



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN BOTÁNICA

COMPOSICIÓN QUÍMICA PARCIAL DE CINCO ESPECIES DE *Opuntia* EN RELACIÓN CON EL GRADO DE DOMESTICACIÓN, POTENCIAL DE AGUA DEL SUELO Y FASE MAC

MARÍA CONSEPSIÓN LÓPEZ NAVARRETE

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

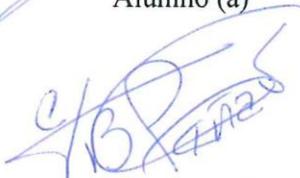
2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe MARIÁ CONSEPSIÓN LÓPEZ NAVARRETE, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis COMPOSICIÓN QUÍMICA PARCIAL DE CINCO ESPECIES DE Opuntia EN RELACIÓN CON EL GRADO DE DOMESTICACIÓN, POTENCIAL DE AGUA DEL SUELO Y FASE MAC y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 24 de OCTUBRE de 2018


Firma del
Alumno (a)


DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Composición química parcial de cinco especies de *Opuntia* en relación con el grado de domesticación, potencial de agua del suelo y fase MAC**, realizada por la alumna: **María Consepción López Navarrete**, 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

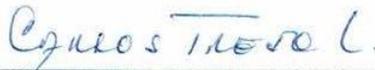
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



DR. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA

ASESOR



DR. CARLOS TREJO LÓPEZ

ASESOR



DR. DANIEL PADILLA CHACÓN

ASESOR



DR. JOSÉ RODOLFO GARCÍA NAVA

ASESOR



DR. JOSÉ ELEAZAR MARTÍNEZ BARAJAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2018

COMPOSICIÓN QUÍMICA PARCIAL DE CINCO ESPECIES DE *Opuntia* EN RELACIÓN CON EL GRADO DE DOMESTICACIÓN, POTENCIAL DE AGUA DEL SUELO Y FASE MAC

María Consepsión López Navarrete, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar los cambios en la composición química parcial de cinco especies de *Opuntia* en relación con el grado de domesticación, el potencial de agua (Ψ_A) del suelo y la fase del metabolismo ácido crasuláceo (MAC). La hipótesis fue que la composición química parcial en cladodios jóvenes de cinco especies de *Opuntia* se relaciona directamente con el grado de domesticación y fase MAC y es independiente del Ψ_A del suelo. El estudio se realizó en cladodios de 3 a 4 semanas de edad, cosechados en diferentes fases MAC de plantas con riego (Ψ_A del suelo de -0.17 MPa) y sin riego por 30 días (Ψ_A del suelo de -5.72 MPa), de variantes de *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. El diseño experimental fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos. La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes, con número diferente de repeticiones. Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteína soluble y biomasa y actividad de invertasa ácida y neutra. Se aplicó ANDEVA y comparación múltiple de medias a los resultados. *Opuntia albicarpa* y *O. ficus-indica* presentaron más almidón y biomasa seca (40 %) y menos glucosa y fructosa (30 %) que *O. streptacantha*, y disminuyeron más de 50 % su contenido de sacarosa con Ψ_A del suelo de -5.72 MPa. Con este Ψ_A el contenido de ácido málico incrementó 24 % en las cinco especies en la fase I. Las variantes y especies silvestres mostraron 20 % más potencial para la producción de fenoles totales que las especies con grado mayor de domesticación e independiente del Ψ_A del suelo. Las diferencias entre las especies y variantes silvestres y domesticadas del *Opuntia* están relacionadas con el metabolismo primario y secundario del C y del N y dependen del ciclo MAC de 24 h.

Palabras clave: *Opuntia*, domesticación, características químicas, fase MAC, potencial del agua del suelo.

PARTIAL CHEMICAL COMPOSITION OF FIVE SPECIES OF *Opuntia* IN RELATION TO THE DEGREE OF DOMESTICATION, SOIL WATER POTENTIAL AND PHASE CAM

María Concepción López Navarrete, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

The objective of the study was to analyse the changes in the partial chemical composition of five *Opuntia* species in relation to the degree of domestication, soil water potential (Ψ_w) and crassulacean acid metabolism (CAM) phase. The hypothesis was that partial chemical composition of young cladodes of five *Opuntia* species is directly related to the degree of domestication and CAM phase and is independent of the soil Ψ_w . The study was carried out in cladodes from 3 to 4 weeks of age, harvested in different CAM phases of plants with irrigation (soil Ψ_w of -0.17 MPa) and without irrigation for 30 days (soil Ψ_w of -5.72 MPa), from variants of *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*. The experimental design was completely random, with a factorial treatment arrangement. The experimental unit was a cladode of independent plants, with a different number of repetitions. The variables analysed were the content of malic acid, glucose, fructose, sucrose, starch, total phenols, free amino acids, soluble protein, and biomass and acid and neutral invertase activity. We applied ANOVA and multiple means comparison test to data. *Opuntia albicarpa* and *O. ficus-indica* presented more starch and dry biomass (40%) and less glucose and fructose (30%) than *O. streptacantha*, and decreased more than 50% their sucrose content at soil Ψ_w of -5.72 MPa. At this Ψ_w the malic acid content increased 24% in all five species at phase I. Variants and wild species showed a 20% greater potential for the total phenols production than species with a higher degree of domestication and it was independent of the soil Ψ_w . The differences between the species and wild and domesticated variants of the genus *Opuntia* related to C and N primary and secondary metabolism and depend on the 24 h CAM cycle.

Keywords: *Opuntia*, domestication, chemistry characteristics, phase CAM, soil water potential.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México que gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología me otorgo el financiamiento para realizar mis estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados, al postgrado en Botánica, a sus profesores y trabajadores, por el apoyo brindado durante mis estudios y contribuir a mi formación profesional.

A la Dra. Cecilia B. Peña Valdivia, mi consejera, por todo su apoyo, por las correcciones y sugerencias, así como su dedicación durante la realización de este trabajo; por lo que aprendí de ella en el ámbito profesional y personal, y su trato siempre respetuoso y amable.

A los miembros de mi consejo particular, los doctores, Carlos Trejo López, Daniel Padilla Chacón, José Rodolfo García Nava, José Eleazar Martínez Barajas; por el apoyo otorgado, disposición y por sus valiosas aportaciones que fortalecieron el trabajo realizado, y el trato siempre cordial.

A los compañeros y amigos con los que compartí esta etapa de mi vida, a Violet, Celia, Betza, Paty, Franc, Anita, Elenita, Azu, Marthita, Nefer, Mine, Lili, A. Luisa, Laurita, Reynaldo, Braulio; a quienes les deseo mucho éxito.

Dedico ésta tesis a mi familia

A mis padres:

Hilaria Navarrete Aguilar y Caralampio López de León,
con todo mi amor y respeto.

A Claudia y José Luis, Pepe, Alicia, Dani
Isabel y Norberto, Martín, Diego, Xiomara

Especialmente a mi hermana Flor
por estar conmigo siempre, en tiempos buenos y malos,
con mi mayor admiración y amor.

Y a Sofí y Gus
por todo el amor que le han dado a mi vida.

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Literatura citada.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA	7
Domesticación.....	7
Importancia.....	7
Concepto y síndrome de domesticación.....	7
Domesticación en <i>Opuntia</i>	9
Metabolismo ácido crasuláceo (MAC).....	13
Respuesta de plantas MAC a la disponibilidad de agua en el suelo.....	15
Importancia del nopal.....	17
Propiedades nutraceuticas.....	19
Composición química de <i>Opuntia</i>	19
Acidez.....	20
Carbohidratos no estructurales.....	20
Fenoles totales.....	24
Aminoácidos.....	24
Proteínas.....	26
Invertasas.....	27
Literatura Citada.....	29
CAPÍTULO I. EFECTO DEL RIEGO Y FASE MAC EN LAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICAS DE NOPALITOS EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN	49
1.1 RESUMEN	49
1.2 ABSTRACT	50
1.3 INTRODUCCIÓN	51
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS	54
1.4.1 Material vegetal.....	54
1.4.2 Variables evaluadas.....	55
1.4.2.1 Ácido málico.....	55
1.4.2.2 Azúcares solubles y almidón.....	55
1.4.2.3 Fenoles totales.....	56
1.4.2.4 Aminoácidos libres.....	56
1.4.2.5 Proteína soluble.....	57
1.4.2.6 Actividad de invertasa ácida y neutra.....	57
1.4.2.7 Biomasa seca.....	57
1.4.3 Diseño experimental y análisis de resultados.....	58
1.5 RESULTADOS	58
1.5.1 Ácido málico.....	58
1.5.2 Glucosa.....	60
1.5.3 Fructosa.....	62

1.5.4	Sacarosa.....	64
1.5.5	Almidón.....	65
1.5.6	Fenoles totales.....	67
1.5.7	Aminoácidos libres.....	69
1.5.8	Proteína soluble.....	71
1.5.9	Actividad de invertasa ácida.....	73
1.5.10	Actividad de invertasa neutra.....	75
1.5.11	Biomasa.....	76
1.6	DISCUSIÓN.....	78
1.7	CONCLUSIONES.....	87
1.8	LITERATURA CITADA.....	87
CAPÍTULO II. MODIFICACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE CLADODIOS DE <i>Opuntia</i> POR LA DOMESTICACIÓN Y SU EXPRESIÓN MODULADA POR EL POTENCIAL DE AGUA DEL SUELO Y FASE MAC.....		
		96
2.1.	RESUMEN.....	96
2.2.	ABSTRACT.....	98
2.3.	INTRODUCCIÓN.....	99
2.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	102
2.4.1	Material vegetal.....	102
2.4.2	Variables evaluadas.....	103
2.4.2.1	Ácido málico.....	103
2.4.2.2	Azúcares solubles y almidón.....	103
2.4.2.3	Fenoles totales.....	104
2.4.2.4	Aminoácidos libres.....	104
2.4.2.5	Proteína soluble.....	104
2.4.2.6	Actividad de invertasa ácida y neutra.....	105
2.4.3	Diseño experimental y análisis de resultados.....	105
2.5	RESULTADOS.....	106
2.5.1	Ácido málico.....	107
2.5.2	Glucosa.....	109
2.5.3	Fructosa.....	111
2.5.4	Sacarosa.....	114
2.5.5	Almidón.....	116
2.5.6	Fenoles totales.....	118
2.5.7	Aminoácidos libres.....	121
2.5.8	Proteína soluble.....	123
2.5.9	Actividad de invertasa ácida.....	125
2.5.10	Actividad de invertasa neutra.....	128
2.6	DISCUSIÓN.....	130
2.7	CONCLUSIONES.....	142
2.8	LITERATURA CITADA.....	142
CAPÍTULO III. CICLO ÁCIDO CRASULÁCEO DEL CONTENIDO DE ÁCIDO MÁLICO, CARBOHIDRATOS, AMINOÁCIDOS LIBRES Y PROTEÍNA SOLUBLE DE CLADODIOS DE <i>Opuntia</i> CON DIFERENTE NIVEL DE DOMESTICACIÓN.....		
		155
3.1	RESUMEN.....	155
3.2	ABSTRACT.....	156
3.3	INTRODUCCIÓN.....	157

3.4	MATERIALES Y MÉTODOS	160
3.4.1	Material vegetal.....	160
3.4.2	Variables evaluadas.....	160
3.4.2.1	Ácido málico	160
3.4.2.2	Azúcares solubles y almidón	161
3.4.2.3	Fenoles totales	161
3.4.2.4	Aminoácidos libres	162
3.4.2.5	Proteína soluble	162
3.4.2.6	Actividad de invertasa ácida y neutra	162
3.4.2.7	Potencial osmótico	163
3.4.3	Diseño experimental y análisis de resultados	163
3.5	RESULTADOS	163
3.5.1	Ácido málico.....	163
3.5.2	Glucosa.....	165
3.5.3	Fructosa	166
3.5.4	Sacarosa.....	168
3.5.5	Almidón.....	169
3.5.6	Fenoles totales.....	171
3.5.7	Aminoácidos libres.....	172
3.5.8	Proteína soluble	174
3.5.9	Actividad de invertasa ácida	175
3.5.10	Actividad de invertasa neutra.....	176
3.5.11	Potencial osmótico (Ψ_s).....	178
3.6	DISCUSIÓN	179
3.7	CONCLUSIONES	188
3.8	LITERATURA CITADA	188
	DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GENERALES	196
	Literatura citada.....	200
	ANEXOS	203
	Anexo A.....	203
	Anexo B1	205
	Anexo B2.....	208
	Anexo B3.....	211
	Anexo B4	215
	Anexo C1.....	219
	Anexo C2.....	221

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	59
Figura 1.2. Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	61
Figura 1.3. Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	63
Figura 1.4. Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	65
Figura 1.5. Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	67
Figura 1.6. Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	69
Figura 1.7. Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas en con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4).....	70
Figura 1.8. Contenido de proteína soluble (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	72
Figura 1.9. Actividad de invertasa ácida (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	74
Figura 1.10. Actividad de invertasa neutra (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4)	76
Figura 1.11. Biomasa (+ e.e.) de cladodios jóvenes de variantes de especies de <i>Opuntia</i> , en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4).....	78
Figura 2.1. Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (▣), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6).....	108
Figura 2.2. Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (▤) y 15 h (▥), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	111
Figura 2.3. Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (▦) y 15 h (▧), cultivadas en invernadero,	

	con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6).	113
Figura 2.4.	Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	115
Figura 2.5.	Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	117
Figura 2.6.	Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	120
Figura 2.7.	Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	122
Figura 2.8.	Contenido de proteína soluble (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	124
Figura 2.9.	Actividad de invertasa ácida (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	127
Figura 2.10.	Actividad de invertasa neutra (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de <i>Opuntia</i> a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6)	129
Figura 3.1.	Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●), cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).....	164
Figura 3.2.	Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).	166
Figura 3.3.	Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).	167
Figura 3.4.	Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).	169

Figura 3.5. Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).	170
Figura 3.6. Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).....	172
Figura 3.7. Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).....	173
Figura 3.8. Contenido de proteínas solubles (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).....	175
Figura 3.9. Actividad de invertasa ácida (A) e invertasa neutra (B) (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).....	177
Figura 3.10. Potencial osmótico (+ e.e.) en cladodios de <i>Opuntia streptacantha</i> (●), <i>O. hyptiacantha</i> (▲), <i>O. megacantha</i> (■), <i>O. albicarpa</i> (◆), <i>O. ficus-indica</i> (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).	179

INTRODUCCIÓN GENERAL

El nopal (*Opuntia*) representa una imagen característica e icónica que simboliza la cultura mexicana y se le considera un recurso genético de gran valor, que México dio al mundo (Flores *et al.*, 1995; Anaya, 2001; Méndez *et al.*, 2004; Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006; Maki *et al.*, 2015).

El nopal está ligado de modo particular a la historia de México y Mesoamérica, porque en esta región está su centro de origen genético. La importancia económica y social actual de 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 (Sáenz *et al.*, 2006; Maki-Díaz *et al.*, 2015).

En México el nopal se cultiva para consumo humano y como forraje (Callejas-Juárez, 2006; Maki *et al.*, 2015). Los nopales también son combustible y materia prima para productos farmacéuticos y cosméticos, y son hospederos del insecto *Dactylopius coccus* (cochinilla) que se utiliza para producir rojo carmín (Stintzing y Carle, 2005). En México, 24 especies se utilizan con fines diversos, quince de ellas se usan como forraje, seis para la producción de tuna y tres para producción de nopal tierno o nopalito (Valencia-Sandoval *et al.*, 2010). Los nopalitos son los cladodios jóvenes de la planta de nopal, los cuales forman parte de la dieta común de ciertos sectores mexicanos, en México y en el extranjero se consumen comúnmente como verdura (Sáenz *et al.*, 2006; Maki *et al.*, 2015).

En territorio mexicano, la mayor parte de la superficie cultivada con *Opuntia* se localizan principalmente en zonas áridas y semiáridas, sujetas a fuertes restricciones edafoclimáticas, con precipitación escasa, suelos pobres y salitroso, y temperaturas extremas, en las que el desarrollo de los cultivos tradicionales es prácticamente imposible (Borrrego y Burgos 1986). En las regiones áridas y semiáridas de México, la escasez de agua es el elemento restrictivo principal que limita el crecimiento de las plantas (Gibson, 1996; Smith

et al., 1997). Díaz-Padilla *et al.* (2011) indicaron que, las zonas áridas y semiáridas ocupan entre 27 y 35 % del territorio mexicano. Las especies del género *Opuntia* se adaptan a regiones con precipitaciones de 200 a 300 mm año⁻¹ (Odoux y Domínguez-López, 1996).

El metabolismo ácido crasuláceo (MAC) es una de las tres formas de asimilación fotosintética del CO₂ atmosférico; de las 350 mil especies estimadas de plantas vasculares, 6 % realiza fotosíntesis MAC; estas pertenecen al menos a 35 familias y más de 400 géneros (Silvera *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015). Los rasgos deseables para productividad mayor y conservación del agua en plantas MAC, como *Opuntia*, pueden atribuirse a la separación temporal de dos procesos de carboxilación que definen a las plantas con este tipo de metabolismo fotosintético (Cushman *et al.*, 2015). En general, las plantas MAC ocupan ambientes desfavorables para el crecimiento de las plantas con fotosíntesis C3 y C4 (Andrade, 2007). En estos ambientes la evolución de los miembros del género *Opuntia* ha permitido que las especies desarrollen características morfológicas, anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que les permiten su adaptación a tales condiciones (Gibson y Nobel, 1986; Nobel, 1995; Gibson, 1996; Wickens, 1998).

México es reconocido como uno de los centros de origen, domesticación y diversificación de especies vegetales fundamentales para la subsistencia humana. De las 128 especies vegetales, incluidas en la lista de la FAO como las más importantes en el mundo, poco más de 10 % se domesticaron en México (Perales y Aguirre, 2008). La domesticación es un proceso evolutivo y dinámico que modifica el bagaje genético de plantas y animales; este proceso conduce a cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos continuos que les permite diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005).

Reyes-Agüero *et al.* (2005) recolectaron muestras de variantes utilizadas por sus nopalitos, frutos y cladodios maduros, en 31 localidades de siete estados de la Altiplanicie Meridional de México. Estos autores evaluaron 42 atributos morfológicos de las plantas y las recolectas que les permitieron reconocer un gradiente de domesticación en *Opuntia*. Este mostró a *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* como especies silvestres, *O.*

megacantha como semidomesticada, y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con el nivel de domesticación mayor.

De acuerdo con Peña-Valdivia *et al.* (2013) las evidencias documentadas de los cambios sucedidos durante la domesticación de especies vegetales comprenden aspectos morfológicos, y sólo existe información limitada de los procesos bioquímicos, de los que finalmente dependen la expresión morfológica y el rendimiento económico. Los cambios en el proceso de domesticación, podría detectarse en dos grandes grupos de componentes del metabolismo de las plantas. En el primer caso están los del metabolismo primario, como los carbohidratos no estructurales, entre los que están glucosa, fructosa, sacarosa y almidón, y otros componentes celulares como los aminoácidos, y las proteínas. El segundo caso se refiere a los componentes clasificados como integrantes del metabolismo secundario, como los fenoles y numerosos aminoácidos, que tiene un papel en la adaptación de las plantas al ambiente y en la reacción a las condiciones de estrés (Akula y Ravishankar, 2011). En ambos casos el conocimiento de la participación de las enzimas en el metabolismo de la sacarosa, como las invertasas, es relevante por el papel central de este azúcar en los procesos de “fuente-demanda” (Ruan *et al.*, 2010). Específicamente, esa información en el género *Opuntia* en los componentes del metabolismo y su relación con el proceso de domesticación no se ha investigado o se conoce parcialmente. Por lo anterior, los objetivos de la presente investigación fueron:

- Identificar diferencias y semejanzas en características bioquímico-fisiológicas en cladodios jóvenes de 12 variantes, de cinco especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación y su relación con la fase diurna (I) y vespertina (III) del ciclo MAC.
- Determinar los cambios en la composición química parcial y actividad de invertasa de cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto de la domesticación y su relación con el Ψ_A el suelo y fase MAC
- Determinar la expresión del metabolismo ácido crasuláceo en el contenido de ácido málico, carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad

de invertasa y potencial osmótico en cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto la domesticación en un ciclo MAC de 24 h.

Las hipótesis fueron:

- El contenido de ácido málico, azúcares solubles, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteínas solubles, biomasa y actividad de invertasa ácida y neutra se relacionan directamente con el nivel de domesticación y la fase MAC.
- La composición química parcial y actividad de invertasa en cladodios jóvenes de *Opuntia* se relacionan directamente con el nivel de domesticación, su metabolismo MAC y Ψ_A del suelo.
- Los cambios en el contenido de carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad de invertasa y potencial osmótico en el ciclo MAC de cladodios jóvenes de *Opuntia* a lo largo del día se relacionan directamente con el nivel de domesticación.

Literatura citada

- Akula, R. y G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
- Andrade, J.L., E. De la Barrera, C. Reyes-García, M.F. Ricalde, G. Vargas-Soto, C. Cervera. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín Sociedad Botánica de México* 81: 37-50.
- Betancourt-Domínguez, M.A., T. Hernández-Pérez, P. García-Saucedo, A. Cruz-Hernández, O. Paredes-López. 2006. Physico-Chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.
- Borrego, E.F. y Burgos, N.V. 1986. *El Nopal*. Universidad Autónoma Agraria. Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. p.
- Callejas-Juárez, N. 2006. Situación actual y perspectivas del Mercado para la tuna, el nopalito y sus derivados en el Estado de México. 2006. Tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados. México. 131 p.

- Cushman, J.C., S.C. Davis, X. Yang, A. M. Borland. 2015. Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66: 4177-4193.
- Díaz-Padilla, G., I. Sánchez-Cohen, R.A. Guajardo-Panes, A.L. Del Ángel-Pérez, A. Ruíz-Corral, G. Medina-García, D. Ibarra-Castillo. 2011. Mapeo del índice de aridez y su distribución poblacional en México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Ambiente*. Volumen XVII. Edición especial: 267-275 p.
- Gibson, A.C. 1996. *Structure-function relations of warm desert plants*. Springer-Verlag. Heidelberg. 215 p.
- Gibson, A. C., P. S. Nobel. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 286 p.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G. P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Maki-Díaz, G., C.B. Peña-Valdivia, R. García-Nava, M. L. Arévalo-Galarza, G. Calderón-Zavala, S. Anaya-Rosales. 2015. Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agrociencia* 49: 31-35.
- Méndez G. S. de J., A. Tarango, G. González. 2004. Preliminary analysis of cochineal insects (*Dactylopius coccus*) with high performance liquid chromatography (HPLC) In: G. Esparza F., R.D. Valdez C. & S. de J. Méndez G. (eds) *El nopal. Tópicos de actualidad*. Universidad Autónoma Chapingo-Colegio de Postgraduados. 223-234 p.
- Nobel, P. S. 1995. Environmental biology. In: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. Food and Agricultural Organization. Roma. 36-48 p.
- Odoux, E., A. Domínguez-López. 1996. Le figuier de Barbarie: une source industrielle de bétalases. *Fruits* 56: 61-77.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. L. Hamrick, J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central México. *Molecular Ecology* 14: 1603-1611.
- Peña-Valdivia, C.B., J. R. Aguirre-Rivera, V. B. Arroyo-Peña. 2013. *El frijol: Síndrome de domesticación*. Editorial del Colegio de Postgraduados. Montecillo. 198 p.

- Perales, H.R., J.R. Aguirre. 2008. Biodiversidad humanizada. Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, 565-603 p.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, y J. L. Flores-Flores. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484.
- Ruan, Y.L., Y. Jin, Y.-J. Yang, G.-J. Li, J.S. Boyer. 2010. Sugar Input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3: 942-955.
- Sáenz, C., H. Berger, J.C. García, L.J. Galletti, V. García de Cortázar, L. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez-Félix, E. Sepúlveda, y M. Varnero. 2006. Utilización Agroindustrial del Nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. 165 p.
- Silvera, K., K.M. Neubig, W.M. Whitten, N.H. Williams, K. Winter, J. C. Cushman. 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. *Functional Plant Biology* 37: 995-1010.
- Smith, D. S., R. K. Monson y J. E. Anderson. 1997. Physiological ecology of North American desert plants. Springer-Verlag. Heidelberg. 286 p.
- Stintzing, F.C., R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research* 49: 175-194.
- Valencia-Sandoval, K., J. J. Branbila-Paz, J. S. Mora-Flores. 2010. Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia* 44: 955-963.
- Yang X., J.C. Cushman, A.M. Borland, E.J. Edwards, S.D. Wullschleger, G.A. Tuskan, N.A. Owen, H. Griffiths, J.A.C. Smith, H.C. De Paoli. 2015. A roadmap for research on crassulacean acid metabolism (CAM) to enhance sustainable food and bioenergy production in a hotter, drier world. *New Phytologist* 207: 491-504.
- Wickens, E. G. 1998. Ecophysiology of economic plants in arid and semi-arid lands. Springer-Verlag. Heidelberg. 343 p.

REVISIÓN DE LITERATURA

Domesticación

Importancia

El desarrollo de las sociedades agrícolas fue uno de los eventos más transformadores en la historia humana y ecológica, que resultó de la domesticación de plantas y animales. Los orígenes de la domesticación de plantas se pueden rastrear en varias áreas del mundo, como el suroeste de Asia, el norte y sur de China, Mesoamérica y Sudamérica, hace 10 a 12 mil años (Piperno, 2017). La domesticación de plantas y animales se ha considerado la innovación más importante en la historia de la humanidad, porque es parte del desarrollo y crecimiento de las primeras civilizaciones (Harlan, 1992).

México es reconocido como uno de los centros de origen, domesticación y diversificación de especies vegetales fundamentales para la subsistencia humana. Un número importante de las especies vegetales domesticadas en México se utilizan en todo el mundo. De las 128 especies vegetales más importantes del mundo, incluidas en la lista de la FAO, poco más de 10 % se domesticaron en México. El maíz, diversos frijoles y calabazas, el algodón, el aguacate, la vainilla y otras especies importantes se originaron y domesticaron en México. Otras especies domesticadas en México, como los chiles, el jitomate y el cacao, tuvieron su origen biológico en Sudamérica; además, alrededor de la mitad de las calorías que consumen los mexicanos las aportan especies domesticadas originalmente en el país (Perales y Aguirre, 2008). El cultivo y domesticación de plantas han sido fundamentales para la subsistencia y más de 60 % de las plantas reconocidas como domesticadas son perennes y la mayoría de ellas producen frutos comestibles (Luna-Morales, 2004).

Concepto y síndrome de domesticación

El concepto de cultivo se refiere a las actividades que el hombre realiza en el hábitat para propiciar condiciones ambientales que permitan el crecimiento y desarrollo mejor de las plantas de su interés (García-Marín, 1986; Harlan, 1992). Este es diferente al concepto de la domesticación. La domesticación es un proceso evolutivo y dinámico, a través del cual, las plantas y animales modifican su bagaje genético, que da lugar a un continuo de

cambios bioquímicos, fisiológicos, morfológicos, que les permite diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005). La principal fuerza evolutiva de la domesticación es la selección artificial (Meyer *et al.*, 2012; Guillen *et al.*, 2013), que conduce, a una mayor adaptación de plantas y animales para el cultivo o la cría, con rasgos deseables por los humanos al facilitar la cosecha, modificar algunos aspectos como el sabor, cualidades nutricionales, metabolitos secundarios, entre otros (Gepts, 2004; Meyer *et al.*, 2012). De acuerdo con lo anterior, una planta cultivada no es necesariamente una planta domesticada.

Además, ya que la domesticación es un proceso continuo, es posible la existencia de estados intermedios entre silvestre y domesticado, y cuya identificación y estudio son relevantes para avanzar en el mejoramiento genético, en el aprovechamiento de las plantas por los humanos y abundar en el conocimiento del origen de la agricultura (Luna-Morales, 2004). La domesticación forma parte del proceso denominado “humanización”. Este incluye tres fases críticas: (1) recolección de especies, que destacan por su abundancia, persistencia y utilidad, (2) selección de las que superan exitosamente el cultivo, que incluye ambientes modificados por la humanidad (humanizados), con disminución de fuerzas selectivas físicas y bióticas naturales, (3) modificación en la expresión genética, fisiológica y morfológica de las especies adaptadas a los ambientes nuevos. Así, no todas las especies humanizadas son domesticadas y una proporción de ellas se ha mantenido en condiciones silvestres y se recolectan para utilizarse (Perales y Aguirre, 2008).

Para que el proceso de domesticación suceda en las plantas, dos procesos podrían tener lugar. Uno se denomina semicultura y se refiere a la propagación por semillas; generalmente, las especies que lo realizan son herbáceas anuales y es, en parte, consecuencia de la siembra y cosecha durante generaciones sucesivas. Este es el caso de los cereales y las leguminosas. El otro proceso involucrado en la domesticación de las plantas se denomina vegecultura y se refiere su propagación mediante estructuras vegetativas, como ramas, tallos y raíces; es el caso de la *papa (Solanum tuberosum)*, *camote (Ipomea batatas)* y *nopal (Opuntia ficus-indica)* (Casas *et al.*, 1997).

El síndrome de domesticación es un conjunto de rasgos que denota las diferencias entre las plantas domesticadas y sus congéneres silvestres (Frery y Doganlar, 2003; Abbo *et al.*, 2014) influenciadas por el centro de domesticación, los factores edafo-climáticos, el ciclo de vida de las plantas (Meyer *et al.*, 2012) y preferencias o necesidades de los domesticadores que seleccionan con base en el órgano de interés (Peña-Valdivia *et al.*, 2012). Por lo que, la variación genética de las especies durante la domesticación afecta características cualitativas y cuantitativas de las estructuras de interés para los humanos, como tallos, frutos, raíces, flores y semillas (García-Nava *et al.*, 2015; López-Palacios *et al.*, 2015). Las diferencias indican que las plantas domesticadas han desarrollado la capacidad de supervivencia y reproducción en ambientes humanizados (Frery y Doganlar, 2003) y, al contrario, generalmente han disminuido o perdido capacidad de permanecer en ambientes silvestres.

Los atributos que configuran el síndrome de domesticación incluye modificaciones diversas, como la disminución de la capacidad de dispersión o disminución de las semillas viables, el incremento en tamaño de los órganos de interés antropocéntrico, la modificación de la reproducción sexual, la disminución de la latencia de las semillas y la pérdida de la protección química o mecánica contra herbívoros (Pickersgill, 2007; McKey *et al.*, 2010; Peña-Valdivia *et al.*, 2012).

Domesticación en *Opuntia*

Opuntia es uno de los géneros con mayor diversidad y distribución en la familia Cactaceae (Anderson, 2001). El género *Opuntia* se diversificó aproximadamente hace 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011). Diversos autores señalaron que el origen geográfico y evolutivo de *Opuntia* es incierto (Bravo, 1978; Anderson, 2001), en parte por la distribución amplia de sus especies en Norte y Sudamérica (Anderson, 2001). Por su parte Sáenz *et al.* (2006) menciona que *Opuntia* se originó en las regiones tropicales y subtropicales de América.

El registro inicial de la riqueza de *Opuntia* en México fue de 58 especies, posteriormente aumentó a 66 y llegó a estimarse en 93, a la fecha, la cifra más aceptada es de 188

(reconocidos actualmente) (Bravo, 1978; Anderson, 2001). Para facilitar el análisis de esta riqueza, Bravo (1978), conformó para las especies mexicanas de *Opuntia* 17 series. Las cuales dividió en dos grupos, uno con tallos subcilíndricos y otro con tallos planos. En este segundo grupo hay 15 series. Serie Ficus-indicae: Las especies que pertenecen a esta serie son, *O. crassa*, *O. undulata* y *O. ficus-indica*. La Serie Streptacanthae: Las especies que conforman esta serie son: *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *albicarpa*, *O. chavena*, *O. joconostle*, *O. lasiacantha*, *O. pachona*, *O. spinulfera* (Bravo, 1978).

La evidencia del conocimiento y uso del nopal por los pobladores mexicanos se encontró en las excavaciones de Tamaulipas y Tehuacán, Puebla; donde se encontraron semillas, cascara de tuna y fibras de pencas de nopal fosilizadas; la antigüedad de esos restos es de siete mil años (Flores-Valdez, 2003). Kiesling (1988) indicó que el proceso de domesticación de *Opuntia* se remonta a 8,000 o 9,000 años, cuando las especies de éste género empezaron a utilizarse en la alimentación humana. Además, se ha hipotetizado que el grupo étnico indígena otomí jugó un papel importante en la domesticación y la dispersión de variantes de *Opuntia* en diversos lugares de la Altiplanicie Meridional de México (Reyes-Agüero *et al.*, 2005a; Reyes-Agüero *et al.*, 2005b).

En México existe gran riqueza de variantes de *Opuntia* con grado diferente de domesticación que forman poblaciones en ambientes naturales, o están en cercos vivos, bordes de taludes de parcelas, solares y plantaciones comerciales (Figueroa *et al.*, 1980; García-Marín *et al.*, 1986; Rodríguez y Nava, 1998). La Altiplanicie Meridional, en el centro norte de México, es una región importante en relación con la abundancia de especies de *Opuntia*; ya que ella concentra 35 % de las 83 especies silvestres de nopal de México y de ellas la mitad es endémica de esa región (Perales y Aguirre, 2008).

Reyes-Agüero *et al.* (2005a) recolectaron muestras de variantes utilizadas por sus nopalitos, frutos y cladodios maduros, en 31 localidades de siete estados de la Altiplanicie Meridional de México. Ellos evaluaron 42 atributos morfológicos, las recolectas les permitieron reconocer un gradiente de domesticación en *Opuntia*. Este mostró a *O.*

streptacantha como una de las especies silvestres (o con grado menor de domesticación, le siguieron *O. hyptiacantha* y *O. megacantha*, y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* se localizaron en otro extremo del gradiente, con el nivel de domesticación mayor. Así, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* son resultado de un proceso largo de domesticación a partir de poblaciones silvestres que fueron preservadas o modificadas en los solares, de donde se seleccionaron para establecer plantaciones comerciales. La selección ha conducido a diferencias morfológicas y metabólicas, que permiten mantener a *O. ficus-indica* separada de la serie de la cual parece proceder, ya que erróneamente se ha relacionado con *O. amyclae*, *O. megacantha* y *O. streptacantha*, de la serie *Streptacanthae* (Labra *et al.*, 2003).

En *Opuntia*, la selección artificial se ha conducido hacia frutos y nopalitos, principalmente. Según Heiser (1995) en las plantas domesticadas los órganos y estructuras de mayor interés humano presentan la variabilidad morfológica mayor. En el fruto, uno de los síndromes de domesticación es su gigantismo, y cambio de color rojos y rojos-púrpura, propio de las nopaleras espontáneas y en las variantes de solares al verde claro sobre los amarillo-castaño, incremento del dulzor de la pulpa, además de la disminución de la cantidad y dureza de las semillas, y el cambio en la proporción de semillas abortadas y normales por fruto; este cambio del fruto se acompañó con el desarrollo de cladodios grandes, entre ovalados y rómbicos, con color verde claro, con gran cantidad de aréolas, ninguna de ellas con espinas, pero si con abundancia de gloquidias (Reyes-Agüero *et al.*, 2005a, b).

Otro aspecto que se ha identificado como resultado de la domesticación es que se han favorecido variantes con espinas cortas, escasas, menos espinas por aréola y menos aréolas con espinas, y su organización radial o difusa. Las variantes domesticadas con fruto grande han modificado la abundancia de sus espinas hasta la ausencia total o presencia reducida, pero en algunas también hay persistencia del número normal por aréola que normalmente tienen sus congéneres silvestres. Con la domesticación se aprecia reducción de la densidad de aréolas y de su tamaño, lo que puede modificar los patrones de abundancia, distribución y tamaño de gloquidios. Estas son estructuras que

probablemente tienen funciones adaptativas, como las espinas. Entre las variantes domesticadas de *O. ficus-indica*, productoras de nopalitas están las que producen cladodios pequeños con varias aréolas con espinas, nopalitas con algunas espinas y con espinas setosas en sus aréolas; esas plantas producen fruto amarillo, con semillas abortivas abundantes y muy poca pulpa (Reyes *et al.*, 2004).

La especie con importancia económica mayor en México y en el mundo es *O. ficus-indica*, y sus variantes se cultivan para obtener frutos y nopalitas, se distinguen por su morfología. *Opuntia ficus-indica*, puede diferenciarse de todos los otros miembros del género porque se encuentra casi exclusivamente en ambientes modificados por los humanos; además, por sus cladodios usualmente elípticos, de gran talla, carentes total o casi totalmente de espinas, y sus frutos grandes, dulces y carnosos (Reyes-Agüero *et al.*, 2005b).

La variación genética de las especies domesticadas no sólo se limita a las características morfológicas, evidencias de cambios biofísicos, fisiológicos, bioquímicos de *Opuntia* durante la domesticación se han obtenido a través de los resultados de diversas investigaciones. Así, García-Nava *et al.* (2015) observaron aumento en la firmeza, contenido de sólidos solubles totales, permeabilidad de la membrana celular, contenido de ácido málico, y simultáneamente disminución del Ψ_A y Ψ_s , como efecto de la domesticación. López-Palacios *et al.* (2015) y García-Nava *et al.* (2018) evidenciaron en cladodios jóvenes de una plantación experimental, cosechados al mediodía, el contenido y las características químicas de los polisacáridos no amiláceos de los cladodios de *Opuntia* en el gradiente de domesticación.

La variación genética de las especies durante la domesticación incluye características morfológicas, cualitativas y cuantitativas de las semillas, frutos, órganos y otros atributos de interés humano. Pero, es probable que la variación genética más importante sea la asociada a las capacidades de las plantas para tolerar condiciones ambientales diferentes a las del ambiente silvestre, que en general son desfavorables para el cultivo (García-Nava *et al.*, 2015; López-Palacios *et al.*, 2012, 2015).

Metabolismo ácido crasuláceo (MAC)

El metabolismo ácido crasuláceo (MAC) es una de las tres formas de asimilación fotosintética del CO₂ atmosférico, es una forma modificada de fotosíntesis, que evolucionó a partir de antepasados con metabolismo tipo C₃, al menos 35 veces en linajes de plantas independientes (Silvera *et al.*, 2010; Winter *et al.*, 2015; Heyduk *et al.*, 2016). Las plantas MAC de linajes independientes han convergido en un conjunto de rasgos que están directamente relacionados con la capacidad de la vía para funcionar eficiente en ciertas condiciones ambientales, como áridos, semiáridos o epifíticos, y se relaciona con transiciones en la morfología y anatomía de las hojas (Heyduk *et al.*, 2016). De las 350 mil especies estimadas de plantas vasculares, 6 % es capaz de realizar fotosíntesis MAC; estas pertenecen al menos a 35 familias y más de 400 géneros, dos veces más que las plantas tipo C₄ (Silvera *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015).

