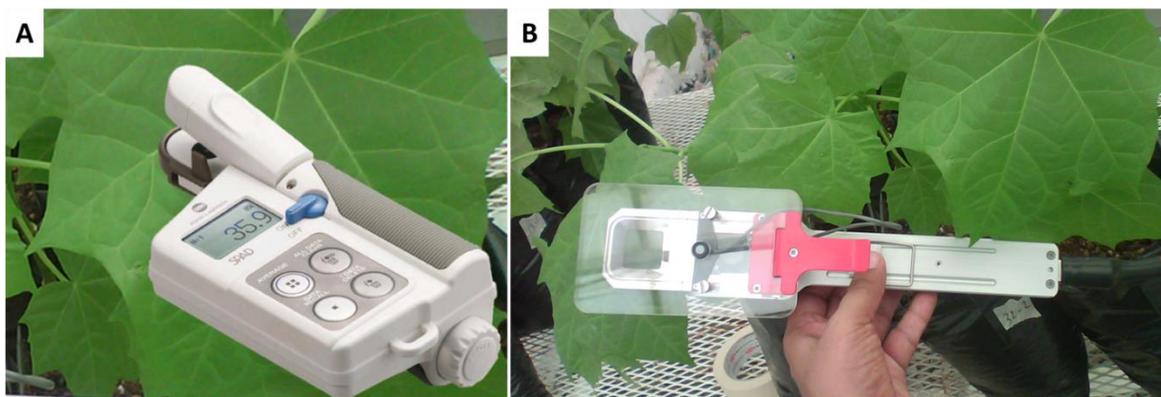


Figura 19. Análisis fisiológicos. A) fluorescencia de la clorofila y B) conductividad estomática.

6.8 Evaluación de biomasa

Para obtener los datos de producción de biomasa, el periodo de recolección de muestras de los tratamientos estudiados fue a los 40 días. Las plantas se cosecharon y se midió el peso fresco de hojas, tallos y raíces. Posteriormente, las muestras fueron deshidratadas en un horno a 70 °C por 48 horas, para los pesos secos de hojas, tallos y raíces. El contenido de agua fue calculado con la formula siguiente:

$$\text{Contenido de agua (\%)} = [(PF - PS) / PF] \times 100 \quad (1)$$

Dónde: PF = Peso Fresco y PS = Peso Seco

7. RESULTADOS

7.1 Polen

En todas las variedades estudiadas de *Jatropha* (India = IND, Sinaloa = SIN y Baja California Sur = BCS); los granos de polen son inaperturados y muestran la escultura crotonoide; una escultura croton se refiere a la presencia de elementos poligonales (Fig. 20). El análisis de varianza para el recuento de báculos por variedad, mostró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre las especies de *J. curcas*, *J. cinerea*, *J. vernicosa* y *J. platyphylla*, sin embargo, entre *J. cinerea* y *J. vernicosa* no se encontraron diferencias significativas (Tabla II).

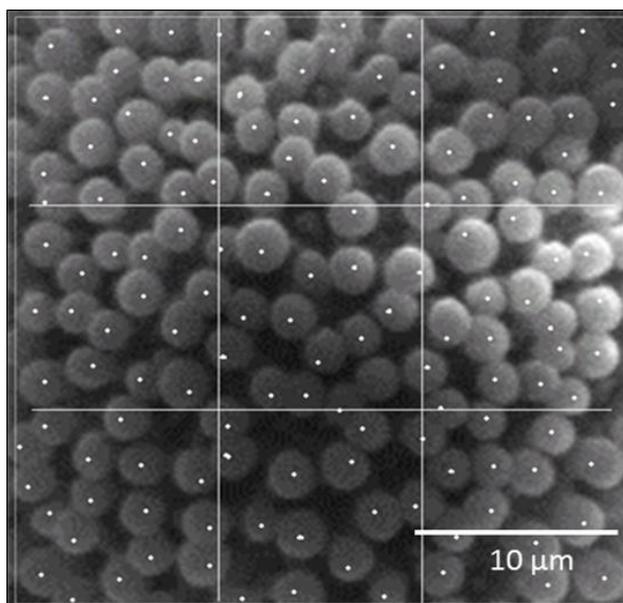


Figura 20. Micrografía de polen de *J. curcas* donde se muestra el número de Báculos por $900 \mu\text{m}^2$.

Las micrografías obtenidas a partir de las variedades de la India (*J. curcas* tóxica), Sinaloa (*J. curcas* no tóxica y *J. platyphylla*) mostraron que los granos de polen tienen una forma esferoidal y miden en promedio 58 ± 2.3 , 54 ± 1.7 y $51 \pm 2.4 \mu\text{m}$ de diámetro, respectivamente (Tabla II). La escultura del grano de polen y la ornamentación están formados por elementos escultóricos llamados báculos o columelas en forma de “Gema”.

Tabla II. Conteo de báculos y estudio comparativo de polen de *Jatropha*, dos variedades cultivadas y 4 silvestres.

Especies	<i>J. curcas (tóxica)</i>	<i>J. curcas (No-tóxica)</i>	<i>J. platyphylla</i>	<i>J. cinerea</i>	<i>J. cinerea</i>	<i>J. vernicosa</i>
Características morfológicas	Cultivada	Cultivada	Silvestre	Silvestre	Silvestre	Silvestre
	(IND)*	(SIN)**	(SIN)**	(SIN)**	(BCS)***	(BCS)***
Número de Báculos	84±10 ^a	108±15 ^b	180±15.5 ^c	220±14 ^d	195±14.7 ^{cd}	231±25.6 ^d
Forma			Esferoidal			
Diámetro (µm)	58±2.3 ^c	54±1.7 ^d	51±2.4 ^b	50±1.7 ^b	45±1.9 ^a	46±2.1 ^a
Endexina			Reticulada			
Ectexina			Intectada (sin tectum)			
Clavas	Gemma of 2 x 2 µm		Clavum 2 x 1 µm	Clavum 2 x 1 µm	Clavum 2 x 1 µm	
Estricción	Visible	Ligeramente visible	Ligeramente visible	Ligeramente visible	No visible	No visible
Verrugas	Presentes	Presentes	No presentes	No presentes	No presentes	No presentes

*IND = India, **SIN = Sinaloa, ***BCS = Baja California Sur

Los báculos miden 2 μm de altura y 2 μm en su parte más ancha o cápita, con 10 a 12 estrías verticales ligeramente visible, a excepción de la variedad *J. platyphylla*, con estrías notablemente visibles (Fig. 21 F). Los báculos se distribuyen en forma de pentágono o hexágono a manera de red. Dentro de esta estructura geométrica, los elementos más pequeños de 1 μm llamadas verrugas, se encontraron sólo en *J. curcas* tóxica y no tóxica (Fig. 21 B y D). Los granos de polen de *J. curcas* tóxica compartieron una forma similar a los granos de polen de *J. curcas* no tóxica y miden $58 \pm 2,3$ micras de promedio, sin aberturas visibles. La endexina es de forma reticulada y la ectexina es intactada. Los báculos presentan forma de “Gema” con 2 μm de altura y 2 μm en cápita. Mostraron de 10 a 12 estrías bien diferenciadas, diferentes de los báculos de la variedad Sinaloa no tóxica (Fig. 21 A).

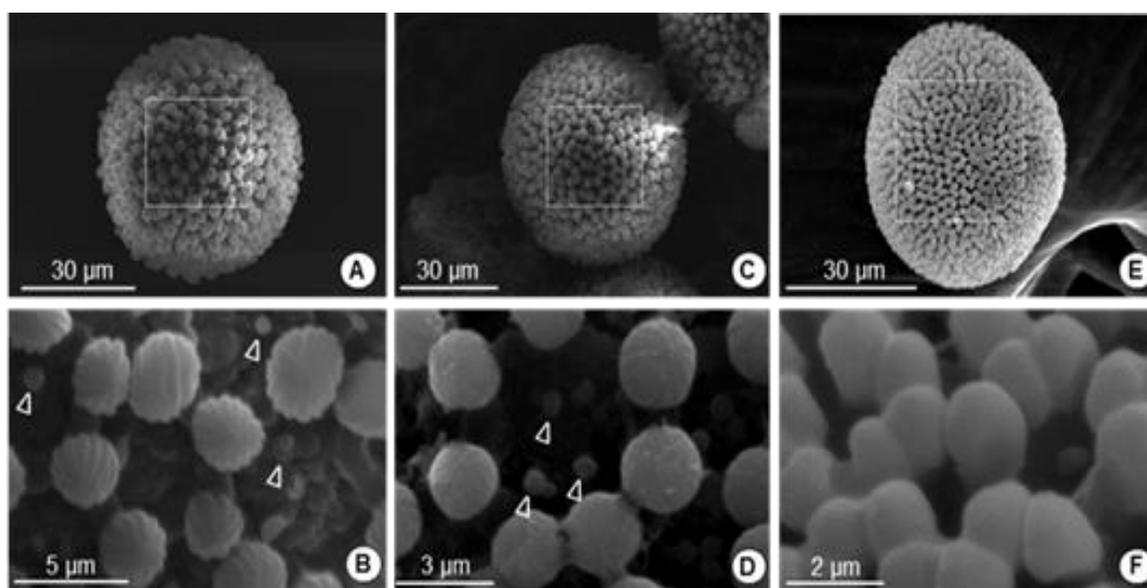


Figura 21. Micrografías de polen de *J. curcas* tóxica variedad India (BIOD1): A, B; *J. curcas* no tóxica: C, D; y *J. platyphylla*: E, F, variedades de Sinaloa, México; verrugas: Δ .

La distribución de los báculos se presenta en forma similar a las variedades no tóxicas (pentagonales o hexagonales). Las verrugas entre los báculos presentan un tamaño inferior a 1 μm y se encuentran en menor cantidad en comparación con

la variedad no tóxica de *J. curcas*. El grano de polen de *J. cinerea* mide 50 μm de diámetro (Fig. 22 A). Los granos son más pequeños que los de *J. curcas* tóxica y no tóxica. Presentan un mayor número de báculos en la superficie, 220 ± 14 en promedio por $900 \mu\text{m}^2$ (Tabla II) y no se observaron aberturas. La endexina es reticulada, y la ectexina intectada. Los báculos mide 2 μm de altura y 1 μm de ancho de cápita, que muestra una forma “Clavum” con 6 estrías ligeramente visible (Fig. 22 B). Los báculos se distribuyen en grupos de 5, 6 y 7 e insertados en la retícula, y no muestran verrugas entre ellos. Los granos de polen de las cuatro especies mostraron una gran similitud en la forma, sin aberturas y la ornamentación. Los granos de polen difieren sólo en puntos de menor importancia entre las especies. *J. cinerea*, *J. platyphylla* y *J. vernicosa* mostraron una gran similitud en forma y tamaño, y las características de la exina son muy similares. Se encontraron las diferencias más distintivas en *J. curcas* tóxica y no tóxica. En general, se encontraron diferencias entre las variedades de *Jatropha* en cuanto a la forma del polen y las dimensiones de los báculos.

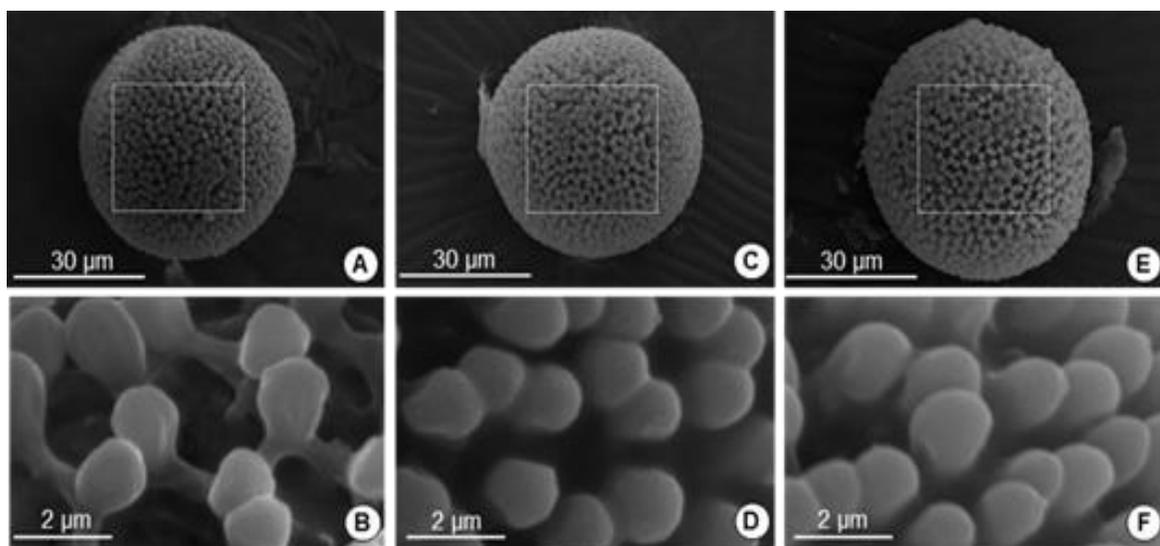


Figura 22. Micrografías de polen de *J. cinerea* variedad Sinaloa: A, B; *J. cinerea*: C, D; y *J. vernicosa*: E, F, variedades de Baja California Sur.

