



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**Características biofísicas y químicas de plantas
MAC en relación con su domesticación, especie
y humedad en el suelo**

FRANCISCA GARCÍA NAVA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2014

La presente tesis, titulada: **Características biofísicas y químicas de plantas MAC en relación con su domesticación, especie y humedad en el suelo**, realizada por la alumna: **Francisca García Nava**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS
BOTÁNICA
CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA:



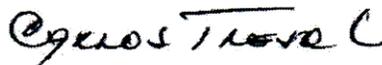
DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA

ASESOR:



DR. JOSÉ RODOLFO GARCÍA NAVA

ASESOR:



DR. CARLOS TREJO LÓPEZ

ASESOR:



DR. JUAN ANTONIO REYES AGÜERO

ASESOR:



DR. JUAN ROGELIO AGUIRRE R.

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Enero de 2014

CARACTERÍSTICAS BIOFÍSICAS Y QUÍMICAS DE PLANTAS MAC EN RELACIÓN CON SU DOMESTICACIÓN, ESPECIE Y HUMEDAD EN EL SUELO

Francisca García Nava, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN GENERAL

El objetivo del estudio fue evaluar 15 variantes de nopal representantes de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, definido por características morfológicas, y siete especies de *Agave* pertenecientes a los subgéneros *Littaea* y *Agave*, con diferente grado de humanización, en condiciones de invernadero y con riego o con su suspensión. La hipótesis es que las características biofísicas y químicas de los nopales y las hojas difieren entre las especies como resultado de su nivel de domesticación o grado de humanización independientemente de la humedad del suelo y de la especie. Se realizaron experimentos con diseño completamente al azar, número variable de tratamientos, seis repeticiones (una planta como unidad experimental) y se aplicó ANDEVA, comparación múltiple de medias y análisis de componentes principales a los resultados. La firmeza (entre 4.57 y 7 kgf), el contenido de sólidos solubles totales (SST, entre 4.8 y 6.5° Brix), la acidez (entre 0.6 y 0.85 g ácido málico por 100g tejido fresco) y la permeabilidad relativa de las membranas celulares (13.55 a 31 %), fueron variables entre las especies e incrementaron con el gradiente de domesticación; en contraste, el potencial de agua (ψ_A , entre -0.8 y -1.2 MPa) y el potencial osmótico (ψ_S , entre 0.65 y 1.2 MPa) disminuyeron con el gradiente de domesticación. El análisis de componentes principales (CP) reveló que la permeabilidad de las membranas celulares y los SST son los atributos principales de los nopales que contribuyen a la separación de las especies con grado menor (*O. streptacantha*) y mayor (*O. ficus-indica*) de domesticación como entidades biológicas independientes. La firmeza (distancia de penetración en mm de un puntal 117.3 g con caída libre de 4 s) de la hoja de maguey (entre 0.05 y 0.25 mm), SST (entre 10 y 23 °Brix), el ψ_S (entre -0.8 y 1.4 MPa), la permeabilidad relativa de las membranas celulares (entre 20 y 75 %) y el contenido total de clorofila (entre 10 y 55 mg por 100 g tejido húmedo) son parcialmente dependientes de la humedad del suelo y son dependientes de la especie. Las modificaciones de las características biofísicas y fisiológicas de las especies de *Opuntia* si han seguido un patrón definido con la domesticación, en contraste las de maguey no muestran un patrón único con la humanización.

Palabras clave: *Opuntia*, *Agave*, domesticación, características biofísicas, características químicas, maguey, nopal, suspensión de humedad.

CHEMISTRY AND BIOPHYSICS CHARACTERISTIC OF CAM PLANTS AS INFLUENCED BY DOMESTICATION, SPECIE AND SOIL HUMIDITY.

Francisca García Nava, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate 15 variants of nopal belonging to five species of *Opuntia* in a domesticated gradient defined by morphologic characteristics and seven *Agave* species (Subgenera *Littaea* and *Agave*) of plants grown in a greenhouse and as influenced by the level of watering. The hypothesis was that the biophysics and chemistry characteristics of nopalitos and the *Agave* leaves are different among the species due to their level of domestication independently of the soil humidity and specie. Experiments were made in a complete randomize design, variable number of treatments, six replications (one plant as an experimental unit). The data were analysed by ANOVA, Tukey multiple mean comparison and principal components. The nopal firmness (from 4.57 to 7 kgf), the soluble content solids (TSS, from 4.8 to 6.5° Brix), the acidity (from 0.6 to 0.85 g malic acid per 100g fresh tissue) and the relative permeability of cellular membrane (from 13.55 to 31 %), were variables among species and increased with the domestication gradient. In contrast, the water potential (ψ_A , from -0.8 to -1.2 MPa) and the osmotic potential (ψ_S , from 0.65 to 1.2 MPa) diminished with the domestication gradient. The principal components analysis (PCA) showed that membrane permeability and TSS were the main variables of the nopalitos that contributed to the separation of the species with low (*O. streptacantha*) and high (*O. ficus-indica*) domestication level and as a consequence as biological independent entities. The *Agave* leave firmness (from 0.05 to 0.25 mm), TSS (from 10 and 23 °Brix), the ψ_S (from -0.8 to 1.4 MPa), relative permeability of the cell membrane (from 20 and 75 %) and the chlorophyll total content (from 10 an 55 mg per 100 g of fresh tissue) were partially dependent of the soil humidity and specie. The biophysics and physiological modifications of *Opuntia* follow a pattern defined by the domestication, in contrast with maguey which showed a different pattern to the degree of domestication.

Key words: *Opuntia*, *Agave*, domestication, biophysics characteristics, chemistry characteristics, maguey, CAM, nopal, humidity restriction.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por facilitarme la beca que hizo posible ampliar mis estudios.

Al Colegio de Postgraduados por haberme dado su voto de confianza y por todo el apoyo otorgado a mí persona.

A mi consejera la Dra. Cecilia Peña-Valdivia me gustaría agradecerle, sus valiosas enseñanzas, comentarios y sugerencias, por todo el tiempo invertido para la realización de este trabajo, por su paciencia, su comprensión y apoyo en los momentos difíciles, y su trato siempre amable y cordial.

Agradezco a los miembros de mi comité, al Dr. J. Rodolfo García Nava, al Dr. Carlos Trejo López, al Dr. Antonio Reyes-Agüero por el apoyo que me otorgo para la recolecta del material vegetativo para el desarrollo de este estudio, y al Dr. J. Rogelio Aguirre Rivera, por formar parte de mi comité, por sus valiosos comentarios y revisión de la tesis.

Al Dr. J. Rodolfo García Nava por haberme apoyado todo este tiempo. Gracias por tus consejos, sugerencias y ánimos constantes, así como tu trato siempre afable y tu buen humor.

Al Dr. Clemente Gallegos, por proporcionarme el material vegetativo para la realización de este trabajo.

Al MC. Antonio García E. y el Dr. Kohashi Shibata por el apoyo logístico prestado durante la realización de este trabajo.

A la MC. Ana Bertha Galicia del laboratorio de Fisiología Vegetal Ambiental y Biofísica por su colaboración y ayuda en el laboratorio, pero principalmente por su amistad, confianza y por hacer de mi estancia en el laboratorio aún más agradable.

Al señor Ricardo García y la señora Irma Alvarado, por su apoyo en las labores del invernadero.

A mis compañeros de laboratorio. Ana, Maki, Karina, Gisela, Balois, Ayné, Christian, Huitzi y Raquel.

Les dedico esta tesis a las personas más importantes en mi vida, a mi familia y en especial a mis padres Rodolfo y Teresa, y aunque ya no se encuentren físicamente conmigo, siempre estaré agradecida porque sin escatimar esfuerzo alguno, sacrificaron gran parte de su vida para formarme, apoyarme, cuidarme y darme todo su amor. Este logro es tanto mío como suyo.

Agradezco a mis hermanos Rodolfo, Mauricio y Víctor, por la paciencia y el apoyo incondicional que me han otorgado en los momentos más difíciles, por siempre estar cuando los necesito y por darme ánimos constantes, ya que sin su ayuda no hubiera sido posible la terminación de mis estudios.

A Carmen y mis sobrinas Tere y Cinthya, les agradezco por formar parte de nuestra familia.

A mis tíos Alicia y Antonio por su disponibilidad en todo momento.

Finalmente, y sin afán de olvidar a alguien, doy espacio a todas y cada una de las personas que en mi camino he tenido el placer de haber conocido y que hoy, indudablemente, forman parte de lo que soy.

INDICE GENERAL

RESUMEN GENERAL	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 LITERATURA CITADA	7
2. CARACTERÍSTICAS BIOFÍSICAS Y QUÍMICAS DE NOPALITOS (<i>Opuntia</i> spp.) EN CONDICIONES DE RIEGO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN	11
2.1 Resumen	11
2.2 Abstract	12
2.3 Introducción	13
2.4 Materiales y métodos.....	16
2.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento.....	16
2.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico.....	19
2.5 Resultados y discusión	19
2.5.1 Firmeza	19
2.5.2 Sólidos solubles totales	24
2.5.3 Potencial osmótico del tejido (ψ_s)	28
2.5.4 Permeabilidad de las membranas celulares	32
2.6 Conclusiones	42
2.7 Literatura citada	42
3. CARACTERÍSTICAS BIOFÍSICAS Y QUÍMICAS DE NOPALITOS (<i>Opuntia</i> spp.) CON RESTRICCIÓN DE HUMEDAD EN EL SUELO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN	47
3.1 Resumen	47
3.2 Abstract	48
3.3 Introducción	49
3.4 Materiales y métodos.....	52

3.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento	52
3.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico.....	57
3.5 Resultados y discusión	57
3.5.1 Firmeza	57
3.5.2 Potencial de agua de los tejidos	61
3.5.3 Potencial osmótico de los tejidos	63
3.5.4 Potencial de turgencia	66
3.5.5 Acidez	68
3.5.6 Sólidos solubles totales	71
3.5.7 Permeabilidad de las membranas celulares	74
3.6 Conclusiones	83
3.7 Literatura citada	83
4. CAMBIOS DE LA ACIDEZ DE NOPALITOS (<i>Opuntia</i> spp.) EN CONDICIONES DE RIEGO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN	90
4.1 Resumen	90
4.2 Abstract	91
4.3 Introducción	92
4.4 Materiales y métodos.....	94
4.4.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	94
4.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico.....	96
4.5 Resultados y Discusión.....	96
4.5.1 Acidez titulable	96
4.6 Conclusiones	102
4.7 Literatura citada	102
5. FIRMEZA, SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES Y POTENCIAL OSMÓTICO DE HOJAS DE MAGUEY (<i>Agave</i> spp.) Y SU RELACIÓN CON LA ESPECIE Y HUMEDAD EN EL SUELO.....	105
5.1 Resumen	105
5.2 Abstract	107

5.3	Introducción	109
5.4	Materiales y métodos	110
5.4.1	Material vegetal y condiciones de crecimiento	110
5.4.2	Diseño experimental y análisis estadístico	115
5.5	Resultados y discusión	115
5.5.1	Firmeza	115
5.5.2	Sólidos solubles totales	120
5.5.3	Potencial osmótico	126
5.6	Conclusiones	139
5.7	Literatura citada	139
6.	PERMEABILIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES Y CONTENIDO DE CLOROFILA DE HOJAS DE MAGUEY (<i>Agave spp.</i>) Y SU RELACIÓN CON LA ESPECIE Y HUMEDAD DEL SUELO.....	145
6.1	Resumen	145
6.2	Abstract	146
6.3	Introducción	147
6.4	Materiales y métodos	150
6.4.1	Material vegetal y condiciones de crecimiento	150
6.4.2	Diseño experimental y análisis estadístico.....	153
6.5	Resultados y discusión	153
6.5.1	Permeabilidad de las membranas celulares	153
6.5.2	Contenido de clorofila	159
6.6	Conclusiones	167
6.7	Literatura citada	167
7.	DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES	172
8.	LITERATURA CITADA.....	182

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 2.1.** Valores propios y proporción de la varianza acumulada de los tres primeros CP, obtenidos a partir de las características físicas y químicas de ocho variantes de nopalitos (*Opuntia* spp.)..... **39**
- Cuadro 3.1** Liberación de electrolitos expresada como conductividad eléctrica del medio acuoso de suspensión del tejido de nopalitos frescos y descongelados..... **75**
- Cuadro 3.2.** Valores propios y proporción de la varianza acumulada de los tres primeros componentes principales (CP), obtenidos con las características físicas y químicas de 15 variantes de nopalitos (*Opuntia* spp.)..... **81**
- Cuadro 5.1.** Diferencias taxonómicas, reproductivas y del ambiente de origen de las especies de *Agave* evaluadas^a. **112**

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Firmeza (\pm e.e.) a lo largo de los nopalitas de tres especies de <i>Opuntia</i> (n= 10).	20
Figura 2.2. Firmeza promedio a lo ancho de nopalitas (+ e.e.) de ocho variantes de cinco especies (cada una representada por un color) de <i>Opuntia</i> (n=3).	22
Figura 2.3. Firmeza promedio de nopalitas (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n= 3 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).....	24
Figura 2.4. Sólidos solubles totales promedio (\pm e.e.) a lo largo de nopalitas de tres especies de <i>Opuntia</i> (n= 10).....	25
Figura 2.5. Sólidos solubles totales promedio (+ e.e.) de nopalitas de ocho variantes, de cinco especies (cada una representada por un color) de <i>Opuntia</i> (n= 10).....	26
Figura 2.6. Sólidos solubles totales promedio de nopalitas (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n=10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie). .	27
Figura 2.7. Potencial osmótico promedio (- e.e.) de tejido fresco a lo largo de nopalitas de tres especies de <i>Opuntia</i> (n= 10)	29
Figura 2.8. Potencial osmótico (- e.e.) promedio de tejido fresco de nopalitas de ocho variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n= 10)	30
Figura 2.9. Potencial osmótico promedio (- e.e.) de tejido fresco de nopalitas de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n= 10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).	31
Figura 2.10. Conductividad eléctrica promedio (+ e.e) del medio acuoso, en función del tiempo, de segmentos de tejido fresco de la base, centro y ápice de nopalitas de tres especies de <i>Opuntia</i> , crecidos en condiciones de invernadero y riego (n= 10)	34
Figura 2.11. Conductividad eléctrica promedio (+ e.e.) generada en el medio acuoso por segmentos de tejido fresco de nopalitas (<i>Opuntia</i> spp.), en un gradiente de domesticación, cultivados en condiciones de invernadero y riego (n= 10)	35
Figura 2.12. Conductividad eléctrica media en medio acuoso generada por el tejido fresco de nopalitas (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n= 10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).	36
Figura 2.13. Permeabilidad relativa de las membranas celulares (+e.e) de tejido de ocho variantes de nopalitas, cultivados con riego y en condiciones de invernadero.	

Cada barra es el promedio de la relación: conductividad eléctrica del medio acuoso de tejido fresco después de 3 h, sobre la conductividad generada por el tejido muerto, por congelación, multiplicada por 100 (n= 10).....	37
Figura 2.14. Permeabilidad relativa de las membranas celulares (+ e.e.) de nopalitos de cinco especies de <i>Opuntia</i> (n=10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).	38
Figura 2.15. Ordenación en tres componentes principales (CP) de nopalitos, de ocho variantes, de cinco especies de <i>Opuntia</i> , basada en cuatro características biofísicas y químicas.	40
Figura 3.1. Firmeza promedio (+ e.e) de los nopalitos de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).....	59
Figura 3.2. Firmeza promedio de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la firmeza de tres variantes por especie (n=18).	60
Figura 3.3. Potencial de agua promedio de nopalitos (- e.e.) de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).....	61
Figura 3.4. Potencial de agua promedio de tejido fresco de los nopalitos (- e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial de agua de tres variantes por especie (n=18).....	62
Figura 3.5. Potencial osmótico promedio de nopalitos (-e.e.) de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> (cada especie representada por un color) cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).	64
Figura 3.6. Potencial osmótico de nopalitos (-e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial osmótico de tres variantes por especie (n=18).....	65
Figura 3.7. Potencial de turgencia de nopalitos (+ e.e.) de 15 variantes de <i>Opuntia</i> spp. cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).....	66
Figura 3.8. Potencial de turgencia de nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial de turgencia de tres variantes por especie (n=18).	67
Figura 3.9. Acidez de los nopalitos (+ e.e.) de variantes de <i>Opuntia</i> muestreados a las 5:00 h y 13:00 h cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).....	69

Figura 3.10. Acidez titulable promedio de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> , muestreados a las 5:00 h y 13:00 h, en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la acidez titulable de tres variantes por especie (n=18).....	70
Figura 3.11. Sólidos solubles totales de los nopalitos (+ e.e.), a las 5:00 h y 13:00 h, de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).....	72
Figura 3.12. Sólidos solubles totales de los nopalitos (+ e.e.), a las 5:00 h y 13:00, de cinco especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de los SST de tres variantes por especie (n=18).....	73
Figura 3.13. Conductividad eléctrica del medio acuoso generada por el tejido fresco de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la conductividad eléctrica de tres variantes por especie (n=18).	76
Figura 3.14. Conductividad eléctrica del medio acuoso generada por los tejidos descongelados de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la conductividad eléctrica de tres variantes por especie (n=18).....	78
Figura 3.15. Ordenación en tres componentes principales (CP) de nopalitos, de 15 variantes, de cinco especies de <i>Opuntia</i> , basada en seis características biofísicas y químicas.	82
Figura 4.1. Acidez diurna y nocturna de nopalitos de <i>Opuntia</i> cultivados con riego en invernadero (n= 4, ± e.e).....	97
Figura 4.2. Acidez diurna y nocturna de nopalitos de <i>O. streptacantha</i> , <i>O. megacantha</i> y <i>O. ficus-indica</i> cultivados en invernadero con riego. Cada valor representa el promedio de la acidez de tres variantes por especie (n=12, ± e.e).	100
Figura 5.1. Firmeza promedio de la base al ápice (+ e.e.) de las hojas de plantas de <i>Agave</i> spp. de 2 años de edad, con riego semanal o su suspensión durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero. (A) <i>A. striata</i> , <i>A. lechuguilla</i> , (B) <i>A. salmiana</i> , <i>A. aspérrima</i> , <i>A. cupreata</i> , y (C) <i>A. angustifolia</i> y <i>A. americana</i> . La firmeza en mm es la distancia de penetración de un puntal cónico de 117.33 g de peso, 1.2 mm de diámetro y con caída libre por un intervalo de 4 s desde la inmediación superior de la hoja (n=3, P≤0.05).	118

Figura 5.2. Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en la firmeza promedio (+ e.e) de las hojas de *Agave* spp. La firmeza en mm es la distancia de penetración de un puntal cónico de 117.33 g de peso, 1.2 mm de diámetro y con caída libre por un intervalo de 4 s desde la inmediación superior de la hoja ($P \leq 0.05$). Cada barra es el promedio de tres secciones entre la base y el ápice foliar ($n = 9$). **119**

Figura 5.3. Sólidos solubles totales promedio de la base al ápice (+ e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o su suspensión durante un 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero ($n=9$, $P \leq 0.05$). (A) *A. striata*, *A. lechuguilla*, (B) *A. salmiana*, *A. aspérrima*, *A. cupreata*, y (C) *A. angustifolia* y *A. americana*. **122**

Figura 5.4. Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en el contenido de sólidos solubles totales promedio (+e.e) de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de tres secciones entre la base y el ápice foliar ($n=27$, $P \leq 0.05$). **124**

Figura 5.5. Potencial osmótico total promedio de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o su suspensión durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero ($n=3$, $P \leq 0.05$). (A) *Agave striata*, *A. lechuguilla*, (B) *A. salmiana*, *A. aspérrima*, *A. cupreata*, (C) *A. angustifolia* y *A. americana*. **128**

Figura 5.6. Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en el potencial osmótico total promedio (-e.e) de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar ($n=15$, $P \leq 0.05$). **129**

Figura 5.7. Potencial osmótico del parénquima de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o su suspensión durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero ($n=3$, $P \leq 0.05$). (A) *A. lechuguilla*, (B) *A. salmiana*, *A. aspérrima*, *A. cupreata*, (C) *A. angustifolia* y *A. americana*. **132**

Figura 5.8. Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en el potencial osmótico promedio (-e.e) del parénquima de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar ($n=15$, $P \leq 0.05$). **134**

Figura 5.9. Potencial osmótico del tejido de clorénquima de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o su suspensión durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero ($n=3$, $P \leq 0.05$). (A) *A. lechuguilla*, (B) *A. salmiana*, *A. aspérrima*, *A. cupreata* (C) *A. angustifolia* y *A. americana*. **136**

Figura 5.10 Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en el potencial osmótico promedio (-e.e) del clorénquima de las hojas de <i>Agave</i> spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar (n= 15, P≤0.05).....	138
Figura 6.1 Cambios de la conductividad eléctrica del medio acuoso (+ e.e.) en el tiempo de permanencia de segmentos de hojas de plantas de 2 años de edad, de <i>Agave</i> spp., del subgénero <i>Littaea</i> , con riego semanal o su suspensión por 1 año y 8 meses, cultivadas en condiciones de invernadero (n=9).	155
Figura 6.2 Cambios de la conductividad eléctrica del medio acuoso (+ e.e.) en el tiempo de permanencia de segmentos de hojas de plantas de 2 años de edad, de <i>Agave</i> spp., del subgénero <i>Agave</i> , con riego semanal o su suspensión por 1 año y 8 meses, cultivadas en condiciones de invernadero (n=9).	156
Figura 6.3 Efecto del riego y su suspensión por 1 año y 8 meses en la permeabilidad relativa de la membranas celulares (+e.e.) de hojas de plantas de <i>Agave</i> spp. Cada barra es el promedio de la relación: conductividad eléctrica del medio acuoso de cinco secciones de las hojas frescas, después de 3 h, sobre la conductividad generada por el tejido muerto, por congelación, multiplicada por 100 (n=15).	158
Figura 6.4. Contenido de clorofila (+e.e.) de la base al ápice de las hojas de plantas de <i>Agave</i> spp. de 2 años de edad, con riego semanal o restringido durante 1 año y ocho meses, en condiciones de invernadero. Clorofila a, b y total (n=3).	161
Figura 6.5. Contenido de clorofila (+e.e.) de la base al ápice de las hojas de plantas de <i>Agave</i> spp. de 2 años de edad, con riego semanal o restringido durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero. Clorofila a, b y total (n=3).	162
Figura 6.6 Contenido de clorofila total (+ e.e), clorofila a y clorofila b en hojas de plantas de <i>Agave</i> spp. de 2 años de edad, con riego semanal (A) y su suspensión durante 1 año y 8 meses (B), en condiciones de invernadero. Cada barra es el promedio de cinco secciones a lo largo de la hoja (n=15).	165

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas con metabolismo fotosintético ácido de las crasuláceas (MAC) generalmente son nativas de regiones áridas y semiáridas, se distinguen por sus características morfológicas y fisiológicas que representan una ventaja adaptativa en ambientes con agua limitada (Nobel, 1988). Las plantas MAC fijan el CO₂ durante la noche y lo almacenan en forma de ácido málico, aumentan la descarboxilación de CO₂ internamente durante el día, cuando los estomas tienden a permanecer cerrados; debido a estas y otras características, como la evapotranspiración disminuida, las plantas MAC logran alta eficiencia en el uso del agua (Osmond, 1978; Winter y Smith, 1996).

Se considera que aproximadamente 7% de las plantas vasculares son del tipo MAC (Andrade *et al.*, 2007; Nobel, 2010), entre ellas están las familias Agavaceae y Cactaceae. El uso de plantas MAC en México es ancestral (Bravo, 1978). Los registros arqueobotánicos muestran que los géneros *Agave* y *Opuntia* surgieron hace 8 a 10 millones de años (Callen, 1965 citado por Nobel *et al.*, 2002 y García-Moya, 2011), y que México es el centro de origen de ambas familias, Cactaceae y Agavaceae (Gallegos-Vásquez *et al.*, 2006, García, 2007).

El género *Opuntia* subfamilia Opuntioideae, familia Cactaceae, incluye xerofitas de 189 especies; de ellas 83 son mexicanas y han sido agrupadas en 17 series (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). La riqueza de variantes silvestres y cultivares del mundo puede encontrarse en al menos 126 especies con diferente grado de humanización (Reyes-Agüero *et al.*, 2009) y se ha sugerido que las especies de la serie *Streptacanthae* son relevantes en el proceso de domesticación de *Opuntia* y fuente de numerosas especies con interés económico (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Con base en diversas características morfológicas y abundancia de variantes pudo ser identificado un gradiente de domesticación de las especies de *Opuntia* (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), entre las que, por su relevancia, están *O. streptacantha* Lem. en el extremo silvestre, *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber., *O. megacantha* Salm-Dyck., *O. albicarpa* Scheinvar. y *O. ficus-indica* (L.) Mill, con el mayor grado de domesticación y mayor relevancia económica en el mundo (Kiesling, 1998) y una de las más versátiles, ya que ocupa sitios geográficos y hábitats diversos (Bravo, 1978). En México, los cultivares de *O.*

ficus-indica se encuentran exclusivamente en ambientes protegidos en plantaciones o huertos de traspatio (Reyes-Agüero *et al.* 2004).

El cultivo del nopal en México es de gran importancia por su consumo como alimento (nopalitos frescos) y su uso como materia prima para elaborar productos farmacéuticos y cosméticos, como forraje, para la producción de cochinilla y como combustible (Stintzing y Carle, 2005). El uso múltiple de los nopales es, en parte, debido a su contenido u obtención a partir de ellos de fibra, vitaminas, esteroides, minerales, antioxidantes, hidrocoloides, colorantes naturales (Sáenz, 2004), aceite comestible de la semilla y productos de la fermentación (Corrales y Flores, 2003). Además, los frutos son utilizados para preparar jugos, jaleas y mermeladas en la industria tradicional de los alimentos. Se ha señalado que, en parte, una de las propiedades del nopal que lo ubica entre los alimentos catalogados con valor nutraceutico es su riqueza en polisacáridos estructurales (fibra alimentaria, polisacáridos no-disponibles) (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009), ya que se ha demostrado su efecto en la reducción del colesterol y prevención de diabetes (Stintzing y Carle, 2005).

La importancia del nopal en México se refleja en la superficie designada a su cultivo, en el consumo y riqueza de sus especies y variantes. En México existen más de 10,500 ha utilizadas para la producción de nopalitos consumidos principalmente como verdura (Flores, 2001); su cultivo ocupa el 14° lugar por superficie sembrada y el 6° lugar por su producción entre las principales hortalizas (Financiera Rural, 2011).

Por otro lado el género *Agave* incluye especies de importancia económica y está compuesto exclusivamente de plantas MAC (Davis *et al.*, 2011). Evidencias científicas indican que las plantas de *Agave* spp. se cultivaron después del maíz, en el desarrollo de la agricultura en Mesoamérica (Farnsworth *et al.*, 1985) y que las poblaciones naturales se dispersaron desde el suroeste de los Estados Unidos a través de América Central, el Caribe y el norte de América del Sur (García, 2007). El género *Agave* es endémico de América, de sus aproximadamente 200 especies 150 pueden encontrarse en México (García, 2002) y han sido agrupadas en los subgéneros *Agave* y *Littaea* (Gentry, 1982).

Las plantas de *Agave* han sido utilizadas desde la antigüedad para satisfacer y complementar necesidades básicas: alimento, forraje, medicamento, construcción y ornamentales, entre otras (Espinoza-Paz *et al.*, 2003); actualmente continúa su uso para fines diversos, entre los que destaca la elaboración de bebidas fermentadas y destiladas (derivadas principalmente del tallo) y fibras (extraídas principalmente de las hojas) (Colunga-García y Zizumbo, 2007; Davis *et al.*, 2011).

Es el caso de *A. tequilana*, una de las especies más importante, por que se utiliza para producir tequila, el cual es consumido en todo el mundo. Esta especie se cultiva principalmente en Jalisco y el área de cultivo ha alcanzado 62,000 ha (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001). Además, cerca de 10 especies de *Agave* son cultivadas para la elaboración de mezcal, bebida destilada que ha adquirido importancia internacional (Nobel, *et al.*, 2002). Además, recientemente han sido reconocidos como una posible fuente de biocombustible, los carbohidratos que se acumulan en sus tallos y la lignocelulosa de sus hojas (Borland *et al.*, 2009). Debe destacarse que además de la importancia económica que el género *Agave* representa para México, tiene gran relevancia ecológica, ya que muchas de sus especies son dominantes en los ecosistemas del país (Eguiarte *et al.*, 2000).

En México, la mayor parte de la superficie cultivada con *Opuntia* y *Agave* se localizan principalmente en las zonas áridas y semiáridas, sujetas a fuertes restricciones edafo-climáticas con precipitación escasa, ya que la estación seca puede extenderse por 6 a 8 meses, suelos pobres y temperaturas elevadas, en las que el desarrollo de los cultivos tradicionales es prácticamente imposible (Borrego y Burgos, 1986). Esas condiciones modulan las respuestas ecofisiológicas de las plantas y determinan el éxito o fracaso de nuevas plantaciones comerciales (Davis *et al.*, 2011). Lo anterior confirma la necesidad de entender los mecanismos biofísicos, fisiológicos y bioquímicos que controlan la reacción de las especies vegetales a ciertos factores abióticos, como el déficit de humedad; además, así como las particularidades y generalidades de la reacción entre especies y variantes.

El déficit de agua generalmente provoca estrés que se manifiesta como alteraciones múltiples. Es el caso de las modificaciones en las membranas celulares, pues se han comprobado cambios en sus propiedades fisicoquímicas, lípidos y

actividades enzimáticas dependientes de la integridad de las membranas; estos cambios provocan numerosas modificaciones fisiológicas, bioquímicas, y de otros tipos (García *et al.*, 2008; Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2003).

Una respuesta que caracteriza a los tejidos de las plantas que crecen bajo déficit de agua, por períodos de días, semanas o meses, es el aumento de la liberación de solutos cuando esos tejidos son colocados en agua desionizada (García-Ruiz *et al.*, 2008; Palta, 1990). Por lo que una forma de evaluar el daño por déficit de humedad en los tejidos es mediante la cuantificación e identificación de los iones liberados al medio por los tejidos dañados (Prásil y Zámecník, 1998; Sánchez-Urdaneta *et al.* 2003 y 2004).

El éxito de especies que toleran y crecen con potenciales de agua bajos (del sustrato y los tejidos), como *Opuntia* y *Agave*, se debe en gran parte a que poseen metabolismo ácido crasuláceo (MAC), cuya característica principal es la alta eficiencia en el uso del agua, caracterizada por su apertura nocturna de estomas. Esto se asocia con características estructurales, que le permite retener y almacenar agua por periodos largos, como densidad baja de estomas, cutícula gruesa y volumen prominente de sus tejidos vegetativos en los que almacenan agua, característica conocida como succulencia (García *et al.*, 2008; Nobel *et al.*, 2002).

Los cambios en el potencial de agua del suelo (Ψ_A), el contenido de agua del tejido o el grosor del tallo podrían estar relacionados con un decremento en la conductancia estomatal y dar como resultado un decremento en la fijación del CO_2 , monitorear estos parámetros y conocer sus cambios puede ayudar a tomar decisiones acerca de la aplicación esporádica de riegos comparado con riegos continuos (Davis *et al.*, 2011).

García *et al.* (2008) evaluaron la alteración en las membranas celulares provocadas por un decremento del Ψ_A del suelo en cinco cultivares de *O. ficus-indica* (L.) Mill. y observaron que los cambios en el potencial osmótico (Ψ_p) de los nopalitos puede ser una característica fisiológica intrínseca y distintiva de las plantas de esa especie. Además, señalaron que la tolerancia de *Opuntia* spp. al déficit de agua, por períodos de hasta 60 días, es expresado como cambios moderados en Ψ_p y alteraciones mínimas en la permeabilidad de las membranas celulares.

Por otro lado, los nopalitos son un alimento tradicional en México. Los consumidores prefieren los nopalitos delgados, con apariencia fresca, turgentes, de color verde brillante y contenido de fibra bajo (Corrales-García *et al.*, 2004). Debido a que los nopales son plantas MAC, su acidez varía considerablemente (de 0.1 a 0.6 % de acidez titulable) durante el día, aún varios días después de la cosecha; esto afecta su sabor (Corrales-García *et al.*, 2004).

Los nopalitos son más ácidos al amanecer y su acidez disminuye rápidamente en las primeras horas de luz (Corrales *et al.*, 2004). En contraste, se desconocen las diferencias, variaciones y posibles contrastes en la acidez de los nopalitos de las especies silvestres, medianamente domesticadas y con un mayor grado de domesticación y aún entre variantes y cultivares. Se ha documentado que la especie, el cultivar, los factores ambientales, el manejo del cultivo, la hora de cosecha, la temperatura y el tiempo de almacenamiento modifican la acidez de los cladidos (Cantwell *et al.*, 1992; Corrales *et al.*, 2004). Como consecuencia, el contenido de acidez podría variar debido a diferentes factores, de tal manera que si las variantes comerciales, difieren en su acidez, probablemente también podrían afectar el sabor y a su vez la preferencia y aceptabilidad de los consumidores (Corrales-García, 2003).

Otra característica relevante de la calidad de los nopalitos, además de la acidez, es la textura. Con frecuencia se asocia la característica crujiente y firme de las frutas y verduras con la turgencia de las células, desaparecen cuando se pierde la adherencia entre las células (Vincent, 2003). Así la turgencia de las células está determinada por las fuerzas osmóticas ya que, juegan un papel importante en la textura de frutas y hortalizas. La pared celular de los tejidos tienen un variado grado de elasticidad y son altamente permeables al agua, iones inorgánicos y moléculas pequeñas (García y Peña, 1995). La combinación de la textura y acidez en los nopalitos inciden en los atributos de calidad que caracterizan a todo producto agrícola y su preferencia al consumirlos.

La presente investigación se justifica por el hecho de que existe interés por aprovechar la riqueza de las especies mexicanas de *Opuntia* y *Agave* para abundar en el conocimiento del proceso de domesticación, las características biofísicas y químicas

de las plantas MAC que les permiten sobrevivir en ambientes tan diversos y sugerir nuevos usos y aprovechamiento del nopal y maguey.

Los objetivos planteados en esta investigación son:

- Conocer si existen patrones de variación en las características biofísicas y químicas, como firmeza, control de la liberación de electrolitos a través de las membranas celulares, Ψ_p , contenido de sólidos solubles y acidez, en plantas de *Opuntia* en un gradiente de domesticación.
- Cuantificar el efecto y determinar si existen patrones en la reacción a la disminución de la humedad del suelo en las características biofísicas y químicas, como firmeza, control de la liberación de electrolitos a través de las membranas celulares, Ψ_p , Ψ_A , Ψ_T , contenido de sólidos solubles totales, acidez y contenido de clorofila de plantas MAC, como *Opuntia* spp. y *Agave* spp.

Las hipótesis planteadas son:

- Los nopalitos de plantas de *Opuntia* spp. crecidas en condiciones de invernadero y riego o deficiencia de humedad en el suelo, muestran gradientes en sus características biofísicas y químicas relacionados con el nivel de domesticación.
- Los cambios de las características biofísicas y químicas de los nopalitos y hojas de plantas de maguey son menores, aún después de ser sometidas a periodos prolongados (varios meses) sin suministro de humedad en el suelo lo que les permite la supervivencia en ambientes áridos.
- El potencial osmótico y la permeabilidad de las membranas celulares de los nopales y las especies de *Agave* son afectados negativamente por la disminución de la humedad en el suelo, siendo las especies silvestres más tolerantes a los niveles bajos de humedad en el suelo. Esto debido a que es

posible que las especies silvestres presenten mecanismos fisiológicos de defensa ante la falta de agua en etapas críticas del crecimiento.

1.1 LITERATURA CITADA

- Álvarez, R.A.; Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xoconostle with different ripening stages. Journal of the Professional Association for Cactus Development. 11: 26-44.
- Andrade, J.L.; De la Barrera, E.; Reyes, G.C.; Ricalde, M.F.; Vargas, S.G.; Cervera, J.C. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 81. 37-50.
- Borland, A.M.; Griffiths, H.; Hartwell, J.; Smith, J.A. 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. Journal of Experimental Botany. 60, No. 10, 2879-2896.
- Bravo, H.H. 1978. Las cactáceas de México. Vol I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 365.
- Borrego, E. F. y Burgos, N.V. 1986. El Nopal, Ed. Universidad Autónoma Agraria. Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp.
- Cantwell, M.; Rodríguez-Félix, A.; Robles-Contreras, F. 1992. Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. Scientia Horticulturae 50: 1-9.
- Callen, E.O. 1965. Food habits of some pre-columbian mexican indians. Economic Botany 19:335-343.
- Corrales-García, J.; Flores-Valdez, C.A. 2003. Nopalitos y tunas: producción, comercialización, poscosecha e industrialización. CIESTAAM-Programa Nopal, Universidad Autónoma de Chapingo. México. 225p.
- Corrales-García, J.; Peña-Valdivia, C. B.; Razo, M. Y.; Sánchez, H.M. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). Postharvest Biology and Technology 32(2):169-174.
- Colunga-García, M.P.; Zizumbo-Villareal. 2007. Tequila and other *Agave* spirits from west-central México: current germplasm diversity, conservation and origin. Biodiversity and Conservation 16(6): 1653-1667.

- Davis, S.C.; Dohleman, F.G.; Long, S.P. 2011. The global potential for *Agave* as a biofuel feedstock. *Bioenergy*. 3: 68-78.
- Eguiarte, L.E.; Souza, V.; Silva-Montellano, A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 66:131-150.
- Espinosa, P.H.; Arredondo, V.C.; Cano, G.M.A.; Vázquez, Q.F.; Canseco, L.A.M. 2003. Banco de germoplasma de mezcal mezcalero (*Agave* sp.). Reporte de programa de estudio apoyado por la coordinación General de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional de México.
- Financiera Rural. 2011. Monografía de nopal y tuna 15p. Consultada 15/04/2012. Disponible:[http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna\(jul11\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna(jul11).pdf).
- Flores, V.; C.A. 2001. El uso del nopal como forraje en el mundo. En Flores V.C. A. Memorias del curso-taller. El nopal forrajero, una alternativa alimentaria para el ganado. Guadalupe, N.L. 19 de abril de 2001.
- Gallegos, V.C.; Valdez, C.R.D.; Barrón, M.M.; Barrientos, P.A.F.; Andrés, A.J.; Nieto, A. R. 2006. Caracterización morfológica de 40 cultivares de nopal de uso como hortaliza del banco de germoplasma del CRUCEN-UACH. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 12: 41-49.
- García-Moya, E.; Romero, M.A.; Nobel, P.S. 2011. Highlights for *Agave* Productivity. *Bioenergy* 3: 4-14.
- García, H.; Peña, V.C. 1995. La pared celular. Componente fundamental de las células vegetales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. Estado de México, México. 96p.
- García R, M.T. 2007. Procesos fisiológicos y contenido de polisacáridos estructurales en nopalito (*Opuntia* spp.) y su modificación por el potencial de agua del suelo. Tesis de Maestría en Ciencias. Recursos Genéticos y Productividad. Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. 124p.
- García-Ruiz, M.T.; Peña-Valdivia, C. B.; Trejo-López, C.; Valle, S.G.; Corrales-García, J.; García-Nava, R.; 2008. Tissue osmotic potential and membranes permeability

- of nopalitos (*Opuntia* spp.) affected by changes in soil water potential. Journal of Professional Association for Cactus Development 10: 133-147.
- Gentry, H.S. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona Press, Tucson, Az. U.S.A. 670p.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of Agaves and *Cacti*, *Cacti: Biology and Uses*, University of California. Press, P.S. Nobel (Eds.), New York Cambridge University Press 44: 1-270.
- Nobel, P.S.; De la Barrera, E. 2002. Stem water relations and net CO₂ uptake for a hemiepiphytic cactus during short-term drought. Environmental and Experimental Botany 48: 129-137.
- Nobel, P.S. 2010. Desert Wisdom/Agaves and Cacti: Co₂, Water, Climate Change. iUniverse, New York. 182p.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Annual Review Plant Physiology. 61: 379-414.
- Palta, J.P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. Horticultural Science 25:1377-1381.
- Prášil, I.; Zámečnick. 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. Environmental and Experimental Botany. 40: 1-10.
- Pimienta-Barrios, E.; Robles-Murguía.; Nobel, P.S. 2001. Net CO₂ uptake for Agave tequilana in a warm and a temperate environment. Biotropica. 33 (2): 312-318.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre R.J.R.; Carlín, C.F. 2004. Análisis preliminar de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, en G. Esparza F., R.D. Valdez Z. y S.J. Méndez G. (eds.), *El nopal, tópicos de actualidad*. Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo, México, pp. 21-47.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre, R.J.R.; Flores, F.J.L. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. Interciencia. 30: 476-484.

- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre, R.J.R.; Carlín, C.F.; González, D.A. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SABARPA Y CONACYT. San Luis Potosí, S.L.P. México. 350p.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J. R. Aguirre R. ; E. Cárdenas; A. B. Galicia J. 2003. Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado bajo déficit de humedad. *Interciencia* 28: 597-603.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; J. R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck. *Interciencia* 29: 626-631.
- Sáenz, C. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. *In* Esparza, G.; Valdez, R. y Méndez, S. eds. El Nopal, Tópicos de actualidad. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 211-222p.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*. 49 (2): 175-194.
- Vincent, J.F.V. 2003. Application of fracture mechanics to the texture of food. *Anales de Mecánica de la Fractura* (M. Elices, M. Fuentes, F.J. Fuenmayor y E. Giner, eds.). 20:1-7.
- Winter, K.; Smith, J.A.C. 1996. An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and ecological diversity. *In*: K. Winter and J.A.C Smith. Eds. Crassulacean acid metabolism: biochemistry, ecophysiology and evolution. Springer, Berlin.
- Kiesling, R. 1998. Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 3: 50-59.

2. CARACTERÍSTICAS BIOFÍSICAS Y QUÍMICAS DE NOPALITOS (*Opuntia* spp.) EN CONDICIONES DE RIEGO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN

2.1 Resumen

El proceso de domesticación de las plantas ha sido asociado con el cultivo de sus poblaciones silvestres en ambientes controlados, en el género *Opuntia* los cambios bioquímicos-fisiológicos asociados con la domesticación se conocen incipientemente. El objetivo del estudio fue evaluar las características físicas y químicas de nopalitos de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación definido por características morfológicas. La hipótesis a probar fue que en los nopalitos de las cinco especies de *Opuntia* existen diferencias de sus características físicas y químicas como resultado de su grado de domesticación. Se incluyeron ocho variantes de cinco especies de nopal cultivadas con riego en invernadero. Se evaluó la firmeza, el contenido de sólidos solubles totales (SST), el potencial osmótico (ψ_s) y la permeabilidad de las membranas celulares. El estudio se realizó con un diseño completamente al azar y seis repeticiones por tratamiento, cada una representada por un cladodio de diferente planta. Se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) a los datos y las diferencias entre los tratamientos se detectaron con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) entre variantes y especies; además, se realizó el análisis multivariable de componentes principales (CP). La firmeza y la permeabilidad de las membranas celulares incrementaron con el nivel de domesticación, la especie silvestre *O. streptacantha* y la de mayor grado de domesticación *O. ficus-indica* mostraron los valores extremos, 4.57 y 5.58 kgf (18 % de diferencia) y 13.55 y 17.26 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ tejido fresco (19 % de diferencia). El potencial osmótico tendió a disminuir con el gradiente de domesticación, de -0.63 MPa en *O. streptacantha* a - 0.71 MPa en *O. ficus-indica*. Los SST no presentaron una tendencia. El análisis de CP mostró que la permeabilidad de las membranas celulares y los SST definieron a *O. streptacantha* y a *O. ficus-indica* como entidades biológicas independientes; en contraste, las características de *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* no definieron la separación entre ellas y las otras dos especies.

Palabras clave: *Opuntia* sp., domesticación, firmeza, contenido de sólidos solubles totales, potencial osmótico, permeabilidad de las membranas celulares.

BIOPHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF NOPALITOS (*Opuntia* spp.) ON A GRADIENT OF DOMESTICATION

2.2 Abstract

The process of domestication of plants has been associated with the cultivation of wild populations in controlled environments. The biochemical-physiological changes associated with domestication are incipient known in the genus *Opuntia*. The aim of the study was to evaluate the physical and chemical characteristics of five species of nopalitos in a domestication gradient defined previously by morphological characteristics. We hypothesized that the differences in physical and chemical characteristic in nopalitos are the result of their degree of domestication. We included eight variants of five species of nopalitos. The plants were grown under irrigation in greenhouses. It was evaluated the firmness, the total soluble solids (TSS), the osmotic potential (ψ_s) and the permeability of cell membranes. The experiment was conducted as a completely randomized design, with six replicates per treatment, represented by a different plant cladodio. We applied analysis of variance (ANDEVA) on the data and the differences between treatments were detected by Tukey test ($P \leq 0.05$). Also, a principal components analysis (CP) was carried out. The firmness and permeability of cell membranes increased with the level of domestication, the wild species *O. streptacantha* and *O. ficus-indica* (domesticated) showed extreme values, of firmness, 4.57 and 5.58 kgf (18 % difference) and permeability 13.55 and 17.26 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ fresh tissue (19 % difference). The osmotic potential tended to decrease with the domestication gradient of -0.63 MPa (*O. streptacantha*) to -0.71 MPa (*O. ficus-indica*). The TSS did not show a trend. The CP analysis showed that the permeability of cell membranes and TSS defined to *O. streptacantha* and *O. ficus-indica* as independent biological entities, in contrast, the characteristics of *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* and *O. albicarpa* did not shown a separation between them and the other two species.

Keywords: *Opuntia* sp., domestication, firmness, total soluble solids content, osmotic potential and permeability of cell membranes

2.3 Introducción

El género *Opuntia* está distribuido desde la provincia de Alberta, Canadá, hasta la Patagonia, Argentina, y abunda en las zonas desérticas del sur de Estados Unidos, México y América del Sur (Sene *et al.*, 1996). En México se encuentra la mayor riqueza de especies y cultivares de nopal (*Opuntia* spp.), por lo que es considerado uno de los dos centros de origen y dispersión del género (Gallegos y Méndez, 2000). Se conocen 189 especies del género *Opuntia* (Anderson, 2001), de ellas 83 son reconocidas como mexicanas (Guzmán *et al.*, 2003) y entre 10 y 12 son utilizadas para la producción de fruta y nopalito y la cría de cochinilla (*Dactylopius coccus*) de la que se extrae el colorante carmín o grana. También, México posee una vasta riqueza de variantes silvestres y domesticadas, entre las que destaca un grupo numeroso de cultivares de *O. ficus-indica*, la especie con mayor grado de domesticación e importancia económica (Reyes-Agüero *et al.* 2009; Reyes-Agüero y Aguirre, 2011).

La domesticación es un proceso evolutivo continuo, que actúa en las plantas silvestres, semi-domesticadas y domesticadas (Casas *et al.*, 2007). El proceso de domesticación en las plantas ha sido asociado con el cultivo en ambientes controlados de sus poblaciones silvestres; aunque los humanos también han practicado formas diferentes de manipulación de las poblaciones silvestres. El proceso de domesticación afecta la genética, morfología y composición química de las plantas (Casas *et al.*, 1999).

A partir de 42 atributos morfológicos de cladodios maduros, nopalitos y frutos de 243 variantes de *Opuntia*, recolectadas en 31 localidades de siete estados de la Altiplanicie meridional de México, Reyes-Agüero *et al.* (2005a) reconocieron un gradiente de domesticación. Entre los atributos más importantes para la clasificación estuvieron las espinas radiales, el número de espinas por aréola en el cladodio, el color y peso de la pulpa de los frutos. En el gradiente *O. streptacantha* se ubicó en el extremo silvestre, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* se ubicaron en la zona intermedia y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* se localizaron en el extremo con domesticación mayor.

Se estima que en México existen alrededor de tres millones de hectáreas de nopaleras silvestres, potencialmente aprovechables, localizadas en zonas áridas, semiáridas y templadas secas, principalmente de Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Flores *et al.*, 1995; Esparza, 2010). Además, existen nopaleras en huertos familiares, cuya producción es para autoconsumo y comercialización en mercados regionales y plantaciones comerciales. En el primer caso se desconoce el área destinada para esos fines y en el segundo las nopaleras cultivadas ocupan poco más de 53,876 ha para producir tuna, más de 10,000 que se destinan para producir nopalitos (Gallegos *et al.* 2009), 150,000 para forraje y unas 100 para producir grana de cochinilla (Financiera Rural, 2011; Flores *et al.*, 1995). La importancia económica y social actual del nopal en México radica en la gran superficie ocupada por las nopaleras silvestres y cultivadas, el número de productores y consumidores, las regiones de cultivo, la diversidad de los productos generados y el mercado extranjero creciente (Financiera Rural, 2011; Flores *et al.*, 1995; Bellón *et al.*, 2009). También destaca el uso del nopal en medicina tradicional, cosmetología y conservación de suelo (García H. *et al.*, 2003).

Para avanzar en el conocimiento de las reacciones de las plantas al ambiente es necesario identificar los mecanismos con los que se adaptan a los cambios climáticos (Palta, 1990) y a los procesos de selección, consiente e inconsciente, por los humanos durante la domesticación (Peña-Valdivia *et al.*, 2011). Así, parece posible evaluar cambios bioquímicos, en la composición de los tejidos, físicos o de otra índole sucedidos durante ese proceso si se contrastan individuos silvestres con domesticados (Peña-Valdivia *et al.*, 2010 y 2011). En el caso de los nopalitos, por sus características, en el presente estudio se consideró de interés evaluar variables que pueden estar relacionadas con el cambio milenario desde los ambientes silvestres hasta los domesticados, en el intermedio están una serie de poblaciones con diferente grado de cultivo, destacando, para el caso del nopal los ambientes de solares o traspatios (Reyes-Agüero *et al.*, 2005b); sin embargo en el estudio de las variables morfológicas de los nopalitos que los autores consideraron (prominencia del podario, color alrededor de la aréola, longitud, forma, consistencia y el color del indumento) (Reyes-Agüero *et*

al., 2009), sólo fue importante en términos estadísticos, el número de espinas por aréola (Reyes-Agüero *et al.*, 2005b). Sin embargo, los cambios en el proceso de domesticación, podrían detectarse en estructuras como las membranas celulares, que reaccionan aceleradamente a los cambios ambientales (García-Ruiz *et al.*, 2008) y su funcionalidad es la suma de los cambios que ha permitido a las especies permanecer en su hábitat. Otro caso es el potencial osmótico, que representa parte de la capacidad potencial de la planta para hidratarse y es usado como indicador de tolerancia a la sequía; su valor puede ser regulado por factores diversos que caracterizan a la planta y que le permiten minimizar las diferencias en el potencial hídrico de sus tejidos y su entorno (Liu *et al.*, 2003). También, entre las características que podrían ser modificadas como resultado de la selección artificial reiterada del órgano de interés antropocéntrico durante la domesticación está la resistencia a la ruptura del tejido (fuerza requerida para penetrarlo), que permite evaluar su firmeza, dureza o ternura e indirectamente el grosor y resistencia de la cutícula (Colunga *et al.*, 1986; López Palacio *et al.*,) y el contenido de moléculas que determinan el sabor del nopalito, como los ácidos orgánicos, cuantificables como sólidos soluble en el tejido (Casas *et al.*, 1999).

El objetivo de esta investigación fue identificar diferencias y semejanzas en características físicas y químicas de los nopalitos de ocho variantes silvestres, semidomesticadas y domesticadas, de cinco especies de *Opuntia* cultivadas con riego en condiciones de invernadero. La hipótesis fue que el potencial osmótico (ψ_s), la permeabilidad de las membranas celulares, el contenido de sólidos solubles totales y la firmeza del tejido de los nopalitos también muestran un gradiente entre los materiales silvestres y domesticados reconocidos mediante caracteres morfológicos de frutos y cladodios.

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

En junio de 2010 se recolectaron cinco especies de *Opuntia* en la colección del Depositario Nacional de *Opuntia*, localizada en el Centro Regional Universitario Centro Norte de la Universidad Autónoma de Chapingo (CRUCEN-UACH), localizado a 4 km al suroeste de la ciudad de Zacatecas, México, en la localidad de “Huertas del Orito”. En este lugar las especies han estado creciendo en las mismas condiciones, durante 10 años en promedio (Gallegos y Mondragón, 2011). Este lugar cuenta con clima BS1kw(w)(e)g, esto es un clima seco estepario, templado, con verano cálido y lluvioso, la oscilación anual promedio de temperatura entre 7 y 14 ° C, el mes más cálido ocurre antes del verano, los inviernos son fríos (García, 2004). La recolecta incluyó ocho variantes (seis cladodios maduros de cada una); una variante de *O. streptacantha* Lem (Cardona de Castilla), dos de *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber (San Pedreña y Amarilla Olorosa), una de *O. megacantha* Salm-Dyck (Amarillo Plátano), una de *O. albicarpa* Scheinvar (Villa Nueva) y tres de *O. ficus-indica* (L.) Miller (Copena V1, Rojo Vigor y Atlixco), representantes del gradiente de domesticación reconocido por Reyes-Agüero *et al.* (2005a).

Los cladodios seleccionados provenían de ramas formadas por cladodios maduros, sanos, vigorosos, sin evidencia de plagas o enfermedades, con una coloración homogénea, longitud y anchura promedio de 34.5 y 20.6 cm y biomasa fresca de 940 g. Los cladodios fueron plantados individualmente, el 8 de julio del 2010, en macetas de material plástico (28.5 cm de altura por 31 cm de diámetro y 19 L de capacidad), con 15 kg de una mezcla de suelo y grava de tezontle (3:1, v:v).

El suelo utilizado fue de la clase textural migajón arenoso con 52 % de arena, 27 % de limo y 20 % de arcilla, las constantes de humedad del substrato fueron la capacidad de campo (CC) 27 % y el punto de marchitamiento permanente (PMP) 13 %; con pH de 6.5, su conductividad eléctrica 6.4 dS m⁻¹, y las concentraciones de N, P, K, Ca, Mg fueron 0.36 %, 269 mg kg⁻¹, 1.1 cmol kg⁻¹, 0.57 cmol kg⁻¹, 0.67 cmol kg⁻¹ respectivamente.

Las plantas, fueron distribuidas al azar, se mantuvieron en un invernadero del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, estado de

México, ubicado a 19° 29' de LN y 98° 53' de LO, a una altura de 2240 msnm. El clima se clasifica como Cb(Wo)(W)(i)g, que corresponde a un templado sub-húmedo con lluvias en verano, una época seca en invierno y con poca oscilación térmica (5 y 7 °C) la temperatura media anual es de 15.5 °C. La precipitación media anual es de 664 mm (García, 2004).

Dentro del invernadero la temperatura media día/noche fue 30/16 °C, la humedad relativa media día/noche fue 33/39 % y la iluminación fue natural (mediciones promedio durante un mes). Se aplicó 1 L de agua semanalmente a cada maceta. Después de dos meses (principios de septiembre) inició el desarrollo de brotes vegetativos, y entre finales de septiembre e inicio de diciembre fueron cosechados los nopalitos con longitud entre 15 y 20 cm, colocados en bolsas de polietileno, trasladados al laboratorio y analizados.

Determinación del contenido de humedad en el suelo

El contenido de humedad del suelo se determinó en la zona radical del cladodio madre a una profundidad de 10 a 15 cm. Se evaluaron 15 muestras de suelo de 1 g de peso seleccionadas al azar; las muestras fueron deshidratadas a temperatura constante (105 °C durante 24 h) en un horno hasta alcanzar peso constante. Los datos fueron expresados como porcentaje del contenido de agua del suelo según la siguiente ecuación:

$$w = \frac{Msh - Mss}{Mss} = \left(\frac{Mag}{Mss} \right) 100$$

w = contenido de humedad del suelo expresado en %

Mag = masa del agua

Msh = masa del suelo húmedo

Mss = masa del suelo secado en estufa

Determinación de la firmeza

La firmeza (kgf) se determinó con un penetrómetro manual (FT 327, QA Supplies, LLC), con capacidad entre 0 a 13 kgf, en cinco secciones de la base al ápice y tres repeticiones a lo ancho del nopalito.

Determinación del contenido de sólidos solubles totales

El contenido de sólidos solubles totales (SST en °Brix) se evaluó en tres secciones a lo largo del nopalito (base, centro y ápice), los nopalitos fueron cosechados entre las 9:00 y 10:00 h de los días en que se efectuaron los muestreos. De cada sección se tomaron tres muestras con un sacabocado de 1.5 cm de diámetro. Cada muestra se envolvió en papel aluminio y se mantuvo a -4 °C por 24 h, después se introdujo en una jeringa hipodérmica y al descongelarse el émbolo se presionó para obtener la savia a temperatura ambiente (25 ± 2 °C); una alícuota de savia (0.3 mL aproximadamente) se colocó sobre el sensor de un refractómetro digital (Atago PAL-1) y se tomó la lectura.

Determinación de la permeabilidad de las membranas celulares

La permeabilidad de las membranas celulares fue evaluada mediante la liberación de electrolitos de segmentos frescos y congelados de 1.5 cm de diámetro, de tres regiones del nopalito (base, centro y ápice). Cada segmento se pesó en una balanza analítica (Scientech, EE.UU., precisión de 0.0001 g), se colocó en una caja Petri con 25 mL de agua desionizada y se mantuvo con agitación ligera y constante en un agitador orbital (VSOS-4P Lab Plus Series PRO), a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). La conductividad eléctrica del medio se midió con un conductímetro digital (HoribaB-173, Japón) y los valores fueron ajustados a 1 g de tejido. Las lecturas se tomaron en intervalos de 30 min durante 3 h. Otro grupo de muestras se congeló y se midió la liberación de electrolitos en forma similar que en las muestras frescas.

La estabilidad relativa de la membrana celular, expresada como porcentaje de liberación de electrolitos, fue estimada con los cambios de la conductividad eléctrica del medio de suspensión de los segmentos de tejido fresco (C.E.) y del tejido muerto por congelación (C_m) de los segmentos, con la siguiente igualdad (Huang, 2006):

$$\text{Permeabilidad relativa de las membranas celulares (\%)} = (C.E. / C_m) \times 100$$

Determinación del potencial osmótico del tejido

El potencial osmótico (ψ_s) se midió en la base, centro y ápice del nopalito. Segmentos (1 cm de diámetro) del tejido se envolvieron en papel aluminio y se mantuvieron en un congelador (-4 °C por 24 h); después, cada muestra se introdujo en una jeringa

hipodérmica, se dejó descongelar a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y se aplicó presión con el émbolo de la jeringa hasta obtener la savia. Se recolectaron 10 μ L del extracto celular con una micropipeta (Biopette autoclavable), se colocaron sobre un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro y el ψ_s se midió en un osmómetro de presión de vapor (Wescor 5520, EE. UU.).