El metabolismo fotosintético ácido de las crasuláceas se desarrolla en el ciclo de 24 h, con la carboxilación catalizada por fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) y ribulosa bifosfato carboxilasa (Rubisco), la cual ocurren en una misma célula, con actividad enzimática separada temporalmente (Dodd *et al.*, 2002). Este metabolismo se desarrolla en cuatro fases y permite que las plantas tengan eficiencia alta en el uso del agua (Osmond, 1978; Nobel y Hartsock, 1983; Chusman *et al.*, 2015). Las fases MAC fueron descritas en relación a la asimilación de CO₂ y acumulación de ácido málico (Osmond, 1978). La fase I, se lleva a cabo en la noche y primeras horas del día, cuando los estomas están abiertos, en esta etapa se fija CO₂ y se acumula ácido málico en las vacuolas celulares; la fase II, representa un aumento en la tasa de absorción neta de CO₂ que puede ser mediada tanto por PEPC como por rubisco; la fase III, se lleva a cabo durante las horas de luz, cuando los estomas permanecen cerrados, esto permite disminuir la pérdida de agua por transpiración, y la descarboxilación del malato se lleva a cabo. El CO₂ liberado en esta descarboxilación se incorpora al ciclo de Calvin con la intervención de la Rubisco. La descarboxilación del malato se da por la acción de enzimas en dependencia de la especie de la planta. Durante la última parte del día (fase IV), cuando las reservas de malato se han agotado, los estomas pueden reabrir y el CO₂ atmosférico puede ser fijado nuevamente (Osmond, 1978; Nobel y Hartsock, 1983; Borland *et al.*,

2009; Chusman *et al.*, 2015). Estas fases son altamente plásticas y depende de las especies, así como las condiciones ambientales prevalecientes. Muchas especies tipo CAM, como *Opuntia* fijan CO₂ casi exclusivamente en la fase I, incluso cuando están bien regados (Osmond, 1978; Nobel, 1988).

En la asimilación de carbono es estimada mediante la acumulación nocturna del ácido málico (Scali *et al.*, 2016). La acidez tisular es proporcional al contenido de ácido málico en las vacuolas de las células; por cada molécula de CO₂ fijadas se producen una molécula de ácido málico y dos iones de hidrogeno (Osmond, 1978; Nobel, 1988; Winter y Smith, 1996; Luttge, 2004).

Las plantas MAC muestran tasas de fotorrespiración notablemente bajas y eficiencia en el uso del agua de cinco a diez veces mayor respecto a las plantas con metabolismo fotosintético C₄ como resultado de la permanencia de los estomas cerrados la mayor parte del día. Todas estas características les permiten a las plantas MAC ser altamente productivas en regiones áridas y semiáridas (Herppich y Pekman, 2000; Cushman, 2001a; Nobel, 2001). El desarrollo de las plantas MAC se caracteriza por su plasticidad a las perturbaciones ambientales, por lo que su supervivencia es exitosa en condiciones adversas (Borland *et al.*, 2000). En general las plantas MAC ocupan ambientes desfavorables para el crecimiento de las plantas con fotosíntesis C₃ y C₄ (Andrade, 2007).

La expresión del MAC en los nopalitos depende de la especie, la variante y horario de cosecha; pero, la acidez incrementa al anochecer y disminuye en las primeras horas de la mañana (Acevedo *et al.*, 1983; Corrales-García *et al.*, 2004). Existen otros factores que también pueden modular los atributos bioquímicos y fisiológicos de las plantas con este tipo de metabolismo fotosintético, como la ontogenia y el ambiente (intensidad de luz, temperatura, humedad relativa, disponibilidad de humedad, manejo del cultivo, tiempo en postcosecha de las estructuras) (Nobel y Hartsock 1983; Cushman, 2001a; Dodd *et al.*, 2002; Corrales-García *et al.*, 2004). Además, las plantas MAC pueden ser cíclicas, facultativas u obligadas (Cushman, 2001a; Cushman y Borland, 2002).

Respuesta de plantas MAC a la disponibilidad de agua en el suelo

Las plantas MAC pueden requerir menos agua que las C3 y C4, por ello crecen en regiones áridas y semiáridas. Esta característica se relaciona con el hecho de que la apertura estomatal y la asimilación de carbono es nocturna (Nobel, 1994). Así, las plantas MAC se distinguen por sus características morfológicas y fisiológicas que representan ventajas adaptativas a ambientes con humedad limitada (Nobel, 1988). En las regiones áridas y semiáridas de México, la escasez de agua es el elemento restrictivo principal que limita el crecimiento de las plantas (Gibson, 1996; Smith *et al.*, 1997). Díaz-Padilla *et al.* (2011) indicaron que, las zonas áridas y semiáridas ocupan un 27 y 35 % del territorio mexicano.

Las plantas de nopal muestran capacidad extraordinaria para almacenar agua en sus tallos suculentos, que se consideran reservorio natural de agua (Flores-Hernández, *et al.*, 2004; Scalisi *et al.*, 2016). Las especies del género *Opuntia* se adaptan a regiones con precipitaciones de 200 a 300 mm año⁻¹ (Odoux y Domínguez-López, 1996). En estos ambientes la evolución de los miembros del género ha permitido que las especies desarrollen características morfológicas, anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que hacen posible su adaptación a tales condiciones adversas (Gibson y Nobel, 1986; Nobel, 1995; Gibson, 1996; Wickens, 1998). Entre las características anatómicas están las de la epidermis, como densidad baja de estomas y cutícula gruesa, con función importante en la adaptación de los nopales a la aridez (Mauseth, 1984; Pimienta-Barrios *et al.*, 1993; Gibson, 1996; Wickens, 1998). La cutícula del nopal, en comparación con la de la mayoría de las plantas, es relativamente gruesa, de 8 a 20 µm en cladodios jóvenes de *O. ficus-indica* (Ventura-Aguilar *et al.*, 2017). Por su parte Silva *et al.* (2001), documentaron que, en cladodios maduros de ésta especie, la cutícula presentó un grosor en un rango de 175 a 200 µm; además indicaron que la cutícula (con coloración blanca) reflejaba gran parte de la radiación directa solar, permitiendo al cladodio mantener una temperatura más baja respecto a su entorno.

De acuerdo con Nobel (1998), las raíces de los nopales son superficiales y extendidas; esto les permite captar el agua en los ambientes con poca lluvia. Las lluvias aisladas, en

las zonas semiáridas donde crecen los nopales, inducen la formación de raíces secundarias que aumentan la superficie de contacto con el suelo, esto facilita la absorción de agua y nutrientes. En sequía, las raíces se contraen radialmente, con lo que contribuyen a disminuir la pérdida de agua.

Las plantas reaccionan diferente a la restricción de humedad; la respuesta depende de sus adaptaciones para sobrevivir a ella. Entre las adaptaciones están las relacionadas con los ajustes del potencial osmótico (Liu *et al.*, 2003), la eficiencia del uso del agua, los cambios en el potencial de agua, los ajustes de la composición de tejidos, los cambios en la organización de las membranas celulares y otros (Shewfelt, 1992; García-Ruíz *et al.*, 2008).

En cladodios de nopal la fotosíntesis se decae después de un periodo prolongado de sequía (Pimienta-Barrios *et al.*, 2007). En plantas de nopal 180 días de sequía provocaron reducción significativa de la concentración de clorofilas, la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxilasa en clorénquima (19.6 %) y en parénquima (60 %), caída del transporte fotosintético de electrones en el clorénquima (29.5 %) y en la fluorescencia de la clorofila en ambos tejidos del cladodio; en contraste el transporte fotosintético de electrones en el parénquima aumentó 150 % (Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006).

Aguilar-Becerril (1991) determinó que el engrosamiento y el crecimiento longitudinal y transversal de los cladodios de nopal disminuyen cuando las plantas permanecen por periodos prolongados en sequía, lo que, a la vez, ocasiona cambios en la intensidad de color del cladodio. Scalisi *et al.* (2016) demostraron que las plantas de nopal son capaces de mantener un cierto crecimiento con niveles muy bajos de hidratación, y que el crecimiento de los cladodios responde aceleradamente a la rehidratación después de períodos largos de sequía.

En la condición de restricción de humedad las plantas MAC responden con mecanismos adaptativos particulares, que les permiten expresar reacciones fotoquímicas y bioquímicas y enfrentar la restricción (Chaves *et al.*, 2003; 2009). En especies MAC,

como *Opuntia*, el contenido de ácido málico incrementa como respuesta a la sequía (Dodd *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2008). Además, una sequía severa provoca cierre total y continuo de los estomas en estas plantas; esto afecta la incorporación nocturna de CO₂ y la acumulación de malato (Taybi *et al.*, 2002).

Cushman y Borland (2002) indicaron que la acumulación de ácidos orgánicos en respuesta a la limitación de humedad puede ser un mecanismo de ajuste osmótico en especies tipo MAC.

Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia (2006) hacen mención sobre la dificultad de reconocer la condición de déficit de humedad en nopal.

Importancia del nopal

Los nopales se encuentran distribuidos en numerosos países de todos los continentes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú; desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5 °C a áreas de Canadá que en el invierno llegan a -40 °C (Sáenz *et al.*, 2006). Por esta razón, estas especies son un recurso genético de interés para zonas ecológicas muy diversas. En el continente Americano *Opuntia* está desde la provincia de Alberta, Canadá, hasta la Patagonia, Argentina, y abundan en las zonas desérticas del sur de Estados Unidos, México y América del sur. Longitudinalmente desde las Islas del Caribe, a las Islas Galápagos, desde el nivel del mar y hasta 3 400 msnm (Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Cota, 2008).

El nopal (*Opuntia*) está ligado de modo particular a la historia de México y Mesoamérica, porque en esta región está su centro de origen genético (Sáenz *et al.*, 2006). El uso del nopal por la humanidad en México desde épocas prehispánicas es conocido. Las plantas de nopal fueron de suma importancia para la economía agrícola del imperio Azteca; actualmente, además de la importancia económica en algunas regiones donde se produce, también representa una imagen característica e icónica que simboliza la cultura mexicana y se le considera un recurso genético de gran valor, que México dio al mundo

(Flores *et al.*, 1995; Anaya 2001; Corrales y Flores, 2003; Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006).

Entre las características sobresalientes de las plantas y estructuras de nopal, están su anatomía y morfología que se adaptada al déficit de humedad y a climas semiáridos. Por esto son una alternativa de cultivo en regiones donde difícilmente crecen otras especies. Actualmente, las plantas de nopal están distribuidas en casi todo el mundo, en regiones con ambientes diversos, excepto en las regiones cercanas a los polos y algunos desiertos. En México, se localizan en las planicies áridas del centro y del norte, y crece en climas, suelos, altitudes y tipos de vegetación diferentes. En las zonas semiáridas es donde se concentra la variación mayor (Pimienta-Barrios, 1990; Granados y Castañeda, 1991, Sáenz, *et al.*, 2006).

En México el cultivo de nopal es importante porque lo consumen humanos y animales; frutos (tunas) y cladodios tiernos frescos (nopalitos) en el primer caso y los cladodios maduros (pencas) en el segundo (Callejas-Juárez, 2006). Los nopales también son materia prima como combustible y para elaborar productos farmacéuticos y cosméticos, y son hospederos del insecto *Dactylopius coccus* (cochinilla) que se utiliza para producir rojo carmín (Stintzing y Carle, 2005).

En México, 24 especies se utilizan con fines diversos, quince de ellas se utilizan como forraje, seis para la producción de tuna y tres para producción de nopal tierno o nopalito (Valencia-Sandoval *et al.*, 2010). Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en 2014 la superficie cultivada para la producción de nopal forrajero fue 16,266 ha, para tuna 55,254 ha y para nopalitos 12,038 ha en 2013 (SIAP, 2014).

El género *Opuntia* tiene gran potencial para utilizarse en la industria alimentaria, destaca su uso en la elaboración de productos como: mermeladas, harinas, productos deshidratados, conservas, jugos, confituras, bebidas alcohólicas y pigmentos naturales; el nopal también se usa en plantas procesadoras de aguas negras para clarificar el agua, como adherente para pinturas, encalados y como cerco vivo (Ewaidah y Hassan, 1992;

Joubert, 1993; Sáenz *et al.*, 1998; Sepúlveda *et al.*, 2000; Kanner *et al.*, 2001; Butera *et al.*, 2002).

Propiedades nutraceuticas

Los nopalitos son los cladodios jóvenes de la planta de nopal, los cuales forman parte de la dieta común del pueblo mexicano, consumidos comúnmente como verdura (Sáenz *et al.*, 2006). Los nopalitos son una excelente fuente de constituyentes naturales que aportan a la nutrición y a la salud humana (Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006). Contribuyen con una alta proporción de agua en la dieta, tienen bajo contenido de sodio y de lípidos (Sáenz *et al.*, 2006), son fuente de vitamina C y de β -caroteno (Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006), minerales (Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988) y fibra soluble e insoluble (Peña- Valdivia *et al.*, 2012).

El nopal puede ser terapéutico, pues es hipoglucemiante, auxiliar en los trastornos digestivos, enfermedades cardiovasculares, obesidad e hipocolesterolémico (Binns, 2003; Cummings *et al.*, 2004; Feugang *et al.*, 2006). Las características nutraceuticas de los nopales han despertado interés en mercados europeos y asiáticos (Peña-Valdivia *et al.*, 2012), pues son benéficos para el tratamiento de diversos padecimientos (Stintzing y Carle, 2005).

Composición química de *Opuntia*

La composición química de los cladodios de nopal de dos o tres semanas de edad (nopalitos) que se consumen como verdura varía con la variedad, especie, época de cosecha, edad del cladodio, las condiciones ambientales y los factores edáficos del sitio de cultivo (Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988; Stintzing y Carle, 2005; Peña- Valdivia *et al.*, 2012). En general, los tejidos frescos de los nopalitos contienen cantidades altas de agua, fibra y minerales. Hernández-Urbiola *et al.* (2011) indicaron que 100 g de nopal (30 cm de longitud) contenían 5.03 g de humedad, 17.65 g de cenizas, 2.16 g de grasa, 11 g de fibra, 7.07 g de proteínas, 42.94 g de carbohidratos, minerales como Fe, Mg, P, Mn, Zn, V, Ca, Co, Se. De acuerdo con Maki-Díaz *et al.* (2015), nopales para exportación (22

cm de longitud), tienen acidez (ácido málico) de 0.2 %, 0.46 mg de clorofila 100 g⁻¹ y 0.1 mmol de carotenoides g⁻¹.

Acidez

Una consecuencia de la fotosíntesis MAC en los nopalitos es la variación de la acidez de acuerdo con la hora del día, la cual es alta al amanecer y baja rápidamente durante las primeras horas de la mañana. La acidez de los nopalitos varía ampliamente, de 0.1 a 0.6 % de acidez titulable, en dependencia de la hora del día (Rodríguez y Cantwell, 1988). Las fluctuaciones en la acidez continúan aun después de cosechados y está en función de la hora del día (Corrales *et al.*, 2004).

Las variaciones en 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 la planta (Cushman, 2001a; Dodd *et al.*, 2002). La acidez también depende de las condiciones ambientales, como la temperatura, la intensidad de luz (Nobel y Hartsock, 1983), el déficit hídrico, suministro de agua (Dodd *et al.*, 2002), la edad del tejido y de la planta. La acumulación de ácidos en nopalitos cosechados en diferentes horas del día se ha evaluado por diferentes autores (Razo y Sánchez, 2002; Corrales-García *et al.*, 2004), la acidez de nopalitos para consumo nacional y de exportación (Maki-Díaz *et al.*, 2015) y la acidez de nopalitos en un gradiente de domesticación (García-Nava *et al.*, 2015).

Carbohidratos no estructurales

En las plantas, los carbohidratos están clasificados en estructurales y no estructurales. Los estructurales forman parte de la pared celular (son moléculas complejas, con peso molecular alto, como mucílagos, pectinas, hemicelulosas y celulosa). Los no estructurales llamados comúnmente carbohidratos solubles en agua o de reserva (almidón principalmente), se almacenan en órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones, tallos. En diferentes plantas se ha encontrado que los carbohidratos no estructurales totales son principalmente monosacáridos (glucosa y fructosa), disacáridos (sacarosa) y polisacáridos (almidón) (Smith, 1972). Los carbohidratos simples son parte central del

metabolismo primario, tienen funciones diversas en las plantas, como constituir los esqueletos carbonados para la biosíntesis de ATP, generar energía redox, participar en la traducción de señales, biosíntesis de antocianinas, β -oxidación, metabolismo del nitrógeno, y regulación procesos diversos, como el desarrollo de las semillas, formación de estructuras celulares, floración y senescencia, entre muchos más (Yoshida, 2003; Lalonde *et al.*, 2004).

La sacarosa es la fuente principal de C orgánico, se almacena en la vacuola o se metaboliza, es un metabolito y una molécula de señalización (Reca *et al.*, 2008; Wind *et al.*, 2010; Ruan, 2012; Gao *et al.*, 2014). Durante el día el disacárido se sintetiza en el citoplasma a partir de triosa fosfato provenientes del cloroplasto, por la noche es producto de la degradación del almidón (Zeeman *et al.*, 2004, 2010; Padilla-Chacón y Martínez-Barajas, 2007; Antony y Borland, 2009). La presencia de almidón en los cloroplastos de tejidos fotosintéticos puede ser simultánea a la síntesis de sacarosa en el citosol (Zeeman *et al.*, 2004, 2010). La sacarosa, es sustrato para el metabolismo energético y la biosíntesis de macro-moléculas, que resulta en acumulación de biomasa, crecimiento y desarrollo (Wang *et al.*, 2013). El disacárido es clave en la vida vegetal, tanto que una planta sin sacarosa no es concebible (Salerno y Curatti, 2003). En dependencia de los requerimientos metabólicos de la planta, la sacarosa puede transportarse, a través del floema, desde tejidos fotosintéticamente activos (cladodios jóvenes en nopal) a tejidos que la demanden (Ruan *et al.*, 2010), como el fruto y los cladodios viejos y senescentes.

Existen mecanismos que permiten a los azúcares proteger a las células durante el estrés por temperaturas extremas o humedad limitada. En uno de esos mecanismos el grupo hidroxilo de los azúcares pueden sustituir el agua para mantener la interacción hidrofílica en membranas y proteínas durante la deshidratación; lo que permite que los azúcares interactúen con proteínas y membranas a través de los enlaces de hidrogeno, evitan con ello la desnaturalización de las proteínas (Williams y Leopold, 1989; Leopold *et al.*, 1994). En otro mecanismo, los azúcares contribuyen a la formación de cristales orgánicos en el citoplasma de las células deshidratadas (vitrificación) (Leopold *et al.*, 1994; Buitink *et al.*, 1988). Los cristales ayudan a prolongar la longevidad del tejido deshidratado mediante

un proceso degradativo lento durante el almacenamiento de fotosintatos (Buitink *et al.*, 1988).

La glucosa es fuente de substratos para la respiración y el transporte de electrones en la mitocondria (Koster y Leopold, 1998). La sacarosa y fructosa se encuentra entre los metabolitos hidrofílicos que se acumulan en reacción al déficit hídrico, ya que pueden participar en el ajuste osmótico (Chen y Murata, 2002). Kerepesi y Galiba (2000) indicaron que la participación de los azúcares reductores, como glucosa y fructosa, en el mecanismo de adaptación a estrés es objeto de controversia, e incluso su acumulación puede ser perjudicial para los tejidos de la planta. Pero Hoesktra *et al.* (2001) aseguraron que la acumulación de los azúcares solubles, como la glucosa, fructosa y sacarosa, está relacionada con la adquisición de la tolerancia a la sequía en las plantas. Específicamente, la fructosa, además de ser un carbohidrato de reserva, influye directamente en el proceso de crecimiento de las plantas (Pilon *et al.*, 1995) y se ha identificado como azúcar importante en los procesos metabólicos de las plantas durante su adaptación al estrés por frío y por sequía (Pontis, 1989; Pollock y Cairns, 1991; Hendry, 1993; Pilon *et al.*, 1995).

En el fruto de mandarina (*Citrus unshiu* Marc.) “Satsuma” se evidenció que las concentraciones de sacarosa, glucosa y fructosa incrementaron en reacción al estrés por humedad restringida en el suelo, y como una de las moléculas que participaron en el ajuste osmótico (Yakushiji *et al.*, 1996). Las plántulas de frijol del cv. Pinto Villa (resistente a sequía) en condiciones de sequía (potencial de humedad del suelo de -2.17 MPa) acumularon más glucosa, fructosa y sacarosa que las de Bayo Madero (susceptible a sequía) (Herrera-Flores *et al.*, 2012). También en frijol de Palo (*Cajanus cajan*) en estrés por déficit de humedad se observó alteración en los niveles de carbohidratos, como sacarosa, glucosa, fructosa y el almidón (Keller y Ludlow, 1993). Nayer y Reza (2008) demostraron que la concentración de azúcares solubles en la raíz y el vástago en dos variedades de maíz aumentó cuando el potencial hídrico disminuyó a -1.76 MPa. El efecto del estrés por sequía en los carbohidratos varía entre las especies y los tejidos de la planta; en plantas de frijol en estrés por sequía, no se alteró la concentración de fructosa

y glucosa en la hoja durante el periodo de llenado de grano (Breedan y Egli, 2003), mientras que en las hojas, flores y vainas de soya, fructosa y glucosa incrementaron (Liu *et al.*, 2004).

Domínguez-López (1996) señaló que cladodios tiernos de nopal *O. ficus-indica* contienen entre 4.0 y 6.5 % de azúcares reductores. Por su parte Andreu *et al.* (2017) demostraron que el contenido de glucosa y fructosa en cladodios de *O. ficus-indica* de un año de edad fue de 36.2 y 4.91 g L⁻¹ y para cladodios de 2 años de edad era de 21.6 y 117 g L⁻¹. Por su parte Astello-García *et al.* (2015) encontraron que el contenido de azúcar total en *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* fue de 54.7, 36.0 y 66.4 mg g⁻¹, mientras que las especies con mayor domesticación, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* tuvieron un 28.3 y 38 mg g⁻¹.

El almidón compuesto de dos polímeros: amilasa (30 %) y amilopectina (70 %), ambos de (1-4)- α -D-glucano; la amilasa es una molécula lineal ligeramente ramificada y la amilopectina es altamente ramificada (Morell y Copeland, 1985). La degradación del almidón transitorio se detiene durante el día (Zeeman *et al.*, 2002; Streb *et al.*, 2009) y durante la noche se hidroliza, a tasas más o menos constantes. Los gránulos de almidón no afectan la osmolaridad y las plantas almacenan grandes cantidades de este polisacárido sin alterar el equilibrio hídrico de las células (Ball y Morell, 2003).

La hidrólisis consiste en el rompimiento de los enlaces glicosídicos por una molécula de agua, para producir glucosa que después es utilizada en la respiración celular para producir energía y la síntesis de sacarosa (Pellerchi *et al.*, 1997; Vu *et al.*, 1998). Como lo observaron Fredeen *et al.* (1991) y Zrenner y Stitt (1991) en plantas de girasol (*Helianthus annuus*) y espinaca (*Spinacia oleracea*).

Por su parte Herrera-Flores *et al.* (2012) demostraron que la concentración de almidón en la radícula de frijol cv Pinto Villa (resistente a sequía) disminuyó por el proceso de degradación y dio lugar a la síntesis y acumulación de glucosa, fructosa y sacarosa, principalmente en el potencial de agua de -2.07 MPa, en donde se tuvo una acumulación

de azúcares de 18.49 mg g⁻¹ pf, mientras que el cv. Bayo Madero tuvo 13.03 mg g⁻¹ pf en el potencial de -1.29 MPa.

Fenoles totales

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, pero con un rol en el crecimiento, reproducción, protección contra patógenos y predadores en las plantas (Balasundram *et al.*, 2006; Neilson *et al.*, 2013). Los compuestos fenólicos se han asociados con efectos benéficos para la salud humana, a través de su capacidad antioxidante, derivado del consumo de frutas y vegetales (Heim *et al.*, 2002; Parr y Bolwell, 2000). El género *Opuntia* es fuente de compuestos fenólicos; ya que se ha identificado en semillas, pulpa, cascara, cladodios y flores (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Benayad *et al.*, 2014; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015; Astello-García *et al.*, 2015; Pichereaux *et al.*, 2016).

Guevara-Figueroa *et al.* (2010); determinaron que el contenido de fenoles totales en los cladodios de especies silvestres *Opuntia* fueron (17.8 a 19.9 mg g⁻¹) significativamente mayores que los de las especies comerciales (5.25 y 11.7 mg g⁻¹). Pichereaux *et al.* (2016) también cuantificaron contenido mayor de fenoles (65.1 μmol g⁻¹) en *O. streptacantha* que en *O. megacantha* y *O. ficus-indica* (57.8 y 56.7 μmol g⁻¹).

Aminoácidos

Los aminoácidos son los componentes que forman las proteínas. Los aminoácidos participan en diversos procesos del metabolismo primario y secundario de las plantas, como el metabolismo de la glucosa, la producción de ciertas hormonas, contribuyen al crecimiento y reparación de los tejidos, y pueden ser osmoprotectores (Salisbury y Ross, 1994; Martínez, 2010).

En las plantas el requerimiento de aminoácidos es permanente en todo el ciclo vital. Estos compuestos desempeñan funciones en la síntesis de proteínas, en la formación de algunas fitohormonas, así como en la regulación del balance hídrico en las plantas en situaciones de estrés y como moléculas quelantes de cationes necesarios para el

desarrollo vegetal y germinación (Cervantés, 2008). Los tejidos foliar o radicular de las plantas pueden absorber aminoácidos libres y péptidos de peso molecular bajo (Gomis *et al.*, 1987).

Las plantas en estrés por factores como sequía, salinidad, temperaturas bajas o daños por patógenos activan mecanismos para sobrevivir (Shulaev *et al.*, 2008). Genes y productos, entre los que destacan los aminoácidos, se acumulan frecuentemente en respuesta al estrés (Hassan *et al.*, 1994); estos compuestos, como la prolina, tienen funciones diversas, una de ellas es osmoprotección y confieren tolerancia al estrés (Shulaev *et al.*, 2008). La prolina, además de formar parte de las proteínas, las células la acumulan en reacción a ciertos tipos de estrés, por lo que se utiliza frecuentemente como indicador de estrés, hídrico y salino (Hassine *et al.*, 2008; Saglam *et al.*, 2008); además, se relaciona con el estrés causado por patógenos en las plantas (El-Hendawy, 1999). La prolina también se considera estabilizadora de proteínas y membranas, activadora de genes relacionados con el estrés osmótico (Iyer y Caplan, 1998) y fuente de carbono y nitrógeno, pues es fácilmente aprovechable durante la rehidratación celular (Brugiere *et al.*, 1999).

Sharp *et al.* (1990) demostraron que la concentración de aminoácidos fue superior en la región meristemática del vástago de maíz, que en las regiones maduras de plantas en potenciales hídricos bajos, y entre los principales aminoácidos que detectaron estaban prolina, betalina, glutamina, glutamato y asparagina. Sánchez-Urdaneta *et al.* (2005) determinaron que el contenido de prolina en la región de división celular de la raíz de plántulas de maíz sensible y tolerante a sequía fue mayor (5.64 y 6.96 $\mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1}$ de tejido seco) que en la región de diferenciación y que ocho ciclos de selección recurrente de maíz Tuxpeño para tolerancia a la sequía indujeron reducción del contenido de prolina en la región de diferenciación de raíz, pero su aumento significativo en la región de división celular cuando las plántulas crecen sin restricción de humedad pero se acumula cuando el potencial de agua disminuye.

Entre los aminoácidos libres en cladodios de *O. ficus-indica* glutamina fue el más abundante, le siguieron valina y serina, reportaron que glicina y arginina fueron los aminoácidos predominantes en cladodios de nopal (Lee *et al.*, 1997).

Proteínas

Entre las aplicaciones del contenido de proteína total o soluble en los tejidos de las plantas está la actividad metabólica global de los tejidos; en general, la actividad mayor se desarrolla con más proteínas y viceversa (Nobel, 1983). Además, las condiciones ambientales, como temperatura, ciclo del día (luz u oscuridad) y disponibilidad de agua modulan la síntesis de proteínas en *Opuntia* (Nobel e Israel, 1994; Drennan y Nobel, 2000). El contenido de proteínas totales en cladodios de *Opuntia* es de 4 -10 g 100 g⁻¹ determinadas en base seca, mientras que muestras evaluadas en peso fresco su contenido es de 0.5 -1.0 g 100 g⁻¹ (Stintzing y Carle 2005).

Astello-García *et al.* (2015) determinaron el contenido proteico en *Opuntia*, encontrando que el contenido mayor lo presentó *O. hyptiacantha* "San pedreña" y *O. ficus-indica* "Atlixco" (12.57%), mientras que el contenido proteico más bajo se encontró en *O. ficus-indica* "Copena V1" (9.34%). En las variantes de *O. albicarpa* no se observaron diferencias (11.2-11.97%). Valores similares han sido reportado para *O. ficus-indica* "Milpa Alta" (12.9%) y *O. ficus-indica* "Atlixco" (13.84%) (Ramírez-Moreno *et al.*, 2011).

Por su parte Hernández-Urbiola *et al.* (2011) reportaron que los valores más bajos en el contenido de proteínas totales (5.85 - 8.99%) se describieron para los cladodios maduros de *O. ficus-indica* de 40 a 135 días, esto coincide con Stintzing y Carle (2005), que mencionan que los cladodios más jóvenes de *Opuntia* muestran un mayor contenido de proteínas. Pichereaux *et al.*, (2016) observaron que aproximadamente la mitad de las proteínas encontradas en *Opuntia* correspondían a las involucradas a los procesos metabólico, en las especies silvestres *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* con un porcentaje en un rango de 47.2% a 48.4%, en tanto que en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* tuvieron los valores más bajos (44.4% y 45.8%). Proteínas relacionadas con la defensa y las respuestas a estímulos fueron más representadas en *O. streptacantha*

(13.1%) y *O. hyptiacantha* (13.9%) y que aproximadamente la mitad de las proteínas de *Opuntia* corresponden a los procesos metabólicos

Invertasas

La sacarosa, así como los productos de su hidrólisis, glucosa y fructosa; regulan el desarrollo de las plantas, así como la respuesta al estrés abiótico y biótico, a través de la asignación de carbono y la señalización del azúcar (Roitsch y González 2004; Ruan *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014). La utilización de la sacarosa como fuente de carbono y energía depende de su hidrólisis hasta hexosas. La sacarosa es hidrolizada por dos diferentes enzimas: (1) sacarosa sintasa (Sus EC 2.4.1.13) que hidroliza reversiblemente a la sacarosa en UDP-glucosa y fructosa en presencia de UDP (Uridina 5-difosfato) y actúa principalmente para mantener la resistencia del sumidero (Xu *et al.*, 2012) y en la síntesis de productos de almacenamiento, tales como almidón y celulosa (Chourey *et al.*, 1998; Coleman *et al.*, 2009); (2) invertasa (INV EC 3.2.1.26) hidroliza irreversiblemente la sacarosa en glucosa y fructosa, implicada principalmente en el desarrollo de plantas y metabolismo del carbono primario (Sturm 1999; Zhang *et al.*, 2003; Ruan *et al.*, 2010; Kulshrestha *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

La invertasa está ampliamente distribuida entre la biosfera. Se caracteriza principalmente en plantas y microorganismos. *Saccharomyces cerevisiae* es la principal cepa utilizada para la producción de invertasa comercial (Kulshrestha *et al.*, 2013). Las plantas superiores contienen varias isoformas de invertasa, que se distinguen por su localización sub-celular, solubilidad (soluble o insoluble en tampón de baja fuerza iónica), pH óptimo y punto isoeléctrico (Sturm y Chrispeels, 1990). Son glicoproteínas, estables a 50 °C, los cationes como Hg^{2+} , Ag^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , muestran una marcada inhibición de la enzima (Ali y Haq 2007). Las funciones fisiológicas de las isoformas de invertasa son complejas y dependen del tipo de tejido y de su localización sub-celular (Roitsch y González 2004).

Basadas en su pH óptimo, las invertasas se clasifican en: invertasas ácidas con un pH óptimo de 3.5 a 5.5, e invertasas alcalinas/neutras con un pH óptimo de 6.5 a 8.0 (Lee y Sturm, 1996; Jing *et al.*, 2014; Qian *et al.*, 2016). Las invertasas ácidas son proteínas

glicosiladas y son β -fructofuranosidasas, que hidrolizan a la sacarosa y otros oligosacáridos que contienen β -fructosa, como rafinosa y estaquiosa (Sturm, 1999; Fotopoulos 2005). Se consideró que las invertasas alcalinas/neutras hidrolizaban sólo a la sacarosa, y no se consideran β -fructofuranosidasas (Sturm, 1999). Sin embargo, varias investigaciones han demostrado que estas enzimas pueden ser consideradas como β -fructofuranosidasas (Van den Ende y Van Laere 1995; Lee y Sturm, 1996; Lin *et al.*, 1999).

Por su localización sub-celular las invertasas se dividen en: (1) invertasa de pared celular, denominada también como invertasa ácida insoluble, con un pH óptimo de 3.5 a 5.0, (2) invertasa vacuolar, llamada también como invertasa ácida soluble, con un pH óptimo de 4.5 a 5.5, (3) invertasa citosólica (invertasa neutral o alcalina), con pH óptimo de 6.5 a 8.0 y con características de solubilidad (Roitsch y González 2004; Vargas *et al.*, 2007). Antes de 2005, se creía que la invertasa citosólica se localizaba exclusivamente en el citosol (Ji *et al.*, 2005), en los últimos años se ha demostrado que algunas de ellas, están presentes en las mitocondrias, plastidios, cloroplastos y el núcleo (Murayama y Handa, 2007; Vargas *et al.*, 2008; Vargas y Salerno, 2010; Xiang *et al.*, 2011) lo que sugiere que desempeñan papeles específicos en la partición de carbono intracelular. Además, las enzimas citosólicas han sido consideradas como enzimas de "mantenimiento" que proporcionan sustrato para el ciclo del ácido tricarbóxico en tejidos en los que las actividades de invertasa ácida o sacarosa sintasa son bajas o insuficientes (Winter y Huber, 2000; Roitsch y González, 2004).

En *Arabidopsis*, la invertasa neutral/alcalina tiene función clave en la señalización (Lou *et al.*, 2007), el crecimiento radicular (Barratt *et al.*, 2009), el desarrollo del aparato fotosintético, y la asimilación de nitrógeno (Maruta *et al.*, 2010; Tamoi *et al.*, 2010), defensa contra el estrés oxidativo (Xiang *et al.*, 2011). En arroz, es esencial para la fijación normal de semillas y la utilización de sacarosa en la raíz (Jia *et al.*, 2008). Xiang *et al.* (2011) demostraron que las invertasas neutra/alcalina son parte del sistema antioxidante involucrado en la homeostasis de las especies de reactivas de oxígeno.

La invertasa vacuolar está implicada en la acumulación de hexosas y la expansión celular, afectando la contribución osmótica y facilitando la afluencia de agua para promover la expansión celular (Ruan *et al.*, 2010). La actividad de la invertasa vacuolar, pueden ser regulada por el pH dentro de la vacuola a través de la modulación de la actividad de H⁺/antiporte de azúcar en el tonoplasto u otros transportadores como potasio, cloruro y malato (Wang *et al.*, 2014; Ruan, 2014). Se ha observado que la sobreexpresión o supresión de genes de invertasas vacuolares en tejidos sumideros en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) uva (*Vitis vinifera* L.) y papa (*Solanum tuberosum*), tiene un efecto en la acumulación de hexosa y sacarosa (Klann *et al.*, 1993, 1996; Davies y Robinson, 1996; Greiner *et al.*, 1999). Además del rol fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas, la invertasa vacuolar ha sido reportada en numerosas investigaciones en maíz (*Zea mays* L.) tomate (*Lycopersicon esculentum*), papa (*Solanum tuberosum*), con un papel en la regulación de la resistencia de las plantas bajo estrés abiótico y biótico (Zeng *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2000; Schaarschmidt *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011; Tausin y Giardina 2014).

Dado que los sustratos y productos de reacción de las invertasas son tanto nutrientes como moléculas de señalización que regulan una variedad de genes en diferentes vías fisiológicas, induciendo la biosíntesis de otras sustancias osmoprotectoras en respuesta a condiciones desfavorables, por ello, no es sorprendente que las invertasas afecten al desarrollo normal de la planta en respuestas a estímulos ambientales (Koch 1996; Sheen *et al.*, 1999). Así, las invertasas son consideradas enzimas claves para el desarrollo de la planta y la respuesta al estrés (Hare *et al.*, 1998; Bolouri-Moghaddam *et al.*, 2010; Ruan *et al.*, 2010; Ruan 2014). Por lo que se considera que la actividad enzimática es clave para la vida de las plantas (Huang *et al.*, 2007).

Literatura Citada

Abbo, S., R.P. van-Oss, A. Gopher, Y. Saranga, I. Ofner, Z. Peleg. 2014. Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. Trends in Plant Science 19: 351-360.

- Acevedo, E., I. Bonilla, P.S. Nobel. 1983. Water relation, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Aguilar-Becerril, G., C.B. Peña-Valdivia. 2006. Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 231-237.
- Aguilar-Becerril, G. 1991. Experiencias en la producción de nopal (*Opuntia spp.*) en el área de Chapingo México. *Sociedad Mexicana de Fitogenética*. *Germen* 10: 8-9.
- Ali, S., I. Hag. 2007. Kinetics of improved extracellular b-D-fructofuranosidase fructohydrolase production by a derepressed *Saccharomyces cerevisiae*. *Letters in Applied Microbiology* 45: 160-167.
- Anaya P. M. A. 2001. History of the use of *Opuntia* as forage in México. In: J. Mondragón C, S. Pérez G. (eds.). *Cactus (Opuntia spp.) as Forage*. FAO. *Plant Production and Protection* 169: 5-12.
- Anderson, F. 2001. *The cactus family*. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 776 p
- Andrade, J.L., E. De la Barrera, C. Reyes-García, M. F. Ricalde, G. Vargas-Soto, C. Cervera. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 37-50.
- Andreu, L., N. Nuncio-Jáuregui, A.A. Carbonell-Barrachina, P. Legua, F. Hernández. 2017. Antioxidant properties and chemical Characterization of Spanish *Opuntia ficus-indica* Mill. cladodes and fruits. *Journal of Science of Food and Agricultura* 8 p.
- Arakaki, M., P.A. Christin, R. Nyffeler, A. Lendel, U. Eggli, R.M. Ogburn, E. Spriggs, M.J. Moore y E.J. Edwards. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 108: 8379-8384.
- Astello-García, M. G., I. Cervantes, V. Nair, M.S. Santos-Días, A. Reyes-Agüero, F. Guéraud, A. Negre-salvayre, M. Rossignol, L. Cisneros-Zevallos, A.P. Barba de la Rosa. 2015. Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia spp.* cultivar with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 119-130.
- Ball, S.G., M.K. Morell. 2003. From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annual Review of Plant Biology* 54: 207-233.