7.2 Injertos

7.2.1 Germinación de semillas

En un inicio, *J. curcas* germinó a los tres días con un 40% (Fig. 10 D), mientras que las semillas de *J. cinerea* solo germinaron un 10% (Fig. 10 C). Posteriormente, la germinación para las dos especies fue heterogénea, obteniéndose en un periodo de 12 días un 60% para *J. curcas* con un total de 120 plantas y un 25% para *J. cinerea* con un total de 50 plantas. La emergencia de las plántulas fue de 7 a 10 días después de la siembra.

7.2.2 Injerto

Se obtuvo el 95% de sobrevivencia de plantas injertadas. Se observó la formación de callo en el área de unión del injerto y el desprendimiento del parafilm® (American National Can, CT, U.S.A.) conforme aumentaba el grosor del tallo. Los cortes transversales y longitudinales realizados a los tallos de las plantas injertadas mostraron la integración de tejidos de *J. curcas* con el patrón de *J. cinerea* cuando se desarrollaron como una sola planta (Fig. 23).

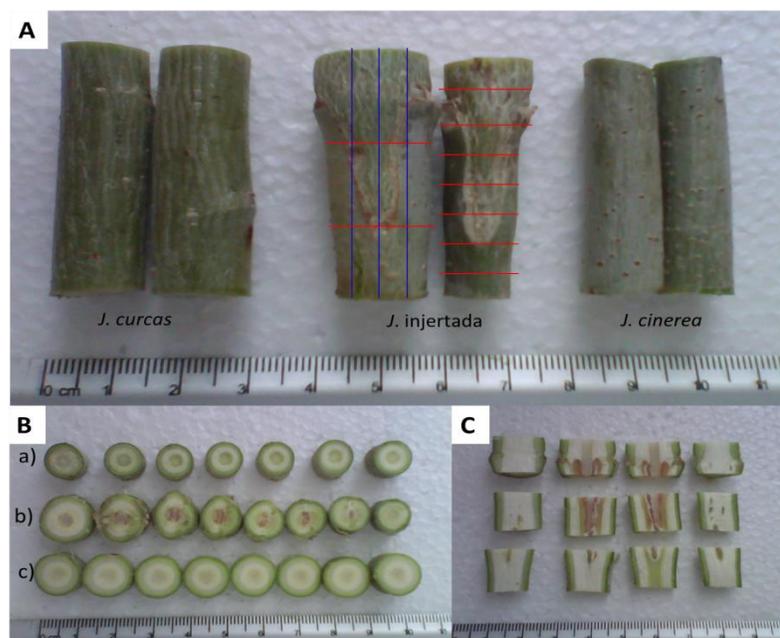


Figura 23. (A) Fragmentos de tallo de *Jatropha*, (B) cortes transversales de a) *J. cinerea*, b) *J. injertada* y c) *J. curcas*; (C) corte longitudinal de tallo de *Jatropha* injertada.

7.2.3 Desarrollo vegetativo

Los resultados a los 3 meses después del injerto mostraron que no había diferencias significativas entre plantas injertadas y no injertadas con respecto a la altura de la planta y el diámetro del tallo (Tabla III).

Tabla III. Comparación de crecimiento entre plantas injertadas y no injertadas.

Especies	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)
<i>J. curcas</i>	50.16 ± 3.09 ^a	14.41 ± 1.20 ^a
<i>J. cinerea</i>	50.50 ± 3.44 ^a	14.71 ± 0.97 ^a
<i>J. injertada</i>	49.91 ± 3.33 ^a	14.69 ± 0.94 ^a

Valores con la misma letra no son significativamente diferentes $p \leq 0.05$.

7.4.1 Cortes histológicos

En los cortes transversales de *J. curcas* y *J. cinerea*, se observa del exterior hacia el interior partes del tejido completamente diferenciadas: la epidermis compuesta por células de corcho en la parte más externa (felógeno). La felodermis contiene varias capas de células en estratos, que se caracterizan por la presencia de cloroplastos en su interior. La corteza está compuesta por células de colénquima y parénquima, en patrones de división no definidos ya que pueden dividirse aleatoriamente casi en cualquier plano, y que se observan hasta donde inician las fibras extra floemáticas; hacia el interior se sitúa el floema con diferentes tipos celulares entre ellos fibras, parénquima floemático, esclereidas, elementos miembros del floema y su célula acompañante (Fig. 24).

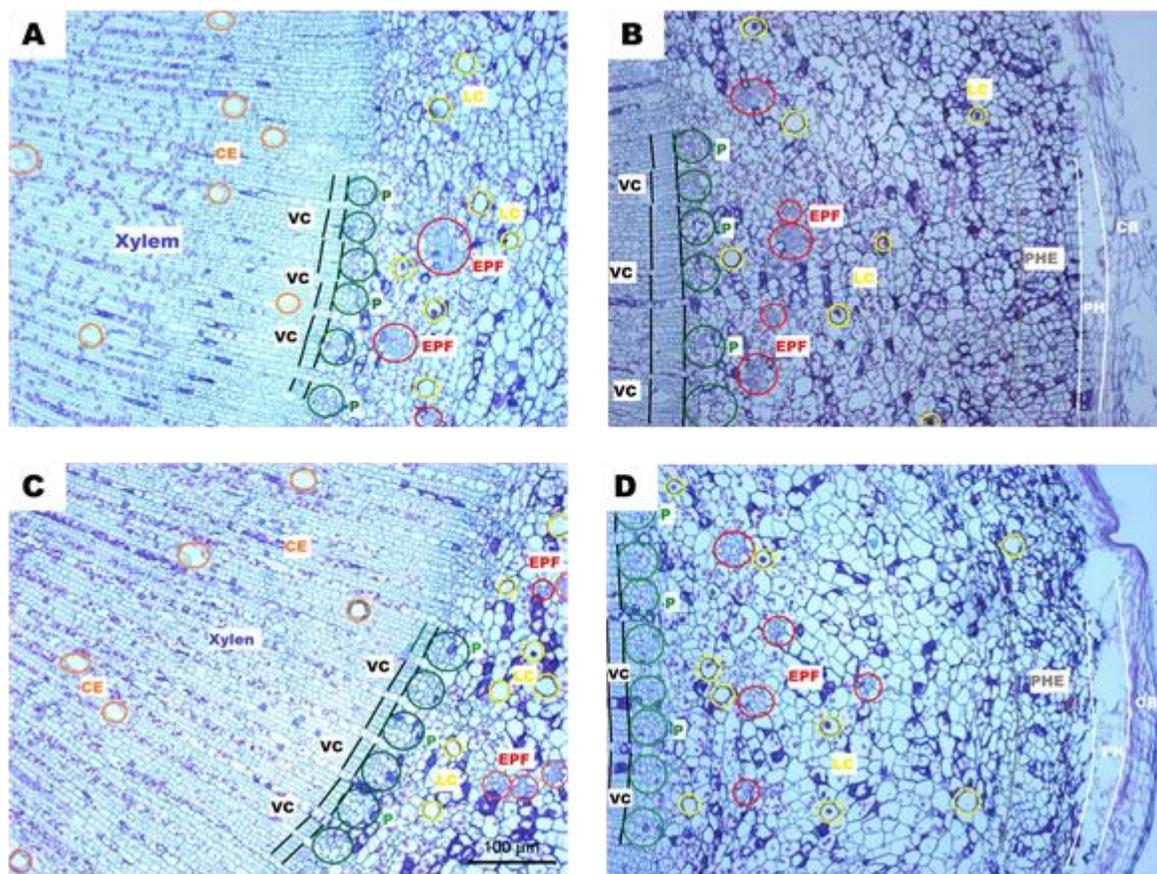


Figura 24. (A), (B) Cortes transversales de tallo de *J. cinerea*; (C) y D) corte transversal *J. curcas*; (CE = Elementos de conducción, VC = Cambium vascular, P = Floema, EPF = Fibras extra floemáticas, LC = Canales de látex, PHE = Felodermis, PH = Felógeno, CB = Corteza de corcho).

El cambium vascular se presenta de manera continuo formando un cilindro alrededor del tallo. La siguiente capa es el xilema, con pocos vasos solitarios muy grandes y células de radio con abundantes granos de almidón teñidos en color púrpura. Los cortes longitudinales realizados a *J. curcas* muestran un floema con células que contienen granos de almidón más grandes que los observados en las células de *J. cinerea*. En el xilema de *J. curcas* se observan grupos de células de radio medulares apiladas en forma horizontal en mayor cantidad en comparación con *J. cinerea*, la cual presenta menor número de células de radio y apiladas de forma diagonal. Los cortes transversales y longitudinales realizados a los tallos de

plantas injertadas, muestran la integración del tejido de *J. curcas* con el patrón de *J. cinerea* al desarrollarse de manera conjunta como una sola planta (Fig. 25).

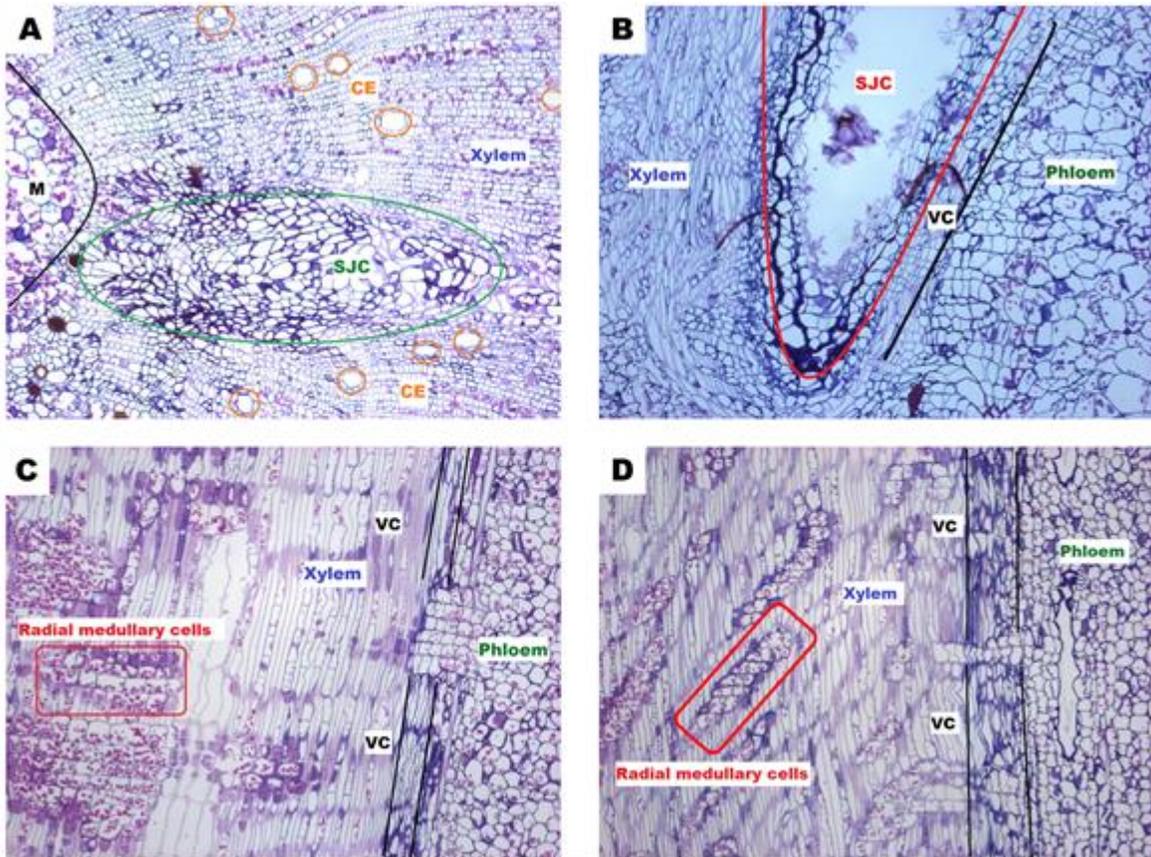


Figura 25. (A) Corte transversal de *Jatropha* injertada; (B) corte longitudinal de *Jatropha* injertada; (C) corte longitudinal de *J. curcas* y (D) corte longitudinal de *J. cinerea*; (CE = Elementos de conducción, VC = Cambium vascular, M = Médula, SJC = Injerto de *J. curcas*).

7.5 Características de las plantas, semilla y contenido de aceite

Los parámetros registrados en plantas de *J. curcas* no injertadas e injertadas, después de un periodo de 10 meses (Tabla IV), demuestran que existen diferencias significativas entre la altura de los dos tipos de plantas, de 26 cm en promedio; en lo que respecta al diámetro del tallo, no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos. El rendimiento del número de semillas fue diferente significativamente, siendo mayor en plantas injertadas con un incremento promedio de 36 semillas por planta. Las semillas cosechadas de frutos de plantas injertadas presentaron diferencia significativa entre peso. Sin embargo, en lo que respecta a la longitud y diámetro no existe una diferencia estadística. El contenido de aceite proveniente de plantas de *J. curcas* injertadas y no injertadas fue 51.3% y 49.2%, respectivamente, no se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) (Tabla IV).

Tabla IV. Características de planta, semilla y contenido de aceite de *J. curcas* no tóxicas. Promedio de cuatro plantas.

Parámetros	<i>Jatropha</i> No Injertada	<i>Jatropha</i> injertada
		Planta
Altura (cm)	123.5±8.96 ^b	150.7±18.63 ^a
Diámetro (mm)	60.7±2.76 ^a	58.2±3.23 ^a
		Semilla
Número por cada planta	142±19.2 ^b	178±23,5 ^a
Masa (g)	0.49±0.11 ^b	0.56±0.13 ^a
Longitud (mm)	16.7±0.93 ^a	18.3±0.73 ^a
Diámetro (mm)	9.5±0.48 ^a	10.2±0.39 ^a
		Aceite
Rendimiento (%)	49.2±0.96 ^b	51.3±1.13 ^a

a, b. Valores con la misma letra no son significativamente diferentes $p \leq 0.05$.