2.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis repeticiones, cada una representada por un nopalito proveniente de plantas distintas. Los datos fueron examinados con un análisis de varianza (ANDEVA), comparaciones múltiples de medias, entre variantes y especies, con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), y el análisis multivariable de componentes principales (CP). Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS V9. La representación gráfica de los datos se obtuvo con el programa SigmaPlot de Jandel Scientific (Versión 10.0).

2.5 Resultados y discusión

El suelo de las macetas se mantuvo en promedio con 30 % de humedad (equivalente a -0.3 MPa) en la zona de las raíces.

2.5.1 Firmeza

Para conocer si la firmeza es o no homogénea a lo largo del nopalito, tres especies (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*). Se seleccionaron tres de las especies debido a que no se contaban con suficientes nopalitos para la realización del análisis (se evaluaron cinco zonas equidistantes entre la base y el ápice y tres repeticiones a lo ancho del nopalito). La firmeza varió ($P \leq 0.05$) a lo largo del nopalito, incrementó linealmente de la base al ápice y la de ésta sección fue entre 11 y 20 % mayor que la base de las tres especies evaluadas (Figura 2.1).

Con base en estos resultados, para conocer las diferencias y semejanzas entre las ocho variantes y cinco especies se compararon y se presentan los promedios de la firmeza de las cinco secciones de los nopalitos. Se observó que la firmeza media varió ($P \leq 0.05$) entre las variantes, la diferencia máxima representó 20 % entre Cardona de

Castilla de *O. streptacantha* y Atlixco de *O. ficus-indica* (4.57 a 5.58 kgf). Además, fue evidente la disparidad entre las variantes de una misma especie, pues Amarilla Olorosa tuvo firmeza 6 % menor ($P \leq 0.05$) que San Pedreña, ambas *O. hyptiacantha* y entre los cultivares Atlixco y Rojo Vigor, de *O. ficus-indica*, la diferencia representó 12 % (Figura 2.2).

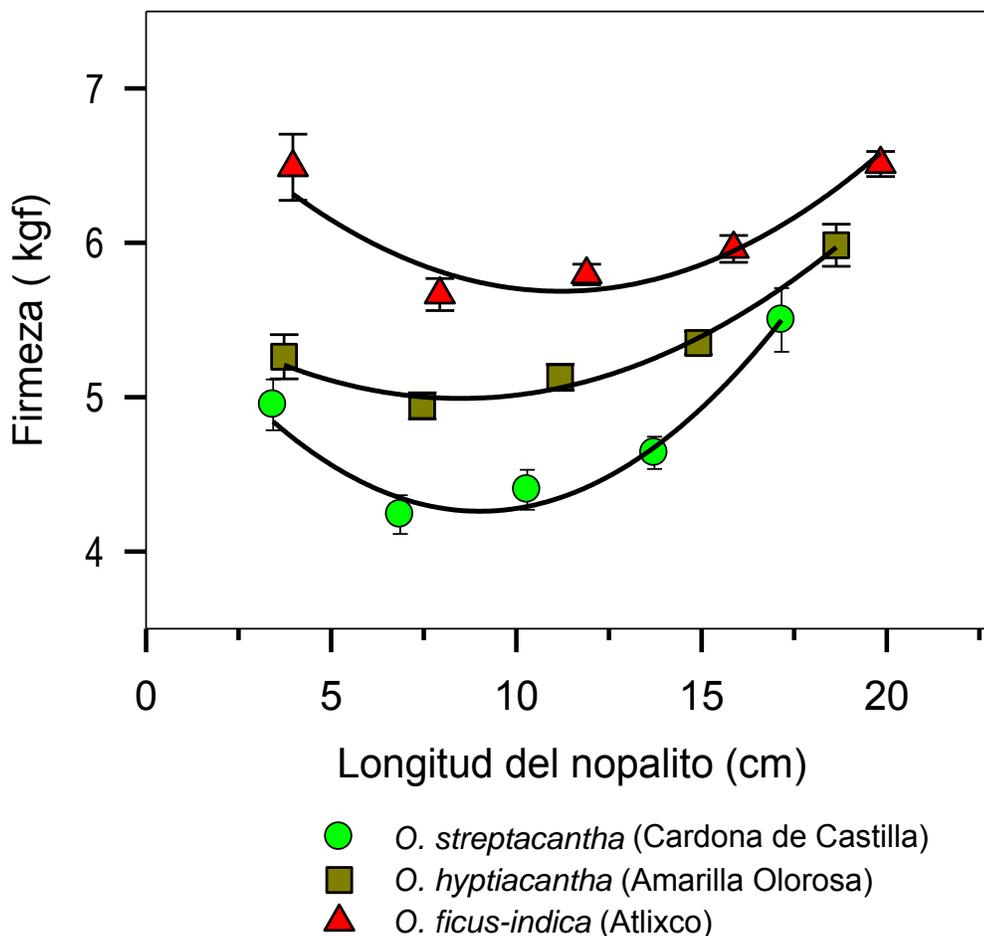


Figura 2.1. Firmeza (\pm e.e.) a lo largo de los nopalitos de tres especies de *Opuntia* (n= 10).

La variabilidad de la firmeza de los nopalitos entre cultivares también la observaron Betancourt-Domínguez *et al.* (2006); estos autores señalaron que la fuerza de compresión máxima en los nopalitos con 17 y 22 cm de longitud, de los cultivares

domesticados Blanco con Espinas, Blanco sin Espinas y Verde Valtierra, alcanzó diferencias que representaron entre 47 y 56 %, entre Valtierra y ambos Blanco.

López-Palacio *et al.*, 2010 encontraron que la resistencia a la penetración de los nopalitos de *O. ficus-indica* y *N. cochenillifera*, en los estadios de crecimiento GS1 y GS2, fue similar ($p > 0.05$) y mayor ($p < 0.05$) que la de los nopalitos de *O. undulata* x *O. tomentosa* y *O. robusta* spp. *larreyi*; sin embargo, los nopalitos GS3 de *O. ficus-indica* fueron los más resistentes a la penetración ($p < 0.05$), y los correspondientes de las otras especies, fueron estadísticamente iguales entre sí. Los autores concluyen que el incremento general en resistencia a la penetración con el desarrollo de GS2 a GS3 pudo deberse al aumento del contenido de celulosa y lignina (García y Peña, 1995). En efecto, Ramírez-Tobías *et al.* (2007) registraron un incremento significativo en el contenido de fibra insoluble en detergente ácido al pasar del GS2 al GS3, y Guevara *et al.* (2003) observaron en nopalitos de *O. ficus-indica* menor resistencia a la penetración, a menor contenido de fibra cruda. Con la finalidad de observar el posible efecto de la cutícula sobre la resistencia a la penetración, se midió su grosor en cladodios de un año de edad de las especies evaluadas. Además, en los cortes transversales se les observó la distribución de celulosa y lignina al teñirlas con verde rápido y safranina, respectivamente (Ruzin, 1999). Al realizar las mediciones en microscopio, se registró que *N. cochenillifera* presentó la cutícula más delgada ($4.10 \pm 0.99 \mu\text{m}$), y *O. ficus-indica* la más gruesa ($17.45 \pm 3.53 \mu\text{m}$); además, se observaron entre cinco y seis hileras de células hipodérmicas y en las células de la hilera más cercana a la epidermis se observaron drusas (cristales de oxalato de calcio); asimismo, las células parenquimatosas mostraron tener la mayor proporción de celulosa. Cabe destacar que los valores obtenidos de resistencia a la penetración fueron menores que los registrados en nopalitos desarrollados sin riego (Rodríguez-Felix y Villegas-Ochoa, 1997; Guevara *et al.*, 2003). Estas observaciones sugieren que la resistencia a la penetración puede depender más de la lignificación de la pared celular de la hipodermis y de la cadena de drusas, que de la cutícula y la epidermis.

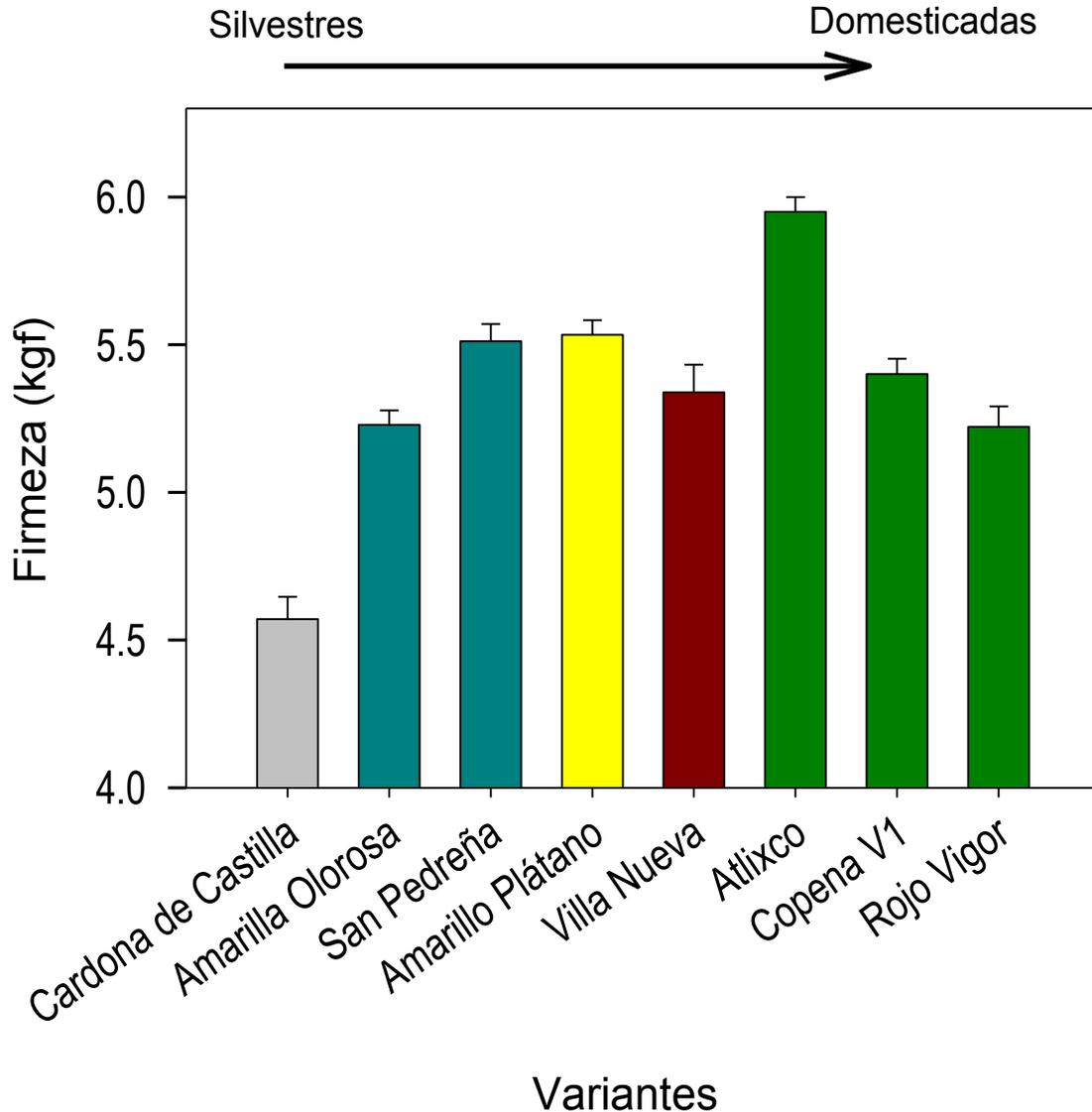


Figura 2.2. Firmeza promedio a lo ancho de nopalitos (+ e.e.) de ocho variantes de cinco especies (cada una representada por un color) de *Opuntia* (n=3).

La firmeza mostró diferencias significativas entre especies. Los nopalitos silvestres de *O. streptacantha* mostraron la firmeza menor de las especies del gradiente de domesticación; además, se observó un gradiente de incremento aparente de la firmeza con el de domesticación (Figura 2.3). En coincidencia con estos resultados, Betancourt-Domínguez *et al.* (2006) observaron que la fuerza de compresión máxima en los nopalitos de los cultivares Blanco sin Espinas y Blanco con Espinas (cultivares

probablemente de *O. atropes*) fue significativamente mayor que la de una recolecta silvestre; aunque, entre está y el cv. Valtierra no existió diferencia.

López-Palacio *et al.* (2010) al evaluar la resistencia a la flexión longitudinal y lateral de nopalitos, encontraron que la maduración de los nopalitos incrementó la resistencia a la flexión longitudinal en *O. robusta* spp. *larreyi* ($p < 0.05$) desde GS1 hasta GS3, mientras que los nopalitos de las otras especies no requirieron de mayor fuerza para doblarse. La flexibilidad lateral fue similar estadísticamente ($p > 0.05$), en los nopalitos GS1 y GS2 de las cuatro especies; a la vez, los nopalitos GS3 de las cuatro especies requirieron de mayor fuerza para arquearse transversalmente; los autores encontraron que la resistencia a la flexión de nopalitos podría estar relacionada con la turgencia del nopalito y con la disposición de las fibras asociadas a los haces vasculares. En relación con el modelo o patrón de las fibras, éstas van de un margen a otro del cladodio en forma diagonal formando una red, pues se entrecruzan y entre ellas forman espacios de forma rómbica (Gibson y Nobel, 1986). Asimismo, la longitud y anchura de estos espacios parecen estar asociados con la relación anchura:longitud del cladodio. Así, en los nopalitos de *O. robusta* spp. *larreyi*, con una relación anchura:longitud (0.66) más cercana a 1, sus fibras forman redes con huecos menos alargados que los de las otras especies evaluadas. En un estudio realizado por Rodríguez-Felix y Villegas-Ochoa (1997) con nopalitos de *O. ficus-indica* de 20 cm (equivalentes al GS3), producidos en el campo a la intemperie, se registró una resistencia a la flexión (longitudinal y transversal) superior a la registrada en el presente estudio. La mayor resistencia de los nopalitos desarrollados en el campo, sin abasto continuo de agua y con mayores tensiones mecánicas, puede deberse a que en esas condiciones las fibras asociadas a sus haces vasculares desarrollan mayor robustez, que las de los nopalitos cultivados en sistemas hidropónicos y en el ambiente protector del invernadero.

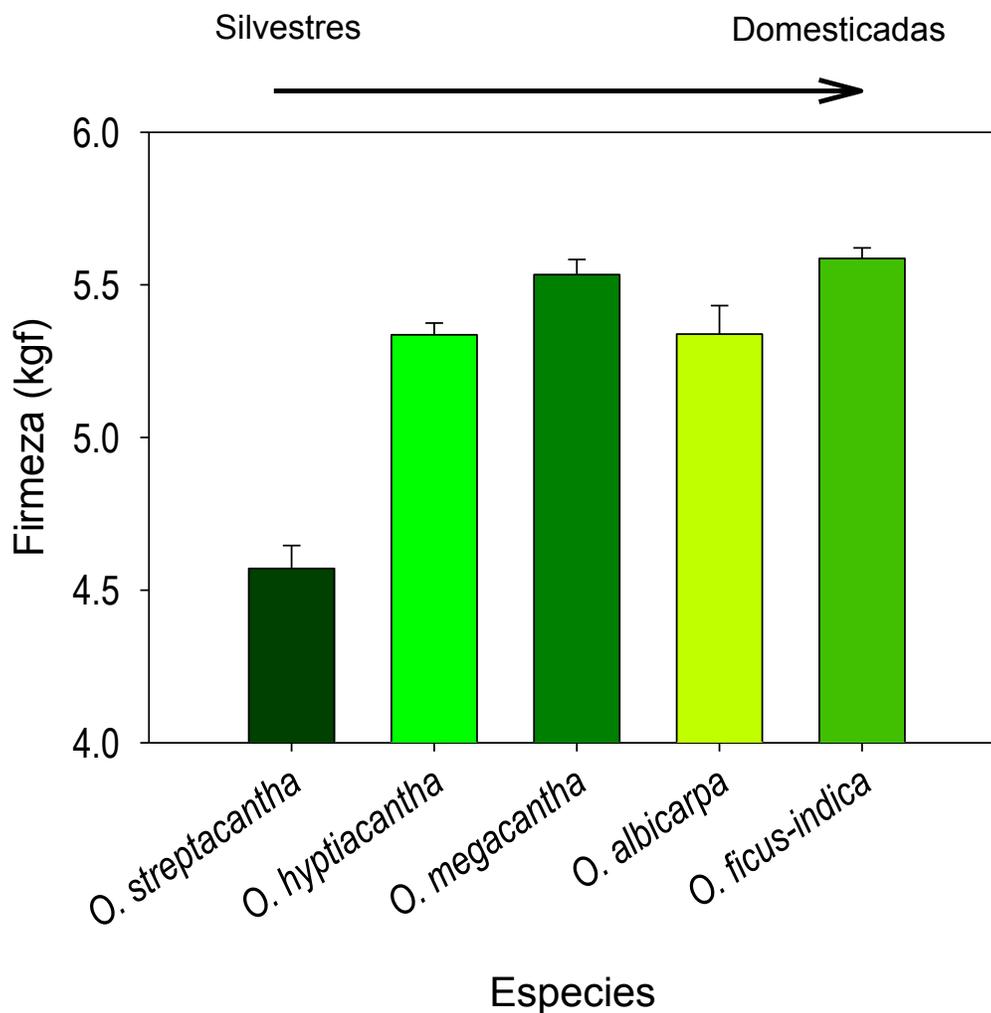


Figura 2.3. Firmeza promedio de nopalitas (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* (n= 3 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie)

2.5.2 Sólidos solubles totales

Tres secciones equidistantes entre la base y el ápice se evaluaron para conocer si el contenido de sólidos solubles es o no homogéneo a lo largo del nopalito. El contenido de sólidos solubles totales incrementó ($P \leq 0.05$) a lo largo del nopalito linealmente y de manera positiva, de la base al ápice y ésta sección presentó en promedio 17 % más sólidos solubles que la base en las tres especies (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*) seleccionadas para esta evaluación (Figura 2.4).

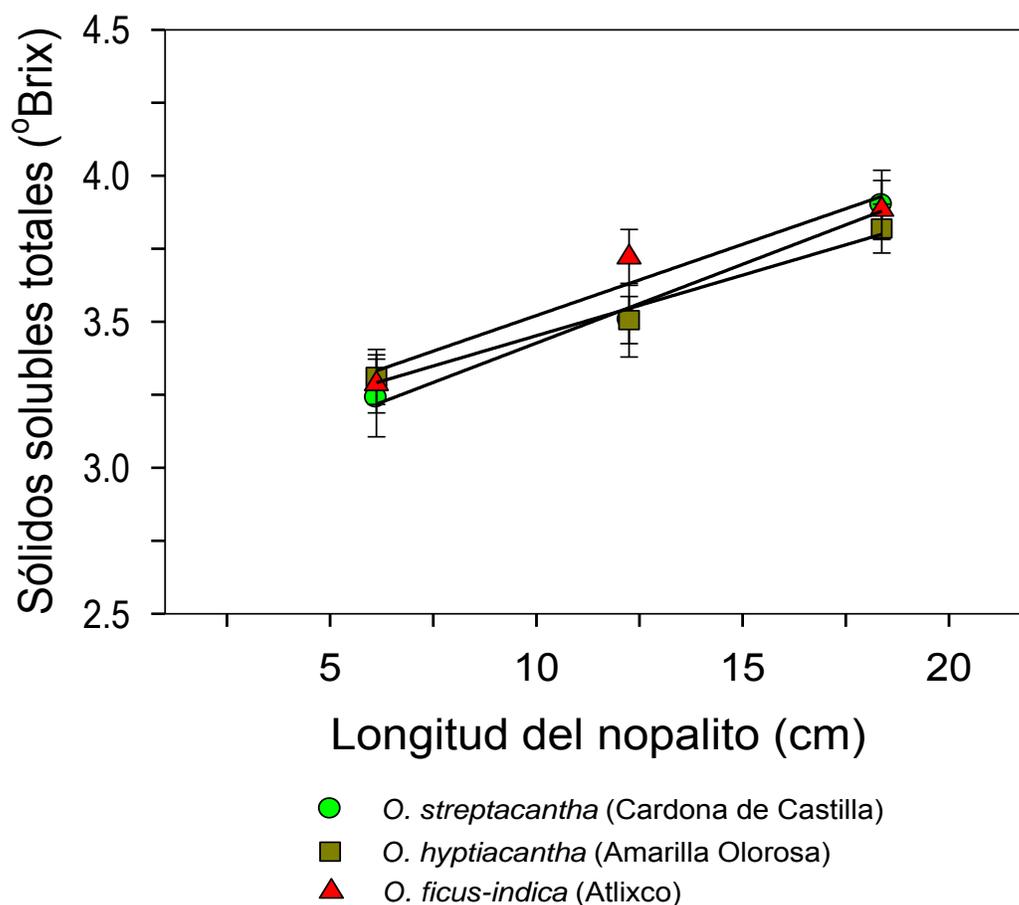
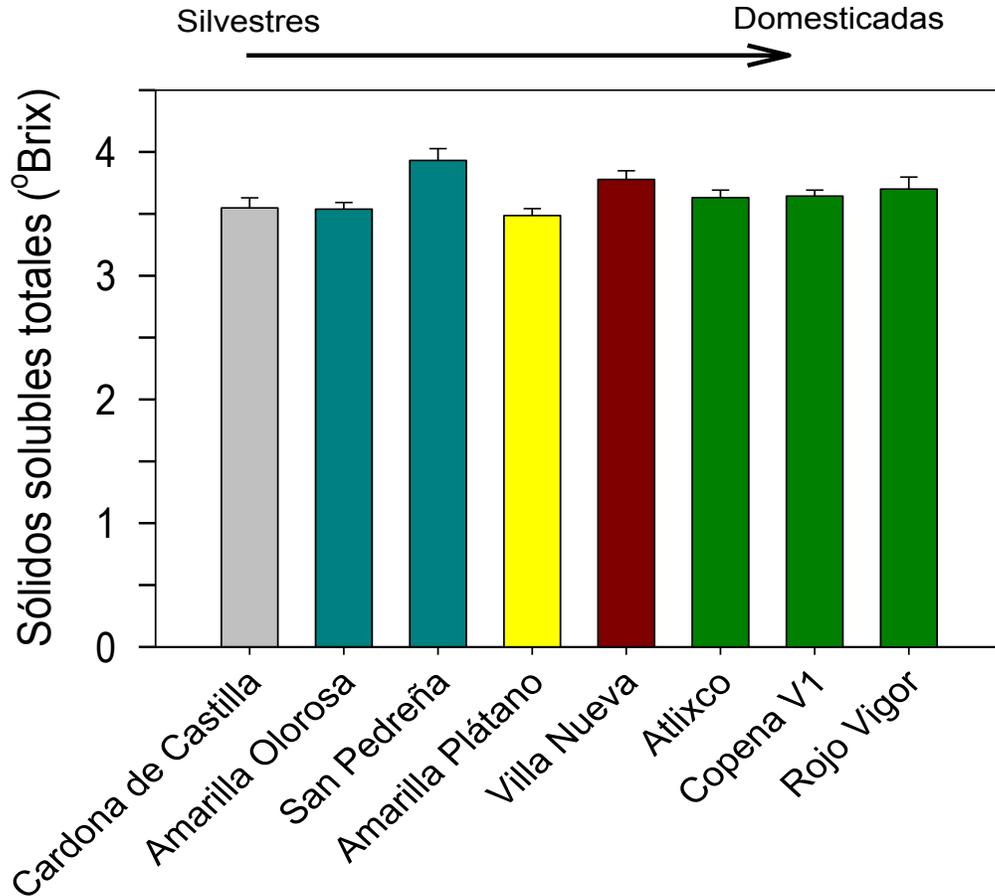


Figura 2.4. Sólidos solubles totales promedio (\pm e.e.) a lo largo de nopalitos de tres especies de *Opuntia* (n= 10)

Con base en estos resultados, para evaluar las diferencias y semejanzas entre las variantes y especies se compararon y presentan los promedios del contenido de sólidos solubles de las tres secciones por nopalito. Esta característica fue poco variable entre las especies, ya que se observaron diferencias mínimas y sin una tendencia identificable. Amarillo Plátano de *O. megacantha* y San Pedreña, de *O. hyptiacantha* presentaron la diferencia ($P \leq 0.05$) mayor entre las ocho variantes y esta última, junto con Copena V1, Rojo Vigor y Atlixco, presentó sólidos solubles totales más elevados que el resto de las variantes, que resultaron significativamente similares entre ellas (Figura 2.5).



Variantes

Figura 2.5. Sólidos solubles totales promedio (+ e.e.) de nopalitos de ocho variantes, de cinco especies (cada una representada por un color) de *Opuntia* (n= 10)

Los sólidos solubles totales de los nopalitos, como en otros vegetales (Haard, 1976), podrían estar constituidos principalmente por ácidos orgánicos y azúcares; no obstante, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) sugirieron que en los nopales los azúcares representan menos del 50 % de los sólidos solubles totales. La aportación de los ácidos orgánicos al valor de los sólidos solubles en los tejidos frescos de los nopalitos dependerá de la hora de evaluación, pues la acidez varía ampliamente a lo largo del día (Corrales-García *et al.*, 2004). Además, la variación también es dependiente de la nutrición, estrés por déficit de humedad, estación del año y edad de la planta (Stintzing y Carle, 2005; Urrestarazu, 2003). En consecuencia, la comparación entre los

resultados del presente estudio y los de la literatura podría llevar a interpretaciones erróneas por la falta de coincidencia de las condiciones de crecimiento de los nopalitos y la hora de muestreo.

Las diferencias del contenido de sólidos solubles totales ($P \leq 0.05$) entre las cinco especies fluctuaron sin una tendencia identificable. Las especies silvestre *O. streptacantha* y con grado intermedio de domesticación *O. megacantha* presentaron los valores menores (promedio 3.5 °Brix), entre las especies restantes no hubo diferencia ($P > 0.05$) y presentaron en promedio 3.7 °Brix (Figura 2.6).

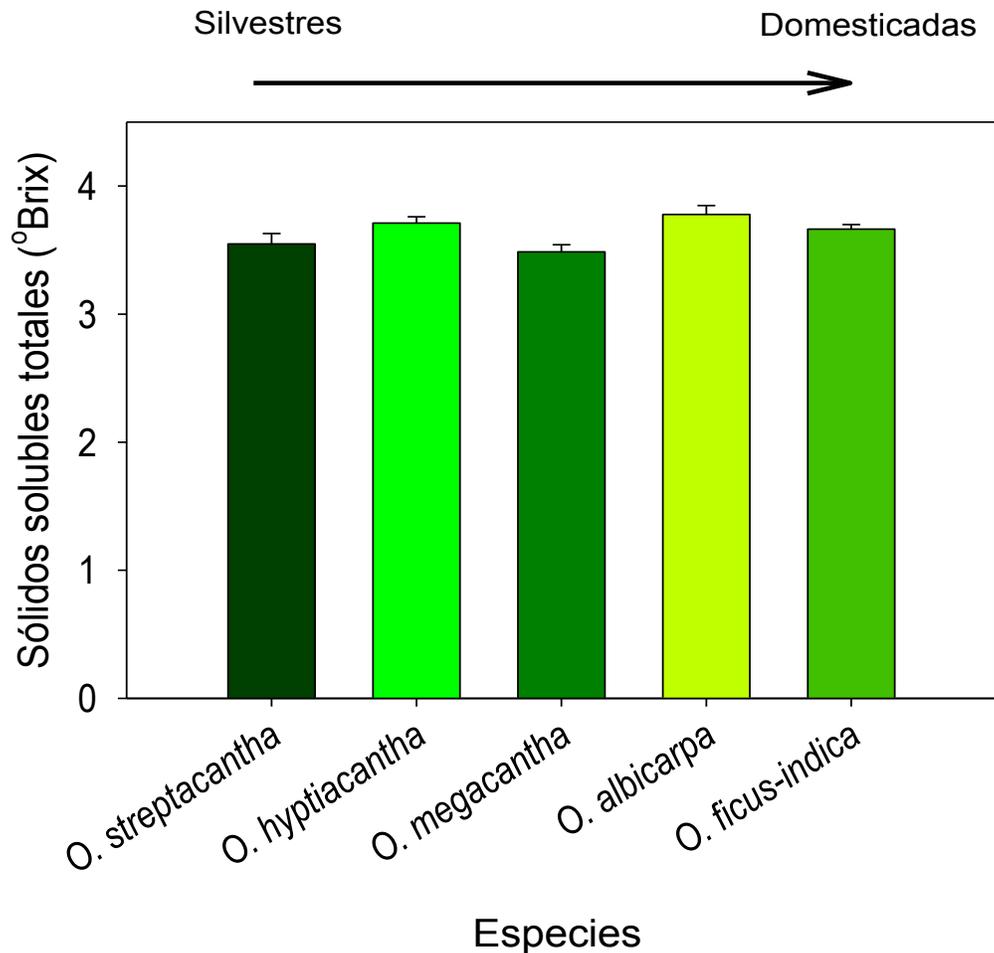


Figura 2.6. Sólidos solubles totales promedio de nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* (n=10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).

Independientemente del efecto del ambiente que modifica el contenido de sólidos solubles totales de los nopalitos, los resultados de este estudio indican que en condiciones similares esta variable en los nopalitos es un carácter que no refleja los efectos de la domesticación. Similarmente, el contenido de sólidos solubles de los nopales, de dos años de edad, de seis especies de *Opuntia* cultivadas en condiciones de campo fue poco variable (entre 7.1 y 8.6 °Brix) y no hubo diferencia entre *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* (Villareal *et al.*, 1963); los nopales de *O. albicarpa*, *O. ficus-indica* y *O. inermis* con longitud entre 15 y 25 cm fueron similares entre sí y promediaron 6.9 °Brix en un estudio realizado por Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) y 4 °Brix en el realizado por Camarillo y Grajeda (1979). Este atributo es más común realizarlo en los frutos y Reyes-Agüero *et al.* (2005) encontraron que la variación va de 1.74 a 18.92 °Brix y es uno de los atributos que se relaciona con el proceso domesticación, siendo los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, los más dulces.

2.5.3 Potencial osmótico del tejido (Ψ_s)

Entre las especies seleccionadas para esta evaluación se observó que el Ψ_s fue mayor en la base ($P \leq 0.05$) de los nopalitos de *O. streptacantha* y tendió a disminuir a lo largo de los de *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica* linealmente hacia el ápice (Figura 2.7). La diferencia que se observa es debido a las diferencias en las tasas de fotosíntesis, es decir más ácidos orgánicos. En esta condición las células en fase de crecimiento acelerado se caracterizan por sus concentraciones bajas de solutos en la vacuola e hidratación alta del protoplasma, lo que resulta en valores altos de Ψ_s de los tejidos frescos, debido a que la vacuola ocupa alrededor del 90 % del volumen celular. En contraste, las células en estado de latencia se caracterizan por su concentración alta de solutos en la vacuola e hidratación baja del protoplasma, lo que resulta en valores bajos de Ψ_s de los tejidos (Palta, 1990).

El Ψ_s medio de los nopalitos de las ocho variantes varió entre -0.64 y -0.74 MPa y existió diferencia significativa entre ellas (Figura 2.8). Los tres cultivares de *O. ficus-indica* presentaron Ψ_s similar ($P > 0.05$) entre sí; lo que indica que esta variable puede ser relativamente estable dentro de la especie. En contraste, el Ψ_s de las variantes

silvestres de *O. hyptiacantha* fueron significativamente diferentes entre sí y sus valores estuvieron en los extremos observados.

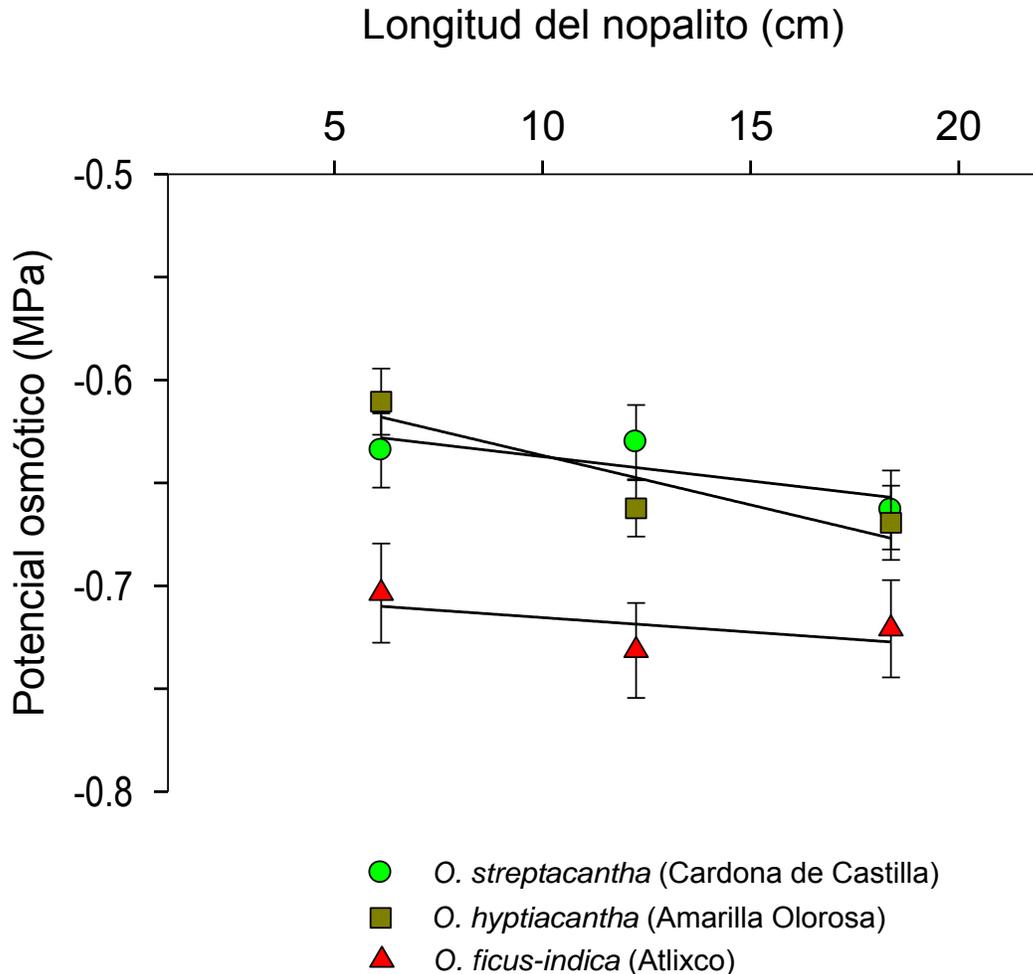


Figura 2.7. Potencial osmótico promedio (- e.e.) de tejido fresco a lo largo de nopalitos de tres especies de *Opuntia* (n= 10)

El Ψ_s fue diferente ($P \leq 0.05$) entre las especies y su tendencia general de disminución se observó con el gradiente de domesticación, con excepción de *O. albicarpa*. Los valores extremos correspondieron a la especie silvestre *O. streptacantha* (-0.63 MPa) y a la domesticada *O. ficus-indica* (-0.71 MPa) (Figura 2.9).

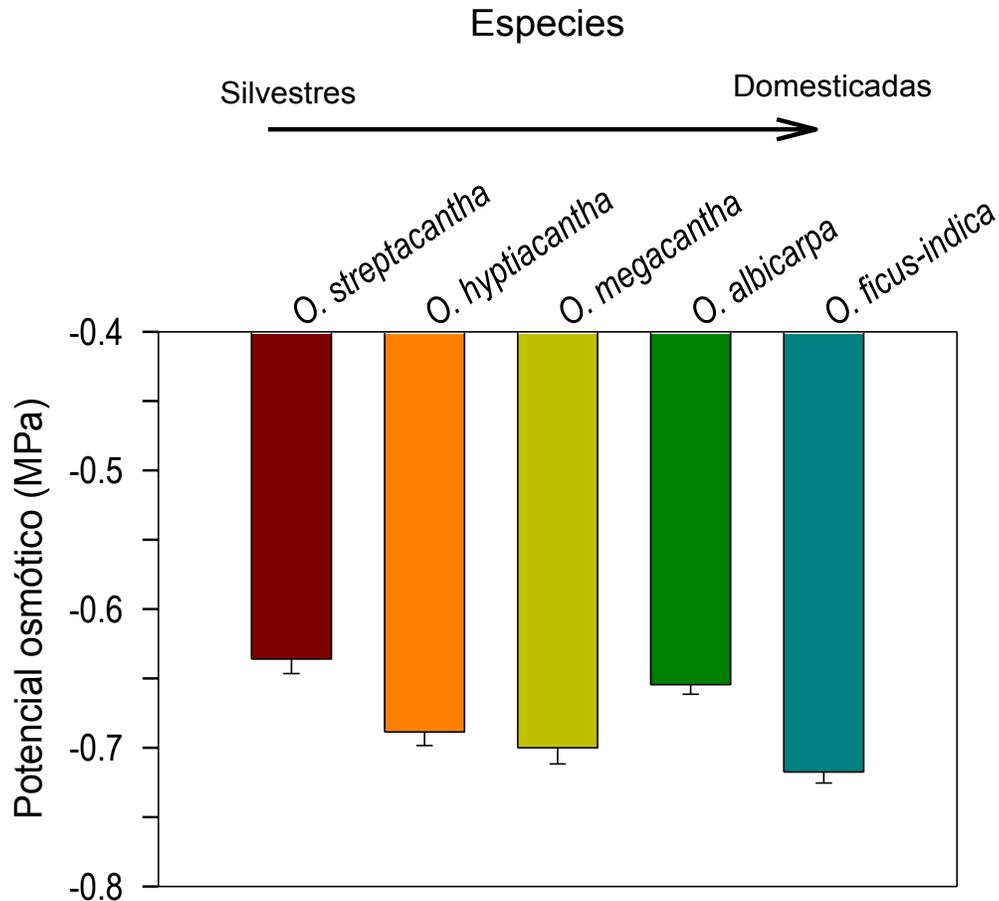


Figura 2.9. Potencial osmótico promedio (- e.e.) de tejido fresco de nopalitos de cinco especies de *Opuntia* (n= 10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).

El Ψ_s de los nopalitos silvestres es mayor en comparación con la de las especies domesticadas, lo cual podría estar relacionado con la capacidad de las plantas para permanecer en los ambientes naturales o de cultivo. Aunque las condiciones en las que se desarrollaron los nopalitos evaluados en el presente estudio parecen óptimas, o cercanas a las óptimas, para las especies domesticadas y opuestas a las del ambiente silvestre, con suelos empobrecidos y someros, lluvias escasas y erráticas (Nobel, 1988; Reyes-Agüero *et al.* 2009), los tejidos de las variantes silvestres se mantuvieron hidratados por el riego frecuente, el Ψ_s fue contrastante entre las especies.

Si el Ψ_s representa la disminución de la capacidad de desplazamiento del agua debido a la presencia de solutos, pues a medida que la concentración de soluto

aumenta, el Ψ_s disminuye, por consiguiente; el contenido de solutos de las especies silvestres sería menor que el de las domesticadas. Efectivamente, esta tendencia se observó en los resultados de la Figura 2.6. Así, en las condiciones del estudio, los nopalitos de la especie domesticada *O. ficus indica*, presento el Ψ_s menor, mostrando una mayor capacidad para extraer agua del suelo, en contraste; la especie silvestre *O. streptacantha* mostro el Ψ_s mayor, posiblemente se deba al estado hídrico del protoplasma celular, el cual es independiente de la condición hídrica del ambiente. Las diferentes especies responden ya sea maximizando la absorción de agua o bien minimizando las pérdidas de agua, ambos mecanismos mantienen a las plantas dentro del estado de turgor, lo cual conlleva diferentes costos energéticos. Resultados similares observaron García *et al.* (2008) con los nopalitos de una variante de *O. streptacantha* y cinco cultivares de *O. ficus-indica* cultivados en condiciones de invernadero y riego; aunque, las diferencias entre los Ψ_s de los tejidos parecían mínimas, si fueron significativas, la variante silvestre presentó el Ψ_s mayor, y la diferencia más amplia se observó entre esta variante y el cv. Moradaza, con Ψ_s de -1.6 y -2.9 MPa.

2.5.4 Permeabilidad de las membranas celulares

En las tres secciones de las tres especies seleccionadas para esta evaluación, *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*, generaron conductividad eléctrica, equivalente a los electrolitos liberados por los tejidos, en dos fases: la inicial fue breve y acelerada durante los primeros 30 minutos y la segunda consistió en el aumento lento durante 2.5 h (Figura 2.10 A-C). En la fase inicial la conductividad eléctrica generada por las secciones de los nopalitos de las tres especies fue similar. En contraste, en la segunda fase si hubo diferencias ($P \leq 0.05$) entre las secciones y desde el inicio de esta fase la liberación de electrolitos de la base, de las tres especies, pareció la menor, pues la conductividad del medio en el que estaban esos tejidos se mantuvo baja. Las diferencias entre el tejido de la región media y del ápice fueron menos evidentes en *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*, pero en *O. hyptiacantha* se obtuvieron valores intermedios de la zona media del nopalito y los valores mayores del ápice. El gradiente

de liberación de electrolitos a lo largo del nopalito puede deberse al gradiente de edades de los tejidos en desarrollo. Los resultados indicaron que, en las condiciones de la evaluación, las tres secciones de los nopalitos generan la conductividad eléctrica máxima entre las 2.5 y 3 h y la comparación de las ocho variantes sería conveniente hacerla con los tejidos de la sección media o del ápice porque son los que registran las conductividades mayores.

La comparación de medias de la conductividad eléctrica mostró diferencias significativas entre las ocho variantes (Figura 2.11). Los tejidos de los nopalitos silvestres de Cardona de Castilla generaron la conductividad menor ($13.55 \mu\text{Siem cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ tejido fresco) y los cultivares Villanueva, Atlixco y Copena V1 las mayores (promedio $17.26 \mu\text{Siem cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ tejido fresco). Estos resultados indican que bajo las mismas condiciones de cultivo las variantes presentaron permeabilidad diferente de membranas, contenido intracelular de electrolitos distinto o ambos (Prášil y Zámečnick, 1998). En contraste, en un estudio en el que se incluyeron cuatro cultivares de *O. ficus-indica* y una recolecta de *O. streptacantha*, cultivados en invernadero García *et al.* (2008) no observaron diferencia significativas en la conductividad eléctrica generada por los segmentos de nopalitos entre los tratamientos con riego (ψ_A del suelo de -0.3 MPa).

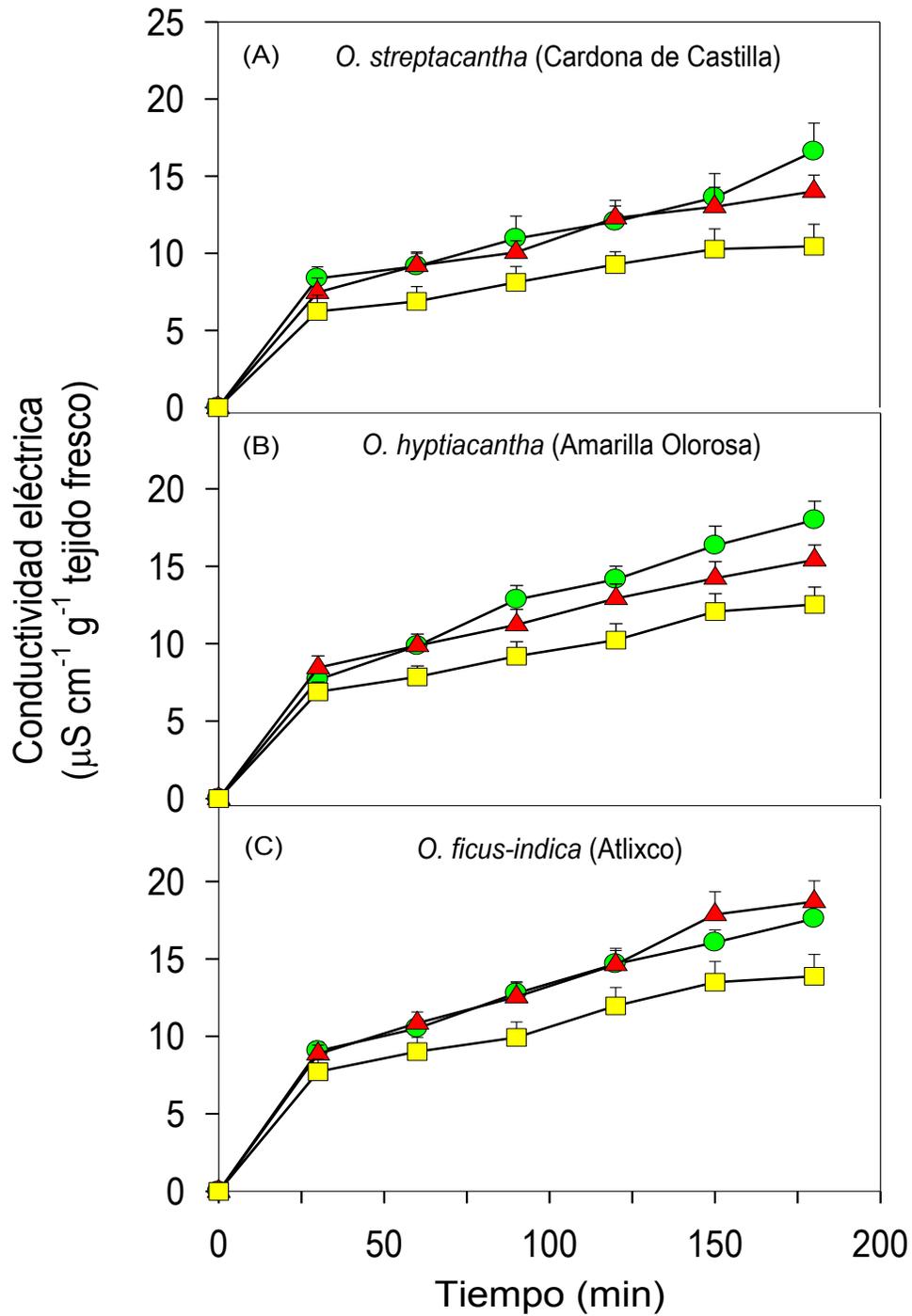


Figura 2.10. Conductividad eléctrica promedio (+ e.e) del medio acuoso, en función del tiempo, de segmentos de tejido fresco de la base (■), centro (▲) y ápice (●) de nopalitos de tres especies de *Opuntia*, crecidos en condiciones de invernadero y riego (n= 10)

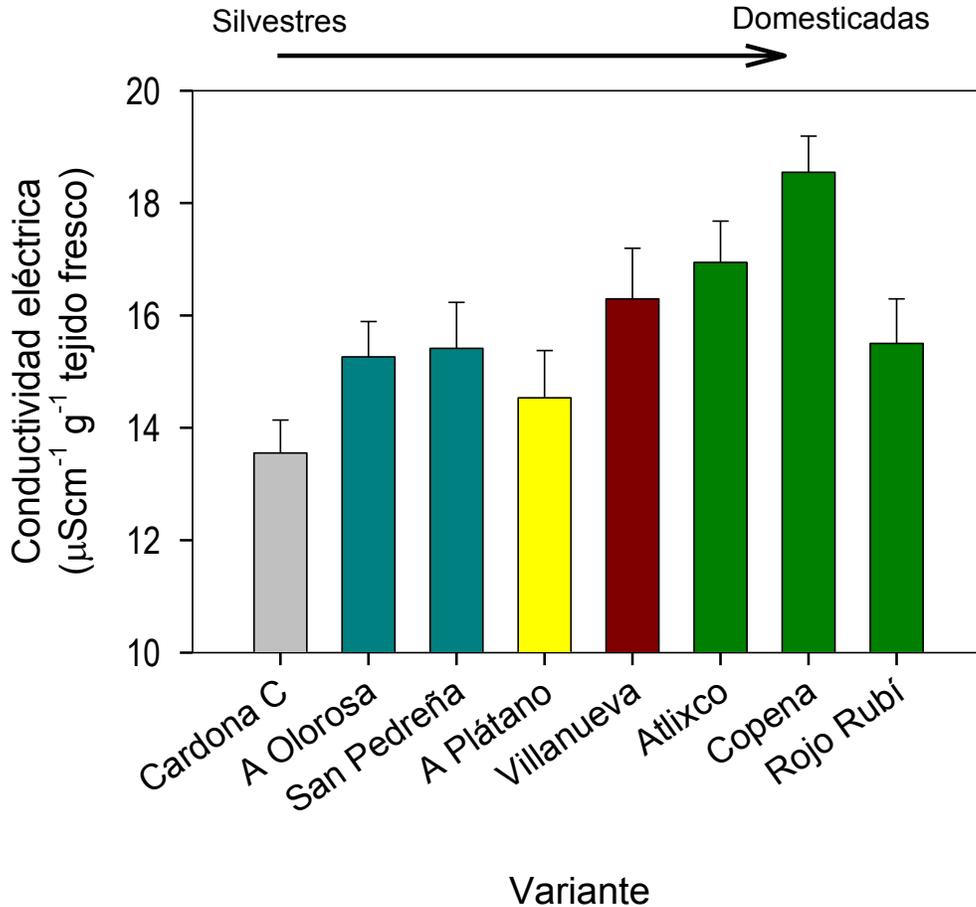


Figura 2.11. Conductividad eléctrica promedio (+ e.e.) generada en el medio acuoso por segmentos de tejido fresco de nopalitos (*Opuntia* spp.), en un gradiente de domesticación, cultivados en condiciones de invernadero y riego (n= 10)

La conductividad eléctrica generada por los tejidos de los nopalitos agrupados por especie mostró diferencias significativas e incrementó con el nivel de domesticación (Figura 2.12). Las diferencias entre *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* representaron entre 15 y 31 %. Este resultado se obtuvo de nopalitos de plantas crecidas en condiciones diferentes a su hábitat y en pocas variantes de cada especie; sin embargo, es un indicio de que la permeabilidad de las membranas celulares de sus tejidos sí es modificada durante el proceso de domesticación. La permeabilidad menor de las membranas celulares de las especies silvestres puede estar relacionada con la reacción constante de sus tejidos a la humedad limitada y que

se traduce, entre otros aspectos fisiológicos, en turgencia incrementada en estas especies (García *et al.*, 2008).

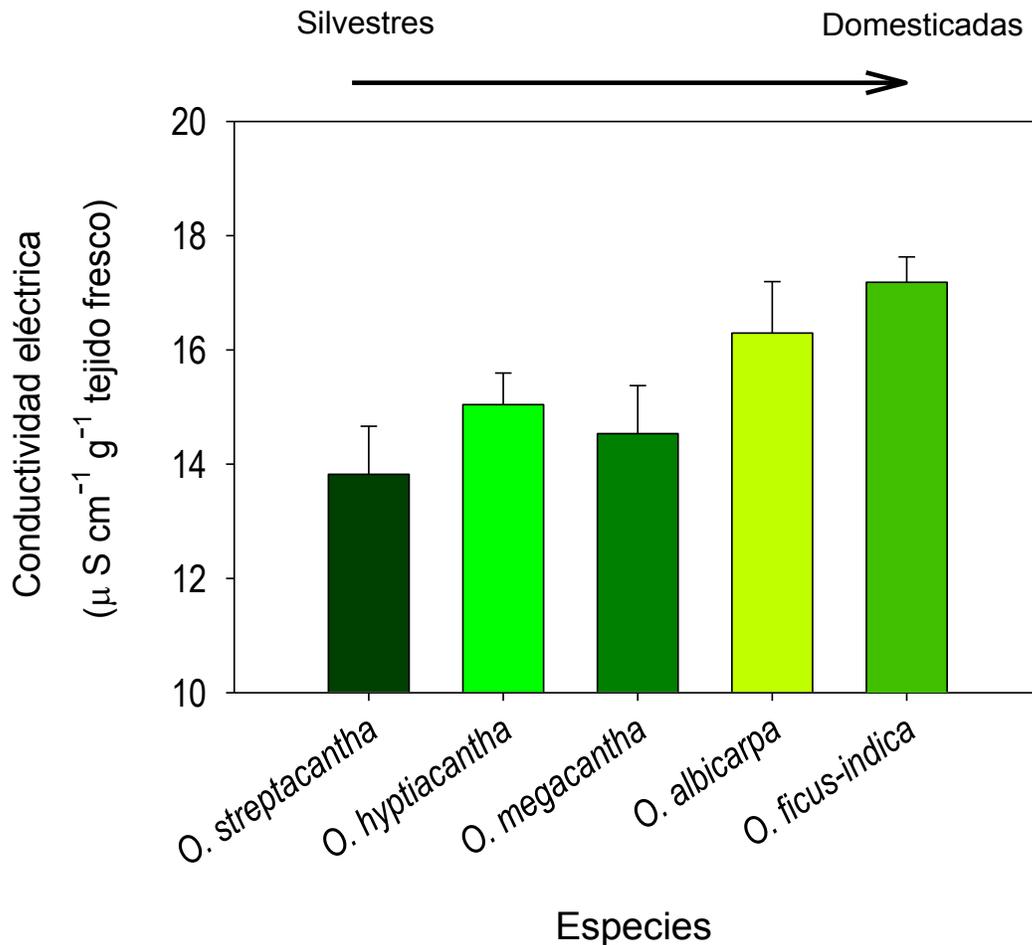


Figura 2.12. Conductividad eléctrica media en medio acuoso generada por el tejido fresco de nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* (n= 10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).

La permeabilidad relativa de las membranas celulares de los nopalitos de las ocho variantes mostró diferencias significativas. La variante silvestre Cardona de Castilla generó la liberación menor de electrolitos (17.20 %) y los cultivares Rojo Vigor y Copena V1 presentaron la mayor (en promedio 27.8 %) (Figura 2.13); la diferencia entre estos extremos representó 38 %. Con el

congelamiento de los tejidos las membranas celulares se rompen y liberan su contenido al medio por lo que la conductividad eléctrica alcanza los valores máximos (Palta, 1990).

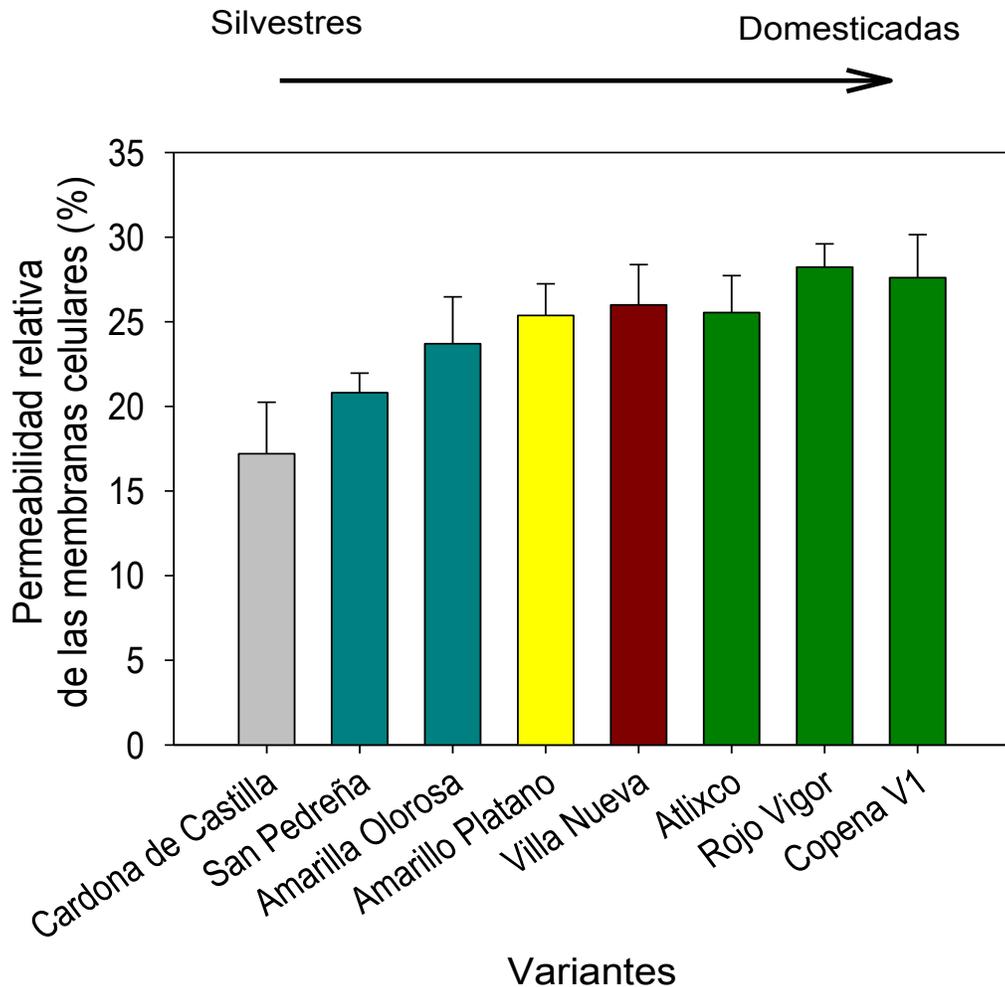


Figura 2.13. Permeabilidad relativa de las membranas celulares (+e.e) de tejido de ocho variantes de nopalitos, cultivados con riego y en condiciones de invernadero. Cada barra es el promedio de la relación: conductividad eléctrica del medio acuoso de tejido fresco después de 3 h, sobre la conductividad generada por el tejido muerto, por congelación, multiplicada por 100 (n= 10).

Las diferencias ($P \leq 0.05$) de la permeabilidad relativa de las membranas celulares, generadas por las muestras previamente congeladas, entre las variantes puede deberse: a) a que los electrolitos liberados por los tejidos (el contenido celular), sea diferente entre las variantes, b) que las concentraciones de algunos o todos esos electrolitos son distintos entre las variantes, aunque los nopalitos se desarrollaron en condiciones similares y en el mismo sustrato, o c) ambas posibilidades. Por lo anterior, las diferencias significativas en la permeabilidad relativa de las membranas celulares de los tejidos, entre las cinco especies pueden tomarse como evidencia de diferencias en la respuesta al cultivo entre ellas; ya que se observó que esta variable aumentó con el gradiente de domesticación, desde 17.20 % en *O. streptacantha* hasta 26.12 % en *O. ficus-indica* (Figura 2.14) en condiciones de riego, indicando que existen diferencias en las respuestas fisiológicas entre especies, mostrando que el mantenimiento y la estabilidad de la membrana celular fue mayor para las especies silvestres en comparación con las domesticadas, presentando una mayor pérdida de agua en el tejido del nopalito donde se presentó un mayor daño en la membrana celular.