- Balasundram, N., K. Sundram, S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 9: 191-203.
- Barratt, D.H., P. Derbyshire, K. Findlay, M. Pike, N. Wellner, J. Lunn, R. Feil, C. Simpson, A.J. Maule, A.M. Smith. 2009. Normal growth of *Arabidopsis* requires cytosolic invertase but not sucrose synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 106: 13124-13129.
- Benayad, Z., C. Martinez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cordoves, N. E. Es-Safi. 2014. Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products* 62: 412-420.
- Betancourt-Domínguez, M.A., T. Hernández-Pérez, P. García-Saucedo, A. Cruz-Hernández, O. Paredes-López. 2006. Physico-Chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.
- Binns C. 2003. Consume only moderate amounts of sugar and foods containing added sugars. *Journal of the Home Economics Institute of Australia* 10: 27-37.
- Bolouri-Moghaddam, M.R., K. Le Roy, L. Xiang, F. Rolland, W. Van den Ende. 2010. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. *The FEBS Journals* 277: 2022-2037.
- Borland A.M., H. Griffiths, J. Hartewell, J.A.C. Smith. 2009. Exploiting the potential of plants with Crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany* 60: 2879-2896.
- Borland, A. M., K. Maxwell, H. Griffiths. 2000. Ecophysiology of plants with crassulacean acid metabolism. Leegood, R.C., Sharkey, T.D., von Caemmerer, S. (ed.), *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. 583-605 p.
- Bravo, H. H. 1978. *Las cactáceas de México*. Universidad Autónoma de México. México, D.F. 365 p.
- Brevedan, R.E., B.D. Egli. 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. *Crop Science* 43: 2083-2088.

- Brugiere, N., F. Dubois, A.M. Limami, M. Lelandais, Y. Roux, R.S. Sangwan, B. Hirel. 1999. Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production. *Plant Cell* 11: 1995-2011.
- Buitink, J., M.M.A.E. Laessens, M.A. Herminings, F.A. Hoskstra. 1988. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seeds and pollen. *Plant Physiology* 118: 531-541.
- Butera, D., L. Tesoieire, F. Di Gaudio, A. Bongiorno, M. Allegra M., A. Pintaudi, R. Kohen, M. Livrea. 2002. Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) Fruit extracts and reducing properties of betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6895-6901.
- Callejas-Juárez, N. 2006. Situación actual y perspectivas del Mercado para la tuna, el nopalito y sus derivados en el Estado de México. 2006. Tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados. México. 131 p.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente-Banuet, J. A. Soriano, P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central México. *American Journal of Botany* 86: 522-533.
- Casas, A., J. Caballero, C. Mapes, S. Zárata. 1997. Manejo de la vegetación, domesticación de plantas y origen de la agricultura en Mesoamérica. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 61: 31-47.
- Cervantes, M. 2008. Fisiología vegetal, cultivos ornamentales. Barcelona, España. AEDOS. 66-77 p.
- Chaves, M. M., J. Flexas, C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.
- Chaves, M. M., J.P. Maroco, J.S. Pereira. 2003. Understanding plant response to drought- from genes to the whole plant. *Functional Plants Biology* 30: 239-264.
- Chen, T., N. Murata. 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Plant Biology* 5: 250-257.
- Chourey, P.S., E.W. Taliencio, S.J. Carlson, Y.L. Ruan. 1998. Genetic evidence that the two isozymes of sucrose synthase present in developing maize endosperm are critical, one for cell Wall integrity and the other for starch biosynthesis. *Molecular and General Genetics* 259: 88-96.

- Coleman, H.D., J. Yan, S.D. Mansfield. 2009. Sucrose synthase affects carbon partitioning to increase cellulose production and altered cell wall ultrastructure. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 13118-13123.
- Corrales-García, J., C. B. Peña-Valdivia, Y. Razo-Martínez, M. Sánchez-Hernández. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32: 169-174.
- Corrales G.J., V. C. Flores. 2003. Nopalitos y tunas: producción, comercialización. Postcosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo. CIESTAAM-programa Nopal. México. 225 p.
- Cota S., J.H. 2008. Evolución de las cactáceas en la región del Golfo de California, México. En *Estudios de las Islas del Golfo de California*. Flores-Campaña, L.M. (Editor.) Universidad Autónoma de Sinaloa, Gobierno de Sinaloa. México. 67-79 p.
- Cummings J. H., L. M. Edmond, E. A. Magee. 2004. Dietary carbohydrates and health: ¿do we still need the fiber concept? *Clinical Nutrition Supplements* 1: 5-17.
- Cushman, J.C., S.C. Davis, X. Yang, A. M. Borland. 2015. Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66: 4177-4193.
- Cushman, J. C., A. M. Borland. 2002. Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. *Plant Cell and Environment* 25: 295-310.
- Cushman, J. C. 2001a. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environment. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- Davies, C., S.P. Robinson. 1996. Sugar accumulation in grape berries. Cloning of two putative vacuolar invertase cDNAs and their expression in grapevine tissues. *Plant Physiology* 111: 275-283.
- Díaz-Padilla, G., I. Sánchez-Cohen, R.A. Guajardo-Panes, A.L. Del Ángel-Pérez, A. Ruíz-Corral, G. Medina-García, D. Ibarra-Castillo. 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.
- Dodd, A. N., A. M. Boarland, R. P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 569-580.

- Domínguez-López, A. 1996. Revisión bibliográfica sobre algunos aspectos tecnológicos y usos alternativos de los cladodios y frutos del nopal (*Opuntia* spp.) en la alimentación humana. *Ciencia ergo sum* 2: 231-238.
- El-Hendawy, H.H. 1999. Water stress in cucumber cotyledons infected with *Xanthomonas campestris* pv. Cucurbitae. *Folia Microbiologica* 44: 530-534.
- Ewaidah, E.H., B. H. Hassan. 1992. Prickly pears sheest: a new fruit product. *International Journal of Food Science and Technoly* 27: 353-358.
- Feugang, M.J., P. Konarski, D. Zou, F.C. Stintzing, C. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience* 11: 2574-2589.
- Figuroa, H.F., J.R. Aguirre-Rivera, M. E. García. 1980. Estudio de las nopaleras cultivadas y silvestres sujetas a recolección para el mercado en el altiplano potosino-zacatecano. En *Avances en la Enseñanza e Investigación*. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 31-32 p.
- Flores-Hernández, A., I. Orona-Castillo, B. Murillo-Amador, J.L. García-Hernández. 2004. Yield and physiological traits of prickly pear cactus "nopal" (*Opuntia* spp.) cultivars under drip irrigation. *Agricultural Water Management* 70: 97-107
- Flores-Valdez, C. 2003. Importancia del nopal. In: C. A. Flores Valdez, ed. *Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización*. Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. México. 1-18 p.
- Flores, V., E. De Luna, M. Ramirez. 1995. Mercado mundial del nopalito. ASERCA-CIESTAAM-UACH. 176 p.
- Fotopoulos, V. 2005. Plant invertases: structure, function and regulation of a diverse enzyme family. *Journal of Biological Research* 4: 127-137.
- Frary, A., S. Doganlar. 2003. Comparative Genetics of Crop Plant Domestication and Evolution. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 59-69.
- Fredeen, A.L., J.A. Gamon, C.B. Field. 1991. Responses of photosynthesis and carbohydrate partitioning to limitations in nitrogen and wáter availability in field-grown sunflower. *Plant Cell and Environment* 14: 963-970.

- García-Marín, P.C., E. Hernández-Xolocotzi, A. Castillo-Morales. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el bajío Guanajuatense. *Agrociencia* 65: 7-49.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García-Nava, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 927-938.
- García-Nava., F., M. López., C. B. Peña-Valdivia, C. Romo, Y. Marmolejo. 2018. Chemical characteristics of non-starch polysaccharides of *Opuntia* cladodes as evidence of changes through domestication. *Food Bioscience* 22: 69-77.
- García-Ruíz, M. T., C. B. Peña-Valdivia, C. Trejo-López, S. Valle-Guadarrama, J. Corrales-García, J.R. García-Nava. 2008. Tissue osmotic potencial and membrane permeability of nopalitos (*Opuntia* spp.) affected by changes in soil water potential. *Journal of Professional Association for Cactus Development* 10: 133-147.
- Gao, J., P.J.M. van Kleeff, C. Oecking, K.W. Li, A. Erban, J. Kopka, D.K. Hinch, A.H. de Boer. 2014. Light modulated activity of root alkaline/neutral invertase involves the interaction with 14-3-3 proteins. *The Plant Journal* 80: 785-796.
- Gepts, P. 2004. Crop domestication as a long-term selection experiment. In: *Plant breeding reviews*. Volumen 24, Part 2, New York, USA. Edited by Jules Janick. 1-44 p.
- Gibson, A. C. 1996. *Structure-function relations of warm desert plants*. Springer-Verlag. Heidelberg. 215 p.
- Gibson, A. C., P. S. Nobel. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 286 p.
- Gomis, P., L.L. Avila, R. Ruhi, F.J. Villa Pahi. 1987. Fertilización a base de aminoácidos. *Fruticultura Profesional* 12: 156-157
- Granados, S.D., P.A. Castañeda. 1991. *El nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola*. Editorial Trillas. México. 205 p.
- Greiner, S., T. Rausch, U. Sonnewald, K. Herbers. 1999. Ectopic expression of a tobacco invertase inhibitor homolog prevents cold-induced sweetening of potato tubers. *Nature Biotechnology* 17: 708-711.

- Griffiths H., W.E. Robe, J. Girnus, K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during crassulacean acid metabolism species. *Journal of Experimental Botany* 59: 1851-1861.
- Guevara-Figueroa, T., H. Jiménez-Islas, M.L. Reyes-Escogido, A.G. Mortensen, B.B. Laursen, L.W. Lin, A. De León-Rodríguez, I.S. Fomsgaard, A.P. Barba de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525-532.
- Guillen, S., A. Casas, T. Terrazas, E. Vega, A. Martínez-Palacios. 2013. Differential survival and growth of wild and cultivated seedlings of columnar cacti: consequences of domestication. *American Journal of Botany* 100: 2364-2379.
- Hare, P.D., W.A. Cress, J. Van Staden, 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell and Environment* 21: 535-553.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G.P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Hassan, M.T., C.C.Y. Chang, T.Y. Chang. 1994. Somatic cell genetic biochemical characterization of cell lines resulting from human genomic DNA transfections of Chinese hamster ovary cell mutants defective in sterol-dependent activation of sterol synthesis and receptor expression. *Somatic Cell and Molecular Genetics* 20: 183-194.
- Hassinne, A.B., M.E. Ghanem, S. Bouzid, S. Lutts. 2008. An inland and a coastal population of the mediterranean xero-halophyte species *Atriples halimes* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress. *Journal of Experimental Botany* 59: 1315-1326.
- Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, D.J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572-584.
- Heiser, C.B. 1995. The ethnobotany of domesticated plants. In: Schultes R.E., von Reis S. (eds.) *Ethnobotany*. Dioscorides. Portland, OR, EEUU. 200-202 p.
- Hendry, G.A.F. 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans—a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist* 123: 3-14.

- Hernández-Urbiola, M. I., E. Pérez-Torero, M. E. Rodríguez-García. 2011. Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (*Opuntia ficus indica*) at varied ages in an organic harvest. *Int. J: Environment Res. Public Health* 8: 1287-1295.
- Herpich, W., K. Peckmann. 2000. Influence of drought on mitochondrial activity, photosynthesis, nocturnal acid accumulation and water relations in the CAM plants *Prenia sladeniana* (me-type) and *Crassula lycopodiodes*. *Annal of Botany* 86: 611-620.
- Herrera-Flores, T.S., J. Ortiz-Cereceres, A. Delgado-Alcarado, J.A. Acosta-Gallegos. 2012. Crecimiento y contenido de prolina y carbohidratos de plántulas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 713-725.
- Heyduk, K., M.R. McKain, F. Lalani, J. Leebens-Mack. 2016. Evolution of a CAM anatomy predates the origins of Crassulacean acid metabolism in the Agavoideae (Asparagaceae). *Molecular Phylogenetic and Evolution* 105: 102-113.
- Hoeskstra, F.A., E.A. Golovina, J. Butinik. 2001. Mechanism of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 431-438.
- Huang, L.F., P.N. Bock, J.M. Davis, and K.E. Koch. 2007. Regulation of invertase: a suite of transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *Functional Plant Biology* 34: 499-507.
- Iyer, S., A. Caplan. 1998. Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes. *Plant Physiology* 116: 203-211.
- Jia, L., B. Zhang, C. Mao, J. Li, Y. Wu, P. Wu, Z. Wu. 2008. OsCYT-INV1 for alkaline/neutral invertase is involved in root cell development and reproductivity in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* 228: 51-59.
- Jiménez-Aguilar, D. M., J.M. López-Martínez, C. Hernández-Brenes, J.A. Gutiérrez-Urbe, J. Welti-Chanes. 2015. Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis* 41: 66-73.
- Jing, G., P.J.M. Van Kleeff, C. Oecking, K. Wan, A. Erban, J. Kopka, D.K. Hinch, A.D. De Boer. 2014. Light modulated activity of root alkaline/neutral invertase involves the interaction with 14-3-3 proteins. *The Plant Journal* 80: 785-796.

- Ji, X., W. Van den Ende, A. Van Laere, S. Cheng, J. Bennett. 2005. Structure, evolution, and expression of the two invertase gene families of rice. *Journal of Molecular Evolution* 60: 615-634.
- Joubert, E. 1993. Processing of the fruit of five prickly pear cultivars grown in South Africa. *International Journal of Food Science and Technology* 28: 377-387.
- Kanner, J., S. Harel, R. Granit. 2001. Betalains – A new class of Dietary Cationized Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5178-5185.
- Keller, F., M.M. Ludlow. 1993. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpeas (*Cajanus cajan*). *Journal of Experimental Botany* 44: 1351-1359.
- Kerepesi, I., G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science* 40: 482-487.
- Kiesling, R. 1998. Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 3: 50-59.
- Kim, J.Y., J. MahéA Brangeon, J.L. Prioul. 2000. A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by waterstress. organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. *Plant Physiology* 124: 71-84.
- Klann, E.M., R.T. Chetelat, B. Ab. 1993. Expression of acid invertase gene controls sugar composition in tomato (*Lycopersicon*) fruit. *Plant Physiology* 103: 863-870.
- Klann, E.M., B. Hall, A.B. Bennett. 1996. Antisense acid invertase (TIV1) gene alters soluble sugar composition and size in transgenic tomato fruit. *Plant Physiology* 112: 1321-1330.
- Koch, K.E., 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 509-540.
- Koster, K.L., A.C. Leopold. 1998. Sugar and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology* 96: 302-304
- Kulshrestha, S., P. Tyagi, V. Sindhi, K.S. Yadavilli. 2013. Invertase and its applications-a brief review. *Journal of Pharmacy Research* 7: 792-797.
- Labra, M. F. Grassi, M. Bardini, S. Imazio, A. Guiggi, S. Citterrop, E. Banfi, S. Sgorbati. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science* 165: 1129-1136.

- Lalonde, S., D. Wipf, W.B. Frommer. 2004. Transport mechanisms for organic carbon and nitrogen between source and sink. *Annual Review of Plant Biology* 55: 341-372.
- Lee, H.S., A. Sturm. 1996. Purification and characterization of neutral and alkaline invertase from carrot. *Plant Physiology* 112: 1513-1522.
- Lee, Y. C., K. H. Hwang, D. H. Han, S. D. Kim. 1997. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean Journal of Food Science and Technology* 29: 847-853.
- Leopold, A.C., W.Q. Sun, L. Bernal. 1994. The glassy state in seeds: analysis and function. *Seed Science Research* 4: 267-274.
- Liu, F., R.C. Jensen, N. M. Andersen. 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. *Field Crops Research* 86: 1-13.
- Liu, M. Z., G. M. Jiang, Y.G. Li, S.L. Niu, L.M. Gao, L. Ding, Y. Peng. 2003. Leaf osmotic potentials of 104 plant species in relation to habitats and plant functional types in Hunshandak Sandland, Inner Mongolia, China. *Tress* 17: 554-560.
- Liu, X., C. Zhang, Y. Ou, Y. Lin, B. Song, C. Xie, J. Liu, X.Q. Li. 2011. Systematic analysis of potato acid invertase genes reveals that a cold-responsive member, StvacINV1, regulates cold-induced sweetening of tubers. *Molecular Genetics and Genomics* 286: 109-118.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, A. I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Gene Resources and Crop Evolution* 59: 1015-1026.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera, H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández, J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp. *Gene Resources and Crop Evolution* 62: 1205-1223.
- Lou, Y., J.Y. Gou, H.W. Xue. 2007. PIP5K9, an Arabidopsis phosphatidylinositol monophosphate kinase, interacts with a cytosolic invertase to negatively regulate sugar-mediated root growth. *Plant Cell* 19: 163-181.
- Luna-Morales, C. 2004. Recolección, cultivo y domesticación de cactáceas columnares en la Mixteca baja, México. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 10: 95-102.

- Luttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism. *Annals of Botany* 93: 629-652.
- Maki-Díaz, G., C.B. Peña-Valdivia, R. García-Nava, M. L. Arévalo-Galarza, G. Calderón-Zavala, S. Anaya-Rosales. 2015. Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agrociencia* 49: 31-35.
- Martínez, A. 2010. Propiedades nutricionales y medicinales del champiñón y otros hongos cultivados. Centro de Investigación Biomedica de la Rioja (CIBIR). 76 p.
- Maruta, T., K. Otori, T. Tabuchi, N. Tanabe, M. Tamoi, S. Shigeoka. 2010. New insights into the regulation of greening and carbon-nitrogen balance by sugar metabolism through a plastidic invertase. *Plant Signaling and Behavior* 5: 1131-1133.
- Mauseth, J. D. 1984. Introduction to cactus anatomy (Part 7). Epidermis. *Cactus Succ. J.* 56: 33-37.
- Meyer, R.S., A.E. DuVal, H.R. Jensen. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist* 196: 29-48.
- McKey, D., M. Elias, B. Pujol y A. Duputié. 2010. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytologist* 186: 318-332.
- Murayama, S., H. Handa. 2007. Genes for alkaline/neutral invertase in rice: alkaline/neutral invertases are located in plant mitochondria and also in plastids. *Planta* 225: 1193-1203.
- Morell, M., L. Copeland. 1985. Sucrose synthase of soybean nodules. *Plant Physiology* 78: 149-164.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.A.A. El-Hady, H. T. Omran, S.K. El-samahy, L.W. Kroh, S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. *Food Research International* 64: 864-872.
- Neilson, E.H., J.Q.D. Goodger, I.E. Woodrow, B.L. Møller. 2013. Plant chemical defense: at what cost?. *Trends in Plant Science* 18: 250-258.
- Nayer, M. and H. Reza. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal* 3: 448-453.

- Nobel, P. S. 2001. Ecophysiology of *Opuntia ficus-indica* In: J. Mondragón C. S. Pérez G. (eds). Cactus (*Opuntia* spp) as Forage. FAO. Plant Production and Protection. Paper 169. 3-20 p.
- Nobel, P. S. 1995. Environmental biology. In: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. Food and Agricultural Organization. Roma. 36-48 p.
- Nobel, P. S. 1994. Remarkable Agaves and Cactus. Oxford. E.U.A. Oxford University. Press. 180 p.
- Nobel, P. S. 1988. Environmental biology of agaves and cactus. New York, Cambridge University Press. 36 p.
- Nobel, P. S., T. L. Hartsock. 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., A.A. Israel, 1994. Cladode development, environmental responses of CO₂ uptake, and productivity for *Opuntia ficus-indica* under elevated CO₂. Journal of Experimental Botany 45: 295-303.
- Odoux, E., A. Domínguez-López. 1996. Le figuier de Barbarie: une source industrielle de bétalases. Fruits 56: 61-77.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Annual Review of Plant Physiology 29: 379-414.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J.L. Hamrick, J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, Central México. Molecular Ecology 14: 1603-1611.
- Padilla-Chacon, D., E. Martínez-Barajas. 2007. Factores involucrados en la distribución de azúcares en las plantas vasculares: comunicación entre los tejidos Fuente y tejido demanda. REB 26: 99-105.
- Parr A.J., G.P. Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food Agriculture 80: 985-1012.

- Pellerchi, S., J.P. Rocher, J.L. Prioul. 1997. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20: 493-503.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo-López, V.B. Arroyo-Peña, A. Sánchez-Urdaneta. M.R. Balois. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp). *Chemistry and Biodiversity* 9: 1599-1610.
- Peña-Valdivia, C.B., A. Sánchez-Urdaneta. 2006. Polisacáridos de nopalitos y tuna (*Opuntia* spp.) En: Flores, V.C. (Ed). Memoria del X Congreso Nacional y VII Internacional, sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal y del Fifth International Congress on Cactus Pear and Cochineal. Universidad Autónoma Chapingo, Food and Agriculture Organization and International society for Horticultural Science. Chapingo, México. Edición en CD.
- Perales-Rivera, H.R., J.R. Aguirre-Rivera. 2008. Biodiversidad humanizada. En Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. 565-603 p.
- Pichereaux, C., E.E. Hernández-Domínguez, M.S. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, M. Astello-García, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, O. Schiltz. 2016. Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication. *Journal of Proteomics* 143: 353-364.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* 100: 925-940.
- Pilon, E.A.H., M.H. Ebskamp, M.J. Paul, M.J.W. Jeuken, P.H. Weisbeek, S.C.M. Smeeckens. 1995. Improved performance of transgenic fructuan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant physiology* 107: 125-130.
- Pimienta-Barrios, E. 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara. México. 246 p.
- Pimienta-Barrios, E., M. Loera-Quezada, L. O. López-Amezcu. 1993. Estudio anatómico comparativo en colectas del subgénero *Opuntia*. *Agrociencia* 4: 7-21.
- Pimienta-Barrios, E., I. Castillo-Cruz, J. Zañudo-Hernández, L. Méndez-Morán, P. S. Nobel. 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annal of Applied Biology* 151: 137-144.

- Piperno, D.R. 2017. Assessing elements of an extended evolutionary synthesis for plant domestication and agricultural origin research. PNAS. 114: 6429-6437
- Pollock, C. J., A.J. Cairns. 1991. Fructan metabolism in grasses and cereals. Annual Review on Plant Physiology and plant Molecular Biology 42: 77-101.
- Pontis, H.G. 1989. Fructans and cold stress. Plant physiology 134: 148-140.
- Qian, W., Y. Chuan, W. Yuchun, C. Hongli, L. Nana, W. Lu, H. Xinyuan, W. Xinchao, X. Bin, Y. Yajun. 2016. Identification of the invertase gene family (INVs) in tea plant and their expression analysis under abiotic stress. Plant Cell Reports 35: 2269-2283.
- Ramírez-Moreno, E., C. Díez-Marqués, M.C. Sanchez-Mata, I. Goñi. 2011. In vitro calcium bioaccessibility in raw and cooked cladodes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). LWT– Food Science and Technology 44: 1611-1615.
- Razo, M.Y., M. Sánchez. 2002. Acidez de 10 variantes de nopalito (*Opuntia* spp.) y su efecto en las propiedades químicas y sensoriales. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 104 p.
- Reca, I.B., A. Brutus, R. D'Avino, C. Villard, D. Bellincampi, T. Giardina. 2008. Molecular cloning, expression and characterization of a novel apoplastic invertase inhibitor from tomato (*Solanum lycopersicum*) and its use to purify a vacuolar invertase. Biochimie 90: 1611-1623.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, y J. L. Flores-Flores. 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., J.R. Aguirre-Rivera y H. Hernández. 2005b. Systematic notes and detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) (Cactaceae). Agrociencia 39: 395-408.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, C.F. Carlín. 2004. Análisis preliminar de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. En, Esparza FG, Valdez ZRD, Méndez SJG. El nopal, tópicos de actualidad. Universidad Autónoma Chapingo y Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 21-47 p.
- Reyes-Agüero, J.A. J.R. Aguirre R. y A. Valiente B. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. Journal of Arid Environments 64: 549-585.
- Rodríguez-Felix, A., M. Cantwell. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes. Plant Food for Human Nutrition 38: 83-93.

- Rodríguez, S. E., C.A. Nava. 1998. Nopal, riqueza agroecológica de México. Secretaría de Educación Pública. México. 160 p.
- Roitsch, T., M.C. Gonzalez. 2004. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9: 606-613.
- Ruan, Y.L. 2014. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annual Review of Plant Biology* 65:33–67.
- Ruan, Y.L. 2012. Signaling role of sucrose metabolism in development. *Molecular Plant* 5: 763-765.
- Ruan Y.L., Y. Jin, Y.J. Yang, G.J. Li, J.S. Boyer. 2010. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3: 942-955.
- Sáenz, C., H. Berger, J.C. García, L.J. Galletti, V. García de Cortázar, L. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez–Félix, E. Sepúlveda, y M. Varnero. 2006. Utilización Agroindustrial del Nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. 165 p.
- Sáenz, C., M. Estévez, E. Sepúlveda, P. Mecklenburg. 1998. Cactus pear fruit: A new source for natural sweetener. *Plant Foods Human Nutrition* 52: 141-149.
- Saglam, A., A. Kadioglu, R. Terzi, N. Saruhan. 2008. Physiological changes in them in post-stress emergin *Ctenanthe steosa* plants under drought conditions. *Russian Journal of Plant Physiology* 55: 48-53.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica. 759 p.
- Salerno, G.L., L. Curatti L. 2003. Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? *Trends in Plant Science* 8: 63-69.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J. R. Aguirre R.; E. Cárdenas S. 2005. Root growth and proline content in drought sensitive and tolerant maize (*Zea mays* L.) seedlings under different water potentials. *Cereal Research Communications* 33: 697-704.
- Scalisi, A., B. Morandi, P. Inglese, R. Bianco. 2016. Cladode growth dynamics in *Opuntia ficus-indica* under drought. *Environmental and Experimental Botany* 122: 158-167.

- Schaarschmidt, S., T. Roitsch, B. Hause. 2006. Arbuscular mycorrhiza induces gene expression of the apoplastic invertase LIN6 in tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Journal of Experimental Botany* 57: 4015-4023.
- Sepúlveda, E., C. Sáenz, M. Álvarez. 2000. Physical, Chemical and sensory characteristics of dried fruit sheets of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) and quince (*Cydonia oblonga* Mill). *Italian Journal of Food Science* 1: 47-54.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2014. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Sharp, R.E., T.C. Hsiao, W.K. Silk. 1990. Growth of the maize primary root at low water potentials. II. The role of growth and deposition of hexose and potassium in osmotic adjustment. *Plant Physiology* 93: 1337-1346.
- Sheen, J., L. Zhou, J.C. Jang. 1999. Sugars as signaling molecules. *Current opinions in plant biology* 2: 410-418.
- 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. Klumer (ed). London. 192-219 p.
- Shulaev, V., D. Cortes, G. Miller, R. Mittler. 2008. Metabolomic for plant stress response. *Physiologia Plantarum* 132: 199-208.
- Silva, H., E. Acevedo, P. Silva. 2001. Anatomy of the photosynthetic tissue un ten taxa od Opunita established to the mediterranean arid zone of Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 341-351.
- Silvera, K., K.M. Neubig, W.M. Whitten, N.H. Williams, K. Winter, J. C. Cushman. 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. *Functional Plant Biology* 37: 995-1010.
- Smith, D. S., R. K. Monson y J. E. Anderson. 1997. *Physiological ecology of North American desert plants*. Springer-Verlag. Heidelberg. 286 p.
- Smith, D. 1972. Total nonstructural carbohydrate concentration in the herbage of several legumes and grasses of first flowers. *Agronomy Journal* 64: 705-706.
- Stintzing, F.C., R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research* 49: 175-194.

- Streb, S., B. Egli, S. Eicke, S.C. Zeeman. 2009. The debate on the pathway of starch synthesis: a closer look at low-starch mutants lacking plastidial phosphoglucomutase supports the chloroplast-localized pathway. *Plant Physiology* 151: 1769-1772.
- Sturm, A. 1999. Invertases: primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiology* 121: 1-8.
- Sturm, A., M.J. Chrispeels. 1990. cDNA cloning of carrot extracellular β -fructosidase and its expression in response to wounding and bacterial infection. *Plant cell* 2: 1107-1119.
- Tamoi, M., T. Tabuchi, M. Demuratani, K. Otori, N. Tanabe, T. Maruta, S. Shigeoka. 2010. Point mutation of a plastidic invertase inhibits development of the photosynthetic apparatus and enhances nitrate assimilation in sugar treated *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Biological Chemistry* 285: 15399-15407.
- Tauzin, A.S., T. Giardina. 2014. Sucrose and invertases, a part of the plant defense response to the biotic stresses. *Front in Plant Science* 5: 1-8.
- Taybi, T., J.C. Cushman, A.M. Borland. 2002. Environmental, hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. *Functional Plant Biology* 29: 669-678.
- Valencia-Sandoval, K., J. J. Branbila-Paz, J. S. Mora-Flores. 2010. Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia* 44: 955-963.
- Van den Ende, W., A. Van Laere. 1995. Purification and properties of a neutral invertase from the roots of *Cichorium intybus*. *Physiologia Plantarum* 93: 241-248.
- Vargas, W.A., G.L. Salerno. 2010. The Cinderella story of sucrose hydrolysis: alkaline/neutral invertases, from cyanobacteria to unforeseen roles in plant cytosol and organelles. *Plant Science* 178: 1-8.
- Vargas, W.A., H.G. Pontis, G.L. Salerno. 2008. New insights on sucrose metabolism: evidence for an active A/N-Inv in chloroplasts uncovers a novel component of the intracellular carbon trafficking. *Planta* 227: 795-807.
- Vargas, W.A, H. G. Pontis, G.L. Salerno. 2007. Differential expression of alkaline and neutral invertases in response to environmental stresses: characterization of an alkaline isoform as a stressresponse enzyme in wheat leaves. *Planta* 226: 1535-1545.

- Ventura-Aguilar, R.I., E. Bosquez-Molina, S. Bautista-Baños. 2017. Cactus stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition with emphasis on its biofunctional properties. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture* 97: 9 p.
- Vu, J.C.V., J.T. Baker, A.H. Pennanen, A.L.H. Bowes, J.K.J. Boote. 1998. Elevated CO₂ and water deficit effects on photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice. *Physiologia Plantarum* 103: 327-339.
- Wang, L., A. Cook, J.W. Patrick, X. Chen, Y. Ruan. 2014. Silencing the vacuolar invertase gene GhVIN1 blocks cotton fiber initiation from the ovule epidermis, probably by suppressing a cohort of regulatory genes via sugar signaling. *The Plant Journal* 78: 686-696.
- Wang, X.C., Q.Y. Zhao, C.L. Ma, Z.H. Zhang, H.L. Cao, Y.M. Kong, C. Yue, X.Y. Hao, L. Chen, J.Q. Ma, J.Q. Jin, X. Li, Y.J. Yang. 2013. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation. *BMC Genomics* 14: 1-15.
- Wickens, E. G. 1998. *Ecophysiology of economic plants in arid and semi-arid lands*. Springer-Verlag. Heidelberg. 343 p.
- Williams, R.J. and A.C. Leopold. 1989. The glassy state in corn embryos. *Plant physiology* 89: 977-981.
- Wind, J., S. Smeeckens, J. Hanson. 2010. Sucrose: Metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry* 71: 1610-1614.
- Winter, H., S.C. Huber. 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35: 253-289.
- Winter, K., J.A.C. Smith. 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.
- Winter K., M. García, J. A. M. Holtum. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë* and *Opuntia*. *Journal of Experimental Botany* 59: 1829-1840.
- Winter, K., J.A.M. Holtum, J.A.C. Smith. 2015. Crassulacean acid metabolism: a continuous or discrete trait? *New Phytologist* 208: 73-78.

- Xiang, L., K. Le Roy, M.R. Bolouri-Moghaddam, M. Vanhaecke, W. Lammens, F. Rolland, W. Van den Ende. 2011. Exploring the neutral invertase-oxidative stress defence connection in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 62: 3849-3862.
- Xu, S.M., E. Brill, D.J. Llewellyn, R.T. Furbank, Y.L. Ruan. 2012. Overexpression of a potato sucrose synthase gene in cotton accelerates leaf expansion, reduces seed abortion, and enhances fiber production. *Molecular Plant* 5: 430-441.
- Yakushiji, H., H. Nonami, T. Fukuyama, S. Ono, N. Takagi, and Y. Hashimoto. 1996. Sugar accumulation enhanced by osmoregulation in *Saluma* mandarin fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121: 466-472.
- Yang X., J.C. Cushman, A.M. Borland, E.J. Edwards, S.D. Wulschleger, G.A. Tuskan, N.A. Owen, H. Griffiths, J.A.C. Smith, H.C. De Paoli. 2015. A roadmap for research on crassulacean acid metabolism (CAM) to enhance sustainable food and bioenergy production in a hotter, drier world. *New Phytologist* 207: 491-504.
- Yoshida, S. 2003. Molecular regulation of leaf senescence. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 79-84.
- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2002. The Priming of Amylose Synthesis in *Arabidopsis* Leaves. *Plant Physiology* 128: 1069-1076.
- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2004. The breakdown of starch in leaves. *New Phytology* 163: 247-261.
- Zeeman, S.C., J. Kossmann, A.M. Smith. 2010. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* 61: 209-234.
- Zeng, Y., Y. Wu, W.T. Avigne, K.E. Koch. 1999. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. *Plant Physiology* 121: 599-608.
- Zhang S., S.E. Nichols, J.G. Dong. 2003. Cloning and characterization of two fructokinases from maize. *Plant Science* 165: 1051-1058.
- Zrenner R., M. Stitt. 1991. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. *Plant Cell and environment* 14: 939-946.

CAPÍTULO I. EFECTO DEL RIEGO Y FASE MAC EN LAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICAS DE NOPALITOS EN UN GRADIENTE DE DOMESTICACIÓN

1.1 RESUMEN

La domesticación, es un proceso evolutivo en el que las plantas cambian caracteres genéticos, morfológicos y fisiológicos, que repercuten en sus características químicas diferentes respecto a sus congéneres silvestres. El objetivo de este estudio fue identificar diferencias y semejanzas en características bioquímico-fisiológicas en cladodios jóvenes de 12 variantes, de cinco especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación y su relación con la fase diurna y vespertina del ciclo del metabolismo ácido crasuláceo (MAC). La hipótesis fue que el contenido de ácido málico, azúcares solubles, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteínas solubles, biomasa y actividad de invertasa ácida y neutra se relacionan directamente con el nivel de domesticación y la fase MAC. El estudio incluyó cladodios de 3 a 4 semanas de edad, cosechados al final de la fase I de MAC (7 h) y fase III (15 h), de plantas con riego, potencial de agua del suelo (Ψ_A del suelo) de -0.17 MPa de 12 variantes de *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. El diseño experimental fue factorial, completamente al azar, 12 x 2 (variantes y fase MAC). La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes, con cuatro repeticiones. Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteína soluble, biomasa y la actividad de invertasa ácida y neutra. Las variantes, fase MAC e interacción entre los factores variantes x fase MAC, fueron altamente significativas ($p \leq 0.0001$) para las 11 variables. La excepción fue fase MAC para sacarosa ($p = 0.8709$). Las variantes de *O. hyptiacantha* tuvieron el contenido mayor de proteínas ($0.74 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y fenoles totales ($19 \text{ } \mu\text{molas g}^{-1}$), con la diferencia varietal menor (4 %). Las especies *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, con nivel mayor de domesticación, presentan más almidón y biomasa seca (40 %) y menos glucosa y fructosa (30 %) que la silvestre *O. streptacantha*. Los contenidos de almidón y biomasa en nopalitos varían en dependencia directa con el nivel de domesticación, y glucosa, fructosa, fenoles totales y la actividad de invertasa ácida varían en dependencia opuesta con el nivel de domesticación.

Palabras claves: variantes, riego, fase MAC, características bioquímico-fisiológicas.

1.2 ABSTRACT

Domestication is an evolutionary process in which plants change genetic, morphological and physiological characters, which affect their different chemical characteristics with respect to their wild congeners. The objective of this study is to identify differences and similarities in biochemical-physiological characteristics in young cladodes of 12 variants, of five *Opuntia* species, in a gradient of domestication and its relation with the diurnal and vespertine phase of the crasuláceo acid metabolism (CAM). The hypothesis was that the content of malic acid, soluble sugars, starch, total phenols, free amino acids, soluble proteins, biomass and acid and neutral invertase activity are directly related to the level of domestication and the phase CAM. The study included cladodes from 3 to 4 weeks of age, harvested at the end of phase I CAM (7 h) and phase III (15 h), from irrigated plants, soil water potential (Ψ_w from soil) of -0.17 MPa of 12 variants of *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*. The experimental design was factorial, completely randomized, 12 x 2 (variants and phase CAM). The experimental unit was a cladode of independent plants, with four repetitions. The variables analyzed were the content of malic acid, glucose, fructose, sucrose, starch, total phenols, free amino acids, soluble protein, biomass and acid and neutral invertase activity. The variants, phase MAC and interaction between the variant factors x phase CAM, were highly significant ($p \leq 0.0001$) for the 11 variables. The exception was phase CAM for sucrose ($p = 0.8709$). The *O. hyptiacantha* variants had the highest protein content (0.74 mg 100 mg⁻¹) and total phenols (19 μ moles g⁻¹), with the minor varietal difference (4 %). The species *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*, with a higher level of domestication, have more starch and dry biomass (40 %) and less glucose and fructose (30 %) than the wild *O. streptacantha*. The contents of starch and biomass in nopalitos vary in direct dependence on the level of domestication, and glucose, fructose, total phenols and acid invertase activity vary in opposite dependence with the level of domestication.

Keywords: variants, irrigation, phase MAC, biochemical-physiological characteristics.

1.3 INTRODUCCIÓN

La domesticación de plantas y animales parece la innovación más importante en la historia de la humanidad, porque es parte del desarrollo y crecimiento de las primeras civilizaciones (Harlan, 1992). La domesticación es un proceso evolutivo y dinámico que modifica el bagaje genético de plantas y animales. Este proceso conduce a cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos continuos que les permite diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005). La fuerza evolutiva principal de la domesticación es la selección artificial (Meyer *et al.*, 2012; Guillen *et al.*, 2013), que conduce a adaptación mayor de plantas y animales para el cultivo o la cría, con rasgos deseables para los humanos, al facilitar la cosecha y modificar el sabor, las cualidades nutricionales, el contenido de metabolitos secundarios, u otros (Gepts, 2004; Meyer *et al.*, 2012).

México es rico en variantes de *Opuntia*, con grado diferente de domesticación. Reyes-Agüero *et al.* (2005) recolectaron muestras de variantes utilizadas por sus nopalitas, frutos y cladodios maduros, en 31 localidades de siete estados de la Altiplanicie Meridional de México. Estos autores evaluaron 42 atributos morfológicos que les permitieron reconocer un gradiente de domesticación en *Opuntia*. Este incluyó a *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* como especies silvestres, *O. megacantha* como semidomesticada y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con el nivel de domesticación mayor.

El nopal (*Opuntia*) está ligado a la historia de México y Mesoamérica, porque en esta región está su centro de origen genético (Sáenz *et al.*, 2006). El uso del nopal por la humanidad en México desde épocas prehispánicas está documentado. Las plantas de nopal fueron importantes para la economía agrícola del imperio Azteca; actualmente, además de la importancia económica en algunas regiones donde se produce, también representa una imagen característica e icónica que simboliza la cultura mexicana y se le considera un recurso genético de gran valor, que México dio al mundo (Flores *et al.*, 1995; Anaya, 2001; Corrales y Flores, 2003; Méndez *et al.*, 2004; Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006; Maki *et al.*, 2015).

En México el nopal se cultiva para consumo humano y como forraje (Callejas-Juárez, 2006; Maki *et al.*, 2015). Los nopales también son combustible y materia prima para productos farmacéuticos y cosméticos, y son hospederos del insecto *Dactylopius coccus* (cochinilla) que se utiliza para producir rojo carmín (Stintzing y Carle, 2005). En México, 24 especies se utilizan con fines diversos, quince de ellas se usan como forraje, seis para la producción de tuna y tres para producción de nopal tierno o nopalito (Valencia-Sandoval *et al.*, 2010).