7.5.1 Composición de ácidos grasos

En plantas injertadas y no injertadas, la mayor cantidad de ácidos grasos presentes fueron linoleico y oleico, con un promedio de 45.83% y 40.30%, respectivamente. Con una proporción menor de palmítico (12.2%) y mínima de

palmitoleico (0.56%), linolénico (0.34%) araquidónico (0.40%) y mirístico (0.20%). Ácidos grasos saturados: mirístico, palmítico y araquidónico, representan aproximadamente el 12.70% del contenido total. Sólo existen diferencias significativas en el contenido de ácido palmítico en lo que respecta a las plantas no injertadas. Ácidos grasos insaturados, palmitoleico, oleico, linoleico y linolénico; de los cuales el ácido oleico y el ácido linoleico formaron aproximadamente el 86.3%, el resto de los ácidos grasos insaturados constituyeron el 0.90%. Sólo existen diferencias significativas en el contenido de ácido oleico en lo que respecta a las plantas injertadas (Tabla V).

Tabla V. Composición de ácidos grasos en aceite obtenido de semillas cosechadas en noviembre de 2015, en la parcela experimental (CIBNOR) de *J. curcas* en La Paz, Baja California Sur.

Tratamientos	Ácidos Grasos						
	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Palmitoleico (C16:1n7c)	Oleico (C18:1n9c)	Linoleico (C18:2n6c)	Linolénico (C18:3n3a)	Araquidónico (C20:0)
Plantas No Injertadas	0.21± 0.05 ^a	12.72± 0.44 ^a	0.58 ± 0.05 ^a	40.30± 2.67 ^b	45.83± 2.36 ^a	0.33± 0.05 ^a	0.32± 0.04 ^a
Plantas Injertadas	0.20± 0.04 ^a	11.49± 0.36 ^b	0.54 ± 0.11 ^a	42.08± 0.68 ^a	44.67 ± 0.40 ^a	0.34± 0.04 ^a	0.49 ± 0.45 ^a

Valores con la misma letra no son significativamente diferentes $p \leq 0.05$.

7.6 Condiciones meteorológicas

La precipitación anual para la parcela experimental (CIBNOR) fue de 256 mm en 2014 y 190 mm en 2015, distribuidos principalmente en los meses de julio a octubre (92%), con un promedio anual de 223 mm. Las lluvias para el campo de cultivo en Estación Dimas, ocurren en los meses de junio y octubre (85%), la precipitación en el año 2014 fue de 750 mm y 648 mm en 2015, con un promedio anual de 700 mm. En ambos casos se observa que hubo un decremento en el acumulado anual de precipitación para la parcela experimental (CIBNOR), el decremento fue de 26%. El decremento para el campo de cultivo en Estación Dimas fue de 14%, lo que muestra que el año 2015 fue más seco (Fig. 26 A).

Parcela experimental (CIBNOR): la temperatura máxima mensual media osciló de 26.2 °C en enero a 37.8 °C en junio del 2014 y 24.7 °C en enero a 40.1 °C en agosto del 2015, con un promedio de temperatura máxima de 25.4 °C en invierno y 38.9 °C en verano. La temperatura mínima mensual media osciló de 9 °C en enero a 24 °C en agosto del 2014 y 11.3 °C en febrero a 26 °C en agosto del 2015, con un promedio de temperatura mínima de 10.1 °C en la temporada invernal y 25.4 °C en los meses de verano. La temperatura media mensual osciló de 17.5 °C en enero a 31.3 °C en junio del 2014 y 18.4 °C en enero a 32.7 °C en agosto del 2015, con un promedio de temperatura máxima de 17.5 °C en invierno y 32 °C en verano. En el caso de la temperatura máxima y mínima, observa un incremento de 2 °C, tanto para las temperaturas de los meses de invierno y los de verano; lo que significa que el año 2015 fue más cálido (Fig. 26 C).

Parcela experimental (CIBNOR): los datos de humedad relativa muestran un promedio anual de 60% para 2014 y 63.1% para 2015. Los valores máximos se observan en la estación lluviosa (71%), seguido por el otoño y el invierno; Los valores más bajos se observaron en los meses de marzo y junio (44.5%) en 2014 y 54% en 2015 para el mismo período. Los valores se observan heterogéneos, con una variación superior al 30%. La humedad relativa del campo de cultivo

Estación Dimas presenta un promedio anual de 79.6% para 2014 y 82.4% para 2015. Los valores máximos se observan en la estación lluviosa (88%), seguido por el otoño y el invierno; Los valores más bajos se observaron en los meses de abril y mayo (73%). Los valores se observan estables, con una variación no superior al 20% (Fig. 26 B).

Campo de cultivo Estación Dimas: la temperatura máxima mensual media osciló de 26.6 °C en febrero a 33 °C en julio del 2014 y 26.1 °C en febrero a 33.4 °C en julio del 2015, con un promedio de temperatura máxima de 26.3 °C en invierno y 33.2 °C en verano. La temperatura mínima mensual media osciló de 13.2 °C en febrero a 25.3 °C en junio del 2014 y 14.2 °C en febrero a 25.3 °C en julio del 2015, con un promedio de temperatura mínima de 13.7 °C en la temporada invernal y 25.3 °C en los meses de verano. La temperatura media mensual osciló de 19.7 °C en febrero a 29.1 °C en junio del 2014 y 19.7 °C en enero a 29.4 °C en julio del 2015, con un promedio de temperatura máxima de 19.7 °C en invierno y 29.2 °C en verano. En todos los casos no se observa un incremento significativo de la temperatura, lo que significa que el año 2015 para el área tropical no fue afectado (Fig. 26 C).

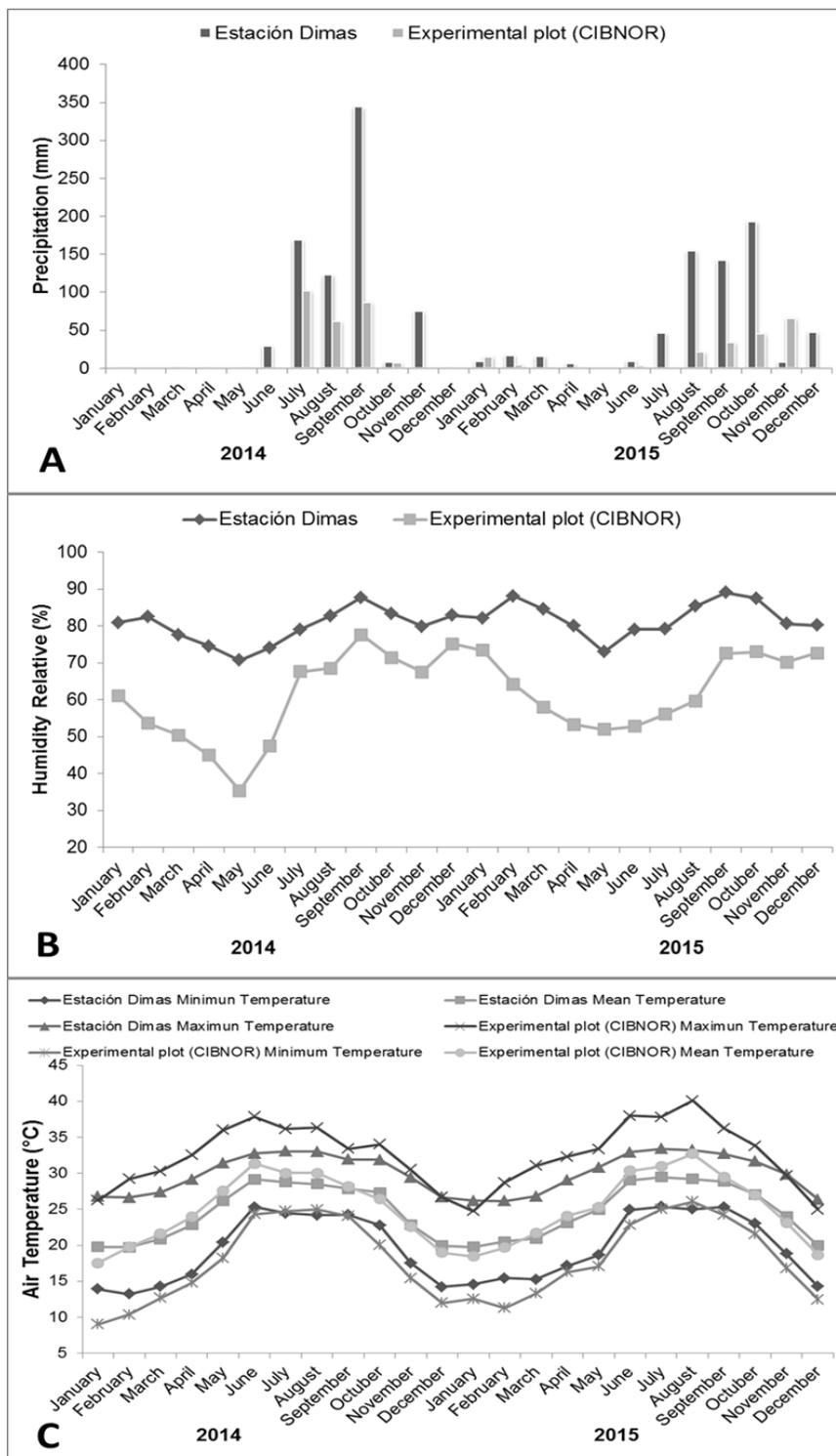


Figura 26. A) Precipitación, B) humedad relativa y C) temperaturas, presentadas en el sitio de estudio de CIBNOR, La Paz, BCS. Y Estación Dimas, Sinaloa, para los ciclos de 2014-2015.

7.5 Análisis bioquímicos

7.5.1 Proteínas totales

El estrés por efecto de NaCl resultó en la acumulación de proteínas, en hojas, tallos y raíces, en *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*, a una concentración de 50 mM (15% en promedio), en comparación con los tratamientos de 0 mM de NaCl. En la presencia de NaCl 100 mM, el contenido de proteína disminuyó a 35% en promedio en comparación con los tratamientos de 0 mM. También se observaron diferencias en el contenido de proteínas en los diferentes tejidos (hoja, tallo y raíz) y especies de plantas (*J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*). El tallo fue el que menor contenido de proteína presentó, seguido de la hoja y la raíz; *J. cinerea* y *J. injertada* produjeron el mayor contenido de proteínas, con respecto a *J. curcas*, excepto en el tallo (Fig. 27).

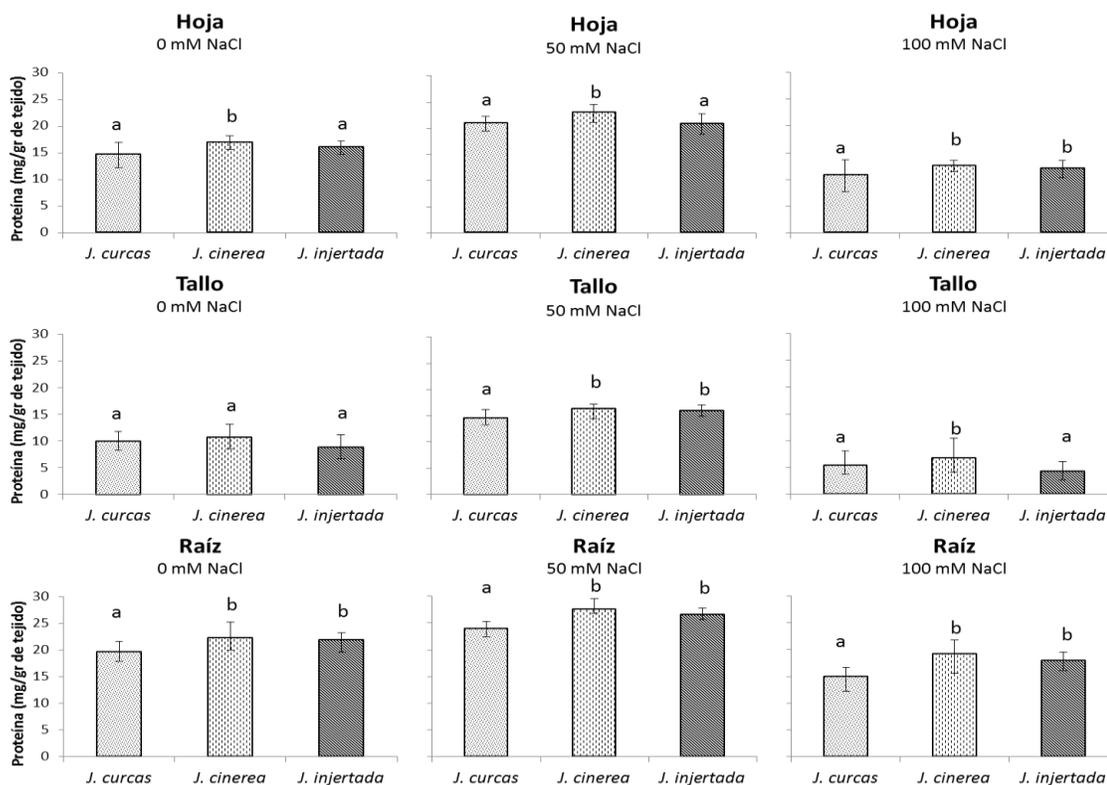


Figura 27. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl (0, 50 y 100 mM) sobre el contenido de proteína para hoja, tallo y raíz, en plantas de *J. curcas*, *J. cinerea* y *Jatropha* injertada. Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

7.5.2 Superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de SOD se incrementó significativamente con los tratamientos de NaCl en hoja y raíz, excepto en tallo. Comparando las especies de plantas, *J. curcas* mostró mayor sensibilidad al estrés salino en hoja, a la concentración de 100 mM y en raíz a la concentración de 50 mM y 100 mM, que *J. cinerea* y *Jatropha* injertada. Sin embargo, *J. cinerea* presentó mayor nivel de tolerancia al NaCl que *J. injertada* en la concentración de 50 mM (Fig. 28). El tallo presenta la menor actividad de SOD en los tres tipos de plantas, seguido por la hoja y raíz, donde hay mayor actividad. En los tratamientos realizados con 100 mM de NaCl, no existe diferencia significativa entre *J. cinerea* y *J. injertada*, para hoja, tallo y raíz.