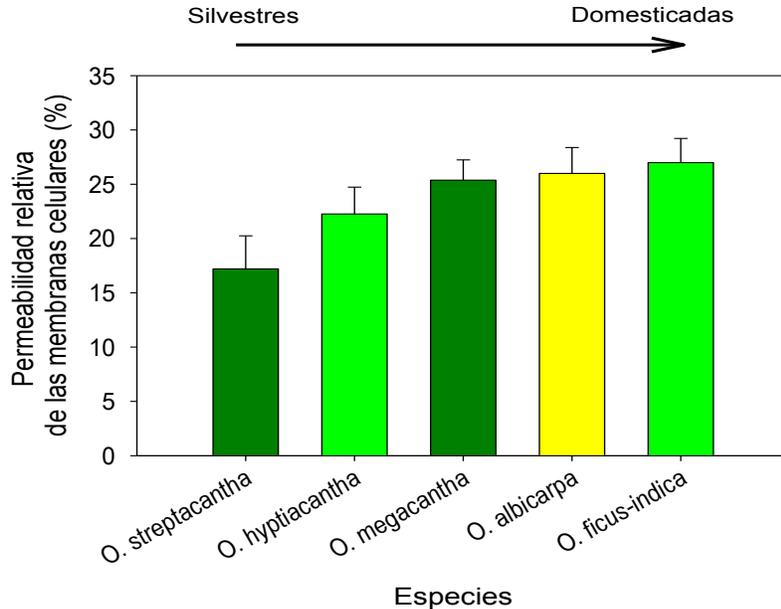


Figura 2.14. Permeabilidad relativa de las membranas celulares (+ e.e.) de nopalitos de cinco especies de *Opuntia* (n=10 repeticiones por variante, obteniendo el promedio por cada especie).

Análisis multivariable de componentes principales

El ACP se realizó para identificar algunas características físicas y químicas que pueden estar relacionadas con el proceso de domesticación de *Opuntia*. El análisis incluyó la liberación de electrolitos, potencial osmótico, firmeza y contenido de sólidos solubles totales de las ocho variantes agrupadas en cinco especies.

Los tres primeros CP explicaron 82.4 % de la variabilidad total (Cuadro 1). El CP1 tuvo la correlación positiva mayor con la conductividad eléctrica. Así el CP1 estuvo relacionado con la permeabilidad natural de las membranas celulares de los tejidos de los nopalitos. El CP2 tuvo la correlación positiva mayor con el contenido de sólidos solubles totales. Por lo que, puede decirse que este CP estuvo relacionado con la composición celular de los tejidos. Mientras que el CP3 se correlacionó negativamente con Ψ_s . Esto indica que el tercer CP tuvo relación inversa con la capacidad de desplazamiento del agua debido a la presencia y concentración de ciertos solutos en las células, es decir se relacionó principalmente con el nivel de hidratación del protoplasma (Cuadro 1).

Cuadro 2.1. Valores propios y proporción de la varianza acumulada de los tres primeros CP, obtenidos a partir de las características físicas y químicas de ocho variantes de nopalitos (*Opuntia* spp.).

	CP1	CP2	CP3
Proporción de varianza acumulada	0.3593	0.6128	0.8237
Conductividad eléctrica	0.6320	-0.0497	0.1095
Firmeza	0.5789	-0.1063	0.5760
Potencial osmótico	0.5131	0.2680	-0.7591
Sólidos solubles totales	-0.0465	0.9562	0.2825

La representación gráfica del CP2 en función del CP1 (Figura 3.15 A) mostró separación casi total de las especies silvestres *O. streptacantha* y domesticadas *O. ficus-indica*, con cierto traslape de ellas sobre el CP1.

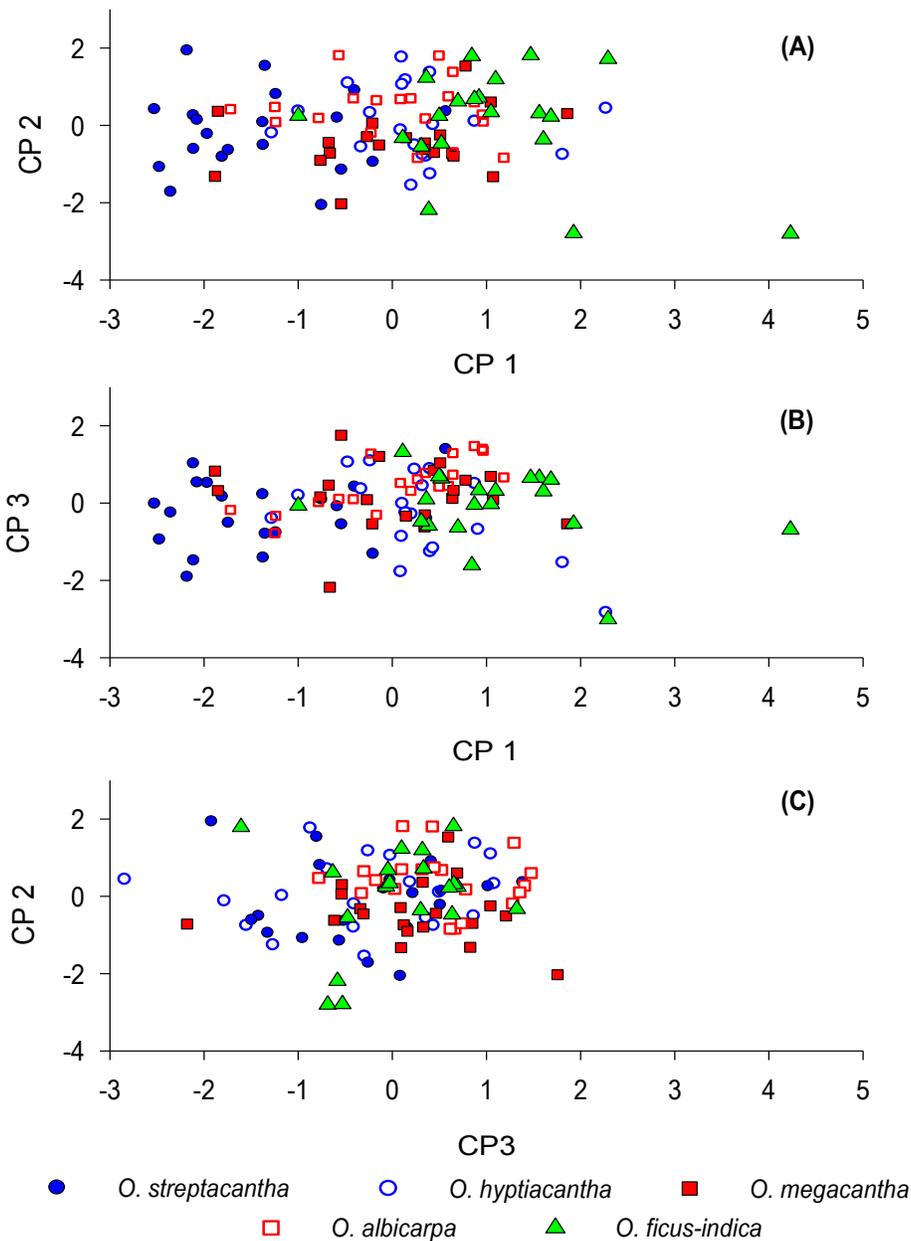


Figura 2.15. Ordenación en tres componentes principales (CP) de nopalitos, de ocho variantes, de cinco especies de *Opuntia*, basada en cuatro características biofísicas y químicas.

Este resultado indica que las dos especies en los extremos del gradiente pueden considerarse unidades biológicas independientes. En contraste, las otras tres especies se localizaron dispersas sobre el CP1, entre *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*.

Además, en la misma representación gráfica (Figura 2.15 A) la especie con domesticación intermedia *O. megacantha* presentó separación parcial de la domesticada *O. albicarpa* sobre el CP2. En las condiciones del estudio, entre las que sobresalen el cultivo de los nopalitos en invernadero y el riego semanal de las plantas, la principal característica biofísica que permitió la separación de las especies en los extremos del gradiente de domesticación fue la permeabilidad de las membranas celulares y su control natural para la liberación de los electrolitos intracelulares, en CP1. La principal característica química que permitió la separación de las especies de la zona central del gradiente de domesticación fue el contenido de sólidos solubles totales, es decir la composición celular parcial del tejido fresco de los nopalitos, en CP2.

La ubicación de las especies sobre el CP3 no agrupó ni separó alguna de ellas; por lo que la representación gráfica de CP1 y CP3 (Figura 2.15 B) mostró únicamente la separación descrita arriba de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* sobre CP1 (Figura 2.15 A). Sin embargo, las especies en el plano CP2 - CP3 (Figura 2.15 C) mostró cierto agrupamiento central de *O. ficus-indica*. Esta ordenación de las especies permite sugerir que el proceso de domesticación ha actuado sobre la reducción de la variación de las características incluidas en el estudio, como ha sido señalado en otras especies (García *et al.*, 1997).

La identificación de las especies de *Opuntia*, del gradiente de domesticación reconocido por Reyes-Agüero *et al.* (2005), como entidades biológicas independientes fue observada también por López-Palacios *et al.* (2012) con base en la composición de polisacáridos estructurales. Estos autores indicaron que el gradiente basado en características morfológicas de las plantas completas, los cladodios, nopalitos y frutos (Reyes-Agüero *et al.*, 2005) coincidió parcialmente con la composición de algunos grupos de polisacáridos estructurales, como mucílagos, pectinas y hemicelulosas de los nopalitos y, en el estudio presente, la coincidencia es con la funcionalidad de las membranas celulares principalmente y el contenido celular (Figura 2.15 A).

2.6 Conclusiones

El gradiente de domesticación del género *Opuntia* basado en características morfológicas de las plantas completas, los cladodios, nopalitos y frutos coincide parcialmente con las características biofísicas y químicas inherentes de cada especie de nopalitos, mostrando que la permeabilidad de las membranas celulares y los SST permitieron la separación de la especie silvestre *O. streptacantha* y la domesticada *O. ficus-indica* demostrando que se encuentran en los extremos del gradiente de domesticación, como entidades biológicas independientes; en contraste, las características de las especies intermedias en el gradiente de domesticación, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* no definieron la separación entre ellas y las otras dos especies.

2.7 Literatura citada

- Anderson, E. F. 2001. The Cactus Family. Timber. Portland. 776 p.
- Betancourt-Domínguez, M.A.; Hernández-Pérez, P.; García-Saucedo.; Cruz-Hernández, A.; Paredes-López, O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (Nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). Plant Foods for Human Nutrition 61: 115-119.
- Camarillo, B.; Grajeda, J.E. (1979). Estudio comparativo de cinco selecciones de nopal para consumo humano. Proc. Trop. Reg. Amer. Soc. Horticultural Science 23: 236-238.
- Casas, A.; Caballero, J.; Valiente, B.; Soriano, A.; Dávila, P. 1999. Morphological variation and the process of domestication in *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. American Journal of Botany. 86: 522-533.
- Casas, A.; Otero-Arnaiz, A.; Pérez-Negrón, E.; Valiente-Banuet, A. 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. Annals of Botany 100 (5): 1101-1115.
- Colunga, G. M. P.; Hernández, X. E.; Castillo, M. A. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío guanajuatense. Agrociencia. 65: 7-49.

- Corrales-García, J.; Peña-Valdivia, C. B.; Razo, M. Y.; Sánchez, H.M. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32(2):169-174.
- Esparza S., S. 2010. Distribución geográfica del género *Opuntia* en México. Tesis de maestría. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, SLP 85 p.
- Financiera Rural. 2011. Monografía de nopal y tuna 15p. Consultada 15/04/2012. Disponible:[http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna\(jul11\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna(jul11).pdf).
- Flores, V.C.; Esquivel, J.M.; Ramírez, P.P. 1995. Mercado mundial del nopalito. CIESTAAM. Universidad Autónoma de Chapingo. 115 p.
- Gallegos, V. C.; S. de J. Méndez G. 2000. La tuna: criterios y técnicas para su producción comercial. Universidad Autónoma Chapingo-Colegio de Postgraduados-Fundación Produce Zacatecas, A.C. Chapingo, Estado de México. 164 p.
- Gallegos-Vázquez, C.; C. Mondragón J.; J.A. Reyes-Agüero. 2009. An Update on the evolution of the cactus pear industry in Mexico. *Acta Horticulturae*. 811:69-76.
- Gallegos-Vázquez, C. y C. Mondragón. 2011. Cultivares selectos de tuna de México para el mundo. Universidad Autónoma Chapingo y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Chapingo, Méx. 159 p.
- García, H. E.; Peña-Valdivia, C. B.; Aguirre-Rivera, J.R.; Muruaga, J.S. 1997. Morphological and agronomic traits of a wild population and an improved cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany* 79: 207-213.
- García, H. 2003. Caracterización de la cadena agroalimentaria del nopal tunero e identificación de sus demandas tecnológicas. Programa estratégico de Necesidades de Investigación y Transferencia de Tecnología en el Estado de San Luis Potosí. Etapa III. Fundación Produce San Luis Potosí. Colegio de Postgraduados. Campus San Luis Potosí. 253 p.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.

- García-Ruiz, M.T.; Peña-Valdivia, C. B.; Trejo-López, C.; Valle, S.G.; Corrales-García, J.; García-Nava, R.; 2008. Tissue osmotic potential and membranes permeability of nopalitos (*Opuntia* spp.) affected by changes in soil water potential. *Journal of Professional Association for Cactus Development* 10: 133-147.
- Guzmán, U.; Arias, S.; Dávila, P. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 315 p.
- Haard, N.F. 1976. Characteristics of edible plant tissues. In: Fennema OR (Ed.). *Principles of food science. Part I. Food Chemistry.* New York. Marcel Dekker. 41. 137 p.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. *In: Physiological and biochemical indicators for stress tolerance.* Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Huang, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Liu, M.Z.; Jiang, G.M.; Li, Y.G.; Niu, S.L.; Gao, L.M.; Ding, L.; Peng, Y. 2003. Leaf osmotic potentials of 104 plant species in relation to habitats and plant functional types in Hunshandak Sandland, Inner Mongolia, China. *Trees.* 17: 554-560.
- López-Palacios, C.; J.A. Reyes-Agüero; H.M. Ramírez-Tobías; B.I. Juárez-Flores; J.R. Aguirre-Rivera; L. Yañez-Espinosa y M.A. Ruiz-Cabrera. 2010. Evaluation of attributes associated with the quality of nopalito (*Opuntia* spp. and *Nopalea* sp.). *Italian Journal of Food Science.* 22(4):423-431.
- López-Palacios, C.; Peña-Valdivia, C.B.; Reyes-Agüero; J.A.; Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalito (*Opuntia* spp.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(6): 1015-1026.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti.* Cambridge University Press, New York.
- Palta, J. P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. *Horticultural Science.* 25 (11): 1377-1381.
- Prášil, I.; Zámečnick. 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and

- shape in a sample on evaluation of the degree of injury. *Environmental and Experimental Botany*. 40: 1-10.
- Peña-Valdivia, C.B; Sánchez-Urdaneta, A.B.; Meza-Rangel, J.; Juárez-Muñoz J.; García-Nava, R.; Celis-Velázquez, R. 2010. Anatomical root variations in response to water deficit: wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Biol. Res.* 43: 417-427.
- Peña-Valdivia, C. B.; García-Nava, J.R.; Aguirre-Rivera, J.R.; Ybarra-Moncada, M.C; López, M.H. 2011. Variation in physical and chemical characteristics of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grain along a domestication gradient. *Chemistry & Biodiversity* 8(12): 2211-2225
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.R.; Flores-Flores, J.A. 2005a. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia*. 30: 476-484.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.R.; Hernández, H. 2005b. Systematic notes and detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). *Agrociencia*. 39: 395-408.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.R.; Carlín, C. F.; González, D.A. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT. San Luis Potosí, S.L.P. México. 350 p.
- Reyes Agüero, J.A.; J.R. Aguirre R. 2011. Agrobiodiversity of cactus pear (*Opuntia*, Cactaceae) in the Meridional Highlands Plateau of Mexico. *J. of Natural Resources and Development*. 1:1-8.
- Rodríguez-Felix, A.; Cantwell, M. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition*. 38: 83-93.
- SAS, 1999-2000. SAS user's guide: Statistics. Version 9. SAS Institute Inc. Cary, NC. EU. 1290 p.
- Sene, E.H.; Felker, P.; Moss, J. 1996. The potential of *Prosopis* in the conservation and development of drylands. The FAO perspective *In: Prosopis: Semi-arid Fuelwood*

- and Forage Tree. Building Consensus for the Disenfranchised. Center Semi-Arid Forest. Kingsville, TX. USA. 59 p.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. 2005. Review. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 175-194.
- Urrestarazu, M.G. 2003. Tratado de cultivo sin suelo. Universidad de Almería, España. Mundi-Prensa S.A. 903 p.

3. CARACTERÍSTICAS BIOFÍSICAS Y QUÍMICAS DE NOPALITOS (*Opuntia* spp.) CON RESTRICCIÓN DE HUMEDAD EN EL SUELO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN

3.1 Resumen

En el proceso de domesticación de *Opuntia* es necesario identificar los cambios en las variantes y las especies, pues es común que se generen diferencias en los órganos y atributos de interés antropocéntrico en comparación con las especies silvestres. Las diferencias morfológicas han permitido reconocer un gradiente de domesticación de las especies de *Opuntia*; pero, podrían también ser físicas y químicas. El objetivo de este estudio fue evaluar las características físicas y químicas de los nopalitos, sin riego por 2 meses, de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación. La hipótesis fue que los nopalitos muestran un gradiente de características físicas y químicas equivalente al reconocido con las morfológicas. Se analizaron 15 variantes, de cinco especies, cultivadas en invernadero. Se evaluó el potencial osmótico (ψ_s), potencial de agua (ψ_A), potencial de turgencia (ψ_T), permeabilidad de las membranas celulares, contenido de sólidos solubles totales (SST), acidez y firmeza. Se empleó un diseño completamente al azar con seis repeticiones por tratamiento, con una planta como unidad experimental. Los datos fueron analizados con análisis de varianza, la prueba de comparación múltiple de medias por el método de Tukey ($P \leq 0.05$) y multivariable de componentes principales (CP). La firmeza, permeabilidad de las membranas celulares, los SST y la acidez incrementaron con el gradiente de domesticación; aunque los dos últimos disminuyeron entre las 5:00 y 13:00 h. La especie silvestre *O. streptacantha* y la domesticada *O. ficus-indica* tuvieron la firmeza menor y mayor (5.4 y 6.6 kgf). La permeabilidad de las membranas fluctuó entre 25.61 en la especie casi silvestre *O. hyptiacantha* y 31 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ tejido en *O. ficus-indica* (18 % de incremento). Los SST a las 5:00 h variaron entre 5.24 y 6.44 °Brix y a las 13:00 h entre 4.86 y 5.93 °Brix en *O. streptacantha* y *O. megacantha* y la acidez a las 5:00 h en un intervalo entre 0.72 y 0.82 % y a las 13:00 h entre 0.61 y 0.67 % en *O. hyptiacantha* y *O. albicarpa*. En contraste, en general ψ_s y ψ_A disminuyeron con el gradiente de domesticación, de -1.01 a -1.17 MPa en *O. streptacantha* y *O. albicarpa*, y de -0.85 a -1.07 MPa en *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. El análisis de CP evidenció que la firmeza, ψ_s y SST son las características principales que contribuyeron a la separación de las especies del gradiente de domesticación.

Palabras clave: composición química, cactáceas, domesticación, nopal, zonas áridas.

BIOPHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF NOPALITOS (*Opuntia* spp.) WITH RESTRICTED SOIL MOISTURE IN A DOMESTICATION GRADIENT

3.2 Abstract

In the process of *Opuntia* domestication is necessary to identify changes in the variants and species of the organs and anthropocentric attributes compared to wild species. Morphological differences allowed to recognize a gradient of domestication in the *Opuntia* species, however it is not known if also physical and chemical characteristics could differentiate the *Opuntia* domestication process. The aim of this study was to evaluate the physical and chemical characteristics of nopal plants growing without watering for 2 months, of five *Opuntia* species in a gradient of domestication. The hypothesis was that the nopalitos show a gradient of physical and chemical characteristics equivalent to the morphological characteristics recognized in the domestication gradient. We analyzed 15 variants belong to five species grown in a greenhouse. In this study was evaluated the osmotic potential (ψ_s), water potential (ψ_A), turgor potential (ψ_T), cell membrane permeability, total soluble solids (TSS), acidity and firmness. We used a completely randomized design with six replicates per treatment, with a plant as the experimental unit. Data were analyzed with analysis of variance, Tukey method ($P \leq 0.05$) and multivariate principal components (PC). The firmness, cell membrane permeability, TSS and acidity increased with the gradient of domestication, although the latter two decreased between the 5:00 and 13:00 h. The wild species *O. streptacantha* and the domesticated *O. ficus-indica* had lower and higher (5.4 and 6.6 kgf) firmness respectively. The permeability of the membranes ranged from 25.61 in *O. hyptiacantha* to 31 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ in *O. ficus-indica* (represented 18% increase). The SST at 5:00 h was between 5.24 and 6.44 ° Brix and at 13:00 h and between 4.86 and 5.93 ° Brix in *O. streptacantha* and *O. megacantha*. The acidity at 5:00 was in a range between 0.72 and 0.82% and at 13:00 h between 0.61 and 0.67% in *O. hyptiacantha* and *O. albicarpa* respectively. In contrast, the ψ_s and ψ_A decreased with domestication gradient from -1.01 to -1.17 MPa in *O. streptacantha* and *O. albicarpa*, and -0.85 to -1.07 MPa in *O. streptacantha* and *O. ficus-indica*. CP analysis showed that firmness, ψ_s and SST are the main features that contributed to the separation of species in the domestication gradient.

Keywords: *Opuntia*, domestication gradient, water potential, osmotic potential, turgor potential, cell membrane permeability, total soluble solids, firmness and acidity

3.3 Introducción

La escasez de agua para la producción de alimentos ha llegado a ser el problema principal para incrementar la producción agrícola en numerosos países. En América Latina las regiones áridas y semiáridas ocupan un tercio de su superficie (Pimienta-Barrios, 1998). En México éstas regiones constituyen 63 % del territorio (Díaz-Padilla *et al.*, 2011) y en ellas el déficit de agua, las temperaturas extremas (primaveras con temperaturas de hasta 40°C e inviernos con -5°C) y, en algunas zonas, con exceso de sales en los suelos, son factores adversos para el desarrollo de los cultivos más comerciales. Los nopales (*Opuntia* spp.) representan uno de los recursos de relevancia mayor en los ecosistemas de zonas áridas (con precipitación media anual menor a 250 mm) y semiáridas (con precipitación media anual de 250 a 450 mm), debido a que tienen adaptaciones estructurales, fenológicas, fisiológicas y metabólicas propias para vivir en estos ambientes. Las plantas de este género se caracterizan por su metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC) y abren sus estomas en la noche, con lo que la entrada de CO₂ y la pérdida de vapor de agua ocurre en la etapa más fresca del ciclo de 24 h (Taiz y Zeiger, 2002; Larcher, 2003); lo anterior, combinado con adaptaciones estructurales, como la succulencia, les permite sobrevivir períodos de sequía prolongados alcanzando niveles de productividad aceptables (Reynolds y Arias, 2003).

El cultivo del nopal en México se ha intensificado en los últimos años para producir frutos y nopalitos (Gallegos *et al.*, 2009). Además, las plantas de nopal silvestre, de solares y domesticadas son un recurso inagotable de productos y usos, y son consideradas un cultivo de subsistencia y comercial, que contribuye a la seguridad alimenticia de poblaciones en áreas marginadas (Reynolds y Arias, 2003). Aunque las poblaciones silvestres en México han disminuido notablemente, en parte por actividades humanas (Gaytan-Villafuerte *et al.*, 2011) prevalece el interés por conocerlas y caracterizarlas.

Los nopalitos, han sido consumidos en México desde épocas precolombinas y actualmente son demandados en Estados Unidos, Canadá, Japón, Italia y Turquía

debido a su valor calórico bajo, contenido alto en fibra y a sus características nutricionales y funcionales (Stintzing y Carle, 2005; Saenz, 2004). Los efectos positivos del nopal en la salud han sido demostrados, tiene efecto hipoglucemiante, es auxiliar en la disminución de colesterol sérico, contiene antioxidantes: como carotenos, betalainas y ácido ascórbico; también, se ha demostrado que posee propiedades y efectos anticancerígenos y antivirales (Utkarsha, 2010).

Actualmente los nopalitas se cultivan ampliamente en la zona semiárida de la Altiplanicie Meridional, en el centro-norte de México, en ella se encuentran 35 % de las 83 especies silvestres de nopal que existen en México y la mitad de ellas son endémicas de esa región (Esparza, 2010). Además de las especies silvestres existen los tipos domesticados de *Opuntia*, que han surgido de la relación de los humanos a través del proceso de la selección artificial por sus atributos. Como resultado de lo anterior y del proceso de domesticación del nopal, actualmente existen 126 variantes de *Opuntia*, que corresponden a 18 especies, apreciadas por los recolectores y cultivadores de nopal en la Altiplanicie Meridional (Reyes-Agüero *et al.*, 2009; Reyes-Agüero y Aguirre, 2011).

La domesticación es la última y más acabada fase del proceso de humanización (Perales y Aguirre, 2009) y es un proceso evolutivo a través del cual las plantas y animales llegan a ser morfológica y fisiológicamente divergentes de sus ancestros silvestres. Tal divergencia es el resultado de la selección artificial y otras fuerzas evolutivas determinadas por la manipulación de las plantas por los humanos (Harlan, 1992). La domesticación de las plantas se realiza con base en la variabilidad genética y fenotípica existente en una región; esta variabilidad es influenciada por las modificaciones que generalmente son asociadas al cultivo de plantas silvestres en ambientes controlados (Harlan, 1992). Una característica de las plantas domesticadas es su dependencia del ambiente humanizado para su sobrevivencia, lo cual implica un cambio en la adaptación ecológica (Perales y Aguirre, 2008).

La domesticación de *Opuntia* inició con su recolección en ambientes silvestres, luego, las mejores de ellas fueron trasladadas al *domus*, en particular a los solares; las especies seleccionadas pertenecen a especies dominantes en la mayor parte de las nopaleras silvestres de la Altiplanicie Meridional de México. Esta región es señalada

como la probable área de domesticación de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, siendo esta la especie con el grado mayor de domesticación que se cultiva tanto por su fruto como por su nopalito (Reyes-Agüero 2004 y 2005). Reyes-Agüero *et al.* (2005) reconocieron un gradiente de domesticación de este género después de analizar la variación morfológica de nopalitos, cladodios, flores y frutos de 243 variantes. En ese gradiente *O. streptacantha*, se localizó en el extremo silvestre, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* en el nivel intermedio de domesticación y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* en el extremo de domesticación mayor.

Los caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos del género *Opuntia* son indicadores de su tolerancia a periodos secos, e incluso a la sequía (Barbera, 1995), el estudio del género en el gradiente de domesticación puede permitir identificar marcadores para seleccionar y multiplicar especies y variantes que se adapten mejor a las condiciones ambientales extremas. Lo anterior parece indispensable debido a que los cambios climáticos sugieren un incremento futuro de las zonas áridas (Chávez y Oliveira, 2004).

Las plantas reaccionan de manera diferente a la disponibilidad limitada de humedad y dependen de sus adaptaciones para sobrevivir en esas condiciones. Entre éstas se encuentran las relacionadas con los ajustes del potencial osmótico (Ψ_S) (Liu, 2003), la eficiencia del uso de agua, los cambios del potencial de agua (Ψ_A) que permite conocer el mecanismo por el cual se desplaza el agua en los tejidos, los ajustes de la composición y organización de las membranas celulares (García *et al.*, 2008; Shewfelt, 1992) y la presencia de cutícula, su espesor y composición, que junto con las paredes celulares afecta la textura y firmeza de los tejidos (Hamann, 2012). En general, estas y otras características físicas y químicas afectan, a su vez, la preferencia de los consumidores de nopalitos (CODEX STAN 186, 1993). El contenido de sólidos solubles totales (SST) y la acidez son características que contribuyen a determinar el sabor (Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007). Los nopalitos se caracterizan por su sabor ácido y la variación de la acidez entre las variantes domesticadas es amplia (Corrales-García *et al.*, 2004), pero existe información limitada de este carácter en las especies silvestres.

El objetivo de esta investigación fue identificar diferencias y semejanzas en las características físicas y químicas de los nopalitos de quince variantes: silvestres,

semidomesticadas y domesticadas, de cinco especies de *Opuntia*, cultivadas en condiciones de invernadero, con restricción de humedad durante 60 d. La hipótesis fue que la firmeza, SST, ψ_S , ψ_A , ψ_T , permeabilidad de las membranas celulares y acidez de los nopalitos corresponden con el gradiente de domesticación reconocido mediante caracteres morfológicos de frutos y cladodios.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

En junio de 2010 se recolectaron 90 cladodios maduros de 15 variantes, representantes de cinco especies de *Opuntia*, en la plantación del Depositario Nacional de *Opuntia*, localizado en el Centro Regional Universitario Centro Norte de la Universidad Autónoma de Chapingo (CRUCEN-UACH), localizado a 4 km al suroeste de la ciudad de Zacatecas, México, en la localidad de “Huertas del Orito”, con clima BS1kw(w)(e)g, esto es un clima seco estepario, templado, con verano cálido y lluvioso, la oscilación anual promedio de temperatura entre 7 y 14 ° C, el mes más cálido ocurre antes del verano, los inviernos son fríos (García, 2004). Las especies y las variantes seleccionadas, representantes del gradiente de domesticación reconocido por Reyes-Agüero *et al.* (2005), fueron *O. streptacantha* Lem., cultivares Cardona de Castilla, Cardona y Tuna Loca; *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber, cultivares Memelo 1, San Pedreña y Amarilla Olorosa; *O. megacantha* Salm-Dyck, cultivares Amarillo Plátano, Rubí Reina y Rojo Lirio; *O. albicarpa* Scheinvar, cultivares Copena Z1, Naranjón Legítimo y Villa Nueva; y *O. ficus-indica* (L.) Miller, cultivares Copena V1, Rojo Vigor y Atlixco.

Los cladodios seleccionados provenían de ramas formadas por cladodios maduros, sanos, vigorosos, sin evidencia de plagas o enfermedades, con una coloración homogénea, longitud y anchura promedio de 34.5 y 20.6 cm y biomasa fresca de 940 g. Los cladodios fueron plantados individualmente, el 8 de julio del 2010, en macetas de material plástico (28.5 cm de altura por 31 cm de diámetro y 19 L de capacidad), con 15 kg de una mezcla de suelo y grava de tezontle (3:1, v:v). Las plantas, fueron

distribuidas al azar, se mantuvieron en un invernadero del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, estado de México, ubicado a 19° 29' de LN y 98° 53' de LO, a una altura de 2240 msnm. El clima se clasifica como Cb(Wo)(W)(i')g, que corresponde a un templado sub-húmedo con lluvias en verano, una época seca en invierno y con poca oscilación térmica (5 y 7 °C) la temperatura media anual es de 15.5 °C. La precipitación media anual es de 664 mm (García, 2004).

Los cladodios seleccionados provenían de ramas formadas por cladodios maduros, sanos, vigorosos, sin evidencia de plagas o enfermedades, con una coloración homogénea, tuvieron longitud y anchura promedio de 36 y 21 cm y biomasa fresca de 1050 g. Los cladodios fueron plantados individualmente, el 8 de julio del 2010, en macetas de material plástico (28.5 cm de altura por 31 cm de diámetro y 19 L de capacidad), con 15 kg de una mezcla de suelo y grava de tezontle (3:1, v/v).

El suelo utilizado fue de la clase textural migajón arenoso con 52 % de arena, 27 % de limo y 20 % de arcilla, las constantes de humedad del substrato fueron la capacidad de campo (CC) 27 % y el punto de marchitamiento permanente (PMP) 13 %; con pH de 6.5, su conductividad eléctrica 6.4 dS m⁻¹, y las concentraciones de N, P, K, Ca, Mg fueron 0.36 %, 269 mg kg⁻¹, 1.1 cmol kg⁻¹, 0.57 cmol kg⁻¹, 0.67 cmol kg⁻¹ respectivamente.

Las plantas, colocadas al azar, se mantuvieron en el invernadero del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, Edo. de México (ubicado a 19°29' Lat. N y 98°53' Long. O a una altura de 2240 msnm). El clima se clasifica como Cb(Wo)(W)(i')g, que corresponde a un templado sub-húmedo con lluvias en verano, una época seca en invierno y con poca oscilación térmica (5 y 7 °C) la temperatura media anual es de 15.5 °C y la precipitación media anual es de 664 mm (García, 2004). Dentro del invernadero la temperatura media fue de 35/10 °C día/noche, la humedad relativa media de 15/31 % día/noche la iluminación fue natural (valores promedio de un mes). Se aplicó 1 L de agua semanalmente a cada maceta para mantener la humedad del suelo en 30 % (-0.3 MPa) durante ocho meses. Después, el riego se suspendió durante 60 d los cladodios madre produjeron brotes vegetativos y estos se cosecharon cuando tuvieron una longitud promedio de 20 cm, se colocaron en bolsas de polietileno y se

trasladaron al laboratorio de Biofísica y Fisiología Vegetal Ambiental, del posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados para analizarse.

Determinación del contenido de humedad en el suelo

La humedad del suelo se determinó en la zona radical del cladodio madre a una profundidad de 10 a 15 cm. Se evaluaron 15 muestras de suelo de 1 g de peso seleccionadas al azar; las muestras fueron deshidratadas a temperatura constante (105 °C durante 24 h), en un horno de secado hasta alcanzar peso constante. Los datos fueron expresados como porcentaje del contenido de agua del suelo según la siguiente ecuación:

$$w = \frac{Msh - Mss}{Mss} = \left(\frac{Mag}{Mss} \right) 100$$

w = contenido de humedad del suelo expresado en %

Mag = masa del agua

Msh = masa del suelo húmedo

Mss = masa del suelo secado en estufa

Determinación de la firmeza

La firmeza (kgf) se determinó con un penetrómetro manual (FT 327, QA Supplies, LLC), con capacidad entre 0 y 13 kgf, en la sección del ápice, centro y base de cada nopalito. Se realizaron dos mediciones en cada sección.

Determinación del potencial de agua del tejido

El potencial de agua del tejido (ψ_A) se determinó en la sección central del nopalito. Los segmentos del tejido se obtuvieron con un sacabocados (1 cm de diámetro), cada muestra se cortó transversalmente (≈ 4.5 mm de grosor), luego se incubaron en cámaras psicométricas (Wescor C-52, Inc., Utha, USA) durante 4 h y se determinó el ψ_A con un microvoltímetro (Wescor HR-33t, Inc, Utha, USA), operado en el modo de punto de rocío, conectado a las cámaras.

Determinación del potencial osmótico del tejido

El potencial osmótico (ψ_s) se midió en la base, centro y ápice del nopalito. Segmentos de 1 cm de diámetro del tejido se envolvieron en papel aluminio y se mantuvieron en un congelador a $-4\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h; después, cada muestra se introdujo en una jeringa hipodérmica, se dejó descongelar a temperatura ambiente ($25 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$) y se aplicó presión con el émbolo de la jeringa hasta obtener la savia. Se recolectaron $10\text{ }\mu\text{L}$ del extracto celular con una micropipeta (Biopette autoclavable), se colocaron sobre un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro y el ψ_s se midió en un osmómetro de presión de vapor (Wescor 5520, EE. UU.).

Determinación del potencial de turgencia

El potencial de turgencia del tejido de los nopalitos (ψ_T) fue calculado con la siguiente igualdad:

$$\psi_T = \psi_A - \psi_s$$

Determinación del contenido de sólidos solubles totales

A lo largo del nopalito se tomaron cuatro muestras equidistantes con un sacabocados de 1.5 cm de diámetro. Cada muestra se envolvió en papel aluminio y se colocó en bolsa de polietileno a $-4\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h. Cada muestra congelada se introdujo en una jeringa hipodérmica, cuando se descongeló se presionó el émbolo para obtener la savia a temperatura ambiente ($25 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$). Una alícuota de savia (0.3 mL aproximadamente) se depositó en el sensor de un refractómetro digital (Atago PAL-1) y se tomó la lectura.

Determinación de la acidez

La acidez fue determinada en nopalitos cosechados a las 5:00 y a las 13:00 h; inmediatamente se les quitaron las espinas, cuatro muestras de 5 g por nopalito se envolvieron en papel aluminio, se congelaron inmediatamente con nitrógeno líquido y se almacenaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. La acidez titulable se determinó por el método descrito por la AOAC (Asociación Oficial de Química Analítica, 1990). Las muestras congeladas se maceraron en un mortero, se resuspendieron en 25 mL de agua destilada, se centrifugaron a 30,000 g, durante 4 min y se valoró el sobrenadante.

Para la valoración se usó una solución de hidróxido de sodio 0.1 N y fenolftaleína como indicador. La acidez titulable fue expresada como porcentaje de ácido málico por cada 100 unidades de tejido fresco con la siguiente ecuación:

$$\text{Ácido málico (\%)} = \frac{(\text{mL de NaOH}) (\text{Concentración del NaOH}) (0.067) (\text{Vol. total}) (100)}{(\text{Peso de la muestra en g}) (\text{Volumen en mL de la alícuota})}$$

0.067 es un factor para calcular el contenido de ácido málico (peso miliequivalente del ácido málico) que es el ácido orgánico predominante en los tejidos de nopal.

Determinación de la permeabilidad de las membranas celulares

La permeabilidad de las membranas celulares se cuantificó indirectamente mediante la liberación de electrolitos de segmentos frescos y congelados de 1.5 cm de diámetro al medio acuoso en el que se suspendieron. Para esta evaluación se tomaron tres muestras de la zona central del nopalito. Cada segmento se pesó en una balanza analítica (Scientech, EEUU., precisión de 0.0001 g), se colocó en una caja Petri con 25 mL de agua desionizada y se mantuvo con agitación ligera y constante en un agitador orbital (VSOS-4P Lab Plus Series PRO), a temperatura del laboratorio (25 ± 2 °C). Las lecturas de la conductividad eléctrica se obtuvieron 3 h después, en 100 μ L del medio de resuspensión, con un conductímetro (Horiba B-173, Kyoto Japón) y los valores fueron ajustados a 1 g de tejido. Otro grupo de muestras se congeló y se midió la conductividad eléctrica de los electrolitos liberados igual que en las muestras frescas.

La estabilidad relativa de la membrana celular, expresada como porcentaje de liberación de electrolitos, fue estimada con los cambios de la conductividad eléctrica del medio de suspensión de los segmentos de tejido fresco (C.E.) y del tejido muerto por congelación (C_m) de los segmentos, con la siguiente igualdad (Huang, 2006):

$$\text{Liberación de electrolitos (\%)} = (C.E. / C_m) \times 100$$

3.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis repeticiones. Una repetición estuvo representada por un nopalito de plantas diferentes. Los datos fueron sujetos a análisis de varianza (ANDEVA) y compararon con el método de Tukey ($P \leq 0.05$). Además, se realizó el análisis multivariable de componentes principales (CP). Los tratamientos fueron las 15 variantes de *Opuntia*, agrupadas en cinco especies, en condiciones de humedad restringida en el suelo durante 60 d. Las variables respuesta incluyeron la firmeza, permeabilidad de las membranas celulares, ψ_s , ψ_A , ψ_T , SST y acidez (las dos últimas evaluadas en dos momentos del día). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS V9 y la representación gráfica de los datos se obtuvo con el programa Sigma Plot de Jandel Scientific (Versión 10.0).

3.5 Resultados y discusión

El suelo de las macetas con el riego se mantuvo en promedio con 30 % de humedad (equivalente a -0.3 MPa) en la zona de las raíces. Después de 60 d sin riego la humedad disminuyó a 4.7 %.

3.5.1 Firmeza

La firmeza varió significativamente entre las 15 variantes, Cardona y Amarillo Plátano presentaron los valores menor (4.6 kgf) y mayor (7 kgf), del grupo (Figura 3.1). Las variantes dentro de las especies también presentaron diferencias significativas. Las diferencias mayores se observaron en *O. streptacantha*, entre Cardona (20 % menos firme) ($P \leq 0.05$) que Cardona de Castilla y Tuna Loca. Las diferencias menores se detectaron entre los cultivares de *O. ficus-indica*, entre ellos Copena V1 y Rojo Vigor fueron 4 % menos firmes que Atlixco (Figura 3.1).

La firmeza también fue diferente ($P \leq 0.05$) entre las especies y, en general, incrementó en el gradiente de domesticación. Así, *O. streptacantha* tuvo nopalitos 20 % menos firmes que *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 3.2).

Diferencias similares entre los nopalitos silvestres y domesticados ya han sido documentadas. Aguilar-Sánchez *et al.* (2007), evaluaron la firmeza de nopalitos de 21 variantes de *Opuntia*, 19 cultivares de *O. ficus-indica*, una silvestre de *O. lindheimeri* y una no identificada (*Opuntia* sp.); aunque en general, la firmeza fue similar entre las variantes, Copena F1 de *O. ficus-indica* presentó firmeza significativamente mayor que Oreja de Elefante de *O. lindheimeri*. Betancourt-Domínguez *et al.* (2006) observaron que la fuerza de compresión máxima en los nopalitos de los cultivares Blanco sin Espinas y Blanco con Espinas fue significativamente mayor que la de una recolecta silvestre; aunque, entre está y el cv. Valtierra no existió diferencia. La firmeza fue mayor en los nopalitos de las cinco especies que se desarrollaron en plantas sin riego por 60 d respecto a los que crecieron en plantas con riego semanal; las diferencias representaron entre 18.5 % en *O. streptacantha* y 22 % en *O. ficus-indica* (Figuras 2.3 y 3.2).

Las variantes con mayor firmeza, como las especies con mayor domesticación, pueden ser calificadas con valor hortícola mayor; pues según Calvo-Arriaga *et al.* (2010) la firmeza de los nopalitos es una de las características que influyen en la preferencia de los consumidores. También es importante para los productores y comerciantes, pues se pueden manipular con menos delicadeza y se pueden hacer grandes pilas con ellos. Estos autores determinaron que los nopalitos del cv. Milpa Alta, el de mayor cultivo y consumo en México (Cervantes *et al.*, 2006) son significativamente más firmes que Copena V1 y Copena F1.

La firmeza de los nopalitos es resultado de las características de sus tejidos que, a la vez, dependen de su composición. Es el caso de la naturaleza química y estructural de la cutícula, de las células del parénquima, y en general de las paredes celulares (Aguilar *et al.*, 1999; Calvo-Arriaga *et al.*, 2010). Las pectinas son un grupo heterogéneo de polisacáridos que se encuentran en las paredes celulares primaria, secundaria y lámina media. Se ha comprobado que este grupo de polisacáridos afecta la textura de los vegetales (Lashbrook, 2005; Prasanna *et al.*, 2007); sin embargo, la firmeza de los nopalitos es resultado de las características de sus tejidos que, a la vez, dependen de su composición.

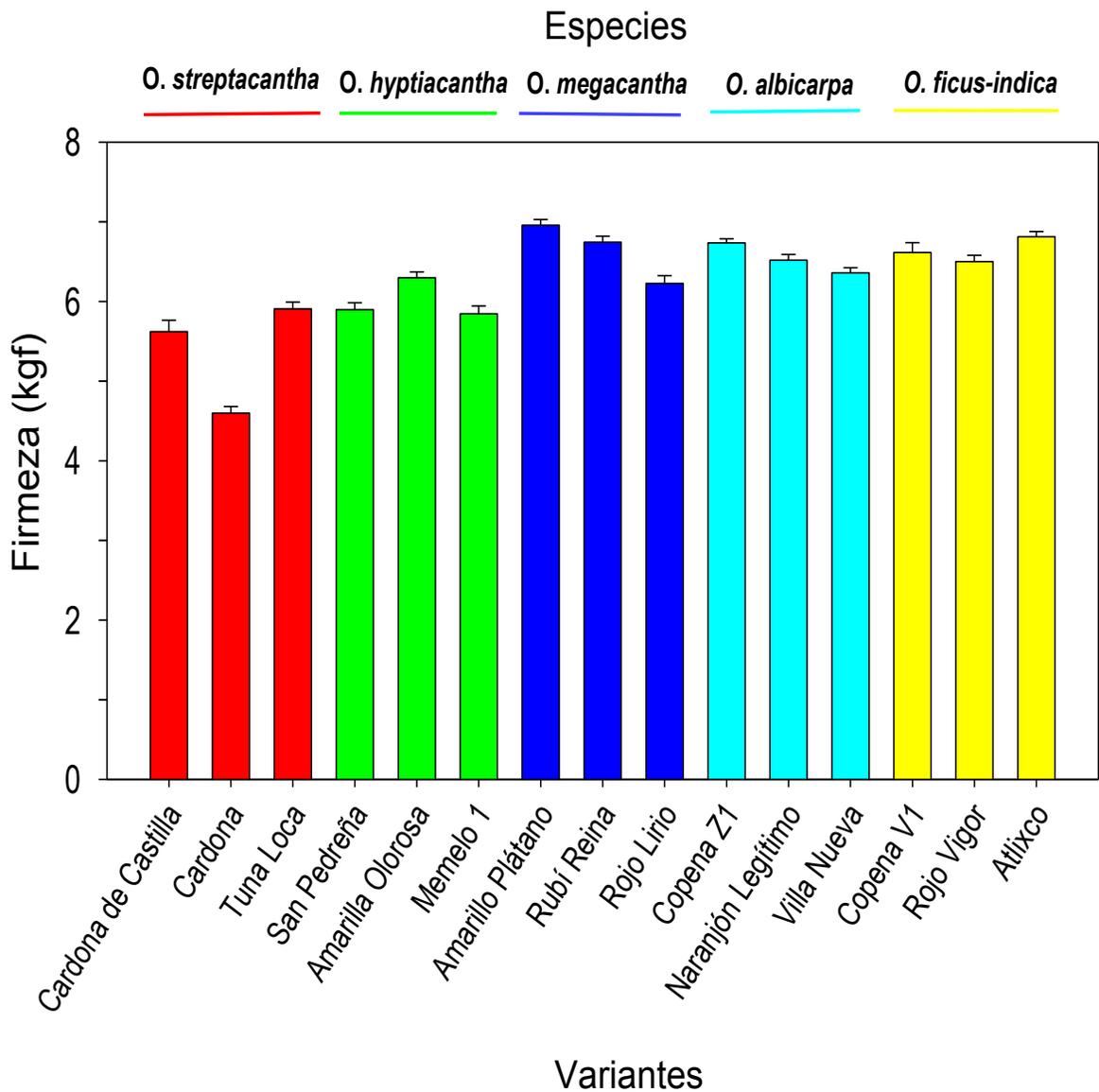


Figura 3.1. Firmeza promedio (+ e.e) de los nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia* (cada especie representada por un color), cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).

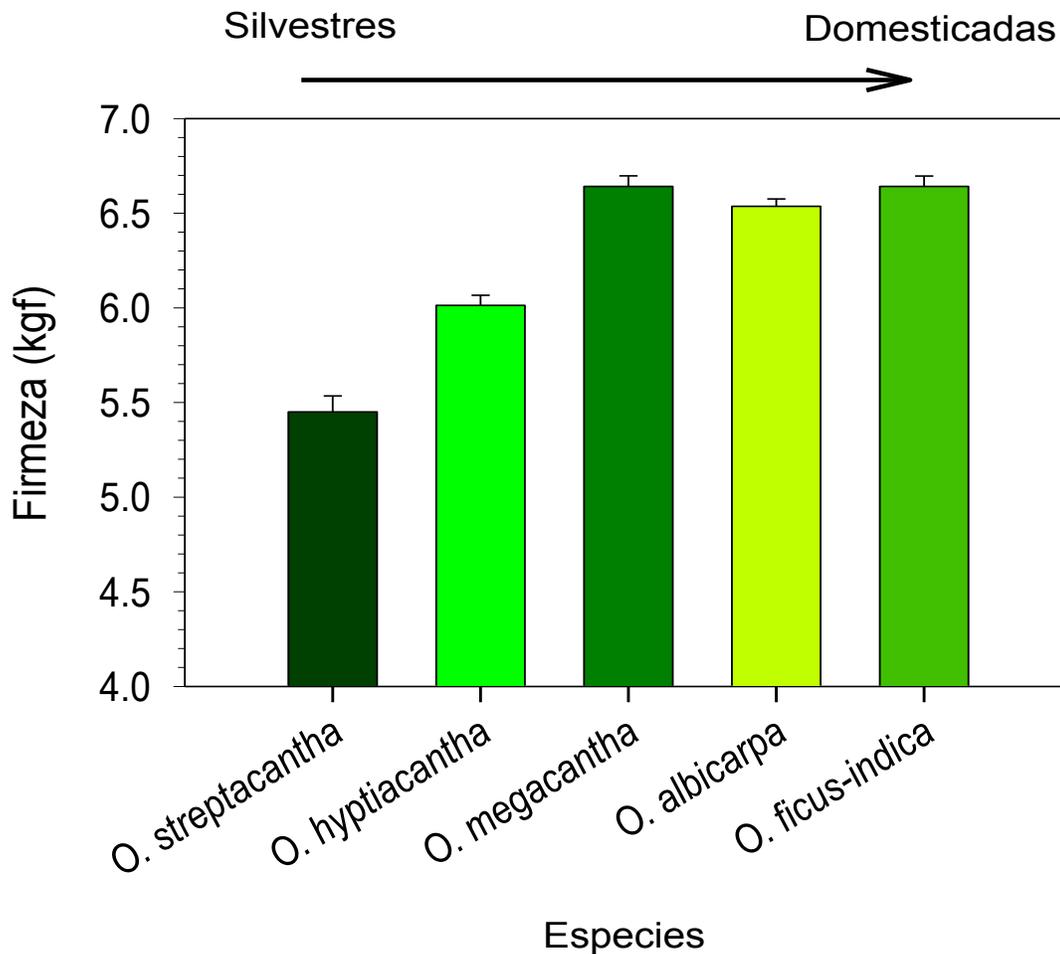


Figura 3.2. Firmeza promedio de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la firmeza de tres variantes por especie (n=18).

Sin embargo en contraste con otros polisacáridos las pectinas son poco abundantes en los nopalitos, pues en el mismo grupo de especies del gradiente de domesticación evaluado en el presente estudio López-Palacios *et al.* (2012) cuantificaron contenidos de pectinas entre 1.83 % en *O. ficus-indica* y 2.53 % en *O. streptacantha*. La firmeza de los tejidos vegetales también depende de la proporción y organización de las microfibrillas de celulosa, hemicelulosa y ligninas. De acuerdo con López-Palacios *et al.* (2012) y Peña-Valdivia *et al.* (2012) los nopalitos de especies silvestres y domesticadas carecen de lignina, pero son ricos en celulosa (entre 5 y 15 %) y hemicelulosas (entre 5 y 13 %).

3.5.2 Potencial de agua de los tejidos

El ψ_A de los nopalitos de las quince variantes fluctuó ($P \leq 0.05$) entre -0.63 MPa (en Cardona) y -1.10 MPa (en Atlixco); esta variación no se reflejó entre las variantes de cada especie, pues el ψ_A fue similar ($P > 0.05$) dentro de las especies, con excepción de *O. streptacantha* en la que Cardona presentó ψ_A 34 % mayor que las otras dos variantes (Figura 3.3).

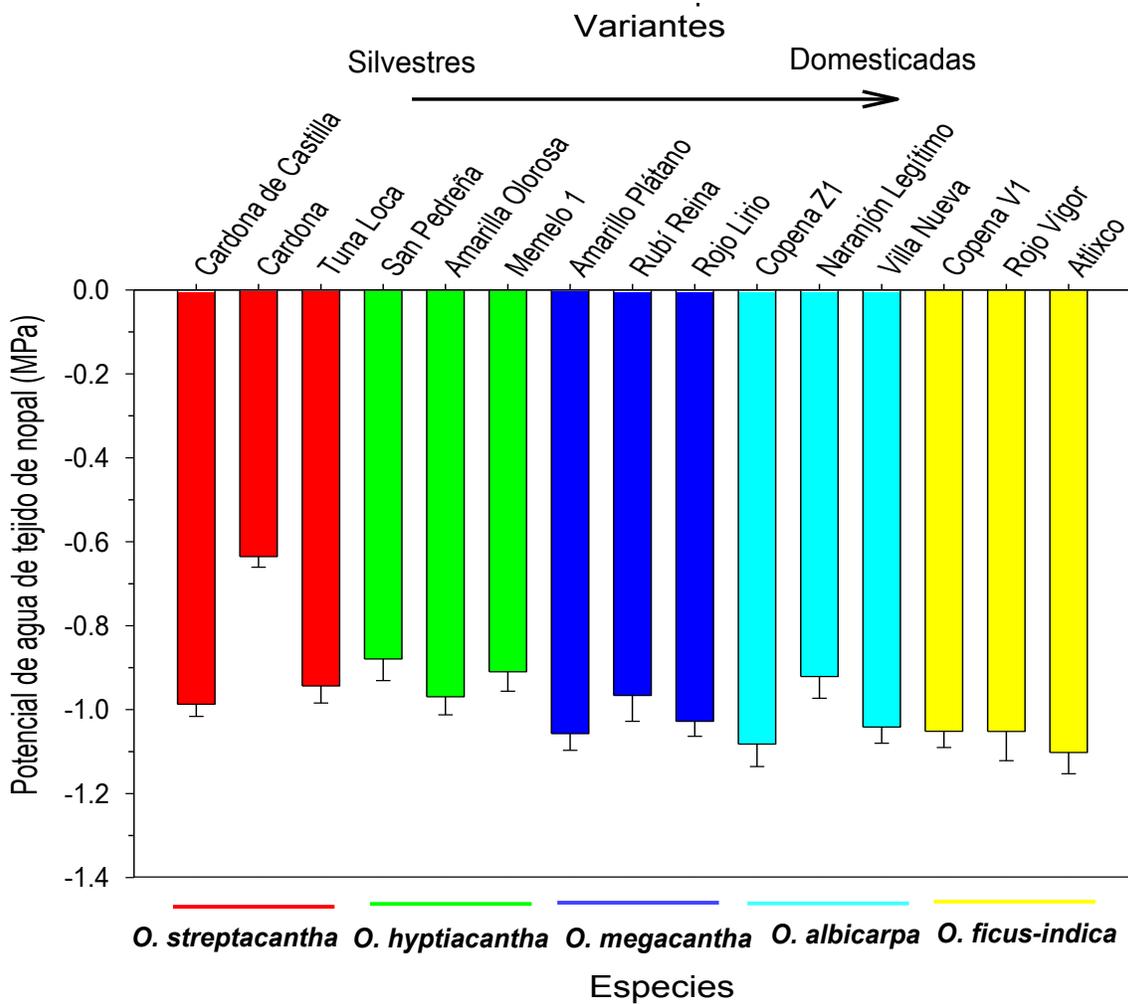


Figura 3.3. Potencial de agua promedio de nopalitos (- e.e.) de variantes de cinco especies de *Opuntia* (cada especie representada por un color) cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).

El ψ_A también fue diferente ($P \leq 0.05$) entre las especies y disminuyó con el nivel de domesticación, de -0.85 MPa en *O. streptacantha* a -1.07 MPa en *O. ficus-indica*, este intervalo representa una diferencia de hasta el 21 % (Figura 3.4). La disminución del ψ_A de los cladodios de *O. ficus-indica* hasta -1.12 MPa después de 60 d sin riego fue detectada también por Acevedo *et al.* (1983).

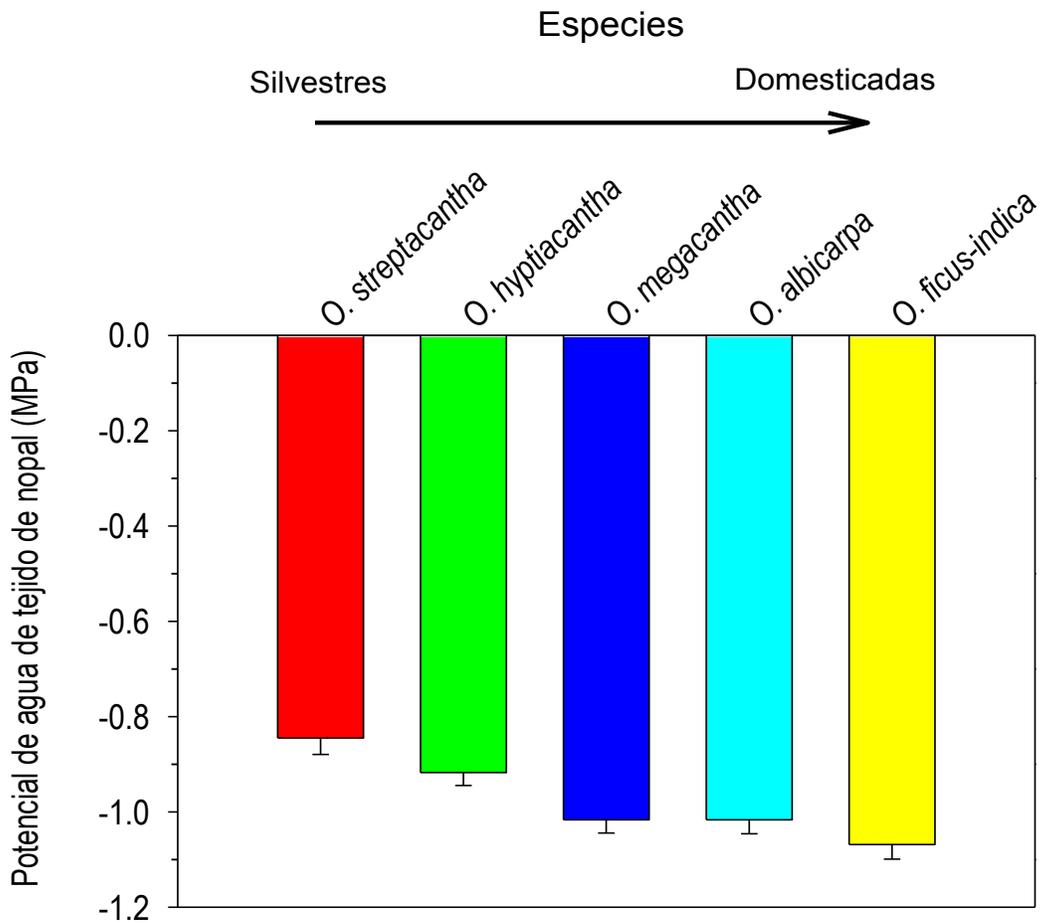


Figura 3.4. Potencial de agua promedio de tejido fresco de los nopalitos (- e.e.) de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial de agua de tres variantes por especie (n=18).

Los resultados indican que las especies de *Opuntia* reaccionan diferente a la disminución de la disponibilidad de humedad en el suelo y que, en condiciones similares, las silvestres pierden menos agua que las domesticadas (Figura 3.4). En

relación con esto, Paleg y Aspinall (1981) indicaron que las especies silvestres mantienen el turgor aunque disminuya el potencial de agua del tejido; por lo que, se considera un mecanismo de adaptación a periodos secos. En contraste, los ψ_A menores de las especies con mayor nivel de domesticación indican que pierden más agua y, como consecuencia, podría disminuir la presión de turgor de las células (Black y Pritchard, 2002) antes que las silvestres, pudiendo afectar el crecimiento y provocando la muerte celular eventual (Morgan, 1984). Colunga *et al.*, 1986, registraron, con base en entrevistas a productores, que los nopales con mayor grado de domesticación, como *O. ficus-indica* requerían más agua que los nopales que crecían espontáneamente en ambientes silvestres. Los cambios del ψ_A , contenido de agua de los nopalitos y grosor del tallo de las plantas relacionados con la disminución de la conductancia estomática y disminución de la absorción neta de CO_2 permitirían diseñar programas de riego esporádico (Nobel y De la Barrera E, 2002) y detectar las variantes más tolerantes al déficit de humedad.