Los nopalitos son los cladodios jóvenes de la planta de nopal, los cuales forman parte de la dieta común de ciertos sectores mexicanos, en México y en el extranjero consumidos comúnmente como verdura (Sáenz *et al.*, 2006; Maki *et al.*, 2015). Los nopalitos son fuente de ciertos nutrientes para humanos (Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006; Peña-Valdivia *et al.*, 2012), fuente de vitamina C y de β -caroteno (Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006), minerales (Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988) y fibra soluble e insoluble (Peña-Valdivia *et al.*, 2012); además, contienen poco sodio y lípidos (Sáenz *et al.*, 2006).

El nopal puede ser terapéutico, pues es hipoglucemiante, auxiliar en los trastornos digestivos, enfermedades cardiovasculares, obesidad e hipocolesterolémico (Binns, 2003; Cummings *et al.*, 2004; Feugang *et al.*, 2006). Las características nutraceuticas de los nopales han despertado interés en mercados europeos, asiáticos y norteamericanos (Peña-Valdivia *et al.*, 2012; Maki *et al.*, 2015), por su beneficio para el tratamiento de diversos padecimientos (Stintzing y Carle, 2005).

Para avanzar en el conocimiento de las reacciones de las plantas al ambiente es necesario identificar los mecanismos con los que las plantas se adaptan a los cambios climáticos (Palta, 1990) y a los procesos de selección, por los humanos durante la domesticación (Peña-Valdivia *et al.*, 2011). Los cambios en el proceso de domesticación, podría detectarse en dos grandes grupos de componentes del metabolismo de las plantas. En el primer caso están los del metabolismo primario, como los carbohidratos no estructurales, entre los que están glucosa, fructosa, sacarosa y almidón, y otros componentes celulares como los aminoácidos, y las proteínas. El segundo caso se refiere a los componentes clasificados como integrantes del metabolismo secundario, como los

fenoles y numerosos aminoácidos, que tiene un papel en la adaptación de las plantas al ambiente y en la reacción a las condiciones de estrés (Akula y Ravishankar, 2011). En ambos casos el conocimiento de la participación de las enzimas en el metabolismo de la sacarosa, como las invertasas, es relevante por el papel central de este azúcar en los procesos de “fuente-demanda” (Ruan *et al.*, 2010).

El género *Opuntia* se caracteriza por su metabolismo ácido crasuláceo (MAC). Este es uno de los tres modos de asimilación fotosintética del CO₂ atmosférico, que evolucionó del metabolismo tipo C3 (Silvera *et al.*, 2010; Winter *et al.*, 2015; Heyduk *et al.*, 2016). Las plantas MAC muestran la capacidad para crecer eficientemente en ciertas condiciones ambientales, como áridos, semiáridos o epifíticos (Heyduk *et al.*, 2016). Los rasgos deseables para productividad mayor y conservación del agua en plantas MAC, como *Opuntia*, es atribuirse a dos procesos de carboxilación, separados temporalmente es el ciclo de 24 h (Cushman *et al.*, 2015). Además, estas plantas muestran otras características que les permite desarrollarse en esos ambientes, como tasas de fotorrespiración imperceptibles y eficiencia en el uso del agua de cinco a diez veces mayor al de las plantas con metabolismo fotosintético C4, que resulta de la permanencia de los estomas cerrados la mayor parte del periodo diurno. Así, las plantas MAC son altamente productivas en regiones áridas y semiáridas, en los que las plantas con fotosíntesis C3 y C4 no prosperan (Herppich y Pekman, 2000; Cushman, 2001; Nobel, 2001; Andrade, 2007). Por lo anterior, la expresión del MAC en los cladodios depende de la especie, la variante y horario de cosecha (Acevedo *et al.*, 1983; Corrales-García *et al.*, 2004; García-Nava *et al.*, 2015).

Una característica típica de las plantas MAC es la acumulación de ácidos orgánicos en la noche y su descarboxilación durante el día, con liberación de CO₂ (Dodd *et al.*, 2002). Ya que este se fija por la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco) a través del ciclo de Calvin-Benson, en el cloroplasto, se sintetiza carbohidratos que pueden cuantificarse y conocer los contenidos relativos de las pozas de C, y su cambio durante el día, en los tejidos fotosintéticos (Dodd *et al.*, 2002; Borland *et al.*, 2014).

En *Opuntia* los contenidos de ácido málico en horas determinadas o durante el ciclo de 24 h se han documentado ampliamente (Corrales-García *et al.*, 2004; Maki *et al.*, 2015). En contraste, los contenidos de azúcares, polisacáridos, compuestos nitrogenados y fenoles totales se conocen parcialmente (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Astello-García *et al.*, 2015; Pichereaux *et al.*, 2016). Además, los contenidos y cambios en el género *Opuntia* y su relación con el proceso de domesticación no se han investigado. Ese conocimiento puede complementarse con el de la actividad de enzimas relacionadas con la dinámica de síntesis y degradación de los metabolitos, como las invertasas. Estas enzimas desempeñan funciones múltiples en el metabolismo primario del carbono, el crecimiento, el desarrollo, y la respuesta al estrés de las plantas (Ruan *et al.*, 2010).

La relación entre especies y variantes en el gradiente de domesticación podrá ayudar a entender los cambios que suceden durante la domesticación del género; por lo que, el objetivo de esta investigación fue identificar diferencias y semejanzas en características bioquímico-fisiológicas en cladodios jóvenes de 12 variantes, de cinco especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación y su relación con la fase diurna y vespertina del ciclo MAC. La hipótesis fue que el contenido de ácido málico, azúcares solubles, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteínas solubles, biomasa y actividad de invertasa ácida y neutra se relacionan directamente con el nivel de domesticación y la fase MAC.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Material vegetal

Plantas de 6 años de edad, de doce variantes de cinco especies de *Opuntia* se mantuvieron en suelo con riego y con un potencial de agua del suelo (Ψ_A del suelo) de -0.17 MPa en las condiciones descritas por García-Nava *et al.* (2015). Las plantas crecieron en macetas de 19 L de capacidad, con una mezcla de suelo y grava tezontle, distribuidas al azar en un invernadero del Postgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27' 40" N, 98° 54' 19" O, altitud de 2352 m). La temperatura y humedad relativa promedio diurna/nocturna dentro del invernadero, durante el crecimiento de los cladodios fueron 35/13° C y 35/77

%. El Ψ_A del suelo se determinó en tres muestras de cada tratamiento con un medidor de Ψ_A (Dewpoint Potential Meter, WP4C, EE.UU.).

Las variantes y especies silvestres del estudio fueron Cardona de Castilla de *O. streptacantha*, San Pedreña y Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha*, con domesticación intermedia, Rojo Lirio, Rubí Reyna y Amarillo Plátano de *O. megacantha*, y con grado mayor de domesticación, Copena Z1, Naranjón Legítimo y Villa Nueva de *O. albicarpa* y Copena V1, Rojo Vigor y Atlixco de *O. ficus-indica*. Los cladodios analizados tenían longitud promedio de 25 cm \pm 3 cm se cosecharon al final de la fase I de MAC (7 h) y en la fase III (15 h); la excepción fue la variante Ruby Reyna que a las 15 h no se evaluó por falta de repeticiones.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Biofísica y Fisiología Vegetal Ambiental del Postgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, en muestras liofilizadas (Labcono® modelo Free Zone 6, Kansas City, MO, EE.UU.) y trituradas.

1.4.2 Variables evaluadas

1.4.2.1 Ácido málico

El contenido de ácido málico se cuantificó con el método de la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC, 1990). Muestras de 10 mg se resuspendieron en 5 mL de agua destilada, se centrifugaron a 4 000 g por 10 min. Alícuotas de 2 mL del sobrenadante se titularon con NaOH 0.01 N y fenolftaleína como indicador. La concentración se calculó con la ecuación:

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

1.4.2.2 Azúcares solubles y almidón

Muestras de 25 mg de cladodio deshidratado y triturado se homogenizaron con 800 μ L de etanol al 80 % en agua (v/v), calentaron a 80 °C en baño maría por una hora y centrifugaron a 13 000 g por 10 min. En 5 μ L de la fracción soluble se determinó el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa, en la fracción insoluble se cuantificó el

almidón. Los azúcares se cuantificaron a 340 nm, en secuencia con hexoquinasa (EC 2.7.1.1) a 1 U mL⁻¹, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) a 1 U mL⁻¹, fosfoglucosa-isomerasa (EC 5.3.1.9) a 1 U mL⁻¹ e invertasa (EC 3.2.1.26) a 1 U mL⁻¹. El extracto etanólico se mezcló con 200 µL HEPES-NaOH 500 mM (pH 8.0), KCl 200 mM, MgCl₂ 200 mM, ATP 1 mM y NAD⁺ 0.3 mM. Las determinaciones se hicieron en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) y una curva estándar de glucosa a 5 mM (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

Para cuantificar el almidón, la fracción insoluble se resuspendió en 750 µL de agua destilada, calentó a baño maría a 90 °C por 4 h. A las muestras se adicionó α-amilasa (EC 3.2.1.1) (0.5 U) y β-glucosidasa (EC 3.2.1.2.1) (5 U) en un medio con acetato de sodio 200 mM (pH 5.5). Las muestras se mantuvieron a 37 °C por 12 h. La glucosa se cuantificó con el método enzimático descrito antes. El factor de conversión para calcular el contenido de almidón fue 0.90 (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1991).

1.4.2.3 Fenoles totales

El contenido de fenoles totales se evaluó por el método descrito por Magalhães *et al.* (2010) con modificaciones. 25 g de muestra se homogenizaron con 800 µL de etanol al 80 % en agua (v/v), se calentaron a 80° C en baño maría por 1 h y se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 µL del extracto etanólico se adicionaron 50 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido con agua destilada (1:20 v/v) y 100 µL de NaOH 0.175 M. La mezcla se mantuvo a 30 °C por 3 min. La absorbancia a 620 nm se determinó en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). La curva estándar de ácido gálico a 1 mM se utilizó para calcular el contenido de fenoles totales. La concentración en el tejido deshidratado se expresó en µmol g⁻¹.

1.4.2.4 Aminoácidos libres

El contenido de aminoácidos libres se cuantificó con el método modificado descrito por Jones *et al.* (2002). Muestras de 25 mg homogenizadas con 800 µL de etanol al 80 % en agua (v/v) se calentaron a 80° C, por 1 hora, en baño maría, se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 µL del extracto etanólico se mezcló con 50 µL de etanol al 80 % y 75 µL

de un medio que contenía acetato de sodio 4 M (pH 5.2), dimetil sulfoxido y ninhidrina. Las muestras se calentaron a 80 °C por 30 min, se adicionaron 100 µL de etanol al 50 % y la absorbancia se midió a 620 nm en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). Las concentraciones se calcularon con una curva estándar de glicina 1 mM.

1.4.2.5 Proteína soluble

El contenido de proteína soluble se determinó con el método propuesto por Bradford (1976) en microplacas y curva estándar de albumina de suero bovino (0.5 mg mL⁻¹).

1.4.2.6 Actividad de invertasa ácida y neutra

La actividad de la invertasa soluble ácida y neutra se determinó con el método descrito por Nägele *et al.* (2010) con algunas modificaciones. En este caso, 120 mg de muestra se homogenizaron con 2 mL de HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5), que contenía MgCl₂ 5 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, PMSF 1 mM, mercaptoetanol 2 mM, Triton X-100 0.1 %, y glicerina 10 %. La suspensión se centrifugó a 4,000 g, a 4 °C, por 15 minutos. En el sobrenadante, con 20 µg de proteína, se determinó la actividad de invertasa ácida y neutra. La primera se determinó con 50 mM de acetato de sodio (pH 4.5) y sacarosa 100 mM como sustrato. La actividad de la invertasa neutra se determinó con HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5) y sacarosa 100 mM como sustrato. Las muestras se mantuvieron a 37 °C por una hora, luego se calentaron a 95 °C por 3 min. El pH del medio para cuantificar la actividad de invertasa ácida, previo al calentamiento, se neutralizó con HEPES-KOH (pH 7.5). El testigo se preparó para cada ensayo. La glucosa generada en la reacción se cuantificó enzimáticamente en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) a 340 nm (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

1.4.2.7 Biomasa seca

Segmentos de 10 g de la parte central del cladodio fresco y sin espinas, se envolvieron en papel aluminio, se congelaron en nitrógeno líquido y se liofilizaron (Labcono® modelo Free Zone 6, Kansas City, MO, EE.UU.) por 72 horas. Estas muestras se pesaron y determinó el porcentaje de biomasa seca.

1.4.3 Diseño experimental y análisis de resultados

El diseño experimental para las variantes fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos 12 x 2. Los factores y niveles fueron: variante (Cardona de Castilla, San Pedreña, Amarilla Olorosa, Rubí Reyna, Amarillo Plátano, Rojo Lirio, Copena Z1, Naranjón Legítimo, Villa Nueva, Copena V1, Rojo Vigor, Atlixco) y fase MAC (I y III). La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes y cuatro repeticiones.

Las variables evaluadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteína soluble, biomasa seca, actividad de invertasa ácida y neutra, se expresaron en 100 mg de tejido seco, a excepción de fenoles totales y la actividad de invertasa. El análisis de los supuestos del modelo estadístico se efectuó con base en el análisis gráfico de residuales, y las pruebas Shapiro Wilks y Bartlett; las variables se transformaron cuando los supuestos no se cumplieron. Los datos se examinaron con ANDEVA, comparación múltiple de medias, entre variantes con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete estadístico SAS V9.

1.5 RESULTADOS

1.5.1 Ácido málico

Las variantes y las fases MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de ácido málico, la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo A). El contenido de ácido málico fue diferente ($p \leq 0.05$) entre las 12 variantes a las 7 h, y fluctuó entre 0.90 mg 100 mg⁻¹, en Copena V1 y 1.20 mg 100 mg⁻¹ en un grupo de cuatro variantes (Cardona de Castilla, San Pedreña, Amarilla Olorosa y Villa Nueva). Las diferencias entre las variantes dentro de las especies fueron significativas para *O. albicarpa*, entre Copena Z1 y Villa Nueva, con diferencia de 23.5 % y para *O. ficus-indica* entre Copena V1 y Atlixco con 20.75 %. Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas dentro de *O. hyptiakantha*, *O. megakantha* (Figura 1.1).

La acidez en los cladodios entre las 11 variantes, a las 15 h también presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), varió de 0.56 a 0.83 mg 100 mg⁻¹, entre Naranjón Legítimo y Villa

Nueva, ambas de *O. albicarpa*; la diferencia representó 33.05 %. Además, las diferencias entre las variantes dentro de las especies a esta hora de muestreo fueron significativas también en *O. hyptiacantha*, con 20.11 %, y en *O. megacantha*, con 17.11 %. Las variantes de *O. ficus-indica* mostraron promedio de 0.74 mg 100 mg⁻¹ y las diferencias entre ellas no fueron significativas (Figura 1.1).

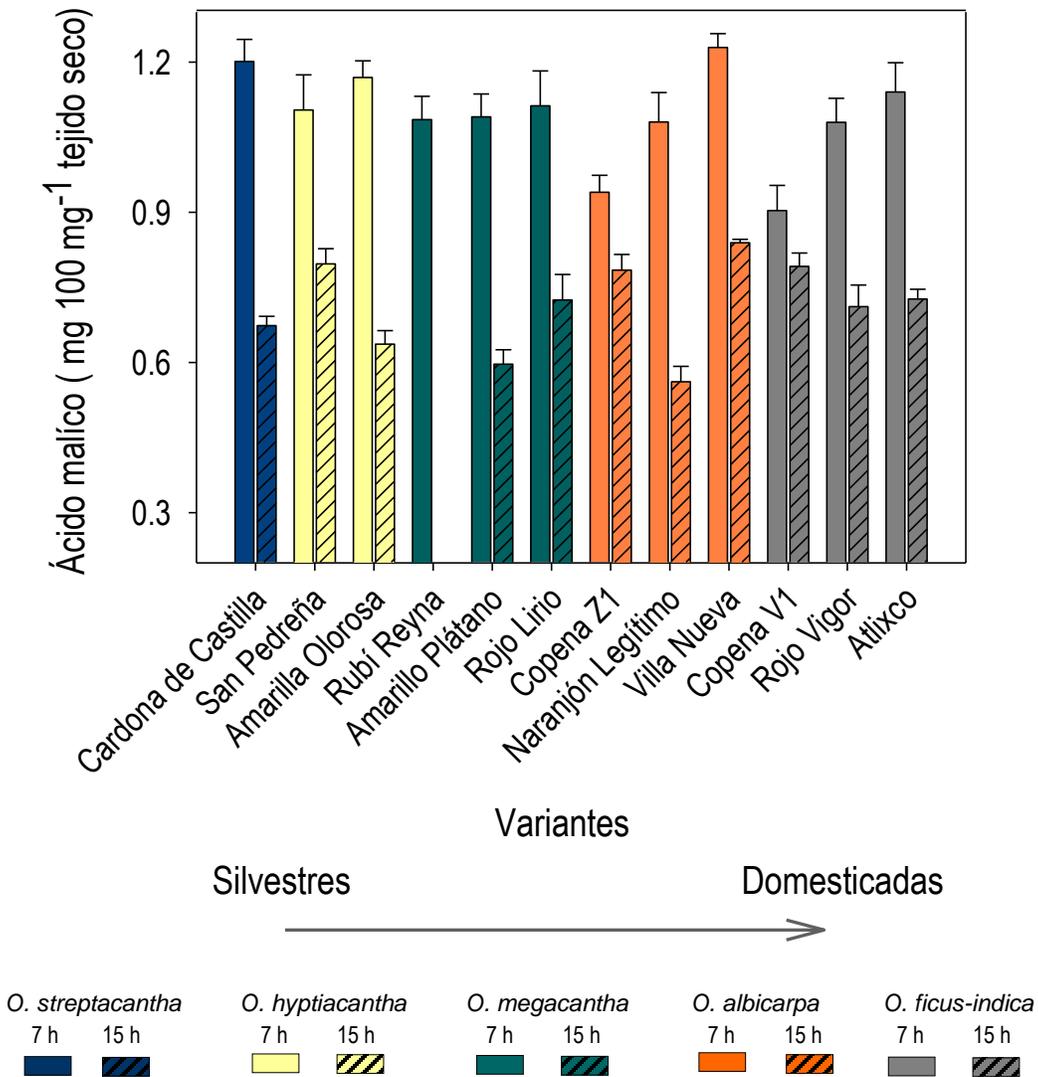


Figura 1.1. Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

El contenido promedio de ácido málico en el grupo de las variantes fue 35 % menor a las 15 h respecto a las 7 h; pero, Cardona de Castilla de *O. streptacantha*, Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha*, Amarillo Plátano de *O. megacantha* y Naranjón Legítimo de *O. albicarpa*, mostraron las diferencias mayores entre las 7 y las 15 h. En promedio, al atardecer estas variantes presentaban reducción de 45 %. En contraste, Copena V1 de *O. ficus-indica*, con la reducción menor en la acidez entre los dos muestreos, representó 12 % (Figura 1.1).

1.5.2 Glucosa

Las variantes y las fases MAC tuvieron efectos diferentes ($p \leq 0.05$) en el contenido de glucosa. La interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido del monosacárido (Anexo A). Su contenido fue diferente ($p \leq 0.05$) entre las 12 variantes a las 7 h; en general, a esta hora, las variantes de las especies con grado mayor de domesticación presentaron menos glucosa que las otras especies. Particularmente, Atlixco sobresalió por su contenido menor ($4.50 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$); en contraste, Rubí Reyna de *O. megacantha*, tuvo el contenido mayor del azúcar ($9.60 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) entre todas las variantes. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies fueron significativas en *O. hyptiacantha* (diferencia de 4.5 % entre sus variantes), *O. megacantha* (diferencia máxima de 34.70 % entre Amarillo Plátano y Rubí Reyna), *O. albicarpa* (29.14 % entre Villa Nueva y Copena Z1) y *O. ficus-indica* (29.28 % entre Atlixco y Rojo Vigor) (Figura 1.2).

Las diferencias en el contenido de glucosa entre las 11 variantes a las 15 h fueron significativas ($p \leq 0.05$) e incrementó respecto al amanecer en la mayoría de ellas. Las excepciones fueron Amarilla Olorosa y Naranjón Legítimo, esta última con el contenido menor de glucosa a las 15 h ($4.90 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). Villa Nueva también destacó por contenido bajo de glucosa; en tanto que el contenido mayor (en promedio $9.92 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) correspondió a las variantes silvestres y con domesticación intermedia, como Cardona de Castilla, San Pedreña, Rojo Lirio, además de Rojo Vigor de *O. ficus-indica*. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies a las 15 h fueron significativas;

la diferencia mayor se observó en *O. albicarpa*, entre Naranjón Legítimo y Copena Z1, con 47.18 % (Figura 1.2).

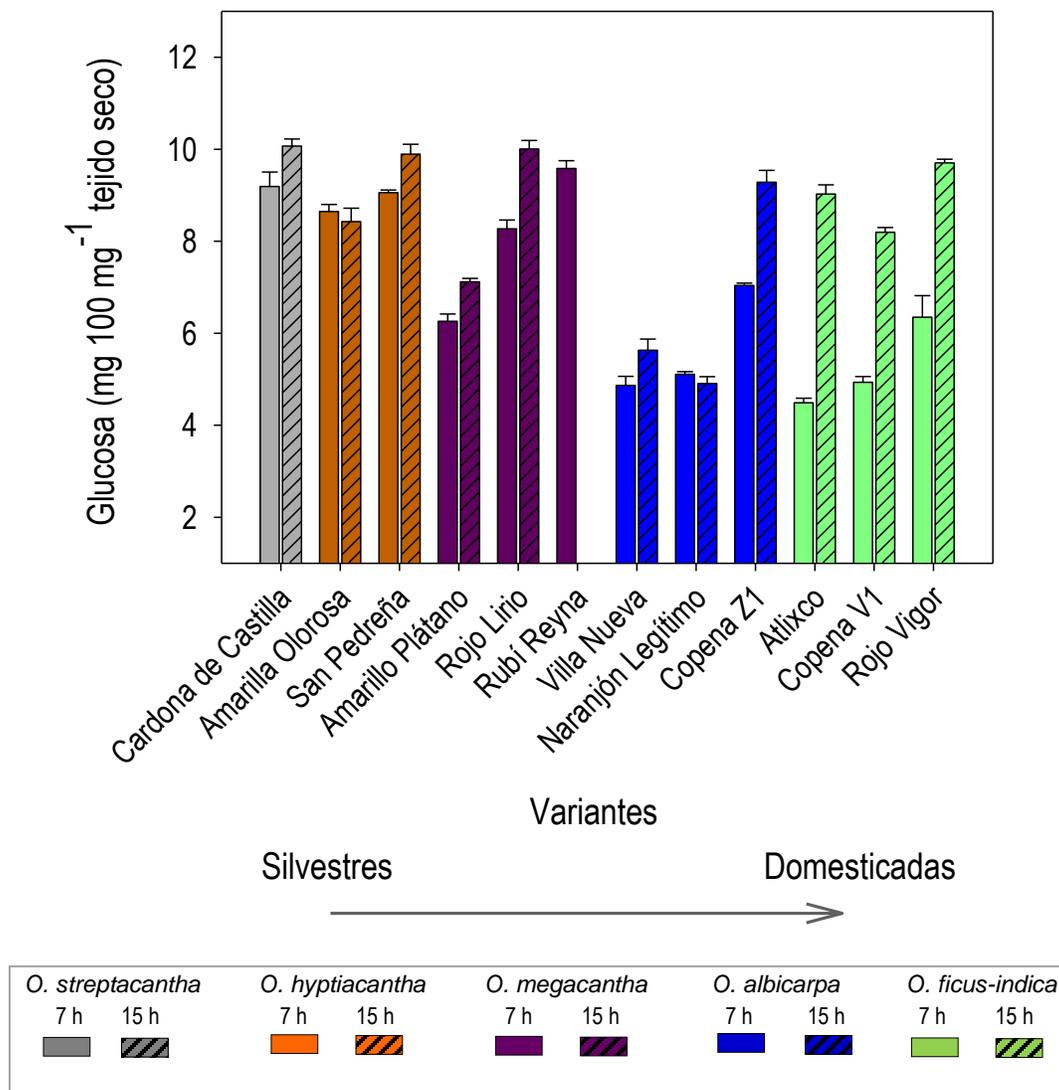


Figura 1.2. Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

El contenido promedio de glucosa en el grupo de variantes fue 20.12 % mayor a las 15 h respecto a las 7 h. El incremento en las variantes de *O. ficus-indica* fue el mayor; Atlixco mostró doble contenido de glucosa al atardecer respecto al amanecer, Copena V1

incrementó 66 % y Rojo Vigor 53 %. Cardona de Castilla, de la especie silvestre *O. streptacantha*, presentó el incremento menor (9.5 %) entre las 11 variantes. En Amarilla Olorosa y Naranjón Legítimo, el contenido de glucosa no cambió ($p = 0.05$) entre los horarios; pero, el contenido de glucosa en la última variante, de *O. albicarpa*, representó cerca de la mitad (58.20 %) de Amarilla Olorosa, de *O. hyptiacantha* (Figura 1.2).

1.5.3 Fructosa

Las variantes y las fases MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de fructosa y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa en el contenido de este monosacárido ($p \leq 0.0001$) (Anexo A). El contenido de fructosa difirió ($p \leq 0.05$) entre las 12 variantes a las 7 h. Como en la glucosa, a esta hora de muestreo las variantes de las especies con grado mayor de domesticación tuvieron menos fructosa; Atlixco presentó el contenido menor (3.68 mg 100 mg⁻¹); en contraste, las variantes silvestres y con domesticación intermedia, como Cardona de Castilla, Amarilla Olorosa, Rojo Lirio y Rubí Reyna, mostraron el contenido de fructosa mayor, con un promedio de 7.21 mg 100 mg⁻¹. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies fueron significativas, la diferencia mayor se presentó entre Atlixco y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*, con 39.40 %, y entre las variantes Copena Z1 respecto a Villa Nueva y Naranjón Legítimo de *O. albicarpa*, con 35.23 % más fructosa (Figura 1.3).

El contenido de fructosa entre las 11 variantes a las 15 h presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), las variantes con el contenido menor de fructosa fueron Villa Nueva y Naranjón Legítimo (4.60 mg 100 mg⁻¹ en promedio) y Rojo Vigor presentó el contenido más alto (9.10 mg 100 mg⁻¹). Además, las variantes dentro de las especies presentaron diferencias significativas, la variabilidad fue mayor entre las variantes de *O. albicarpa*; en este caso, Copena Z1 presentó 40.14 % más fructosa que Villa Nueva y Naranjón Legítimo; *O. ficus-indica*, Rojo Vigor presentó 36.30 % más del monosacárido que Copena V1, la diferencia menor la presentaron las variantes de *O. hyptiacantha* con 13.16 % (Figura 1.3).

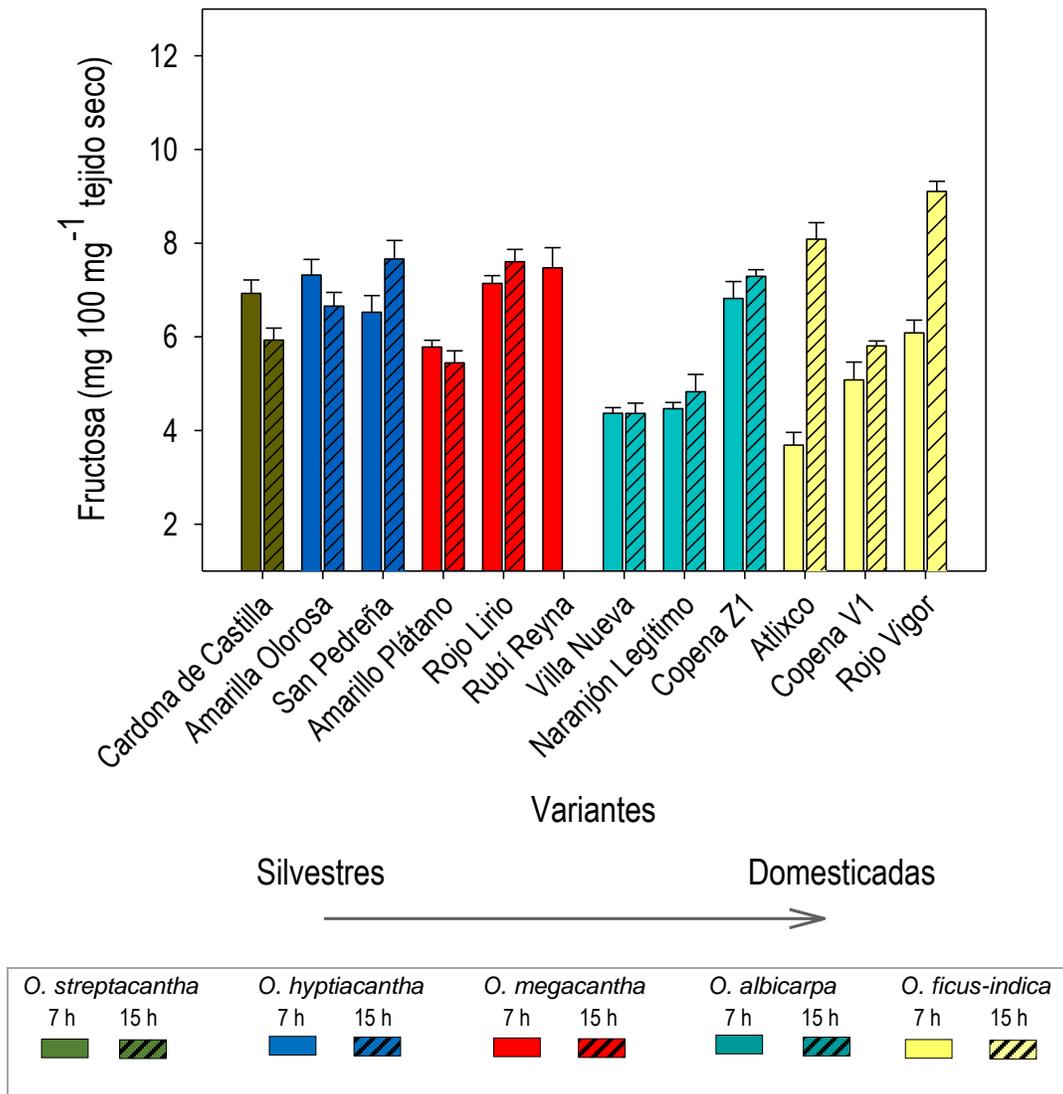


Figura 1.3. Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero ($n=4$) (*Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

El contenido de fructosa a las 15 h no cambió ($p = 0.05$), disminuyó o incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. Las variantes de *O. ficus-indica* incrementaron su contenido de fructosa a las 15 h respecto al amanecer, en Atlixco el incremento representó el doble y en Rojo Vigor el aumento fue de 49.64 %. Villa Nueva,

Naranjón Legítimo y Copena Z1, variantes de *O. albicarpa*, y Amarillo Plátano de *O. megacantha*, tuvieron un contenido de fructosa similar entre los horarios (Figura 1.3).

1.5.4 Sacarosa

El efecto de las variantes fue significativo ($p \leq 0.05$) en el contenido de sacarosa, y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido del disacárido (Anexo A). Además, el contenido de sacarosa fue diferente ($p \leq 0.05$) entre las variantes a las 7 y 15 h. El contenido menor del azúcar a las 7 y 15 h se observó en Rojo Lirio, Rubí Reyna, de *O. megacantha*, a las 7 h, con 3.08 y 3.51 mg 100 mg⁻¹, y las variantes Amarilla Olorosa, de *O. hyptiacantha*, y Copena V1, de *O. ficus-indica*, presentaron los contenidos de sacarosa más altos, con un promedio de 5.70 y 5.51 mg 100 mg⁻¹ en la mañana y en la tarde (Figura 1.4).

Las diferencias en el contenido de sacarosa entre las variantes, dentro de las especies, a las 7 h fueron significativas en *O. hyptiacantha*, con diferencia de 22 % en promedio; en *O. megacantha* la diferencia entre Rubí Reyna y Amarillo Plátano representó 20.75 %; entre Copena Z1 y Naranjón Legítimo de *O. albicarpa*, la diferencia fue 21.50 %; en tanto que entre Rojo Vigor y Copena V1 de *O. ficus-indica* la diferencia fue 24.7 %. Así mismo, entre variantes de cada especie se registraron diferencias significativas a las 15 h. La variabilidad mayor se presentó entre las variantes Rojo Lirio y Amarillo Plátano, de *O. megacantha*, con una diferencia de 31.26 %; Copena V1 tuvo 29.15 % más sacarosa que Rojo Vigor y Atlixco, de *O. ficus-indica*; las variantes de *O. albicarpa* mostraron la variabilidad menor, la que representó 8.40 % entre Naranjón Legítimo y Copena Z1; pero, en promedio, esta especie mostró el contenido de sacarosa mayor entre las cinco especies (Figura 1.4).

El contenido de sacarosa a las 15 h no cambió ($p = 0.05$), sí disminuyó o incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. En este sentido, las variantes Amarilla Olorosa, de *O. hyptiacantha*, y Copena V1, de *O. ficus-indica*, se destacaron por su contenido de sacarosa similar entre horarios, además de ser las variantes con los contenidos mayores del azúcar.

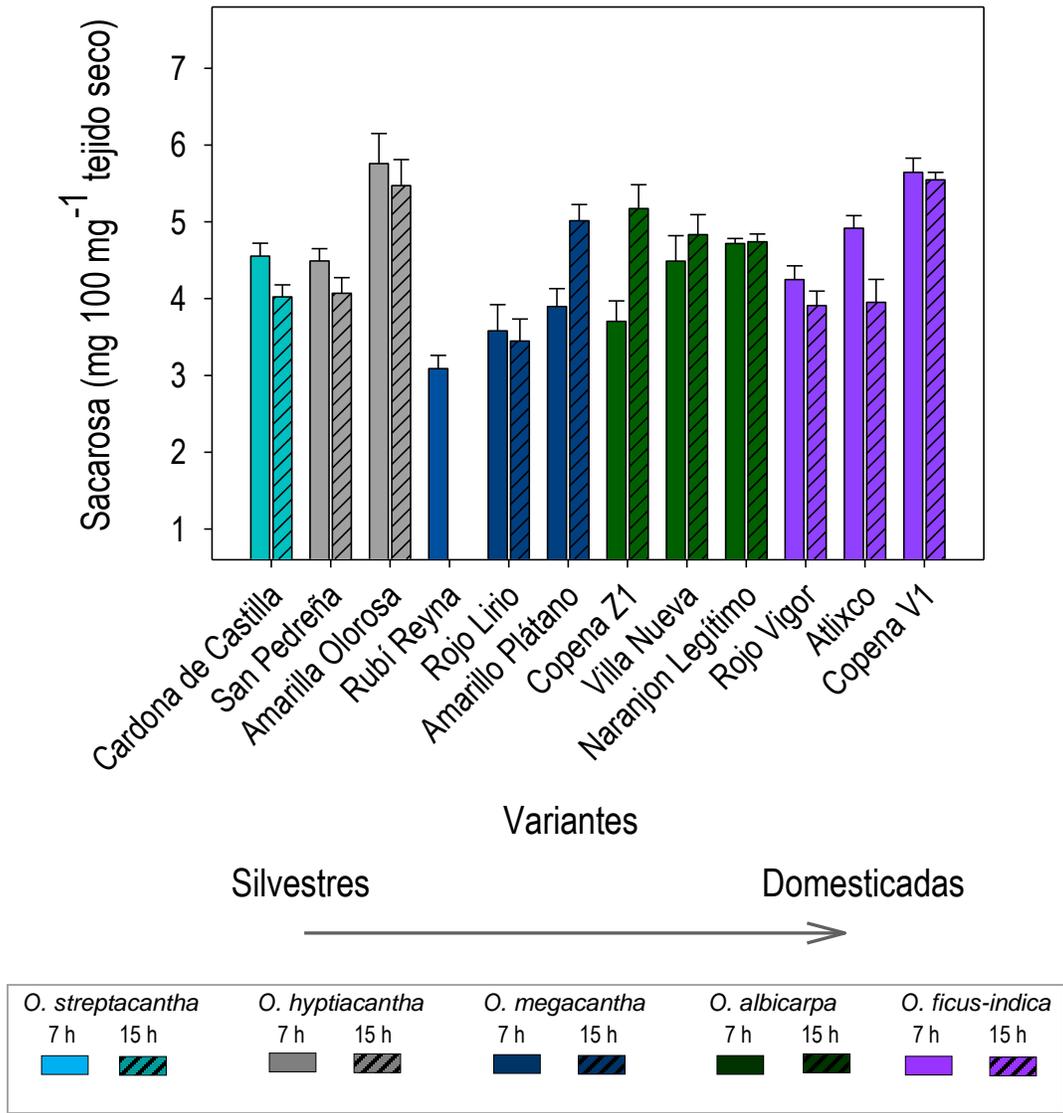


Figura 1.4. Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

1.5.5 Almidón

Las variantes y las fases MAC afectaron significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de almidón y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo A). Las diferencias en el contenido de almidón entre las variantes a las 7 h fueron

significativas ($p \leq 0.05$) y fluctuó entre $1.18 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en un grupo de tres variantes (Cardona de Castilla, Rojo Lirio y Amarillo Plátano) y $1.62 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en otro grupo de tres variantes (Villa Nueva, Copena V1 y Atlixco). Las diferencias al amanecer entre las variantes, dentro de las especies, fueron significativas ($p \leq 0.05$). En *O. megacantha*, Rubí Reyna fue la variante con 19.80 % más almidón que Rojo Lirio y Amarillo Plátano; en *O. albicarpa*, Villa Nueva mostró 14.90 % más almidón respecto a Naranjón Legítimo y Copena Z1; en *O. ficus-indica*, Copena V1 y Atlixco presentaron 15.20 % más almidón que Rojo Vigor. Únicamente en *O. hyptiacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.5).

El contenido de almidón entre las variantes a las 15 h presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) y fluctuó de 1.15 a $2.10 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ entre Cardona de Castilla, de la especie silvestre *O. streptacantha*, y Copena V1, de *O. ficus-indica*; esta diferencia representó 47.61 %. Las variantes de las especies más domesticadas, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, presentaron contenidos más altos de almidón, además la variabilidad mayor entre variantes a las 15 h. En este sentido, la diferencia entre las variantes Rojo Vigor y Copena V1, de *O. ficus-indica*, representó 33.74 %, y entre Copena Z1 y Naranjón Legítimo, de *O. albicarpa*, la diferencia fue 28.54 %. Las variantes de *O. hyptiacantha* presentaron una diferencia de 12.31 %; en tanto que, entre las variantes de *O. megacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.5).

Naranjón Legítimo, Copena V1 y Atlixco, en promedio incrementaron 32.60 % el contenido de almidón de las 7 a las 15 h. El contenido de almidón de las variantes silvestres Cardona de Castilla, de *O. streptacantha* y Amarilla Olorosa y San Pedreña, de *O. hyptiacantha* no mostró diferencias significativas entre las 7 y 15 h.