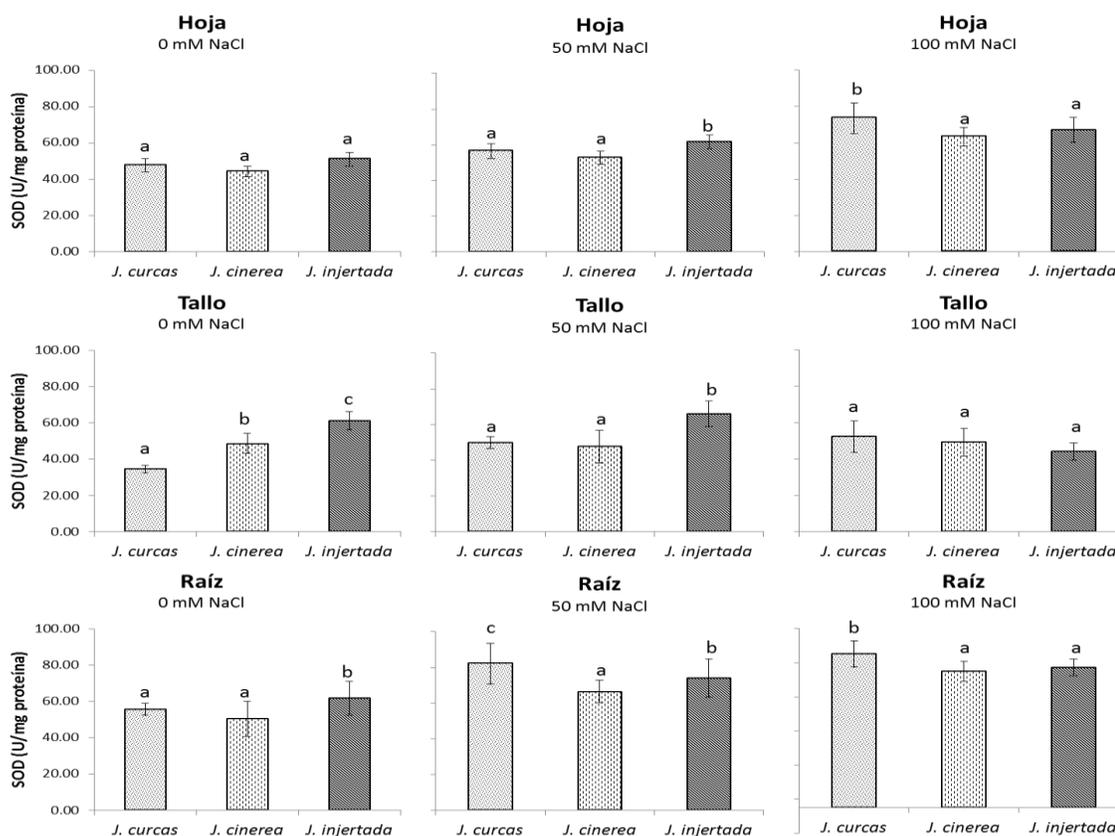


Figura 28. Efecto del NaCl de la actividad enzima de superóxido dismutasa (SOD) para hojas, tallos y raíces en *J. curcas*, *J. cinerea* y *Jatropha* injertada. Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

7.5.3 Catalasa (CAT)

La actividad CAT se incrementó con el tratamiento de 100 mM en hoja, tallo y raíz, en *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada* (Fig. 29). *J. curcas* presentó mayor actividad enzimática que *J. cinerea* para todos los tratamientos, mientras que para *J. injertada*, solo fue diferente en tallo y raíz, a la concentración de 50 mM. Sin embargo, en la práctica, las plantas injertadas mostraron mejor desarrollo que las plantas de *J. curcas*. El tallo fue el que menor actividad de catalasa presentó, seguido por hoja y raíz, para los tres tipos de plantas evaluadas. En los tres tipos de plantas la actividad CAT aumentó significativamente en 100 mM, con respecto a los tratamientos de 0 mM y 50 mM.

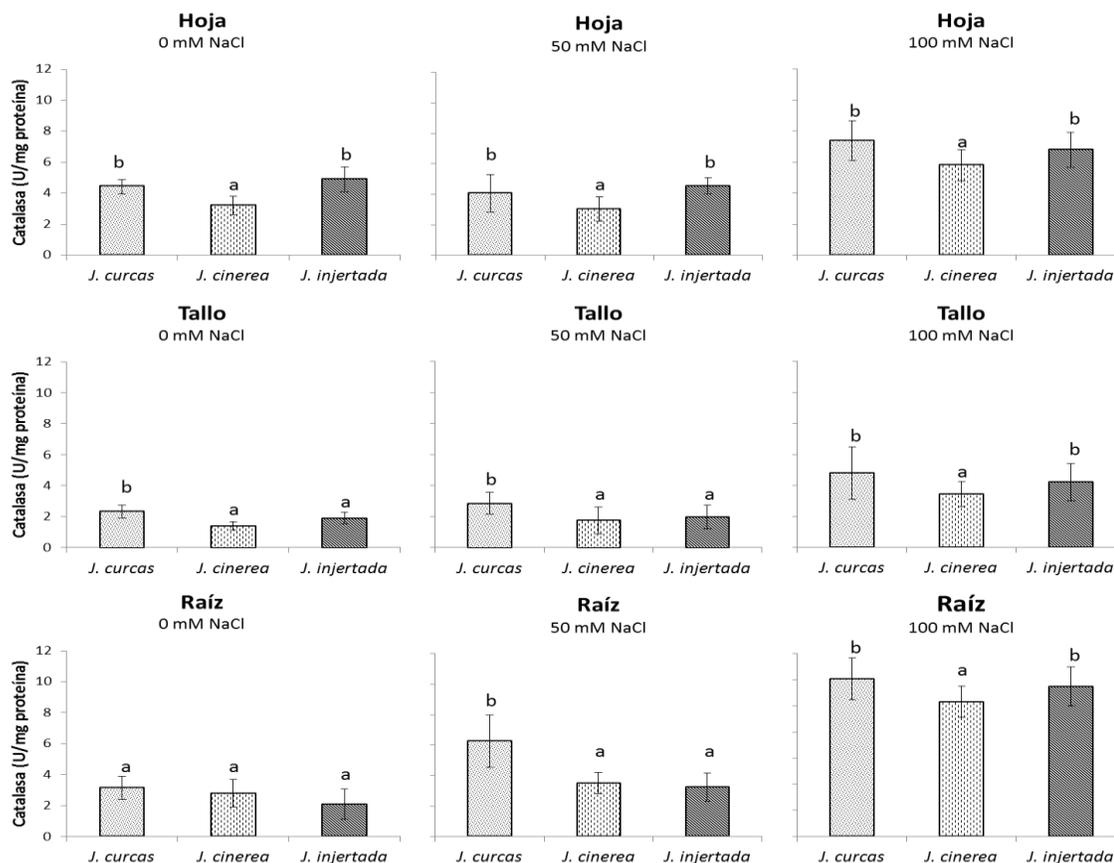


Figura 29. Efecto del NaCl de la actividad de la enzima catalasa (CAT) para hojas, tallos y raíces para *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*. Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

7.5.4 Peroxidasas totales (POX)

La actividad de las enzimas peroxidasas (POX), se incrementó por efecto de la concentración de NaCl. No existe diferencia significativa entre los tipos de plantas, en las concentraciones de 0 mM y 50 mM, excepto en hojas de *J. injertada* con 50 mM; el aumento significativo se observó en los tratamientos evaluados a 100 mM. La hoja y el tallo presentan menor actividad enzimática, en comparación con la actividad en raíz. La mayor actividad de POX se genera en *J. curcas*, a diferencia de *J. cinerea* y *J. injertada*, las cuales mostraron mayor tolerancia al estrés por NaCl, al presentar menor actividad de POX para hoja, tallo y raíz (Fig. 30).

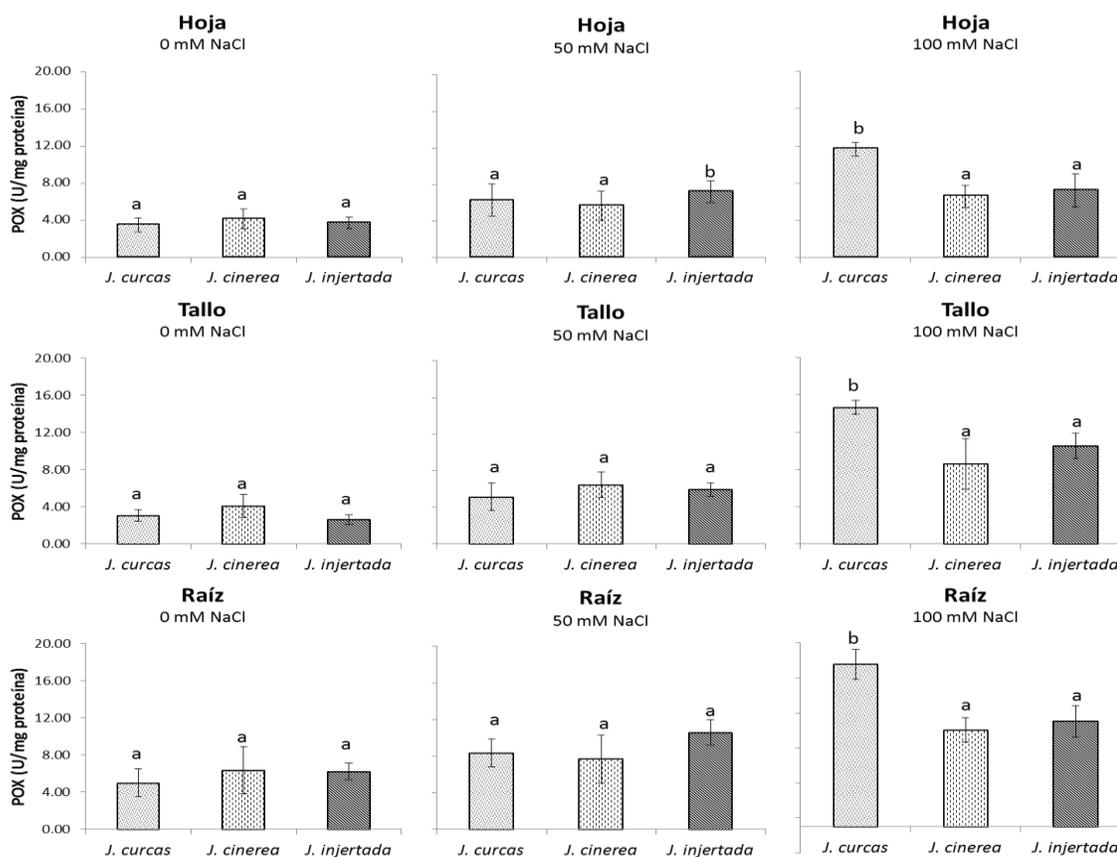


Figura 30. Efecto del NaCl de la actividad enzima peroxidasa (POX) para hoja, tallo y raíz para *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*. Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

7.5.5 Prolina

El contenido de prolina se incrementó conforme aumentaba la concentración de cloruro de sodio (NaCl), en hoja, tallo y raíz, para *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*. La acumulación se duplicó en 50 mM y se triplicó en la concentración de 100 mM, en comparación con los tratamientos de 0 mM de NaCl. *J. curcas* y *J. injertada*, presentaron menor acumulación de prolina en hoja y tallo en comparación con *J. cinerea*, en las tres concentraciones de NaCl. *J. cinerea* y *J. injertada* mostraron mayor acumulación de prolina en raíz en comparación con *J. curcas*, en los tratamientos de 50 mM y 100 mM de NaCl.