3.5.3 Potencial osmótico de los tejidos

El ψ_S de los nopalitos de las quince variantes fluctuó ($P \leq 0.05$) entre -0.9 MPa (en Cardona) y -1.3 MPa (en Copena Z1) y entre las variantes de cada especie, con excepción de *O. ficus-indica*. Las variantes de *O. streptacantha* (12 %), *O. megacantha* (14 %) y *O. albicarpa* (12 %) tuvieron las diferencias mayores (Figura 3.5). La variabilidad del ψ_S contrastó con la homogeneidad del ψ_A de los nopalitos dentro de las especies (Figura 3.5). A pesar de la variabilidad entre las variantes, en el grupo de las especies en general se distinguió la disminución ($P \leq 0.05$) del ψ_S dependiente de su nivel de domesticación; y entre los extremos, *O. streptacantha* y *O. albicarpa*, la diferencia alcanzó 14 % (Figura 3.6).

La disminución amplia del ψ_S debida a la falta de humedad fue documentada por Nobel (1976 y 1988); este investigador señaló que, durante la sequía, el déficit de humedad en el suelo incrementó el contenido de solutos al doble y provocó la pérdida de 50 % de agua de los tejidos en diferentes especies de suculentas de desierto, con lo que el ψ_S disminuyó.

García *et al.* (2008) evaluaron los nopalitos de cinco cultivares de *O. ficus-indica* y una variante silvestre de *O. streptacantha*, durante 60 d sin riego (disminución del Ψ_A del suelo de -0.39 a -3.27 MPa) en condiciones de invernadero, observaron que el ψ_S disminuyó con tendencia exponencial en el tiempo y desde -0.24 hasta -1.33 MPa en la variante silvestre, entre los cultivares se observó un gradiente pequeño de la disminución máxima y los que alcanzaron valores menores fueron Atlixco, Copena V1 y Solferino V1, de -0.24 hasta -1.48 MPa. Estos resultados concuerdan con los del presente estudio en la reacción mayor de las variantes domesticadas a la disminución de humedad en el suelo sobre el ψ_S (Figura 3.5).

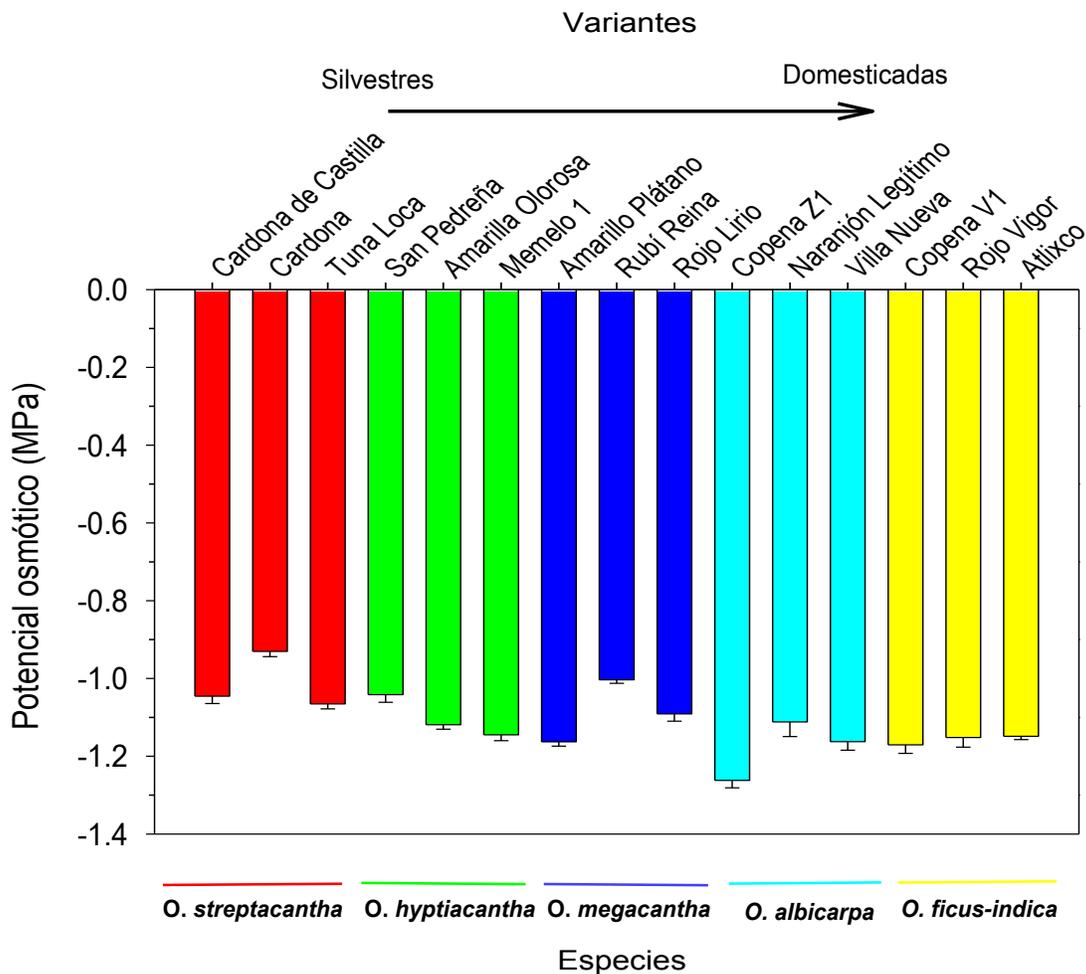


Figura 3.5. Potencial osmótico promedio de nopalitos (-e.e.) de variantes de cinco especies de *Opuntia* (cada especie representada por un color) cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).

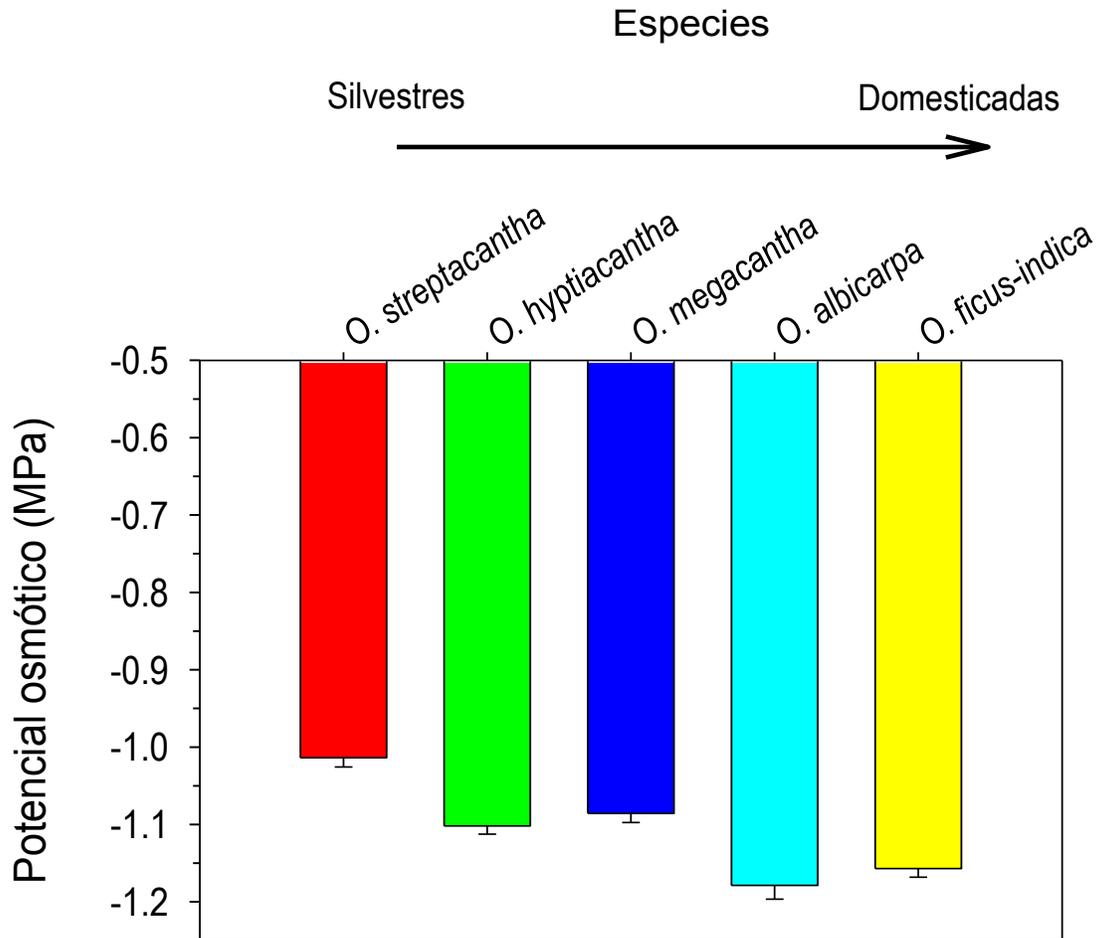


Figura 3.6. Potencial osmótico de nopalitos (-e.e.) de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial osmótico de tres variantes por especie (n=18).

En general, la adaptación de los nopalitos a la falta de humedad en el suelo resulta de su capacidad para mantener sus tejidos hidratados y el turgor de las células mediante la acumulación de solutos, lo que conduce al decremento del ψ_s de las células (Serraj y Sinclair, 2002); los solutos que se acumulan durante la osmorregulación varían con la especie, e incluyen ácidos orgánicos, aminoácidos y azúcares (Simpson, 1981).

3.5.4 Potencial de turgencia

El Ψ_T fue diferente ($P \leq 0.05$) entre las 15 variantes, fluctuó entre 0.02 y 0.29 MPa, en Rojo Lirio de *O. megacantha* y Cardona de *O. streptacantha*. Las diferencias mayores se presentaron entre Cardona de Castilla (80 % menor Ψ_T) y Cardona de *O. streptacantha* y entre Rojo Lirio (81 % menor Ψ_T) y Rubí Reina de *O. megacantha*. La diferencia menor se observó entre Copena Z1 (8 % menor Ψ_T) y Naranjón Legítimo en *O. albicarpa* (Figura 3.7).

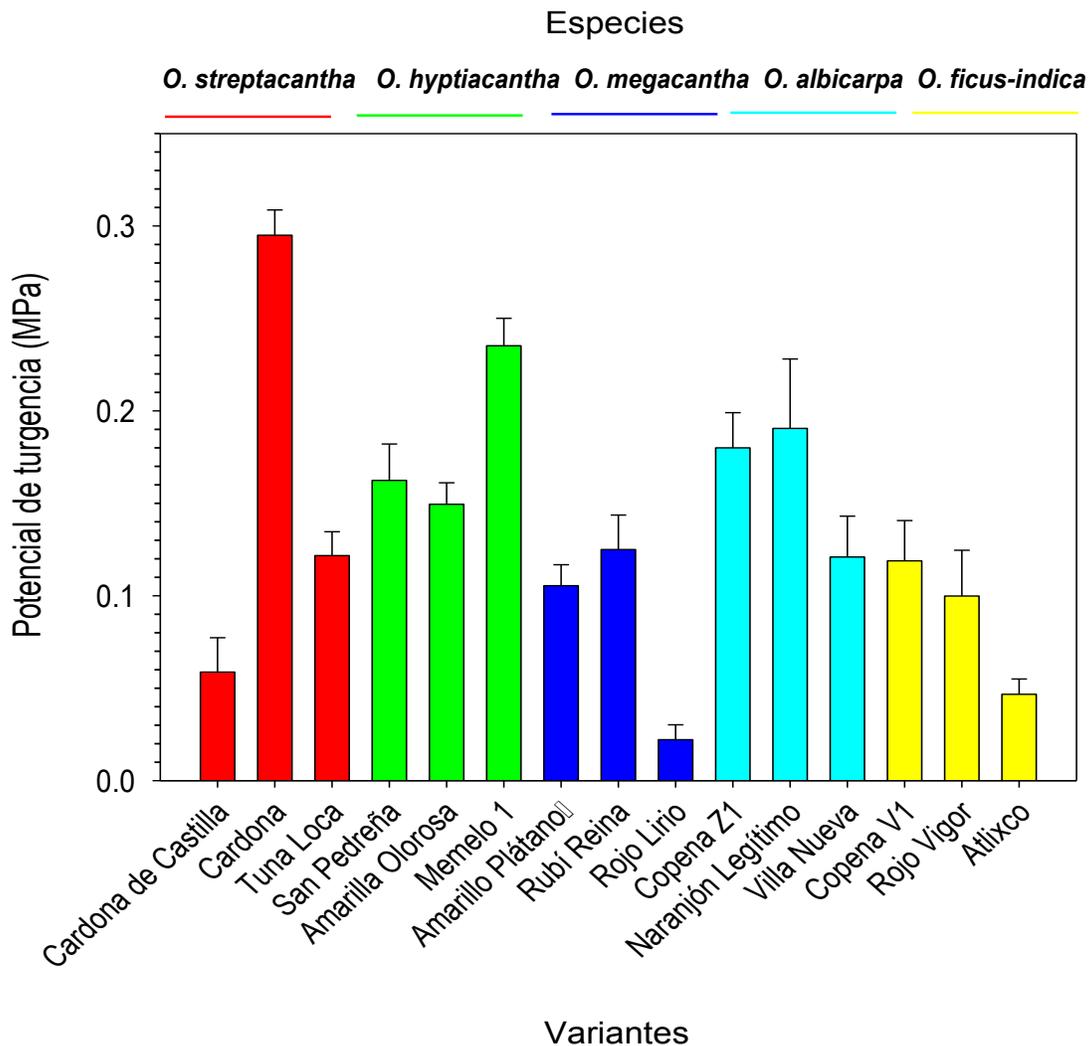


Figura 3.7. Potencial de turgencia de nopalitos (+ e.e.) de 15 variantes de Opuntia spp. (cada especie representada por un color) cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).

El Ψ_T de los nopalitos entre las especies también varió ($P \leq 0.05$) y las especies silvestres y con el menor grado de domesticación (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*) tuvieron doble Ψ_T que la de grado mayor de domesticación (*O. ficus-indica*) y semidomesticada (*O. megacantha*); en contraste, *O. albicarpa* estuvo fuera de la tendencia con Ψ_T similar al de las especies silvestres (Figura 3.8).

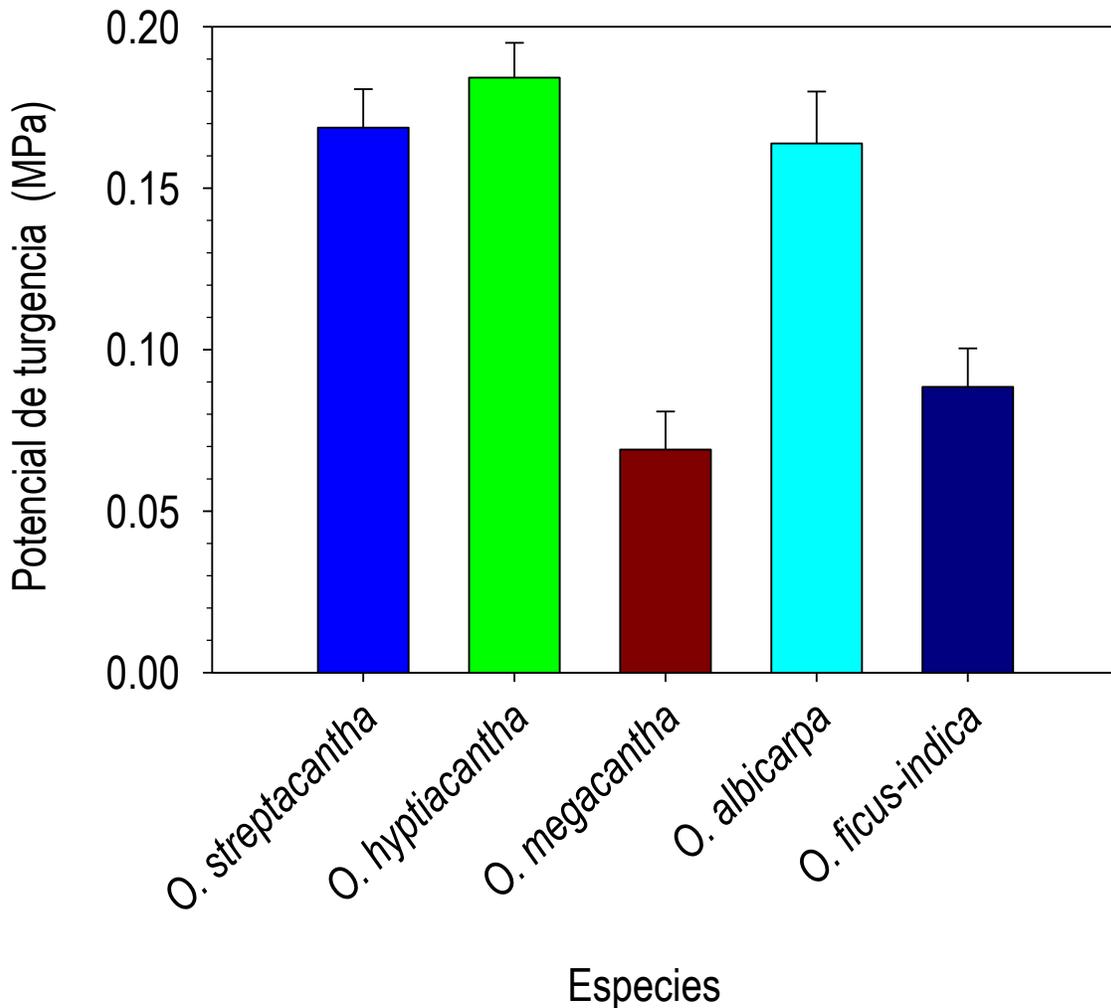


Figura 3.8. Potencial de turgencia de nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio del potencial de turgencia de tres variantes por especie (n=18).

Los efectos del déficit de humedad en los tejidos vegetales son numerosos y variados, el resultado negativo es la pérdida de turgencia celular y la reducción de la tasa de expansión celular, también hay disminución de la síntesis de pared celular y de la síntesis de proteínas. El Ψ_T de los tejidos está relacionado con la presencia de osmolitos, orgánicos e inorgánicos y su contribución al ajuste osmótico que varía con la especie, el cultivar y el tejido en la misma planta; el ajuste de Ψ_T permite que durante el desarrollo las plantas con humedad restringida mantengan el turgor de las células y mantengan el crecimiento (Huang, 2006). Así, el Ψ_T elevado en los tejidos de los nopalitos de la especie silvestre y de la menos domesticada, después de 60 d sin riego, parece una respuesta necesaria para enfrentar las condiciones naturales de déficit de humedad de las regiones propias de distribución, al contrario de la especie semidomesticada *O. megacantha* y domesticada *O. ficus-indica*. De ser así, el valor elevado de Ψ_T de *O. albicarpa* después de los 60 d sin riego parece atípico; pero con la información disponible no se visualiza una explicación.

Goldstein *et al.* (1991) evaluaron cladodios de *O. ficus-indica* en condiciones de invernadero, con riego (Ψ_A del suelo > -0.3 MPa) y sin riego, observaron que el Ψ_T no cambió en el clorénquima después de tres meses sin riego; en contraste en el parénquima disminuyó siete veces comparado con la condición de riego. El resultado indicó que en esa condición el parénquima perdió el turgor.

3.5.5 Acidez

Debido a su metabolismo fotosintético (MAC), la acidez en los nopalitos fue mayor al amanecer en comparación con la tarde y se detectaron diferencias ($P \leq 0.05$) entre las 15 variantes a las 5:00 y 13:00 h. Al amanecer las diferencias oscilaron entre 0.6 %, en la variante Cardona de *O. streptacantha*, y 0.99 %, en Copena Z1 de *O. albicarpa*. En la tarde fluctuaron también en un intervalo amplio, entre 0.5 %, en Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha*, y 0.82 %, en Copena Z1 de *O. albicarpa* (Figura 3.9).

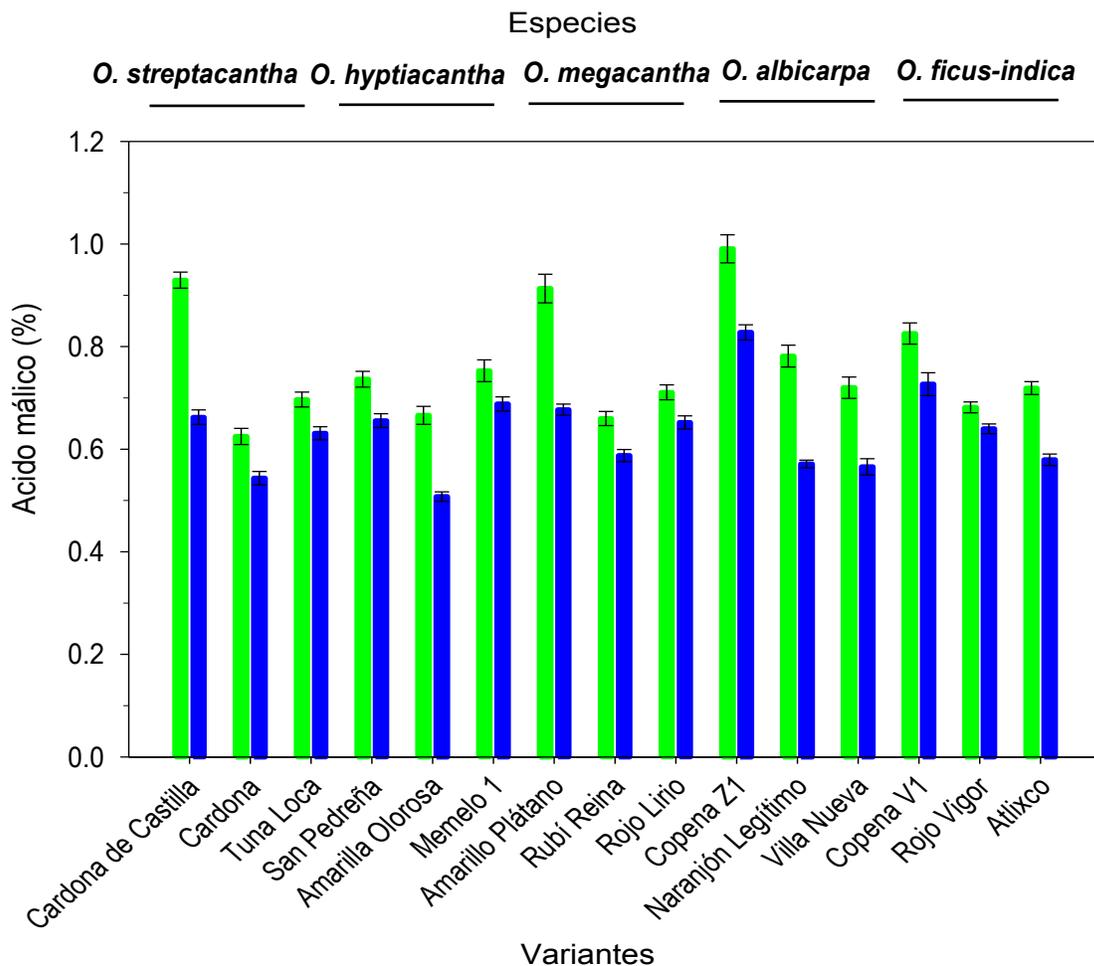


Figura 3.9. Acidez de los nopalitos (+ e.e.) de variantes de *Opuntia* muestreados a las 5:00 h (verde) y 13:00 h (azul) cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n= 6).

Además, las variantes dentro de las especies también presentaron variabilidad. En este caso destacaron *O. streptacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* por la acidez diurna alta ($P \leq 0.05$) de alguna de sus variantes respecto a las otras dos; aunque, en la tarde las fluctuaciones fueron menores (Figura 3.9). A pesar de esta variabilidad, se observaron diferencias significativas de la acidez entre las especies y un gradiente dependiente de su nivel de domesticación. Al amanecer *O. hyptiacantha* y *O. albicarpa* fueron la menos (0.72 %) y la más ácida (0.82 %) del grupo; pero, *O. ficus-indica*

parece estar fuera de este gradiente, pues su acidez fue similar ($P > 0.05$) a la de *O. hyptiacantha*. En contraste el gradiente vespertino entre las especies se presentó en un intervalo estrecho, entre 0.61 % y 0.67 % en *O. hyptiacantha* y *O. albicarpa* (Figura 3.10).

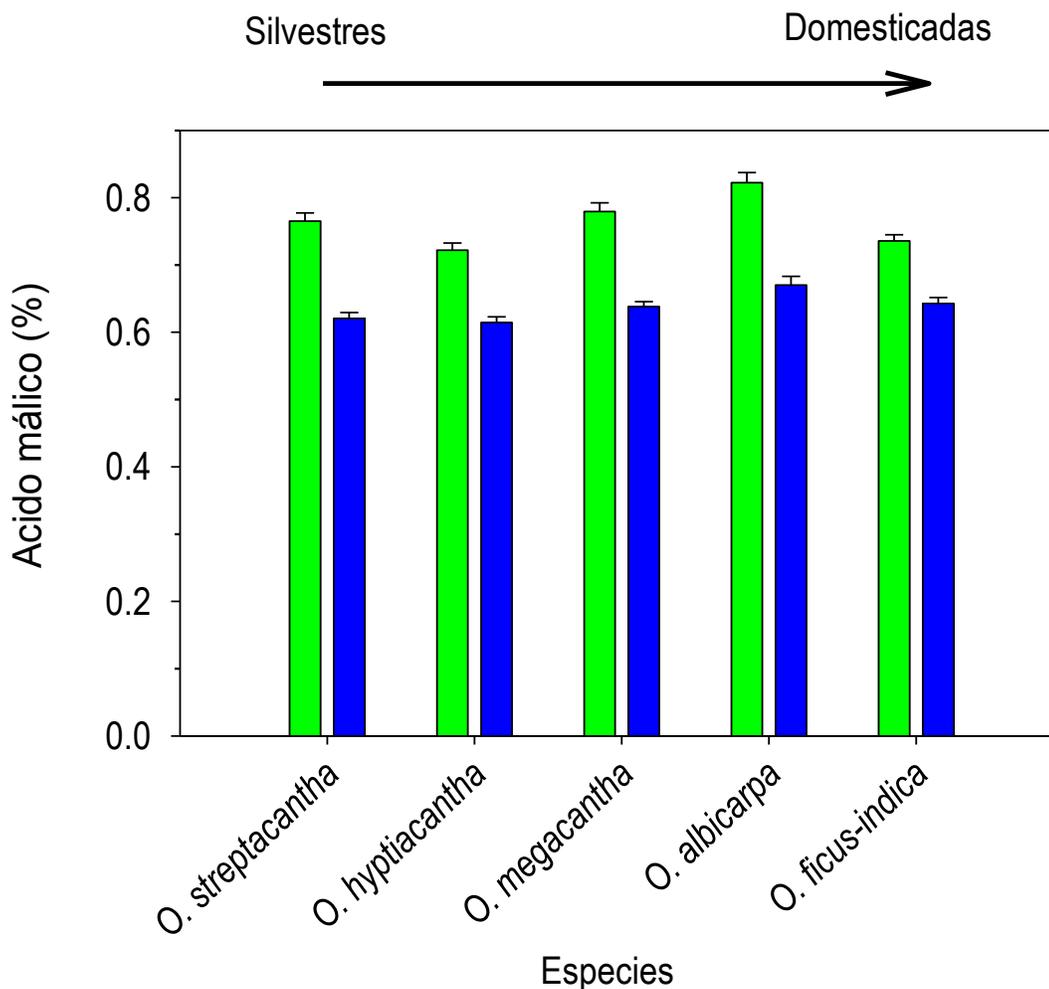


Figura 3.10. Acidez titulable promedio de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia*, muestreados a las 5:00 h (verde) y 13:00 h (azul), en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la acidez titulable de tres variantes por especie (n=18).

Los resultados de este estudio contrastaron parcialmente con los obtenidos por Acevedo *et al.* (1983), Cantwell *et al.* (1995) y Stintzing y Carle (2005), ya que en esos estudios la acidez de los nopalitos disminuyó drásticamente a medio día. Sin embargo,

los resultados de Corrales *et al.* (2004) y García R. (2007) con cultivares comerciales mostraron que la acidez máxima y mínima no se presenta a la misma hora entre los cultivares y que la curva de acidez (típica de las plantas MAC) en un ciclo de 24 h muestra incrementos y caídas de la acidez variables entre los cultivares. Esto permite explicar la variabilidad de la acidez entre las variantes en el presente estudio, principalmente al amanecer, cuando se esperaría observar la acumulación mayor de ácido en los tejidos. Además, Aguilar B. y Peña-Valdivia (2007) y Szarek *et al.* (1973) señalaron que durante los periodos de estrés por restricción de humedad, como el que enfrentaron las plantas del presente estudio, se modifican los procesos bioquímicos y fisiológicos del MAC y la acumulación diurna de ácido es una de ellas (Dodd *et al.* 2003).

3.5.6 Sólidos solubles totales

El contenido de sólidos solubles totales (SST) de la mayoría de las variantes tendió a ser mayor al amanecer (5:00 h) que en la tarde (13:00 h). Cardona de *O. streptacantha* en ambas horas tuvo los valores menores de todas las variantes (3.8 y 3.9 °Brix). Copena Z1 y Villa Nueva de *O. albicarpa*, y Copena V1 y Rojo Vigor de *O. ficus-indica* tuvieron valores mayores a las 5:00 h (6.8 °Brix en promedio) y a las 13:00 h (6.44 °Brix en promedio) (Figura 3.11).

Las variantes dentro de las especies también presentaron diferencias significativas en el contenido de SST; las mayores correspondieron a las variantes de *O. streptacantha* y de *O. ficus-indica*, en el primer caso Cardona tuvo 32 % menos SST que Cardona de Castilla y Tuna Loca y en el segundo caso el cv. Atlixco tuvo 21 % menos que Copena V1 y Rojo Vigor. En contraste, las variantes de *O. hyptiacantha* fueron notablemente homogéneas, pues San Pedreña y Memelo 1 tuvieron sólo 4 % menos SST que Amarilla Olorosa (Figura 3.11). Independientemente de esas diferencias, esta característica tendió a incrementar con el gradiente de domesticación (Figura 3.12).

Las especies formaron dos grupos ($P \leq 0.05$) con base en el contenido de SST a las 5:00 h; uno, con promedio de 5.4 °Brix, lo formaron las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*; el otro lo formaron *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O.*

ficus-indica con promedio de 6.3 °Brix. La diferencia mayor (17 %) entre las especies correspondió a *O. streptacantha* respecto a *O. megacantha* (Figura 3.12). Similarmente, a las 13:00 h un grupo lo formaron las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* con promedio de 5 °Brix y otro grupo lo formaron *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con promedio de 5.7 °Brix. En este caso la diferencia entre los dos grupos representó 12 % más SST en las especies con mayor grado de domesticación; aunque, la diferencia entre *O. streptacantha* y *O. megacantha* fue la mayor (18 %) entre las cinco especies (Figura 3.12).

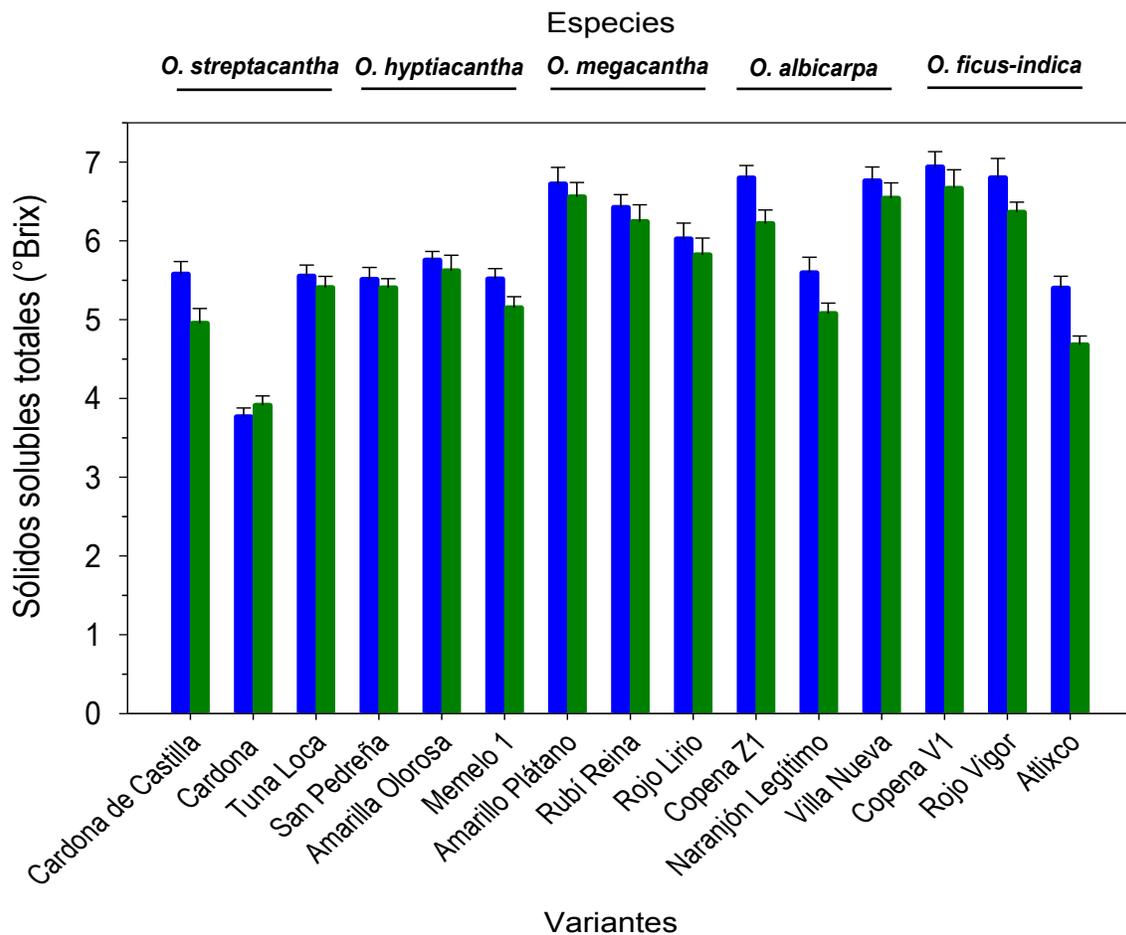


Figura 3.11. Sólidos solubles totales de los nopalitos (+ e.e.), a las 5:00 h (azul) y 13:00 h (verde), de variantes de cinco especies de *Opuntia*, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d (n=6).

La calidad de los nopalitos para los consumidores incluye el sabor, que depende de compuestos químicos diversos, como los azúcares y ácidos orgánicos, su textura o firmeza, que depende de características físicas y químicas, como grosor y composición de su cutícula, y composición y organización de los polisacáridos de las paredes celulares (Calvo-Arriaga *et al.* 2010; Peña-Valdivia *et al.*, 2012). La presencia de algunos compuestos que confieren el sabor pueden evaluarse como SST.

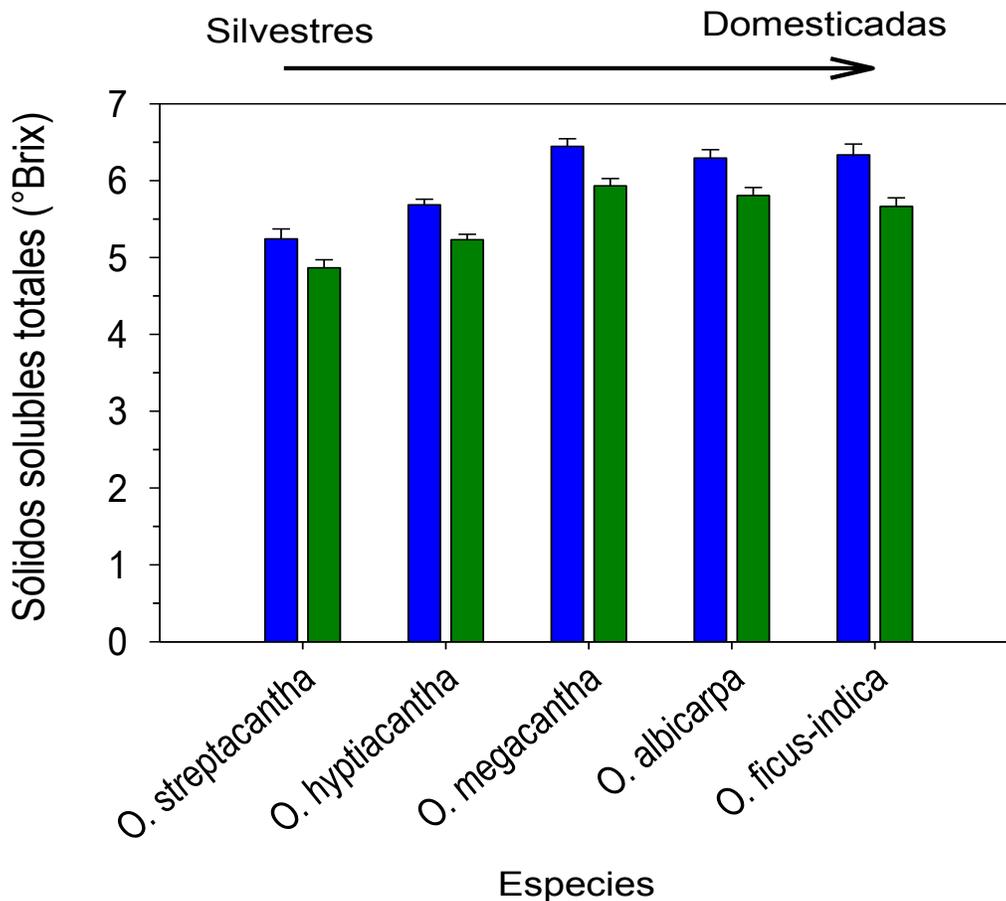


Figura 3.12. Sólidos solubles totales de los nopalitos (+ e.e.), a las 5:00 h (azul) y 13:00 (verde), de cinco especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de los SST de tres variantes por especie (n=18).

Aguilar-Sánchez *et al.* (2007) evaluaron los SST de los nopalitos de 20 cultivares de *O. ficus-indica* y un tipo silvestre; observaron que el valor de los SST de nopalitos de

20 cm de longitud, cosechados entre las 7 y 8 h, es notablemente homogéneo entre los cultivares, pues con excepción del cv. Pabellón Amarillo (2.56 °Brix) los otros no presentaron diferencias significativas (2.64 a 3.28 °Brix) y la variante Oreja de Elefante de *O. lindheimeri* tuvo uno de los valores mayores (3.28 °Brix). En contraste, en el presente estudio las especies silvestres tuvieron menos SST ($P \leq 0.05$) que las consideradas con grado intermedio y mayor domesticación. Las variaciones de esta variable son dependientes de la nutrición, ambiente de crecimiento (disponibilidad de humedad), estación del año y edad de la planta (Stintzing y Carle, 2005); sin embargo, en el presente estudio los nopalitos de todas las especies evaluadas crecieron en las mismas condiciones.

La suspensión del riego de las plantas incrementó el contenido de SST, en proporciones equivalentes entre 34 % en *O. streptacantha* y 42 % en *O. ficus-indica*, en comparación con los nopalitos de plantas que se mantuvieron con riego (Figuras 2.6 y 3.12). Estos cambios en los vegetales se relacionan con el incremento de la concentración de solutos por efecto de la deshidratación celular y acumulación celular activa de ellos, ya que permiten mantener el potencial de turgencia positivo en los tejidos (Huang, 2006). La acumulación de solutos ha sido asociada con el mantenimiento de la integridad y funcionalidad de las membranas celulares, estructuras de las proteínas y disminución de los daños oxidativos. En relación con estas reacciones, se ha observado que la acumulación de solutos en la raíz de las plantas durante el ajuste osmótico se correlaciona con la tolerancia al estrés por déficit de humedad en numerosas especies (Huang, 2006).

3.5.7 Permeabilidad de las membranas celulares

Entre las 15 variantes y entre las de cada especie hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en la conductividad eléctrica del tejido fresco. Las diferencias fluctuaron en el intervalo de $23.3 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido promedio, en las silvestres Cardona de Castilla y Memelo 1, de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* a $33 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido, en los cultivares Naranjón Legítimo de *O. albicarpa* y Atlixco de *O. ficus-indica*. Dentro de las especies las diferencias mayores se detectaron entre las variantes silvestres de *O. streptacantha* ($9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido) y las menores ($3 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido) en *O. ficus-indica* (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Liberación de electrolitos expresada como conductividad eléctrica del medio acuoso de suspensión del tejido de nopalitos frescos y descongelados.

	Fresco $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido fresco	Descongelado $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de tejido fresco	Proporción ¹ (%)
Cardona de Castilla	23.590 cd	99.770 e	23.64 bc
Cardona	32.180 a	105.168 cde	30.60 a
Tuna Loca	27.962 bc	118.812 abcd	23.53 bc
San Pedreña	27.834 bc	102.229 e	27.23 abc
Amarilla Olorosa	26.683 bcd	112.490 bcde	23.76 c
Memelo 1	23.081 d	105.931 cde	21.79 c
Amarillo Plátano	27.647 bcd	113.935 bcde	24.27 bc
Rubí Reina	26.699 bcd	104.863 de	25.46 bc
Rojo Lirio	30.161 ba	124.734 ab	24.18 c
Copena Z1	29.796 ab	124.623 ab	23.91 c
Naranjón Legítimo	32.983 a	109.592 bcde	30.10 a
Villa Nueva	29.559 ab	120.939 abc	24.44 abc
Copena V1	30.965 ab	130.787 a	23.68 bc
Rojo Vigor	29.949 ab	131.449 a	22.78 c
Atlixco	33.219 a	112.761 bcde	29.46 ab

¹ La proporción es el porcentaje de la conductividad generada por el tejido fresco respecto al total generada por el tejido muerto.

Estas diferencias entre las variantes pueden deberse a diferencias en la permeabilidad de las membranas celulares de los nopalitos, pues la permeabilidad de las membranas celulares depende del tipo y variedad de sus constituyentes, su nivel de hidratación, su estado de agregación, su fluidez, su espesor, sus modificaciones o capacidad de reorganización, contenido y tipo de osmolitos celulares (Noggle y Fritz, 1983; Gigon *et al.* 2004). Esto último fue comprobado con los resultados de acidez y SST, que mostraron diferencias significativas entre las variantes y que podrían ser liberados al medio y modificar su conductividad eléctrica. Sin embargo la conductividad

eléctrica del medio depende de otros factores relacionados con las respuestas fisiológicas y bioquímicas de las plantas a cambios ambientales, como el déficit de humedad en el suelo (Bajji *et al.* 2001).

Entre las especies también hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en la conductividad eléctrica generada por el tejido fresco e incrementó con el nivel de domesticación; la diferencia mayor (18 %) se detectó entre *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*, pero *O. streptacantha* tuvo también uno de los valores menores (Figura 3.13).

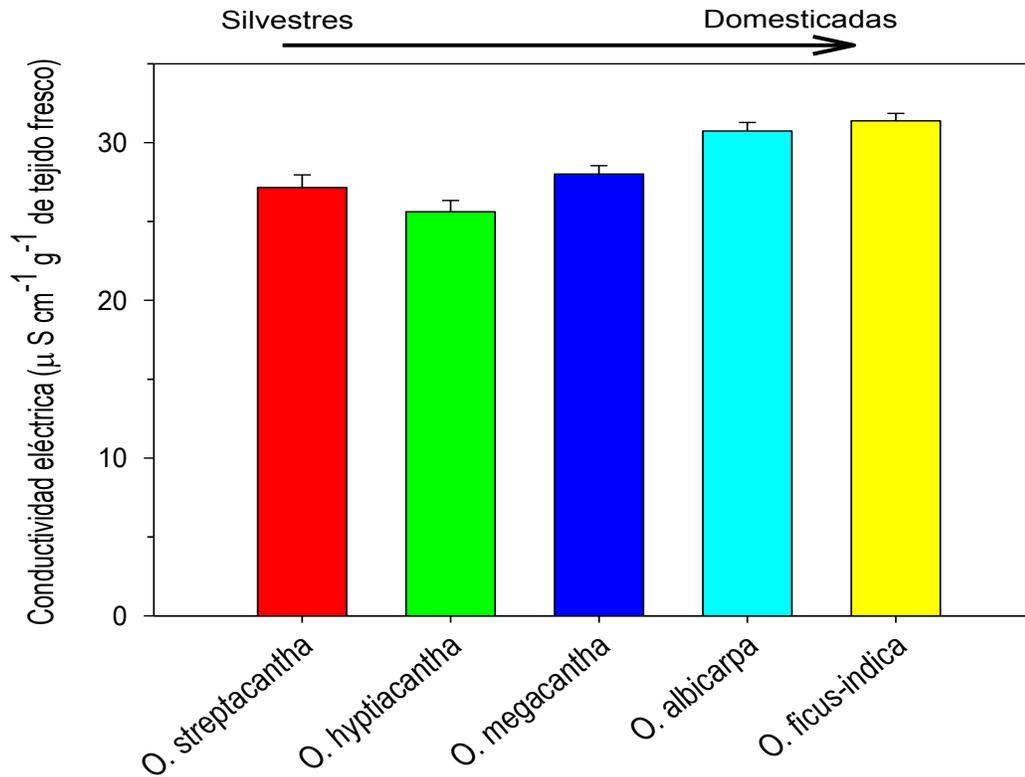


Figura 3.13. Conductividad eléctrica del medio acuoso generada por el tejido fresco de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la conductividad eléctrica de tres variantes por especie (n=18).

Estos resultados indican que la permeabilidad y funcionalidad de las membranas celulares de los nopalitos se ha modificado con la domesticación; las especies silvestres tienen control mayor de la salida de electrolitos que las domesticadas. Otra interpretación es que la composición celular de electrolitos es distinta entre las especies y al abandonar los tejidos producen conductividad eléctrica diferente. También, existe la posibilidad de la combinación de las dos diferencias anteriores entre las especies. A la vez, el primer caso permitiría explicar las diferencias de la tolerancia de las especies silvestres y su adaptación a los ambientes semiáridos y la incapacidad de los cultivares de crecer en esos ambientes. Sin embargo, estas interpretaciones deben ser reforzadas o confirmadas con evaluaciones complementarias, ya que la liberación de los electrolitos por los tejidos y los cambios de la conductividad eléctrica del medio pueden ser afectados por factores como el tipo y cantidad de electrolitos liberados y su contenido en el tejido, la cantidad de agua del tejido, el tamaño, forma y estructura morfológica del segmento vegetal evaluado, el daño provocado durante la preparación de la muestra y el tiempo que permanece el tejido en agua desionizada (Prášil y Zámečník, 1998).

Para valorar indirectamente el contenido celular total de electrolitos del tejido, se evaluó la conductividad eléctrica generada por los tejidos descongelados, pues las células muertas liberan al medio acuoso (sin control en la liberación de electrolitos) el contenido celular total. Entre las 15 variantes se detectaron diferencias significativas entre los $100 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de tejido, en la silvestre Cardona de Castilla, y $131 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de tejido, en los cultivares Copena V1 y Rojo Vigor (Cuadro 3.1). Independiente de las fluctuaciones entre las variantes de cada especie, la conductividad eléctrica máxima debida a la especie incrementó ($P \leq 0.05$) con el nivel de domesticación (Figura 3.14). En este caso los valores en los extremos correspondieron a las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* y la especie domesticada *O. ficus-indica*, y la diferencia máxima fue equivalente a 14 % (Figura 3.14). Este resultado puede ser evidencia de que los solutos celulares de los nopalitos fueron diferentes entre las especies y que esos cambios son producto del proceso de domesticación.

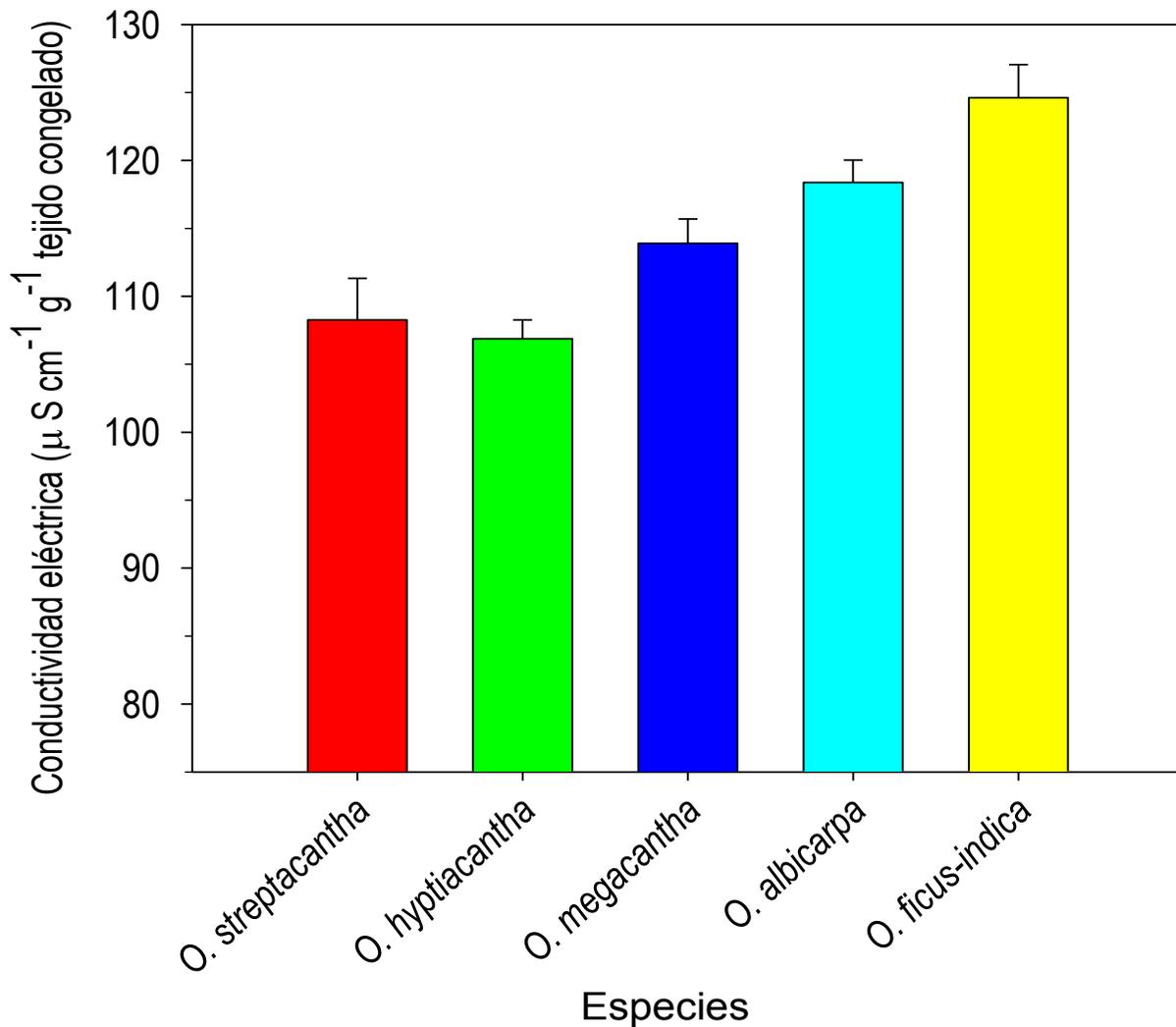


Figura 3.14. Conductividad eléctrica del medio acuoso generada por los tejidos descongelados de los nopalitos (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en invernadero y sin riego por 60 d. Cada barra es el promedio de la conductividad eléctrica de tres variantes por especie (n=18).

A partir de la liberación de electrolitos, García *et al.* (2008) calcularon el índice de daño de las membranas celulares de los nopalitos de cinco cultivares, de *O. ficus-indica*, causado por la suspensión de riego durante 60 d; los valores incrementaron hasta 20 y 29 % entre los cultivares con la caída del Ψ_A del suelo, con tendencias

diferentes entre los cultivares, por el incremento del tiempo sin riego. Los investigadores resaltaron las diferencias entre los índices de daño de los nopalitos en esas condiciones y los de otros tejidos y especies, como raíces de frijol (36 %) después de 24 h en sustrato con Ψ_A de -2.35 MPa y de hojas de cebada (28 %) después de unos días con déficit de humedad.

Se ha evaluado el impacto del déficit de humedad en el suelo sobre la liberación de los electrolitos en la membrana celular de la raíz y de las hojas de diferentes especies de plantas, como un indicador de tolerancia a la sequía del suelo. Sánchez-Urdaneta *et al.* (2003) lo evaluaron en la raíz de frijol silvestre y domesticado en sustrato con ψ_A entre -0.03 y -2.35 MPa, y observaron que el domesticado presentó 50 % de daño; en contraste, el silvestre no presentó daño. El resultado opuesto se observó en la raíz de plántulas de *Agave salmiana*, que con ψ_A bajos del sustrato (-2.35 MPa) no afectó significativamente la longitud de la raíz pero el índice de daño alcanzó 36 % (Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2004).

La permeabilidad relativa de las membranas celulares entre las 15 variantes de nopalito fluctuó entre 21.79 % en Memelo 1 de *O. hyptiacantha* y 30 % en Cardona de *O. streptacantha* y Naranjón Legítimo de *O. albicarpa* (Cuadro 5.1) después de los 60 d sin riego en las plantas; aunque, con la información disponible es imposible calificar el daño en la permeabilidad de sus membranas celulares puede afirmarse que las plantas continuaban exponiendo yemas vegetativas y ellas continuaban desarrollando nopalitos. Esto confirma que en las condiciones del estudio, y seguramente en el ambiente natural de estas especies, 60 d con sólo 4.7 % de humedad en el suelo, las modificaciones (de haberlas) en la funcionalidad de las membranas son insuficientes para provocar la muerte de la planta. Esto concuerda con lo señalado por Aguilar y Peña-Valdivia (2006) quienes además puntualizaron la dificultad para reconocer la condición de déficit de humedad en nopal y, en general, en plantas MAC.

Análisis multivariable de componentes principales

Se realizó el análisis de componentes principales (CP) para identificar las variables biofísicas y químicas (firmeza, Ψ_A , Ψ_S , contenido de SST de las 5:00 y 13:00 h, acidez de las 5:00 y 13:00 h y conductividad eléctrica dependiente de la permeabilidad de las

membranas) de los nopalitos de las 15 variantes que pudieran representar el gradiente de domesticación de *Opuntia*.

El CP1 explicó 42.5 % de la variabilidad total, que junto con CP2 y CP3 incrementó a 78 % (Cuadro 3.2). CP1 mostró correlación positiva con la firmeza y SST, y negativa con Ψ_s . Así, CP1 mostró que Ψ_s fue inversamente proporcional al contenido de SST, a la vez relacionado con algunas características que tienen cierto efecto en la firmeza de los nopalitos, como el contenido de agua y el turgor de las células. El CP2 tuvo la correlación positiva mayor con la conductividad eléctrica del medio y una correlación negativa con la acidez; CP3 tuvo la correlación positiva mayor con Ψ_A . Así, CP2 estuvo relacionado principalmente con la composición celular (que incluye a los electrolitos, como los ácidos orgánicos) y los cambios de la permeabilidad de las membranas por efecto de la restricción de humedad, y el CP3 con la capacidad de los tejidos para determinar la dirección e intensidad del movimiento del agua en relación con el ambiente de la planta. Además, los resultados también indican que la funcionalidad de las membranas de los nopalitos entre las especies de *Opuntia* pueden ser utilizadas como marcadores para diferenciar a las especies silvestres de las domesticadas y su tolerancia o resistencia a la humedad restringida, como en otras especies (Bajji, 2001).

Cuadro 3.2. Valores propios y proporción de la varianza acumulada de los tres primeros componentes principales (CP), obtenidos con las características físicas y químicas de 15 variantes de nopalitos (*Opuntia* spp.).

	CP1	CP2	CP3
Proporción de varianza acumulada	0.4251	0.6605	0.7805
Conductividad eléctrica	0.2410	0.4465	-0.1017
Firmeza	0.4332	0.0679	-0.3811
Potencial osmótico	-0.4071	0.2891	-0.0014
Potencial de agua	-0.3799	0.1713	0.6332
Sólidos solubles totales (5:00 h)	0.4198	0.3504	0.2845
Sólidos solubles totales (13:00 h)	0.4108	0.2606	0.4502
Acidez (5:00 h)	0.1613	-0.5390	0.1686
Acidez (13:00 h)	0.2704	-0.4493	0.3625

La representación gráfica de los CP (Figura 3.15 A-B) mostró que CP1 permitió que las especies silvestres (*O. streptacantha* y *O. hyptiacanta*) conformaran un grupo independiente de las especies con domesticación intermedia (*O. megacantha*) y mayor (*O. albicarpa* y *O. ficus-indica*). Además, la representación gráfica de CP3 en función de CP2 mantuvo a las especies silvestres relativamente agrupadas (Figura 3.15 C), en contraste con las de grado mayor de domesticación. En estas representaciones sobresalió *O. hyptiacanta* porque fue el grupo menos disperso en los planos formados por los tres CP.

Los resultados del análisis CP permitieron confirmar que algunas características biofísicas y químicas de los nopalitos de las especies evaluadas se expresan en un gradiente de domesticación equivalente al reconocido con características morfológicas por Reyes-Agüero *et al.* (2005).