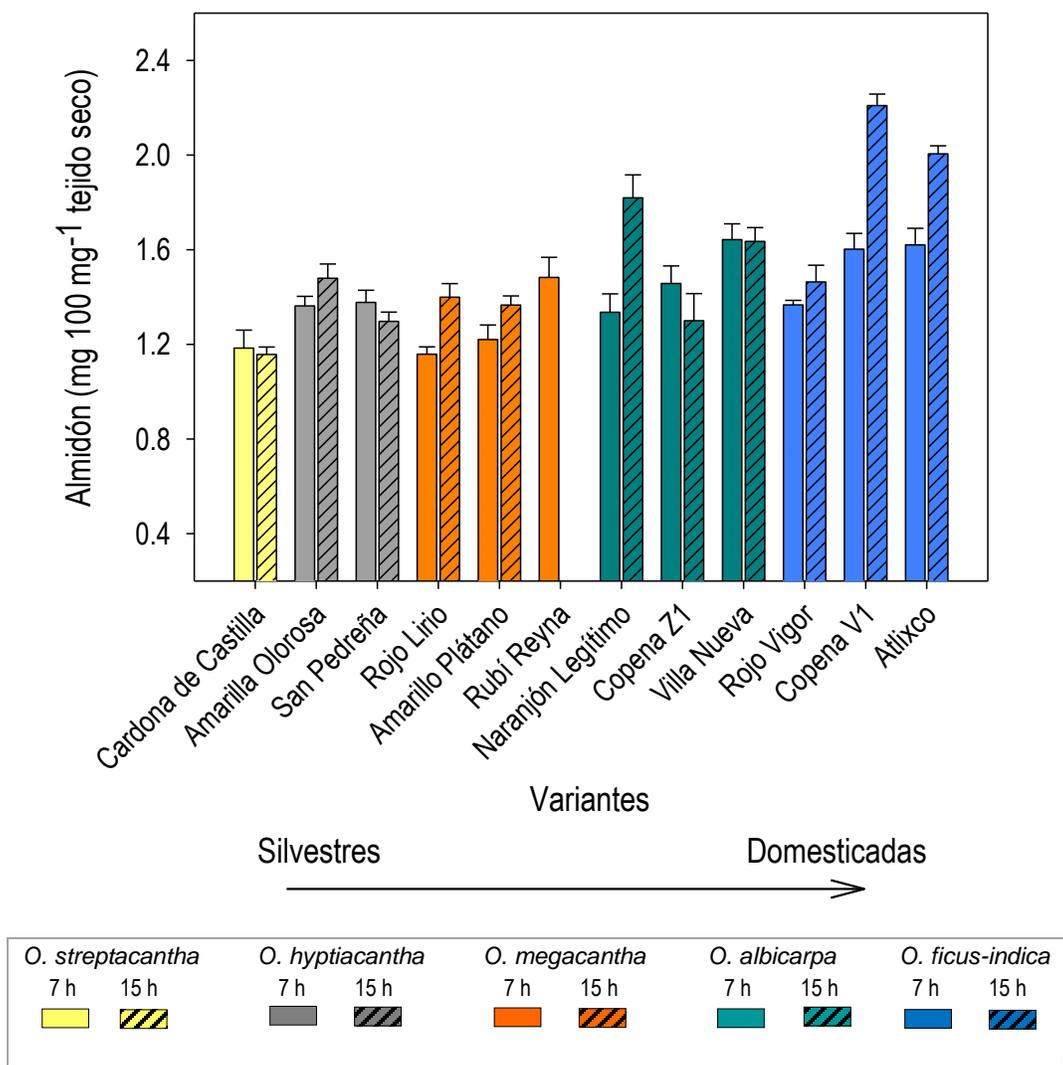


Figura 1.5. Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

1.5.6 Fenoles totales

Las variantes y las fases MAC mostraron efectos diferentes y significativos ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles totales; además, la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido de fenoles totales (Anexo A). El contenido de fenoles totales entre las variantes a las 7 h mostró diferencias significativas

($p \leq 0.05$). Los contenidos menores se registraron en las tres variantes de *O. ficus-indica* (Rojo Vigor, Atlixco y Copena V1) y en Villa Nueva, de *O. albicarpa*, con un promedio de $16.63 \mu\text{molas g}^{-1}$. Estos contenidos bajos en las variantes domesticadas contrastaron con el contenido mayor ($20.03 \mu\text{molas g}^{-1}$) en las variantes silvestres de *O. hyptiacantha* (San Pedreña y Amarilla Olorosa) y Cardona de Castilla, de *O. streptacantha*; la diferencia entre esos promedios extremos representó 17.03 % (Figura 1.6).

Las diferencias entre las variantes dentro de las especies al amanecer fueron significativas ($p \leq 0.05$); en Rojo Lirio, de *O. megacantha*, el contenido de fenoles fue 8.86 % más que Amarillo Plátano y Rubí Reyna; Naranjón Legítimo, de *O. albicarpa*, mostró 9.28 % más fenoles respecto a Villa Nueva y Copena Z1. En contraste, entre las variantes de *O. hyptiacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.6).

A las 15 h el contenido menor de fenoles totales se registró en Atlixco ($13.93 \mu\text{molas g}^{-1}$). Las diferencias entre las variantes dentro de las especies a esta hora de muestreo fueron significativas; en Naranjón Legítimo, de *O. albicarpa*, el contenido de fenoles totales fue 17.69 % menor que en Villa Nueva y Copena Z1; la diferencia entre Atlixco y Rojo Vigor, de *O. ficus-indica*, representó 23.28 %. Entre las variantes de *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.6).

El contenido de fenoles totales a las 15 h no cambió ($p = 0.05$), disminuyó o incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. En las silvestres San Pedreña, y Amarillo Plátano y la semidomesticada Rojo Lirio, el contenido de fenoles totales fue similares entre los dos horarios; pero, en las silvestres Cardona de Castilla y Amarilla Olorosa el contenido de fenoles fue 15 % más alto a las 7 h respecto a las 15 h, y en tres de las variantes de las especies con grado mayor de domesticación el contenido de fenoles totales al amanecer fue 12 % mayor respecto a las 15 h. Al contrario, las tres variantes restantes tuvieron presentaron 14 % menos contenido de fenoles totales al atardecer respecto al amanecer (Figura 1.6).

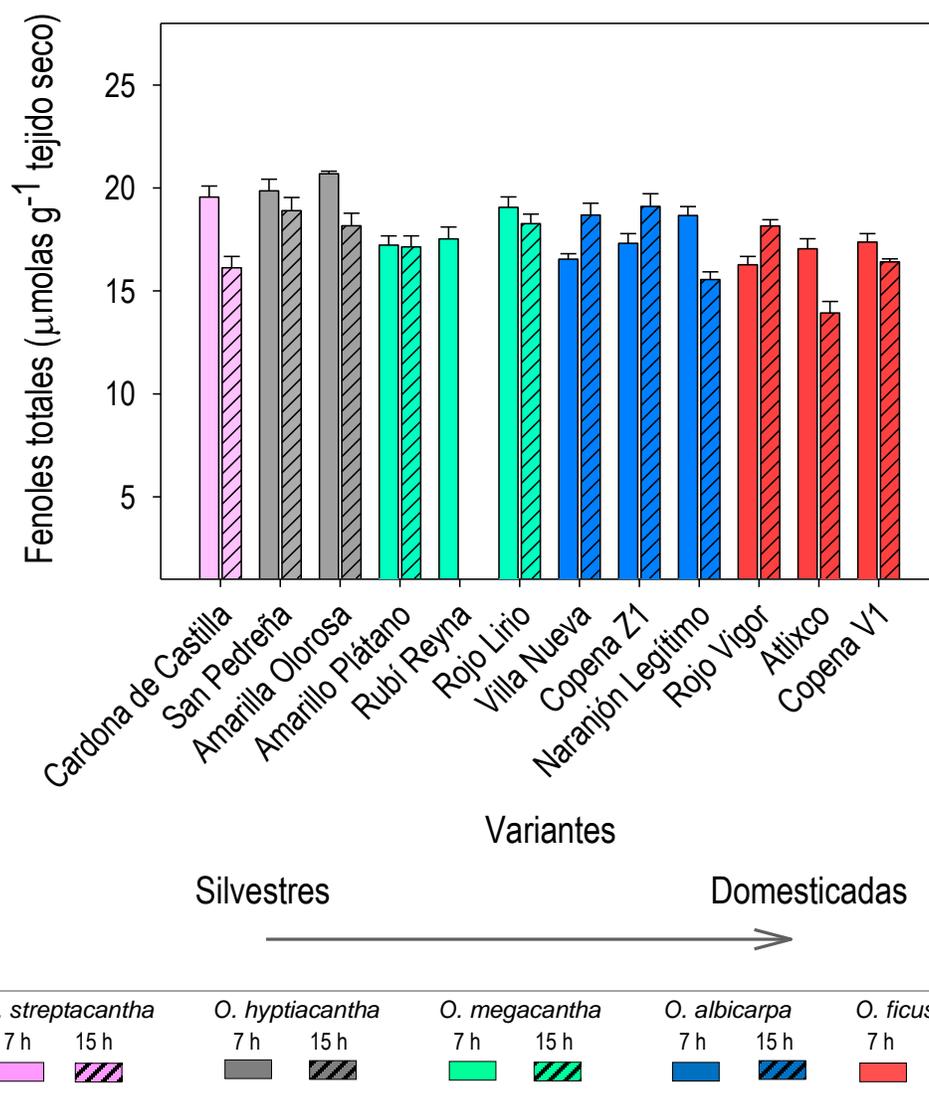


Figura 1.6. Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

1.5.7 Aminoácidos libres

Las variantes y las fases MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de aminoácidos libres y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo A). El contenido de aminoácidos libres en las variantes mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) a las 7 h. El contenido menor se registró en las tres

variantes de *O. megacantha*, Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha* y Copena V1 de, *O. ficus-indica* con un promedio de $0.079 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$. Cardona de Castilla destacó por su contenido alto de aminoácidos libres ($0.173 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) al amanecer, la diferencia respecto a los contenidos menores representó 54.10 % (Figura 1.7).

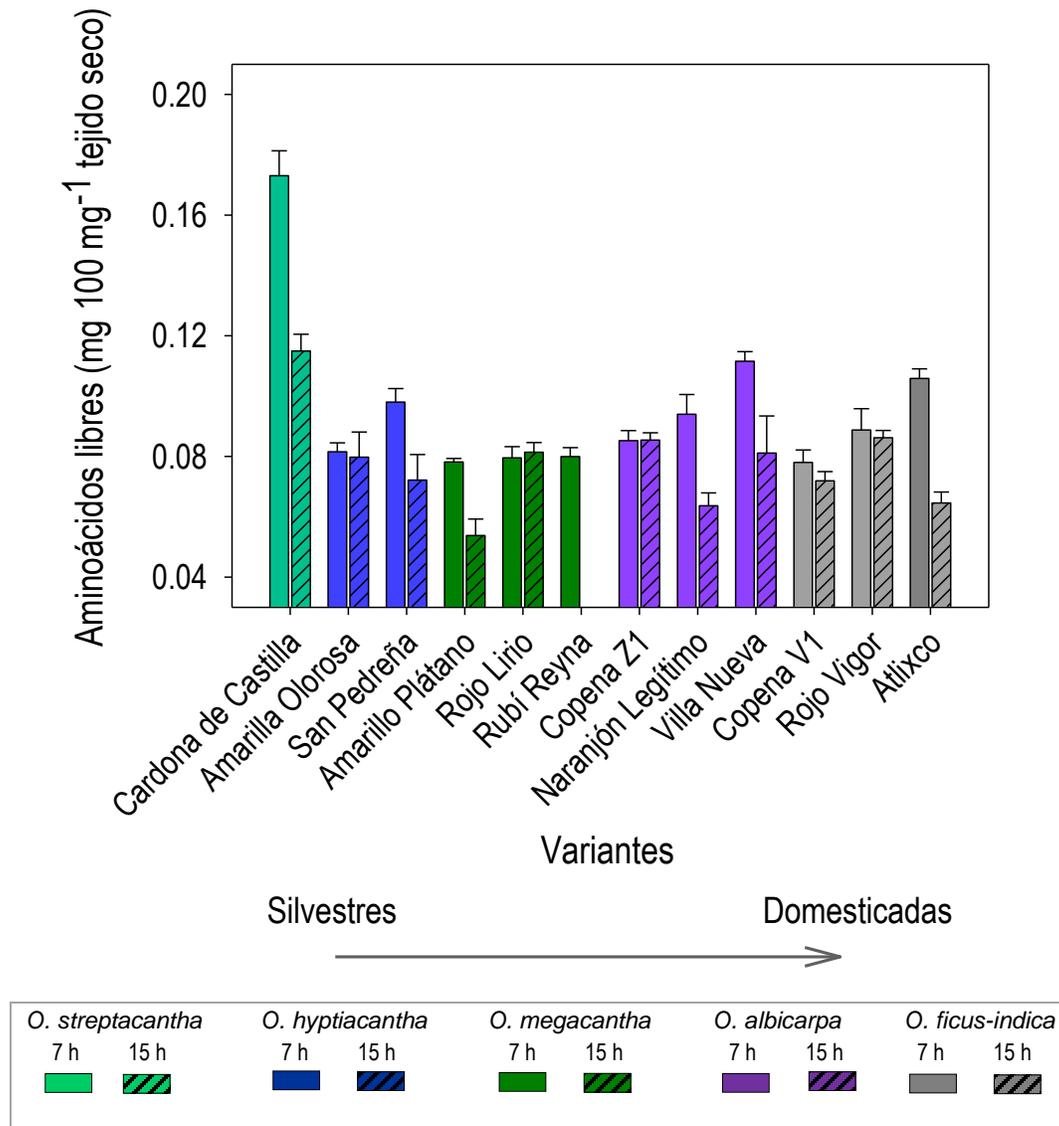


Figura 1.7. Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas en con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) invernadero ($n=4$) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

Las diferencias entre las variantes dentro de las especies al amanecer fueron significativas ($p \leq 0.05$). Las diferencias entre las variantes de *O. hyptiacantha* representaron hasta 16.80 %, en *O. albicarpa* la diferencia alcanzó 23.60 %, entre Copena Z1 y Villa Nueva, y en *O. ficus-indica*, la diferencia incrementó a 26.50 % entre Copena V1 y Atlixco. Entre las variantes de *O. megacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.7).

El contenido de aminoácidos libres entre las variantes a las 15 h también mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$); los valores fluctuaron entre 0.053 y 0.115 mg 100 mg⁻¹, entre la variante semidomesticada Amarillo Plátano y la silvestre Cardona de Castilla; la diferencia representó 53.60 %. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies al atardecer fueron significativas ($p \leq 0.05$) con 33.95 % entre las variantes de *O. megacantha*, 25.50 %, entre Copena Z1 y Naranjón Legítimo, de *O. albicarpa* y 25.10 % entre Rojo Vigor y Atlixco de *O. ficus-indica*. Las diferencias en el contenido de aminoácidos libres a las 15 h entre las variantes de *O. hyptiacantha* no fueron significativas (Figura 1.7).

El contenido de aminoácidos libres a las 15 h no cambió ($p = 0.05$) o disminuyó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. Al menos una variante de cada especie, a excepción de *O. streptacantha*, mostró contenidos similares de aminoácidos libres en ambas horas de muestreo. El resto de las variantes, presentaron contenido mayor de aminoácidos libres al amanecer respecto a las 15 h. En este caso, destacaron Atlixco, con 39 %, Cardona de Castilla con 33 % y Naranjón Legítimo con 32 % más de aminoácidos al amanecer (Figura 1.7).

1.5.8 Proteína soluble

Las variantes y las fases MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de proteína soluble y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido de proteína soluble (Anexo A). Las diferencias en el contenido de proteínas solubles entre las variantes a las 7 h fueron significativas ($p \leq 0.05$), y los contenidos fluctuaron entre 0.45 mg 100 mg⁻¹ en Copena Z1 y Villa Nueva y 0.69 mg 100

mg⁻¹ en Atlixco, lo que representó diferencias de 34.24 %. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies al amanecer fueron significativas ($p \leq 0.05$) en Naranjón Legítimo, registro 22.60 % más proteínas solubles que Copena Z1 y Villa Nueva, en *O. albicarpa*, entre Copena V1 y Atlixco representó 28.62 % en *O. ficus-indica*. Entre las variantes de *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.8).

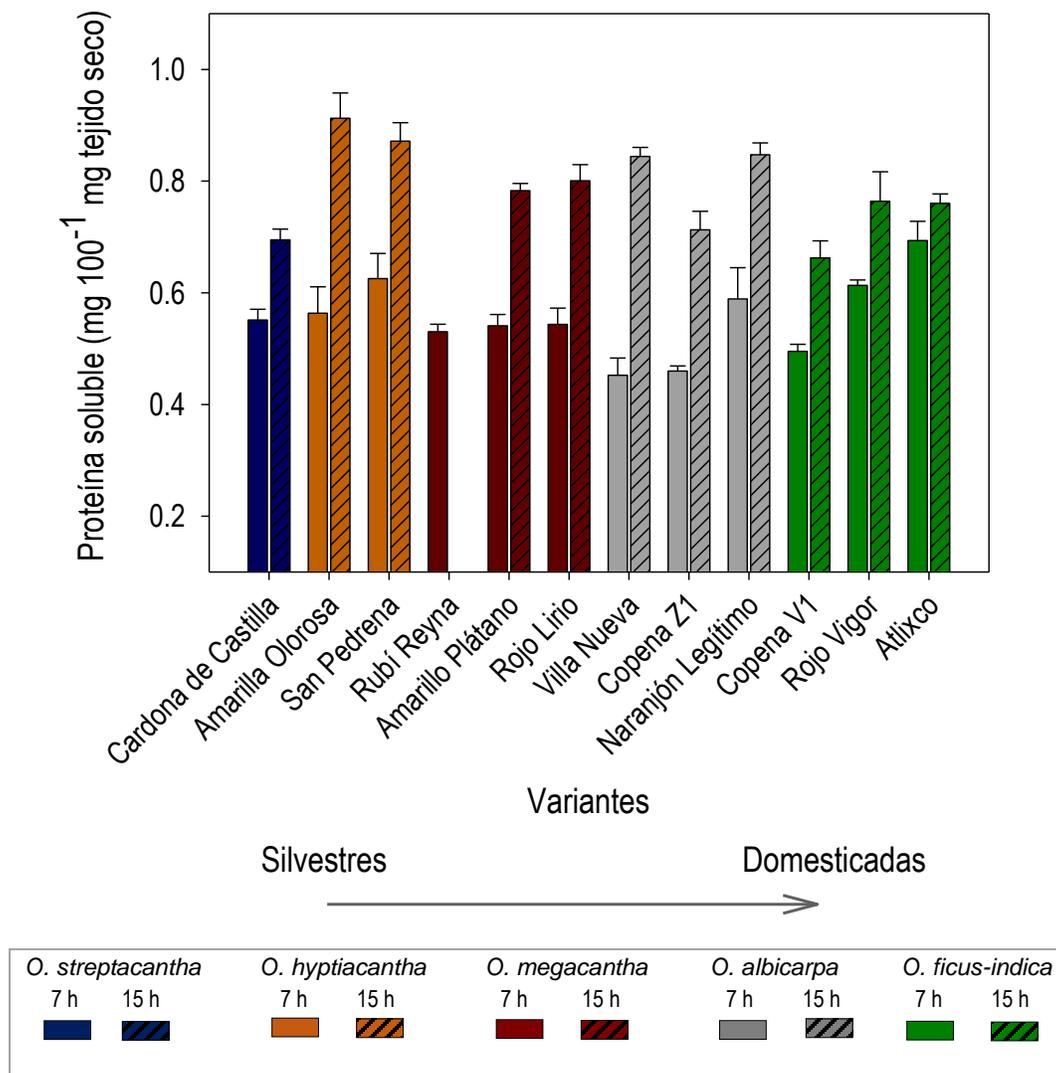


Figura 1.8. Contenido de proteína soluble (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero (n=4) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

A las 15 h el contenido de proteínas solubles entre las variantes presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$). A esta hora Cardona de Castilla, Copena Z1 y Copena V1 en promedio tuvieron $0.69 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en tanto que el contenido más alto correspondió a las variantes de *O. hyptiacantha*, Amarilla Olorosa y San Pedreña, una diferencia de 23 %. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies en la tarde fueron significativas ($p \leq 0.05$) en *O. albicarpa* la diferencia representó 15.85 % menos proteína en Copena Z1 que en Villa Nueva y Naranjón Legítimo; en *O. ficus-indica*, Copena V1 tuvo 13.30 % menos proteína que Rojo Vigor y Atlixco. Las diferencias entre las variantes de *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* no fueron significativas (Figura 1.8).

El contenido de proteínas solubles a las 15 h incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h. Esos incrementos fueron diferentes entre las variantes y representaron entre 9 y 87 %. Destacaron las variantes de *O. albicarpa*, con un incremento promedio de 62 %, las variantes de *O. hyptiacantha* con un aumento de 51 % y las de *O. megacantha* con incremento de 46 %; en tanto que, las variantes de *O. streptacantha* incrementaron 26 % y las de *O. ficus-indica* 23 % (Figura 1.8).

1.5.9 Actividad de invertasa ácida

Las variantes y las fases MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa ácida y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en esta actividad enzimática (Anexo A). La actividad de invertasa ácida al amanecer mostró poca variabilidad entre las variantes. En *O. megacantha*, Amarillo Plátano tuvo 8.66 % menos actividad de la enzima respecto a Rojo Lirio y Rubí Reyna; además, las variantes de esta especie mostraron la actividad enzimática menor ($5.50 \text{ nmolas } \text{mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Con excepción de Amarilla Olorosa, la actividad mayor se registró en el resto de las variantes, sin diferencias significativas entre ellas, y dentro de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 1.9).

La actividad de invertasa ácida entre las variantes a las 15 h mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) y fluctuó entre $3.43 \text{ nmolas } \text{mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en Copena Z1, de la especie domesticada *O. albicarpa*, y $5.95 \text{ nmolas } \text{mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en Cardona de Castilla y San Pedreña,

de las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*. Las diferencias entre las variantes dentro de las especies en la tarde fueron significativas ($p \leq 0.05$); en *O. hyptiacantha* la diferencia representó 26.12 % entre sus variantes, en *O. albicarpa* la diferencia representó 31.80 % entre Copena Z1 y Villa Nueva y en *O. ficus-indica* la actividad de invertasa ácida en Copena V1 representó 28.70 % menos que en Rojo Vigor y Atlixco. Las diferencias en esta actividad enzimática, en la tarde, entre las variantes de *O. megacantha* no fueron significativas (Figura 1.9).

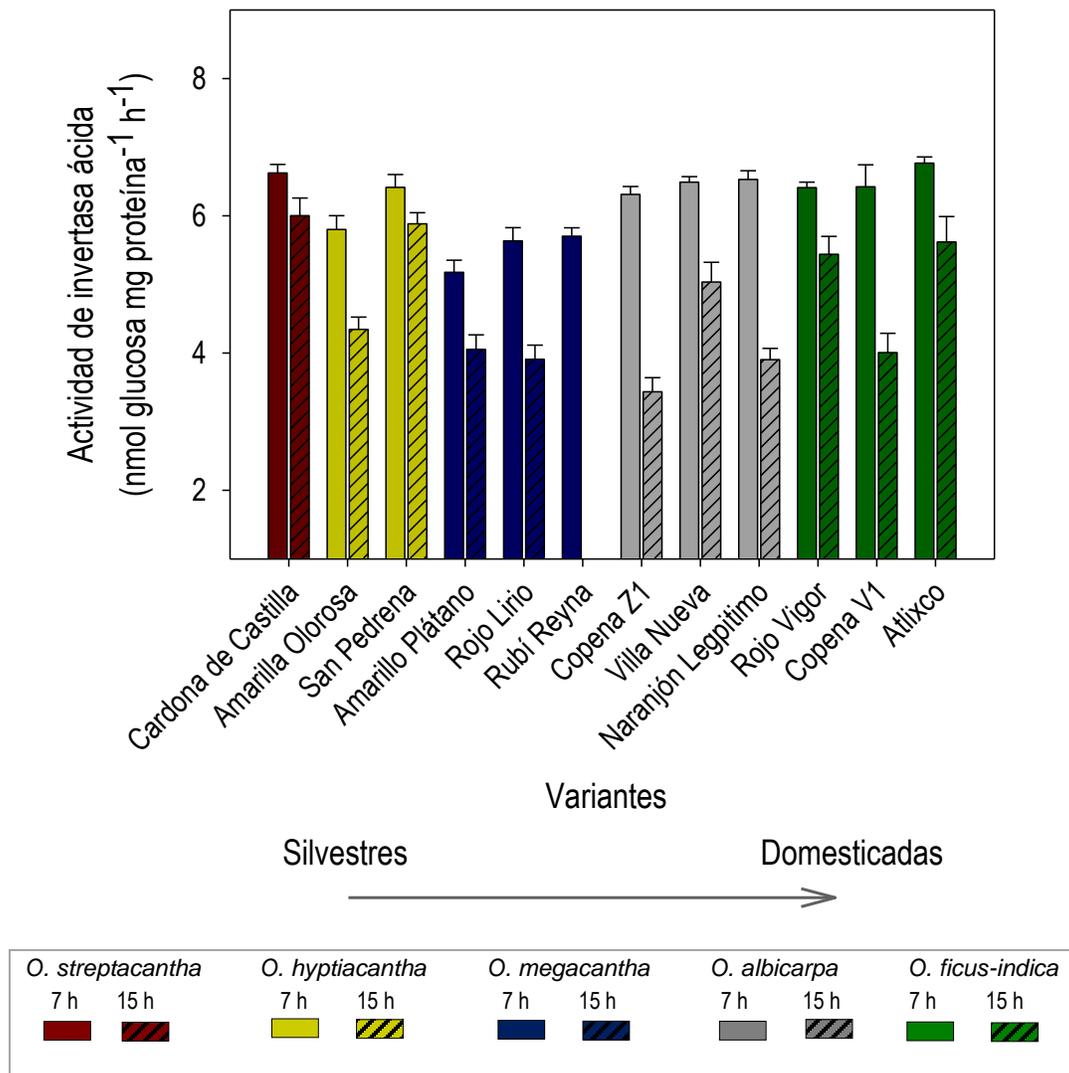


Figura 1.9. Actividad de invertasa ácida (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero ($n=4$) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

La actividad de invertasa ácida a las 15 h disminuyó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h. Esta actividad enzimática en el grupo de las variantes fue 24.20 % mayor a las 7 h respecto a las 15 h. Destacaron Copena Z1, Naranjón Legítimo y Copena V1, por su reducción de 40 % en la actividad enzimática en la tarde y en Cardona de Castilla y San Pedreña la reducción representó 8 % (Figura 1.9).

1.5.10 Actividad de invertasa neutra

Las variantes y las fases MAC afectaron diferente ($p \leq 0.05$) la actividad de invertasa neutra y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en esta actividad enzimática (Anexo A). Al amanecer la actividad de invertasa neutra fue poco variable entre las 12 variantes, y fluctuó entre 4.95 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en Amarillo Plátano, de *O. megacantha*, a 6.60 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en Rojo Vigor y Atlixco, de *O. ficus-indica*. La actividad de invertasa neutra en Amarillo Plátano, Naranjón Legítimo y Copena V1 fue 15 % menor que en las otras variantes de su especie respectiva. Las diferencias entre las variantes dentro de *O. hyptiakantha* no fueron significativas (Figura 1.10).

La actividad de invertasa neutra a las 15 h fluctuó entre 3.80 y 6.45 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en la variante semidomesticada Amarillo Plátano y la domesticada Atlixco, entre las 11 variantes; la diferencia representó 41.20 %. La variabilidad entre las variantes de las especies contrastó ampliamente. En la especie silvestre *O. hyptiakantha* mostraron 14.26 % de diferencia; en las variantes de especie semidomesticada *O. megacantha* la diferencia representó 33.80 % y entre las de *O. ficus-indica*, Atlixco presentó 5.90 % mayor actividad de invertasa neutra que Copena V1 y Rojo Vigor. Entre las variantes de *O. albicarpa* las diferencias no fueron significativas (Figura 1.10).

En general, la actividad de invertasa neutra a las 15 h disminuyó respecto a las 7 h. En Amarillo Plátano la disminución representó 23.11 % y en el resto de las variantes la diferencia entre los horarios fue 9 % (en promedio) o el cambio no fue significativo (Figura 1.10).

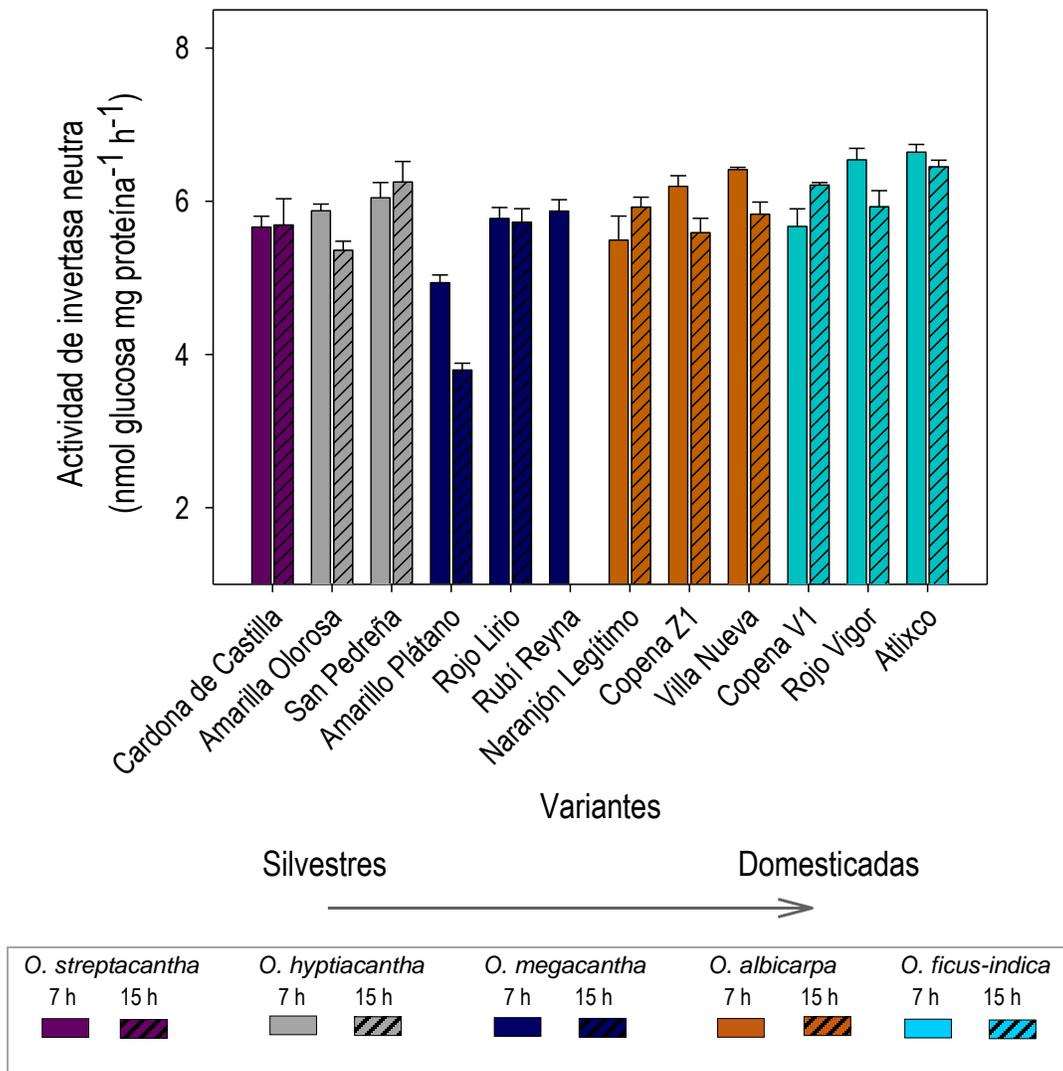


Figura 1.10. Actividad de invertasa neutra (+ e.e.) en cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero ($n=4$) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

1.5.11 Biomasa

Las variantes y las fases MAC afectaron diferente ($p \leq 0.05$) la biomasa y la interacción entre variante x fase MAC fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en la biomasa acumulada (Anexo A). El contenido de biomasa entre las variantes, a las 7 h, mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Cardona de Castilla y Amarillo Plátano, de *O.*

streptacantha y *O. megacantha*, mostraron el contenido menor ($6.33 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y Villa Nueva, de *O. albicarpa*, mostró el contenido mayor ($9.10 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), con diferencia de 30.45 %. Entre las variantes dentro de las especies, al amanecer, las diferencias en biomasa fueron significativas ($p \leq 0.05$); Rojo Lirio, de *O. megacantha*, presentó 25.78 % más biomasa que Amarillo Plátano; Villa Nueva, de *O. albicarpa*, presentó 19.40 % más biomasa que Copena Z1 y Naranjón Legítimo. Las variantes de *O. hyptiacantha* u *O. ficus-indica* no mostraron diferencias significativas en la biomasa al amanecer (Figura 1.11).

El contenido de biomasa entre las variantes a las 15 h presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$). El contenido menor de biomasa ($5.88 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) se registró en un grupo de tres variantes silvestres (Cardona de Castilla, San Pedreña y Amarillo Plátano) y el mayor ($11.99 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) en la domesticada Naranjón Legítimo, la diferencia representó 51.02 %. Las variantes dentro *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* presentaron diferencia de 11 %, en *O. albicarpa*, Naranjón Legítimo presentó 61.46 % más biomasa que Copena Z1, y en *O. albicarpa*, Copena V1 presentó 29.90 % más biomasa que Rojo Vigor en la tarde (Figura 1.11).

El contenido de biomasa en la tarde no cambió ($p = 0.05$), disminuyó o incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. Destacaron San Pedreña y Amarilla Olorosa por su reducción de 22 % en el contenido de biomasa al atardecer; al contrario, las domesticadas Copena V1 y Atlixco, de *O. ficus-indica*, presentaron 22.74 % más biomasa al atardecer, y Naranjón Legítimo, de *O. albicarpa*, la incrementó 62 % (Figura 1.11).

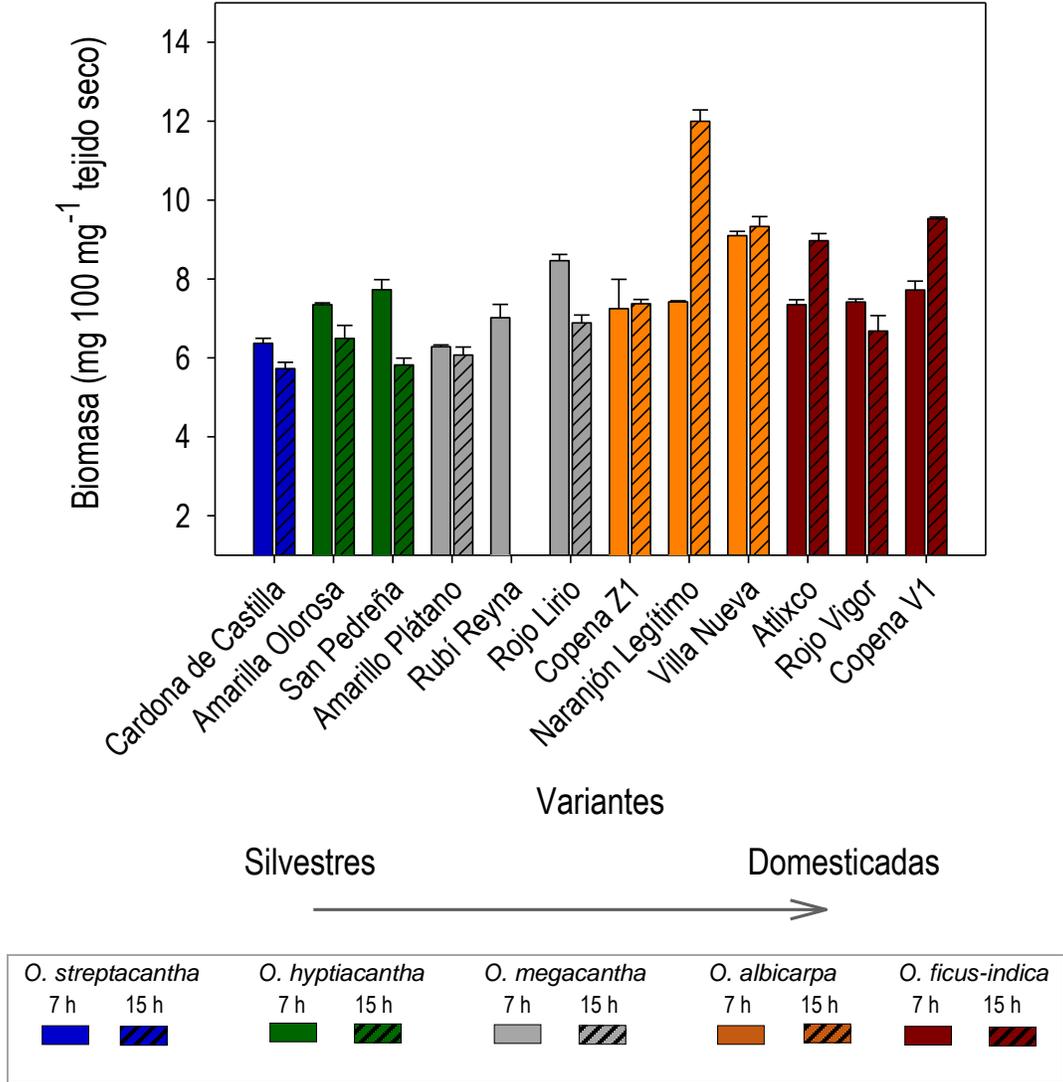


Figura 1.11. Biomasa (+ e.e.) de cladodios jóvenes de variantes de especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) en invernadero ($n=4$) (* Los cladodios de la variante Ruby Reyna a las 15 h no fueron evaluados).

1.6 DISCUSIÓN

El contenido de ácido málico a las 15 h fue 35 % menor respecto a las 7 h. La reducción de la acidez en los tejidos de los cladodios después del amanecer, durante las horas con luz, es típica de las plantas MAC (Corrales-García *et al.*, 2004; García-Nava *et al.*, 2015).

Las diferencias en el contenido de ácido málico en la tarde entre las variantes fueron significativas; además, dentro de cada especie también fueron significativas. La excepción fue *O. ficus-indica*, lo que indica que las variantes de esta especie, con domesticación mayor, mostraron heterogeneidad vespertina en el contenido del ácido. Sin embargo, en promedio el contenido del ácido ($0.69 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) no difirió entre las especies a esta hora de muestreo. Esto puede indicar que, a las 15 h, en las condiciones de crecimiento de los cladodios (riego en invernadero) las especies alcanzaron el contenido mínimo de ácido málico, previo al incremento que antecede a su acumulación nocturna.