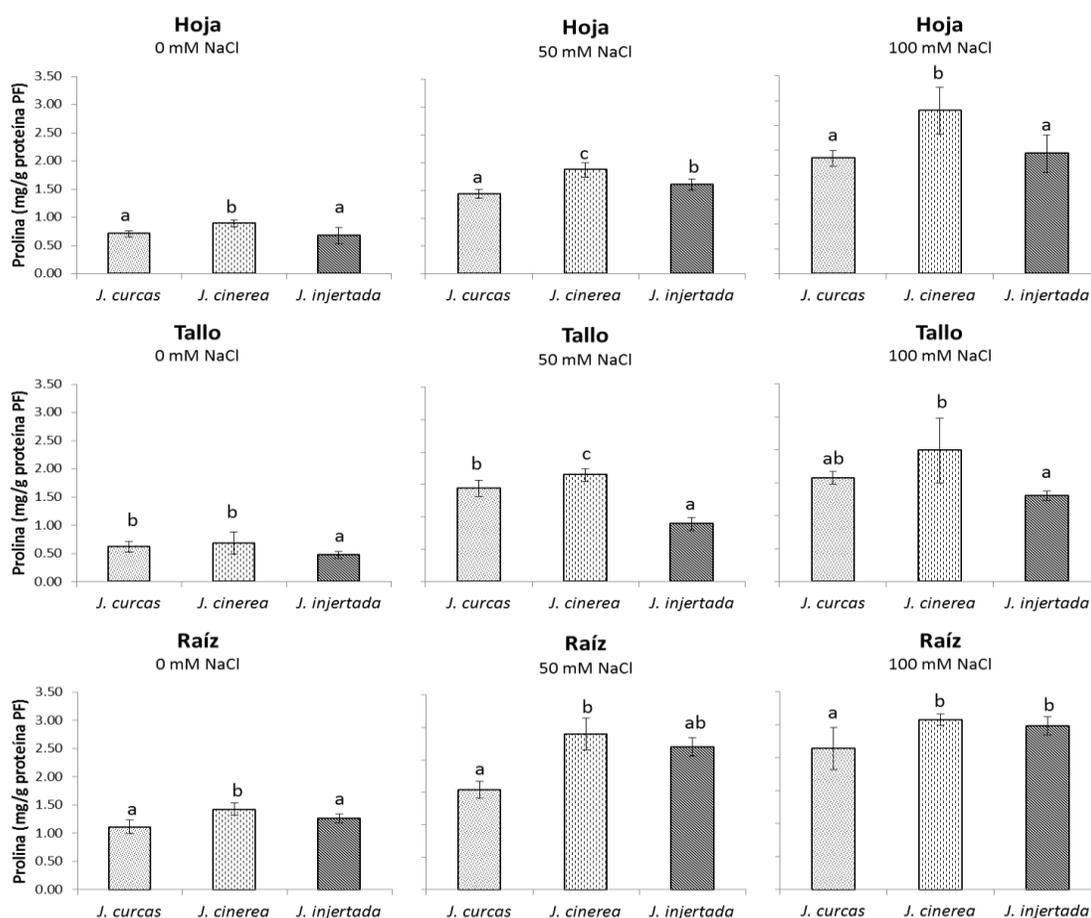


Figura 30. Concentración de prolina, para *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*, en hoja, tallo y raíz, con tres concentraciones (0, 50 y 100 mM NaCl). Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

7.6 Análisis fisiológicos

7.6.1 Clorofila

El contenido de clorofila (SPAD) disminuyó conforme aumentaba la concentración de NaCl y el tiempo de observación. *J. curcas* y *Jatropha* injertada, mostraron resultados similares en la disminución de clorofila, con valores por debajo de *J. cinerea*, la cual se vio menos afectada por la concentración de salinidad con respecto al resto de los tratamientos, lo que demuestra mayor capacidad para evitar la descomposición de la clorofila que *J. curcas* y *J. injertada*, bajo el estrés por salinidad (Fig. 31).

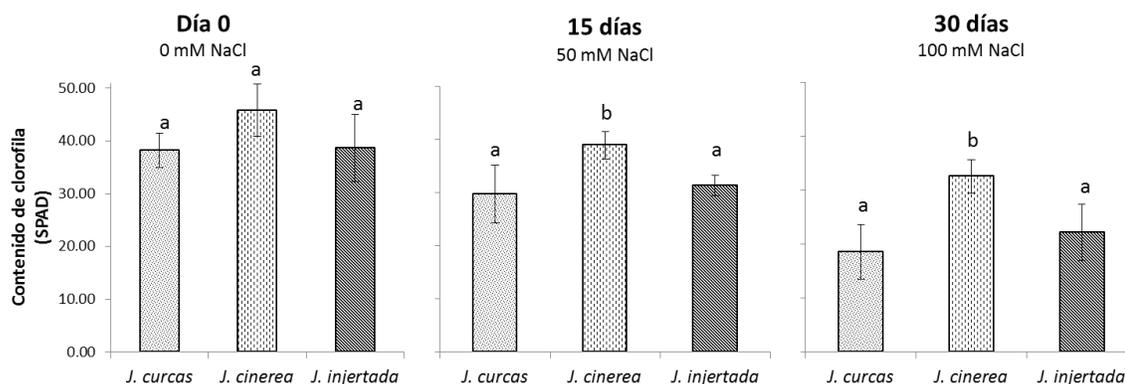


Figura 31. Contenido de clorofila para *J. curcas*, *J. cinerea* y *Jatropha* injertada, con tres concentraciones de NaCl (0, 50 y 100 mM) y tres tiempos de evaluación (0, 15 y 30 días).

7.6.2 Conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO₂.

Los valores de conductividad estomática (g_s), transpiración (E) y asimilación de CO₂ (A), disminuyeron por efecto de la concentración de NaCl, para los tres tipos de planta estudiadas, siendo *J. curcas* y *J. injertada* las más afectadas para los 3 parámetros estudiados. *J. cinerea* es la que se ve más favorecida, manteniendo valores más altos a pesar del aumento de la salinidad. La g_s , E y A , están relacionadas con la apertura de los estomas, el estrés hídrico provocado por el aumento de la salinidad en el suelo, provoca el cierre de estos, por

consiguiente, se reduce la conductividad estomática, hay menos transpiración y se reduce la cantidad de carbono fijado (Fig. 32).

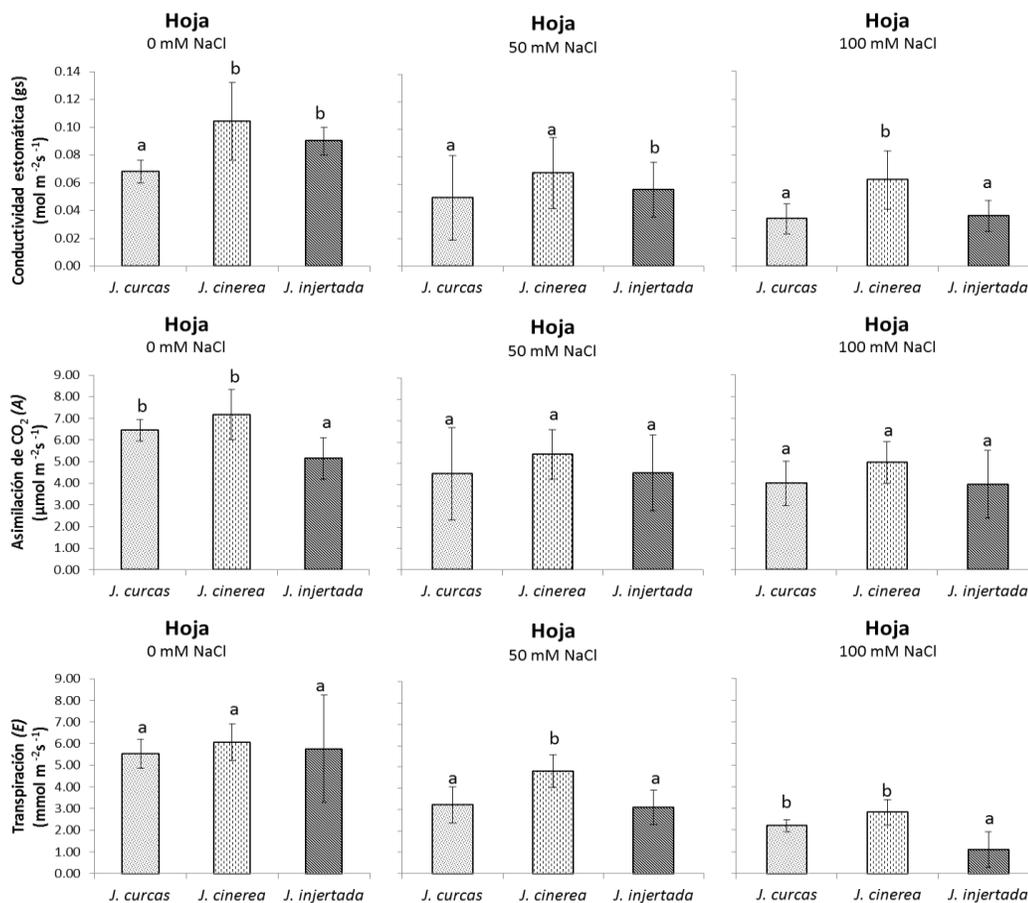


Figura 32. Conductividad estomática (gs), transpiración (E) y asimilación de CO_2 (A), para *J. curcas*, *J. cinerea* y *J. injertada*, con tres concentraciones (0, 50 y 100 mM NaCl). Las barras con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p \leq 0.05$) y representan la desviación estándar.

8. DISCUSIÓN

8.1 Polen

Bahadur *et al.* (2000a, 2013b) reportaron que el polen de *J. curcas* es de forma esferoidal con 61.6 μm de diámetro, inaperturado y densamente esculpido con báculos, alineados de manera reticular (hexa o poligonal), con un patrón crotonoide. La cabeza o cápita de los báculos son de forma redondeada (gema), con un estriado vertical. El polen de *J. cinerea* es de forma esferoidal con 58.0 μm de diámetro, sin aberturas, densamente esculpido con báculos, alineados de forma reticular (penta o hexagonal), con patrón crotonoide. La cabeza o cápita de los báculos presentaron estriaciones verticales triangulares o poligonales. Sin embargo, estos autores no proporcionaron imágenes. No se observaron aberturas de germinación. Según Saenz de Rivas (1976), la exina está compuesta por endexina, que es una capa reticulada interna y por otra capa externa llamada ectexina que muestra un estriado sin tectum. Bahadur *et al.* (2013b) mencionaron que las variedades *J. curcas* de la India estaban relacionadas con *J. curcas* de África y algunas variedades endémicas de México. Sin embargo, el material no estaba disponible para la investigación comparativa.

Dehgan (1984) mencionó el desarrollo híbrido entre los genotipos de *J. curcas* (como parental femenino) y *J. cinerea* (como parental masculino). Esta fertilización podría deberse al hecho de que el grano de polen de *J. cinerea* es más pequeño que el de *J. curcas* y podría ser fácilmente atrapado por el estilo de la flor femenina y germinar. La hibridación exitosa entre los miembros de diferentes especies del mismo género, indica que los diferentes taxones en *Jatropha* están relacionados filogenéticamente (Sujatha *et al.*, 2013). Experimentos de polinización realizados en *J. curcas*, demuestran que esta especie es capaz de auto polinizarse, así como de polinización cruzada. Se observó que el estigma de *J. curcas* usualmente está provisto de dos a cuatro lóbulos y que su superficie contiene formas cóncavas y convexas, lo que ayuda a adherir e incrustar el polen. En general, la floración de *J. curcas* es asincrónica, esto quiere decir que las flores

femeninas y masculinas de una misma inflorescencia abren a diferentes tiempos, lo que predispone a la planta aceptar el polen de otra planta para completar la fertilización y aumentar así la posibilidad de producir variabilidad genética en estas especies (Wang y Ding, 2012).

Las interacciones entre el polen y el estigma en los cruces polínicos de *Jatropha*, son una clara indicación de un fenómeno activo de reconocimiento-rechazo del polen-estigma. En los cruces con *J. curcas* como parental femenino, los granos de polen de *J. podagrica*, *J. hastata* y *J. multifida* no pudieron germinar. Estos cruzamientos mostraron una fuerte incompatibilidad y la germinación del polen se limitó a la superficie estigmática, que fue detenida por tricomas en forma de espiral. Otros motivos fueron la transferencia de genes interespecíficos, que generalmente se ve limitada por las barreras de cruzabilidad, ploidía, diferencia cromosómica y la distancia genética (taxonomía) (Sujatha *et al.*, 2013).

J. curcas crecen en las regiones de bosques tropicales, mientras que los taxones con haces vasculares reducidos son los más avanzados y ocurren en desiertos secos y cálidos (Dehgan y Webster, 1979). *J. curcas* es una especie monoica y se ha reportado que se presenta el cruzamiento fácilmente con las especies dioicas como *J. cinerea* (Sujatha *et al.*, 2013), *J. platyphylla* y *J. vernicosa*. La mayoría de las especies de *Jatropha*, a excepción de *J. curcas*, producen flujos de floración continua durante todo el año, cuyo atributo puede transferirse a *J. curcas* para mejorar su potencial de rendimiento de semilla-aceite (Sujatha *et al.*, 2013). También *J. platyphylla* puede ser empleada para un programa de hibridación interespecífica, por su tamaño de semilla (dos veces más grande que *J. curcas*) y un alto contenido de aceite (60% sobre la base del núcleo) (Makkar *et al.*, 2011).

En este trabajo, se han reportado las primeras descripciones palinológicas de cuatro especies de *Jatropha* en el noroeste de México (*J. curcas* tóxica y no

tóxica, *J. cinerea*, *J. platyphylla*, y *J. vernicosa*). Las similitudes en las características morfológicas presentes en el polen coinciden filogenéticamente con las asignadas al género. De acuerdo con las características morfológicas palinológicas, la forma, el tamaño y la ornamentación de la exina, son elementos que hacen más fácil la identificación taxonómica entre las especies del género *Jatropha*. El conocimiento sobre el grado de diversidad genética entre y dentro de las poblaciones naturales, es un requisito previo para encontrar el material genético necesario para cultivar variedades de alto rendimiento.