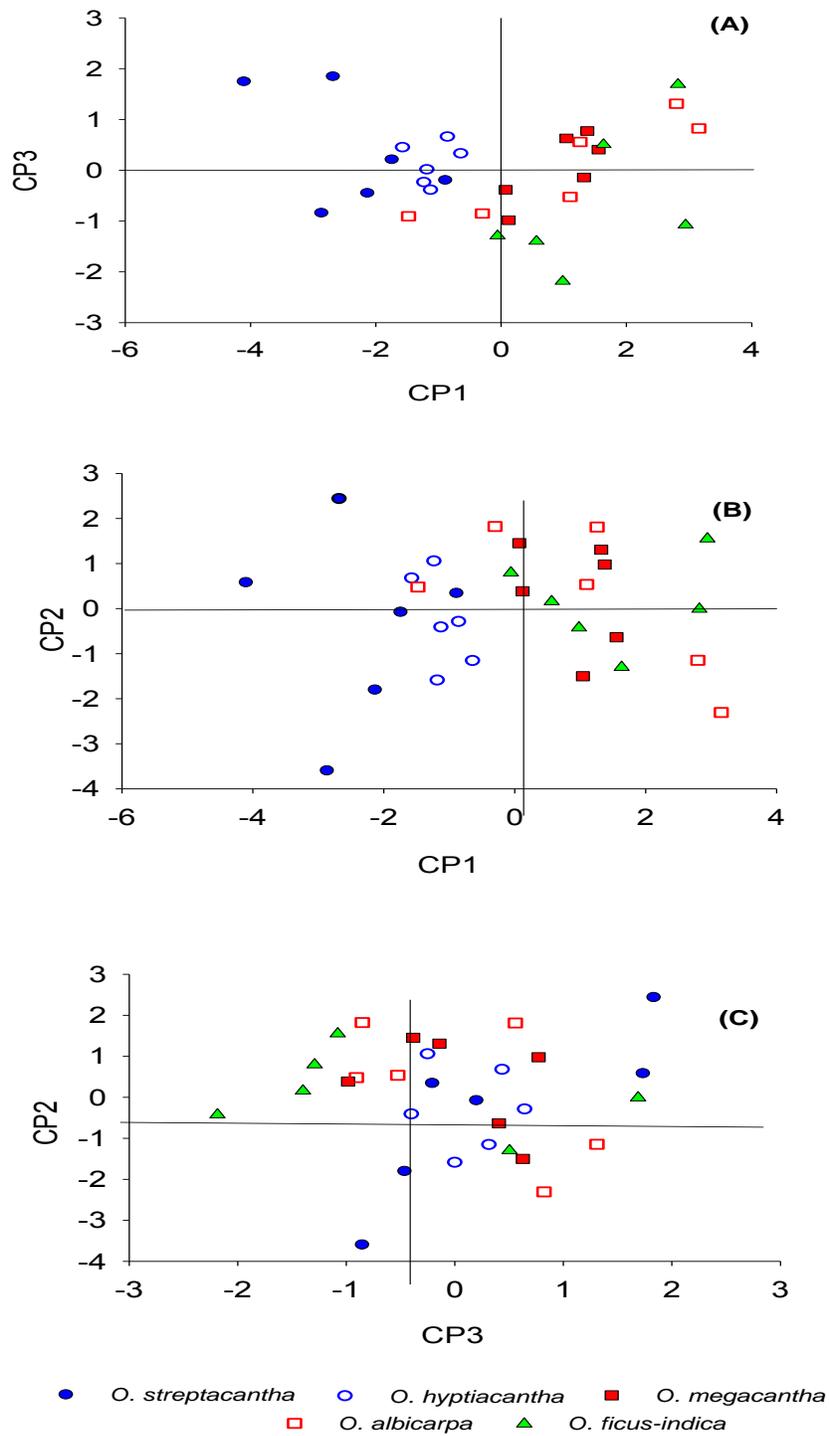


Figura 3.15. Ordenación en tres componentes principales (CP) de nopalitos, de 15 variantes, de cinco especies de *Opuntia*, basada en seis características biofísicas y químicas.

3.6 Conclusiones

Las características biofísicas y químicas de los nopalitos de plantas mantenidas por 60 d con disponibilidad limitada de humedad permiten diferenciarlos y agruparlos. Los nopalitos de las especies *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, identificadas como silvestres, contrastan con los de las especies con nivel mayor de domesticación, como *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, ya que son menos firmes, acumulan menos ácido málico y en general menos sólidos solubles al amanecer y por la tarde, por lo que mantienen un Ψ_A y un Ψ_S mayor.

3.7 Literatura citada

- Acevedo, E.; Badilla, I.; Nobel, P.S. 1983. Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Aguilar, B. G.; C. B. Peña-Valdivia. 2006. Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(3): 231-237.
- Aguilar, C.N.; Reyes M.L.; De la Garza H.; Contreras E. 1999. Aspectos bioquímicos de la relación entre el escaldado TB-TL y la textura de vegetales procesados. *Journal of the Mexican Chemistry Society. Sociedad Química de México* 43(2): 54-62.
- Aguilar-Sánchez, L.; Martínez-Damián, T.; Barrientos-Priego, F.; Aguilar.; Gallegos, N.; Gallegos-Vásquez, C. 2007. Enzymatic browning potential of “Nopalitos” varieties. *Journal of Professional Association for Cactus Development* 165-184.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1141 p.
- Barbera, G.; Inglese, P.; Pimienta-Barrios, E. 1995. Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. Capítulo: Anatomy and morphology. Sudzuki Hills. Universidad de Chile. FAO International technical cooperation network on cactus pear. 216 p.

- Bajji, M.; Kinet, J.M.; Lutts S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 00: 1-10.
- Betancourt-Domínguez, M.A.; Hernández-Pérez, P.; García-Saucedo.; Cruz-Hernández, A.; Paredes-López, O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (Nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.
- Black, M.; Pritchard, H.W. 2002. Desiccation and survival in plants. *Drying without dying*. CABJ Publishing. New York. 441 p.
- Calvo-Arriaga, A.O.; Hernández-Montes, A.; Peña-Valdivia, C.B.; Corrales-García, J.; Aguirre-Mandujano, E. 2010. Preference mapping and rheological properties of four nopal (*Opuntia* spp.) cultivars. *Journal of Professional Association for Cactus Development* 12: 127-142.
- Cantwell, M.; Rodríguez-Félix, A.; Robles-Contreras, F. 1992. Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. *Scientia Horticulturae* 50: 1-9.
- Cantwell, M.; 1995. Post-harvest management of fruits and vegetable stems. *In* Barbera, G.; Inglese, P.; Pimienta-Barrios (ed.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO. 211 p.
- Cervantes-Herrera, J.; Gallegos-Vázquez, C.; Reyes-Agüero, J.A.; Fernández-Montes, R.; Mondragón-Jacobo, C.; Martínez, J.C.; Luna-Vázquez, J. 2006. Mexican cultivars of *O. ficus-indica* (L.) Mill. with economic importance. *Acta Horticulturae* 728: 29-33.
- Chávez, M.M.; Oliveira, M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*. 55(407): 2365-2384.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1995. International Food Standards. World Health Organization. FAO. Consultado 2-08-2012. Disponible en: http://www.codexalimentarius.net/gsfonline/docs/CXS_192s.pdf

- Colunga, G.M.; P. Hernández, X.; E. Castillo, M.A. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío guanajuatense. *Agrociencia* 65: 7-49.
- Corrales-García, J.; Peña-Valdivia, C.B.; Razo-Martínez, Y.; Sánchez-Hernández, M. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32:169-174.
- Díaz-Padilla, G.; Sánchez-Cohen, I.; Guajardo-Panes, R. A.; Del Ángel-Pérez, A. L.; Ruíz-Corral, A.; Medina-García, G.; Ibarra-Castillo, D. 2011. Mapeo del índice de aridez y su distribución poblacional en México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, Volumen XVII, Edición especial.* 267-275 p.
- Dood, A.N.; Borland, A.M.; Haslam, R.P.; Griffiths, H.; Maxwell, K. 2003. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53(369): 569-580.
- Esparza, SS. 2010. Distribución geográfica del género *Opuntia* en México. Tesis de maestría. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 85 p.
- Gallegos-Vázquez, C.; Mondragón, J.C.; Reyes-Agüero, J.A. 2009. An update on the evolution of the cactus pear industry in Mexico. *Acta Hort.* 811: 69-76.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5th . Instituto de Geografía-UNAM. México, D.F. 90 p.
- García R, M.T. 2007. Procesos fisiológicos y contenido de polisacáridos estructurales en nopalito (*Opuntia* spp.) y su modificación por el potencial de agua del suelo. Tesis de Maestría en Ciencias. Recursos Genéticos y Productividad. Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. 124 p.
- García R, M.T.; Peña-Valdivia, C.B.; Trejo-López, C.; S. Valle G.; Corrales-García, J.; García-Nava, J.R. 2008. Tissue osmotic potential and membranes permeability of nopalitos (*Opuntia* spp.) affected by changes in soil water potential. *Journal of Professional Association for Cactus Development* 10: 133-147.
- Gaytan-Villafuerte, A.; Scheinvar, L.; Olalde-Parra, G.; Olvera-Sule, D.; Gutiérrez-Chávez, A.; Martínez, C.; Espinosa-Organista, D.; Velázquez-Rentería, C. 2011. Diversidad y riqueza de los nopales silvestres en la república mexicana, géneros

- Opuntia* Mill. y nopalea Salm-dyck, cactaceae. VII Simposio Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Áridas Ecología, Manejo y Conservación. 234 p.
- Gigon, G.; A. R, Matos.; D. Laffray.; Y. Zuily-Fodil.; A-T, Pham-Thi. 2004. Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia). *Annals of Botany* 94: 345-351.
- Goldstein, G.; Ortega, J.K.E.; A. Nerd.; P.S. Nobel, 1991. Diel patterns of water potential components for the crassulacean acid metabolism plant *Opuntia ficus-indica* when well-watered or droughted. *Plant Physiology* 95: 274-280.
- Gomes, F. P.; Oliva, M.A.; Mielke, M. S.; Almeida, A. A. F.; Aquino, L. A. 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae* 126, 379-384.
- Hamann, T. 2012. Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. *Front Plant Science* 3:77.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. *In* G.P. Chapman (ed.). *Grass evolution and domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. *In*: Physiological and biochemical indicators for stress tolerance. Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Huang, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Larcher, W. 2003. *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer, Berlin. 513 p.
- Lashbrook, C.C. 2005. New insights into cell wall disassembly during fruit ripening. *Stewart Postharvest Review* 3: 2. Consultado 5-07-2012. Disponible en: <http://www.stewartpostharvest.com>.
- Liu, M.Z.; Jiang, G.M.; Li, Y.G.; Niu, S.L.; Gao, L.M.; Ding, L.; Peng, Y. 2003. Leaf osmotic potentials of 104 plant species in relation to habitats and plant functional types in Hunshandak Sandland, Inner Mongolia, China. *Trees* 17: 554-560.
- López-Palacios, C.; Peña-Valdivia, C. B.; Reyes-Agüero, J. A.; Rodríguez-Hernández, A. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalito (*Opuntia* spp.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(6): 1015-1026.

- Moreno, L.P.F. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*. 27(2): 179-191.
- Morgan, J.L. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Reviews. Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 35: 299-331.
- Nobel, P.S. 1976. Water relations and photosynthesis of a desert CAM plant, *Agave deserti*. *Plant Physiology* 58: 576-582.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. New York, Cambridge University Press. 36 p.
- Nobel, P.S.; De la Barrera, E. 2002. Stem water relations and net CO₂ uptake for a hemiepiphytic cactus during short-term drought. *Environmental and Experimental Botany* 48: 129-137.
- Nobel, P.S. 2006. Parenchyma-Chlorenchyma water movement during drought for the Hemiepiphytic Cactus *Hylocereus undatus*. *Annals of Botany* 97: 469-474.
- Noggle, G.R; Fritz, G.J. 1983. Introductory plant physiology. 2th ed. Prentice-Hall INC (ed)., Englewood Cliffs, New Jersey. 627p.
- Paleg, L.G.; Aspinall, D. 1981. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press. 492 p.
- Peña-Valdivia, C. B.; Trejo-López, C.; Arroyo-Peña, V. B.; Sánchez-Urdaneta, A.; Balois, R. M. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Chemistry & Biodiversity* 9: 1599-1610.
- Perales, H.R.; Aguirre, J.R. 2008. Biodiversidad humanizada, *en Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, 565-603 p.
- Prasanna, V.; Prabha, T.N.; Tharanathan, R.N. 2007. Fruit ripening phenomena-An overview. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 47(1): 1-19.
- Pimienta-Barrios, E.; Nobel, P.S. 1998. Vegetative, reproductive, and physiological adaptations to aridity of Pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). *Economic Botany* 52 (4): 401-411.
- Prášil.; Zámečník. 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a

- sample on evaluation of the degree of injury. *Environmental Experimental Botany* 40: 1-10.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.A.; Carlín, F.C. 2004. Análisis preliminar de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, en G. Esparza, F.; R.D. Valdez Z.; S.J. Méndez, G. (eds.), *El nopal, tópicos de actualidad*. Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo, México, 21-47 p.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.A.; R.; Flores-Flores, J.L. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484 p.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.R.; Carlín-Castelan, F.; González-Durán, A. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT. San Luis Potosí, S.L.P. México. 350 p.
- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre, R. 2011. Agrobiodiversity of cactus pear (*Opuntia* Cactaceae) in the Meridional Highlands Plateau of México. *J. of Natural Resources and Development*. 1: 1-8.
- Reynolds, S.G.; Arias, J.E. 2003. El nopal (*Opuntia* spp.) como forraje. *In: Mondragón-Jacobo, C.; Pérez-González, S. (ed). Depósito de documentos de la FAO. Departamento de agricultura. 120 p. Consultado 1/08/2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/y2808s/y2808s0>.*
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J. R. Aguirre R. ; E. Cárdenas; A. B. Galicia J. 2003. Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado bajo déficit de humedad. *Interciencia* 28: 597-603.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; J. R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck. *Interciencia* 29: 626-631.

- Sáenz, C. (2004). Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. En: El Nopal, Tópicos de actualidad, (Esparza, G.; Valdez, R.; Méndez, S.). Universidad Autónoma de Chapingo (ed.), Texcoco. México. 211-222 p
- Serraj, R.; Sinclair, T.R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?. *Plant, Cell and Environment* 25: 333-341.
- Simpson, G.M. 1981. Water stress on plants. Praeger (ed.). 324 p
- Szarek, S. R.; Johnson, H.B.; Ting, I. P. 1973. Drought adaptation in *Opuntia basilaris*. *Plant Physiology* 52: 539-541.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research* 49(2): 175-194.
- Shewfelt, R.L. 1992. Response of plant membrane to chilling and freezing. *In: Plant membrane*. Leshem, Y.Y.; R.L. Shewfelt.; C.M. Wilcomer.; O. Pantoja. Kluwer (ed.), London. 192-219 p.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; 2002. *Plant physiology*. Siaver Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts. 700 p.
- Utkarsha, U.; Shedbalkar, U.; Vinayak, S.; Adki.; Jyoti, P.; Jadhav.; Vishwas.; Bapat, A. 2010. *Opuntia* and other cacti: Applications and biotechnological insights. *Tropical Plant Biology* 3: 136-150.

4. CAMBIOS DE LA ACIDEZ DE NOPALITOS (*Opuntia* spp.) EN CONDICIONES DE RIEGO Y EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN

4.1 Resumen

La importancia económica del nopal (*Opuntia* spp.) en México se debe, en parte a la gran diversidad de variantes silvestres, cultivares y especie. Un carácter de calidad para los consumidores es la acidez de los nopalitos. El objetivo de este estudio fue determinar la acidez y su modificación en un ciclo de 24 h de los nopalitos de tres especies en un gradiente de domesticación, cultivados en condición de invernadero y riego. La hipótesis fue que la acidez de los nopales es diferente entre las especies y disminuye con la domesticación. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento y los factores que se evaluaron fueron la especie, variante y hora de muestreo. La acidez se cuantificó por titulación con NaOH y fenolftaleína como indicador. Los resultados se sometieron a ANDEVA y comparación múltiple de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) entre variantes y especies. En el ciclo de 24 h la acidez mayor se registró a las 5:00 h (1.04 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) en Rubí Reyna de *O. megacantha* y la menor a las 13:00 h (0.3 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) en Cardona de *O. streptacantha*. La especie menos ácida (0.34 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) fue *O. streptacantha* a las 17:00 h y la más ácida (1.01 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) *O. megacantha* a las 5:00 h; sin embargo; la acidez de *O. streptacantha* a las 5:00 h fue igual ($P > 0.05$) a la de *O. ficus-indica*. Los cambios de la acidez a lo largo del día de los nopalitos, de las nueve variantes, de las tres especies, fueron típicos del metabolismo ácido crasuláceo y no presentaron una relación aparente con el gradiente de domesticación.

Palabras clave: nopal, acides, domesticación, especies, variantes, *Opuntia* spp.

ACIDITY CHANGES OF NOPALITOS (*Opuntia* spp.) IN GREENHOUSE CONDITIONS AND IRRIGATION, IN A DOMESTICATION GRADIENT

4.2 Abstract

The economic importance of nopal (*Opuntia* spp.) in Mexico is due partially to the large number of wild variants, cultivars and species. A good-quality characteristic for consumers is the acidity of the nopalitos. The aim of this study was to assess the acidity in a cycle of 24 h of three nopalitos species in a domestication gradient. Nopales plants were grown under greenhouse and irrigation conditions. The hypothesis was that the acidity of the nopales is different between species and decreases with the domestication process. We used a completely randomized design with four replicates per treatment and the factors evaluated were the species, variants, and the time of sampling. Acidity was measured by titration with NaOH and phenolphthalein as indicator. The results were subjected to ANOVA and a Tukey ($P \leq 0.05$) multiple comparisons of means between variants and species. The higher acidity was recorded at 5:00 h (malic acid $1.04 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry biomass) in Ruby Reyna of *O. megacantha* and the lowest at 13:00 h (malic acid $0.3 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry biomass) in Cardona of *O. streptacantha*. The species with lower acidity (malic acid $0.34 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry biomass) was *O. streptacantha* at 17:00 h and the greater acid malic acid ($1.01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry biomass) was *O. megacantha* at 5:00 h, however, the acidity of *O. streptacantha* at 5:00 h did not differ ($P > 0.05$) from *O. ficus-indica*. Acidity changes throughout the day, of the nine variants, belonging to three species of nopalitos, were typical of crassulacean acid metabolism and did not show an apparent relationship with the gradient of domestication.

Keywords: cactus, acidity, domestication, species, variants, *Opuntia* spp.

4.3 Introducción

Actualmente, las plantas de nopal (*Opuntia* spp.) se cultivan en más de 30 países (Stintzing y Carle, 2005) y habitan en condiciones agroclimáticas, en formas silvestres y domesticadas (Financiera Rural, 2011).

La desertificación mundial y disminución de los recursos hídricos ha permitido que *Opuntia* spp. adquiera importancia como un sistema de producción de alimentos, que incluye al fruto y a los nopalitas. Las especies de *Opuntia* constituyen un recurso vegetal importante para la agricultura de México. En el año 2009 el nopalito se produjo en 2.2 % de la superficie sembrada con hortalizas, el nopalito ocupó la cuarta posición en importancia por el volumen producido entre un grupo de 56 cultivos. En el año 2010 la superficie cosechada de nopalitas fue de 12 071 ha; así, entre los años 2000 y 2010 la superficie cultivada con *Opuntia* spp. incrementó poco más de 40 % (Financiera Rural, 2011). No obstante, su comercialización generalmente incluye un número relativamente limitado de variantes y cultivares, en comparación con la riqueza de variantes, con grado diferente de domesticación, que existen en México. Entre ellas se incluyen las recolectadas de poblaciones naturales, las plantadas como cercos vivos, las de los solares y las de las plantaciones comerciales (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

El interés es comercial y económico por los brotes tiernos de nopal, con 15 a 25 cm de longitud y peso entre 90 y 100 g, que se consumen como verdura (Cantwell, 1995; Sáenz, 2006). Los consumidores prefieren los nopalitas delgados, con color verde brillante, turgentes, sin espinas, contenido bajo de fibra y poco ácido (Corrales-García *et al.*, 2004, Domínguez, 1995, Reyes-Agüero *et al.*, 2004, Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988). Estas características dependen de la diversidad de formas silvestres, semidomesticadas y cultivares de nopal, que reflejan la variedad de gustos y preferencias de los consumidores dependiente de la región de consumo (Calvo-Arriaga *et al.*, 2010; Razo y Sánchez, 2002).

Los nopales son plantas con metabolismo ácido crasuláceo (MAC), por el que incrementan su éxito en ambientes con precipitación escasa y errática, con irradiación alta y temperaturas extremas. El desarrollo de las plantas MAC está caracterizado por

la plasticidad alta a las perturbaciones ambientales y les permite su supervivencia en condiciones adversas (Borland *et al.*, 2000). El MAC es una adaptación fisiológica, la apertura de sus estomas se lleva a cabo durante la noche permitiendo la fijación de CO₂ (éste se almacena en ácidos orgánicos de cuatro carbonos, principalmente ácido málico) cuando la demanda de evaporación es muy baja, lo cual resulta en un incremento en la eficiencia en el uso del agua (Nobel, 1988). Durante el día y para evitar una excesiva pérdida de agua, los estomas permanecen cerrados y es en este momento cuando se lleva a cabo la descarboxilación del malato para que el CO₂ liberado sea incorporado en el ciclo de Calvin (Osmond, 1978). El incremento de la acidez tisular es proporcional a la concentración de ácido málico en las vacuolas de las células, ya que por cada molécula de CO₂ fijada por una planta MAC se produce una molécula de ácido málico y dos iones de hidrógeno (Nobel, 1988).

Se ha señalado que la expresión del MAC en los nopalitos depende de la especie, la variante y los horarios de cosecha; la acidez incrementa al anochecer y disminuye rápidamente durante las primeras horas de la mañana (Acevedo *et al.*, 1983, Corrales-García *et al.*, 2004; Samish y Ellern, 1975). Otros factores combinados también modulan los atributos bioquímicos y fisiológicos de las plantas MAC, entre ellos están la ontogenia, el genotipo y los ambientales, como la intensidad de la luz, la temperatura, la humedad relativa, disponibilidad de agua y también el manejo del cultivo y el tiempo de almacenamiento de los nopalitos (Nobel y Hartsock 1983; Cushman, 2001; Dood *et al.*, 2002; Corrales-García *et al.*, 2004,).

Debido a que la acidez de los nopalitos es una característica muy importante no solo por su capacidad de fijación de CO₂ sino también por la calidad organoléptica para el consumidor, el objetivo de este estudio fue determinar la acidez y su patrón de acumulación en un ciclo de 24 h de los nopalitos de tres especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivados en condición de invernadero y riego. La hipótesis fue que la acidez de los nopales es diferente entre las especies y disminuye con la domesticación.

4.4 Materiales y métodos

4.4.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

En junio de 2010 se recolectaron 36 cladodios maduros de las variantes Cardona, Cardona de Castilla y Tuna Loca de la especie silvestre *O. streptacantha* Lem, Amarillo Plátano, Rojo Lirio y Rubí Reina de la especie semidomesticada *O. megacantha* Salm-Dyck y de los cultivares Copena V1, Rojo Vigor y Atlixco de la especie domesticada *O. ficus-indica* (L.) Miller del Depositario Nacional de *Opuntia* del Centro Regional Universitario Centro Norte, de la Universidad Autónoma de Chapingo (CRUCEN-UACH). Este sitio se localiza 4 km al suroeste de la ciudad de Zacatecas, México, en la localidad de “Huertas del Orito”, con clima BS1kw(w) (e) g, seco estepario, templado, veranos cálidos y lluviosos (García, 2004).

Los cladodios con longitud y anchura promedio de 34.5 y 20.6 cm, y biomasa fresca de 940 g se plantaron individualmente, el 8 de julio del 2010, en macetas de plástico (28.5 cm de altura por 31 cm de diámetro y 19 L de capacidad), con 15 kg de una mezcla de suelo y grava de tezontle (3:1, v:v). Las plantas, colocadas al azar, se mantuvieron en el invernadero del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, Estado De México (19°31' Lat. N, 98°53' Long. O y 2353 msnm), con clima Cb(W₀)(W)(i')g templado subhúmedo con lluvias en verano y época seca en invierno (García, 2004). A cada maceta se le aplicó 1 L de agua una vez por semana, con lo que se mantuvo la humedad en 30 %.

Las evaluaciones se realizaron el 16 de junio de 2012, cuando las plantas tenían dos años de edad. La iluminación fue natural, la temperatura y la humedad relativa media día/noche (promedio de un mes) dentro del invernadero fue 21/16 °C y 43/44 %. Se seleccionaron para las evaluaciones nopalitos de la última brotación, con longitud promedio de 20 a 25 cm.

Determinación del contenido de humedad en el suelo

El contenido de humedad del suelo se determinó en 15 muestras, de 1 g, tomadas al azar de la zona radical, en la periferia de la planta, a 10 y 15 cm de profundidad. Las

muestras fueron deshidratadas, hasta alcanzar peso constante, a temperatura (105 °C durante 72 h) constante en un horno de secado. La humedad del suelo fue expresada como porcentaje del peso total, según la siguiente ecuación:

$$w = \frac{Msh - Mss}{Mss} = \left(\frac{Mag}{Mss} \right) 100$$

Dónde: w = contenido de humedad (%)

Mag = masa del agua

Msh = masa del suelo húmedo

Mss = masa del suelo secado en estufa

Determinación de la acidez

La acidez titulable se evaluó con la metodología descrita por la AOAC (Asociación Oficial de Química Analítica, 1990). Para esto, los nopalitos fueron cosechados cada 4 h en un ciclo de 24 h (5, 9, 13, 17, 21, 1 y 5 h). Con un sacabocados (1.8 cm de diámetro) se extrajeron muestras de 1 g de la zona central de cada nopalito, se envolvieron en papel aluminio, se congelaron a -196 °C por inmersión en nitrógeno líquido y se deshidrataron por liofilización (Labconco® modelo Free Zone 6, Kansas city, MO, EE.UU.).

Las muestras deshidratadas se maceraron en un mortero, se resuspendieron en 10 mL de agua destilada y se centrifugaron a 30 000 x g durante 4 min. Una alícuota de 5 mL del sobrenadante se tituló con una solución de NaOH 1 N y fenolftaleína como indicador. La acidez se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Acido málico (\%)} = \frac{(\text{mL de NaOH}) (\text{Concentración del NaOH}) (0.067) (\text{Vol. total}) (100)}{(\text{Peso de la muestra en g}) (\text{Volumen en mL de la alícuota})}$$

Dónde: 0.067 es un factor de conversión a ácido málico (peso miliequivalente del ácido málico) ácido orgánico predominante en los tejidos de las plantas MAC.

4.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se empleó un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, con un nopalito como unidad experimental. Los datos de acidez fueron analizados mediante ANDEVA, con tres especies, nueve variantes y siete tiempos de muestreo en el ciclo de 24 h. Además, se realizaron comparaciones múltiples de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS.

4.5 Resultados y Discusión

4.5.1 Acidez titulable

La acidez de los nopalitos de las nueve variantes cambió durante las 24 h. Los cambios fueron típicos de las plantas MAC (Corrales-García *et al.*, 2004), la caída de la acidez inició en todos los casos a la 5 h, los valores menores los presentaron el periodo diurno y los mayores en el periodo nocturno (Figura 4.1).

Resultados similares fueron obtenidos por Acevedo *et al.* (1983), Corrales-García *et al.* (2004), Lüttge y Nobel (1984) y Rodríguez-Felix y Cantwell (1988). Otra diferencia fue que, en general, la acidez mínima y máxima difirió ($P \leq 0.05$) entre las variantes. En el primer caso, la diferencia más amplia representó cerca de 52 % y se observó entre Cardona (0.25 ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) de *O. streptacantha* y Amarillo Plátano (0.52 ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) de *O. megacantha*; esto es, en las condiciones del estudio una de las variantes silvestres presentó los valores menores de acidez de todo el grupo (Figura 4.1).

También hubo diferencias en la acidez máxima entre las variantes. La diferencia mayor representó 44 % y se detectó entre las dos silvestres Tuna Loca y Cardona (0.60 ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) y las tres semidomesticadas, que en promedio presentaron valores atípicamente altos (1.08 ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) respecto a todas las demás (Figura 4.1). Así, en las condiciones del estudio dos variantes silvestres parecen haber sintetizado y acumulado las cantidades nocturnas menores de ácido málico de todo el grupo; en contraste, las semidomesticadas hicieron lo opuesto.

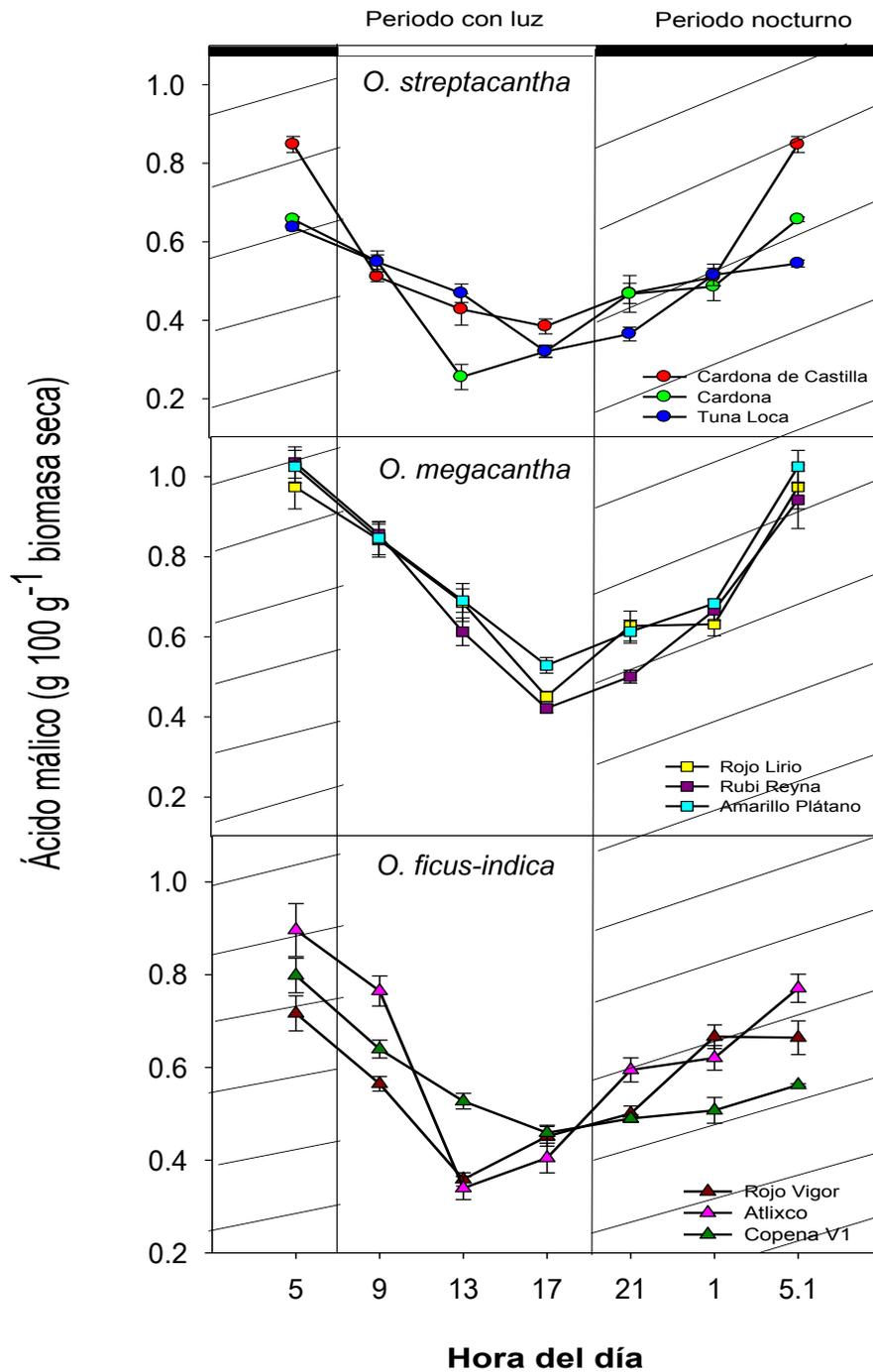


Figura 4.1. Acidez diurna y nocturna de nopalitos de *Opuntia* cultivados con riego en invernadero (n= 4, ± e.e).

En contraste, dentro de las especies sobresalieron las variantes Cardona y Tuna Loca de *O. streptacantha* y Amarillo Plátano, Rojo Lirio y Rubí Reyna de *O. megacantha* por su homogeneidad de los contenidos y fluctuaciones mínimas del contenido de ácido málico durante el ciclo completo (Figura 4.1).

Algunos de los resultados de la presente investigación difieren parcialmente de los obtenidos por Corrales *et al.* (2004) en nopalitos, de 20 cm de longitud, de los cultivares Atlixco y Copena V1, cosechados a las 6 y 13 h de un campo experimental de la zona de Chapingo, Estado de México. Las mayores diferencias se presentaron en Atlixco y Copena V1 a las 6 h, con 48 % más contenido de ácido málico, en comparación con el estudio anterior. Las diferencias principales son los valores extremos de la acidez determinados por esos investigadores en ambos cultivares (0.29 y 0.41 % de ácido málico a las 13 y 6 h en Atlixco y 0.21 y 0.28 % en Copena V1, respectivamente). Además, Betancourt-Domínguez *et al.* (2006) cuantificaron acidez mayor en nopalitos silvestres (entre 0.58 y 0.61 % de ácido málico) de tres tamaños (entre 14 y 22 cm de longitud) en comparación con los de los cultivares (de 0.30 a 0.34 %) Blanco sin Espinas, Blanco con Espinas, Verde Valtierrilla recolectados en la mañana. Es de notar que en este estudio el valor de la acidez de los cultivares es (20 % en promedio) menor que lo obtenido por los nopalitos domesticados de *O. ficus-indica* de nuestra investigación.

Las diferencias entre las variantes pudieron deberse en parte a la reacción particular de cada una al ambiente de cultivo en el invernadero, parcial o ampliamente contrastante al ambiente típico en el que crecen estas plantas. Es el caso del agua recibida por riego o la radiación. Al respecto, se ha señalado que la cantidad de ácidos orgánicos que acumulan las cactáceas durante la noche es determinada por la radiación fotosintéticamente activa (PAR) que reciben durante los días previos (Nobel y Hartsock, 1983; Lüttge, 2004), éstas plantas requieren una irradiación de $22 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ para alcanzar el 90 % de ácidos orgánicos y fijar CO_2 durante la noche (Nobel y Hartsock, 1983) y que se reducen con irradiación total diaria de $36 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ (Nobel, 1988). Las cactáceas que crecen en ambientes áridos tienden a incrementar linealmente la asimilación de CO_2 con el flujo de fotones para la fotosíntesis, en las longitudes de onda entre 400 y 700 nm. Las especies MAC más suculentas y con

capacidad mayor de almacenamiento de agua pueden mantener por más tiempo la tasa máxima de asimilación de CO₂ y un balance positivo de carbono, aun después de 30 d de sequía (Andrade *et al.*, 2007).

Otro factor ambiental que regula el MAC es la temperatura. Las temperaturas nocturnas que favorecen este metabolismo pueden variar entre 15 y 20 °C (Szarek *et al.*, 1973). Durante la noche, la apertura de los estomas y las reacciones enzimáticas que favorecen la acumulación de ácidos orgánicos son dependientes de la temperatura. Por lo que las plantas al exponerse a temperaturas diferentes a las de su ambiente propio podría modificar la tasa de reducción de CO₂ y la acumulación de ácidos. En el presente estudio los nopalitos de todas las variantes crecieron en condiciones similares, la temperatura nocturna media fue de 16° C (+/-), pero podría haber sido diferente al óptimo para algunas de ellas.

Entre las especies se detectaron diferencias significativas en el contenido de ácido málico durante el ciclo de 24 h. La acidez máxima, a las 5:00 h, fluctuó entre 0.73 y 1.01 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca. La diferencia mayor se detectó entre *O. streptacantha* y *O. megacantha* y representó 38 % de la acidez máxima. Entre los valores menores de acidez de las tres especies también hubo diferencias significativas. La acidez menor, independientemente de la hora, la presentó *O. streptacantha* (0.34 de ácido málico g 100 g⁻¹ biomasa seca) y representó 28 % menos acidez respecto a *O. ficus-indica* y *O. megacantha* (Figura 4.2).

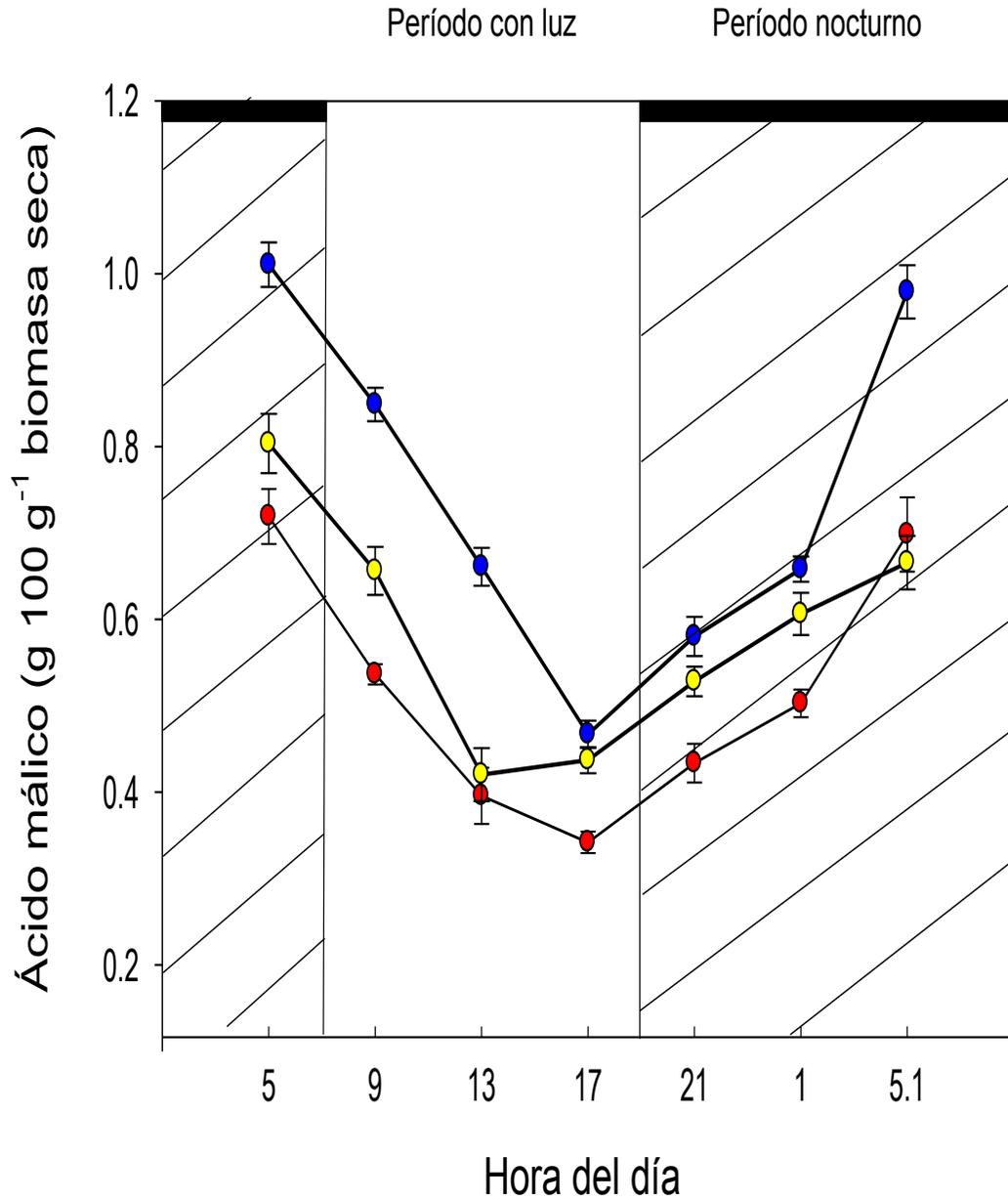


Figura 4.2. Acidez diurna y nocturna de nopalitos de *O. streptacantha* (●), *O. megacantha* (●) y *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero con riego. Cada valor representa el promedio de la acidez de tres variantes por especie (n=12, ± e.e).

Las tres especies presentaron la misma tendencia de disminución del contenido promedio de ácido málico al amanecer, a partir de las 5 h, y continuó hasta el atardecer, a las 17 h, con excepción de *O. ficus-indica*. También coincidieron en la tendencia de su incremento, a partir de las 17 h, y la acumulación máxima de ácido málico hasta las 5 h (Figura 4.2). La forma de la curva que describió el cambio de acidez de las tres especies es típica de las plantas MAC (Nobel, 1988).

La tendencia general (Figura 4.2) permite señalar que, en condiciones de invernadero y con riego, los nopalitos de la especie silvestre *O. streptacantha* son menos ácidos que la especie semidomesticada *O. megacantha* y domesticada *O. ficus-indica* y de estas últimas los nopalitos de la semidomesticada son los más ácidos.

Se ha señalado que las variaciones de la acidez se deben al efecto del genotipo, propio de cada especie, en combinación con factores ontogénicos que afectan la expresión de los atributos bioquímicos y fisiológicos de las plantas (Cushman, 2001; Dodd *et al.*, 2002). La acidez también depende de las condiciones ambientales, como la temperatura, la intensidad de la luz (Nobel y Hartsock, 1983), el déficit hídrico, el suministro de agua (Dodd *et al.*, 2002) y la edad del tejido y la planta. Al respecto, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) mostraron que entre los nopalitos de *O. ficus-indica*, de 7 a 36 cm de longitud, la acidez varió de 0.28 a 0.95 % y en nopalitos de 15 a 25 cm de longitud de *O. inermis* fluctuó entre 0.41 y 0.72 %, cuando las plantas tenían de 3 a 4 años de edad. Resultados de acidez que están dentro del rango encontrado en nuestro estudio.

Las diferencias en la acidez entre las especies, en el presente estudio, pueden considerarse propias del nivel de domesticación de cada una, pues las plantas se desarrollaron y los nopalitos crecieron en las mismas condiciones; aunque, el ambiente fue diferente al propio de las variantes silvestres. En estas condiciones no se detectó un gradiente de la acidez, o de sus cambios en el ciclo de 24 h, directo u opuesto al de domesticación.

4.6 Conclusiones

Los cambios de la acidez de los nopalitos, de las especies *O. streptacantha*, *O. megacantha* y *O. ficus-indica*, cultivados con riego y en condiciones de invernadero, a lo largo del día, son típicos de las plantas MAC. Así, no se identificó una relación inversa entre la acidez de los nopalitos y el gradiente de domesticación, ya que para la especie silvestre *O. streptacantha* presentó la menor acidez, en comparación con la especie domesticada *O. ficus-indica*; mientras que la especie semidomesticada *O. megacantha* generó la mayor acidez, demostrando que la acumulación de la acidez de las variantes y de las especies de nopalitos pueden cambiar ampliamente.

4.7 Literatura citada

- Acevedo, E.; Badilla, I.; Nobel, P.S. 1983. Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Andrade, J.L.; De la Barrera, E.; Reyes-García, C.; Ricalde, M.F.; Vargas-Soto, G.; Cervera, C. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 37-50.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1141 p.
- Betancourt-Domínguez, M.A.; Hernández-Pérez, P.; García-Saucedo.; Cruz-Hernández, A.; Paredes-López, O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (Nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.
- Borland, A.M.; Maxwell, K.; Griffiths, H. 2000. Ecophysiology of plants with crassulacean acid metabolism. Leegood, R.C.; Sharkey, T.D.; von Caemmerer, S. (eds), *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*, Chapter 24. 583-605 pp.
- Calvo-Arriaga, A.O.; Hernández-Montes, A.; Peña-Valdivia, C.B.; Corrales-García, J.; Aguirre-Mandujano, E. 2010. Preference mapping and rheological properties of

- four nopal (*Opuntia* spp.) cultivars. Journal of Professional Association for Cactus Development 12: 127-142
- Cantwell, M.; 1995. Post-harvest management of fruits and vegetable stems, *In* : Barbera, G.; Inglese, P.; Pimental-Barrios, E.; (Eds.), Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear, FAO-Plant production and protection paper, Rome 132, 120-136p.
- Corrales-García, J.; Peña-Valdivia, C. B.; Razo-Martínez, Y.; Sánchez-Hernández, M. 2004. Postharvest Biology and Technology 32: 169-174.
- Cushman, J. C. 2001. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiology 127: 1439-1448.
- Domínguez, L.; 1995. Revisión: Empleo de los frutos y de los cladodios de la chumbera (*Opuntia* spp.) en la alimentación humana. Food Science Technology International 1: 65-74.
- Dood, A. N.; Borland, R. P. Haslam, M.; Greffiths, H.; Maxwell, K. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. Journal of Experimental Botany 53: 569-580.
- Financiera Rural. 2011. Monografía de nopal y tuna. 15p. [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna\(jul11\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/MonografiaNopal-Tuna(jul11).pdf). Consultado 17/09/2012.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía-UNAM. México, D.F. 90 p.
- Lüttge, U.; Nobel, P. S. 1984. Day-night variations in malate concentration, osmotic pressure, and hydrostatic pressure in *Cereus validus*. Plant Physiology 75: 804-807.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). Annals of Botany 93: 629-652.
- Nobel, P.S.; Hartsock, T. L. 1983. Relationships between photosynthetically active radiation, nocturnal acid accumulation, and CO₂ uptake for a crassulacean acid metabolism plant, *Opuntia ficus-indica*. Plant Physiology 71: 71-75.
- Nobel P. S. 1988. Environmental Biology of *Agaves* and *Cacti*. Cambridge University Press, Nueva York.

- Osmond, C. B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 379-414.
- Razo M., Y.; M. Sánchez H. 2002. Acidez de 10 variantes de nopalito (*Opuntia* spp.) y su efecto en las propiedades químicas y sensoriales. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México. 104 p.
- Reyes-Agüero, J. A.; Aguirre R., J. R.; Carlin C., F. 2004. Análisis preliminar de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *In*: G. Esparza F., R. D. Valdéz C. & S. de J. Méndez G. (eds). El nopal. Tópicos de actualidad. Universidad Autónoma Chapingo-Colegio de Postgraduados. pp. 255-274.
- Reyes-Agüero., J. A.; Aguirre R., J. R.; Flores F., J. L. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia* 30 (8): 476-484.
- Rodríguez-Felix, A.; Cantwell, M.; 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition* 38: 83-93.
- Samish, Y.B.; Ellern, S.J. 1975. Titratable acids in *Opuntia ficus-indica* L. *Journal of Range Management* 28(5): 365-369.
- Sáenz, C. 2006. Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*. 162. 165p.
- Stintzing, F.C.; Carle, R.; 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition Food Research* 49: 175-194.
- Szarek, S.R.; Johnson, H.B.; Ting, I.P. 1973. Drought adaptation in *Opuntia basilaris*. *Plant Physiology* 52: 539-541.

5. FIRMEZA, SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES Y POTENCIAL OSMÓTICO DE HOJAS DE MAGUEY (*Agave* spp.) Y SU RELACIÓN CON LA ESPECIE Y HUMEDAD EN EL SUELO

5.1 Resumen

La naturaleza e intensidad de las respuestas de las especies de *Agave* a condiciones ambientales extremas, como la restricción de humedad en el suelo, pueden variar considerablemente dependiendo de la edad de la planta, estación del año y hora del día. Debido a la importancia económica y social que tienen los magueyes en México, y por el interés científico y tecnológico por estas plantas es fundamental generar información sobre su composición y características físicas para desarrollar alternativas que propicien su aprovechamiento integral. El objetivo de esta investigación fue identificar diferencias y semejanzas de la firmeza, el contenido de sólidos solubles totales (SST) y potencial osmótico (ψ_s) de tejido total, del parénquima y el clorénquima de las hojas de plantas de siete especies de *Agave* de dos años de edad, cultivadas en condiciones de invernadero con riego y suspensión durante 1 año y 8 meses (25 y 3 % de humedad en el suelo). La hipótesis fue que los cambios de las características biofísico-fisiológicas de las hojas de *Agave* son independientes de la humedad del suelo y de la especie. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con nueve repeticiones por tratamiento; se realizó un análisis de varianza y las medias de cada variable fueron comparadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Con riego *A. striata* tuvo la firmeza menor (0.049 mm) y *A. aspérrima* y *A. cupreata* la mayor (0.188 mm), con la suspensión de riego la diferencia se mantuvo pero los valores incrementaron en forma no proporcional entre las especies, desde 11 % en *A. cupreata* hasta 55 % en *A. angustifolia*. Con riego el contenido de SST fue menor en *A. salminana* y mayor en *A. americana* (8.84 y 13 °Brix); y con la humedad restringida en el suelo incrementó desigualmente entre las especies, *A. cupreata* y *A. aspérrima* presentaron el menor y mayor incremento (12.45 y 22.11 °Brix) y no tuvo efecto en *A. cupreata*. El ψ_s de tejido total con riego varió de -0.7 MPa (*A. striata*) a -1.03 MPa (*A. angustifolia*) y se mantuvo con poco cambio en seis de las especies excepto *A. striata*, con la suspensión de riego el ψ_s disminuyó para las siete especies presentándose en un rango de -0.97 en *A. striata* hasta -1.42 MPa en *A. lechuguilla* y *A. salmiana*. El ψ_s

del parénquima en la condición con riego fue mayor que en el clorénquima, la diferencia menor y mayor la presentaron *A. angustifolia* (-0.92 y -0.96 MPa) y *A. cupreata* (-1.08 y -1.54 MPa) y la diferencia cambió entre las especies con la suspensión de riego. Las características biofísico-fisiológicas de las hojas de *Agave* son parcialmente dependientes de la humedad del suelo y de la especie.

Palabras clave: *Agave*, especie, firmeza, sólidos solubles totales, potencial osmótico

FIRMNESS, OSMOTIC POTENTIAL AND TOTAL SOLUBLE SOLIDS OF MAGUEY LEAF (*Agave* spp.) AND ITS RELATIONSHIP WITH THE SPECIES AND AVAILABILITY OF SOIL WATER

5.2 Abstract

The nature and intensity of the responses of *Agave* species to extreme environmental conditions, such as the restriction of soil moisture, can vary considerably depending on the age of the plant, season and time of day. The magueyes are very important because their economic and social role in Mexico. As a consequence to advance in the agave integral plant use it must be included research about their composition and physical characteristics. The objective of this research was to identify differences and similarities of firmness, total soluble solids (TSS) and osmotic potential (ψ_s) of total tissue, parenchyma and chlorenchyma of leaves. The research was made using seven species of *Agave*. The agave plants were two years old, grown under greenhouse conditions. There were two plants groups: with irrigation and watering suspension for 1 year and eighth months (25 and 3% moisture in soil respectively). The hypothesis was that the changes in biophysical and physiological characteristics of leaves of *Agave* are independent of soil moisture and species. We used a completely randomized design with nine replicates per treatment. Also, we performed an analysis of variance and the Tukey test ($P \leq .05$). *A. striata* plants growing under irrigation had lower firmness (0.049 mm) and *A. asperrima* and *A. cupreata* the highest values (0.188 mm). Plants growing with watering suspension the values increased disproportionately among species, from 11% in *A. cupreata* to 55% *A. angustifolia*. The TSS content in *A. Salminana* plants growing under irrigation was lower (8.84) and higher in *A. americana* (13 ° Brix). *A. cupreata* and *A. asperrima* plants growing without watering had the lowest and highest increase (12.45 and 22.11 ° Brix) and no effect on *A. cupreata*. The total tissue ψ_s with irrigation ranged from -0.7 Mpa (*A. striata*) to -1.03 MPa (*A. angustifolia*) and it is maintained with little change in the seven species with irrigation suspension. The parenchyma ψ_s in watering plants was greater than the value in the chlorenchyma. *A. Angustifolia* had the smallest difference (-0.92 and -0.96 MPa) of parenchyma ψ_s and the greater was presented by *A. cupreata* (-1.08 and -1.54 MPa) and the

differences changed between species in plants growing with irrigation suspension. Biophysical and physiological characteristics of *Agave* leaves are partially dependent on soil moisture and species.

Keywords: *Agave*, specie, firmness, total soluble solids, osmotic potential

5.3 Introducción

El género *Agave* es endémico del continente americano se distribuye en el sur de Estados Unidos, México, América Central, el Caribe y América del Sur (García-Herrera *et al.*, 2010), México es considerado el centro de origen y de diversidad del género, debido a que este territorio cuenta con 272 de las 310 especies reconocidas, de las que 135 son endémicas (García, 2002) y están en todos los estados, excepto Tabasco y Quintana Roo (García, 2007), es decir en más del 75 % del territorio. Algunas regiones son más ricas, es el caso del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, la Sierra Madre Occidental, en los estados de Sonora, Chihuahua y Sinaloa, y una área más extensa, que abarca el desierto de Chihuahua, San Luis Potosí, Nuevo León y Tamaulipas (García, 2002).

Los magueyes son de los recursos que desde épocas prehispánicas han sido relevantes, su distribución y diversidad amplias permitieron que los humanos los usaran con fines múltiples y que su cultivo fuera superado sólo por el maíz en la agricultura mesoamericana desde hace 9 000 años (García-Moya, 2011). *Agave salmiana*, *A. tequilana*, *A. lechuguilla* y *A. sisalana* son algunas de las especies que prosperan principalmente en las comunidades de las zonas áridas y semiáridas y entre las más utilizadas (García-Herrera *et al.*, 2010).

En esas regiones las condiciones climáticas y edáficas son extremosas y el establecimiento de la agricultura es difícil principalmente por la escasez de agua. Los magueyes presentan metabolismo del tipo de las Crasulaceas (MAC) (Davis *et al.*, 2011) y características fisiológicas y morfológicas que les confieren capacidad notable de adaptación a los ambientes más hostiles, como disponibilidad limitada de humedad durante periodos prolongados hasta de un año y fluctuaciones amplias de temperatura entre el día y la noche; en esos ambientes se desarrollan y multiplican fácilmente y su productividad es mayor que la de la mayoría de las plantas que se cultivan actualmente en estas zonas (Gentry, 1982 y Granados, 1993). Lo anterior, en parte, porque estas plantas tienden a limitar la pérdida de agua por transpiración y a acumularla en tejidos especializados de las hojas, en las que presentan cutícula gruesa (García, 2007), y su sistema de raíces superficial les permite responder rápidamente a lluvias breves o intermitentes (North y Nobel, 1998). La firmeza es un atributo de la textura de los tejidos, está relacionada con la estructura de los tejidos, el contenido de agua, la

turgencia de las células, la composición de la pared celular (Dussán-Sarria, 2008) y el grosor y composición de la cutícula, que es variable entre las especies vegetales, tejidos, edad o estado de desarrollo de la planta (Lallana *et al.*, 2006). Al respecto, Mora-López *et al.* (2011) indicaron que el grosor de la cutícula, junto con otros atributos morfológicos, fue adecuado para identificar y reconocer un gradiente de humanización en la sección Salmianae del género *Agave*.

El estrés hídrico es una condición que, por pérdidas excesivas de agua o inadecuada absorción, conduce al balance hídrico negativo suficiente para reducir la turgencia, disminuir la elongación celular y alterar negativamente los procesos fisiológicos esenciales de las plantas, y es dependiente de la especie y su grado de tolerancia (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000). Para evaluar estas reacciones en las plantas frecuentemente son evaluados el potencial de agua (ψ_A), el potencial osmótico (ψ_s) y la acumulación de algunos solutos o el contenido total de ellos (sólidos solubles totales, SST) en sus tejidos, como indicadores de la tolerancia a la sequía.

El gran acervo de magueyes mexicanos podrá aprovecharse después de evaluar y conocer los procesos fisiológicos que le permiten sobrevivir y prosperar en los ambientes extremos descritos, ya que la información sobre el tema es incipiente.

El objetivo de esta investigación fue identificar diferencias y semejanzas de la firmeza, del contenido de SST, y ψ_s de tejido total, del parénquima y el clorénquima de las hojas de plantas de siete especies de *Agave* de 2 años de edad, cultivadas en condiciones de invernadero con riego y su suspensión durante 1 año y 8 meses (30 y 3 % de humedad en el suelo). La hipótesis fue que los cambios de las características biofísico-fisiológicas de las hojas de *Agave* son independientes de la humedad del suelo y de la especie.

5.4 Materiales y métodos

5.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se evaluaron siete especies de magueyes (Cuadro 5.1) con importancia comercial y cultural ancestral y actual, pues, destacan por su uso, prehispánico o actual, para producir bebidas destiladas y fermentadas, para obtener fibras, alimentos y forraje

(Ramírez-Tobías *et al.*, 2012). Las especies seleccionadas presentan formas de reproducción diversas, proceden de regiones climáticas distintas y se clasifican, de acuerdo con Gentry (1982), en los subgéneros *Agave* y *Littaea* y en siete grupos taxonómicos; *A. lechuguilla* y *A. striata* forman parte del subgénero *Littaea* y las otras cinco del subgénero *Agave* (Cuadro 1; Ramírez-Tobías *et al.*, 2012). Para el estudio, las plantas fueron obtenidas de semillas y cultivadas en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Montecillo, México (clima BS1kw(w), con lluvias en verano e inviernos fríos; García, 2004), en macetas con 12 kg de una mezcla de suelo agrícola y grava de tezontle en proporción 3:1, según lo descrito por Ramírez-Tobías *et al.*(2012).

Desde la siembra, hasta la emergencia de la segunda hoja lateral las plantas fueron regadas una vez por semana, con agua suficiente para conservar el sustrato húmedo. Luego se formaron dos grupos de plantas a uno se le proporcionó agua 1L cada semana (riego frecuente) para mantener la humedad del sustrato cercana a capacidad de campo, y al otro se le proporcionó agua con frecuencia y cantidad menores (riego restringido) durante 1 año y 8 meses. El agua se suministró con un sistema de riego localizado, semiautomatizado hasta cada maceta y programado para aplicar el agua necesaria para cada tratamiento.

El potencial de agua (Ψ_A) se midió en muestras de sustrato en cámaras psicrométricas (Wescor C-52, Inc, Utha, EE.UU.) conectadas a un microvoltímetro (Wescor HR-33T, Inc, Utha, EE.UU.), operado en el modo de punto de rocío. El Ψ_A (promedio \pm el error estándar) fue -0.7 ± 0.07 MPa en los tratamientos con riego frecuente y de -3.5 ± 0.41 MPa en los tratamientos con riego restringido en los primeros 6 meses, después disminuyó a menos de -5 MPa, según lo señalado por Ramírez-Tobías *et al.* (2013).

Cuadro 5.1. Diferencias taxonómicas, reproductivas y del ambiente de origen de las especies de *Agave* evaluadas^a.

Subgénero	Grupo	Especie	Tendencias en la reproducción	Temperatura (°C)			Tipo de vegetación
				MA [§]	MMF [¶]	MMC ^p	
<i>Littaea</i>	<i>Marginatae</i>	<i>A. lechuguilla</i>	Hijuelos y semilla	-3 a 22	> -3	s.l.e.	Matorral desértico rosetófilo
	<i>Striatae</i>	<i>A. striata</i>	Semilla y ramificaciones axilares	18 a 22	<18	s.l.e.	Matorral desértico rosetófilo
<i>Agave</i>	<i>Americanae</i>	<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>	Hijuelos y semilla	Diversas temperaturas debido a la dispersión humana			Hábitats "artificiales" por la distribución antropógena
	<i>Americanae</i>	<i>A. asperrima</i>	Hijuelos y semilla	12 a 18	-3 a 18	<18	Matorral submontano
	<i>Crenatae</i>	<i>A. cupreata</i>	Semilla	18 a 22	>18	s.l.e.	Bosque de pino y encino
	<i>Rigidae</i>	<i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> [‡]	Bulbillos e hijuelos	>18	<18	>22	Bosque tropical caducifolio y plantaciones
	<i>Salmianae</i>	<i>A. salmiana</i>	Hijuelos y semilla	12 a 22	-3 a 18	>18	Asociación de matorral desértico micrófilo y matorral crasicaule

^a Ramírez-Tobías *et al.* (2012). MA[§]: Temperatura media anual. MMF[¶]: Temperatura media del mes más frío. MMC^p: Temperatura media del mes más caliente. s.l.e.: Sin un límite especificado.