Las variaciones en el contenido de ácido málico se deben al efecto del genotipo e interacción con factores ontogénicos que afectan la expresión de los atributos bioquímicos y fisiológicos de las plantas (Chusman, 2001; Dodd *et al.*, 2002). La tendencia general permite señalar que a las 15 h, en las condiciones de crecimiento de los nopalitos, no se detectó diferencia por efecto del genotipo y el efecto del riego, o la condición hídrica o Ψ_A del suelo pudo influir en el resultado. Esto permite sugerir que las evaluaciones de los cambios en el contenido de ácido málico en los nopalitos, en el gradiente de domesticación, podrían evaluarse en el ciclo de 24 h y con restricción de riego, que es la condición propia de los ambientes de la mayoría de las especies de *Opuntia*, para identificar las diferencias entre las especies. En la condición de restricción de humedad las plantas MAC responden con mecanismos adaptativos particulares, que les permiten expresar reacciones fotoquímicas y bioquímicas y enfrentar la restricción (Chaves *et al.*, 2003; 2009). En especies MAC, como *Opuntia*, el contenido de ácido málico incrementa como respuesta a la sequía (Dodd *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2008). Además, una sequía severa provoca cierre total y continuo de los estomas en estas plantas; esto afecta la incorporación nocturna de CO_2 y la acumulación de malato (Taybi *et al.*, 2002). Posiblemente, principalmente las especies silvestres, en las condiciones hídricas del suelo con riego, ajustan la expresión del metabolismo MAC; pues, según Pimienta-Barrios *et al.* (2007) las especies silvestres de nopal presentan resistencia mayor a la sequía que las cultivadas. En sus ambientes naturales las plantas muestran respuestas diferentes en dependencia de la intensidad y la duración de las

sequías (Chaves *et al.*, 2003); pero, las plantas MAC muestran plasticidad considerable, que varía en respuesta a las condiciones ambientales y el estado de desarrollo (Chusman y Bohnert, 1999).

El contenido de ácido málico a las 15 h no mostró diferencias significativas entre las variantes de las cinco especies. Esto indica que en esas condiciones la captura nocturna de CO₂ y acumulación de ácido málico en esa fase podría mostrar pocas diferencias entre las variantes y las especies; ya que, ambos dependen de los contenidos diurnos de ácido málico (Drennan y Nobel, 2000; Borland *et al.*, 2014). Además, en la presente investigación, los contenidos de ácido málico en las variantes de *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* no mostraron diferencias significativas a las 7 h, lo que confirma que la acumulación nocturna del ácido depende de la “poza” diurna. Esta homogeneidad parece ser efecto de la condición hídrica del suelo y la planta, por efecto del riego continuo. Sin embargo, aún en esta condición al amanecer sí se detectaron diferencias significativas en el contenido de ácido málico entre las especies en el extremo del gradiente de domesticación. Las variantes de la especie con grado mayor de domesticación, *O. ficus-indica*, tuvieron 13 % menos ácido respecto a la variante de la especie silvestre, *O. streptacantha*, y 8.40 % menos que *O. hyptiacantha*. Aunque, la acumulación y descarboxilación del ácido málico en las plantas MAC también depende de otros factores, como la temperatura, intensidad de luz y edad de la planta (Nobel y Hartsock, 1983; Dodd *et al.*, 2002), en el presente estudio, las diferencias y similitudes en el contenido del ácido parecen haber derivado del genotipo de cada variante y especie, del Ψ_A suelo y de su interacción, pues los cladodios evaluados provenían de plantas que se mantuvieron en condiciones similares.

La relativa homogeneidad del contenido de ácido málico entre las variantes en cada hora de evaluación no mostró relación con los contenidos de glucosa, fructosa y sacarosa; pues, específicamente en las variantes de *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa*, el contenido de esos fotoasimilados presentó diferencias significativas. *Opuntia albicarpa* fue la especie con el contenido de sacarosa mayor a las 15 h (4.91 mg 100 mg⁻¹) y una de las especies con las variantes que mostraron los contenidos menores de

glucosa ($6.60 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y fructosa ($5.49 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). Sin embargo, esta especie con nivel alto de domesticación presentó 18 % más sacarosa y 27 % más almidón que la silvestre *O. streptacantha*. Lo que demostró la relación directa del contenido del disacárido y polisacárido centrales en el metabolismo del C, en los cladodios, con el nivel de domesticación. Además, las variantes de la otra especie con grado mayor de domesticación, *O. ficus-indica*, tuvieron en promedio el contenido mayor de almidón y sacarosa, estos representaron 40 y 10 % más respecto a *O. streptacantha*. Lo que confirmó la relación directa de la acumulación de estos compuestos hidrocarbonados con el nivel de domesticación de las especies.

El crecimiento de las plantas generalmente se expresa mediante la biomasa (fresca o seca); esencialmente determinada por el intercambio gaseoso relacionado con la fotosíntesis y la respiración a lo largo del tiempo (Kubota, 2016). La fotosíntesis y la respiración son vías metabólicas que producen ATP y equivalentes redox (NADPH y NADH) para satisfacer las demandas de energía celular para el crecimiento y el mantenimiento (Noguchi y Yoshida, 2008). La biomasa seca del tejido incluye todos sus componentes celulares (excepto el agua) al momento de la determinación. Heldt y Piechulla (2011) indicaron que el aumento diario de la biomasa en las plantas MAC es bajo, respecto a las plantas C3 y C4, y que la tasa de crecimiento en plantas MAC es limitado. Sin embargo, las plantas MAC muestran la capacidad de funcionar eficiente en condiciones ambientales áridas y semiáridos, en las que las plantas C3 y C4, no podrían sobrevivir (Heyduk *et al.*, 2016). En esta reacción al cambio del ambiente árido o semiárido típico para a las plantas del género *Opuntia* (Ψ_A del suelo de -0.17 MPa) el contenido de biomasa entre variantes y especie mostró diferencias significativas. Los cladodios de las especies con grado mayor de domesticación, *O. albicarpa* y *O. ficus indica*, tuvieron hasta 67 y 47 % más biomasa que la silvestre *O. streptacantha*. Estos resultados parecen relacionarse con el aumento del tamaño (gigantismo) de las estructuras de interés para los humanos que describe al síndrome de domesticación (Harlan, 1992). Además, los resultados permiten sugerir que los fotosintatos generados en las especies con grado mayor de domesticación parece que se destinan principalmente al crecimiento. La sacarosa es sustrato para el metabolismo energético y

la biosíntesis de macro-moléculas, que resulta en acumulación de biomasa, crecimiento y desarrollo (Wang *et al.*, 2013). Esto coincidió con el número mayor de brotes vegetativos (resultados no mostrados), en las plantas de las especies con grado de domesticación mayor, y que contrario el de las plantas silvestres, particularmente las de *O. streptacantha*. En general, en las plantas de las especies silvestres y nivel menor de domesticación la disponibilidad de cladodios para el estudio fue menor; por lo que, una o dos variantes de ellas debieron dejarse fuera del estudio. Este fue el caso de Cardona y Tuna Loca de *O. streptacantha*, Memelo de *O. hyptiacantha* y Rubí Reyna de *O. megacantha*.

Los contenidos menores de glucosa y fructosa en las especies domesticadas, puede estar relacionado con su consumo durante la producción mayor de brotes fotosintéticamente activos. Ribas *et al.* (2013) señalaron que los tejidos, órganos o plantas jóvenes en pleno crecimiento demandan energía metabólica y fotoasimilados para la producción de ATP.

El crecimiento de las plantas está estrechamente relacionado con la fotosíntesis y con la respiración (Noguchi y Yoshida, 2008). La energía obtenida a través de la respiración, en forma de ATP, es utilizada en el crecimiento de los órganos vegetales y, en general, de la planta, el mantenimiento de sus estructuras, el transporte de metabolitos e iones, la regeneración de proteínas y los procesos de reparación (Yamori, 2016). La sacarosa y el almidón son fuentes principales de sustratos respiratorios en las plantas, la cantidad de compuestos hidrocarbonados destinados a los procesos respiratorios impacta la producción neta de biomasa y desempeña un papel central en la economía del C en la productividad vegetal (Ribas *et al.*, 2013; Yamori, 2016). La respiración durante el crecimiento refleja esos costos de C asociados a la producción de nuevas estructuras en una planta en crecimiento, probablemente a través de este proceso bioquímico las especies domesticadas utilizan la mayoría de sus fotoasimilados y la respiración de mantenimiento, es la que cubre la producción de la energía necesaria para la reparación y el mantenimiento de la planta, con mínimo o nulo crecimiento, tal vez ésta es la que predomina en las especies silvestres (Ribas *et al.*, 2013; Yamori, 2016).

En los resultados de la presente investigación, en general, el contenido de sacarosa y almidón no se modificó las 15 h respecto a las 7 h; en este último caso la (excepción fue *O. ficus-indica*). Esto parece coincidir con la actividad de invertasa neutra; ya que las diferencias entre ambos horarios no fueron significativas dentro y entre especie, con excepción de *O. megacantha*. El crecimiento y los procesos de mantenimiento celulares requieren aporte de C diurno y nocturno (Smith y Stitt, 2007). Los resultados indicaron que independientemente del nivel de domesticación, los cladodios jóvenes de *Opuntia*, mantuvieron en equilibrio la síntesis y exportación de las principales fuentes de C orgánico.

La actividad de invertasa ácida fue 24 % más alta a las 7 h que a las 15 h, esto indica que las concentraciones de sustrato y el pH del ambiente vacuolar fueron óptimos para la actividad de esa enzima. Las invertasas ácidas solubles o invertasas vacuolares, regulan las concentraciones de hexosas / sacarosa en vacuolas (Sturm, 1999; Winter y Huber, 2000). Además, la actividad mayor de la invertasa ácida al amanecer coincidió con la fase en la que aún se realiza intercambio de gases, porque los estomas permanecen abiertos, y los contenidos altos de malato aún son elevados, antes de su descarboxilación. Así, la actividad de las invertasas parece estar relacionada con la apertura de los estomas. Un posible escenario es que la enzima al hidrolizar sacarosa en glucosa y fructosa, duplica la osmolaridad, lo que lleva al incremento en la incorporación de agua a la vacuola e impulsa la apertura de las células guarda (Tymowska-Lalanne, 1998; Coleman *et al.*, 2009).

Weschke *et al.* (2003) aseguraron que la invertasa ácida es más activa en las zonas de crecimiento y en la extensión de los tejidos, como en raíces, entrenudos y hojas en desarrollo. Rae *et al.* (2011) indicaron que la hidrólisis de sacarosa por una invertasa ácida aumentaría el potencial osmótico que puede impulsar el desarrollo de la vacuola y la expansión celular. Esto permite explicar por qué al amanecer la actividad de la invertasa ácida en las variantes de *O. streptacantha*, *O. albicarpa*, *O. ficus-indica* las diferencias no fueron significativas, ya que los cladodios utilizados en el estudio fueron nopalitos de la última brotación, de tamaño y estado de desarrollo semejante. También,

la actividad alta de invertasa ácida se ha comprobado en una gama de tejidos en expansión, que incluyen tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) en desarrollo, raíz pivotante de zanahoria (*Daucus carota*) y ovarios de maíz (*Zea mays*) (Ross *et al.*, 1994; Zinselmeier *et al.*, 1995; Tang *et al.*, 1999; Andersen *et al.*, 2002).

La actividad menor de invertasa ácida a las 15 h se registró en las variantes de *O. megacantha* y *O. albicarpa*; en oposición, la actividad mayor se detectó en *O. streptacantha*, la diferencia representó 33 %. Esto indica que en la etapa vespertina la sacarosa sintetizada en las especies domesticadas y con domesticación intermedia es menor en su vacuola; posiblemente porque este azúcar se exporta a órganos que la demandan o utilizan en el citosol en procesos metabólicos diferentes. La actividad de invertasa neutra o citosólica, a las 15 h, fue 30 % mayor que la actividad de invertasa ácida en *O. albicarpa*, y 20 % en *O. ficus-indica*. En contraste, a la misma hora la actividad de invertasa ácida e invertasa neutra, junto con el contenido de sacarosa en *O. hyptiacantha* fueron similares en *O. ficus-indica*; en contraste, en el contenido de monosacáridos mostró diferencias significativas entre esas especies. Esto se demuestra que la dinámica de consumo de C, o la dinámica del tamaño de la fuente y la demanda de C es diferente entre las especies con grado de domesticación distinto. Además, el contenido de los monosacáridos depende también de la actividad de otra enzima, la sacarosa sintasa, que también cataliza la hidrólisis de la sacarosa y que depende de la fuerza de la demanda en la planta (Salerno y Curatti, 2003; Vargas y Salerno, 2010; Tausin *et al.*, 2014).

Los antioxidantes en los vegetales tienen propiedades promotoras de la salud al prevenir la oxidación de las biomoléculas. Entre ellos, los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos parecen los antioxidantes más efectivos (Dixon y Pavia, 1995). El género *Opuntia*, exhibe actividad antioxidante importante (Camarena-Rangel *et al.*, 2017). Estas propiedades se han atribuido a su contenido de antioxidantes como betalaínas, flavonoides, vitaminas y compuestos fenólicos (Lee *et al.*, 2003; Piga, 2004; Santos-Zea *et al.*, 2011). En la presente investigación, las diferencias en el contenido de fenoles totales a las 15 h no fueron significativas respecto a las 7 h, en las variantes de *O. megacantha*, *O. albicarpa*

y *O. ficus-indica*; en contraste, las variantes de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* presentaron 18 y 9 % más fenoles totales al amanecer. Además, en este horario, las especies silvestres tuvieron 14 % más fenoles que las especies domesticadas. Los metabolitos secundarios participan en la adaptación de las plantas al ambiente y en la reacción a las condiciones de estrés (Akula y Ravishankar, 2011). En el presente estudio podría decirse que aunque las plantas no estaban bajo alguna condición que limitara su desarrollo, las especies silvestres mostraron un potencial mayor para la producción de estos metabolitos, que les pueden conferir adaptación eficiente a condiciones adversas de crecimiento. Sin embargo, las plantas silvestres crecen en ambientes áridos y semiáridos, en los que la humedad del suelo comúnmente es restrictiva; por lo que, el riego cotidiano podría constituir una condición de estrés para estas especies.

Las rutas biosintéticas de los compuestos fenólicos se derivan del metabolismo primario, y existe evidencia de que la duplicación de genes en esta vía metabólica ha sido base para la expresión de genes en el metabolismo secundario (Pichereaux *et al.*, 2006). Esto permite sugerir que la asignación diferenciada de los recursos para el metabolismo primario, entre las especies silvestres y domesticadas, interviene en la producción de los compuestos fenólicos. Lo anterior lo observaron Robles-Martínez *et al.* (2016), en la síntesis de metabolitos secundarios en cultivos *in vitro* de varias especies de *Opuntia*; los autores indicaron que la asignación de C en los cultivos *in vitro* se utilizó en el metabolismo primario (construcción de estructuras celulares) y para la síntesis de sus metabolitos.

Los metabolitos secundarios tienen función en las reacciones de las plantas contra herbívoros y patógenos (Akula y Ravishankar, 2011). El contenido mayor de fenoles totales en las especies silvestres, se relaciona con el contenido de proteínas; ya que Pichereaux *et al.* (2016) registraron que las proteínas relacionadas con la protección y la respuesta a estímulos estaban representadas mayormente en *O. streptacantha* (13.1%) y *O. hyptiacantha* (13.9%), respecto a *O. ficus-indica* (12.5 %). Los resultados de la presente investigación parecen coincidir con lo anterior, pues las variantes de *O. hyptiacantha* al atardecer presentaron 18 % más proteínas solubles que *O. ficus-indica*. En el ciclo diurno, *Opuntia* sobre expresa un número considerable de proteínas,

principalmente las involucradas en la regulación de la glucólisis (Pichereaux *et al.*, 2016). Los contenidos mayores de proteínas a las 15 h en las cinco especies concuerdan con lo anterior.

Al contrario, a las 7 h se presentó variación menor en el contenido de proteínas entre especies; así, las diferencias entre *O. streptacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* no fueron significativas. Astello-García *et al.* (2015) registraron que plantas que crecieron en las mismas condiciones ambientales, el contenido de macromoléculas, como proteínas, grasas, cenizas, no mostraron una clara tendencia a la acumulación de esos componentes tisulares en el gradiente de domesticación propuesto por Reyes-Agüero *et al.* (2005). Además, la homogeneidad en el contenido de proteínas en las variantes de estas especies a las 7 h, puede estar relacionada con la condición hídrica del suelo y las temperaturas frescas, dentro del invernadero, al amanecer. Moreno (2009) señaló que la alteración en la expresión de proteínas puede darse como respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés, como el déficit hídrico, temperaturas elevadas u otros. Lo que está relacionado con la diversidad de funciones de las proteínas, pues además de su actividad como catalizadores biológicos del metabolismo desempeñan funciones críticas en la transducción de señales, el transporte de iones y la generación de energía (Marmagne *et al.*, 2004; Huang, 2006).

Los cladodios de *Opuntia* contienen todos los aminoácidos esenciales para los humanos y no esenciales en proporciones significativas (Kazemini, 1994). En el presente estudio, las variantes de *O. megacantha* presentaron los contenidos menores de aminoácidos libres en los dos horarios de evaluación, y la variante de *O. streptacantha* presentó los contenidos mayores. Los aminoácidos participan en procesos del metabolismo primario y secundario de las plantas, como el metabolismo de la glucosa, la producción de ciertas hormonas, contribuyen al crecimiento y reparación de los tejidos, y pueden ser osmoprotectores (Salisbury y Ross, 1994; Martínez, 2010). El contenido de aminoácidos libres de más del 50 % en *O. streptacantha* respecto a las otras especies, podría relacionarse con su capacidad, inclusive adelantada, de regular una sobre expresión de

osmolitos, como la prolina, y otros aminoácidos ante algún tipo de estrés (Tamura *et al.*, 2003).

1.7 CONCLUSIONES

Las diferencias entre las especies y variantes silvestres y domesticadas del género *Opuntia* están relacionadas con el metabolismo primario y secundario del C y del N y es dependiente momento en el ciclo de 24 h. El crecimiento, expresado como acumulación de biomasa y el contenido del polisacárido de reserva (almidón) mayores y los contenidos de monosacáridos metabólicos (glucosa y fructosa) menores en los cladodios jóvenes de las especies con nivel mayor de domesticación, como *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, contrastan con los de la especie silvestre *O. streptacantha*; por lo que, ejemplifican características del síndrome de domesticación en el género *Opuntia*. Aunque sin una tendencia en el gradiente de domesticación, la especie silvestre *O. hyptiacantha* presentó más proteína soluble y fenoles totales, y la diferencia varietal menor, particularmente en la fase I, lo que contrastó con la diferencia varietal mayor, en la especie domesticada *O. albicarpa*; así, parece que existen otras características que pueden describir y enriquecer la definición del síndrome de domesticación que falta describir y caracterizar.

1.8 LITERATURA CITADA

- Acevedo, E., I. Bonilla, P.S. Nobel. 1983. Water relation, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Akula, R. y G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
- Anaya, P.M.A. 2001. History of the use of *Opuntia* as forage in México. In: J. Mondragón C, S. Pérez G. (eds.). *Cactus (Opuntia spp.) as Forage*. FAO. *Plant Production and Protection* 169: 5-12.
- Andersen, M.N., F. Asch, Y. Wu, C.R. Jensen, H. Naested, V.O. Mogensen, K.E. Koch. 2002. Soluble invertase expression is an early target of drought stress during the critical, abortion-sensitive phase of young ovary development in maize. *Plant Physiology* 130: 591-604.

- Andrade, J. L., E. De la Barrera, C. Reyes-García, M. F. Ricalde, G. Vargas-Soto, C. Cervera. 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.
- Astello-García, M.G., I. Cervantes, V. Nair, M.S. Santos-Días, A. Reyes-Agüero, F. Guéraud, A. Negre-salvayre, M. Rossignol, L. Cisneros-Zevallos, A.P. Barba de la Rosa. 2015. Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivar with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 119-130.
- Betancourt-Domínguez, M.A., T. Hernández-Pérez, P. García-Saucedo, A. Cruz-Hernández, O. Paredes-López. 2006. Physico-Chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.
- Binns, C. 2003. Consume only moderate amounts of sugar and foods containing added sugars. *Journal of the Home Economics Institute of Australia* 10: 27-37.
- Borland A.M., J. Hartwell, D.J. Weston, K.A. Schlauch, T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan, X. Yang, J.C. Cushman. 2014. Engineering crassulacean acid metabolism to improve water-use efficiency. *Trends in Plant Science* 14: 327-338.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Callejas-Juárez, N. 2006. Situación actual y perspectivas del Mercado para la tuna, el nopalito y sus derivados en el Estado de México. 2006. Tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados. México. 131 p.
- Camarena-Rangel, N.G., A.P. Barba-De la Rosa, J.A. Herrera-Corredor, M.S. Santos-Díaz. 2017. Enhanced production of metabolites by elicitation in *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia megacantha*, and *Opuntia streptacantha* callus. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 129: 289-298.
- Chaves, M.M., J. Flexas, C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.

- Chaves, M.M., J.P. Maroco, J.S. Pereira. 2003. Understanding plant response to drought- from genes to the whole plant. *Functional Plants Biology* 30: 239-264.
- Chusman, J.C. 2001. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- Chusman J.C. y H.J. Bohner. 1999. Crassulacean acid metabolism: molecular genetics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 305-332.
- Coleman, H.D., J. Yan, S.D. Mansfield. 2009. Sucrose synthase affects carbon partitioning to increase cellulose production and altered cell wall ultrastructure. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 106: 13118-13123.
- Corrales-García, J., C.B. Peña-Valdivia, Y. Razo-Martínez, M. Sánchez-Hernández. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32: 169-174.
- Corrales-García, J., V.C. Flores. 2003. Nopalitos y tunas: producción, comercialización. Postcosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo. CIESTAAM-programa Nopal. México. 225 p.
- Cummings J.H., L.M. Edmond, E.A. Magee. 2004. Dietary carbohydrates and health: ¿do we still need the fiber concept? *Clinical Nutrition Supplements* 1: 5-17.
- Cushman, J. C. 2001. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environment. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- Cushman, J.C., S.C. Davis, X. Yang, A. M. Borland. 2015. Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66: 4177-4193.
- Dixon, R.A. y N.L. Pavia. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Dodd A.N., A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 569-580.
- Drennan, P.M., P.S. Nobel. 2000. Responses of CAM species to increasing atmospheric CO₂ concentrations. *Plant, Cell and Environment* 23: 767-781.
- Feugang, M.J., P. Konarski, D. Zou, F.C. Stintzing. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience* 11: 2574-2589.

- Flores, V., E. De Luna, M. Ramírez. 1995. Mercado mundial del nopalito. ASERCA-CIESTAAM-UACH. 176 p.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García-Nava, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 927-938.
- Gepts, P. 2004. Crop domestication as a long-term selection experiment. In: *Plant breeding reviews*. Volumen 24, Part 2, New York, USA. Edited by Jules Janick. 1-44 p.
- Griffiths H., W.E. Robe, J. Girnus, K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during crassulacean acid metabolism species. *Journal of Experimental Botany* 59: 1851-1861.
- Guevara-Figueroa, T., H. Jiménez-Islas, M.L. Reyes-Escogido, A.G. Mortensen, B.B. Laursen, L.W. Lin, A. De León-Rodríguez, I.S. Fomsgaard, A.P. Barba de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525-532.
- Guillen, S., A. Casas, T. Terrazas, E. Vega, A. Martínez-Palacios. 2013. Differential survival and growth of wild and cultivated seedlings of columnar cacti: consequences of domestication. *American Journal of Botany* 100: 2364-2379
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G.P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Heldt, H.W. y N. Piechulla. 2011. *Plant biochemistry*. 4th Edition. Academic Press. 656 p.
- Herppich W.B. y K. Peckmann 2000. Influence of drought on mitochondrial activity, photosynthesis, nocturnal acid accumulation and water relations in the CAM plants *Prenia sladeniana* (ME-type) and *Crassula lycopodioides* (PEPCK-type). *Annals of Botany* 86: 611-620.
- Heyduk, K., M.R. McKain, F. Lalani, J. Leebens-Mack. 2016. Evolution of a CAM anatomy predates the origins of Crassulacean acid metabolism in the Agavoideae (Asparagaceae). *Molecular Phylogenetic and Evolution* 105: 102-113.
- Huang, B. 2006. Cellular membranes in stress sensing and regulation of plant adaptation to abiotic stresses. Taylor and Francis Group, LLC. 1-15 p.

- Jones, D.L., A.G. Owen, J.F. Farrar. 2002. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solution and soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1893-1902.
- Kazemini, A. 1994. Prickly pear cactus Medicine. Department of Agriculture Nutrient database. U.S.A.
- Kubota, C. 2016. Growth, development, transpiration and translocation as affected by abiotic environmental factors. University Arizona, Tucson, Arizona, USA. 151-164 p.
- Lee, E.H., H.J. Kim, Y.S. Song, C. Jin, K.T. Lee, J. Cho, Y.S. Lee. 2003. Constituent of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Archives of Pharmacal Research* 26: 1018-1023.
- Maki D., G., C. B. Peña-Valdivia, R. García N., M. L. Arévalo G., G. Calderón Z., S. Anaya R. 2015. Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agrociencia* 49: 31-51.
- Magalhães, L.M., F. Santos, M.A. Segundo, S. Reis, J.L.F.C. Lima. 2010. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83: 441-447.
- Marmagene, A., B. Favery, L.A. Chelysheva, M. Lebris, F. Jammes, C. Vaury, A. Pierre. 2004. Arabidopsis formin atFH6ls a plasma membrane-associated protein upregulated in giant cells induced by parasitic nematodes. *The Plant Cell* 16: 2529-2540.
- Martínez, A. 2010. Propiedades nutricionales y medicinales del champiñón y otros hongos cultivados. Centro de Investigación Biomédica de la Rioja (CIBIR). 76 p.
- Méndez, G.S. de J., A. Tarango, G. González. 2004. Preliminary analysis of cochineal insects (*Dactylopius coccus*) with high performance liquid chromatography (HPLC) In: G. Esparza F., R.D. Valdez C. & S. de J. Méndez G. (eds) El nopal. Tópicos de actualidad. Universidad Autónoma Chapingo-Colegio de Postgraduados. 223-234 p.
- Meyer, R.S., A.E. DuVal, H.R. Jensen. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist* 196: 29-48.
- Moreno F.L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27: 179-191.

- Nägele, T., S. Henkel, I. Hörmiller, T. Sauter, O. Sawodny, M. Ederer, A, G. Heyer. 2010. Mathematical modeling of the central carbohydrate metabolism in arabidopsis reveals a substantial regulatory influence of vacuolar invertase on whole plant carbon metabolism. *Plant Physiology* 153: 260-272.
- Nobel, P. S. 2001. Ecophysiology of *Opuntia ficus-indica* In: J. Mondragón C. S. Pérez G. (eds). *Cactus as Forage*. FAO. Plant Production and Protection. Paper 169. 13-20 p.
- Nobel, P.S., T.L. Hartsock. 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.
- Noguchi, K., K. Yoshida. 2008. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves. *Mitochondrion* 8: 87-99.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J.L. Hamrick, J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, Central México. *Molecular Ecology* 14: 1603-1611.
- Palta, J.P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. *Horticultural Science* 25: 1377-1381.
- Padilla-Chacón, D., E. Martínez-Barajas, A. García-Esteva, R. Leal-Delgado, J. Kohashi-Shibata, C. B. Peña-Valdivia. 2017. Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water restriction. *South African Journal of Botany* 112: 79-88.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo-López, V. B. Arroyo-Peña, U.A. Sánchez. M. R. Balois. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia*). *Chemistry and Biodiversity* 9: 1599-1610.
- Peña-Valdivia, C.B., J.R. García-Nava, J.R. Aguirre-Rivera, M.C. Ybarra-Moncada, M.H. López. 2011. Variation in physical and chemical characteristics of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grain along a domestication gradient. *Chemistry and Biodiversity* 8: 2211-2225.
- Peña-Valdivia, C.B., M.L. Ortega-Delgado. 1991. Non-structural carbohydrate partitioning in *Phaseolus vulgaris* after vegetative growth. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 55: 563-577.

- Perales, H.R., J.R. Aguirre. 2008. Biodiversidad humanizada. Capital Natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, 565-603 p.
- Pichereaux, C., E.E. Hernández-Domínguez, M.S. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, M. Astello-García, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, O. Schiltz, M. Rossignol, A.P.B. de la Rosa. 2016. Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication. *Journal of Proteomics* 143: 353-364.
- Piga, A. 2004. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *JPACA* 6: 9-22.
- Pimienta-Barrios, E., I. Castillo-Cruz, J. Zañudo-Hernández, L. Méndez-Morán, P.S. Nobel. 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annals of Applied Biology* 151: 137-144.
- Rae, A.L., R.E. Casu, J.M. Perroux, M.A. Jackson. 2011. A soluble acid invertase is directed to the vacuole by a signal anchor mechanism. *Journal of Plant Physiology* 168: 983-989.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, J.L. Flores-Flores. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484.
- Ribas, C.M., I.D. Flores-Sarasa, M.A. González-Meler. 2013. La respiración de las plantas. En *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcon-Bieto J. y M. Talón. Segunda edición. McGraw-Hill. 651 p.
- Robles-Martínez, M., A.P. Barba-de la Rosa, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, M. Rossignol, M.S. Santos-Díaz. 2016. Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated *Opuntia* species: study on their potential as a source of metabolite production. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 124: 181-189.
- Rodríguez-Felix, A., M. Cantwell. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes. *Plant Food for Human Nutrition* 38: 83-93.
- Ross, H.A., H.V., Davies, L.R., Burch, R. Viola, D. McRae. 1994. Developmental changes in carbohydrate content and sucrose degrading enzymes in tuberising stolons of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum* 90: 748-756.

- Ruan, Y.L., Y. Jin, Y.-J. Yang, G.-J. Li, J.S. Boyer. 2010. Sugar Input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3: 942-955.
- Sáenz, C., H. Berger, J.C. García, L.J. Galletti, V. García de Cortázar, L. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez-Félix, E. Sepúlveda, y M. Varnero. 2006. Utilización Agroindustrial del Nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. 165 p.
- Salerno, G.L., L. Curatti L. 2003. Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? *Trends in Plant Science* 8: 63-69.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Iberoamérica. 759 p.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutierrez-Urbe, S.O. Serna-Saldivar. 2011. Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7054-7061.
- Silvera, K., K.M. Neubig, W.M. Whitten, N.H. Williams, K. Winter, J. C. Cushman. 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. *Functional Plant Biology* 37: 995-1010.
- Smith, A.M. y M. Stitt. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30: 1126-1149.
- Stintzing, F.C., R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research* 49: 175-194.
- Sturm, A. 1999. Invertases. Primary structure, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiology* 121: 1-7.
- Tamura, T., K. Hara, Y. Yamaguchi, N. Koizumi y H. Sano. 2003. Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiology* 131: 454-462.
- Tang, G.Q., M. Luscher, A. Sturm. 1999. Antisense repression and vacuolar and cell wall invertasa in transgenic carrot alters early plant development and sucrose partitioning. *Plant Cell* 11: 177-189.
- Tauzin, A.S., G. Sulzenbacher, M. Lafond, V. Desseaux, I.B. Reca, J. Perrier, D. Bellincampi, P. Fourquet, C. Lévêque, T. Giardina. 2014. Functional characterization

of a vacuolar invertase from *Solanum lycopersicum*: Post-translational regulation by N-glycosylation and a proteinaceous inhibitor. *Biochimie* 101: 39-49.

Taybi, T., J.C. Cushman, A.M. Borland. 2002. Environmental, hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. *Functional Plant Biology* 29: 669-678.

Tymowska-Lalanne, Z., M. Kreis. 1998. The plant invertases: physiology, biochemistry and molecular biology. *Adv. Bot. Res.* 28: 71-117.

Valencia-Sandoval, K., J.J. Branbila-Paz, J.S. Mora-Flores. 2010. Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia* 44: 955-963.

Vargas, W.A., G.L. Salerno. 2010. The Cinderella story of sucrose hydrolysis: alkaline/neutral invertases, from cyanobacteria to unforeseen roles in plant cytosol and organelles. *Plant Science* 178: 1-8.

Wang, X.C., Q.Y. Zhao, C.L. Ma, Z.H. Zhang, H.L. Cao, Y.M. Kong, C. Yue, X.Y. Hao, L. Chen, J.Q. Ma, J.Q. Jin, X. Li, Y.J. Yang. 2013. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation. *BMC Genomics* 14: 1-15.

Weschke, W., R. Panitz, G. Sabine, W. Qing, R. Ruslana, W. Hans. 2003. The role of invertases and hexose transporters in controlling sugar ratios in maternal and filial tissues of barley caryopses during early development. *The Plant Journal* 33: 395-411.

Winter, H. y S.C. Huber. 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 19: 31-67.

Winter K., M. García, J.A.M. Holtum. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë* and *Opuntia*. *Journal of Experimental Botany* 59: 1829-1840.

Winter, K., J.A.M. Holtum, J.A.C. Smith. 2015. Crassulacean acid metabolism: a continuous or discrete trait? *New Phytologist* 208: 73-78.

Yamori, W. 2016. Photosynthesis and respiration. Center for Environment, Health and Field Sciences, Chiba University, Kashiwa, Japan. 141-150 p.

Zinselmeier, C., M.E., Westgate, J.R., Schussler, R.J. Jones. 1995. Low water potential disrupts carbohydrate metabolism in maize (*Zea mays* L.) ovaries. *Plant Physiology* 107: 385-391.

CAPÍTULO II. MODIFICACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE CLADODIOS DE *Opuntia* POR LA DOMESTICACIÓN Y SU EXPRESIÓN MODULADA POR EL POTENCIAL DE AGUA DEL SUELO Y FASE MAC

2.1. RESUMEN

Cambios morfológicos en las plantas de nopal han permitido reconocer un gradiente de domesticación del género *Opuntia*. La fisiología de sus cladodios jóvenes se relaciona parcialmente con ese gradiente. El objetivo de este estudio fue determinar los cambios en la composición química parcial y actividad de invertasa de cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto de la domesticación y su relación con el potencial de agua del suelo (Ψ_A del suelo) y fase del metabolismo ácido crasuláceo (MAC). La hipótesis fue que la composición química parcial y actividad de invertasa en cladodios jóvenes de *Opuntia* se relacionan directamente con el nivel de domesticación, su MAC y Ψ_A del suelo. El estudio se realizó en cladodios de 3 a 4 semanas de edad, cosechados al final de la fase I de MAC (7 h) y fase III (15 h), de plantas con riego o sin riego por 30 d (Ψ_A del suelo de -0.17 y -5.72 MPa), de siete variantes pertenecientes a *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. El diseño experimental para las especies fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos 5 x 2 x 2 (especies x fase MAC x nivel hídrico del suelo) y para las variantes fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos 7 x 2 x 2 (variantes x fase MAC x nivel hídrico del suelo). La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes, con seis repeticiones. Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteína soluble y actividad de invertasa ácida e invertasa neutra. Para las especies, las interacciones posibles entre los factores, especie x Ψ_A del suelo, especie x fase MAC, Ψ_A del suelo x fase MAC y especie x Ψ_A del suelo x fase MAC, para las 10 variables, fueron significativas ($p \leq 0.05$) o altamente significativas ($p \leq 0.0001$). Las excepciones fueron especie x Ψ_A del suelo para almidón ($p = 0.1827$), Ψ_A del suelo x fase MAC para glucosa ($p = 0.5711$) y sacarosa ($p = 0.5945$), y especie x Ψ_A del suelo x fase MAC para sacarosa ($p = 0.2175$) e invertasa neutra ($p = 0.0669$). La composición química de los cladodios jóvenes y actividad de

invertasa de *Opuntia* se modifica por Ψ_A del suelo, el ciclo diario debido a su metabolismo MAC y, en general, se relaciona con el gradiente de domesticación.

Palabras claves: aminoácidos libres, actividad de invertasa, ácido málico, *Opuntia*, fenoles, almidón, azúcares.

2.2. ABSTRACT

Morphological changes in “nopal” plants have allowed recognizing a domestication gradient in the genus *Opuntia*. The physiology of tender cladodes of this plants is partially related to that gradient. This study aimed to quantify the malic acid, soluble sugars, starch, free amino acids, soluble protein and total phenolic concentrations and the acid and neutral invertase activities, at dawn and in the afternoon, in tender cladodes of five *Opuntia* species plants in a domestication gradient and two soil Ψ_w . The hypothesis was that biochemical tissue composition differences, depending on the biochemical-physiological processes of *Opuntia*, be determined by domestication level and is differently affected along the day and by soil Ψ_w . Three to 4 weeks old cladodes were harvested at the end of phase I CAM (7 h) phase III (15 h) from plants with or without irrigation, for 30 d (soil Ψ_w of -0.17 and -5.72 MPa), of the wild species, *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* with an intermediate domestication level, and *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* with a higher domestication level. The experimental design was factorial 5 x 2 x 2 (species, phase CAM and soil Ψ_w), and for variants the experimental design was factorial 7 x 2 x 2 (variants, phase CAM and soil Ψ_w). The experimental unit was a cladode per plant, with six repetitions. The analyzed variables were: malic acid, glucose, fructose, sucrose, starch, total phenolic, free amino acids, and soluble protein concentration and acid invertase and neutral invertase activities. The interactions species x soil Ψ_w and species x phase CAM, for the ten variables, were significant ($p \leq 0.05$). The exception was species x soil Ψ_w for starch ($p = 0.1827$). The biochemical-physiological processes of tender *Opuntia* cladodes are modified by time of day, soil Ψ_w and are generally directly or inversely dependent on the domestication level of the species.

Keywords: free amino acids, invertase activity, malic acid, *Opuntia*, phenols, starch, sugars.

2.3. INTRODUCCIÓN

La domesticación es un proceso evolutivo y dinámico que modifica el bagaje genético de plantas y animales. Este proceso conduce a cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos continuos que les permite diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005). La fuerza evolutiva principal de la domesticación es la selección artificial (Meyer *et al.*, 2012; Guillen *et al.*, 2013), que conduce a adaptación mayor de plantas y animales para el cultivo o la cría, con rasgos deseables por los humanos al facilitar la cosecha, modificar el sabor, las cualidades nutricionales, el contenido de metabolitos secundarios, entre otros (Gepts, 2004; Meyer *et al.*, 2012).

El síndrome de domesticación es un conjunto de rasgos que denota las diferencias entre las plantas domesticadas y sus congéneres silvestres (Frary y Doganlar, 2003; Abbo *et al.*, 2014) influenciadas por el centro de domesticación, los factores edafo-climáticos y el ciclo de vida de las plantas (Meyer *et al.*, 2012). Las diferencias indican que las plantas domesticadas han desarrollado la capacidad de supervivencia y reproducción en ambientes humanizados (Frary y Doganlar, 2003) y, al contrario, generalmente han disminuido o perdido capacidad de permanecer en ambientes silvestres; por lo que las plantas con nivel mayor de domesticación dependen totalmente de los humanos para sobrevivir y reproducirse (Harlan, 1992).

En México existe gran riqueza de variantes de *Opuntia* con grado diferente de domesticación; se ha hipotetizado que el grupo étnico indígena otomí contribuyó en la domesticación y la dispersión de variantes de *Opuntia* en diversos lugares de la Altiplanicie Meridional de México (Reyes-Agüero *et al.*, 2005a, b). Reyes-Agüero *et al.* (2005a) recolectaron muestras de variantes utilizadas por sus nopalitos, frutos y cladodios maduros, en 31 localidades de siete estados de la Altiplanicie Meridional de México. Estos autores evaluaron 42 atributos morfológicos de las plantas y las recolectas que les permitieron reconocer un gradiente de domesticación en *Opuntia*. Este mostró a *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* como especies silvestres, *O. megacantha* como semidomesticada, y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con el nivel de domesticación mayor.