8.2 Injertos

8.2.1 Germinación de semillas

Hishida *et al.* (2013) observaron que el inicio de germinación de *J. curcas* ocurrió al tercer día, alcanzando su máxima tasa de germinación al sexto día, en comparación con *J. cinerea*, donde la germinación inició al cuarto al día con una tasa máxima al décimo día. Hay dos factores que puede afectar esta diferencia, la primera se puede deber a que la testa de la semilla de *J. curcas* es más delgada que la testa de *J. cinerea*, ya que un gran número de semillas de especies forestales no germinan debido a que la testa dura impide la entrada de agua (latencia física), y la semilla no germina al menos que la testa sea escarificada (Poulsen y Stubsgaard, 2000); otro factor que puede estar afectando el porcentaje de germinación es la calidad de la semilla; ya que las semillas de *J. curcas* son de plantas cultivadas logrando una mejor maduración fisiológica; como lo mencionan Budi *et al.* (2012), quienes estudiaron la viabilidad de semillas de *J. curcas* en diferentes estados de madurez de plantas cultivadas en un campo experimental, encontrando que la mejor etapa para la germinación de las semillas es la madurez fisiológica (fruto amarillo). Debido a que las semillas de *J. cinerea* proceden de planas silvestres, se obtuvieron frutos y semillas heterogéneos.

8.2.2 Método de enjertación

Los cortes macroscópicos (Fig. 23 C) confirman que, los tallos en el área injertada se encuentran completamente unidos al día 15 después del injerto, mostraron compatibilidad exitosa entre los tejidos del tallo de ambas especies. Como se mencionó anteriormente, esta unión se formó por proliferación de callos en el área de injerto. Además, se observaron partes oscuras o partes sin tejido, con espacios donde apareció un área necrótica, típica de las características de regeneración del daño mecánico del tejido vegetal, incluyendo tejidos incompatibles (Poessel *et al.*, 1996). Cholid *et al.* (2014), evaluaron la compatibilidad de injerto y los portainjertos de *J. curcas*, utilizando 2 métodos: enchapado lateral, utilizando un corte diagonal y de hendidura realizando un corte en "V", con un patrón al 1°, 2° y 3° meses. Se obtuvo una supervivencia de 78.6%, y el mejor método para el injerto, fue el corte en forma de V y el portainjerto de 2-3 meses con un porcentaje de supervivencia de 89.5 y 93.8%, respectivamente. El método de injerto enchapado lateral y el porta injerto de 1 mes, mostraron el porcentaje de injerto más bajo del 66.5% (Cholid *et al.*, 2014). Como se observa en los resultados del presente trabajo, a los 15 días los injertos ya estaban unidos con un porcentaje de 95% de supervivencia, la innovación de este trabajo fue que son injertos entre diferentes especies.

8.2.3 Crecimiento vegetativo

Estos resultados difieren de los obtenidos por Cholid *et al.* (2014), que reportaron una altura promedio de planta de 74.42 cm y 20.74 mm de diámetro del tallo, en plantas de 4 meses y utilizando un porta injerto de la misma especie. Nuestros resultados (49.91 cm y 14.69 mm) se pueden deber, a que las lecturas fueron hechas en plantas injertadas de 3 meses y utilizando un porta injerto de *Jatropha cinerea* (Tabla III).

8.2.4 Cortes histológicos

Los granos de almidón observados en los cortes realizados en las células de los diferentes tejidos vasculares, podrían funcionar como osmolitos para mantener el volumen celular y evitar el estrés hídrico. Seki *et al.* (2007) mencionan que, el ajuste osmótico es un importante mecanismo fisiológico, por el cual las plantas sintetizan y acumulan compuestos que actúan como osmolitos en las células en respuesta al déficit hídrico. En lo que refiere a los canales de látex encontrados y debido a que su función no está clara, los investigadores sugieren que algunos de sus componentes podrían tener un papel importante en los mecanismos de curar heridas y/o proporcionar defensa mecánica contra depredadores y patógenos (Hagel *et al.*, 2008). Se sabe que la familia Euphorbiaceae tiene canales resiníferos de los cuales el látex de algunos géneros como *Euphorbia*, *Hevea*, *Jatropha* y *Manihot*, se usa en medicina tradicional debido a sus propiedades curativas. Demarco *et al.* (2013) reportaron la presencia de laticíferos articulados y no articulados en Euphorbiaceae.

Al comparar los diferentes tejidos en las dos especies se observa que las células de colénquima de *J. curcas* carecen de granos de almidón y en las células de parénquima la cantidad de almidón es menor en comparación con las células de ambos tejidos de *J. cinerea* donde se encuentran presentes y en mayor cantidad; otra diferencia es la amplitud del cambium vascular, *J. cinerea* contiene el doble de células de cambium que *J. curcas* (Fig. 24 A y B). Las plantas injertadas mostraron alto porcentaje de sobrevivencia debido a que el portainjerto de *J. cinerea* tiene un cilindro de cambium vascular más amplio que *J. curcas*. Al entrar en contacto en el injerto el área del cambium vascular de *J. cinerea* tienen alta probabilidad de coincidir con área del cambium de *J. curcas*, permitiendo una rápida formación de callo, para la regeneración de los tejidos en la herida.

En términos generales, el éxito del injerto entre *J. curcas* sobre *J. cinerea* fue debido principalmente a que se presentaron las siguientes características: 1) el

patrón y el injerto pertenecen al mismo género, 2) se utilizaron plantas de la misma edad y diámetro, 3) anatómicamente en el tallo, las dos especies muestran tejidos formados por células similares distribuidos en el mismo orden lo que incrementa la probabilidad de formar interconexiones en menor tiempo. Posiblemente la amplitud del cambium vascular y la presencia invariable en casi todos los tejidos de células del tejido parenquimatoso en ambas especies las cuales pueden dividirse y generar capas de células de parénquima que en conjunto forman el callo el cual puede transformarse en otros tipos celulares más especializados o actuar de manera activa en el transporte por la presencia de conexiones que posibilitan el transporte lateral sin la necesidad de elementos conductores.

De acuerdo con Cholid *et al.* (2014), las causas de la incompatibilidad del injerto pueden ser 1) factores fisiológicos y bioquímicos 2) modificaciones de células y tejidos en la unión del injerto y 3) reconocimiento celular entre las partes del injerto. También menciona que el éxito del injerto depende también de la compatibilidad de la unión del injerto en términos de la formación rápida de los tejidos vasculares conductores entre las dos secciones del injerto que permite la recuperación de la raíz y la parte aérea de la planta normal.

8.3 Características de plantas, semillas y contenido de aceite

Los resultados obtenidos (Tabla IV), se deben a que el patrón de *J. cinerea* está beneficiando al injerto de *J. curcas*, la cual no es una planta que se encuentre distribuida de manera natural en Baja California Sur, a diferencia de *J. cinerea*, la cual está adaptada a condiciones semiáridas y se encuentra distribuida de manera natural en todo el Noroeste de México. *J. cinerea* acumula mayor número de gránulos de almidón en sus células, lo que funciona como un regulador osmótico y previene a la planta de un déficit hídrico. Lo anterior conlleva a producir mayor cantidad de biomasa y se ve reflejada en la altura de la planta y el número de ramificaciones.

El número de semillas depende del número de frutos desarrollados por la planta y estos a su vez del número de ramificaciones, por lo tanto, *Jatropha* injertada presentó mayor cantidad de ramificaciones y por ende mayor número de frutos. Las semillas producidas por plantas injertadas, presentaron mayor peso, lo que significa, mayor contenido de aceite en su germen, sin embargo, cuando observamos el contenido de aceite de las semillas de los dos tratamientos no existe una diferencia significativa, hablando estadísticamente. La diferencia práctica, es que al producir mayor número de semillas obtendremos mayor cantidad de aceite por planta injertada.

8.3.1 Composición de ácidos grasos

Los resultados obtenidos son consistentes con los reportados por Araiza-Lizarde *et al.* (2015), que obtuvieron de 44 a 46% de ácido oleico y de 42 a 44% de ácido linoleico. También mencionan que las altas temperaturas influyen en el contenido de aceite y el tipo de ácido graso. Sosa-Segura *et al.* (2014), evaluaron el rendimiento de aceite y la composición de ácidos grasos de tres especies de *Jatropha* (*J. curcas*, *J. platyphylla* y *J. cinerea*). Los resultados obtenidos para *J. curcas* muestran un mayor contenido de aceite (61.5%) comparado con lo reportado en este estudio. Sin embargo, el análisis del perfil de ácidos grasos, los resultados son similares, principalmente ácido palmítico, linoleico y oleico. Wassner *et al.* (2016) estudiaron la calidad y composición del aceite de *J. curcas* en condiciones subtropicales, y encontraron que las condiciones ambientales (precipitación, temperatura y humedad relativa) durante el llenado del grano, afectaron fuertemente la composición del aceite, pero no afectó el peso y contenido.

8.4 Condiciones meteorológicas

El porcentaje de precipitación de los dos sitios observados, muestra que el campo de cultivo Estación Dimas, tiene mejor distribución del agua de lluvia, en comparación con la parcela experimental (CIBNOR), donde el inicio de la lluvia es

en junio y la final es en noviembre o diciembre según la temporada; esto significa que la planta tiene agua disponible por más tiempo, beneficiando las diferentes etapas fenológicas para el crecimiento y el desarrollo. La precipitación media anual de la parcela experimental (CIBNOR) es menor en comparación con el campo de cultivo Estación Dimas, indicando un área semiárida, por debajo de los requerimientos de agua de acuerdo con Trabucco *et al.* (2010), quienes mencionan un rango de 300 a 3000 mm anuales. *J. curcas* puede sobrevivir con tan sólo 250 a 300 mm de precipitaciones anuales; sin embargo, se necesitan 600 mm para florecer y producir frutos (FAO, 2010).

Los datos registrados en la parcela experimental (CIBNOR) indican que, la temperatura máxima mensual anual es superior 5.7 °C con respecto a la temperatura máxima de la Estación Dimas en los meses más cálidos, y la temperatura mínima mensual anual es inferior 3.6 °C con respecto a la temperatura mínima de la Estación Dimas en los meses más fríos, en el mismo período de tiempo para ambos años. Los datos registrados muestran que la temperatura media anual fue similar en ambos sitios en los dos años analizados. El rango de temperatura (máximo y mínimo) que tiene el campo de cultivo Estación Dimas, es mejor para el desarrollo de *Jatropha curcas*, en comparación con la parcela experimental (CIBNOR), porque son más estables durante todo el año. Las temperaturas óptimas están entre 18 °C y 28 °C. Las temperaturas muy altas pueden reducir los rendimientos; condiciones ambientales de 40 ± 2 °C durante el verano, provoca el cambio del sexo en las inflorescencias (protandria) y frutos con pocas semillas inmaduras en *Jatropha curcas* (Gour, 2006).

El valor medio mínimo de humedad relativa presentado en el campo de cultivo Estación Dimas, es el valor medio máximo de la parcela experimental (CIBNOR). Los datos anteriores se definieron como un área tropical en primer sitio y como un área semiárida al segundo sitio de estudio. Los altos valores del déficit de presión de vapor afectan la transpiración de la planta y la pérdida de agua. Rodrigues *et*

al. (2016) evaluaron la capacidad de alta humedad relativa, asociada con el suministro de K^+ para mitigar los efectos nocivos causados por el estrés salino, en los parámetros fisiológicos de las plantas de *J. curcas*; y dos niveles diferentes de humedad relativa, baja (40%) y alta (80%). El mejor rendimiento se observó en las plantas expuestas al 80% de humedad relativa.

8.5 Análisis bioquímicos

8.5.1 Proteínas totales

En los resultados se observa un aumento en la concentración de proteínas en los tratamientos expuestos a 50 mM de NaCl, esto debido a que el estrés salino provoca que la planta modifique el metabolismo y la estructura celular, para lo cual se requiere la actividad directa e indirecta de las proteínas. Kumar *et al.* (2008), observaron un incremento en la acumulación de proteínas (98, 69, 66 y 64 kDa) prolina y enzimas antioxidantes, en callos de *J. curcas* cultivados *in vitro*, a 0, 20, 40 y 60 mM NaCl, sin embargo, en los tratamientos de 80 y 100 mM NaCl, la producción de proteínas (83, 58 y 43 kDa), disminuyó un 25% y 60%, respectivamente. Díaz-López *et al.* (2012), evaluaron la tolerancia de plántulas de *J. curcas* al NaCl (0, 30, 60, 90, 120 y 150 mM), y encontraron que a 60 mM o concentraciones más altas, el contenido de biomasa disminuye. Esto se puede deber a que la planta responde a condiciones de estrés, reprogramando su metabolismo a nivel genómico, con genes específicos para cada tipo de estrés (Kosová *et al.*, 2013).

8.5.2 Superóxido dismutasa (SOD)

La salinidad está relacionada con el aumento de EROs, lo que conlleva a la planta a producir mayor cantidad de enzimas antioxidantes. Entre estas enzimas, la primera en sintetizarse es la SOD (Alscher *et al.*, 2002). Entre los tres tipos de plantas estudiadas, aumentó la actividad de SOD conforme aumentaba la concentración salina (Fig. 27). Las plantas de *J. cinerea* tratadas son las que menor actividad enzimática presentaron, con respecto a *J. curcas* y *Jatropha*

injertada, en los 3 niveles de salinidad (0, 50 y 100 mM NaCl). El estrés salino indujo una reducción la conductividad estomática, lo que reduce la asimilación de CO₂ y por consiguiente una fijación del mismo en el ciclo de Calvin. El cierre de los estomas provoca un exceso de protones de hidrogeno (⁺H), que se acumulan en el estroma del cloroplasto, por otra parte, los iones de O₂, producidos durante la fotólisis, provoca la formación de EROs; el desbalance de estos radicales, provoca el estrés oxidativo. La enzima SOD defiende a las plantas de este estrés, transformando el radical superóxido (O₂^{•-}) en peróxido de hidrogeno (H₂O₂) (Fig. 3) (Hishida *et al.*, 2013).