En ese momento, a estos tratamientos (humedad restringida) se les suspendió el riego totalmente. Para este estudio, el sustrato fue analizado en el laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos. Las constantes de humedad del sustrato fueron la capacidad de campo (C.C) 30 % y el punto de marchitamiento permanente (PMP) 12.6 %; su pH fue 7.6, su conductividad eléctrica 6.4 dS m^{-1} , y las concentraciones de N, P y K fueron 0.27 %, 198 mg kg^{-1} y $3.02 \text{ cmol kg}^{-1}$.

Determinación de la humedad del suelo

Debido a la imprecisión de las cámaras psicométricas para evaluar Ψ_A menores que -5 MPa, la humedad del suelo de las unidades experimentales se determinó en la zona radical de las plantas al momento de las evaluaciones en las plantas.

Se evaluaron 15 muestras, de 1 g de suelo, por tratamiento, seleccionadas al azar entre las unidades experimentales. Las muestras fueron deshidratadas a temperatura constante de 105°C en un horno de secado hasta alcanzar peso constante. Los datos fueron expresados como porcentaje del contenido de agua del suelo con la siguiente ecuación:

$$w = \frac{M_{ag}}{M_s} = \frac{M_{sh} - M_{ss}}{M_{ss}} = \left(\frac{M_{sh}}{M_{ss}} \right) 100$$

w = contenido de humedad (%)

M_{ag} = masa del agua

M_s = masa de los sólidos

M_{sh} = masa del suelo húmedo

M_{ss} = masa del suelo secado en estufa

Determinación de la firmeza

La firmeza se determinó en tres secciones equidistantes (base, centro y ápice) de la hoja, se tomaron tres mediciones de cada sección. Se usó un Texturómetro Universal (Sommer and Runge KG, modelo Sur Berlín, Berlín-Friedenau) que mide

la distancia de penetración de un puntal cónico de 117.33 g de peso, 1.2 mm de diámetro y con caída libre por un intervalo de 4 s desde la inmediación superior de la hoja. Los resultados se expresaron como la distancia de penetración del puntal en mm a través del tejido foliar.

Determinación del contenido de sólidos solubles totales

El contenido de SST (°Brix) se evaluó en la base, centro y ápice de las hojas. De cada sección se tomaron tres muestras con un sacabocado de 1.5 cm de diámetro, cada una se envolvió en papel aluminio y se mantuvo en bolsa de polietileno a -4 °C por 24 h, después se introdujo el tejido en una jeringa hipodérmica, se permitió su descongelación y el émbolo se presionó para obtener la savia a temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Una alícuota de savia (0.3 mL aproximadamente) se colocó sobre el sensor de un refractómetro digital (Atago PAL-1) y se tomó la lectura.

Determinación del potencial osmótico de tejido total, parénquima y clorénquima

El ψ_s del tejido total, del parénquima y del clorénquima se evaluaron en cinco secciones equidistantes, entre la base y el ápice de la hoja, extraídas con un sacabocados de 1 cm de diámetro. El clorénquima, tejido exterior (mesofilo de la hoja) debajo de la epidermis con casi la totalidad de células con cloroplastos, fue separado manualmente, con ayuda de un bisturí, del parénquima. Las muestras se envolvieron en papel aluminio y se mantuvieron en un congelador a -4 °C por 24 h; después, se introdujeron en jeringas hipodérmicas, se dejaron descongelar a temperatura del laboratorio ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) y se presionó al émbolo para obtener la savia; 10 μL del extracto celular se recolectaron con una micropipeta (Biopette autoclavable), se colocaron sobre un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro y el ψ_s se cuantificó con un osmómetro de presión de vapor (Wescor 5520, EE.UU.).

5.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con nueve repeticiones. La unidad experimental estuvo representada por una maceta (con tres plantas, salvo alguna excepción con una o dos plantas) y se evaluaron 14 tratamientos representados por las siete especies de magueyes y las dos condiciones de humedad del suelo (riego semanal y su suspensión por 8 meses). Las variables evaluadas fueron la firmeza, el contenido de SST y el ψ_s del tejido total, parénquima y clorénquima de las hojas. Los datos fueron sujetos a ANDEVA y comparaciones múltiples de medias, con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Las comparaciones entre las especies se hicieron con los promedios de las tres o cinco secciones evaluadas a lo largo de la hoja. Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS V9.

5.5 Resultados y discusión

La humedad del suelo después del riego fue de 30 % y después de 1 año y 8 meses de la suspensión del riego la humedad alcanzó 3 %.

5.5.1 Firmeza

La firmeza en tres zonas de la hoja permitió conocer su variación a largo de ésta; pues, con excepción de *A. striata*, esta característica varió ($P \leq 0.05$) con tendencias diferentes entre los subgéneros, las especies y las condiciones de riego (Figura 5.1).

Aunque la firmeza de *A. striata*, del subgénero *Littaea*, no varió ($P > 0.05$) a lo largo de la hoja en cada condición de hidratación del substrato, su valor fue 68 % mayor en la zona del ápice por la falta de agua en el suelo, respecto a la condición con riego. Además, en las condiciones del estudio las hojas de esta especie presentaron la firmeza menor de todo el grupo y también tuvieron las longitudes menores (Figura 5.1 A). Aunque *A. lechuguilla* pertenece al mismo subgénero que *A. striata*, el contraste fue notable entre las dos especies; ya que las hojas de aquella fueron cerca de 10 cm más largas (44 %), su firmeza fue

varias veces mayor y la ausencia de riego generó un gradiente creciente a lo largo de la hoja. En la zona central y del ápice foliar en las plantas de *A. lechuguilla* con riego la firmeza fue en promedio 31 % mayor que en la base y la suspensión del riego la incrementó sólo en la base y centro de la hoja (Figura 5.1 A).

Entre las especies del subgénero *Agave* la firmeza fue heterogénea; ya que incrementó ($P \leq 0.05$) linealmente a lo largo de la hoja de *A. americana* (17 y 45 %) independientemente de la condición de humedad, en *A. aspérrima* (17 %) sólo con el riego y en *A. salmiana* (29 %) sin él. También *A. americana* se diferenció de las otras especies por la longitud mayor de sus hojas, que en promedio alcanzaron 35 cm (Figura 5.1 B-C). En las hojas de *A. cupreata* el riego y su suspensión disminuyeron la firmeza de la base al ápice, con tendencia no lineal (5 y 16 %) y en *A. angustifolia* aunque también disminuyó la firmeza del ápice respecto a la base, la zona central de la hoja fue mayor que en los extremos, por lo que el cambio a lo largo de la hoja tuvo tendencia curvilínea (Figura 5.1 B-C).

Entre las estructuras foliares que pueden afectar la firmeza y resistencia a la rotura del tejido está la cutícula; su grosor es una de las características que le confieren parte de esa resistencia (Domínguez *et al.*, 2011). Los resultados (Figura 5.1) mostraron indirectamente que el grosor (y ultraestructura) de la cutícula de las hojas de plantas de maguey en desarrollo es heterogéneo en la mayoría de las especies estudiadas, que parece aumentar con la restricción de humedad en el suelo y que el incremento no es similar a lo largo de la hoja, ni entre las especies. Sin embargo, además de la estructura también pudo haber diferencias en la composición (Tafolla-Arellano *et al.*, 2013).

Una de las funciones más importantes de la cutícula es actuar como barrera que reduce la pérdida de agua y difusión de gases (Chassot y Métraux, 2005; Tafolla-Arellano *et al.*, 2013). Los análisis reológicos indican que la cutícula es principalmente un material viscoelástico y de endurecimiento que solidifica la pared celular de la epidermis. La rigidez de la cutícula se puede atribuir principalmente a los polisacáridos y flavonoides, mientras que la matriz de la cutina es principalmente responsable de su elasticidad. Así, los flavonoides

refuerzan la propiedad elástica de la fracción del polisacárido y, junto con las ceras, desempeñan un papel como material de relleno, ya que ambos parecen reducir la movilidad de la matriz de la cutina y actúan como compuestos que aumentan la rigidez de la cutícula (Domínguez *et al.*, 2011).

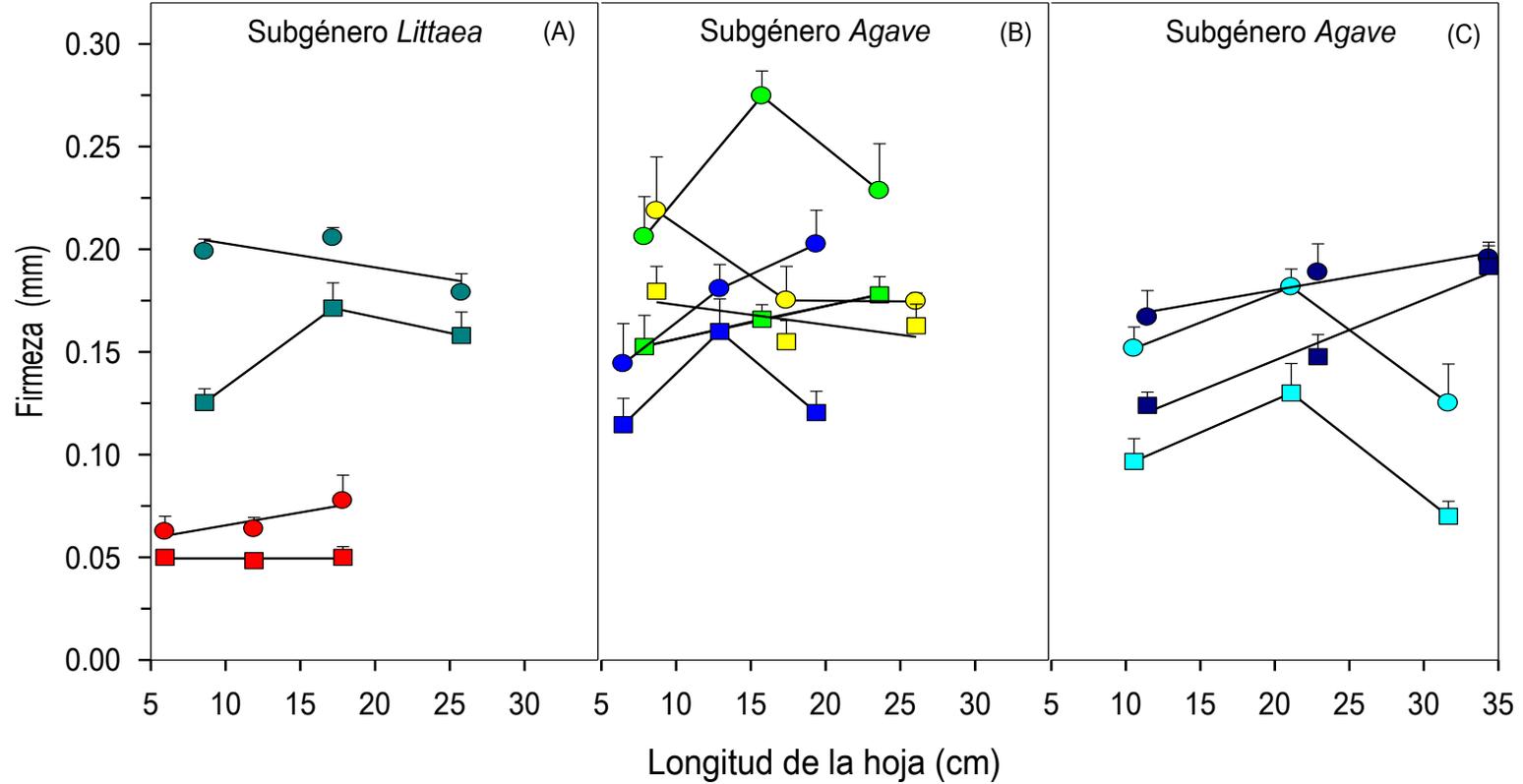


Figura 5.1. Firmeza promedio de la base al ápice (+ e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (cuadros) o su suspensión durante 1 año y 8 meses (círculos), en condiciones de invernadero. (A) *A. striata* (■, ●), *A. lechuguilla* (■, ●), (B) *A. salmiana* (■, ●), *A. asperrima* (■, ●), *A. cupreata* (■, ●), y (C) *A. angustifolia* (■, ●) y *A. americana* (■, ●). La firmeza en mm es la distancia de penetración de un puntal cónico de 117.33 g de peso, 1.2 mm de diámetro y con caída libre por un intervalo de 4 s desde la inmediación superior de la hoja (n=3, P≤0.05).

El promedio de la firmeza de las tres zonas foliares se usó para comparar las especies. Se observó un gradiente entre las especies, en ambas condiciones de humedad en el suelo, independiente del subgénero. Con riego *A. striata* tuvo la firmeza menor (0.049 mm) y *A. aspérrima* y *A. cupreata* los valores mayores (0.188 mm en promedio). Con la ausencia de riego la tendencia fue parcialmente similar, ya que *A. striata* mantuvo el valor menor (0.068 mm) y *A. aspérrima* el mayor (0.249 mm); en esta condición, la firmeza incremento en comparación con la condición de riego, variando entre las especies, desde 9 % en *A. cupreata* hasta 35 % en *A. angustifolia* (Figura 5.2).

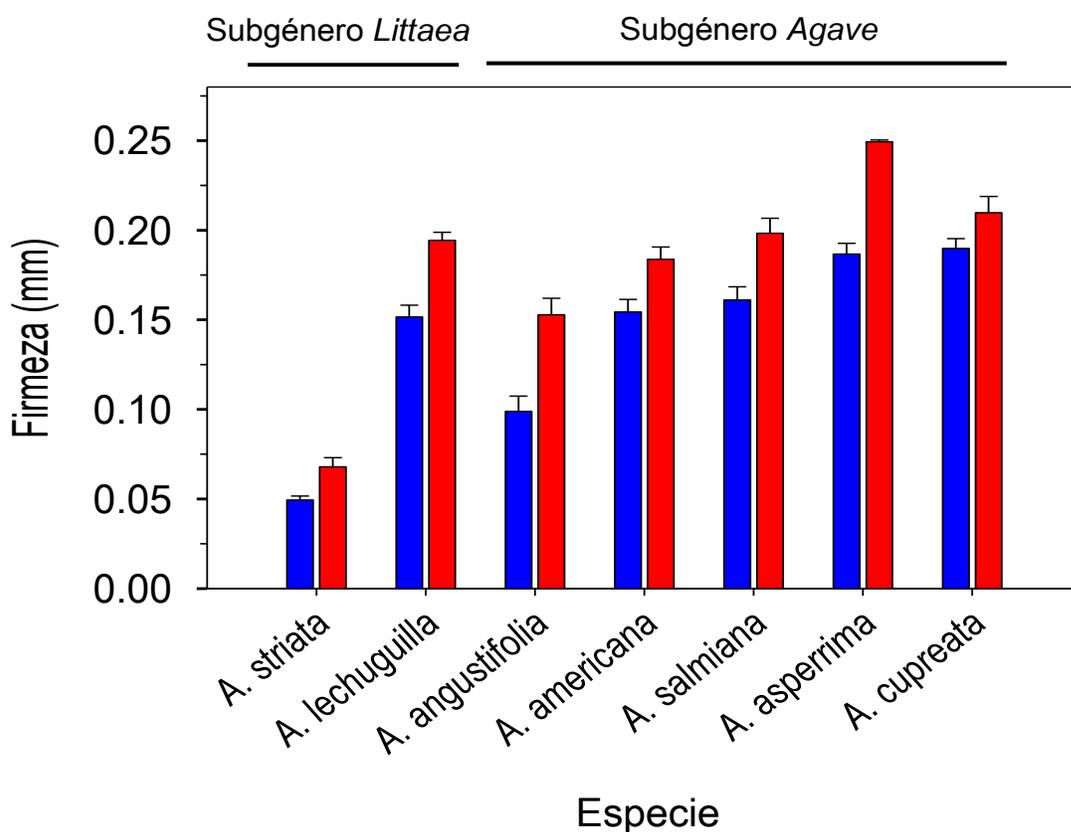


Figura 5.2. Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en la firmeza promedio (+ e.e) de las hojas de *Agave* spp. La firmeza en mm es la distancia de penetración de un puntal cónico de 117.33 g de peso, 1.2 mm de diámetro y con caída libre por un intervalo de 4 s desde la inmediación superior de la hoja ($P \leq 0.05$). Cada barra es el promedio de tres secciones entre la base y el ápice foliar ($n = 9$).

La firmeza foliar mayor de las plantas sin riego puede deberse a modificaciones de la composición de los tejidos. Al respecto, García *et al.* (2010) documentaron que las hojas de las plantas de *A. angustifolia*, de ocho años de edad de tres regiones diferentes de Oaxaca, presentaron un contenido de humedad en la hoja de 79, 82 y 83.25 % respectivamente, obteniéndose que las diferencias en la humedad de las hojas podría ser una razón por la cual la resistencia a la compresión de las hojas fue mayor para la región 1, presentando una mayor rigidez en la cutícula de la hoja, debido a que la celulosa se deshidrató y cristalizó, las hemicelulosas formaron un material notablemente rígido, y esto ocasionó que la resistencia a la punción fuera mayor (Aguilar *et al.*, 1999). En contraste, con la humedad de 83.25 % los polisacáridos se hidratan, se hinchan y se ablandan, la viscosidad de la cutícula aumenta, su apariencia macroscópica se modifica y la firmeza de la hoja disminuye (Domínguez *et al.*, 2011).

Además de la humedad, otros factores que afectan las características mecánicas de los tejidos vegetales son el estado de madurez y el contenido de fibra. La textura de los tejidos está relacionada con la composición química y estructura de las paredes celulares del parénquima. Las microfibrillas cristalinas de celulosa, que constituyen 35 % del residuo seco, las hemicelulosas, pectinas y lignina son responsables de la firmeza del vegetal; las fibrillas están presentes en las paredes celulares de los tejidos encargados del soporte y la protección. Además, condiciones estándar, la turgencia, característica responsable de la firmeza y succulencia de los vegetales, depende del agua que puede constituir hasta el 96 % del peso del tejido (Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007).

5.5.2 Sólidos solubles totales

El contenido de SST a lo largo de la hoja permitió conocer la variabilidad entre las especies y los subgéneros. Se observó que, con excepción de un par de especies, el contenido de SST incrementó ($P \leq 0.05$) en proporciones variables de la base al ápice de las hojas entre los subgéneros, las especies y las condiciones de riego (Figura 5.3).

En el subgénero *Littaea*, el contenido de SST en las especies *A. striata* y *A. lechuguilla* incrementó ($P \leq 0.05$) a lo largo de la hoja, aunque las diferencias en su longitud sean cercanas a 20 cm; con el riego estas especies presentaron 46 y 59 % de diferencia entre la base y ápice, y sin riego la diferencia disminuyó a 17 y 20 %. Sin embargo, en promedio la restricción de humedad propició el incremento de 14 y 36 % del contenido de SST en *A. striata* y *A. lechuguilla* con respecto a la condición con riego (Figura 5.3 A).

Entre las especies del subgénero *Agave* hubo heterogeneidad del contenido de SST a lo largo de las hojas; *A. cupreata* no mostró diferencias ($P > 0.05$) a lo largo de la hoja en ninguna de las dos condiciones de humedad en el suelo, aunque con humedad restringida se presentaron valores en el ápice 23 % mayores que la base de la hoja no fueron significativos (Figura 5.3 B). En contraste, en *A. salmiana* y *A. aspérrima* el incremento ($P \leq 0.05$) lineal de la base al ápice representó 46 y 28 % y 42 y 28 % con y sin riego (Figura 5.3 B). En *A. angustifolia* el contenido de SST incremento 32 % a lo largo de la hoja únicamente con riego; en contraste, la suspensión del riego disminuyó 22 % los SST de la base con respecto a la región central y al ápice (Figura 5.3 C). En *A. americana* esta variable fue menor en el centro de la hoja con el riego o su suspensión (Figura 5.3 C).

En cuatro de las siete especies (*A. striata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. aspérrima*) la suspensión del riego propició el incremento promedio a lo largo de las hojas del contenido de SST, en dos (*A. cupreata* y *A. americana*) no modificó esta variable y sólo en una (*A. angustifolia*) la disminuyó.

Los SST representan la concentración de azúcares y otras moléculas diversas solubles en la savia de los tejidos vegetales, como ácidos orgánicos, aminoácidos, péptidos, y otras sustancias solubles numerosas, pero los azúcares son generalmente los más abundantes, siendo los fructanos los principales carbohidratos que se encuentran en la cabeza o piña (parte central de la planta, formada por el tallo) (Iñiguez, 2001) de varias especies de *Agave* en los rangos de 35 a 70 % de materia seca (Mancilla y López, 2006).

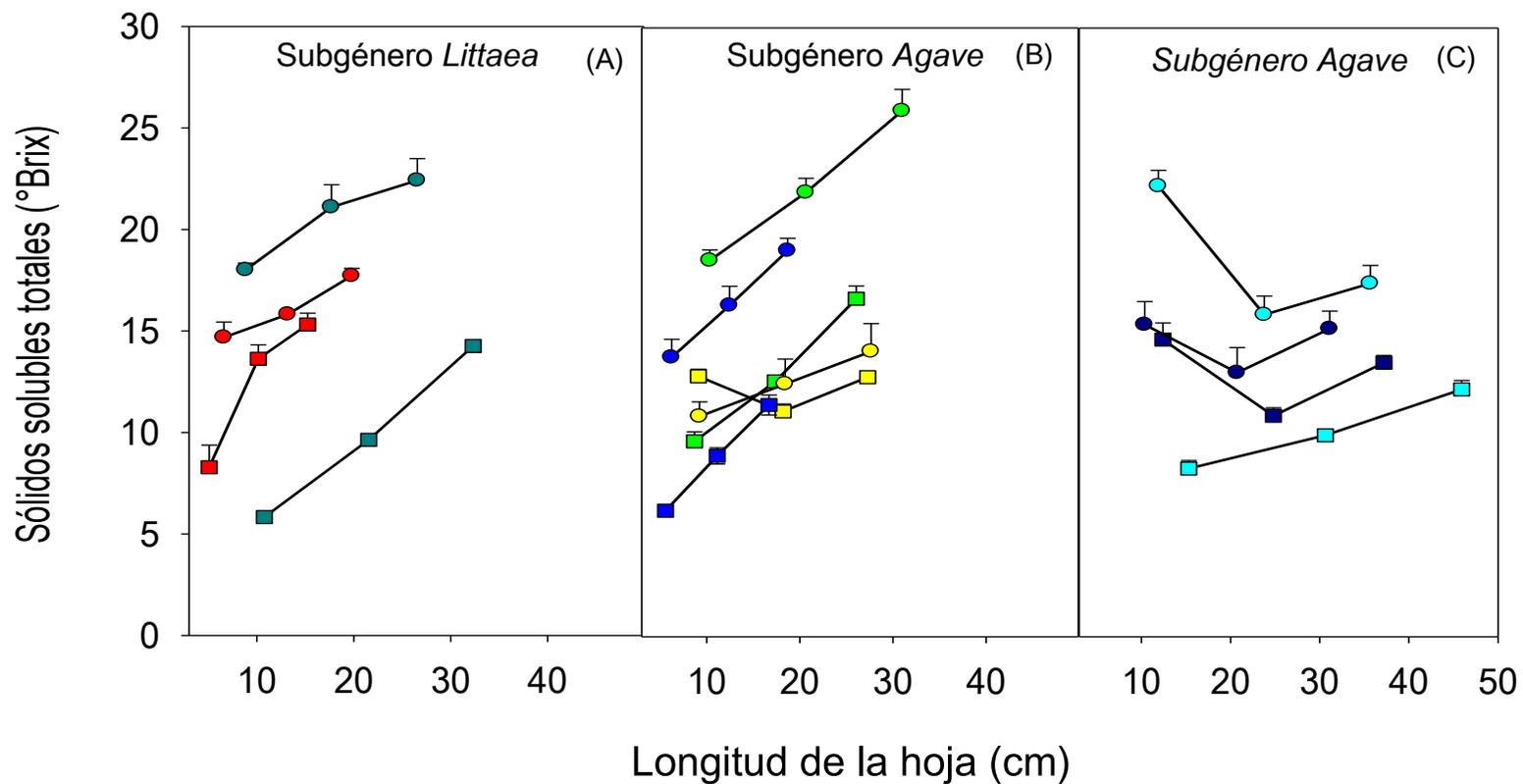


Figura 5.3. Sólidos solubles totales promedio de la base al ápice (+ e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (cuadros) o su suspensión durante un 1año y 8 meses (círculos), en condiciones de invernadero (n=9, P≤0.05). (A) *A. striata* (■, ●), *A. lechuguilla* (■, ●), (B) *A. salmiana* (■, ●), *A. aspérrima* (■, ●), *A. cupreata* (■, ●), y (C) *A. angustifolia* (■, ●) y *A. americana* (■, ●).

Montañes-Soto *et al.* (2011) determinaron que la concentración mayor de azúcares en hojas de diez plantas de *A. tequilana* Azul, de entre 8 y 10 años de edad, correspondió a los azúcares reductores directos y que no hubo diferencia de la cantidad de ellos entre el ápice (17.81 % base seca: bs) y la base (18.18 % bs), en contraste el contenido de azúcares reductores totales en la base representó el doble (56.36 %) que en el ápice (26.3 %). Estas diferencias en el contenido de azúcares a lo largo de la hoja entre estos dos estudios se debe, además del estrés hídrico a la que fueron sometidas las plantas, posiblemente a la especie, edad de la planta, factores ambientales (alta densidad de luz, fotoperiodo y temperatura) y genéticos (López *et al.*, 2003, González, *et al.*, 2004, Vera *et al.*, 2009).

La “cabeza” representa la fracción mayor de la biomasa húmeda total de la planta de maguey y almacena cantidades altas de azúcares reductores totales. Sin embargo, las hojas constituyen residuos del cultivo que no se utilizan, entre ellas, la base de las hojas maduras, que constituyen la segunda fracción con mayor aportación a la biomasa total del cultivo, presentando contenidos de carbohidratos que equivalen al 68.6 % de los de la cabeza. Debido a la composición química y el perfil de carbohidratos de este material podría utilizarse para obtener productos diversos, como jarabe de fructosa, fructosa cristalina, edulcorantes (fructooligosacaridos e inulina) y como materia prima para la obtención de subproductos, como etanol, ácido cítrico, sorbitol o ácido glucónico (Montañes-Soto *et al.*, 2011, Rendón-Salcido, 2007). Los resultados del presente estudio indican que las hojas de las plantas jóvenes de maguey podrían utilizarse como materia prima en la obtención de estos productos.

El contenido de SST en la hoja varió ($P \leq 0.05$) ampliamente dentro de ambos subgéneros, entre ellos y en ambas condiciones de humedad. En el subgénero *Littaea* con el riego *A. striata* acumuló 25 % más SST que *A. lechuguilla*; en contraste, con la suspensión de riego la última acumuló 31 % más SST que *A. striata*, pero ambas especies incrementaron, significativamente el contenido de SST. En este caso sobresalió *A. lechuguilla* porque duplicó el valor.

También en el subgénero *Agave* las diferencias del contenido de SST entre las especies fueron menores con el riego que sin él y con excepción de *A. cupreata*, la disminución en la disponibilidad de humedad propició la acumulación significativa de SST en las especies. Con riego *A. salmiana* tuvo el valor menor y *A. cupreata*, *A. americana* y *A. asperrima* acumularon las cantidades mayores de SST. La reacción a la disminución de humedad disponible fue diferente entre las especies y la acumulación de SST fue notablemente variable en el subgénero *Agave*; en *A. americana* representó 24 % del contenido con riego y en *A. asperrima* y *A. angustifolia* alcanzó 73 y 81 %. Además, en este subgénero *A. salmiana* sobresalió porque el incremento fue más del doble (Figura 5.4).

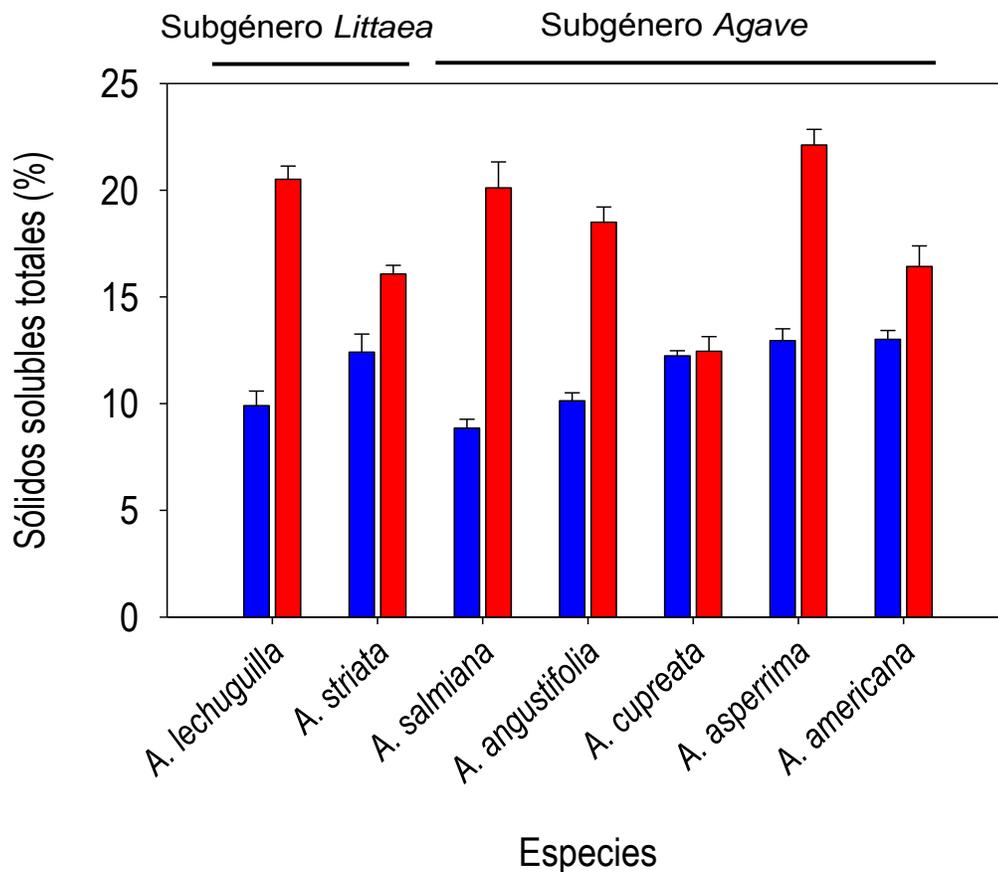


Figura 5.4. Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en el contenido de sólidos solubles totales promedio (+e.e) de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de tres secciones entre la base y el ápice foliar (n=27, $P \leq 0.05$).

Martínez *et al.* (2012), realizaron un estudio con *A. potatorum* Zucc., observaron que la fertilización con 50 kg de N ha⁻¹ y la falta de riego en plantas de 5 años de edad, elevaron el contenido de SST en las hojas y promovió el alargamiento en altura de las plantas, aunque el crecimiento foliar se vio reducido, mientras que para plantas jóvenes de 2 y 3 años ocurrió lo contrario. Bautista *et al.* (2001) observaron que el contenido de SST de las cabezas de las plantas de *A. tequilana* cultivadas en ambientes diferentes, en los estados de Guanajuato y en Jalisco, no fueron significativamente diferentes. Los resultados de estos autores coinciden con los del presente estudio, pues confirmaron que en la época seca los magueyes acumularon en las cabezas cantidades altas de SST, entre 22 y 27 °Brix de agosto a diciembre de 1998 y de 25 a 31 °Brix entre enero y mayo del 2000. Las hojas de las plantas jóvenes de *A. lechuguilla*, *A. angustifolia*, *A. salmiana* y *A. aspérrima* del presente estudio tuvieron contenido de SST igual o mayor que el de la cabeza del henequén (*A. fourcroydes*) de 8 y 19 años (11.7 y 15.2 °Brix), incluso las cosechadas durante la época de seca, en primavera (17.4 °Brix) (Rendón-Salcido *et al.* (2009)).

La acumulación de SST en la cabeza y las hojas de las plantas de maguey en épocas secas se debe al efecto de la concentración de algunos compuestos, como los azúcares (Bautista-Justo *et al.*, 2003); así, tanto la humedad como la temperatura del ambiente modifican directamente la succulencia y riqueza de reservas de la planta (Godínez, 2012). Estos cambios en los vegetales además de relacionarse con el incremento de la concentración de solutos por efecto de la deshidratación celular también resultan de la acumulación celular activa de ellos, ya que permiten mantener el potencial de turgencia positivo en los tejidos (Huang, 2006). La acumulación de solutos ha sido asociada con el mantenimiento de la integridad y funcionalidad de las membranas celulares, estructuras de las proteínas y disminución de los daños oxidativos. La acumulación de solutos en la raíz de las plantas durante el ajuste osmótico se correlaciona con la tolerancia al estrés por déficit de humedad en numerosas especies (Huang, 2006).

5.5.3 Potencial osmótico

Potencial osmótico del tejido total

El ψ_s cambió ($P \leq 0.05$) a lo largo de la hoja de maguey únicamente en algunas especies. En el subgénero *Littaea*, los cambios de ψ_s a lo largo de la hoja de *A. lechuguilla* tampoco fueron significativos con la suspensión del riego, pero con el riego los valores disminuyeron ($P \leq 0.05$) de la base al ápice (31 % en promedio). (Figura 5.5 A).

El ψ_s de las especies con las hojas más cortas (menores que 27 cm) del subgénero *Agave* disminuyó (entre 28 y 35 %) de la base al ápice foliar cuando se mantuvieron con riego. Con la suspensión de riego únicamente *A. aspérrima* mantuvo la caída (26 %) del ψ_s a lo largo de la hoja; en *A. cupreata* esta variable aumentó 12 % a lo largo de la hoja y en *A. salmiana* los cambios no fueron significativos (Figura 5.5 B).

El ψ_s de las especies con las hojas más largas (35 cm) del subgénero *Agave* disminuyó ($P \leq 0.05$) entre la base y el ápice cuando las plantas se mantuvieron con y sin riego (entre 15 y 37 %), pero las disminuciones fueron más pronunciadas con la ausencia de riego (Figura 5.5 C).

Sobresalió el hecho de que con riego el ψ_s disminuyó de la base al ápice foliar en *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. aspérrima* y que, por el contrario el contenido de SST aumentara (Figura 5.3 A-B y 5.5 A-B). Los gradientes del ψ_s a lo largo de la hoja podrían estar parcialmente relacionados con el contenido de agua, el ψ_A y la cantidad y tipo de solutos foliares, que pueden variar en proporciones variables a lo largo de la hoja. Los mismos factores pudieron haber intervenido en la caída de ψ_s a lo largo de las hojas de las plantas sin riego; ya que, en general, la disminución de la humedad del suelo incrementa la acumulación de solutos celulares, que permite el mantenimiento de la absorción del agua y de la presión de la turgencia celular, todo esto se relaciona con el decremento del ψ_s de las células. Al respecto, se ha demostrado que la acumulación de solutos es un mecanismo fisiológico que permite la disminución del daño celular y la deshidratación de las células (Xu *et al.*, 2002). La intensidad de estas reacciones pueden constituir una adaptación de las plantas MAC, que contribuye a su

resistencia aparente a la sequía durante periodos de extrema desecación, minimiza la foto-inhibición y mantiene a la planta en un estado metabólicamente activo en esos períodos y podría incrementar su tolerancia y, por lo tanto, su tasa de supervivencia (Nowak y Martín, 1997).

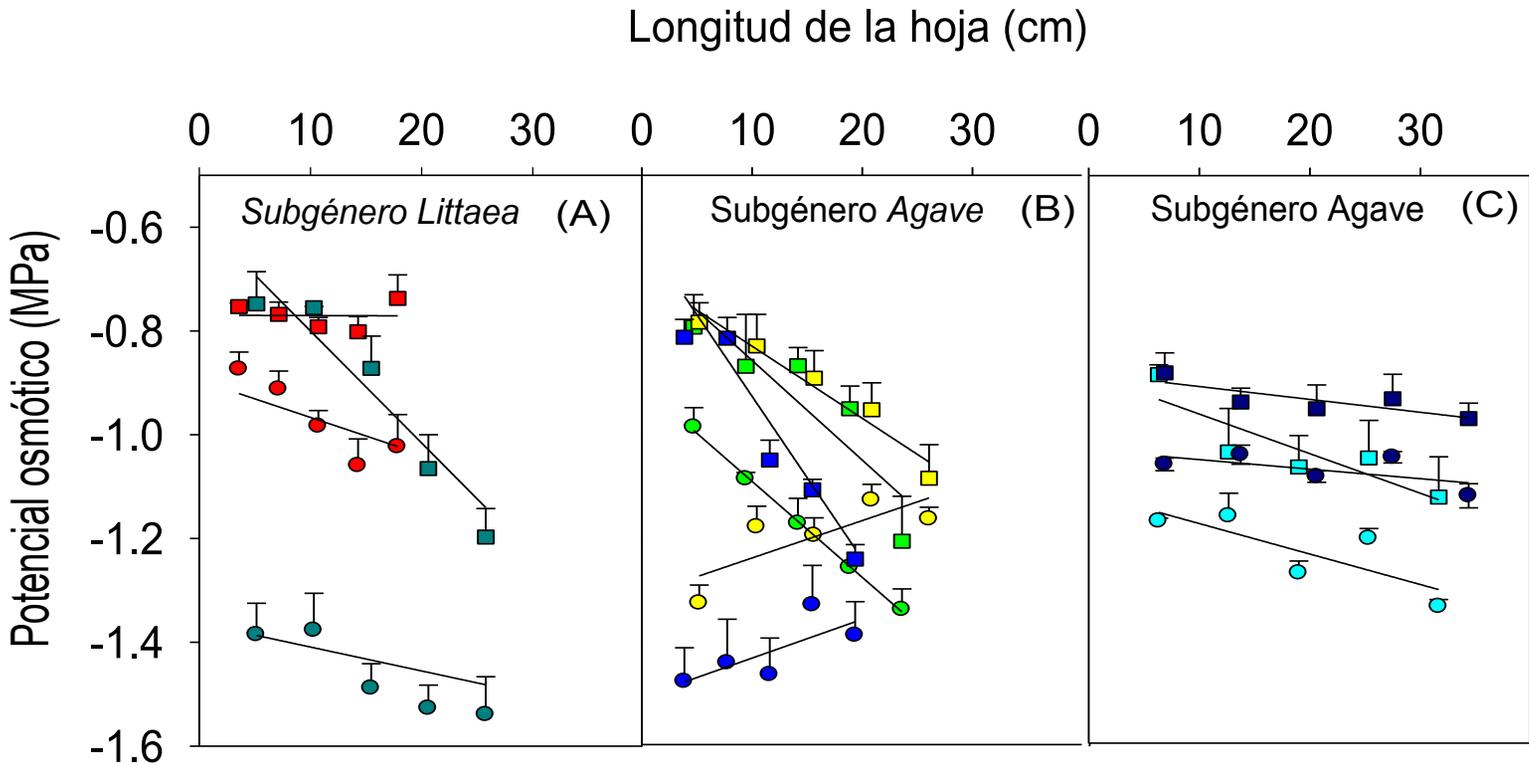


Figura 5.5. Potencial osmótico total promedio de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (cuadros) o su suspensión durante 1 año y 8 meses (círculos), en condiciones de invernadero (n=3, P≤0.05). (A) *Agave striata* (■, ●), *A. lechuguilla* (■, ●), (B) *A. salmiana* (■, ●), *A. aspérrima* (■, ●), *A. cupreata* (■, ●), (C) *A. angustifolia* (■, ●) y *A. americana* (■, ●).

En el subgénero *Littaea*, el ψ_s fue menor ($P \leq 0.05$) en *A. lechuguilla* respecto a *A. striata* en ambas condiciones de humedad y en las dos especies el ψ_s disminuyó ($P \leq 0.05$), entre 21 y 36 %, con la ausencia de riego (Figura 5.6).

En el subgénero *Agave*, el ψ_s no fue diferente ($P > 0.05$) entre las especies con riego, con la suspensión del riego disminuyó en las cinco especies, desde -1.07 hasta -1.42 MPa en *A. americana* y *A. salmiana* (Figura 5.6).

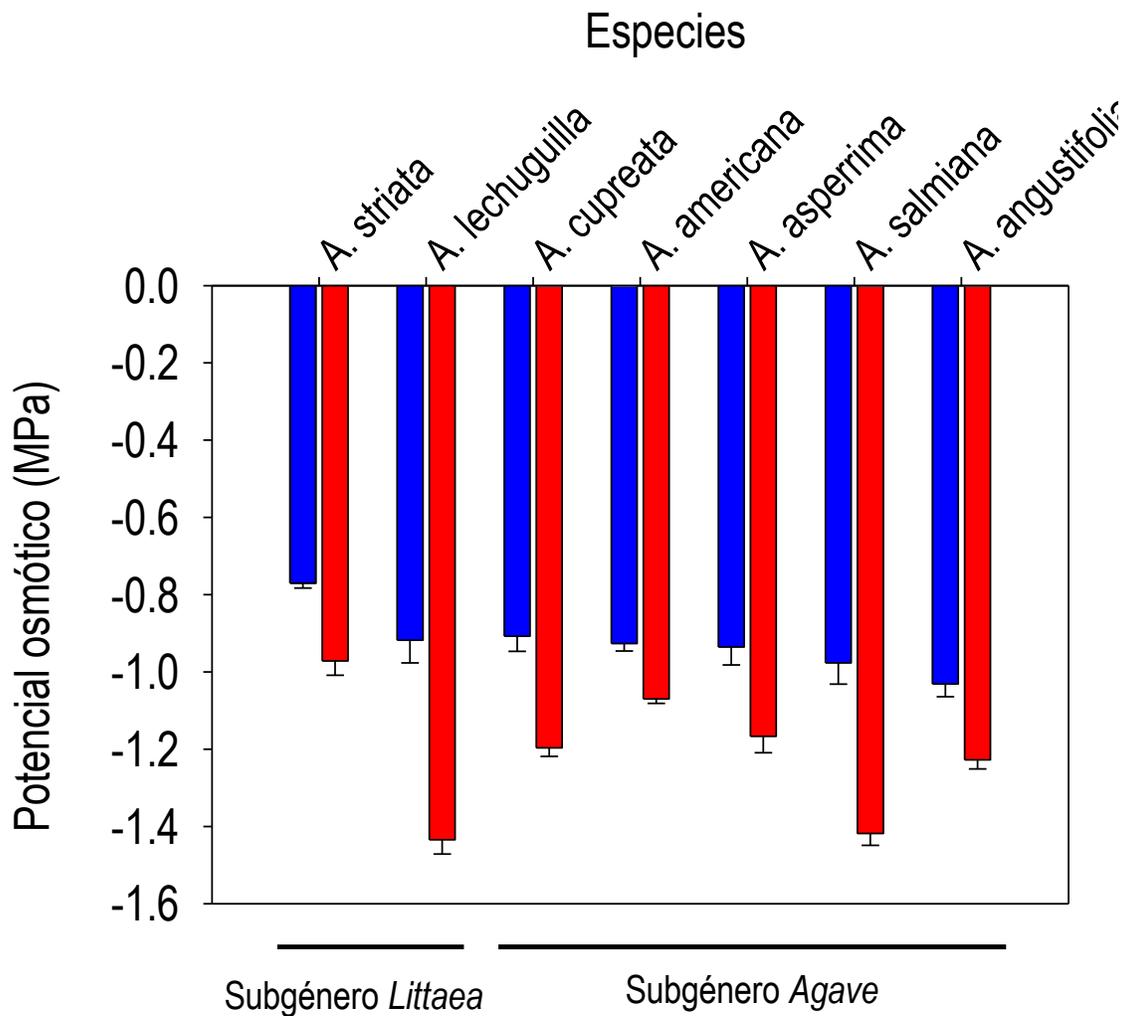


Figura 5.6. Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en el potencial osmótico total promedio (-e.e) de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar ($n=15$, $P \leq 0.05$).

Las diferencias mayores del ψ_s se detectaron con la suspensión del riego entre las siete especies. *A. lechuguilla* y *A. salmiana* presentaron los ψ_s menores, y aunque en la misma condición *A. aspérrima*, *A. angustifolia* y *A. cupreata* presentaron ψ_s similares (Figura 5.6), los resultados muestran que el ψ_s fue diferente entre las especies cuando la restricción de la humedad fue prolongada. Los ψ_s bajos están relacionados con la acumulación mayor de solutos en el citoplasma, como la prolina (Ramírez-Tobías *et al.*, 2013) y la osmoprotección de macromoléculas, como las proteínas, y de los sistemas de membrana celulares (Hare *et al.*, 1998; Moreno, 2009). Así, la resistencia de estas plantas a la sequía puede deberse a los cambios del ψ_s , y otros, como la disminución del área y de la acumulación de biomasa foliar e incremento de la asignación de biomasa a la raíz, un número reducido de estomas y hojas gruesas (Liu *et al.*, 2003; Ramírez-Tobías *et al.*, 2013). Además de estas características las plantas de *Agave* presentan adaptaciones que favorecen su éxito en ambientes áridos y semiáridos durante periodos prolongados de sequía, como la succulencia y turgencia en el tejido fotosintético, la apertura estomatal e incorporación nocturna de CO₂ (Nobel *et al.*, 2002).

Potencial osmótico del parénquima

Debido a las diferencias en la reacción a la suspensión del riego de las especies de *Agave* y a las funciones contrastantes del parénquima (responsable de almacenar agua en las vacuolas) y el clorénquima (responsable de la fotosíntesis), el ψ_s de estos tejidos separados fue evaluado en cinco secciones entre la base y el ápice de la hoja. Los resultados permitirán conocer algunas diferencias y similitudes de los tejidos, a lo largo de la hoja, para amortiguar la disminución del suministro de humedad. Después de 1 año y 8 meses sin riego en las plantas, las hojas de *A. striata* disminuyeron notablemente su succulencia y no se obtuvo suficiente savia de los tejidos separados para determinar su ψ_s . Por ello, del subgénero *Littaea* únicamente se presentan los resultados de *A. lechuguilla*. En esta especie el ψ_s del parénquima disminuyó ($P \leq 0.05$) linealmente desde la base hasta el ápice de la hoja en ambas condiciones de humedad; pero, sin riego el ψ_s de parénquima fue 47 % menor que con riego en el ápice de la hoja (Figura 5.7 A).

El ψ_s del parénquima de las especies del subgénero *Agave*, también disminuyó linealmente a lo largo de las hojas de las plantas en ambas condiciones de humedad, salvo dos excepciones, *A. salmiana* y *A. americana* sobresalieron porque además de presentar las hojas más cortas (20 cm) y más largas (35 cm) del subgénero, con riego en la primera el ψ_s del parénquima del ápice fue el doble que en la base y la falta de riego eliminó las diferencias ($P \leq 0.05$); en contraste, con riego y sin él las diferencias ($P \leq 0.05$) del ψ_s del parénquima de *A. americana* entre la base y el ápice foliar fueron las menores (entre 23 y 6 %) y en *A. angustifolia* la suspensión del riego disminuyó ($P \leq 0.05$) drásticamente el ψ_s del parénquima en un 52 % en comparación con el riego (Figura 5.7 C). Este efecto de la deshidratación del suelo en la disminución del ψ_s del parénquima se presentó en las seis especies y represento en promedio 40 % respecto a condición de riego (Figura 5.7).

Entre las respuestas asociadas a la restricción de humedad está el decremento de la longitud y volumen celular y del ψ_A y ψ_s de los tejidos, en parte debido al aumento de la concentración de solutos disueltos en las células (Nobel, 2006; Kaul, 2009), como sucedió en los tejidos foliares de la mayoría de las especies de este estudio, (Figura 5.3); esto último, va acompañado de la disminución de la salida de agua de las células, lo que permite mantener la absorción de agua y la presión del turgor celular, que puede contribuir al sustento de los procesos fisiológicos, como la apertura de los estomas, fotosíntesis y mantenimiento del crecimiento celular (Serraj y Sinclair, 2002; Chaves *et al.*, 2003; Taiz y Zeiger, 2010).

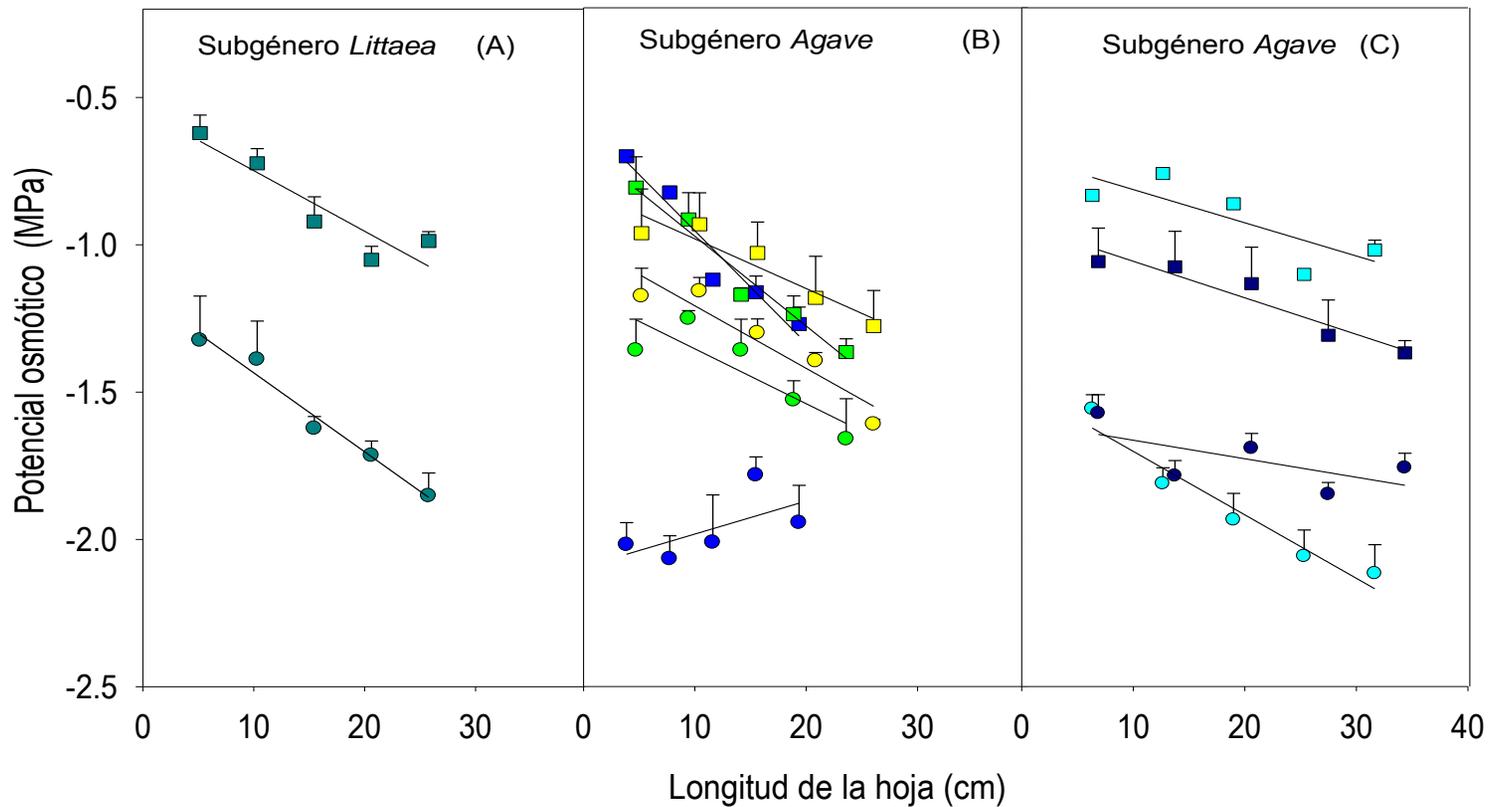


Figura 5.7. Potencial osmótico del parénquima de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (cuadros) o su suspensión (círculos) durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero ($n=3$, $P \leq 0.05$). (A) *A. lechuguilla* (■, ●), (B) *A. salmiana* (■, ●), *A. asperrima* (■, ●), *A. cupreata* (■, ●), (C) *A. angustifolia* (■, ●) y *A. americana* (■, ●).

El promedio del ψ_s del parénquima a lo largo de la hoja se usó para comparar las especies y su reacción a la disminución de humedad en el suelo. El tejido del parénquima de las plantas con riego de *A. lechuguilla*, del subgénero *Littaea* y de *A. angustifolia*, del subgénero *Agave*, tuvieron el ψ_s mayor (-0.89 MPa promedio) de las seis especies y el valor menor en la misma condición de humedad (-1.2 MPa) correspondió a *A. americana* (Figura 5.8).

La disminución de humedad en el suelo, disminuyó ($P \leq 0.05$) el ψ_s del parénquima de las seis especies, entre 0.25 MPa en *A. cupreata* y 1.0 MPa en *A. salmiana*. Las diferencias mayores del ψ_s del parénquima debidas a la dos condiciones de humedad del suelo las presentaron *A. lechuguilla*, *A. angustifolia* y *A. salmiana* (Figura 5.8). Estas diferencias entre las especies son parte de los ajustes fisiológicos que les permiten mantener las relaciones hídricas adecuadas durante la sequía (Nobel *et al.*, 2002) y mantener la actividad metabólica necesaria para continuar creciendo durante los períodos largos de sequía (Nowak y Martin, 1997). El ψ_s negativo del parénquima, con valores absolutos altos, es una adaptación de las plantas tolerantes a la sequía y es consecuencia de la caída del ψ_A del tejido (Martin *et al.*, 2011); el ajuste del potencial osmótico permite el mantenimiento del turgor de las células y evitan su plasmólisis. Una característica adaptativa de estas plantas es que prolongan el mantenimiento de la actividad fisiológica durante la sequía debido a que en el tejido del parénquima almacenan agua, característica identificada como la succulencia de sus hojas, que es típica de las plantas MAC (Pimienta *et al.*, 2006). El agua del parénquima que parece perderse durante la sequía es trasladada al tejido fotosintético (clorénquima), lo mantiene hidratado durante períodos largos de sequía (Lüttge, 2004; Nobel, 2006); aquél no desarrolla actividad fotosintética y no participa en las oscilaciones de los ácidos orgánicos, por lo que esta función se reconoce como protección del clorénquima cuando la disponibilidad del agua es limitada (Lüttge, 2008) y permite que las plantas continúen realizando la fotosíntesis y creciendo por varios meses en condiciones de estrés hídrico (Ramírez-Tobías *et al.*, 2013).

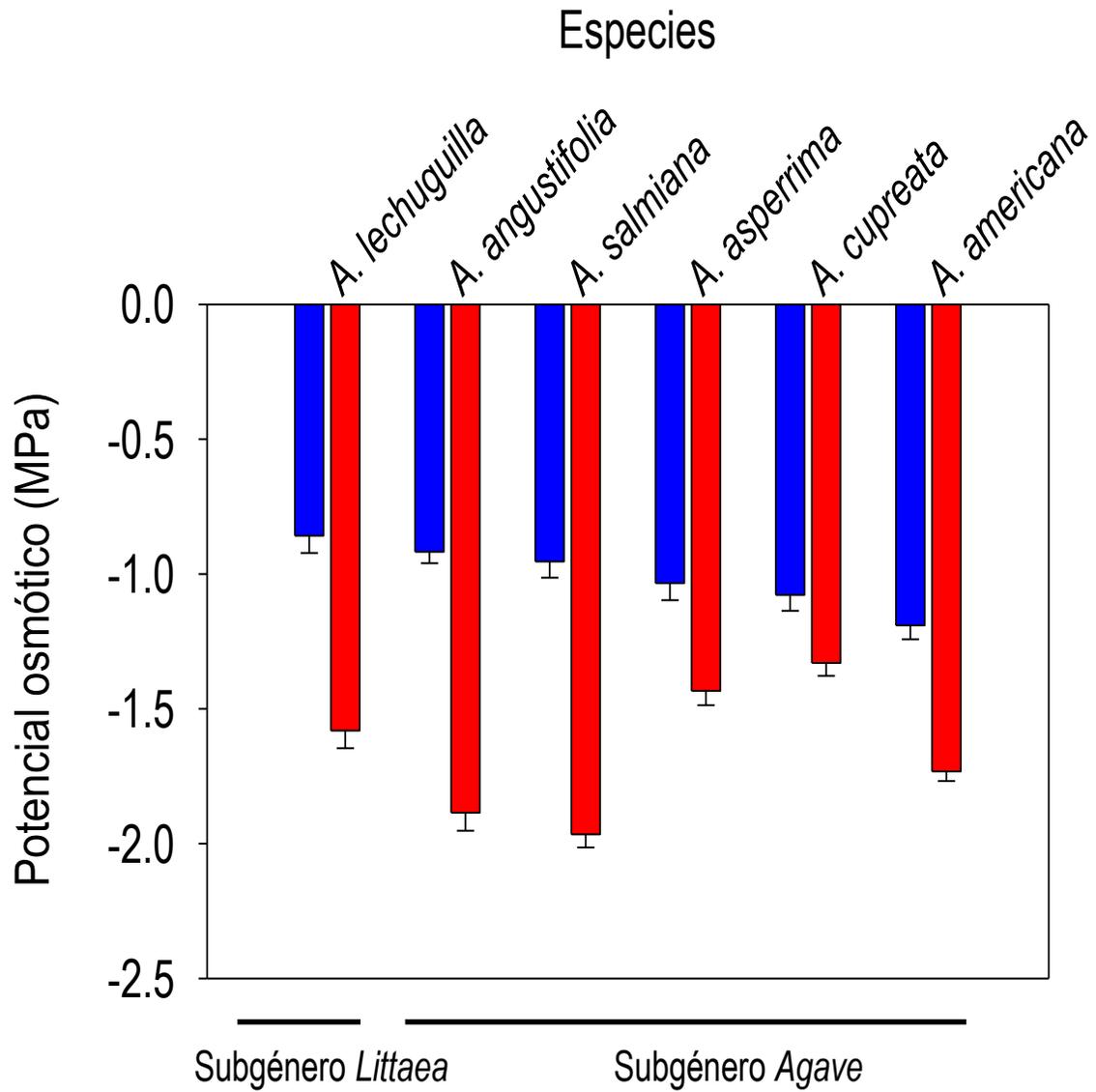


Figura 5.8. Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en el potencial osmótico promedio (-e.e) del parénquima de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar (n=15, P≤0.05).

Potencial osmótico de clorénquima

Con el riego, el ψ_s del clorénquima a lo largo de la hoja de *A. cupreata* se mantuvo sin cambio significativo, en las otras especies disminuyó linealmente de la base al ápice foliar, en proporciones variables, de 17 % en *A. lechuguilla* al triple en *A. angustifolia*. En general, la disminución de humedad del suelo mantuvo la caída del ψ_s del clorénquima de la base al ápice foliar entre las especies; la excepción fue *A. salmiana* que presentó valores menores en la base foliar (Figura 5.9 A-C).