La variación genética de las especies humanizadas no sólo se limita a las características morfológicas, evidencias de cambios biofísicos, fisiológicos, químicos de *Opuntia* durante la domesticación se han obtenido a través de los resultados de diversas investigaciones. García-Nava *et al.* (2015) observaron aumento en la firmeza (de 4.6 a 6.8 kgf cm⁻²), contenido de sólidos solubles totales (de 4.86 a 6.33 °Brix), permeabilidad de la membrana celular (de 26 a 31 µS cm⁻¹ g⁻¹), contenido de ácido málico (de 0.61 a 0.82 g 100 g⁻¹), y simultáneamente disminución del Ψ_A y Ψ_S (de -0.85 a -1.1 MPa y -1.01 a -1.15 MPa) como efecto de la domesticación. López-Palacios *et al.* (2012 y 2016) y García-Nava *et al.* (2018) evidenciaron en cladodios jóvenes de una plantación experimental, cosechados al mediodía, el contenido y las características químicas de los polisacáridos no amiláceos de los cladodios de *Opuntia* en el gradiente de domesticación. Esos investigadores observaron que el contenido de mucílago (4.93 a 12.43 g 100 g⁻¹) fue mayor y de hemicelulosas fuertemente unidas a celulosa fue menor (3.32 a 1.81 g 100 g⁻¹) en especies silvestres que en las domesticadas.

En México, la mayor parte de la superficie con *Opuntia* se localizan en zonas áridas y semiáridas, en estas regiones, la escasez de agua es el elemento restrictivo principal que limita el crecimiento de las plantas (Gibson, 1996; Smith *et al.*, 1997). Díaz-Padilla *et al.* (2011) indicaron que, las zonas áridas y semiáridas ocupan un 27 y 35 % del territorio mexicano. El género *Opuntia* ha evolucionado y adaptado a ambientes áridos y semiáridos, con precipitaciones de 200 a 300 mm por año (Odoux y Domínguez-López, 1996), que resultan adversos para otras especies, mediante la expresión de caracteres fisiológicos y bioquímicos propios del género, como su metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC) (Gibson, 1996; Pimienta-Barrios *et al.*, 2007) y morfo-anatómicos de sus hojas (cilíndricas a cónicas, que se pierden tempranamente) y tallos vegetativos (cladodios fotosintéticos y suculentos) (Fuentes-Fernández *et al.*, 2009). Las plantas del género *Opuntia* muestran capacidad extraordinaria para almacenar agua en sus tallos suculentos, que son reservorios naturales de agua (Flores-Hernández, *et al.*, 2004; Scalisi *et al.*, 2016).

El metabolismo fotosintético ácido de las crasuláceas (MAC) se desarrolla en el ciclo de 24 h, con la carboxilación catalizada por fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) y ribulosa bifosfato carboxilasa (Rubisco), que optimizan el rendimiento fotosintético y la ganancia de C en ambientes potencialmente limitantes. Este metabolismo se desarrolla en cuatro etapas y permite que las plantas tengan eficiencia alta en el uso del agua (Lüttge, 2004). La asimilación de C en *Opuntia* se estima mediante la acumulación nocturna del ácido málico (Scalisi *et al.*, 2016).

En plantas MAC la fijación nocturna del CO₂ a través de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), utiliza PEP como sustrato, formado a partir de hidrólisis nocturna de los carbohidratos, con la formación de ácido málico como producto final (Borland *et al.*, 2011; Cushman *et al.*, 2015). En las plantas CAM los carbohidratos, azúcares solubles y glucanos, son clave para la absorción nocturna de CO₂, por lo que la división de azúcares para abastecer sustrato para la carboxilación nocturna debe equilibrarse con otros vertederos que incluyen el crecimiento y la exportación (Antony y Borland, 2009). Además, los azúcares intervienen en los procesos de señalización en las plantas (Antony y Borland, 2009). La utilización de la sacarosa como fuente de carbono y energía depende de su hidrólisis hasta hexosas. Las invertasas hidroliza irreversiblemente la sacarosa en glucosa y fructosa, implicada principalmente en el desarrollo de plantas y metabolismo del carbono primario (Sturm 1999; Zhang *et al.*, 2003; Ruan *et al.*, 2010; Kulshrestha *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014). Los cambios de otros compuestos, como los aminoácidos libres; los cuales se acumulan frecuentemente en respuesta al estrés (Hassan *et al.*, 1994), fenoles totales, que desempeñan un papel esencial en las respuestas de defensa de las plantas (Neilson *et al.*, 2013) o proteína soluble, relacionada en general con la actividad metabólica global de los tejidos (Nobel, 1983); aportarían información sobre el proceso global. Ya que, el transporte de los azúcares es un proceso altamente regulado en niveles múltiples y en respuesta a cambios en la concentración de metabolitos diversos (Antony y Borland, 2009).

Los avances en la comprensión del proceso de domesticación han aumentado continuamente; pero, dado que la humanidad en la era moderna no ha domesticado

ninguna especie de planta, la investigación debe continuar para explorar cómo, cuándo, dónde y por qué ocurre la domesticación (Peña-Valdivia *et al.*, 2013). El científico podría responder algunas de estas cuestiones al comparar los procesos bioquímico-fisiológicos de las especies domesticadas con sus parientes silvestres y la reacción de su MAC al ambiente.

El objetivo de este estudio fue determinar los cambios en la composición química parcial y actividad de invertasa de cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto de la domesticación y su relación con el Ψ_A del suelo y fase MAC. La hipótesis fue que la composición química parcial y actividad de invertasa en cladodios jóvenes de *Opuntia* se relacionan directamente con el nivel de domesticación, su metabolismo MAC y Ψ_A del suelo.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Material vegetal

Plantas de seis años de edad, de cinco especies de *Opuntia* se mantuvieron en suelo con riego (Ψ_A de -0.17 MPa) y sin riego por 30 d (Ψ_A de -5.72 MPa) en las condiciones descritas por García-Nava *et al.* (2015). Las plantas crecieron en macetas de 19 L de capacidad, con una mezcla de suelo y grava tezontle, distribuidas al azar en un invernadero del Postgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27' 40" N, 98° 54' 19" O, altura de 2352 m). La temperatura y humedad relativa promedio diurna/nocturna dentro del invernadero, durante el crecimiento de los cladodios fueron 35/13° C y 35/77 %. El Ψ_A del suelo se determinó en tres muestras de cada tratamiento con un medidor de Ψ_A (Dewpoint Potential Meter, WP4C, EE.UU.).

Las variantes y especies del estudio fueron Cardona de *O. streptacantha*, San Pedreña y Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha*, Rojo Lirio y Amarillo Plátano de *O. megacantha*, Naranjón Legítimo de *O. albicarpa* y Copena V1 de *O. ficus-indica*. Los cladodios analizados tenían longitud promedio de 25 cm \pm 3 cm cosechados al final de la fase I de MAC (7 h) y en la fase III (15 h).

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Biofísica y Fisiología Vegetal Ambiental del Postgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, en muestras liofilizadas (Labcono® modelo Free Zone 6, Kansas City, MO, EE.UU.) y trituradas.

2.4.2 Variables evaluadas

2.4.2.1 Ácido málico

El contenido de ácido málico se cuantificó con el método de la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC, 1990). Muestras de 10 mg se resuspendieron en 5 mL de agua destilada, se centrifugaron a 4 000 g por 10 min. Alícuotas de 2 mL del sobrenadante se titularon con NaOH 0.01 N y fenolftaleína como indicador. La concentración se calculó con la ecuación:

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

2.4.2.2 Azúcares solubles y almidón

Muestras de 25 mg de cladodio deshidratado y triturado se homogenizaron con 800 µL de etanol al 80 % en agua (v/v), calentaron a 80 °C en baño maría por una hora y centrifugaron a 13 000 g por 10 min. En 5 µL de la fracción soluble se determinó el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa, en la fracción insoluble se cuantificó el almidón. Los azúcares se cuantificaron a 340 nm, en secuencia con hexoquinasa (EC 2.7.1.1) a 1 U mL⁻¹, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) a 1 U mL⁻¹, fosfoglucosa-isomerasa (EC 5.3.1.9) a 1 U mL⁻¹ e invertasa (EC 3.2.1.26) a 1 U mL⁻¹. El extracto etanólico se mezcló con 200 µL HEPES-NaOH 500 mM (pH 8.0), KCl 200 mM, MgCl₂ 200 mM, ATP 1 mM y NAD⁺ 0.3 mM. Las determinaciones se hicieron en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) y una curva estándar de glucosa a 5 mM (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

Para cuantificar el almidón, la fracción insoluble se resuspendió en 750 µL de agua destilada, calentó a baño maría a 90 °C por 4 h. A las muestras se adicionó α-amilasa (EC 3.2.1.1) (0.5 U) y β-glucosidasa (EC 3.2.1.2.1) (5 U) en un medio con acetato de

sodio 200 mM (pH 5.5). Las muestras se mantuvieron a 37 °C por 12 h. La glucosa se cuantificó con el método enzimático descrito antes. El factor de conversión para calcular el contenido de almidón fue 0.90 (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1991).

2.4.2.3 Fenoles totales

El contenido de fenoles totales se evaluó por el método descrito por Magalhães *et al.* (2010) con modificaciones. 25 mg de muestra se homogenizaron con 800 µL de etanol al 80 % en agua (v/v), se calentaron a 80° C en baño maría por 1 h y se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 µL del extracto etanólico se adicionaron 50 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido con agua destilada (1:20 v/v) y 100 µL de NaOH 0.175 M. La mezcla se mantuvo a 30 °C por 3 min. La absorbancia a 620 nm se determinó en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). La curva estándar de ácido gálico a 1 mM se utilizó para calcular el contenido de fenoles totales. La concentración en el tejido deshidratado se expresó en µmolas g⁻¹.

2.4.2.4 Aminoácidos libres

El contenido de aminoácidos libres se cuantificó con el método modificado descrito por Jones *et al.* (2002). Muestras de 25 mg homogenizadas con 800 µL de etanol al 80 % en agua (v/v) se calentaron a 80° C, por 1 hora, en baño maría, se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 µL del extracto etanólico se mezcló con 50 µL de etanol al 80 % y 75 µL de un medio que contenía acetato de sodio 4 M (pH 5.2), dimetil sulfoxido y ninhidrina. Las muestras se calentaron a 80 °C por 30 min, se adicionaron 100 µL de etanol al 50 % y la absorbancia se midió a 620 nm en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). Las concentraciones se calcularon con una curva estándar de glicina 1 mM.

2.4.2.5 Proteína soluble

El contenido de proteína soluble se determinó con el método Bradford (1976) en microplacas y curva estándar de albumina de suero bovino (0.5 mg mL⁻¹).

2.4.2.6 Actividad de invertasa ácida y neutra

La actividad de la invertasa soluble ácida y neutra se determinó con el método descrito por Nägele *et al.* (2010) con algunas modificaciones. 120 mg de muestra se homogenizaron con 2 mL de HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5), que contenía MgCl₂ 5 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, PMSF 1 mM, mercaptoetanol 2 mM, Triton X-100 0.1 %, y glicerina 10 %. La suspensión se centrifugó a 4,000 g, a 4 °C, por 15 minutos. En el sobrenadante, con 20 µg de proteína, se determinó la actividad de invertasa ácida y neutra. La primera se determinó con 50 mM de acetato de sodio (pH 4.5) y sacarosa 100 mM como sustrato.

La actividad de la invertasa neutra se determinó con HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5) y sacarosa 100 mM como sustrato. Las muestras se mantuvieron a 37 °C por una hora, luego se calentaron a 95 °C por 3 min. El pH del medio para cuantificar la actividad de invertasa ácida, previo al calentamiento, se neutralizó con HEPES-KOH (pH 7.5). Se prepararon testigos para cada ensayo. La glucosa generada en la reacción se cuantificó enzimáticamente en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) a 340 nm (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

2.4.3 Diseño experimental y análisis de resultados

El diseño experimental para las variantes fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos 7 x 2 x 2. Los factores y niveles fueron: variante (Cardona, San Pedreña, Amarilla Olorosa, Rojo Lirio, Amarillo Plátano, Naranjón Legítimo y Copena V1), fase MAC (I y III) y nivel hídrico del suelo (Ψ_A -0.17 y -5.72 MPa).

La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes y seis repeticiones. Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, proteína soluble, actividad de invertasa ácida y actividad de invertasa neutra. El análisis de los supuestos del modelo estadístico se efectuó con base en el análisis gráfico de residuales, y las pruebas Shapiro Wilks y Bartlett; las variables se transformaron cuando los supuestos no se cumplieron.

Los datos se examinaron con ANDEVA, comparación múltiple de medias, entre variantes con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete estadístico SAS V9.

El diseño experimental para las especies fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos $5 \times 2 \times 2$. Los factores y niveles fueron: especie (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*), fase MAC (I y III) y nivel hídrico del suelo (Ψ_A -0.17 y -5.72 MPa).

La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes y las evaluaciones tuvieron número variable de repeticiones (seis o 12). Las variables analizadas y el análisis de los supuestos del modelo estadístico se efectuaron como se indicó para las variantes. Los datos se examinaron con ANDEVA, comparación múltiple de medias, entre especies, con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete estadístico SAS V9.

2.5 RESULTADOS

Las interacciones posibles entre los factores evaluados, variante x Ψ_A del suelo, variante x fase MAC, Ψ_A del suelo x fase MAC y variante x Ψ_A del suelo x por fase MAC, fueron significativas ($p \leq 0.05$) o altamente significativas ($p \leq 0.0001$) para las 10 variables. Las excepciones fueron Ψ_A del suelo x fase MAC para glucosa ($p = 0.5878$), sacarosa ($p = 0.7965$) y proteína soluble ($p = 0.2056$) y variante x Ψ_A del suelo x fase MAC para invertasa neutra (0.0576) (Anexo B1).

En el caso de las especies, las interacciones posibles entre los factores, especie x Ψ_A del suelo, especie x fase MAC, Ψ_A del suelo x fase MAC y especie x Ψ_A del suelo x fase MAC, para las 10 variables, fueron significativas ($p \leq 0.05$) o altamente significativas ($p \leq 0.0001$). Las excepciones en el este caso fueron especie x Ψ_A del suelo para almidón ($p = 0.1827$), Ψ_A del suelo x fase MAC para glucosa ($p = 0.5711$) y sacarosa ($p = 0.5945$), y especie x Ψ_A del suelo x fase MAC para sacarosa ($p = 0.2175$) e invertasa neutra ($p = 0.0669$) (Anexo B2). Estos resultados permitieron el siguiente análisis de los efectos principales para cada variable.

2.5.1 Ácido málico

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de ácido málico (Anexo B1). El contenido promedio de ácido málico fue de $0.51 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, 59.11 % menor a las 15 h respecto a las 7 h ($1.24 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y disminuyó ($p \leq 0.05$) 3.47 % con la restricción del riego (0.89 y $0.86 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) (Anexo B3).

Con riego (Ψ_A de -0.17 MPa del suelo) el contenido de ácido málico en los cladodios de las siete variantes, a las 7 h, fluctuó entre 0.90 y $1.20 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Copena V1 y Cardona. A las 15 h el contenido disminuyó significativamente en todas ellas, respecto al amanecer, y fluctuó entre 0.56 y $0.80 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Naranjón Legítimo y San Pedreña. En promedio el contenido de ácido málico de las siete variantes con riego, a las 15 h fue 37.62 % menos que las 7 h (Figura 2.1 A).

La suspensión del riego disminuyó el Ψ_A del suelo a -5.72 MPa , esta condición hídrica modificó ($p \leq 0.05$) el contenido de ácido málico en todas las variantes, en ambas horas de muestreo. Con este Ψ_A en el suelo el contenido de ácido incrementó ($p \leq 0.05$) a las 7 h en la mayoría de las variantes y disminuyó ($p \leq 0.05$) a las 15 h respecto a la condición con riego. El contenido de ácido málico a las 7 h sin riego fluctuó entre 1.10 y $1.61 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en San Pedreña y Naranjón Legítimo, y entre 0.31 y $0.51 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Amarillo Plátano y Cardona, a las 15 h. Así, con la restricción del riego, la diferencia del contenido de ácido málico entre la mañana y la tarde se incrementó ($p \leq 0.05$); en promedio, los cladodios de las siete variantes a las 15 h contenían 71 % menos ácido málico que a las 7 h (Figura 2.1 B).

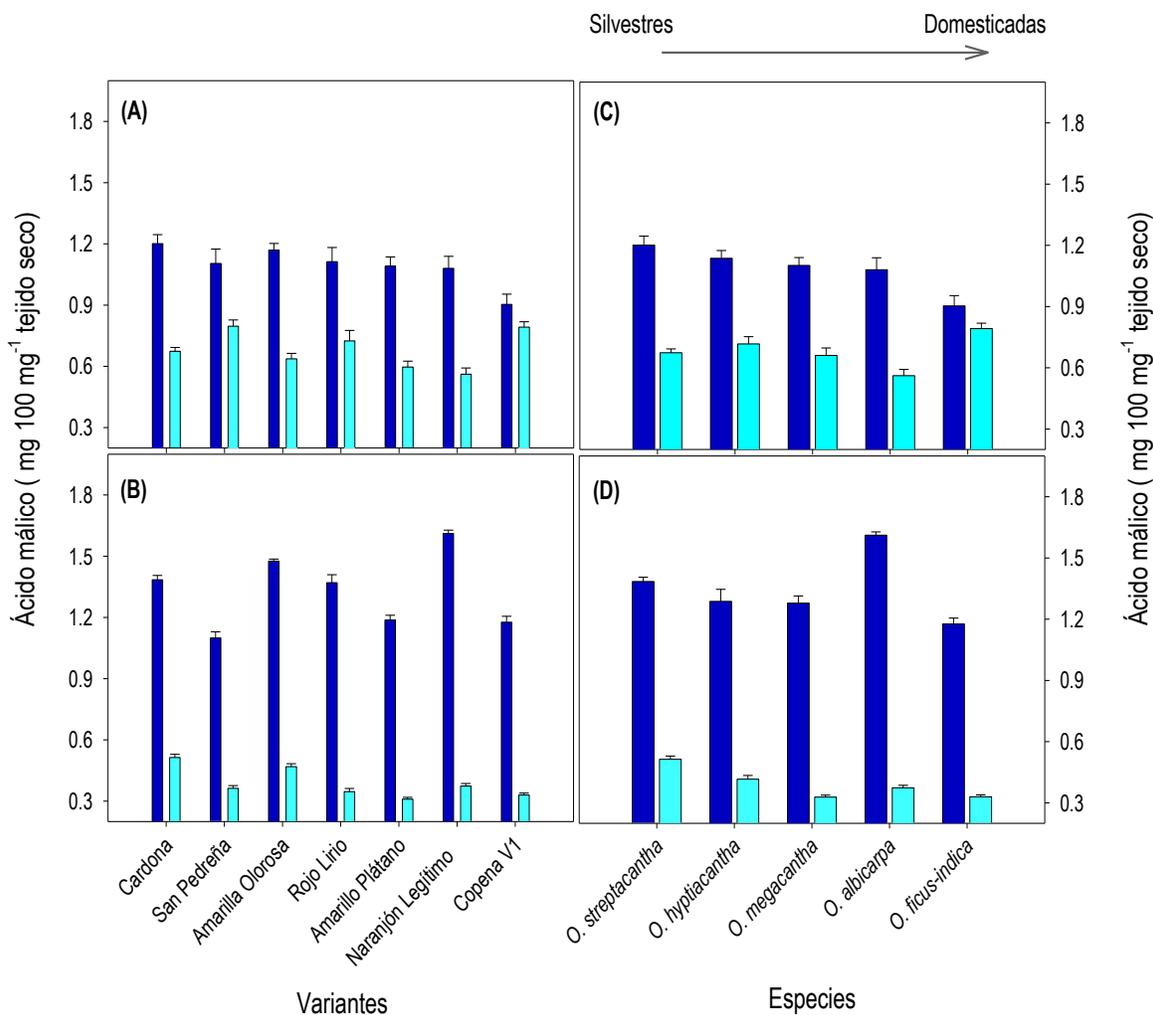


Figura 2.1. Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (□), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Especies

Las especies y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de ácido málico (Anexo B2). El contenido promedio de ácido málico a las 15 h fue ($0.51 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) 40.87 % del contenido a las 7 h ($1.24 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). El contenido de ácido málico fue dependiente de la especie, ya que disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) con el nivel de domesticación, en promedio de $0.944 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en la especie silvestre *O.*

streptacantha a $0.79 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$ en la de nivel mayor domesticación *O. ficus-indica* (Anexo B4).

El contenido de ácido málico también se modificó significativamente por la fase MAC y por la ausencia de riego. Con riego el contenido promedio del ácido a las 15 h representó 62.78 % respecto al amanecer y sólo 29.11 % en las plantas sin riego ($p \leq 0.05$). Este efecto fue diferente entre las especies. *Opuntia albicarpa*, una de las especies con nivel mayor de domesticación, mostró la diferencia mayor del contenido de ácido málico entre las 7 y las 15 h en ambas condicione hídricas; al amanecer el contenido era 2.2 veces mayor que en la tarde en los cladodios de las plantas con riego y 4.3 veces en los de las plantas sin riego (Figura 2.1 C-D).

El nivel de domesticación afectó el contenido de ácido málico en los cladodios en dependencia de la fase MAC y del Ψ_A del suelo. Con ambos Ψ_A del suelo a las 7 h las especies silvestres, *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, o ambas, presentaron contenido significativamente mayor ($p \leq 0.05$) del ácido que las especies con nivel mayor de domesticación, *O albicarpa*, *O. ficus-indica*, o ambas. Para las especies sin riego, al amanecer, los cladodios de las especies silvestres tenían 15.01 % más ácido málico en sus tejidos respecto a los de las especies domesticadas y un 35.76 % al atardecer (Figura 2.1 C-D).

2.5.2 Glucosa

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de glucosa (Anexo B1). El contenido promedio de glucosa aumentó 16.04 % a las 15 h ($7.64 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) respecto a las 7 h ($6.59 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), y disminuyó 19.01 % en reacción a la restricción del riego (7.86 a $6.37 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) (Anexo B3).

Con riego el contenido de glucosa entre las siete variantes, a las 7 h, fluctuó entre 4.94 y 9.19 $\text{mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Copena V1 y Cardona. En la misma condición hídrica, a las 15 h el contenido de glucosa incrementó ($p \leq 0.05$) en la mayoría de ellas, excepto en dos, y

fluctuó entre 4.90 y 10.07 mg 100 mg⁻¹, en Naranjón Legítimo y Cardona. En promedio el contenido de glucosa de las siete variantes a las 15 h fue 13.90 % mayor que a las 7 h (Figura 2.2 A).

Con la disminución del Ψ_A del suelo a -5.72 MPa, por la suspensión del riego, el contenido de glucosa disminuyó ($P \leq 0.05$), en las siete variantes en ambas horas de muestreo. En esta condición el contenido de glucosa a las 7 h varió entre 2.86 y 8.00 mg 100 mg⁻¹, y a las 15 h entre 3.83 y 8.58 mg 100 mg⁻¹ entre Copena V1 y Amarillo Plátano. Este monosacárido permaneció en concentraciones menores ($p \leq 0.05$) al amanecer respecto de la tarde. Así, con la restricción del riego, los cladodios de las siete variantes en la tarde contenían 18.74 % más glucosa que al amanecer (Figura 2.2 B).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de glucosa (Anexo B2). En promedio el contenido de glucosa incrementó ($p \leq 0.05$) 16.98 % a las 15 h, respecto a las 7 h (6.31 y 7.39 mg 100 mg⁻¹). Además, el Ψ_A del suelo disminuido por la falta de riego, en promedio provocó una reducción ($p \leq 0.05$) de 20.33 % del contenido de glucosa respecto a la condición con riego (7.62 y 6.07 mg 100 mg⁻¹) (Anexo B4). En *Opuntia ficus-indica* se registró una disminución promedio del 49 % en el contenido de glucosa con baja disponibilidad de agua respecto al riego regular (Figura 2.2 C-D).

El nivel de domesticación afectó ($p \leq 0.05$) el contenido de glucosa en los cladodios. El contenido de este azúcar fue significativamente menor en las especies más domesticadas, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (5.01 mg 100 mg⁻¹), respecto a la silvestre *O. streptacantha* (8.66 mg 100 mg⁻¹) (Anexo B4). Esto indica que en promedio, a las 7 h y a las 15 h en la condición con riego, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* presentaron 44.51 y 31.88 % menos glucosa que el promedio de las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*. Similarmente, en la condición con riego restringido los contenidos promedio de glucosa, en esas especies con nivel mayor de domesticación en la mañana y en la tarde fueron 45.38 y 34.58 % menores que en las especies silvestres (Figura 2.2 C-D).

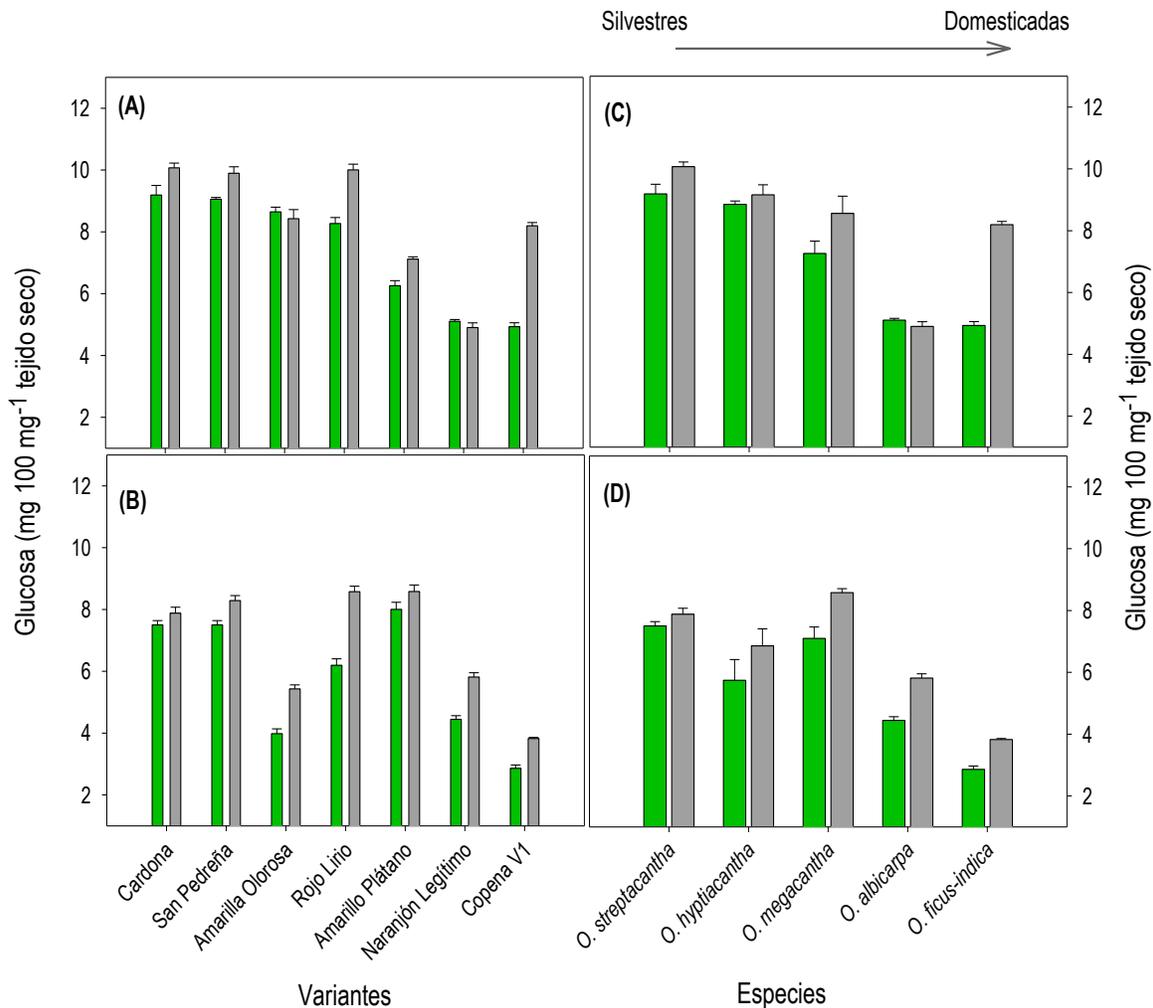


Figura 2.2. Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

2.5.3 Fructosa

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de fructosa (Anexo B1). El contenido promedio de fructosa a las 15 h fue (6.06 mg 100 mg⁻¹) 10.13 % mayor que a las 7 h (5.50 mg 100 mg⁻¹) y disminuyó ($p \leq 0.05$) 14.33 % con la restricción de riego (6.23 y 5.33 mg 100 mg⁻¹) (Anexo B3).

En suelo con Ψ_A de -0.17 MPa el contenido de fructosa en los cladodios de las siete variantes, a las 7 h, fluctuó entre 4.46 y 7.32 mg 100 mg⁻¹, en Naranjón Legítimo y Amarillo Olorosa. En la misma condición hídrica del suelo, el contenido de fructosa a las 15 h no cambió ($p = 0.05$), disminuyó o incrementó ($p \leq 0.05$) respecto a las 7 h en dependencia de la variante. A las 15 h el contenido de fructosa entre las variantes fluctuó entre 4.83 y 7.66 mg 100 mg⁻¹, Naranjón Legítimo y San Pedreña (Figura 2.3 A).

Con el Ψ_A de -5.72 MPa en el suelo el contenido de fructosa disminuyó significativamente solo en algunas variantes, en ambas fases MAC, respecto a la condición con riego. Las variantes sobresalientes en esta respuesta fueron Amarillo Olorosa y Copena V1, porque disminuyeron el contenido de fructosa entre 51.40 y 61.03 %. En general, las variantes por la restricción de riego fue aumentar del contenido de fructosa a las 15 h respecto a las 7 h. Pero, destacaron en esta respuesta Cardona, Amarillo Olorosa, Rojo Lirio y Amarillo Plátano porque el contenido de fructosa en la condición de riego fue igual en ambas horas de muestreo o era menor a las 15 h respecto al amanecer. Así, con la restricción del riego, el contenido mayor de fructosa en los cladodios de las siete variantes en la tarde promedió 20.99 % respecto al contenido al amanecer (Figura 2.3 A-B).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de fructosa (Anexo B2). El contenido promedio de fructosa fue 14.62 % mayor ($p \leq 0.05$) con disponibilidad de humedad en el suelo respecto a su restricción (5.13 y 6.01 mg 100 mg⁻¹) (Anexo B4). En *Opuntia ficus-indica* se registró una disminución promedio del 51 % en el contenido de glucosa con baja disponibilidad de agua respecto al riego regular (Figura 2.2 C-D).

En cada especie, el contenido promedio de fructosa no se alteró por la hora del día cuando las plantas se mantuvieron con riego, excepto en *O. streptacantha* que disminuyó, de 6.88 a 5.82 mg 100 mg⁻¹ a las 15 h respecto a las 7 h. La suspensión del riego tendió a aumentar el contenido de fructosa en los cladodios a las 15 h; en esta condición hídrica

el contenido varió entre 2.44 mg 100 mg⁻¹ y 6.64 mg 100 mg⁻¹ a las 7 h y entre 2.84 y 7.66 mg 100 mg⁻¹ a las 15 h (Figura 2.3 C-D).

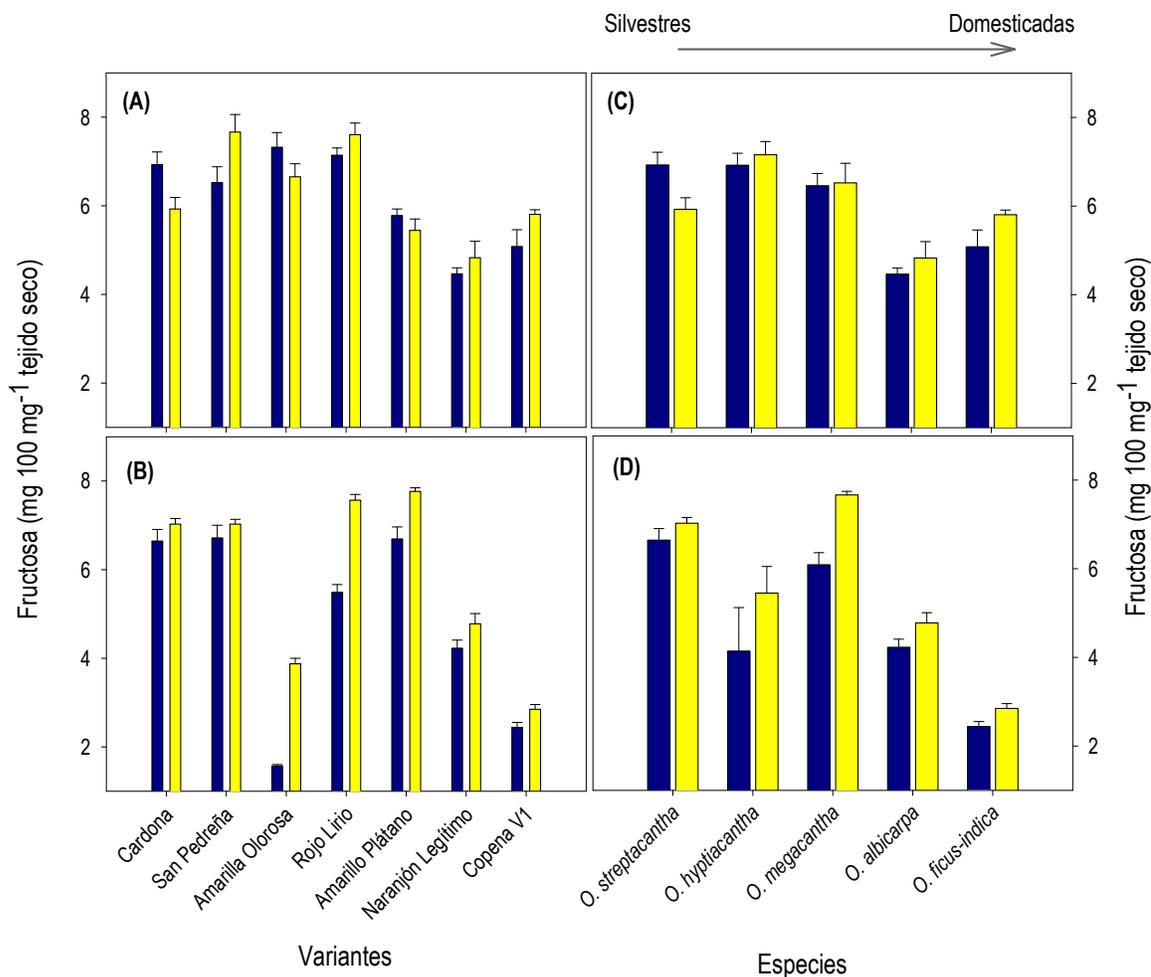


Figura 2.3. Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (□), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

En general, el nivel de domesticación afectó ($p \leq 0.05$) el contenido de fructosa en los cladodios en cada especie. El contenido menor se observó en las especies con grado mayor de domesticación (4.04 y 4.48 mg 100 mg⁻¹ en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*) y el mayor en una de las silvestres (6.63 mg 100 mg⁻¹ *O. streptacantha*) (Anexo 4). Pero, la

especie con nivel intermedio de domesticación estuvo fuera de la tendencia pues igualó a la silvestre (Anexo 4). Además, en promedio, en ambas condiciones hídricas, en la mañana, los tejidos de los cladodios de las especies con nivel mayor de domesticación, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, presentaron 34.18 % menos de la fructosa que contenían las especies silvestres, *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*; y en la tarde un 28.57 % (Figura 2.3 C-D).

2.5.4 Sacarosa

Variantes

Las variantes y el Ψ_A del suelo produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de sacarosa (Anexo B1). El contenido promedio de sacarosa fue similar en la mañana y en la tarde ($4.12 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y con la restricción del riego, disminuyó ($p \leq 0.05$) 22.20 % (3.61 y $4.64 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$). Además, las diferencias en el contenido promedio del disacárido entre las variantes fueron significativas ($p \leq 0.05$), con variación entre $3.69 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Rojo Lirio, y $4.39 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Amarillo Plátano (Anexo B3).

En suelo hidratado, por el riego, el contenido de sacarosa en los cladodios de cada una de las siete variantes a las 7 h fue similar ($p = 0.05$) al de las 15 h, excepto en Amarillo Plátano; esos contenidos fluctuaron entre 3.51 y $5.70 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Rojo Lirio y Amarillo Olorosa y Copena V1 (Figura 2.4 A). El Ψ_A de -5.72 MPa disminuyó ($p \leq 0.05$) el contenido de sacarosa, en ambas horas de muestreo, en cuatro de las siete variantes y en otras tres no tuvo efecto. En la condición de suelo con restricción de humedad, los contenidos del disacárido fluctuaron entre 2.06 y $4.77 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Copena V1 y San Pedreña y Cardona, a las 7 h y entre 2.34 y $4.41 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Copena V1 y Amarillo Plátano, a las 15 h (Figura 2.4 B).