8.5.3 Catalasa (CAT)

Se observó una mayor actividad de CAT en las plantas de *Jatropha curcas* sin injertar en comparación con *J. cinerea* y *Jatropha* injertada; esto se puede deber a que la raíz de las plantas de *J. cinerea* y el patrón de las planta injertadas, tienen la capacidad de almacenar mayor cantidad de almidón en las células de la raíz, y funcionar como un osmolito, lo que regula el potencial hídrico, por lo tanto, las plantas injertadas soportar mejor el estrés oxidativo. El peróxido de hidrogeno (H₂O₂) no se considera una EROs, sin embargo, si provoca estrés oxidativo, por lo que la planta responde produciendo mayor cantidad de enzima CAT. La CAT elimina la toxicidad del peróxido (H₂O₂), transformándolo en agua (H₂O). Las catalasas son resistente a la desnaturalización y a altas concentraciones molares de H₂O₂ (Díaz, 2003).

8.5.4 Peroxidasas totales (POX)

Cuando la concentración de peróxido de hidrogeno (H₂O₂) es mayor y sobrepasa la capacidad antioxidante de la enzima catalasa, entra de manera conjunta un grupo de enzimas peroxidasas (POX). En este trabajo, la actividad POX se incrementó como respuesta al estrés salino, afectado principalmente las plantas sin injertar de *J. curcas*, y sobre todo las hojas y raíces. Sin embargo, las plantas de *J. cinerea* y *J. injertada*, también aumentaron su actividad, conforme

aumentaba la concentración salina (NaCl). Por lo tanto, la POX podría tener una mayor capacidad para la detoxificación de H_2O_2 , generado por SOD en las plantas estudiadas de *Jatropha*. Esto significa que *J. cinerea* puede mantener la producción de EROs más baja y tiene un sistemas más eficaz, para mantener el equilibrio entre la producción de EROs y los antioxidantes, para prevenir el daño oxidativo en condiciones de salinidad (Hishida *et al.*, 2013). Por otra parte, Campos *et al.* (2012), sugieren que el sistema para la eliminación de EROs, no es suficiente para proteger a las hojas de *J. curcas* contra el daño oxidativo, causado por estrés salino. Observando así una mejor tolerancia a la salinidad en las plantas injertadas.

8.5.5 Prolina

Los resultados señalan un aumento en la concentración de prolina para todos los tratamientos y los 3 niveles de salinidad, siendo la raíz la parte más afectada, seguido por las hojas y por último el tallo. Esta respuesta se presenta en las plantas estresadas, como consecuencia del descenso del potencial hídrico. Este estrés está acompañado por el aumento en la actividad enzimática (Díaz *et al.*, 1999). La raíz de *J. cinerea* es donde mayor concentración de prolina se encuentra, y esto se puede deber a que la prolina actúa como un osmolito al igual que el almidón, como lo observamos en los cortes histológicos. Cholid *et al.* (2014), analizaron el contenido de prolina en plantas injertadas de *J. curcas* de 1, 2 y 3 meses de edad y encontraron una relación entre incremento de prolina y la edad de la planta. Kumar *et al.* (2008), analizaron el contenido de prolina en explantes de *J. curcas*, sometidos a concentraciones de 0~100 mM NaCl. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa en ninguno de los tratamientos. Patel *et al.* (2010), evaluaron el crecimiento, contenido de agua y nutrientes en plántulas de *J. curcas* en respuesta de la salinidad del suelo (0.3, 3.9, 6.0, 7.9 y 10.0 dSm^{-1}) y encontraron que el contenido de prolina aumentó conforme aumentaba la salinidad. Gomes *et al.* (2010), mencionan que la prolina es un osmolito que disminuye el potencial osmótico de la célula y entre sus funciones

reportan que estabilizan proteínas, membranas, y cumple funciones de osmoprotección. Cabello-Ruiz *et al.* (2010), determinaron el contenido de prolina como indicador de estrés en orégano (*Lippia graveolens*), bajo condiciones de salinidad, y mencionan que puede usarse este parámetro como indicador de estrés.

8.6 Análisis fisiológicos

8.6.1 Contenido de clorofila

La disminución en la conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO₂, afecta el contenido de clorofila. Turan y Tripathy (2015), demostraron que el estrés salino generaba una disminución de la actividad de enzimática de la biosíntesis de clorofila en plántulas de arroz. La reducción de estas actividades enzimáticas parece deberse a una sub regulación de la expresión de sus genes. *J. cinerea* se adapta mejor a condiciones de estrés salino, debido a que las hojas son de menor área foliar y tolera hasta 100 mM de NaCl en comparación que *J. curcas* y *Jatropha* injertada. Estos resultados concuerdan por lo reportado por Hishida *et al.* (2013), quienes evaluaron plantas sin injertar de *J. curcas* y *J. cinerea*. En otro estudio realizado por Campos *et al.* (2012), mencionan que *J. curcas* tiene la habilidad de resistir al estrés salino asociado con enzimas de protección, sin embargo, no le es suficiente, por lo que no debe ser tratada como una especie tolerante a la salinidad. Díaz-López *et al.* (2012), encontraron que plántulas de *J. curcas*, disminuyeron el contenido de biomasa total, sometidas a una concentración igual o mayor a 60 mM de NaCl, y sugieren que esta especie presenta una tolerancia moderada al estrés salino, ya que las plantas fueron capaces de tolerar hasta 4 dS m⁻¹.

8.6.2 Conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO₂

El aumento de NaCl provocó una disminución en la conductividad estomática, transpiración y asimilación de CO₂. Flexas y Medrano (2002), mencionan que el estrés salino genera también un estrés hídrico, el cual producirá el cierre de

estomas, lo que disminuye la tasa de transpiración. La tolerancia y mayor capacidad de respuesta de *J. cinerea* de los factores fisiológicos, se deben a que es una planta nativa de ambientes semiáridos, las hojas son de menor área foliar y raíces con capacidad de almacenar carbohidratos. Las plantas de *J. curcas* son originarias de ambientes tropicales con alta humedad relativa, evitando el déficit de presión de vapor, por lo tanto no se encuentra adaptada a ambientes semiáridos. Las plantas injertadas presentan valores similares a *J. curcas*, dado que su injerto es *J. curcas*. Sin embargo, en la práctica se observa mejor crecimiento de plantas injertadas en comparación a las no injertadas, establecidas en condiciones áridas y esto se debe a que el patrón de las plantas injertadas provee mejor protección a los embates del ambiente. Díaz-López *et al.* (2012), mencionan que la asimilación de CO₂, disminuye con el tratamiento con sal, aplicado a plántulas de *J. curcas*, lo que provoca una disminución en el metabolismo del ciclo de Calvin.

9. CONCLUSIONES

- Los resultados palinológicos, muestran que los granos de polen de las variedades estudiadas, tienen similitudes en las características morfológicas del polen y corresponden filogenéticamente a las asignadas al género. Esta compatibilidad puede aprovecharse en un programa de hibridación para mejorar el rendimiento y contenido de aceite.
- La compatibilidad de injertos de *J. curcas* sobre portainjertos de *J. cinerea*, fue de un 95% de supervivencia del total de plantas injertadas, lo que asegura un mejoramiento de plantas, y la posibilidad de establecer parcelas comerciales.
- En los tratamientos con NaCl, los análisis bioquímicos presentaron un incremento en la actividad enzimática (SOD, CAT y POX), en las variedades estudiadas. Sin embargo *J. cinerea* y *Jatropha* injertada, toleraron mejor el estrés salino, conforme aumenta la concentración de NaCl. Las plantas más afectadas fueron *J. curcas* con una concentración de 100 mM.
- Las plantas injertadas presentaron mayor altura (150.7 cm) y contenido de aceite (51.3%) que las plantas no injertadas, 123.5 cm y 49.2%, respectivamente, sin afectar la composición de los ácidos grasos, en ambos casos.
- El método de enjertación es benéfico porque aumenta la altura de la planta y el peso de las semillas. No afecta el perfil de ácidos grasos del germen de la semilla, por lo tanto, el uso de plantas injertadas es una buena opción para el establecimiento de plantaciones comerciales en suelos de baja calidad (de moderada a alta salinidad), obteniéndose rendimientos homogéneos en menor tiempo.

10. LITERATURA CITADA

Achten, W.M., L.R. Nielsen, R. Aerts, A.G. Lengkeek, E.D. Kjær, A. Trabucco. 2010. Towards domestication of *Jatropha curcas* L. *Biofuels* 1: 91-107.

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. En: Packer, L. (eds.). *Methods in enzymology, oxygen radicals in biological systems*. Academic Press, Inc. EUA. 105: 121-126.

AOAC: Association Society of Official Agricultural Chemists. 2001. *Official Methods of Analysis of AOAC*. 16th edition.

Apel, K., H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annals Rev Plant Biol.* 55: 373-399.

Aqil, F., I. Ahmad, Z. Mehmood. 2006. Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Turk J Biol.* 30: 177-183.

Araiza-Lizarde, N., L. Alcaraz-Meléndez, M.A. Angulo-Escalante, T. Reynoso-Granados, P. Cruz-Hernández, M. Ortega-Nieblas. 2014. Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Jatropha curcas* de poblaciones silvestres en México. *Rev. FCA UNCUYO.* 47(1): 127-137.

Aregheore, E., H. Makkar, K. Becker. 1998. Assessment of Lectin Activity in a Toxic and a Non-toxic Variety of *Jatropha curcas* using Latex Agglutination and Haemagglutination Methods and Inactivation of Lectin by Heat Treatments. *J Sci Food Agric.* 77: 349-352.

Bahadur, B., C.G.K. Ramanuja, G.V.S. Murthy, S. Goverdhan, T.P. Kalpana. 2000. A comparative analysis of LM and SEM studies of *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) pollen. *Geophytology.* 28: 67-75.

Bahadur, B., G. Murthy, M. Sujatha. 2013. Pollen of *Jatropha* L. Taxonomic and Phylogenetic Considerations. En: Bahadur, B., M. Sujatha y N. Carels (eds). *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology*. Springer Science + Business Media New York. 617p.

Baraona, M., E. Sancho. 2000. *Fruticultura General (Fruticultura I)*. EUNED. Segunda edición. San José, Costa Rica. 164p.

Beyer, W., I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxidase dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Annal Biochem.* 16: 559-566.

Bidarigh, S., A. Hatamzadeh, E. Azarpour. 2012. Evaluation of the Effect of BA Hormone Levels of Poinsettia under *in vitro* Culture Condition. World Applied Sciences Journal 18(10): 1425-1427.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72: 248-254.

Budi, S.B., A. Budianto, A.I. Muliarta. 2012. Seed viability of *Jatropha curcas* in different fruit maturity stages after storage. Bioscience. 4(3): 113-117.

Cabello-Ruiz, E.D., F.J. Valdés-Oyervides, A. Benavides-Mendoza, M.A. Núñez-González, J. G. Báez, S., Moreno-Limón, M.L. Cárdenas-Ávila. 2010. Determinación de prolina libre como indicador de estrés en orégano (*Lippia graveolens*). In Memorias XII congreso deficiencia y tecnología de alimentos.

Campos, M.L.D.O., Hsie, B.S.D., Granja, J.A.D.A., Correia, R.M., Almeida-Cortez, J.S.D., Pompelli, M.F. (2012). Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L. under salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology. 24(1): 55-67.

Carels, N. 2013. Towards the Domestication of *Jatropha*: The Integration of Sciences. In: Bahadur B., Sujatha M. & Carels N. (eds.). *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology. Springer Science + Business Media New York. pp. 45-74.

Chang-wei, L., L. Kun, C. You, S. Yongyu. 2007. Floral display and breeding system of *Jatropha curcas* L. For. Stud. China 9: 114-119.

Cholid, M. 2014. Effects of Grafting Time and Grafting Methods Used on Scion and Rootstock Compatibility of Phisyc Nut (*Jatropha curcas* L.). Asian Journal of Agricultural Research. 8(3): 150-163.

Colla, G., Y. Roupaelb, C. Leonardic, Z. Bied. 2010. Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. Scientia Horticulturae. 127: 147-155.

D'Ambrogio, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 83p.

Demarco, D., M. de Moraes, L. Ascensão. 2013. Two laticifer systems in *Sapium haemospermum* — new records for Euphorbiaceae. Botany 91: 545-554.

Dehgan, B. 1984. Phylogenetic Significance of Interspecific Hibridization in *Jatropha* (Euphorbiaceae). Systematic Botany. 9(4): 467-478.

Dehgan, B., G. Webster. 1979. Morphology and Infrageneric Relationships on the Genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). University California Press. Los Angeles, CA. EUA. pp 1-175.

Dhillon, R., M. Hooda, J. Pundeer, K. Ahlawat, S. Kumari. 2009. Development of efficient techniques for clonal multiplication of *Jatropha curcas* L., a potential biodiesel plant. *Current Science*. 96(6): 823-827.

Díaz-López, L., V. Gimeno, V. Lindón, I. Simón, V. Martínez, F. García-Sánchez. 2012. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*. 54(1): 34-42.