El promedio del ψ_s del clorénquima de las cinco secciones de la hoja se usó para comparar las especies. El ψ_s del clorénquima de los subgéneros *Littaea* y *Agave* en el suelo hidratado fluctuó entre -0.96 MPa en *A. angustifolia* y -1.64 MPa en *A. americana*; estos valores contrastaron con los obtenidos en las hojas de las plantas mantenidas sin riego, pues en todas las especies el ψ_s del clorénquima incrementó y los valores fluctuaron entre -1.6 MPa en *A. asperrima* y -2.3 MPa en *A. cupreata* (Figura 5.10).

Las hojas de maguey, como otras suculentas, presentan un tejido externo fotosintéticamente activo, llamado clorénquima, en el que se llevan a cabo los aspectos típicos de la plantas MAC (Lüttge, 2008). Los resultados en las Figuras 5.7 a 5.10 indican que, en general, hay diferencias en el ψ_s del parénquima y el clorénquima de cada especie y entre las especies independientes de la condición de humedad en la que crezcan.

Esto último fue demostrado por Ramírez-Tobías *et al.* (2013), en siete especies de *Agave*, que incluían las seis del presente estudio. Esos investigadores demostraron que en condiciones similares a las del presente estudio después de 6 meses de suspensión de riego, con ψ_A del suelo de -3.5 MPa, se inhibió la acumulación de biomasa en todas las especies pero el crecimiento, evaluado como número de hojas y cobertura de la planta se mantuvo en *A. lechuguilla*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana*, *A. duranguensis* y *A. salmiana*, que son las especies más adaptadas a la aridez o con límites de tolerancia

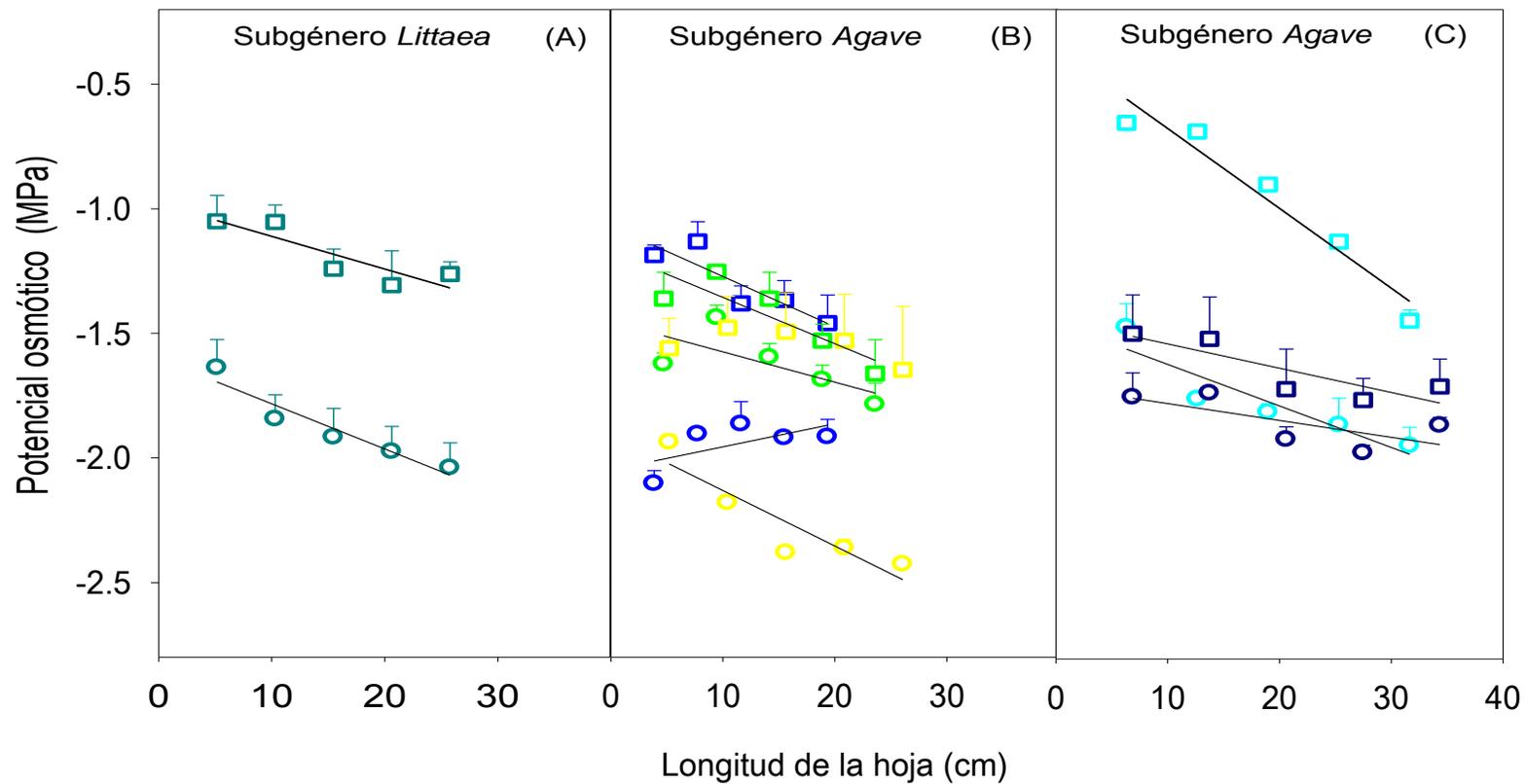


Figura 5.9. Potencial osmótico del tejido de clorénquima de la base al ápice (- e.e.) de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (cuadros) o su suspensión (círculos) durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero (n=3, P≤0.05). (A) *A. lechuguilla* (□, ○), (B) *A. salmiana* (□, ○), *A. aspérrima* (□, ○), *A. cupreata* (□, ○), (C) *A. angustifolia* (□, ○) y *A. americana* (□, ○).

ambiental más amplios; además, la restricción de humedad promovió la asignación mayor de biomasa a la raíz a expensas de las hojas de *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. aspérrima*, *A. cupreata* y *A. angustifolia*, presentando diferencias estadísticas debidas a la condición de humedad del suelo. Las plantas MAC que crecen en condiciones de humedad limitada en el suelo, movilizan internamente el agua entre el clorénquima y el parénquima, esto ocurre en periodos de 24 h; por esto la presión osmótica en el clorénquima oscila durante la noche, con la fijación de CO₂ y acumulación de ácido málico, y en el día, con los cambios de los polímeros (Nobel, 2006); el potencial osmótico de la hoja está relacionado con la interacción de la concentración del ácido málico, de los solutos, del ψ_A del tejido y del suelo, además de las variaciones en la irradiación y la temperatura (Nobel, 1984). Los resultados del presente estudio indican que todos o algunos de estos parámetros se modifican parcialmente a lo largo de la hoja de la mayoría de las especies de *Agave*.

La pérdida de agua por los tejidos vegetales pueden influir en el metabolismo de la planta por disminución del ψ_A del tejido, de la turgencia, del ψ_s , por incremento de la concentración de ciertos compuestos, alteración de la organización y composición del plasmalema, tonoplasto y membranas de orgánulos (Sánchez-Días y Aguirre olea, 2000). Nobel 2006 determinó que *Hylocereus undatus* después de 6 semanas sin riego, presentó decremento de la longitud y volumen celular e incrementó la concentración de los solutos. Schulte *et al.* (1989) demostraron que en el tallo de la suculenta *Ferocactus acanthodes* el potencial de turgencia en el clorénquima dependió de la presión osmótica y que la absorción de agua del suelo fue sólo ligeramente afectada por cambios de la presión osmótica en el clorénquima. En esta suculenta, el movimiento del agua desde el clorénquima al xilema y la redistribución interna del agua entre los tejidos del tallo se presentaron por los cambios nocturnos en la presión osmótica del clorénquima, y no por la transpiración.

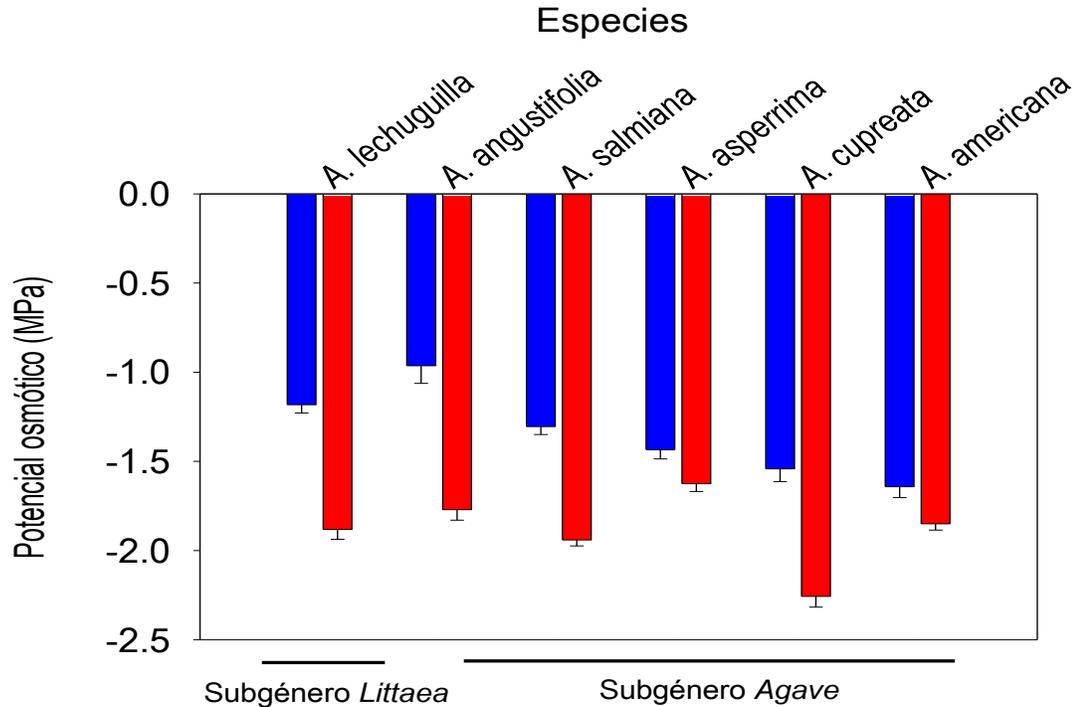


Figura 5.10 Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en el potencial osmótico promedio (-e.e) del clorénquima de las hojas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de cinco secciones entre la base y el ápice foliar (n= 15, P≤0.05).

Las plantas en la condición de riego mostraron que el ψ_s del clorénquima disminuyó un promedio de -0.33 MPa, (representando el 25 %) para las seis especies de *Agave* en comparación con el ψ_s del parénquima, identificando que para las especies *A. angustifolia* y *A. cupreata* presentó la menor (5 %) y mayor diferencia (30 %) entre el ψ_s del clorénquima y parénquima (Figura 5.9 y Figura 5.7). Después de ocho meses sin riego, *A. lechuguilla*, *A. cupreata*, *A. asperrima* y *A. americana* mostraron que el ψ_s del clorénquima decreció un promedio de -0.38 MPa (20 %) en comparación con el ψ_s del parénquima. Sin embargo, para las especies *A. angustifolia* y *A. salmiana* se determinó un aumento en el ψ_s del clorénquima (promedio de -0.07 MPa) observándose el 4 % de diferencia con respecto al ψ_s del parénquima (Figura 5.9 y Figura 5.7).

Las diferencias encontradas en el ψ_s del parénquima y clorénquima de las seis especies de *Agave* en la condición de deficiencia de humedad en el suelo, se deben principalmente a la redistribución interna del agua que refleja diferencias en las

propiedades celulares del tejido del parénquima ya que almacena agua, y del clorénquima (Nobel, 2002).

Goldstein *et al.* (1991) demostraron que en *O. ficus-indica* los cambios del ψ_A favorecieron el movimiento del agua del parénquima al clorénquima al final de la noche y en dirección opuesta durante la tarde. Por consiguiente; el movimiento del agua puede ser bidireccional entre los dos tejidos. En el presente estudio se observó que en la mayoría (cuatro) de las especies de *Agave* el ψ_s del clorénquima fue menor que el del parénquima y únicamente en dos especies el comportamiento fue opuesto, esto puede estar relacionado con las modificaciones del ψ_A foliar, la acumulación de ácido málico y el intercambio de CO_2 (el incremento de CO_2 atmosférico, aumenta el grosor del tejido del clorénquima) propios de cada especie (Nobel, 2010) dependientes de la morfología, anatomía y genética de cada una.

5.6 Conclusiones

La deficiencia de la humedad en el suelo promovió el incremento tanto de la firmeza de la hoja, como del contenido de sólidos solubles totales y la disminución del potencial osmótico de las hojas. Los cambios de las características biofísico-fisiológicas de las hojas de *Agave* son parcialmente dependientes de la humedad del suelo y de la especie.

5.7 Literatura citada

- Aguilar, C.N.; Reyes, M.L.; De la Garza, H.; Contreras, E.J.C. 1999. Aspectos Bioquímicos de la Relación entre el Escaldado TB-TL y la Textura de Vegetales Procesados. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 43(2): 54-62.
- Aguilar-Sánchez, L.; Martínez-Damián, M.T.; Barrientos-Priego, A.F.; Aguilar-Gallegos, N.; Gallegos-Vásquez, C. 2007. Potencial de oscurecimiento enzimático de variedades de nopalitas. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 9:165-184.

- Bautista, J.M.; García, S.H.R.; Parra, N.L.A. 2001. Azúcares en agaves (*Agave tequilana* Weber) cultivados en el estado de Guanajuato. *Acta Universitaria* 11(1): 33-38
- Bautista-Justo, M.L.A.; Parra-Negrete, J.E.; Barbosa, Z.; Gamiño, S. 2003. Contenido de azúcares reductores en hojas de agave azul (*Agave tequilana* Weber) de distintos orígenes y edades. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. 3: 17-21.
- Chassot, C.; Métraux, J.P. 2005. The cuticle as source of signals for plant defense. *Plant Biosystems*. 139(1): 28-31.
- Chaves, M.M.; Maroco, J.P.; Pereira, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*. 30: 239-264.
- Davis, S.C.; Dohleman, F.G.; Long, S.P. 2011. The global potential for *Agave* as a biofuel feedstock. *Bioenergy*. 3: 68-78.
- Domínguez, E.; Cuartero, J.; Heredia, A. 2011. An overview on plant cuticle biomechanics. *Plant Science*. 181: 77-84.
- Dussán-Sarria, S.; Honório, S.L.; Matías, M.L. 2008. Resistencia mecánica, tasa respiratoria y producción de etileno de caqui 'Fuyu' durante el almacenamiento, en: *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 12: 498-502.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía. UNAM. México, D.F. 90p.
- García-Herrera, E.J.; Méndez-Gallegos, S.J.; Talavera-Magaña, D. 2010. El género *Agave* spp. en México: Principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. VIII Simposium-Taller Nacional. *In*: "Producción y aprovechamiento del nopal". *RESPYN Revista de Salud Pública y Nutrición*, Edición especial. 5: 109-129.
- García, M. 2002. Distribution of *Agave* (Agavaceae) in México. *Cactus and Succulent Journal* 4: 177-188.
- García, M.A.J. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87-23p.
- García, M.R.F.; Caballero, C.M.; Silva, S.L. 2010. Ensayos a compresión en hojas de agave *Angustifolia* Haw. *Memorias del XVI Congreso Internacional Anual de la Somim*, 22 al 24 de septiembre, 2010. Monterrey, Nuevo León, México. 10 p.

- García-Moya, E.; Romero-Manzanares, A.; Nobel, P. S. 2011. Highlights for *Agave* Productivity. *Bioenergy*. 3: 4-14.
- Gentry, H.S. 1982. *Agaves of continental North America*. The University of Arizona Press, Tucson, Az. U.S.A. 670p.
- Godínez, H.C.I. 2012. *Caracterización y Eficiencia de la Fermentación en la Elaboración del Mezcal Potosino*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultades de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Programas Multidisciplinarios de Posgrado en Ciencias Ambientales. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. 88p.
- Goldstein, G.; Ortega, J.K.E.; Nerd, A.; Nobel, P.S. 1991. Diel Patterns of Water Potential Components for the Crassulacean Acid Metabolism Plant *Opuntia ficus-indica* when Well-Watered or Droughted. *Plant Physiology*. 95: 274-280.
- González, C. A.; Salas, S.M.C.; Urrestarazu, G. M. 2004. Producción y Calidad en el Cultivo de Tomate Cherry. *In: Tratado de cultivo sin suelo*. Urrestarazu G., M. (coord.) 3^a. Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 703-748 p.
- Granados, S.D. 1993. *Los agaves en México*. Universidad Autónoma Chapingo. 252 p.
- Hare, P.D.; Cress, W.A.; Staden, J.V. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*. 21: 535-553.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. *In: Physiological and biochemical indicators for stress tolerance*. Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Huang, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Iñiguez, C.; Díaz, T.; Sanjuan, D.; Anzaldo, H.; Rowell, M. 2001. Utilization of by-products from the tequila industry. Part 2: potential value of *Agave tequilana* Weber azul leaves. *Bioresour Technology* 77: 101-108.
- Kaul, R.P. 2009. *Metabolism Plant*. Swastik Publishers & Distributors. Delhi (India). 1-264 p.
- Lallana, M.C.; Billard, C.E.; Elizalde, J.H.; Lallana, V.H. 2006. Breve revisión sobre características de la cutícula vegetal y penetración de herbicidas. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. 33: 229-241.

- Liu, M.Z.; Jiang, G.M.; Li, Y.G.; Niu, S.L.; Gao, L.M.; Ding, L.; Peng, Y. 2003. Leaf osmotic potentials of 104 plant species in relation to habitats and plant functional types in Hunshandak Sandland, Inner Mongolia, China. *Trees*. 17: 554-560.
- López, G.M.; Mancilla, M.; Mendoza, D. 2003. Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 7835-7840.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany*. 93(6): 629-652.
- Lüttge, U. 2008. Stem CAM in arborescent succulents. *Trees*. 22: 139-148.
- Mancilla, M.N.A.; López, M.G. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyliirion* species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 54: 7832-7839.
- Martin, M.P.; Peters, Ch.M.; Palmer, M.I.; Illsley, C. 2011. Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, México. *Forest Ecology and Management*. 262: 1443-1451.
- Martínez, R.S.; Trinidad, S.A.; Robles, C.; Galvis, S.A.; Hernández, M.T.M.; Santizó, R.J.A.; Bautista, S.G.; Santos, E.C.P. 2012. Crecimiento y sólidos solubles de *Agave potatorum* Zucc, inducidos por riego y fertilización. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35(1): 61-68.
- Montañez-Soto, J.; Venegas-González, J.; Vivar-Vera, M.; Ramos-Ramírez, E. 2011. Extracción, caracterización y cuantificación de los fructanos contenidos en la cabeza y en las hojas del *Agave tequilana* Weber azul. *Bioagro*. 23(3): 199-206.
- Mora-López, J.L.; Reyes-Agüero, J.A.; Flores-Flores, J.L.; Peña-Valdivia, C.B.; Aguirre-Rivera, J.R. 2011. Variación morfológica y humanización de la sección salmianae del género *Agave*. *Agrociencia* 45(4): 465-477.
- Moreno, L.P.F. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27(2): 179-191.
- Nobel, P.S. 1984. Day-night variations in malate concentration, osmotic pressure, and hydrostatic pressure in *Cereus validus*. *Plant Physiology*. 75: 804-807.

- Nobel, P. S. 2002. *Cacti. Biology and Uses*. Berkeley, University of California. Los Angeles. London. 292p.
- Nobel, P.S.; Pimienta-Barrios, E.; Zañudo, H.J.; Ramírez-Hernández, B.C. 2002. Historical aspects and net CO₂ uptake for cultivated Crassulacean acid metabolism plants in México. *Annals of Applied Biology*. 140: 133-142.
- Nobel, P.S. 2006. Parenchyma-clorenchyma wáter movement during drought for the Hemiepiphytic Cactus *Hylocereus undatus*. *Annals of Botany*. 97: 469-474.
- Nobel, P.S. 2010. *Desert Wisdom/Agaves and cacti: CO₂, Water, Climate Change*. Universe, Inc. New York. 182p.
- North, G.B.; Nobel, P.S. 1998. Water uptake and structural plasticity along roots of a desert succulent during prolonged drought. *Plant, Cell and Environment*. 21: 705-713.
- Nowak, E. J; Martin, C. E. 1997. Physiological and anatomical responses to water deficits in the CAM epiphyte *Tillandsia ionantha* (Bromeliaceae). *International Journal of Plant Sciences*. 158(6): 818-826.
- Pimienta, B.E.; Zañudo, H.J.; García, G.J.; Nobel, P.S. 2006. *Ecofisiología del Agave azul*. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. 123p.
- Ramírez-Tobías, H.M.; Peña-Valdivia, C.B.; Aguirre J.R.; Reyes-Agüero, J.A.; Valle, S.; Sánchez-Urdaneta, A. 2012. Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with an extensive history of human use. *Plant Species Biology*. 27(2): 124-137.
- Ramírez-Tobías, H.M.; Peña-Valdivia, C.B.; Aguirre J.R. 2013. Biochemical and physiological responses of *Agave* spp. to moisture restriction. *Botanical Sciences*. En prensa.
- Rendón-Salcido, L.A.; Magdub-Méndez, A.; Hernández-Terrones, L.; Larqué-Saavedra. 2007. El jarabe de Henequén (*Agave fourcroydes* Lem.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(40): 463-467.
- Rendón-Salcido, L.A.; Colunga-García, M.P.; Barahona-Pérez, L.F.; Pimienta-Barrios, E.; Magdub-Méndez, A.; Larqué-Saavedra, A. 2009. Azúcares y subproductos alcohólicos de henequén (*Agave fourcroydes*) en función de la edad de la planta y el clima. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 32(1): 39-44.

- Sánchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. 2000. Relaciones hídricas. *In*: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto, J. y Talón M. (Eds). McGraw-Hill/Interamericana. Madrid, España. 17-64p.
- Serraj, R.; Sinclair, T. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?. *Plant, Cell and Environment*. 25: 333-341.
- Schulte, P.J.; Nobel, P.S. 1989. Responses of a CAM plant to drought and rainfall: capacitance and osmotic pressure influences on water movement. *Journal of Experimental Botany* 40: 61-70.
- Tafolla-Arellano, J.C.; González-León A.; Tiznado-Hernández M.E.; Zacarías García L.; Báez-Sañudo R. 2013. Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Fitotecnia Mexicana* 36(1): 3-12.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. 5th ed. Sinauer Associates Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Vera, G.A.M.; Santiago, G.P.A.; López, M.G. 2009. Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(4): 273-279.
- Xu, S; An, L; H. Feng, X; Wang y X, Li. 2002. The seasonal effects of water stress on *Ammopiptanthus mongolicus* in a desert environment. *Journal of Arid Environments*. 51: 473-447.

6. PERMEABILIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES Y CONTENIDO DE CLOROFILA DE HOJAS DE MAGUEY (*Agave* spp.) Y SU RELACIÓN CON LA ESPECIE Y HUMEDAD DEL SUELO

6.1 Resumen

Las plantas pueden responder y adaptarse al estrés hídrico, con alteración de sus funciones metabólicas, mediante cambios en sus membranas celulares y en la cantidad de pigmentos fotosintéticos asociados con la fotosíntesis y la producción de biomasa. El objetivo de este estudio fue identificar diferencias y semejanzas de la permeabilidad de las membranas celulares y del contenido de clorofila en las hojas de plantas de siete especies de *Agave* de 2 años de edad, cultivadas en condiciones de invernadero con riego y su suspensión durante 1 año y 8 meses (30 y 3 % de humedad en el suelo). La hipótesis planteada es que los cambios de la permeabilidad de las membranas celulares y el contenido de pigmentos son dependientes de la especie y la humedad del suelo. El experimento se estableció con un diseño completamente al azar con 14 tratamientos y nueve repeticiones por tratamiento. Las variables (con base en la biomasa fresca) se sometieron a ANDEVA y comparaciones múltiples de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Independientemente de la condición de riego *A. striata* presentó la permeabilidad menor de las membranas celulares (15.56 y $33.51 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$), mientras que *A. lechuguilla* y *A. salmiana* presentaron los valores mayores (101 y $137.71 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$) con riego y con la suspensión de él, respectivamente. En la condición de riego el contenido de clorofila a fluctuó entre 8.10 y $19.34 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ y la b entre 2.91 y $10.26 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en *A. striata* y *A. lechuguilla*. La suspensión de riego incrementó el contenido de clorofila en seis especies, excepto en *A. cupreata*; la clorofila a, vario entre 11.20 y $34.21 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en *A. cupreata* y *A. angustifolia*, y la clorofila b fue menor en *A. striata* ($5.98 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y mayor en *A. angustifolia* ($19.50 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). Los resultados aportan evidencia de la estabilidad de las membranas celulares y del contenido de clorofila de las plantas de maguey, independientemente de la especie, que les permite permanecen vivas durante varios meses en el suelo con restricción hídrica.

Palabras clave: *Agave*, clorofila, permeabilidad de membrana, humedad del suelo

CELL MEMBRANE PERMEABILITY AND CHLOROPHYLL CONTENT OF MAGUEY LEAVES (*Agave* spp.) AND ITS RELATIONSHIP WITH THE SPECIES AND SOIL MOISTURE

6.2 Abstract

Plants can respond and adapt to water stress by altering their metabolic functions through changes in their cell membranes and the amount of photosynthetic pigments associated with photosynthesis and biomass production. The objective of this study was to identify differences and similarities in the permeability of cell membranes and the chlorophyll content in leaves of plants from seven species of *Agave* from two years old, these were grown in the greenhouse under irrigation and suspension for 1 year and 8 months (30 and 3% moisture in the soil). The hypothesis raised is that changes in the permeability of cell membranes and the pigment content are dependent on the species and soil moisture. The experiment was established in a completely randomized design with 14 treatments and nine replicates. Variables (based on fresh biomass) were subjected to ANOVA and multiple comparisons of means with the Tukey test ($P \leq .05$). Regardless of the condition of irrigation *A. striata* showed lower permeability of cell membranes (15.56 and $33.51 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$), while *A. Lechuguilla* and *A. salmiana* presented higher values (101 and $137.71 \mu\text{S cm}^{-1} 100 \text{ mg}^{-1}$) with irrigation and with the suspension of it, respectively. In irrigated condition the chlorophyll a content ranged from 8.10 to $19.34 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ and chlorophyll b content between 2.91 and $10.26 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ at *A. striata* and *A. Lechuguilla*. Irrigation suspension increased chlorophyll content in six species except *A. cupreata*, chlorophyll a, varied between 11.20 and $34.21 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ in *A. cupreata* and *A. angustifolia*, and chlorophyll b was lower in *A. striata* ($5.98 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) and highest in *A. angustifolia* ($19.50 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). The results provide evidence of the stability of cell membranes and the chlorophyll content of maguey plants, independently of the species, which allows them to remain alive for several months in the soil with water restriction.

Keywords: *Agave*, chlorophyll, membrane permeability, soil moisture

6.3 Introducción

El agua constituye el principal factor limitante del crecimiento de las plantas en la tierra y actúa como una fuerza selectiva de primer nivel para la evolución y distribución de las especies vegetales (Moreno, 2009). Actualmente la falta de agua es una de las mayores limitantes en la producción y expansión de las áreas agrícolas, debido a los cambios ambientales en el mundo y el incremento de la aridez de muchas regiones de nuestro planeta. Por consiguiente, es importante conocer el efecto de la deficiencia de humedad en los suelos sobre la morfología, fisiología y metabolismo de las plantas (Farooq *et al.*, 2009).

Las especies y cultivares difieren en su respuesta al estrés causado por el ambiente. La naturaleza e intensidad de la respuesta puede variar considerablemente dependiendo de la edad de la planta o del tejido, la estación del año, de la intensidad y duración del evento generador del estrés en la planta (Huang, 2006).

La tolerancia al déficit de agua depende de los mecanismos de adaptación de las plantas, es común entre las especies; pero las respuestas varían entre y dentro de ellas, debido a diferencias en los mecanismos de adaptación y reacción, ya sea fenológicos, morfológicos, bioquímicos, fisiológicos, o moleculares, y que generalmente se combinan. Los ajustes que la planta hace para tolerar el estrés están relacionados con el contenido y pérdida relativa de agua, la fluorescencia y contenido de clorofilas, la estabilidad de la membrana celular, entre otras características (Almeselmani, 2012).

El estudio e identificación de los cambios morfo-anatómicos y fisiológicos ocasionados por el déficit de agua y su relación con la tolerancia o resistencia de las plantas han permitido seleccionar o crear nuevas variedades de plantas con productividad aceptable en condiciones de déficit hídrico (Jaleel *et al.*, 2009).

Las membranas celulares son las estructuras reconocidas como sitios sensores de diferentes factores abióticos que generan estrés en las plantas, como el exceso de sales, la deficiencia de humedad, la contaminación del aire, las temperaturas altas y bajas, la acidez del suelo, la presencia de metales pesados (Bajii *et al.*, 2001; Huang, 2006). La pérdida de la integridad de las membranas, causada por fluidez excesiva o

peroxidación lipídica puede incrementar la permeabilidad de la membrana y la muerte celular durante el estrés. El incremento descontrolado de la permeabilidad de las membranas incrementa la liberación de solutos, como iones, azúcares solubles y aminoácidos, la que está correlacionada positivamente con la severidad del daño en las membranas producido por el estrés (Huang, 2006; Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2003). La cuantificación de la conductividad eléctrica, basada en la medición de la cantidad de electrolitos liberados en el medio de resuspensión del tejido es utilizada para evaluar la integridad y funcionalidad de las membranas celulares (Prášil y Zámečník, 1998; Bajii *et al.*, 2001; Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2003 y 2004,).

Los efectos del estrés causados por la falta de agua también pueden disminuir la fotosíntesis y el crecimiento asociado con la alteración en el metabolismo de carbono y nitrógeno (Yordanov *et al.*, 2003). La cuantificación de los atributos fotosintéticos, como el contenido de clorofila y los parámetros de fluorescencia de estos pigmentos, pueden estimar la influencia del estrés ambiental sobre el crecimiento y productividad de las plantas, ya que se correlacionan con el intercambio de carbono. Así, que estos parámetros pueden ser utilizados como indicadores para evaluar el balance metabólico/energético de la fotosíntesis en las plantas con algún estrés (Rong-hua *et al.*, 2006). Los pigmentos fotosintéticos (clorofilas, carotenos y xantofilas) son los responsables de la captura de la luz en las plantas verdes, su contenido cambia a través de las estaciones del año, disminuye con la edad de la hoja, siendo afectados también por las condiciones de crecimiento, y su tasa de degradación incrementa en condiciones ambientales negativas para la planta. El contenido de clorofilas provee información del estado fisiológico de las plantas (Zhang *et al.*, 2007) y algunos estudios, muestran que está correlacionado positivamente con la capacidad fotosintética y la tolerancia al estrés hídrico (Almeselmani 2012; Da Silva *et al.*, 2004), el contenido alto de clorofila en las hojas fue considerado una característica favorable para la producción y la tolerancia al estrés hídrico en trigo, alfalfa y pasto (gramínea) (Ashraf *et al.*, 1994; Blum 1998; Estill *et al.*, 1991; García, *et al.*, 2005).

El género *Agave* se encuentra distribuido y bien adaptado a regiones áridas y semiáridas por sus características morfológicas y fisiológicas (García-Mendoza, 2007). Varias de las especies del género *Agave* son el producto de la domesticación y se han

cultivado con propósitos diversos, como la producción de bebidas alcohólicas destiladas (mezcal y tequila), la extracción de fibras, su uso en la medicina tradicional, entre otros (Gentry, 1982; García-Méndez, 1998; Nobel *et al.*, 2002; Borland *et al.*, 2009). Las plantas de *Agave* son perennes, suculentas, con raíces duras fibrosas y tallos gruesos muy cortos, presentan el metabolismo fotosintético de tipo ácido crasuláceo (MAC) y se caracterizan por su eficiencia alta en el uso del agua; estos mecanismos les permiten sobrevivir en condiciones de déficit hídrico constante (Moreno, 2009).

Debido a que aún se desconocen los procesos biofísicos y fisiológicos que las plantas realizan para enfrentar exitosamente el estrés producido por los ambientes áridos y semiáridos. Existe interés por la investigación de estas plantas para desarrollar modelos para entender su resistencia al déficit hídrico.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suspensión del riego en la permeabilidad de las membranas celulares y el contenido de clorofila a, b y total de las hojas de plantas de siete especies de *Agave* de dos años de edad. La hipótesis planteada fue que los cambios de la permeabilidad de la membrana celular y el contenido de clorofila de las hojas de *Agave* son independientes de la humedad del suelo y de la especie.

6.4 Materiales y métodos

6.4.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se evaluaron siete especies de *Agaves*, clasificadas, de acuerdo con Gentry (1982), en los subgéneros *Litsea* y *Agave* y en siete grupos taxonómicos (Cuadro 1, Anexo en el Capítulo 6); el subgénero *Litsea* incluyó *A. lechuguilla* y *A. striata*, y el subgénero *Agave* incluyó a *A. americana*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. asperrima*.

Las plantas fueron obtenidas de semillas y cultivadas en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Montecillo, México (clima BS1kw(w)(e)g, seco estepario, templado, verano cálido y lluvioso; García, 2004), en macetas con 12 kg de una mezcla de suelo agrícola y grava de tezontle en proporción 3:1, según lo descrito por Ramírez-Tobías *et al.* (2010).

Desde la siembra, hasta la emergencia de la segunda hoja lateral las plantas fueron regadas una vez por semana, con agua suficiente para conservar el sustrato húmedo. Luego se formaron dos grupos de plantas a uno se le proporcionó agua cada tercer día (riego frecuente) para mantener la humedad del sustrato cercana a capacidad de campo, y al otro se le proporcionó agua con frecuencia y cantidad menores (riego restringido) durante 1 año y 8 meses. El agua se suministró con un sistema de riego localizado, semiautomatizado hasta cada maceta y programado para aplicar el agua necesaria para cada tratamiento.

El potencial de agua (Ψ_A) se midió en muestras de suelo en cámaras psicrométricas (Wescor C-52, Inc, Utha, EE.UU.) conectadas a un microvoltímetro (Wescor HR-33T, Inc, Utha, EE.UU.), operado en el modo de punto de rocío. El Ψ_A (promedio \pm el error estándar) fue -0.7 ± 0.07 MPa en los tratamientos con riego frecuente y de -3.5 ± 0.41 MPa en los tratamientos con riego restringido en los primeros 6 meses, después disminuyó a valores menores de -5 MPa, según lo señalado por Ramírez-Tobías *et al.* (2013). En ese momento, a estos tratamientos (con riego restringido) se les suspendió el riego totalmente. Para este estudio, el sustrato fue

analizado en el laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos. Las constantes de humedad del substrato fueron la capacidad de campo (CC) 30 % y el punto de marchitamiento permanente (PMP) 12.6 %; su pH fue 7.6, su conductividad eléctrica 6.4 dS m⁻¹, y las concentraciones de N, P y K fueron 0.27 %, 198 mg kg⁻¹ y 3.02 cmol kg⁻¹ respectivamente.

Determinación de la humedad del suelo

Debido a la imprecisión de las cámaras psicométricas para evaluar Ψ_A menores que -5 MPa, la humedad del suelo de las unidades experimentales se determinaron en la zona radical de las plantas al momento de las evaluaciones en las plantas. Se evaluaron 15 muestras, de 1 g de suelo, por tratamiento, seleccionadas al azar entre las unidades experimentales. Las muestras fueron deshidratadas a temperatura constante (105°C durante 24 horas) en un horno de secado hasta alcanzar peso constante. Los datos fueron expresados como porcentaje del contenido de agua del suelo con la siguiente ecuación:

$$w = \frac{M_{ag}}{M_s} = \frac{M_{sh} - M_{ss}}{M_{ss}} = \left(\frac{M_{sh}}{M_{ss}} \right) 100$$

Donde w = contenido de humedad (%)

M_{ag} = masa del agua

M_s = masa de los sólidos

M_{sh} = masa del suelo húmedo

M_{ss} = masa del suelo secado en estufa

Determinación de la permeabilidad de las membranas celulares

La permeabilidad de las membranas celulares se cuantificó en las hojas, indirectamente mediante la liberación de electrolitos de segmentos frescos y congelados al medio acuoso en el que se suspendieron (Prášil and Zámečník, 1998). Cinco segmentos de 1.5 cm de diámetro se obtuvieron con un sacabocado de la base al ápice de las hojas y los resultados fueron el promedio de los segmentos de cada hoja. Las muestras se pesaron en una balanza analítica (Scientech, EE.UU., precisión

de 0.0001 g) se colocaron individualmente en cajas Petri con 25 mL de agua desionizada, que se mantuvieron con agitación ligera y constante en un agitador orbital (VSOS-4P Lab Plus Series PRO), a temperatura del laboratorio (25 ± 2 °C). Las lecturas de la conductividad eléctrica se obtuvieron con un conductímetro (Horiba B-173, Kyoto Japón) cada 30 min durante 3 h, en 100 μ L del medio y los valores fueron ajustados a 1g de tejido. Otro grupo de muestras se congeló y se midió la conductividad eléctrica de los electrolitos liberados igual que en las muestras frescas.

La permeabilidad relativa de las membranas celulares en porcentaje, fue estimada con los cambios de la conductividad eléctrica generada por los segmentos de tejido fresco (C.E.) y por el tejido muerto por congelación (C_m), con la siguiente igualdad (Huang, 2006):

$$\text{Permeabilidad relativa de las membranas celulares (\%)} = (C.E. / C_m) \times 100$$

Contenido de clorofila a, b y total

El contenido de clorofila se determinó en cinco secciones equidistantes de la base al ápice de la hoja. Tres muestras de cada sección foliar de 1 cm² se tomaron con un sacabocados, se colocaron en frascos de vidrio con 5 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) y se mantuvieron protegiendo la muestra de la luz a -4 °C durante 48 h. La concentración de clorofilas en el extracto fue calculada según la metodología descrita por Inskeep y Bloom (1985), con las lecturas de absorbancia a 647 y 664.5 nm en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda UV/VIS), y N,N-dimetilformamida como blanco.

Las ecuaciones para el cálculo de las concentraciones son:

$$\text{Clorofila a (mg L}^{-1}\text{)} = 12.70 (A_{664.5}) - 2.79 (A_{647})$$

$$\text{Clorofila b (mg L}^{-1}\text{)} = 20.70 (A_{647}) - 4.62 (A_{664.5})$$

$$\text{Clorofila total (mg L}^{-1}\text{)} = 17.90 (A_{647}) + 8.08 (A_{664.5})$$

Dondé A: es la absorbancia a la longitud de onda indicada en el subíndice. La concentración de clorofila se expresó en mg de clorofila por cada 100 mg de tejido foliar fresco.

6.4.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con nueve repeticiones. La unidad experimental estuvo representada por una maceta (con tres plantas, salvo alguna excepción con una o dos plantas). Se evaluaron 14 tratamientos que resultaron de la combinación de las siete especies de *Agave* y las dos condiciones de humedad del suelo de (3 y 30 % de humedad). Las variables respuesta fueron la conductividad eléctrica del medio (permeabilidad de las membranas celulares) y el contenido de clorofilas. Con los datos se realizó ANDEVA y comparaciones múltiples de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). El análisis se realizó con el paquete estadístico SAS V9; la representación se realizó con el programa Sigma Plot de Jandel Scientific (Versión 10.0).

6.5 Resultados y discusión

6.5.1 Permeabilidad de las membranas celulares

La Conductividad eléctrica generada por el tejido fresco incrementó con el tiempo de permanencia en el medio, con tasas diferentes entre las siete especies y en general, independientemente de la condición de riego de las plantas. Todos los tratamientos presentaron, liberación de electrolitos acelerada, durante los primeros 30 min y la caída de la tasa de liberación entre los 30 y 180 min (Figura 6.1 y 6.2). Cambios de la conductividad eléctrica (C.E.) del medio similares a los obtenidos con los tejidos foliares de maguey, con riego y con restricción de humedad, se obtuvieron con nopalitos de cinco cultivares de *Opuntia ficus-indica* cultivados en invernadero, también con riego semanal y con su suspensión durante 6 meses, pero con valores de C.E. mayores (García, *et al.*, 2008).

Entre las especies del subgénero *Litsea*, *A. lechuguilla* incrementó la C.E. del medio hasta tres y siete veces en comparación con *A. striata*, en la condición de restricción de humedad y riego respectivamente, durante los 180 min de la evaluación (tiempo en el que la C.E. del medio se había estabilizado) (Figura 6.1). En promedio, *A. striata* incrementó hasta 54 % la C.E. en la condición de suspensión de riego, respecto al

riego continuo después de los 180 min; en contraste, *A. lechuguilla* generó C.E. similar en ambas condiciones de humedad, en el mismo tiempo (Figura 6.1). En las cinco especies del subgénero *Agave*, incrementaron significativamente la C.E. del medio en el tiempo en riego y restricción de humedad (Figura 6.2).

Entre las especies del subgénero *Agave* destacó *A. salmiana* porque la C.E. máxima del tejido foliar de las plantas con riego se alcanzó desde los 30 min y en los siguientes 150 min los cambios no fueron significativos. En contraste las otras cuatro especies de este subgénero sí incrementaron su C.E., después de los 30 min, y la salida de electrolitos parece haberse estabilizado a partir de los 150 min (Figura 6.2).

En el subgénero *Agave* el incremento de la C.E. en los tejidos foliares de las plantas en condiciones de humedad restringida fue menor (entre 60 y 80 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ tejido fresco) en *A. americana* y *A. angustifolia*, en comparación con *A. aspérrima*, *A. cupreata* y *A. salmiana* (entre 100 y 140 $\mu\text{S g}^{-1}$ tejido fresco) en la misma condición de humedad (Figura 6.2).

La estabilidad de las membranas es utilizada frecuentemente como un criterio para evaluar la tolerancia de las plantas a la sequía, ya que el estrés hídrico causado por la pérdida de agua de los tejidos vegetales afecta su estructura, composición y función (Bajji *et al.*, 2001) y la salida de cantidades mayores de electrolitos generalmente incrementa la C.E. del medio acuoso en el que se mantiene el tejido de prueba; sin embargo, esto depende del tipo y cantidad de electrolitos liberados (Prášil and Zámečník, 1998). Los resultados de los tejidos foliares de las plantas con riego indicaron que hay diferencias significativas en la funcionalidad de las membranas entre las especies de *Agave* y su capacidad para regular la salida de electrolitos también podría diferir entre ellas.

Estos resultados, junto con los de los tejidos de las plantas sin riego, también pueden indicar que la composición intercelular es diferente entre las especies de *Agave*, y debido a esto el tipo y la concentración de los electrolitos liberados son diferentes entre ellas. Diferencias entre la cantidad de electrolitos liberados al medio acuoso por las raíces de plántulas de frijoles silvestres y domesticados mantenidas durante 24 h en vermiculita hidratada (-0.03 MPa) y parcialmente hidratada (-0.65, -1.45 y -2.35 MPa) fueron documentadas por Sánchez-Urdaneta *et al.* (2003).

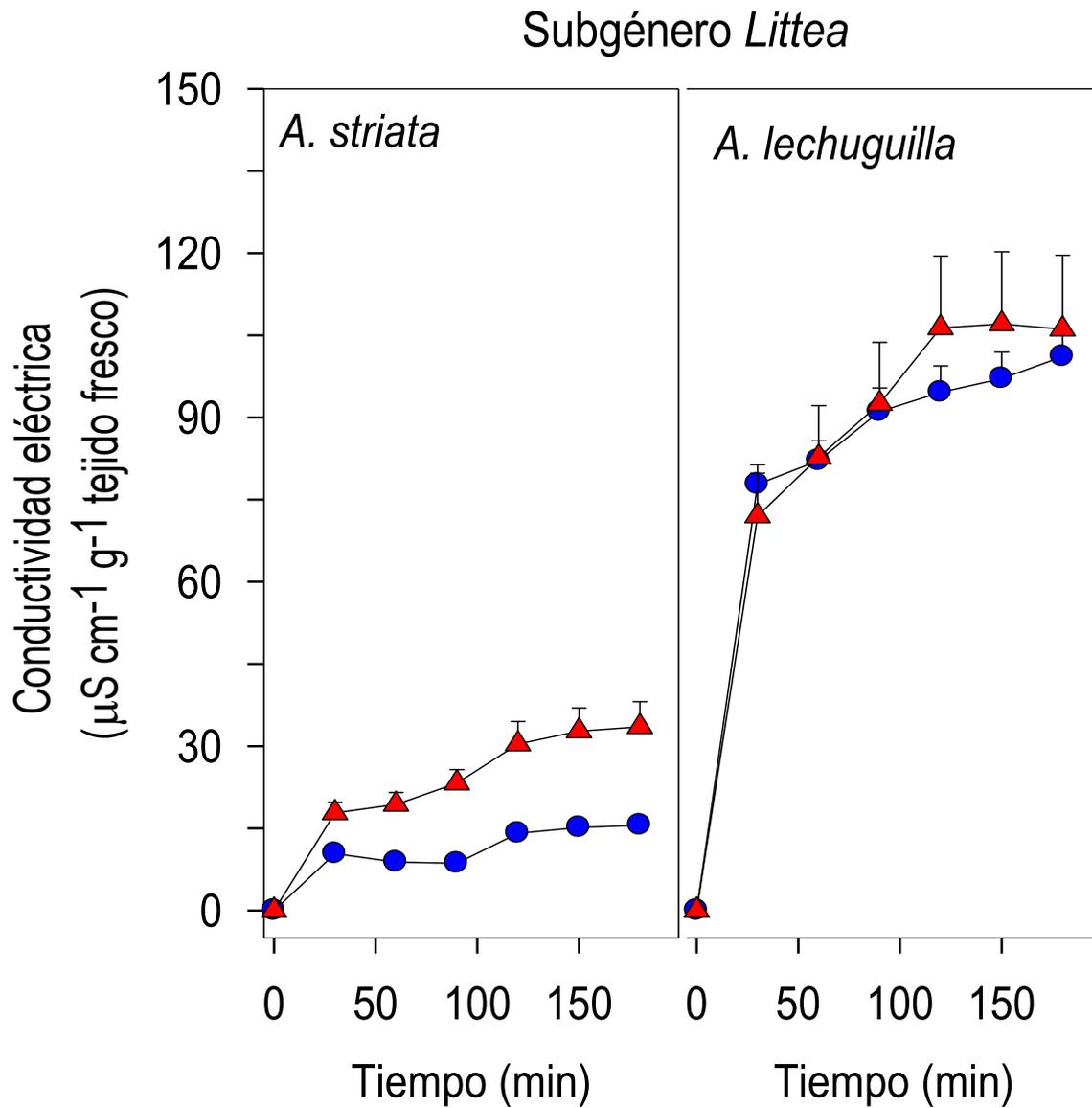


Figura 6.1 Cambios de la conductividad eléctrica del medio de acuoso (+ e.e.) en el tiempo de permanencia de segmentos de hojas de plantas de 2 años de edad, de *Agave* spp., del subgénero *Littea*, con riego semanal (●) o su suspensión por 1 año y 8 meses (▲), cultivadas en condiciones de invernadero (n=9).

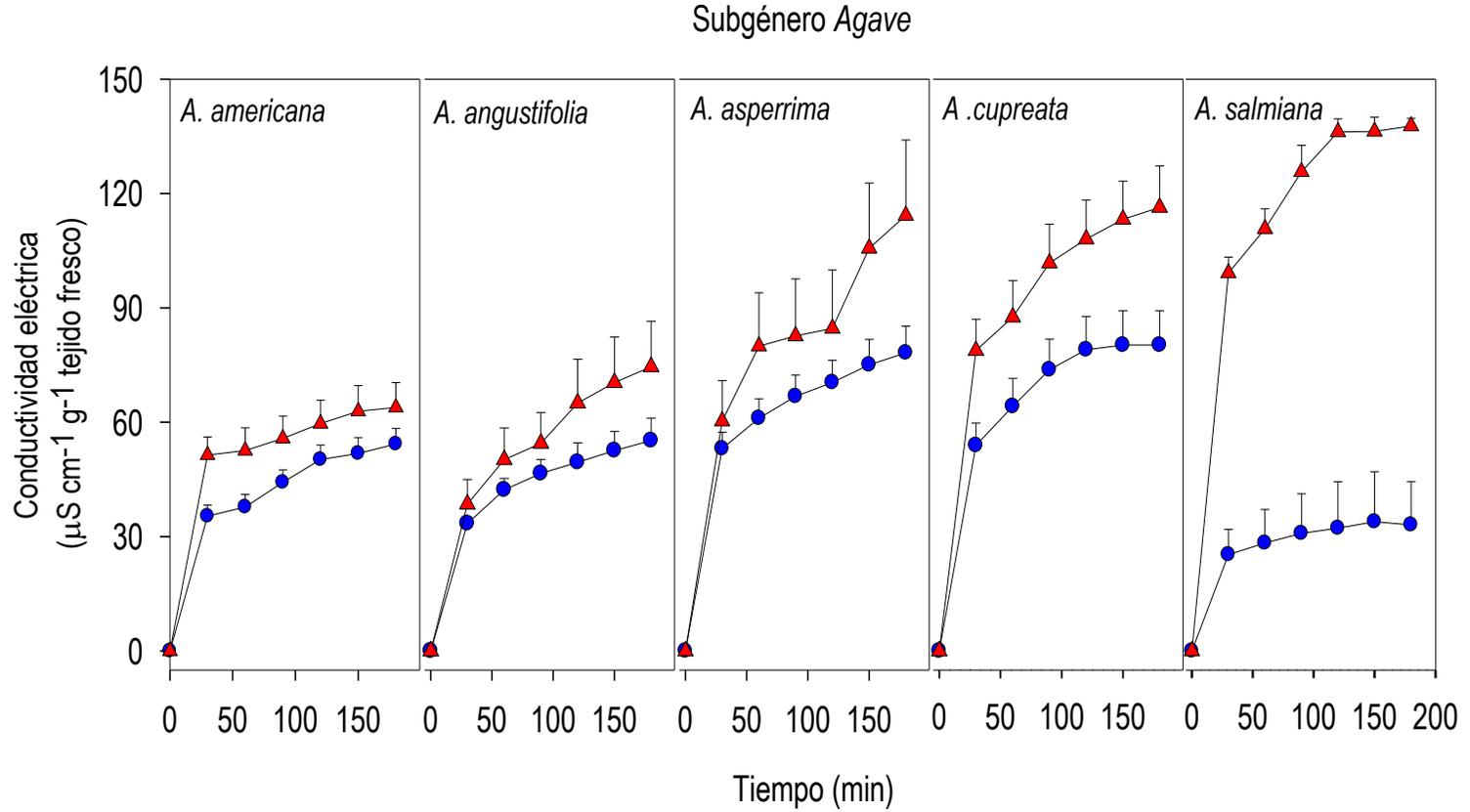


Figura 6.2 Cambios de la conductividad eléctrica del medio acuoso (+ e.e.) en el tiempo de permanencia de segmentos de hojas de plantas de 2 años de edad, de *Agave* spp., del subgénero *Agave*, con riego semanal (●) o su suspensión por 1 año y 8 meses (▲), cultivadas en condiciones de invernadero (n=9).

Estos investigadores señalaron que los Ψ_A menores que -0.03 MPa, condiciones consideradas con déficit de humedad, incrementaron la liberación de K^+ en los frijoles silvestres y domesticados; así, el sustrato con menor Ψ_A generó incrementos 2,5 veces mayores en la liberación de K^+ en las tres variantes.

Las alteraciones por el estrés hídrico en las membranas celulares pueden estar asociadas con cambios en la estructura física o composición químicas de los lípidos (contenido, composición, saturación y fluidez) y las proteínas (Huang, 2006).

Independientemente de la cantidad y tipo de electrolitos liberados al medio, la C.E. generada por los tejidos foliares, o alteraciones en las membranas celulares es posible asegurar que las plantas de las siete especies de *Agave*, en las condiciones de este estudio, toleraron la humedad restringida en el sustrato ($\Psi_A < -5$ MPa) durante poco más de 1 año y 8 meses sin hidratación del suelo, y permanecieron vivas, pues después de ese tiempo se reactivó el riego y las plantas continuaron su crecimiento (resultados no mostrados). El efecto parcial de la humedad restringida en el crecimiento de las plantas de las mismas especies evaluadas en este estudio fue documentado por Ramírez-Tobías *et al.* (2013).

Las reacciones de las plantas de *Agave* a la restricción prolongada de humedad son posibles en las plantas xerófitas, adaptadas a las zonas áridas y semiáridas en condiciones climáticas desfavorables para numerosas especies. Las plantas como los magueyes se caracterizan por mantener en el tejido de las hojas Ψ_A altos, aún en condiciones de estrés hídrico, aunque disminuyen casi completamente la asimilación de CO_2 (Osmond *et al.*, 1980).

La permeabilidad relativa (%) de las membranas, la que controla la salida de electrolitos y otras moléculas, desde las regiones subcelulares hasta el medio acuoso que rodeaba a los tejidos foliares en las evaluaciones, mostró que existen diferencias significativas en la funcionalidad de las membranas celulares entre los subgéneros, las especies y su reacción a la restricción prolongada de humedad (Figura 6.3).

Con riego *A. lechuguilla* presentó la permeabilidad relativa mayor de ambos subgéneros. La diferencia mayor se observó entre las especies del subgénero *Littaea*. *A. striata* presentó la mitad de la permeabilidad relativa de la membrana en comparación con *A. lechuguilla* y fue una de las especies con membranas más

estables, en esa condición, entre las siete especies. En el subgénero *Agave*, en la condición con riego, la permeabilidad de la membrana fue significativamente similar en *A. americana*, *A. salmiana*, *A. angustifolia* y *A. cupreata*, y fue menor ($P \leq 0.05$) que en *A. aspérrima* (Figura 6.3).

Con la suspensión del riego la permeabilidad relativa de las membranas tendió a incrementar en *A. lechuguilla*, *A. americana*, *A. angustifolia* y *A. aspérrima*, pero el incremento no fue significativo respecto a la condición con riego. En contraste, en *A. striata*, *A. salmiana* y *A. cupreata* el incremento significativo, fue entre 50 % y más del doble, (Figura 6.3).

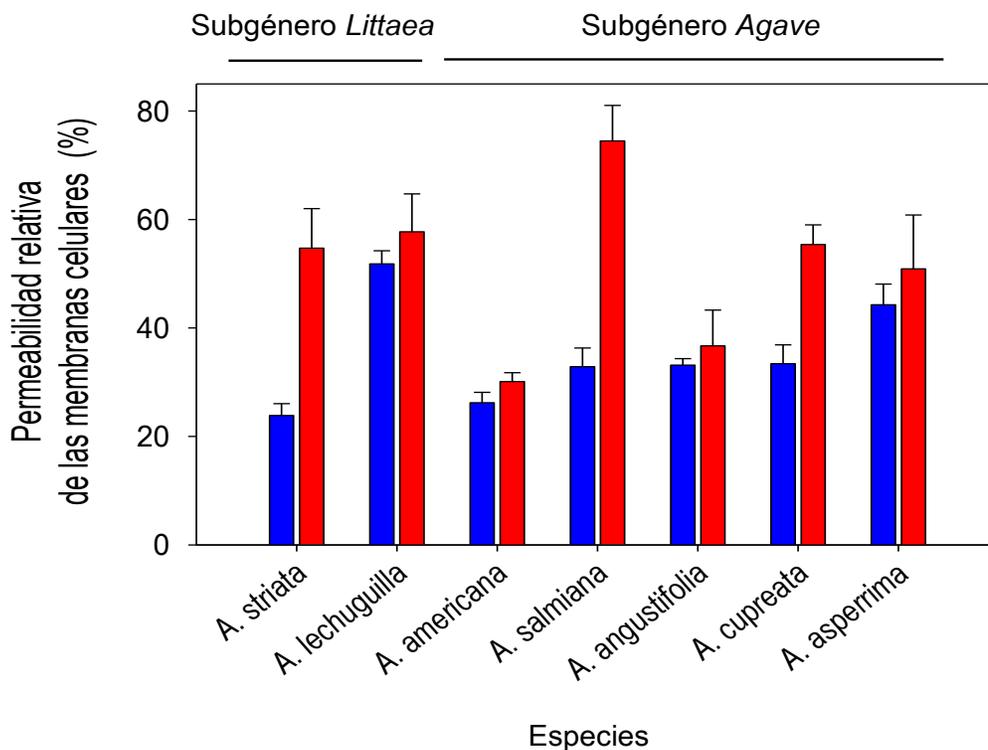


Figura 6.3 Efecto del riego (barras color azul) y su suspensión por 1 año y 8 meses (barras color rojo) en la permeabilidad relativa de la membranas celulares (+e.e.) de hojas de plantas de *Agave* spp. Cada barra es el promedio de la relación: conductividad eléctrica del medio acuoso de cinco secciones de las hojas frescas, después de 3 h, sobre la conductividad generada por el tejido muerto, por congelación, multiplicada por 100 (n=15).

Estos resultados indican que la permeabilidad de las membranas celulares de los tejidos foliares de las plantas jóvenes de *Agave* spp., cuando disponen de agua durante el crecimiento, es similar entre la mayoría de las especies, pues en 71 % de ellas no hubo diferencia significativa. Además, en las plantas evaluadas con restricción hídrica, el 57 % de estas no modificaron significativamente la permeabilidad de sus membranas celulares.

En diferentes tejidos de plantas anuales, como raíces de maíz (Tsougkrianis *et al.*, 2007), hojas de trigo, cebada (Geravandi *et al.*, 2011; Amooaghaie, 2011) y semillas de soya (Kocheva *et al.*, 2004) se han evaluado las alteraciones en las membranas celulares provocadas por el Ψ_A del sustrato. Los resultados indican que las plantas sensibles a la sequía presentan control menor de la liberación de electrolitos celulares en comparación con las tolerantes a la sequía. Así, la disminución relativa de la funcionalidad de las membranas celulares de *A. striata*, *A. cupreata* y *A. salmiana* puede ser evidencia de que estas especies son menos tolerantes a la sequía prolongada en comparación con *A. americana*, *A. lechuguilla*, *A. angustifolia* y *A. asperrima*. Las diferencias de tolerancia a la sequía entre las especies incluyen mecanismos de adaptación fenológicos, morfológicos, bioquímicos, fisiológicos y moleculares (Chaves *et al.*, 2002; Almeselmani, 2012). La membrana plasmática es generalmente protegida del daño por desecación por la presencia de solutos compatibles, como azúcares y aminoácidos. Así, existe una relación entre el ajuste osmótico y el grado de protección de la membrana en relación con el efecto de la deshidratación (Gholamin y Khayatnezhad, 2010).

6.5.2 Contenido de clorofila

El contenido de clorofila (a, b y el total) incrementó a lo largo de las hojas, de la base al ápice, en las plantas de ambos subgéneros y en ambas condiciones con y sin suministro hídrico, excepto en *A. striata* y *A. cupreata*, en la clorofila b (Figura 6.4 y 6.5).

Con riego el incremento ($P \leq 0.05$) del contenido de clorofila de la base al ápice fue variable e independiente de la longitud de la hoja. En general, aunque los

incrementos fueron significativos, representaron porcentajes pequeños. El incremento en *A. lechuguilla*, con hojas de longitud promedio de 30 cm, pareció atípico respecto a las demás especies, pues el contenido de clorofila a y b en la base fue uno de los más altos (10.2 y 5.7 mg de clorofila en 100 mg^{-1} tejido fresco) y en el ápice el contenido (26.8 y 13.6 mg 100 mg^{-1} tejido fresco) representó en promedio casi el triple que en su base. Tendencias similares a las anteriores se observaron en los contenidos de clorofila total, ya que representa la suma de las clorofilas a y b (Figura 6.4).

En contraste *A. striata*, con hojas menores a 20 cm, también del subgénero *Littaea*, el contenido de clorofila a y b no cambió ($P > 0.05$) a lo largo de sus hojas y los valores fueron menores en la base (con 5.4 y 2.5 mg de clorofila a y b en 100 mg^{-1} tejido fresco) y en el ápice (con 8.7 y 2.8 mg de clorofila a y b en 100 mg^{-1} tejido fresco) en comparación con *A. lechuguilla* (Figura 6.4).

En las especies del subgénero *Agave* sin restricción de humedad, los contenidos de clorofila total, por tanto los de las clorofilas a y b, en la base de las hojas fueron de 7.5 mg de clorofila 100 mg^{-1} tejido fresco en promedio. Los incrementos ($P \leq 0.05$) hacia el ápice fueron variables entre las especies, entre los valores mayores están los de la clorofila total (25.81 y 27.85 mg 100 mg^{-1} tejido fresco) para *A. angustifolia* y *A. salmiana* con longitud foliar de 52 y 27 cm respectivamente y los valores respectivos de clorofila a y b, en el ápice de *A. aspérrima* (23.9 mg 100 mg^{-1} tejido fresco), con hojas relativamente cortas (24 cm) y en *A. cupreata* y *A. americana* (19 y 20.7 mg 100 mg^{-1} tejido fresco) con longitudes de hoja de 28 y 39 cm respectivamente (Figura 6.5).

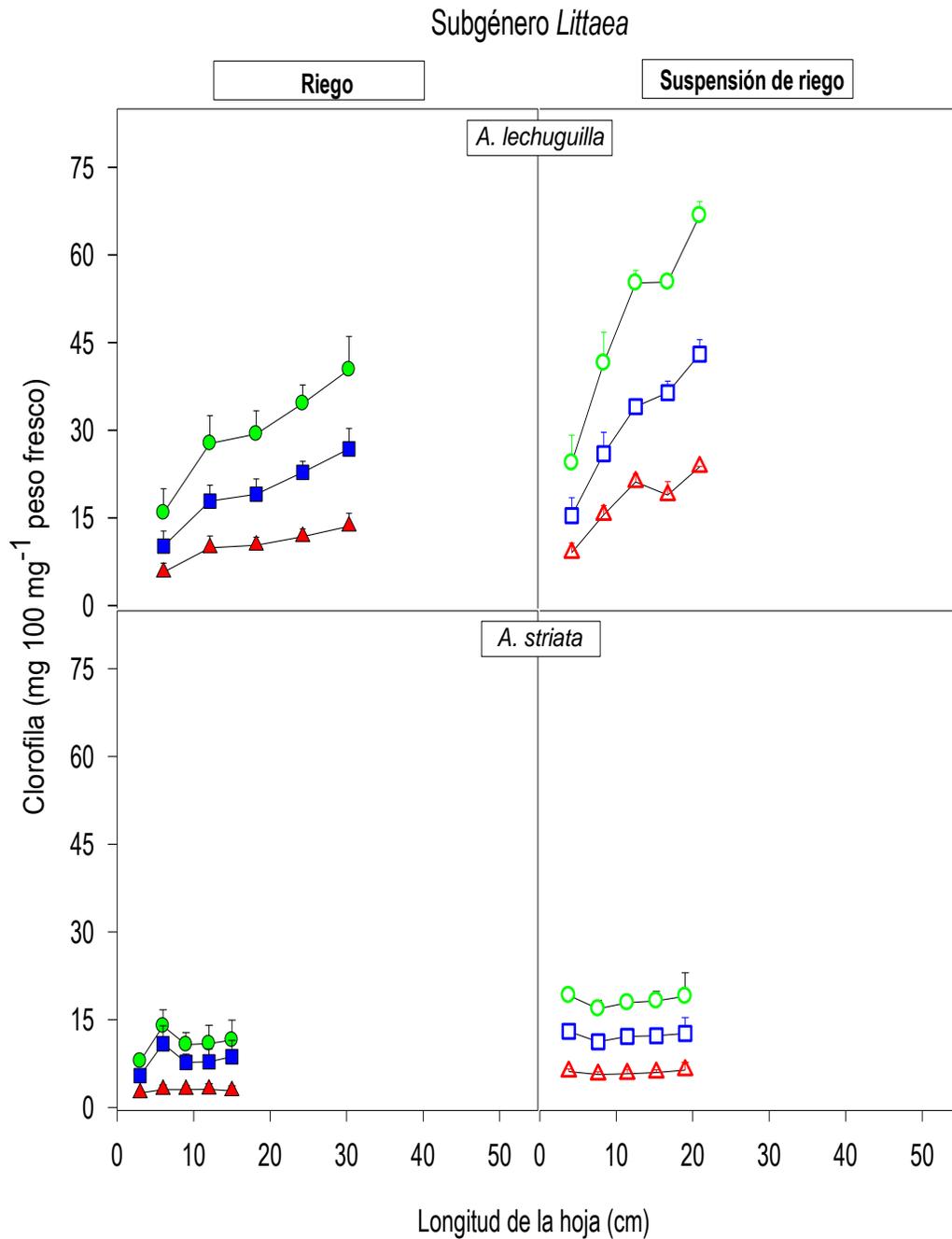


Figura 6.4. Contenido de clorofila (+e.e.) de la base al ápice de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o restringido durante 1 año y ocho meses, en condiciones de invernadero. Clorofila a (■, □), b (▲, △) y total (●, ○) (n=3).

Subgénero *Agave*

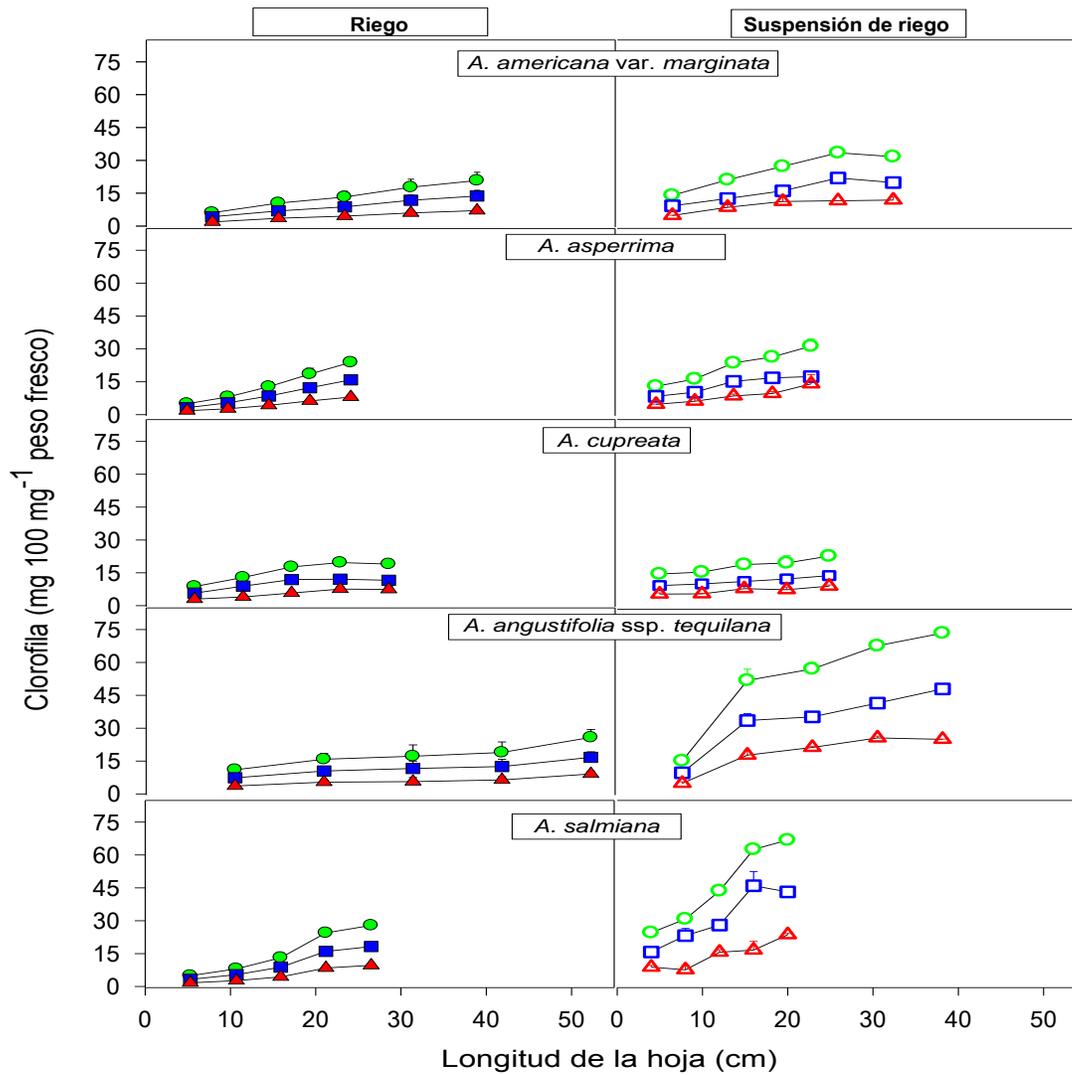


Figura 6.5. Contenido de clorofila (+e.e.) de la base al ápice de las hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal o restringido durante 1 año y 8 meses, en condiciones de invernadero. Clorofila a (■, □), b (▲, △) y total (●, ○) (n=3).

Con la restricción de humedad se mantuvo el incremento del contenido de clorofila de la base al ápice de las hojas en la mayoría de las especies de ambos subgéneros, las excepciones fueron *A. striata* y la clorofila b en *A. cupreata*, similar a lo sucedido en el caso de las plantas con riego. Los incrementos fueron diferentes entre las especies, entre los tipos de clorofilas y contrastaron con los de las plantas con riego. La restricción de humedad disminuyó el crecimiento longitudinal de las hojas en proporciones variables, entre 1.2 y 14 cm en *A. asperrima* y *A. angustifolia*; por lo que, en parte las diferencias en el incremento de la clorofila a lo largo de la hoja pudo haber sido consecuencia de los cambios en el crecimiento foliar (Figuras 6.4 y 6.5).

El incremento del contenido de clorofila (a, b y total) a lo largo de las hojas observadas en este estudio, concuerda con los resultados de Ruiz *et al.* (2007) en plantas jóvenes, de seis meses de edad de *A. salmiana*, mantenidas con riego y con restricción de humedad, así el ápice presentó el doble de clorofila que la base foliar y en el tercer período sin riego incrementó la clorofila a y b. En el estudio realizado por Casierra *et al.* (2012), estos autores encontraron que en plantas de caléndula, el promedio de clorofila total en las hojas de la parte baja del dosel fue menor que el de las hojas de la parte alta de la planta, con mayor iluminación. La intensidad de la luz tiene una marcada influencia sobre la síntesis y la destrucción de la clorofila. Por tanto, pueden existir variaciones en la incidencia de la intensidad de la luz entre la base y la parte superior de la hoja de una misma planta, debido a sus características anatómicas ya que posiblemente el ápice foliar recibe una mayor irradiación que la base foliar pudiendo afectar el contenido de clorofila.

Con la finalidad de conocer el efecto del riego y de la restricción de humedad en el contenido de clorofila de las especies de *Agave*, se obtuvieron los promedios del contenido de clorofila de las cinco secciones de las hojas; los promedios de las plantas con riego se compararon con los de las plantas mantenidas con restricción de humedad (Figura 6.6 A). Con riego el contenido de clorofila contrastó ampliamente en las especies del subgénero *Littaea*. Así, *A. striata* tuvo menos del doble de clorofila que *A. lechuguilla*; además, estas especies fueron las que presentaron el contenido menor y mayor de clorofila entre las siete especies evaluadas con riego. Las especies del

subgénero *Agave* tuvieron contenidos de clorofila similares entre sí o con diferencias pequeñas (Figura 6.6 A).

Con deficiencia de humedad las diferencias ($P \leq 0.05$) de los contenidos de clorofila (a, b y total) entre las especies del subgénero *Littaea* se potenciaron, respecto a la condición con riego, ya que, aunque el contenido de clorofila incrementó en ambas especies *A. lechuguilla* acumuló más del doble que *A. striata* (Figura 6.6 B).

Las especies del subgénero *Agave* también incrementaron el contenido de clorofila con la restricción de humedad, en comparación con la condición de riego. Los incrementos fueron diferentes entre las especies, la que tuvo incrementos menores fue *A. cupreata* (alrededor de 10%) y contrastó con las otras del mismo subgénero. Las especies que tuvieron incrementos mayores del contenido de clorofila por efecto de la restricción de humedad fueron *A. salmiana* y *A. angustifolia*, pues casi triplicaron el contenido de clorofila (Figura 6.6 B).

Los efectos de la restricción de humedad y de otros factores que generan estrés en las plantas también son evidenciados con los cambios en el índice clorofila a/b y carotenoides (Anjum *et al.*, 2003 y Farooq *et al.*, 2009). En el presente estudio, las plantas de *Agave* spp. con riego, el índice de clorofila a/b fue menor para *A. cupreata* (1.8), y el mayor fue para *A. striata* (2.8). Con la restricción de humedad los valores del índice disminuyeron en la mayoría de las especies, con excepción de *A. salmiana*, y el mínimo y máximo cambió entre las especies; en esta condición *A. asperrima* tuvo 1.6 y *A. striata* 2.1. Estos resultados indican que el incremento de clorofila en *Agave* spp. debido al déficit de humedad es desigual entre los dos tipos de clorofila y que el aumento es mayor en la clorofila a.

El reajuste en la proporción de los contenidos de los dos pigmentos, de acuerdo al nivel de estrés, se puede entender como una respuesta típica de plasticidad fotosintética, se explica por la activación de los pigmentos accesorios cuando el funcionamiento de los pigmentos activos se ve disminuido, de tal forma que la combinación de ambos facilita la captación de luz y la capacidad fotosintética de la planta en condiciones de estrés (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

También podría indicar que la falta de humedad en el suelo pudo haber afectado el tamaño de la antena que cosecha la luz de las plantas de estas especies y presentan

una capacidad disminuida para la utilización de la energía solar en la fotosíntesis (Flexas y Medrano, 2002).

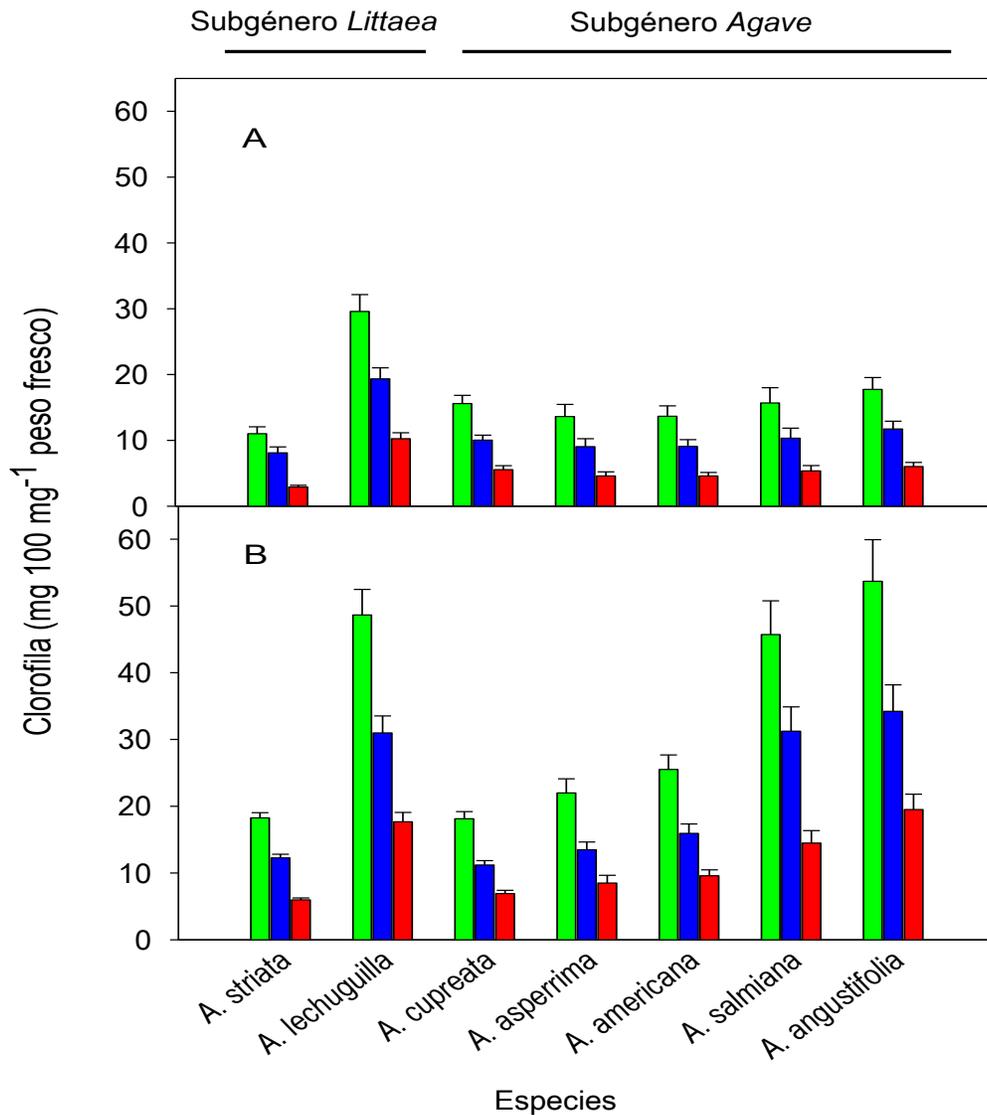


Figura 6.6 Contenido de clorofila total (+ e.e; barras color verde), clorofila a (barras color azul) y clorofila b (barras color rojo) en hojas de plantas de *Agave* spp. de 2 años de edad, con riego semanal (A) y su suspensión durante 1 año y 8 meses (B), en condiciones de invernadero. Cada barra es el promedio de cinco secciones a lo largo de la hoja (n=15).

Las respuestas de las plantas de *Agave* spp. a la restricción de humedad en el suelo, posiblemente se relacionan con modificaciones morfológicas y bioquímicas de las hojas de cada especie. Las plantas de *Agave* se caracterizan por poseer hojas suculentas, con forma, longitud, grosor y color diferente, dependientes de la especie y de la edad de la planta (Gentry, 1982; García-Mendoza, 2007). Las características anatómicas contrastantes, pueden presentarse en hojas de la misma planta que son expuestas a regímenes de luz diferentes; esto indica que una misma hoja puede presentar diferencias morfoanatómicas por sus adaptaciones a microambientes diferentes (Taiz y Ziger, 2010). Además, la orientación de la hoja modula la absorción de la luz y son expuestas a diferentes espectros y cantidades de luz, dependiendo de su ubicación en la planta, lo que repercute en la concentración de pigmentos fotosintéticos. Así, algunos ambientes, como los de los desiertos con “exceso” de luz pueden dañar las hojas, aunque tengan características anatómicas que les permite reducir 40 % la absorción de la luz, como presencia de espinas, glándulas de sal y ceras epicuticulares; además, la orientación y ubicación de los cloroplastos puede reducir la cantidad de luz absorbida por la hoja en 15 % (Taiz y Zeiger, 2010).

Campos (2012) indicó que plantas jóvenes de *A. salmiana* presentaron incremento del contenido de clorofila b en el día 45 sin riego, y la proporción de clorofila a/b presentó decrementos en comparación con el testigo a los 45 y 114 d de estrés sin riego. Sestak y Vaclavick (1965) señalaron que el contenido de clorofila puede incrementarse con el déficit hídrico; también, otros autores observaron efectos similares en plantas de cebolla, cártamo, trigo y sésamo (Beeflink, *et al.*, 1985; Salehi, *et al.*, 2002; Movahhedy, *et al.*, 2004; Mensha, *et al.*, 2006). El aumento de clorofila está asociado con el incremento significativo de carotenoides (pigmentos accesorios), los que absorben la energía de la luz y la transfirieren a la clorofila, con lo que protegen al aparato fotosintético de los daños por la fotoinhibición (Smirnoff, 1989; Munné-Bosch y Alegre, 2000; Jaleel *et al.*, 2009; Acar *et al.*, 2001).

6.6 Conclusiones

La supervivencia y crecimiento de las plantas de *Agave* spp. expuestas a humedad limitada depende de su capacidad para desarrollar mecanismos de adaptación y tolerancia a factores que generan estrés. El déficit de humedad prolongado en plantas jóvenes de maguey altera o genera ajustes en la estabilidad, integridad y funcionalidad de las membranas celulares que les permite sobrevivir a esa condición durante 1 año y 8 meses. Otros ajustes suceden en los procesos relacionados con la síntesis, degradación y tasas de renovación de los pigmentos fotosintéticos, que les permiten a estas especies continuar realizando la fotosíntesis y mantener el crecimiento.

6.7 Literatura citada

- Acar, O.; Türkan, I.; Özdemir, F. 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Acta Physiology Plant.* 3: 351–356.
- Almesamani, M. 2012. Physiological parameters for evaluating drought tolerance in durum wheat varieties grown in the field in Syria. *Journal of Biology and today's world.* 1(2): 122-141.
- Amooaghaie, R. 2011. Role of polyamines in the tolerance of soybean to water deficit stress. *World Academy of Science, Engineering and Technology.* 56: 498-502.
- Anjum, F.M.; Yaseen, E.; Rasul, A.; Wahid.; Anjum, S. 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pakistan. Journal of Agricultural Science.* 40: 45-49.
- Ashraf, M.Y.; Azmi, A.R.; Khan, A.H.; Ala, S.A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under soil water deficits. *Acta Physiology of Plant.* 16: 185-191.
- Bajii, M.; Kinet, J.M.; Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 00: 1-10.

- Beeflink, W.G.; Rozema, J.; Huiskes, A.E.L. 1985. Ecology of Coastal Vegetation. 2nd Ed. W. Junk Publication, USA, 640p.
- Blum, A. 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. *Euphytica* 100: 77-83.
- Borland, A.M.; Griffiths, H.; Hartwell, J.; Smith, J.A. 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany*. 60, No. 10, 2879-2896.
- Cambrón, S.V.H.; España, B.M.L.; Sánchez, V.N.M.; Sáenz, R. C.; Sánchez V.N.M.; Sáenz, R.C.; Vargas, H.J.J.; Herrerías, D.Y. 2011. Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 17(2): 253-260.
- Campos, G.H. 2012. Cambios en la fotoquímica, intercambio de gases y crecimiento por estrés hídrico y recuperación de una planta tipo C₃ y una MAC. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 230p.
- Casierra, P.F.; Ávila, L.O.F.; Riascos, O.D.H. 2012. Cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas Agrarios*. 17(1): 60-71.
- Chaves, M.M.; Pereira, J.S.; Maroco, J.; Rodrigues, C.P.P.; Osorio, R.M.L.; Carvatho, I.; Faria, T.; Pinheiro, C. 2002. How plants cope with water stress in the field photosynthesis and growth? *Annals of botany*. 89: 907-916.
- Da Silva, J.M.; Arrabaca, M.C. 2004. Photosynthetic enzymes of the C-4 grass *Setaria sphacelata* under water stress: A comparison between rapidly and slowly imposed water deficit. *Photosynthetica*. 42: 43.
- Estill, K.; Delaney, R.H.; Smith, W.K.; Ditterline, R.L. 1991. Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. *Crop Science*. 31: 1229-1233
- Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D.; Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy and Sustainable Development*. 29: 185-212.

- Flexas, J.; Medrano, H. 2002. Energy dissipation in C₃ plants under drought. *Functional Plant Biology*. 29, 1209-1215.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5nd Ed. Instituto de Geografía. UNAM. México, D.F. 90p.
- García-Mendoza, A.J. 1998. Con sabor a maguey. Guía de la Colección Nacional de agavaceas y nolinaceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM. Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México. México, D.F., México.
- García-Mendoza, A.J. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* 87. 14-23p
- García, V.X.; García, M.E.; Rascon, C.Q.; Herrera, E.L.; Aguado, S.G.A. 2005. Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. *Journal of Plant Physiology*. 162: 650-661.
- Gentry, H.S. 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona press. Tucson Arizona. 670p.
- Geravandi, M.; Farshadfar, E.; Kahrizi, D. 2011. Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology*. 58(1): 69-75.
- Gholamin, R.; Khayatnezhad, M. 2010. Study of some physiological responses of drought stress in hexaploid and tetraploid wheat genotypes in Iran. *Middle-East Journal of Scientific Research* 6(3): 246-250.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. *In: Physiological and biochemical indicators for stress tolerance*. Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Huang, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Inskeep, W.P.; Bloom, P.R. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80 % acetone. *Plant Physiology* 77: 483-485.
- Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Al-Juburi, J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology*. 11:100-105.
- Kocheva, K.; Lambrevé, P.; Georgieva, G.; Goltsevo, V.; Karsbalivad, M. 2004. Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. *Bioelectrochemistry*. 63: 121-124.

- Mensha, J.K.; Obadoni, B.O.; Eroutor, P.G.; Onome, I.F. 2006. Simulated flooding and drought effects on germination, growth and yield parameters of Sesame (*Sesamum indicum* L.). African Journal of Biotechnology. 5: 1249-1253.
- Moreno, F.L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. Agronomía Colombiana 27(2): 179-191.
- Movahhedy, D. M.; Modarres S. S.; Soroush, Z. A.; Jalali, M. 2004. Change in proline, total soluble sugar, SPAD, and chlorophyll fluorescence in winter safflower cultivar under drought stress and foliar application of zinc and manganese. Desert. 9(1): 93-107.
- Munné-Bosch, S.; Alegre, L. 2000. The significance of β -carotene, α -tocopherol and the xanthophyll cycle in droughted *Melissa officinalis* plants. Australian Journal of Plant Physiology. 27: 139–146.
- Nobel, P.S.; Pimienta-Barrios, E.; Zañudo, H.J.; Ramírez-Hernández, B.C. 2002. Historical aspects and net CO₂ uptake for cultivated Crassulacean acid metabolism plants in México. Annals of Applied Biology. 140: 133-142.
- Osmond, C.B.; Björkman, O.; Anderson, D.J. 1980. Physiological processes in plant ecology. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York. 36: 468p.
- Prášil, I.; Zámečník, J. 1998. The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. Environmental and Experimental Botany. 40: 1-10.
- Ramírez, T.H.M. 2010. Características bioquímico-fisiológicas de la germinación y desarrollo de plantas jóvenes de maguey (*Agave*) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato. Tesis de doctorado, Botánica, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 111 p.
- Ramírez-Tobías, H.M.; Peña-Valdivia, C.B.; Aguirre, J.R. 2013. Biochemical and physiological responses of *Agave* spp. to moisture restriction. Botanical Sciences. En prensa.

- Rong-Hua, L.; Pei-Guo, G.; Baum, M.; Grando, S.; Ceccarelli, S. 2006. Evaluation of Chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Sciences in China*. 5(10): 751-757.
- Ruiz, G.; Peña-Valdivia, C.; Trejo, L.; Sánchez, A. 2007. Reacción fisiológica del maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) a la sequía intermitente. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad (LUZ)*. 24 (Supl). 1: 318-325.
- Salehi, M.; Koocheki, A.; Nassiri, M. 2002. Leaf nitrogen and SPAD reading as indicator for drought stress in weath. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 1(2): 199-205.
- Sánchez-Urdaneta, A.B.; Peña-Valdivia, C.B.; Trejo, C.; Aguirre R.J.R.; Cárdenas E.; Galicia J.A.B. 2003. Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado bajo déficit de humedad. *Interciencia*. 28: 597-603.
- Sánchez-Urdaneta, A.B.; Peña-Valdivia C.B.; Aguirre, R.J.R.; Trejo, C.; Cárdenas E. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck. *Interciencia*. 29: 626-631.
- Sestak, Z.; Vaclavick, J. 1965. Water stress in plants. In: Slavik, B. (eds), *Academy of Sciences of the Czech*. Prague. 210-216 p.
- Smirnoff, N.; Cumbes, Q.T. 1989. Hydroxyl radicals scavenging activity of compatible isolates. *Phytochemistry*. 28: 1057–1060.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. 5nd Ed. Sinauer Associates Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts U.S.A. 782p.
- Tsougkrianis, N.; Peña-Valdivia, C.B.; Trejo, C.L.; Molina, J.G.; Sánchez-Urdaneta, A. 2007. Permeabilidad de las membranas radicales de maíz de alta calidad protéica (QPM) en sustrato deshidratado. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 24 (Supl). 1: 260-264.
- Yordanov, I.; Velikova, V.; Tsonev, T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, Special issue*. 187-206.
- Zhang, Y.; Chen, J.M.; Thomas, S.C. 2007. Retrieving seasonal variation in chlorophyll content of overstory and understory sugar maple leaves from leaf-level hyperspectral data. *Canadian Journal of Remote Sensing*. 33(5): 406-415.

7. DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES

La domesticación de plantas es un proceso resultante de la combinación de la evolución natural y la selección empírica practicada por los humanos, mediante el cual se derivan los cultivos domesticados a partir de sus progenitores silvestres. En general, se entiende que la domesticación de las plantas es un proceso dinámico y en curso (Gepts, 2004). Así, en las especies de *Opuntia* se ha logrado identificar con base en sus características morfológicas un gradiente de domesticación (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), que probablemente también, son el resultado de la expresión de sus características biofísicas, químicas y fisiológicas y que podrían explicar los patrones de diversidad intraespecífica y diferenciar los acervos genéticos.

Los resultados de la presente investigación (Capítulo 2) indican que los nopalitas de ocho variantes pertenecientes a cinco especies de *Opuntia*, cultivados con riego, presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las características biofísicas y químicas, pero sólo algunas cambiaron como la firmeza, potencial osmótico, conductividad eléctrica de tejido fresco y permeabilidad relativa de las membranas celulares, siguiendo el gradiente de domesticación (Figuras 2.3, 2.9, 2.12, y 2.14).

El incremento de la firmeza y permeabilidad de las membranas celulares, siguió el gradiente de domesticación. Las diferencias de la firmeza parecen estar relacionados con los de la succulencia de los vegetales (depende del agua del tejido), del arreglo de las fibras asociado con los haces vasculares (López-Palacios *et al.*, 2010), y del grosor de la cutícula (Betancourt-Domínguez *et al.* 2006), sin embargo, López-Palacios *et al.* (2010) indicaron que esta característica parece depender más de la lignificación hipodérmica de la pared celular y de la cadena de drusas, que de las características de la cutícula y la epidermis. La firmeza mayor de los nopalitas de *O. ficus-indica* podría estar relacionada con la calidad durante la poscosecha, pues los nopales cosechados son apilados en cestas o contenedores para ser transportados a los mercados (Cantwell *et al.*, 1992). El mantenimiento de la permeabilidad menor de las membranas celulares de la especie silvestre, es interpretada como una estabilidad mayor de esas estructuras y quizá como un carácter que les permite mayor tolerancia a los ambientes extremos de su hábitat, en comparación con las especies domesticadas. Resulta

sobresaliente que estas diferencias hayan sido detectadas y fueran evidentes en los nopalitos de las plantas con riego, pues no es una condición común para las especies silvestres. En contraste con las características biofísicas, el Ψ_s disminuyó con el gradiente de domesticación. Las diferencias de este Ψ_s se relacionan con las de los iones, pues un Ψ_s elevado corresponde con concentraciones iónicas bajas del tejido y se relaciona con los mecanismos de absorción y translocación eficientes de agua y con la acumulación mayor de biomasa seca (Molinos *et al.*, 2004). Las características fisiológicas anteriormente mencionadas son innatas de cada especie, los resultados del estudio confirman la capacidad diferente de los nopalitos en crecimiento de las especies evaluadas para absorber la humedad del suelo. Esto puede suceder mediante la optimización de los procesos de absorción de agua, de eficiencia en su uso, o ambos mecanismos.

El análisis de componentes principales (CP) mostró que la principal característica que definió a los CP1 y al CP2 fue la permeabilidad de las membranas celulares y el contenido de sólidos solubles totales. Ya que estos dos CP permitieron la separación de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* como entidades independientes, se concluyó que esas características biofísico-fisiológicas son igualmente útiles que las características morfológicas, evaluadas por Reyes-Agüero *et al.* (2005) para separar las especies silvestres de las domesticadas. Pero, no son adecuadas para separar las especies con grado intermedio de domesticación (Cuadro 1, Figura 2.15).

Estos resultados confirman que con la domesticación del género *Opuntia* algunas modificaciones biofísico-fisiológicas ocurren, además de las morfológicas. Otros autores han señalado que en los nopalitos los cambios debidos a la domesticación se presentan como incremento del tamaño, modificaciones del sabor, la forma, el color, la textura, la cantidad y calidad de mucilago, disminución de pectinas y hemicelulosas, pérdida de sustancias tóxicas y/o amargas, pérdida de los medios naturales de dispersión y de la germinación por estratos, cambios en la duración del ciclo de vida e incremento del rendimiento (López-Palacios *et al.*, 2012; Pickersgill, 2007; Schwanits, 1966). Todas o algunas de estas características permiten diferenciar a las especies en gradientes de domesticación desde el punto de vista evolutivo,

asociados a cambios en adaptación, mutaciones, hibridación, selección y otros procesos genéticos (Rosenthal y Dirzo, 1997).

Resultados similares, con contrastes incrementados, se obtuvieron en los nopalitos de las mismas especies de *Opuntia*, de plantas mantenidas con 60 d sin riego (Capítulo 3). Además de la firmeza y permeabilidad de las membranas celulares, en esta sección del estudio se observó que la acidez, los SST (acumulados a las 5:00 h) y el potencial de turgencia incrementaron con el nivel de domesticación; además, el Ψ_A y Ψ_s disminuyeron con el gradiente de domesticación. Los resultados presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las especies de los extremos del gradiente de domesticación y en algunas variables entre las demás especies del gradiente. Los resultados de esta sección del estudio permitieron confirmar el incremento de las características biofísico-fisiológicas de los nopalitos que parecen haberse modificado con la domesticación y que las diferencias entre las especies del gradiente de domesticación se magnifican cuando las plantas se mantienen con humedad restringida.

La humedad restringida incrementó la firmeza de los nopalitos el contenido de SST, en consecuencia la acumulación de solutos contribuyó al ajuste osmótico, como un mecanismo de tolerancia a la sequía que apoya el mantenimiento del contenido de agua en las células y tejidos y del turgor celular. Además, el incremento de los solutos intracelulares permitió que el Ψ_s celular disminuyera y se mantuviera la absorción de agua y la presión de turgencia celular, lo que podría contribuir a sostener los procesos fisiológicos, como la apertura de estomas, la fotosíntesis y el crecimiento (Serraj y Sinclair, 2002).

El Ψ_s y el Ψ_A de los nopalitos disminuyeron en el gradiente de domesticación. Estas respuestas fisiológicas a la disponibilidad hídrica muestran si las plantas logran el equilibrio necesario para llevar a cabo los procesos fisiológicos que les permiten sobrevivir a la restricción de humedad y los costos asociados con esta capacidad (Taiz y Zeiger, 2010).

Los valores altos del Ψ_T de las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* y de la especie domesticada *O. albicarpa* (valor atípico para esta especie)

(Figura 3.8) podrían indicar que estas especies están más adaptadas a subsistir en zonas propensas a las sequías en comparación con *O. ficus-indica* y *O. megacantha*.

La presión de turgor positiva juega un papel importante en el crecimiento celular, incrementa la rigidez mecánica de las células y tejidos y la abertura estomatal (Kramer, 1983; Taiz y Zeiger, 2010). Al contrario, el decremento del turgor inhibe el crecimiento y del cierre de los estomas, disminuye el espacio intercelular y cambia las propiedades de las membranas (Nonami, 1989).

Las diferencias de la permeabilidad de las membranas celulares entre las cinco especies, fueron mayores entre la silvestre *O. hyptiacantha* a la domesticada *O. ficus-indica* (Figura 3.13) además de relacionarse con diferencias en la tolerancia a los ambientes áridos y semiáridos propios del género al que pertenecen, mostraron indirectamente que existen diferencias en la composición celular (electrolitos) de los nopalitos de las especies silvestres y domesticadas.

El ritmo de fijación de CO₂ de los nopalitos, durante el día y la noche, expresado como contenido de ácido málico, tuvo la misma tendencia en nueve variantes de tres especies de *Opuntia* (Figuras 3.9). Esa tendencia es típica de las plantas MAC (Corrales *et al.*, 2004; Hernández-González y Briones, 2007; Rodríguez y Cantwell, 1988, Lüttge, 2002).

La especie *O. streptacantha* acumuló menos ácido málico en el ciclo de 24 h que la especie semidomesticada *O. megacantha* y domesticada *O. ficus-indica*. Este resultado apoya parcialmente la hipótesis planteada, pues la acidez no disminuyó directamente con la domesticación, aunque sí hubo diferencias entre las especies (Figura 3.10). Betancourt-Domínguez *et al.* (2006) también obtuvieron acidez mayor en nopalitos silvestres (con tamaño entre 14 y 22 cm) que en los de tres cultivares. Lo anterior nos permite suponer que las variaciones del contenido de ácido en los nopalitos puede ser resultado de factores genotípicos de las especies, cultivares y tejidos fotosintéticos de cada planta (López-Bucio *et al.*, 2000)

El conocimiento de los mecanismos de resistencia a factores generadores de estrés permite evaluar los procesos evolutivos involucrados en la adaptación de las plantas a los ambientes adversos y puede ayudar a anticipar la respuesta de las plantas al incremento de la adversidad asociada actualmente al cambio climático

global. También, este conocimiento puede usarse en la selección y mejoramiento de las especies (Peña-Valdivia *et al.* 2013). Durante la evolución las plantas desarrollan mecanismos para sobreponerse al estrés y continuar el crecimiento y supervivencia, y en este sentido las plantas como los nopales destacan.

Un número alto de los estudios relacionados con la domesticación de *Opuntia* se han orientado al análisis de sus rasgos morfológicos y agronómicos. Por esto es necesario abundar en los aspectos biofísicos, fisiológicos y bioquímicos que permitan conocer las reacciones de los nopales a los factores bióticos y abióticos de su ambiente de desarrollo.

Los magueyes (*Agave* spp.) como los nopales, desempeñan funciones ecológicas y económicas en las regiones áridas y semiáridas de América. Como consecuencia de la gran diversidad de usos de los magueyes, las presiones antropogénicas en tiempos prehistóricos y modernos en numerosas especies de *Agave* han generado impacto de magnitud variable en su demografía y genética de poblaciones. En la última década, un número creciente de estudios se han centrado en las características morfológicas, fisiológicas y genéticas del manejo *in situ* de las poblaciones y las prácticas de cultivo de las especies silvestres de plantas asociadas a los ambientes áridos (Figueredo y Nassar, 2011).

En este estudio se evaluaron características biofísicas y fisiológicas en siete especies de dos subgéneros de *Agave*, se usaron plantas jóvenes (menores a 4 años), cultivadas con riego y su suspensión durante 1 año y 8 meses, para conocer sus semejanzas y diferencias y sus reacciones variadas cuando crecen en suelo húmedo o deshidratado (Capítulos 5 y 6). Las variables evaluadas fueron la firmeza, el contenido de SST, ψ_s de tejido total, del parénquima y del clorénquima, contenido de clorofila y permeabilidad de la membrana celular de las hojas. Debido a la longitud diferente de las hojas entre las especies se realizaron las evaluaciones a lo largo de las hojas. Los resultados mostraron que sólo algunas variables, *i.e.* contenido de SST, ψ_s del parénquima y del clorénquima, cambiaron gradualmente y prácticamente ninguna fue homogénea a lo largo de las hojas (Figuras 5.7 y 5.9); además, las dos condiciones de humedad generaron efectos variables y fueron independientes de los subgéneros.

La firmeza foliar de los dos géneros *Litsea* y *Agave* mostraron un gradiente entre las especies para las dos condiciones de humedad en el suelo. *A. striata* mostró los valores menores y *A. aspérrima* y *A. cupreata* los mayores en las dos condiciones de humedad. Con la restricción de humedad la firmeza incrementó en todas las especies. El aumento de la firmeza foliar puede estar relacionada con cambios en la cutícula, pues es el primer tejido que interacciona con el ambiente y su integridad es afectada por factores genéticos, ambientales, fisiológicos y de manejo (Tafolla *et al.*, 2013). La disponibilidad restringida de humedad en el suelo y la evapotranspiración alta están relacionadas con el grosor mayor de la cutícula foliar que le confiere resistencia a los daños mecánicos; el grosor y resistencia de la cutícula dependen de sus componentes (lípidos solubles cuticulares) y proporciones (Petit-Jiménez *et al.*, 2007). Además, las hojas de los magueyes presentan fibras firmes, casi siempre rígidas, estiradas, cóncavas ascendentes u horizontales, esta característica les confiere firmeza. Los factores que afectan las propiedades mecánicas de las hojas entre las más importantes destacan el contenido de humedad, su madurez y del contenido y posición de las fibras (García *et al.*, 2010).

El contenido de SST incrementó con la disminución de la humedad, con excepción de *A. cupreata* y *A. angustifolia*, ambas especies del subgénero *Agave*. Las hojas de los magueyes de las plantas jóvenes suelen ser más suculentas (con menor contenido de materia seca) (Aguirre *et al.*, 2001). La suculencia puede variar a lo largo de la hoja, frecuentemente es mayor en la base, en la que puede haber una reserva mayor de agua, que en el centro y ápice foliar, como resultado el incremento en la cantidad de SST a lo largo de la hoja podría estar relacionado con la disminución de la suculencia, desde la base hacia el ápice foliar. Las diferencias mayores del contenido de SST entre las especies se presentó en el subgénero *Litsea*, la especie *A. striata* presentó 25 % más SST que *A. lechuguilla* en las plantas con riego (Figura 5.4) y *A. lechuguilla* duplicó su contenido con la ausencia del riego. En el género *Agave*, los contrastes mayores se observaron entre *A. salmiana* con el valor menor y *A. cupreata*, *A. aspérrima* y *A. americana*, con los valores más altos en la condición con riego. En *A. salmiana*, *A. angustifolia* y *A. aspérrima* incrementaron al doble el contenido de SST por la ausencia del riego. La humedad menor (épocas secas) incrementa los SST en los

tejidos porque se incrementa la concentración de algunos componentes químicos, como los azúcares y los ácidos orgánicos (Bautista-Justo *et al.*, 2003; Martínez *et al.*, 2012). Así, los resultados de este estudio permiten rechazar la hipótesis de que los cambios en la cantidad de SST de las hojas de *Agave* son independientes de la humedad del suelo y de la especie.

Las diferencias entre las siete especies evaluadas confirma la riqueza del género, pues reaccionan en forma diversa a los ambientes en los que crecen. De las 200 especies de *Agave* que se conocen 150 se encuentran en México y esta gran diversidad concuerda con la riqueza de hábitats en este país (Gentry, 1982) y diversidad de la vegetación (xerófita, pastizales, matorrales, bosques y otras)

Entre las características contrastantes de las especies de *Agave* está la intensidad del cambio del ψ_s del tejido foliar total en la misma hoja, entre las especies y en reacción al riego y a su suspensión (Figura 5.5). Además, los cambios del ψ_s en los tejidos foliares separados (clorénquima y parénquima) a lo largo de las hojas de las plantas con riego contrastaron con los del tejido foliar completo en prácticamente todas las especies (Figuras 5.9 y 5.7). Los factores ambientales, como la precipitación, la temperatura, la intensidad de luz y el contenido de sales del suelo afectan el ψ_s de los tejidos (Liu *et al.*, 2003), los resultados del estudio indican que la especie es uno de los factores con mayor efecto pues las plantas de este estudio crecieron en las mismas condiciones. El valor del ψ_s refleja la capacidad de las plantas para resistir las condiciones ambientales desfavorables para un gran número de especies. El ψ_s menor de *A. lechuguilla* y *A. salmiana*, relacionado con la acumulación neta de solutos celulares, después de más de año y medio sin riego indica que puede ser uno de los mecanismos que les permite a estas especies tolerar la deshidratación del suelo. Otros efectos de la falta de humedad en el suelo, como el crecimiento de los órganos no-fotosintéticos (raíces), que favorece la capacidad de absorción de la humedad, la disminución del crecimiento de las estructuras del vástago o la abscisión de algunas de ellas en las mismas especies de este estudio han sido documentados (Ramírez-Tobías *et al.*, 2012). Las respuestas fisiológicas a la disponibilidad hídrica baja deben conducir al equilibrio entre los beneficios acumulados para llevar a cabo los procesos fisiológicos y los costos asociados con dicha capacidad (Taiz y Zeiger, 2010).

La restricción de humedad durante 1 año y 8 meses afectó las plantas de todas las especies, las modificaciones biofísico-fisiológicas evaluadas en este estudio, y seguramente otras no evaluadas, permitieron a las plantas sobrevivir esa condición extrema. Al finalizar el periodo de restricción de humedad el riego modificó la apariencia de las plantas, aunque no se evaluaron las actividades fisiológicas, las hojas perdieron la flacidez y continuaron su crecimiento aparente.

La caída del ψ_s del parénquima a lo largo de la hoja de las plantas con suspensión de riego fue lineal y en promedio en *A. angustifolia* y *A. salmiana* la disminución fue la mayor entre las especies (Figura 5.7). Esta disminución está relacionada con el decremento del Ψ_A foliar y el incremento en la concentración de los solutos disueltos en las células de la base al ápice foliar. El ajuste del Ψ_s permite el mantenimiento del turgor de las células y evitan su plasmólisis. Zañudo-Hernández *et al.* (2010) señalaron que la succulencia de sus tallos de plantas de poblaciones silvestres de *O. robusta* y plantas cultivadas de *O. ficus-indica* creciendo en diferentes ambientes, les permitió mantener su actividad fotosintética durante 5 meses antes de las lluvias. Así, cada especie tiene reacciones propias para la restricción de humedad y mantiene la actividad metabólica y fisiológica necesaria para su crecimiento. Las plantas suculentas, como los nopales y los magueyes, almacenan agua en el tejido del parénquima (succulencia de los órganos fotosintéticos) que junto con la expresión del metabolismo fotosintético MAC potencian la asimilación de CO_2 en el período de sequía.

El ψ_s del clorénquima en las plantas con y sin riego, de todas las especies de *Agave* tuvo comportamiento similar al del parénquima (Figuras 5.9 y 5.7).

El tejido del clorénquima de las hojas de *Agave* se localiza debajo de la epidermis y se distingue como una capa de células de color verde intenso por la presencia de cloroplastos en sus células. En este tejido es donde se realiza la fotosíntesis. En las agaváceas, la succulencia permite el movimiento de agua entre los tejidos principalmente desde el parénquima, en el que se almacena el agua, al clorénquima debido al decremento de solutos en las células del parénquima; esto mantiene una tasa de absorción positiva de CO_2 durante la sequía (Nobel, 2006) Lo anterior se interpreta como función de protección del clorénquima, que es el tejido en el

que se realiza la fotosíntesis, y aunque el órgano fotosintético se deshidrate parcialmente la funcionalidad del clorénquima es asegurada. Este comportamiento se ha observado en plantas de *Peperomia magnolieafolia*, *O. ficus-indica*, la epífita *Tillandsia ionantha* y otras 30 epifitas (Nobel, 2006). En el presente estudio se observó que ψ_s del parénquima y del clorénquima fue diferente entre los subgéneros, las especies y las condiciones de riego (Figuras 5.9 y 5.7); lo que confirma que las características de succulencia de las hojas de las especies de *Agave* son diferentes.

En promedio la permeabilidad relativa de las membranas celulares de 60 % de las especies de *Agaves* es un carácter notablemente estable, ya que no presentaron diferencias significativas con el riego y su suspensión (Figura 6.3). Aunque el resto de las especies (*A. striata*, *A. salmiana* y *A. cupreata*) mostraron cierta alteración en la funcionalidad de las membranas celulares, puede asegurarse que fue insuficiente para provocar la muerte de las hojas o de la planta.

Las alteraciones en las membranas celulares inducidas por la deshidratación pueden estar relacionadas con cambios en los lípidos y proteínas que contiene, esto modifica la estructura y composición, y en general las funciones celulares (Huang, 2006). La liberación de electrolitos se encuentra también relacionada con otras características del tejido y modificadas por el estrés hídrico, como el potencial osmótico y la acumulación de solutos orgánicos. La permeabilidad relativa de las membranas celulares en relación con el riego y la restricción de humedad varió entre los subgéneros y especies de *Agave*, así, la naturaleza e intensidad de las respuestas de las plantas a un estrés particular pueden estar relacionadas con las diferencias genéticas entre las especies, su distribución ecológica y geográfica. *A. americana* presentó menor permeabilidad de membranas celulares en ambas condiciones de humedad. Esta característica probablemente se deba a su condición mayor de humanización, respecto a las demás especies, y su crecimiento en climas secos o fríos y en diferentes tipos de suelos, donde ha sido distribuida por el hombre (Ramírez-Tobias *et al.*, 2012).

También fue sobresaliente la heterogeneidad del contenido de clorofila (a, b y el total) a lo largo de las hojas, los valores promedio entre las especies y su modificación o relativa estabilidad por la restricción de humedad (Figuras 6.4 y 6.5). Ruiz *et al.*

(2007) y Casierra *et al.* (2012) señalaron que en plantas de *A. salmiana* y caléndula el incremento de clorofila a lo largo de la hoja se debe a que el ápice foliar recibe una mayor cantidad de irradiación que la base de la hoja, por su disposición en la planta. Algunas especies mantienen contenido alto de clorofilas cuando enfrentan deficiencia de humedad, y ese contenido se asocia con un incremento significativo de carotenoides (pigmentos accesorios), que son reconocidos como protectores del aparato fotosintético, pues absorben parte de la energía de la luz y la transfirieren a la clorofila, para la protección (Jaleel, *et al.*, 2009).

Asimismo, Havaux (1992) citado por González *et al.* (2001) observó que el rendimiento cuántico máximo del PSII en condiciones de intensidad luminosa y temperatura altas disminuyó en una menor magnitud en plantas con estrés hídrico que en plantas con riego normal y sugirió que el estrés hídrico ayuda a disminuir el daño por fotoinhibición del PSII en las plantas que permanecen en ambientes con temperaturas altas. Estas respuestas parece que se relacionan con modificaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas que pueden diferenciar a las especies de *Agave* en la forma de enfrentar el déficit de humedad prolongado; pues la gran riqueza de especies dentro del género en una gran diversidad de ambientes da como resultado una plasticidad fenotípica amplia (Gianoli, 2004). Los cambios del contenido de clorofila puede ser efecto indirecto de otras modificaciones, como el engrosamiento de la cutícula, que reduce la transpiración y puede incrementar la reflexión de la luz (Taiz y Zeiger, 2010).

Los estudios como el presente, con enfoques diversos, que incluyan variabilidad morfológica, fisiológica, bioquímicas y genéticas en poblaciones silvestres, humanizadas y domesticadas pueden contribuir al conocimiento actual de los procesos de evolución y domesticación de las plantas. También pueden representar una base sólida y formal para la selección de variantes para iniciar los procesos de domesticación experimental, realizar fitomejoramiento con germoplasma silvestre y para los programas conservación de los recursos genéticos.

8. Literatura citada

- Aguirre, R.J.R.; Charcas, S.H.; Flores, F.J.L. 2001. El maguey mezcalero potosino. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 1-87.
- Bautista-Justo, M.L.A.; Parra-Negrete, J.E.; Barbosa, Z.; Gamiño, S. 2003. Contenido de azúcares reductores en hojas de agave azul (*Agave tequilana* Weber) de distintos orígenes y edades. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. 3: 17-21.
- Betancourt-Domínguez, M.A.; Hernández-Pérez, T.; García-Saucedo, P.; Cruz-Hernández, A.; Paredes-López, O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). Plant Food Human Nut 61: 115.
- Casierra, P.F.; Ávila, L.O.F.; Riascos, O.D.H. 2012. Cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. Temas Agrarios. 17(1): 60-71.
- Cantwell, M.; Rodríguez-Félix, A.; Robles-Contreras.1992. Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. Scientia Horticulturae, 50: 1-9.
- Corrales, J.; Peña-Valdivia, C.B.; Razo, M.; Sánchez, H. 2004. Acidity modification associated to hour of the day of cut and elapsed time since harvest, and pH-buffer capacity in nopalitos (*Opuntia* spp.). Postharvest Biology and Technology 32(2) 169-174.
- Figueredo, C.J.; Nassar, J.M. 2011. Population genetics of *Agave cocui*: evidence for low genetic diversity at the southern geographic limit of genus *Agave*. Journal of Heredity 102(3): 306-314.
- García, M.R.F.; Caballero, C.M.; Silva, S.L. 2010. Ensayos a compresión en hojas de agave *Angustifolia* Haw. Memorias del XVI Congreso Internacional Anual de la Somim, 22 al 24 de septiembre, 2010. Monterrey, Nuevo León, México. 10 p.
- Gentry, H.S. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona Press. Tucson, Az. U.S.A. 670p.

- Gepts, P. 2004. Crop Domestication as a long-term selection experiment. Department of Agronomy and Range Science. University of California. 24: 1-44.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *In: Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas.* Ed. Hernán Marino Cabrera. Valparaíso, Chile. 13-25p.
- González, J.; Pastenes, C.; Horton, P. 2001. Efecto de la temperatura, el estrés hídrico y luminoso sobre la heterogeneidad del fotosistema II en cuatro variedades de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Chilena de Historia Natural.* 74: 779-791.
- Hernández-González, O.; Briones, V. O. 2007. Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. *Journal of Botany* 94(8): 1344-1351.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. *In: Cellular membranes in stress sensing and regulation of plant adaptation to abiotic stress.* Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Huang, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Al-Juburi, J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology.* 11:100-105.
- Kramer, P. J. 1983. Drought, stress and the origin of adaptations. *In: Adaptations of plants to water and high temperature stress.* Turner, N.C. and P.J. Kramer eds. Wiley-Interscience. New York. 7-20p p.
- Liu, M.Z.; Jiang, G.M.; Li, Y.G.; Niu, S.L.; Gao, L.M.; Ding, L.; Peng, Y. 2003. Leaf osmotic potentials of 104 plant species in relation to habitats and plant functional types in Hunshandak Sandland, Inner Mongolia, China. *Trees.* 17: 554-560.
- López-Bucio, J.; Nieto-Jacobo, M.F.; Ramírez-Rodríguez, V.; Herrera-Estrella, L. 2000. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science.* 160: 1-13.
- López-Palacios, C.; Reyes-Agüero, J.A.; Ramírez-Tobias, H.M.; Juárez-Flores, B.I.; Aguirre-Rivera, J.R.; Yañez-Espinosa, L.; Ruíz-Cabrera, M.A. 2010. Evaluation of

- attributes associated with the quality of nopalito (*Opuntia* spp. and *Nopalea* sp.). Italian Journal of Food Science. 4(22): 423-431.
- López-Palacios, C.; Peña-Valdivia, C.B.; Reyes-Aguero, J.A.; Rodríguez-Hernández, A.I. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). Genetic Resources and Crop Evolution. 59(6): 1015-1026.
- Lüttge, U. 2002. Light-stress and crassulacean acid metabolism. *Phyton*. 40: 65-82.
- Martínez, R.S.; Trinidad, S.A.; Robles, C.; Galvis, S.A.; Hernández, M.T.M.; Santizó, R.J.A.; Bautista, S.G.; Santos, E.C.P. 2012. Crecimiento y sólidos solubles de *Agave potatorum* Zucc, inducidos por riego y fertilización. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35(1): 61-68.
- Molinos, S.C.; Monter, A.V.; Sánchez, G.P.; Alcántar, G.G.; Nieves Rodríguez M.M.; Ruiz, P.L.M. 2004. Efecto del potencial osmótico y contenido de Ca en el medio de cultivo sobre la distribución de Ca^{2+} y K^+ , producción de biomasa y necrosis apical de vid "R110". *Interciencia*. 29 (7): 384-388.
- Nonami, H.; Boyer, J.S. 1989. Turgor and Growth at Low Water Potentials. *Plant Physiology*. 89: 798-804.
- Novel, P.S. 2006. Parenchyma-Chlorenchyma water movement during drought for the Hemiepiphytic Cactus *Hylocereus undatus*. *Annals of Botany*. 97: 469-474.
- Peña-Valdivia, C. B.; J. R. Aguirre-Rivera; V. B. Arroyo-Peña. **2013**. El frijol: Síndrome de domesticación. Editorial del Colegio de Postgraduados. México. 198 p.
- Petit, D.; González, A.; González, G.; Sotelo, R.; Báez-Sañudo, R. 2007. Ultraestructura y permeabilidad de la cutícula durante la ontogenia del fruto de mango (*Mangifera indica* L.). V Congreso ibeamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones. 515-525.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: Insights from mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* 100: 925-940.
- Ramírez-Tobías, H.M.; Peña-Valdivia, C.B.; Aguirre, J.R. Reyes-Agüero, J.A.; Sánchez-Urdaneta, A.B.; Valle, G.S. 2012. Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with economic importance. *Plant Species Biology*. 2: 124-137.

- Reyes-Agüero, J.A.; Aguirre-Rivera, J.A.; R.; Flores-Flores, J.L. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484 p.
- Rodríguez, F.A.; Cantwell, M. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition*. 38: 83-93.
- Rosenthal, J.P.; Dirzo, R. 1997. Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defense against insects: Evidence from maizes and wild relatives. *Evolutionary Ecology*. 11: 337-355.
- Ruiz, G.; Peña-Valdivia, C.; Trejo, L.; Sánchez, A. 2007. Reacción fisiológica del maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) a la sequía intermitente. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad (LUZ)*. 24 (Supl). 1: 318-325.
- Schwanits, F. 1966. *The origin of cultivated plants*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
- Serraj, R.; Sinclair, T.R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?. *Plant, Cell and Environment*. 25: 333-341.
- Tafolla-Arellano, J.C.; González-León, A.; Tiznado-Hernández, M.E.; Zacarías-García, L.; Báez-Sañudo, R. 2013. Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Revista de Fitotecnia Mexicana*. 36:1. 3-12.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. 5th ed. U.S.A. 1-778.
- Zañudo-Hernández, J.; González del Castillo, A.E.; Ramírez-Hernández, B.C.; Pimienta-Barrios, E.; Castillo-Cruz, I.; Pimienta-Barrios, E. 2010. Ecophysiological responses of *Opuntia* to water stress under various semi-arid environments. *Journal of the Professional Association for Cactus*. 12: 20-36.