Erdtman G. 1969. Handbook of palynology. An introduction to the study of pollen grains and spores. Hafner Publishing Co., New York.

Escoto-González L., R. Flores-Ceballos, E. Maytorena-García. 2013. Análisis de Variables Críticas en la Cadena AgroIndustrial de *Jatropha curcas*. En: Escoto G, I. Contreras, M. Angulo-Escalante. (eds.). Cadena AgroIndustrial de *Jatropha curcas*: Paquetes tecnológicos para el Noroeste de México. Publicia. Saarbrücken, Alemania. pp. 267-338.

Flexas, J., H. Medrano. 2002. Drought inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*. 89: 183-189.

Gomes, F.P., M.A. Oliva, M.S. Mielke, A.A.F. Almeida, L.A. Aquino. 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae*. 126(3): 379-384.

Hagel, J.M., E.C. Yeung, P.J. Facchini. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends Plant Sci*. 13: 631-639.

Heller, J. 1996. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. 66p.

Hishida, M., F. Ascencio-Valle, H. Fujiyama, T. Endo, A. Orduño-Cruz, J. Larrinaga-Mayoral. 2013. Response to salt stress in growth, water relations, and ion content of *Jatropha curcas* and *Jatropha cinerea* seedlings. *Interciencia*. 38(4): 297-304.

Iannetta, M., Colonna, N. 2009. Salinisation in the Mediterranean context, Booklet in the framework of the VI Framework Programma Priorità 1, in: The Framework Of The Vi Framework Programma Priorità. Global Change and Ecosystems, EU SSA Lucinda Project. 20p.

Irigoyen, J., M. Cruz. 2005. Guía Técnica de Semilleros y Viveros Frutales. IICA. Primera edición. Santa Tecla, El Salvador. 39p.

Jongschaap, R.E., W.J. Corré, P.S. Bindraban, W.A. Brandenburg. 2007. Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Global *J. curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Report 158. Available from: <http://library.wur.nl/way/bestanden/clc/1858843.pdf>.

Kar, M., D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57: 315-319.

Kosová, K., I.T. Prášil, P. Vítámvás. 2013. Protein Contribution to Plant Salinity Response and Tolerance Acquisition. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 6757-6789.

Kumar, R.S., K.T. Parthiban, M.G. Rao. 2009. Molecular characterization of *Jatropha* genetic resources through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Biology Reports* 36: 1951-1956.

León de la Luz, J.L., R. Domínguez-Cadena, M. Domínguez-León, R. Coria-Benet. 2014. Flora Iconográfica de Baja California Sur 2. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. 279p.

Lira-Medeiros, C.F., C. Grativol, P.C.G. Ferreira. 2013. Relationship of the Genetic Diversity of *Jatropha curcas* in Brazil and Worldwide. In: Bahadur B., Sujatha M. & Carels N. (eds.). *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology. Springer Science + Business Media New York. pp. 45-74.

Madeira, A., M. Pasqual, L. Ferreira, E. Alves. 2003. Cultivo in vitro de Embriones Zigóticos de *Jatropha*. *Revista Ceres.* 50(288): 183-189.

Makkar, H.P., V. Kumar, O.O. Oyeleye, A.O. Akinleye, M.A. Angulo-Escalante, K. Becker. 2011. *Jatropha platyphylla*, a new non-toxic *Jatropha* species: physical properties and chemical constituents including toxic and antinutritional factors of seeds. *Food Chemistry.* 125: 63-71.

Martínez-Herrera J., P. Siddhuraju, G. Francis, G. Dávila-Ortíz, K. Becker. 2006. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *Food Chemistry.* 96(1): 80-89.

McVaugh. 1945. The genus *Jatropha* in America: principal inter-generic groups. *Bulletin of the Torrey Botanical Club.* 73: 271-294.

- Martínez-Ballesta, M., C. Alcaraz-López, B. Muries, C. Mota-Cadenas, M. Carvajal. 2010. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*. 127: 112-118.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sci.* 7: 405-410.
- Munns, R. 2005. Genes and tolerance: bringing them together. *New phytologist*. 167(3): 645-663.
- Muñoz, J., K. Valerín, S. Alvarenga, E. Alan. 2003. Cultivo *in vitro* de tempate (*Jatropha curcas*). *Tecnología en Marcha*. 16(4): 53-59.
- Navarro, G., S. Navarro. 2013. *Química Agrícola*. Mundi-Prensa. Tercera edición. Madrid, España. 508p.
- Nieto-Ángel, R., W. Borys. 1999. Relaciones Fisiológicas y Morfológicas de Injertos de Frutales sobre Tejocote (*Crataegus* spp.) como Portainjerto. *Chapingo Serie Horticultura*. 5(2): 137-150.
- NOM-O21-SEMARNAT. 2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. *Diario Oficial de la Federación*. 2^{da}. Ed. 85 p.
- OECD, FAO. 2015. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2015*, OECD Publishing, Paris. DOI: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en.
- ONU. 2015. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. *World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables*. New York. Working Paper No. ESA/P/WP. 241p.
- Ovando-Medina, I., F. Espinosa-García, J. Núñez-Farfán, M. Salvador-Figueroa. 2011. State of the art of genetic diversity research in *Jatropha curcas*. *Scientific Research and Essays*. 6(8): 1709-1719.
- Parida, A.K., A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.
- Patel, A.D., Panchal, N.S., Pandey, I.B., Pandey, A.N. 2010. Growth, water status and nutrient accumulation of seedlings of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) in response to soil salinity. In *Anales de biología*. 32: 59-71.
- Parvaiz, A., S. Satyawati. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants a review. *Plant Soil and Environment*. 54(3): 89-99.

Pereira, I., J. Fachinello, L. Corrêa-Antunes, Â. Diniz-Campos, A. Pina. 2014. Incompatibilidade de enxertia em *Prunus*. *Ciência Rural*, Santa Maria. 44(9): 1519-1526.

Poessel, J., F. Ermel, M. Faurovert. 1996. Le point sur les bases physiologiques de la greffe vegetale. *PHM Revue Horticole*. 368: 20-36.

Poulsen, K., F. Stubsgaard. 2000. Tres Métodos de Escarificación Mecánica de Semillas de Testa Dura. En: CATIE (eds). *Técnicas para la Escarificación de Semillas Forestales*. Turrialba, Costa Rica. 60p.

Puji, R., S. Bambang, A. Tri. 2010. Diversity and effectiveness of insect pollinators of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Hayati J Biosci*. 17: 38-42.

Quattrocchi, U. 2012. *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common names, Scientific names, Eponyms, Synonyms and Etymology*. CRC Press. Volumen 5. Florida, EUA. 3960p.

Quiroz, F. 2013. Propagación *in vitro* de *Jatropha curcas*. En: Escoto, G., I. Contreras, M. Angulo (eds). *Cadena AgroIndustrial de Jatropha curcas: Paquetes tecnológicos para el Noroeste de México*. Publicia. Saarbrücken, Alemania. 338p.

Reddy, M.P., P.D. Sudheer, S.G. Mastan, H. Rahman, N. Carels, B. Bahadur. 2013. Karyology and Genomics of *Jatropha*: Current Status and Future Prospects. In: Bahadur B., Sujatha M. & Carels N. (eds.). *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology*. Springer Science + Business Media New York. pp. 45-74.

Rodrigues, C.R., J.A. Silveira, R.A. Viégas, R.M. Moura, R.M. Aragão, E.N. Silva. 2016. Combined effects of high relative humidity and K⁺ supply mitigates damage caused by salt stress on growth, photosynthesis and ion homeostasis in *J. curcas* plants. *Agricultural Water Management*. 163: 255-262.

Rojas, S., J. García, M. Alarcón. 2004. *Propagación Asexual de Plantas*. Corpoica. Bogotá, Colombia. 57p.

Ruiz, E., R.J. Aldaco, M. Montemayor, M. Fortis, J. Olague, J. Villagómez. 2007. Aprovechamiento y mejoramiento de un suelo salino mediante el cultivo de pastos forrajeros. *Téc Pecu Méx*. 45(1): 19-24.

Saad, I., Ghazahy, G. 1988. Pollen morphology of some species of Euphorbiaceae. *Grana*. 27: 165-175.

Sáenz Laín, C. 2004. Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa*. 25: 93-112.

Saenz de Rivas. 1976. Sobre la Nomenclatura Palinológica: La Esporodermis. Anal. Inst. Bot. Cavanilles. 33: 159-177.

Salinas, N., V. Armijos, P. Jiménez, K. Proaño. 2011. Caracterización y Estudio de la Diversidad Genética del Piñón (*Jatropha curcas*) Mediante el Uso de Marcadores Moleculares. Ciencia. 14: 31-40.

Santos, D., C. Ferreira, J. Rodrigues, T. Teixeira, E. Alves, C. Gontijo, M. Pasqual. 2013. Cytological characterization of *Jatropha curcas* callus in different periods of cultivation. Crop Breeding and Applied Biotechnology. 13: 228-233.

Seki, M., T. Umezawa, K. Urano, K. Shinozaki. 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. Current Opinion in Plant Biology. 10(3): 296-302.

Solís-Ramos, L., L. Miranda, M. Valdez-Melara. 2013. Establishment of cell suspension cultures of two Costa Rican *Jatropha* species (Euphorbiaceae). Rev. Biol. Trop. 61(3): 1095-1107.

Solomon, A., V. Ezradanam. 2002. Pollination ecology and fruiting behaviour in a monoecious species, *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) Current Science. 83(11): 1395-1398.

Sosa-Segura, M., B. Oomah, J. Drover, J. Heredia, T. Osuna-Enciso, J. Valdez-Torres, E. Salazar-Villa, F. Soto-Landeros, M.A. Angulo-Escalante. 2014. Physical and Chemical Characterization of Three Non-Toxic Oilseeds from the *Jatropha* Genus. Journal of Food and Nutrition Research. 2(1): 56-61.

Soto-Landeros, F., L. Alcaraz-Meléndez, M.A. Angulo-Escalante, T. Reynoso-Granados, A. Orduño-Cruz, P. Cruz-Hernández, F. Herrera-Cedano. 2016. Anatomical compatibility of *Jatropha curcas* (L.) graft on *Jatropha cinerea* (Ortega) Muell.Arg rootstock. Nova Scientia. 8(2): 249-262.

Spjut, R., R. Marin. 2000. Baja California Plants Screened for Antitumor Activity. The Symposium IV on Botany Research of Baja California, Ensenada, Mexico. http://www.worldbotanical.com/baja_california_plants_screened.htm

Sujatha, M., B. Bahadur, T.P. Reddy. 2013. Interspecific Hybridization in the Genus *Jatropha*. In: Bahadur B., Sujatha M. & Carels N. (eds.). *Jatropha*, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology. Springer Science + Business Media New York. pp 423-444.

Sunil, N., V. Kuma, K.S. Varaprasad. 2013. Origin, Domestication, Distribution and Diversity of *Jatropha curcas* L. In: Bahadur B., Sujatha M. & Carels N. (eds.).

Jatropha, Challenges for a New Energy Crop: Volume 2: Genetic Improvement and Biotechnology. Springer Science + Business Media New York. pp 137-152.

Suzuki, K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. In: Taniguchi, N., Gutteridge, J. (eds). Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species. Oxford University Press. New York, EUA. pp 91-95.

Taiz, L., E. Zeiger. 2006. Fisiología Vegetal. Universitat Jaume I. Tercera edición. Castelló de la Plana, España. 1338p.

Trabucco, A., W.M. Achten, C. Bowe, R. Aerts, J.V. Orshoven, L. Norgrove, B. Muys. 2010. Global mapping of *Jatropha curcas* yield based on response of fitness to present and future climate. GCB Bioenergy. 2: 139–151. doi:10.1111/j.1757-1707.2010.01049.x

Turan, S., B.C. Tripathy. 2015. Salt-stress induced modulation of chlorophyll biosynthesis during de-etiolation of rice seedlings. Physiologia Plantarum. 153: 477-491.

UN. 2015. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables. New York. Working Paper No. ESA/P/WP. 241p.

Vega-Aviña, R., H. Aguiar-Hernández, J. Gutiérrez-García, J. Hernández-Vizcarra, I. Vega-López, J. Villaseñor. 2000. Endemismo Regional Presente en la Flora del Municipio de Culiacán, Sinaloa, México. Acta Botanica Mexicana. 53: 1-15.

Wang, X.R., G.J. Ding. 2012. Reproductive biology characteristic of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). Revista de Biología Tropical (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744). 60(4): 1525-1533.

Wilbur, R.L. 1954. A synopsis of *Jatropha*, subsections Eucurcas, with the description of two new species from Mexico. Journal Elisha Mitchell Scientific Society. 70: 92-101.

Wassner, D., M. Borrás, C. Vaca-Garcia, E. Ploschuk. 2016. Harvest date modifies seed quality and oil composition of *Jatropha curcas* growth under subtropical conditions in Argentina. Industrial Crop and Products. 94: 318-326.

Willan, R.L. 2000. Pre-tratamiento de Semillas. En: CATIE (ed). Técnicas para la germinación de semillas. Turrialba. Costa Rica. 57p.

Yetman, D., T. Van. 2002. Mayo Ethnobotany: Land, History and Traditional Knowledge in Northwest México. University of California Press. Los Angeles California, EUA. 372p.

Zhu, J. 2001. Plant salt tolerance. *Trens Plant Sci.* 6: 66-71.