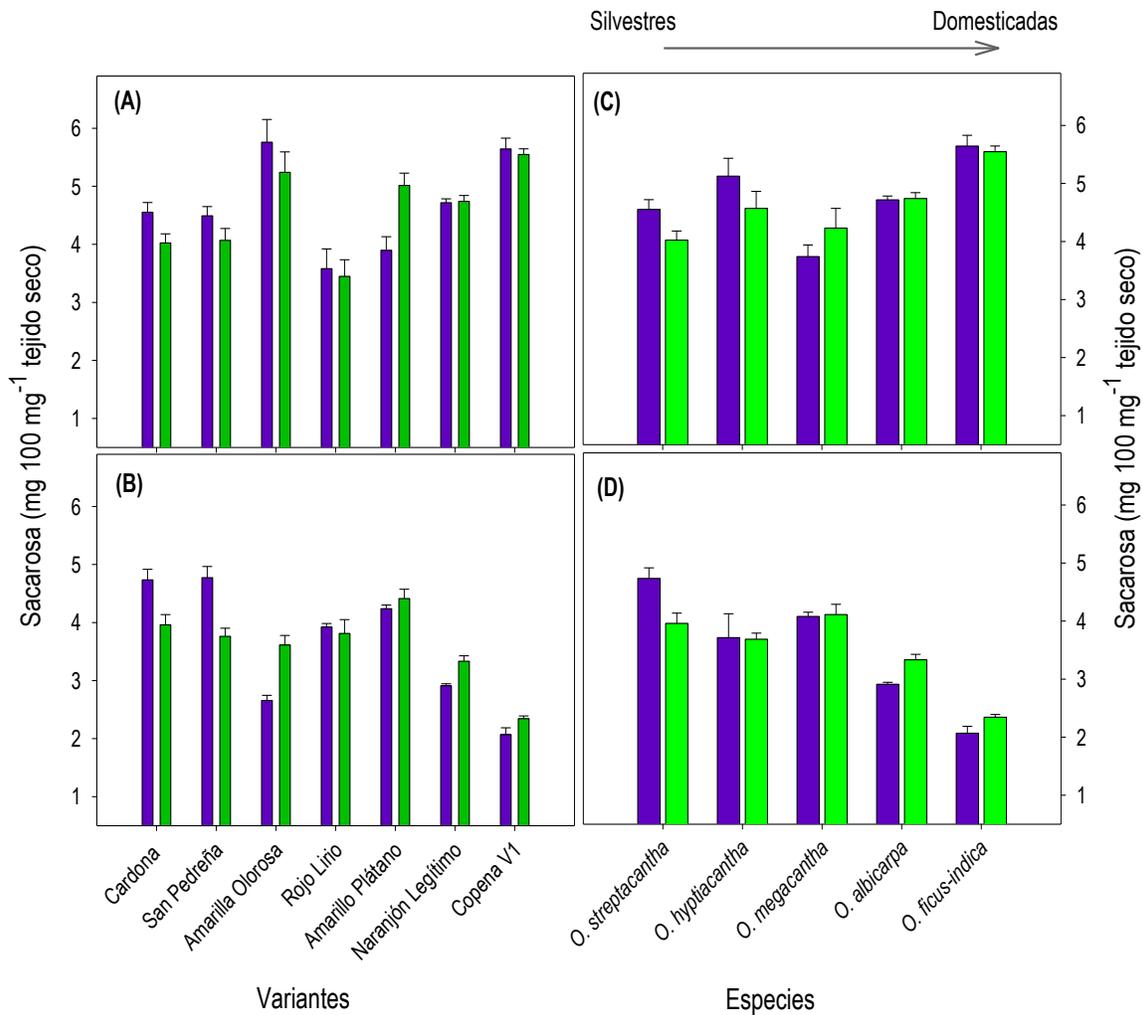


Figura 2.4. Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Especies

Las especies y el Ψ_A del suelo produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de sacarosa (Anexo B2). El contenido promedio de sacarosa fue similar ($p = 0.05$) en la mañana y la tarde (4.12 mg 100 mg⁻¹), con restricción del riego el grupo de especies presentó 25.79 % menos sacarosa que en la condición con riego (Anexo B4). *Opuntia*

ficus-indica registró una disminución promedio del 60.62 % en el contenido de sacarosa con baja disponibilidad de agua respecto al riego regular (Figura 2.2 C-D).

El efecto de la especie en el contenido del disacárido fue significativo ($p \leq 0.05$), las dos especies silvestres, *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, contenían (4.32 mg 100 mg⁻¹) 9.80 % más sacarosa que las dos especies con grado mayor de domesticación, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Anexo B4).

Las condiciones hídricas del suelo generaron tendencia opuesta en el contenido del disacárido respecto al gradiente de domesticación. La tendencia general del contenido de sacarosa en los cladodios de las plantas con riego, a las 7 y 15 h fue incrementar con el nivel de domesticación. En contraste, la suspensión del riego generó la tendencia opuesta. Con el Ψ_A de -0.17 MPa el contenido de sacarosa en los cladodios de la especie silvestre *O. streptacantha* fue 4.55 y 4.02 mg 100 mg⁻¹ al amanecer y en la tarde y en los de *O. ficus-indica* el contenido fue 24.0 y 38.0 % mayor que en la especie silvestre. Al contrario, con el Ψ_A de -5.72 MPa la especie silvestre presentó el doble ($p \leq 0.05$) de sacarosa (4.74 y 3.96 mg 100 mg⁻¹) respecto a los cladodios de la especie con nivel mayor de domesticación, *O. ficus-indica* (Figura 2.4 C-D).

2.5.5 Almidón

Variantes

Las variantes y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de almidón (Anexo B1). El contenido promedio de almidón incrementó ($p \leq 0.05$) en un 45.41 % en la tarde respecto a las 7 h (1.17 y 1.70 mg 100 mg⁻¹), las diferencias en el contenido promedio de almidón entre las variantes fueron significativas ($p \leq 0.05$), esos contenidos mostraron un gradiente ascendente entre 1.13 y 1.95 mg 100 mg⁻¹, en Cardona y Copena V1 (Anexo B3; Figura 2.5 A-B).

Además, el contenido de almidón en las variantes incrementó ($p \leq 0.05$) a las 15 h respecto a las 7 h, con excepción de Cardona y San Pedreña en la condición con riego. En promedio, el incremento en las siete variantes representó 16.09 y 69.63 % en la

condición con riego y sin él. Pero, individualmente Naranjón Legítimo y Copena V1 en la condición con riego, estas dos variantes más Cardona y Amarillo Plátano en la condición sin riego destacaron por el incremento del contenido de almidón a las 15 h, respecto a las 7 h; ya que, el aumento en estas variantes representó entre 37.03 y 98.05 % (Figura 2.5 A-B).

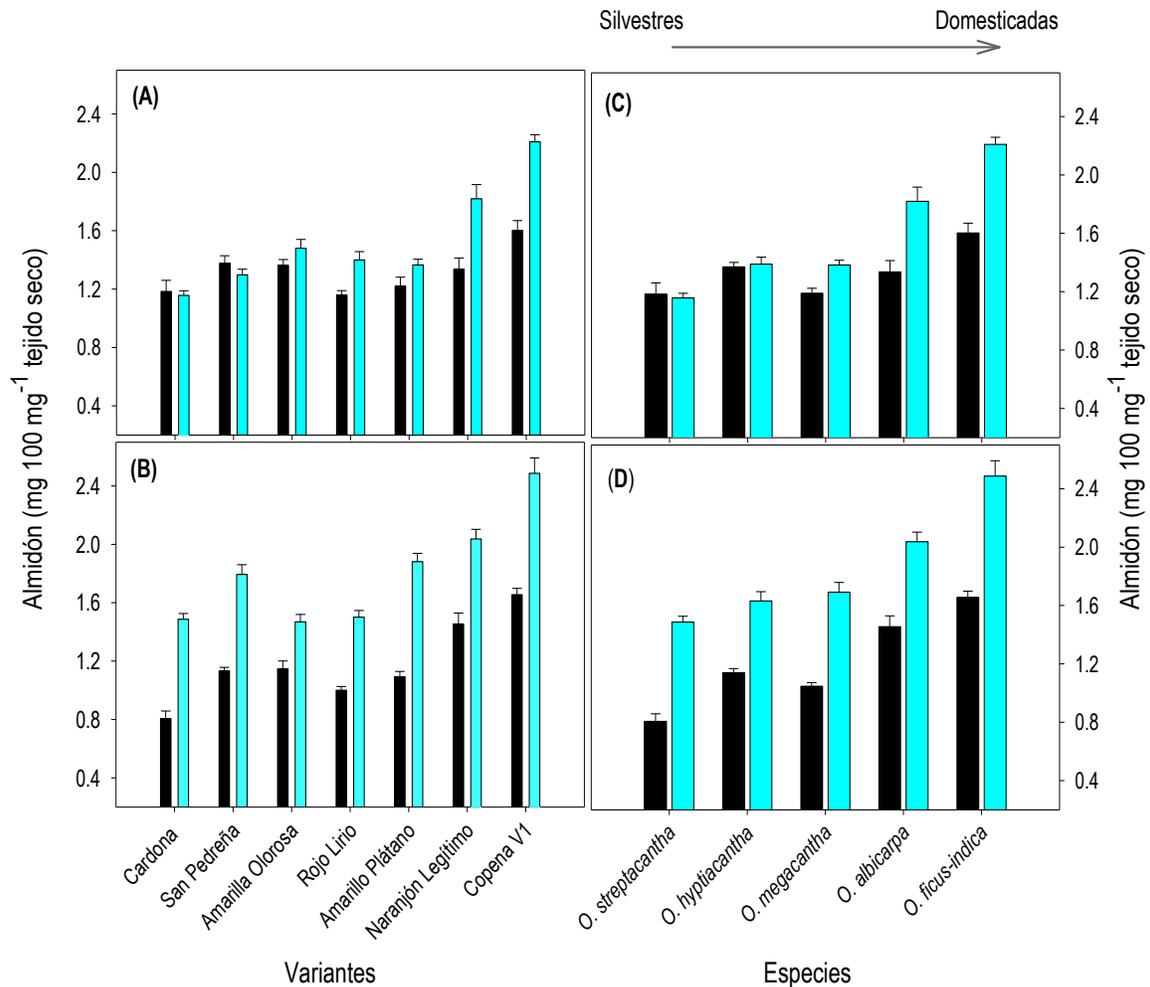


Figura 2.5. Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Especies

Las especies y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de almidón (Anexo B2). El contenido promedio de almidón incrementó ($p \leq 0.05$) en la tarde (1.76 mg 100 mg⁻¹) respecto a la mañana (1.19 mg 100 mg⁻¹) (Anexo B4).

El contenido de almidón varió significativamente entre las especies, y se ordenaron en un gradiente ascendente, en el que las especies silvestres, como *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, y las domesticadas, como *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, presentaron los contenidos extremos (Anexo B4; Figura 2.5 C-D). Los contenidos del polisacárido en las especies silvestres (1.13 y 1.35 mg 100 mg⁻¹) representaron únicamente 63.07 y 75.15 % de los contenidos promedio (1.63 y 1.95 mg 100 mg⁻¹) de almidón en las especies con nivel mayor de domesticación (Figura 2.5 C-D).

El contenido de almidón en los cladodios en las plantas con riego de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* no se modificó a las 15 h respecto a las 7 h. Pero en las otras tres especies en la condición de riego y en las cinco especies en la condición de suspensión de riego el contenido de almidón incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) a las 15 h respecto a las 7 h. Los incrementos fueron significativamente mayores con la restricción del riego. Esos incrementos, representaron entre 56 y 105 % del contenido de almidón a las 15 h (Figura 2.5 C-D).

2.5.6 Fenoles totales

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido fenoles totales (Anexo B1). El contenido promedio de fenoles totales disminuyó en la tarde (17.44 $\mu\text{mol g}^{-1}$), respecto a las 7 h (20.26 $\mu\text{mol g}^{-1}$) e incrementó ($p \leq 0.05$) por la restricción del riego (de 18.07 a 19.37 $\mu\text{mol g}^{-1}$). Además, las diferencias en el contenido promedio de estos compuestos entre las variantes fueron significativas ($p \leq 0.05$), entre 17.20 $\mu\text{mol g}^{-1}$, en Copena V1, y 20.01 $\mu\text{mol g}^{-1}$, en San Pedreña (Anexo B3).

Entre las variantes el contenido de fenoles totales en los cladodios de las plantas con y sin riego mostró variaciones significativas ($p \leq 0.05$). Las diferencias también se observaron por efecto de la fase MAC. En ambas condiciones hídricas el contenido de fenoles totales fue significativamente menor a las 15 h respecto a las 7 h. Con riego, a las 7 h los contenidos variaron entre $17.29 \mu\text{molas g}^{-1}$, en Amarillo Plátano y Copena V1, y $19.80 \mu\text{molas g}^{-1}$, en Cardona, San Pedreña, Amarilla Olorosa y Rojo Lirio. En la misma condición hídrica, a las 15 h el contenido disminuyó significativamente en la mayoría de las variantes, la disminución representó entre 5.52 %, en Copena V1, y 20 %, en Cardona (Figura 2.6 A).

Las variaciones en el contenido de fenoles totales en los cladodios de las plantas sin riego, a las 7 h, no fueron significativamente diferentes ($p = 0.05$) entre las variantes; pero, a las 15 h el contenido disminuyó significativamente, en proporciones diferentes, entre las siete variantes. A las 15 h los fenoles representaron entre 9.0 y 30.4 %, respecto a los contenidos a las 7 h (Figura 2.6 B).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles totales (Anexo B2). El contenido promedio de fenoles totales disminuyó ($p \leq 0.05$) en la tarde ($17.19 \mu\text{molas g}^{-1}$) respecto a la mañana ($20.24 \mu\text{molas g}^{-1}$). El contenido promedio de estos compuestos incrementó ($p \leq 0.05$) con la restricción del riego, respecto al riego regular (17.84 y $19.30 \mu\text{molas g}^{-1}$) (Anexo B4).

Entre las especies, el contenido de fenoles totales varió significativamente ($p \leq 0.05$). Ellas se ordenaron en un gradiente opuesto al nivel de domesticación. Las especies silvestres, *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, presentaron los contenidos mayores de fenoles totales ($19.50 \mu\text{molas g}^{-1}$ en promedio) y la domesticada *O. ficus-indica*, presentó el contenido menor ($17.20 \mu\text{molas g}^{-1}$) (Anexo B4).

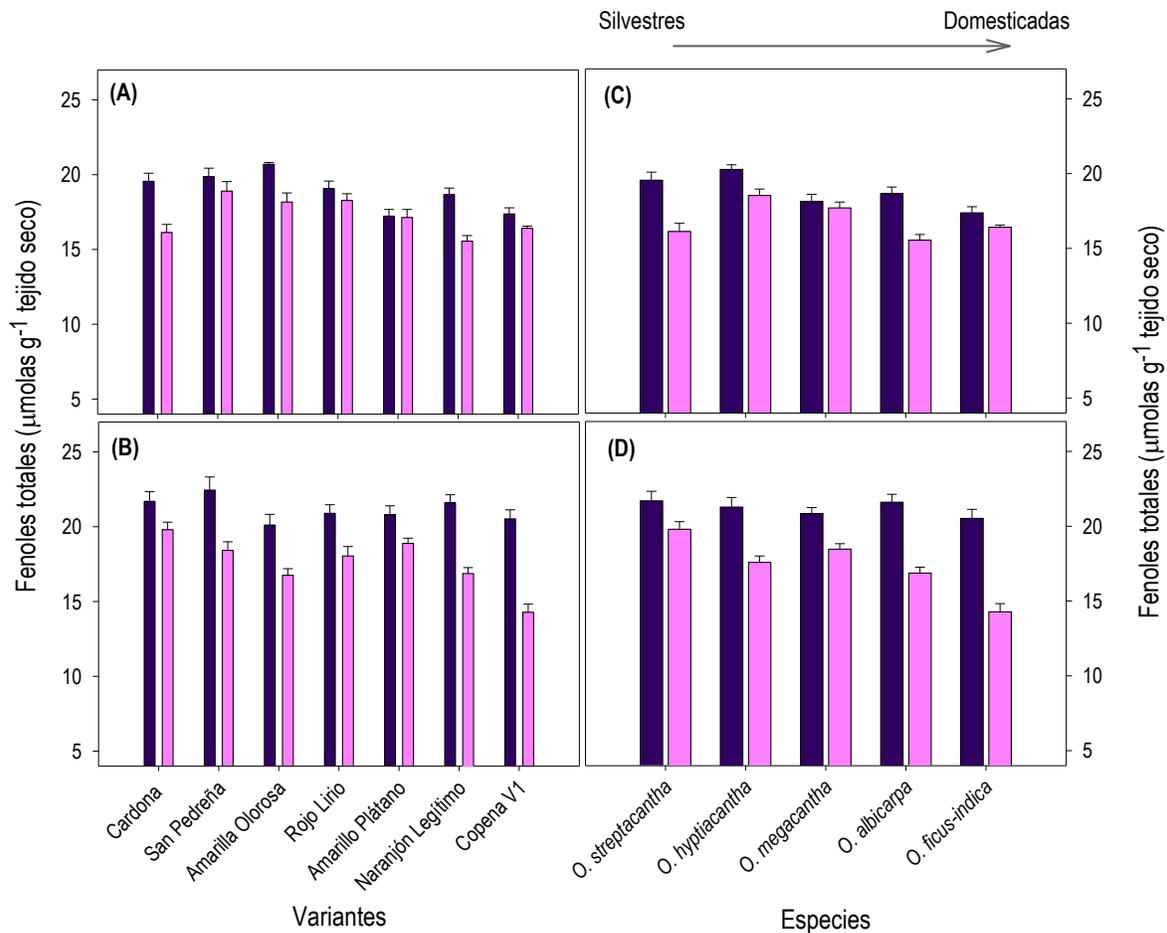


Figura 2.6. Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (□), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) ($n=6$) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Además, las diferencias en el contenido de fenoles totales entre las especies fueron significativas en la mañana, en la tarde y con ambos Ψ_A en el suelo. En general, los cambios en el contenido de estos compuestos se relacionaron con el nivel de domesticación. Las especies con nivel mayor de domesticación y con riego presentaron menos fenoles totales a las 7 h y las silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* presentaron 13 % más fenoles totales que *O. ficus-indica*. También con riego, a las 15 h las especies silvestres presentaron más fenoles que las domesticadas; pero, en esta

condición destacaron la silvestre *O. hyptiacantha* y la domesticada *O. albicarpa*, en ellas la diferencia representó 16 % (Figura 2.6 C).

La diferencia ($p \leq 0.05$) mayor en el contenido de fenoles totales se observó a las 15 h, en los cladodios de las plantas sin riego; entre las especies silvestre y domesticada, *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. Entre estas la diferencia alcanzó 28 % (Figura 2.6 D).

2.5.7 Aminoácidos libres

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de aminoácidos libres (Anexo B1). El contenido promedio de aminoácidos libres disminuyó ($p \leq 0.05$) en la tarde ($0.075 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), respecto a las 7 h ($0.085 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y por la restricción del riego (de 0.087 a $0.076 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$); además, las diferencias en el contenido promedio de aminoácidos libres entre las variantes fueron significativas ($p \leq 0.05$) y variaron entre $0.063 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Amarillo Plátano y Copena V1, y $0.133 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Cardona (Anexo B3).

La variación del contenido de aminoácidos libres entre las variantes con y sin riego, fue entre 0.054 y $0.173 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$. Pero, con riego Cardona, San Pedreña, Amarillo Plátano y Naranjón Legítimo disminuyeron ($p \leq 0.05$) 30 % su contenido de aminoácidos libres a las 15 h, respecto a las 7 h; y con la restricción de humedad la disminución representó 25 %, únicamente en Amarillo Plátano y Naranjón Legítimo. Las otras variantes no mostraron modificación ($p = 0.05$) entre las horas del día (Figura 2.7 A-B).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de aminoácidos libres (Anexo B2). El contenido promedio de aminoácidos libres disminuyó ($p \leq 0.05$) 13.46 % en la tarde ($0.078 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) respecto a la mañana ($0.090 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), y 13.12 % con la restricción del riego, respecto al riego regular (de 0.090 a $0.078 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) (Anexo B4).

Entre las especies, el contenido de aminoácidos libres varió significativamente ($p \leq 0.05$). Ellas se ordenaron en un gradiente opuesto al nivel de domesticación. La especie silvestre *O. streptacantha* presentó los contenidos mayores ($0.134 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y la domesticada *O. ficus-indica* presentó el contenido menor ($0.063 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$); aunque, *O. albicarpa* con contenido alto de estos compuestos estuvo fuera de esta tendencia (Anexo B4).

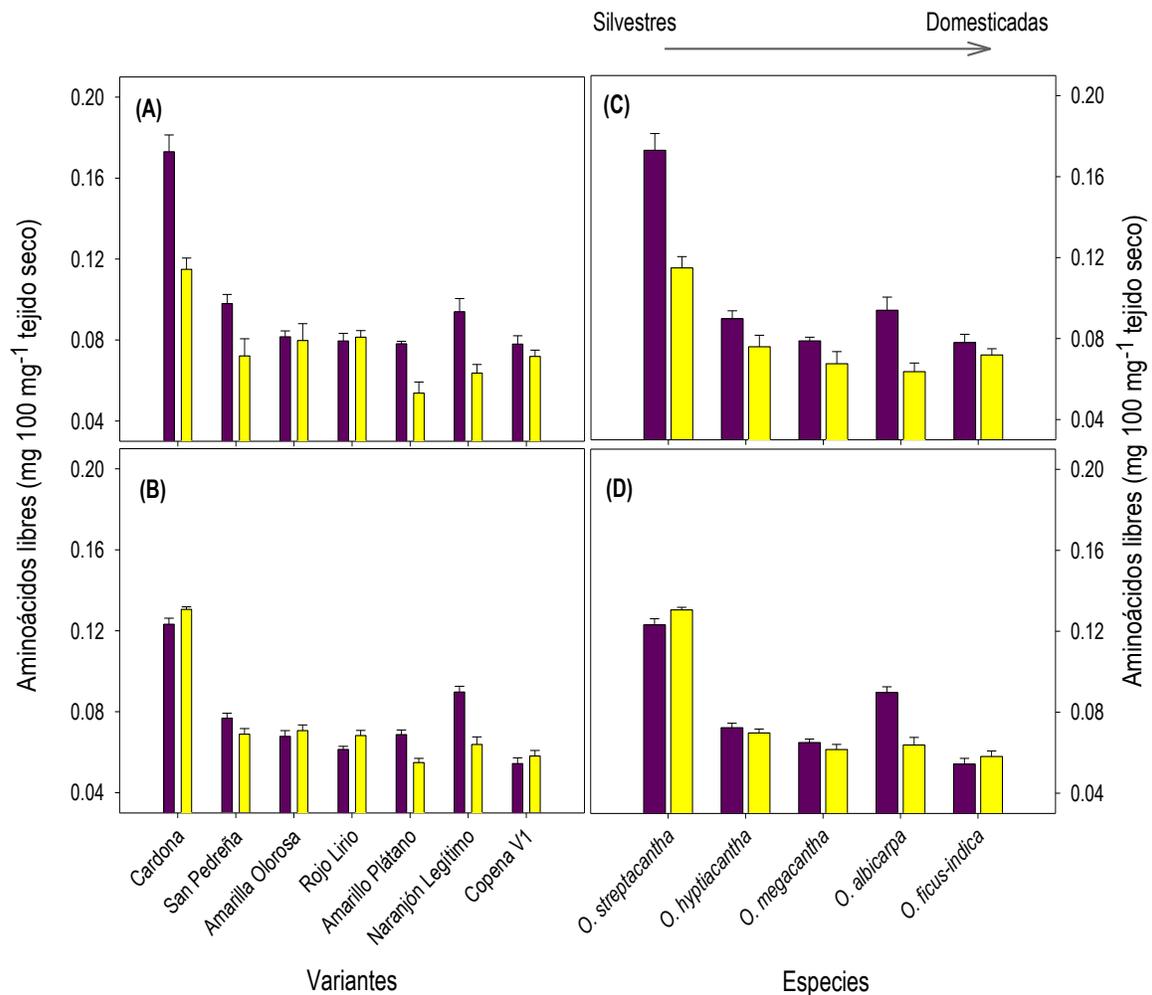


Figura 2.7. Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (□), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) ($n=6$) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Con el Ψ_A de -0.17 MPa en el suelo el contenido de aminoácidos libres en las especies disminuyó ($p \leq 0.05$) a las 15 h, respecto a las 7 h. La disminución en *O. streptacantha* destacó, pues representó 33.58 % de la concentración matutina y *O. ficus-indica* destacó porque su disminución no fue significativa (Figura 2.7 C). El contenido de estos compuestos tendió a disminuir en algunas especies con la suspensión del riego, respecto a la condición con riego; pero el efecto sobresaliente fue en el contenido vespertino porque igualó al diurno, con excepción de *O. albicarpa* que se mantuvo bajo (Figura 2.7 D).

Los contenidos de aminoácidos libres en los cladodios de la especie con nivel mayor de domesticación representaron entre 44.30 y 52.05 % de los contenidos en *O. streptacantha* con y sin riego (Figura 2.7 C-D).

2.5.8 Proteína soluble

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de proteína soluble (Anexo B1). El contenido promedio de proteína incrementó 54.67 % en la tarde ($0.72 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), respecto a la mañana ($0.47 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) y disminuyó ($p \leq 0.05$) por la restricción del riego. Además, las diferencias en el contenido de proteína soluble entre las variantes, fueron significativas ($p \leq 0.05$) y la variación se observó entre $0.51 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$, en Copena V1, y $0.64 \text{ mg } 100 \text{ m g}^{-1}$, en un grupo de tres variantes, Amarilla Olorosa, Amarillo Plátano y Naranjón Legítimo (Anexo B3).

Con el Ψ_A de -0.17 MPa el contenido de proteína soluble en las siete variantes fue ($p \leq 0.05$) mayor a las 15 h, respecto a las 7 h. Esos incrementos fueron diferentes entre las variantes y representaron entre 26 y 62 % de los contenidos matutinos. En el Ψ_A de -5.72 MPa en el suelo el contenido de proteína soluble disminuyó en cantidades variables en las siete variantes, en ambas horas del día, respecto a -0.17 MPa. Pero los contenidos de proteína a las 15 h con el Ψ_A de -5.72 MPa en el suelo también fueron superiores respecto al amanecer. Así, el contenido de proteína de las siete variantes en los dos estados hídricos, fue mayor ($p \leq 0.05$) al atardecer en comparación con la mañana. Pero

en este caso de la suspensión del riego Rojo Lirio, Naranjón Legítimo y Copena V1 destacaron por el aumento de más del doble de proteína soluble (Figura 2.8 A-B).

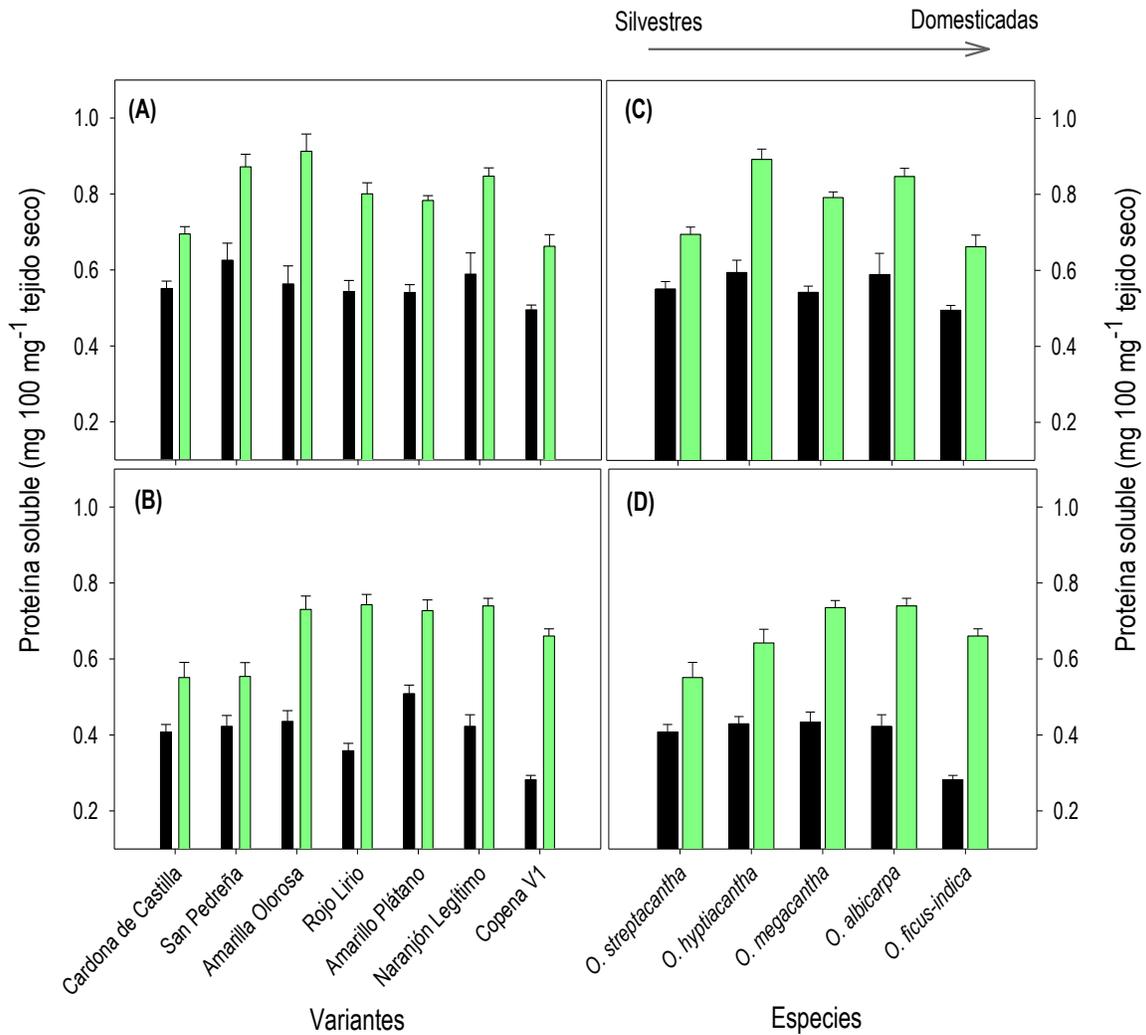


Figura 2.8. Contenido de proteína soluble (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) (n=6) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de proteína soluble (Anexo B2). El contenido promedio de proteína soluble incrementó ($p \leq 0.05$) 54.84 % en la tarde ($0.71 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) respecto a la mañana ($0.46 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), y disminuyó 20.35 % con la restricción del riego, respecto al riego regular (de 0.53 a $0.67 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) (Anexo B4).

Entre las especies, el contenido de proteína soluble varió significativamente ($p \leq 0.05$), la comparación de esos contenidos formó dos grupos sin relación con su nivel de domesticación; uno con las especies con contenido alto de proteína (en promedio $0.62 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$), con la silvestre *O. hyptiakantha*, *O. megakantha* con domesticación intermedia, la domesticada *O. albicanpa*, y otro grupo con la silvestres *O. streptakantha* y la domesticada *O. ficus-indica* (con promedio $0.52 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) (Anexo B4).

Con el Ψ_A de -0.17 MPa en el suelo el contenido de proteína soluble incrementó ($p \leq 0.05$) en cada especie a las 15 h, respecto al amanecer. El incremento fue diferente entre las especies; pero destacaron las silvestres *O. streptakantha* y *O. hyptiakantha* por su incremento menor y mayor, de 26.03 y 50.05 %, entre las fases (Figura 2.8 C).

Los contenidos de proteína soluble en las cinco especies con la restricción de humedad fueron significativamente menores que con riego, principalmente a las 7 h; este fue el caso de *O. ficus-indica*, con 50 % de disminución (Figura 2.8 C-D). El contenido de proteína soluble no mostró alguna tendencia relacionada con el nivel de domesticación; con excepción de los cladodios cosechados a las 15 h, de las plantas con suspensión de riego. En estas condiciones la especie silvestre *O. streptakantha* presentó 25 % menos proteína que la especie domesticada *O. albicanpa* (Figura 2.8 D).

2.5.9 Actividad de invertasa ácida

Variantes

Las variantes, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa ácida (Anexo B1). La actividad enzimática disminuyó ($p \leq 0.05$)

15.16 % en la tarde (5.02 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$), respecto a la mañana (5.91 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y aumentó ($p \leq 0.05$) 4.05 % por la restricción del riego; además, las diferencias entre la actividad de invertasa ácida promedio menor, 4.84 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en Copena V1, y la mayor, 6.22 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en Cardona fueron significativas ($p \leq 0.05$) (Anexo B3).

La actividad de invertasa ácida varió ($p \leq 0.05$) entre las variantes en ambos Ψ_A del suelo y ambas horas del día. Con riego la actividad fue mayor ($p \leq 0.05$) 24.66 % a las 7 h respecto a las 15 h, en las variantes. A las 7 h la variante Amarillo Plátano presentó la actividad menor (5.18 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y un grupo de cuatro variantes la mayor (en promedio 6.5 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$). En contraste, en la misma condición hídrica a las 15 h un grupo de cinco variantes mostró la actividad menor (en promedio 4.04 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y otro grupo con las dos variantes restantes presentó la actividad enzimática mayor (5.94 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Figura 2.9 A).

Con el Ψ_A de -5.72 MPa en el suelo la actividad de invertasa ácida fue mayor ($p \leq 0.05$) a las 7 h respecto a las 15 h, en las variantes. En esta condición hídrica dos variantes mostraron los niveles menores de actividad (Naranjón Legítimo y Copena V1), en promedio 4.82 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Figura 2.9 B).

Especies

Las especies y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa ácida (Anexo B2). La actividad de invertasa ácida disminuyó ($p \leq 0.05$) 16.09 % en la tarde (4.97 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) respecto a la mañana (5.92 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$), y entre las especies, la actividad de invertasa ácida varió significativamente ($p \leq 0.05$), ellas se ordenaron en un gradiente opuesto al nivel de domesticación. La especie silvestre *O. streptacantha* presentó la actividad mayor (6.22 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y la domesticada *O. ficus-indica* presentó la actividad menor (4.84 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Anexo B4).

La actividad de invertasa ácida fue mayor ($p \leq 0.05$) a las 7 h respecto a las 15 h en ambos Ψ_A , en las cinco especies y disminuyó con el nivel de domesticación de las especies, con excepción de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con riego a las 7 h; en estas

condiciones ambas especies tuvieron actividad similar a las silvestres ($6.5 \text{ nmolas mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 2.9 C).

Con la restricción del riego, la actividad de invertasa ácida a las 7 y 15 h en la especie con nivel mayor de domesticación fue (4.84 y $4.35 \text{ nmolas mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) 25 % menor que en la silvestre (Figura 2.9 D).

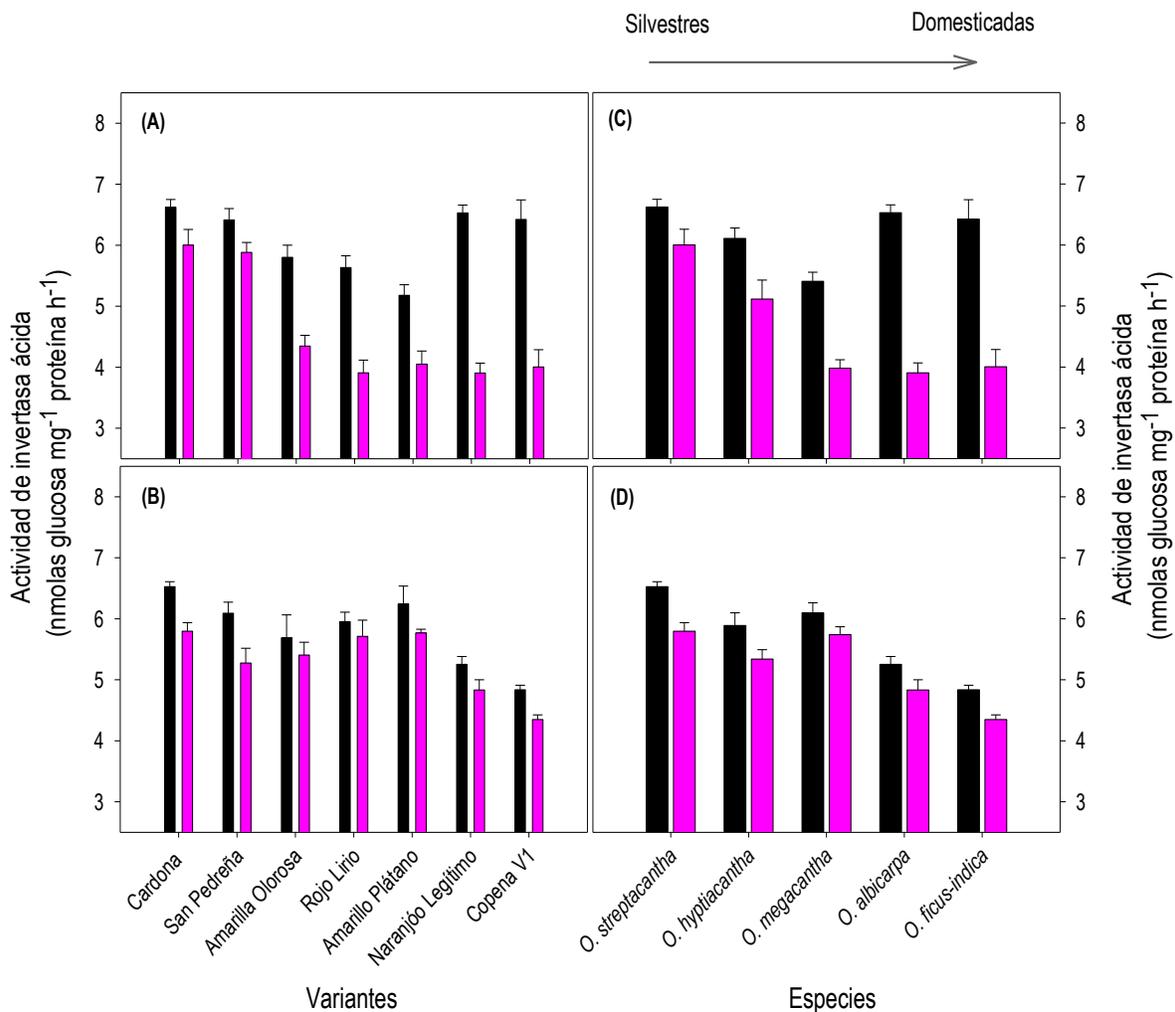


Figura 2.9. Actividad de invertasa ácida (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) ($n=6$) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

2.5.10 Actividad de invertasa neutra

Variantes

Las variantes y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa neutra (Anexo B1). La actividad de invertasa neutra incrementó ($p \leq 0.05$) 10.34 % a las 15 h (5.82 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$), respecto a las 7 h (5.27 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y se igualó (5.55 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en promedio) en ambos Ψ_A del suelo. Además, la actividad de invertasa neutra fue diferente ($p \leq 0.05$) en todas las variantes, con valores que fluctuaron entre 4.87 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en Amarillo Plátano, y 6.04 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en San Pedreña (Anexo B3).

Con riego, la actividad de invertasa neutra fue similar ($p = 0.05$) en cada variante a ambas horas del día (de 5.49 a 6.05 y 5.69 a 6.25 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$), excepto Amarilla Olorosa y Amarillo Plátano que disminuyó a las 15 h, respecto a las 7 h. Además, en esta condición hídrica las diferencias entre variante no fueron significativas; sólo Amarillo Plátano mostró actividad (4.37 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) menor ($p \leq 0.05$) respecto a las otras seis variantes (Figura 2.10 A). En contraste, la restricción de riego incrementó ($p \leq 0.05$) la actividad de invertasa neutra en cada variante a las 15 h, respecto a las 7 h y (Figura 2.10 B).

Especies

Las especies, el Ψ_A del suelo y fase MAC produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa neutra (Anexo B2). La actividad de invertasa neutra en el grupo de especies incrementó ($p \leq 0.05$) 11.65 % a las 15 h (5.83 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) respecto a la mañana (5.23 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$), y disminuyó ($p \leq 0.05$) 3.64 % con la restricción del riego respecto al riego regular (5.45 y 5.65 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en promedio) (Anexo B4).

Entre las especies la actividad de invertasa neutra varió significativamente ($p \leq 0.05$), la variación mostró cierto orden relacionado con gradiente de domesticación. Ambas especies silvestres presentaron las actividades mayores (5.75 y 5.95 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) y ambas domesticadas presentaron menos actividad (5.31 y 5.44 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$); pero, la especie *O. megacantha*, con nivel intermedio de domesticación, estuvo fuera de la tendencia, con la actividad enzimática menor entre las cinco especies (Anexo B4).

En el Ψ_A de -0.17 MPa la actividad de invertasa neutra fue similar ($p = 0.05$) en cada especie a las 7 h (5.63 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en promedio) respecto a las 15 h (5.55 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en promedio), salvo *O. ficus-indica*, con 9.52 % actividad mayor. Además, con ese Ψ_A sólo *O. megacantha* difirió de las otras especies, por su actividad de invertasa neutra hasta 20 % menor ($p \leq 0.05$) (Figura 2.10 C).

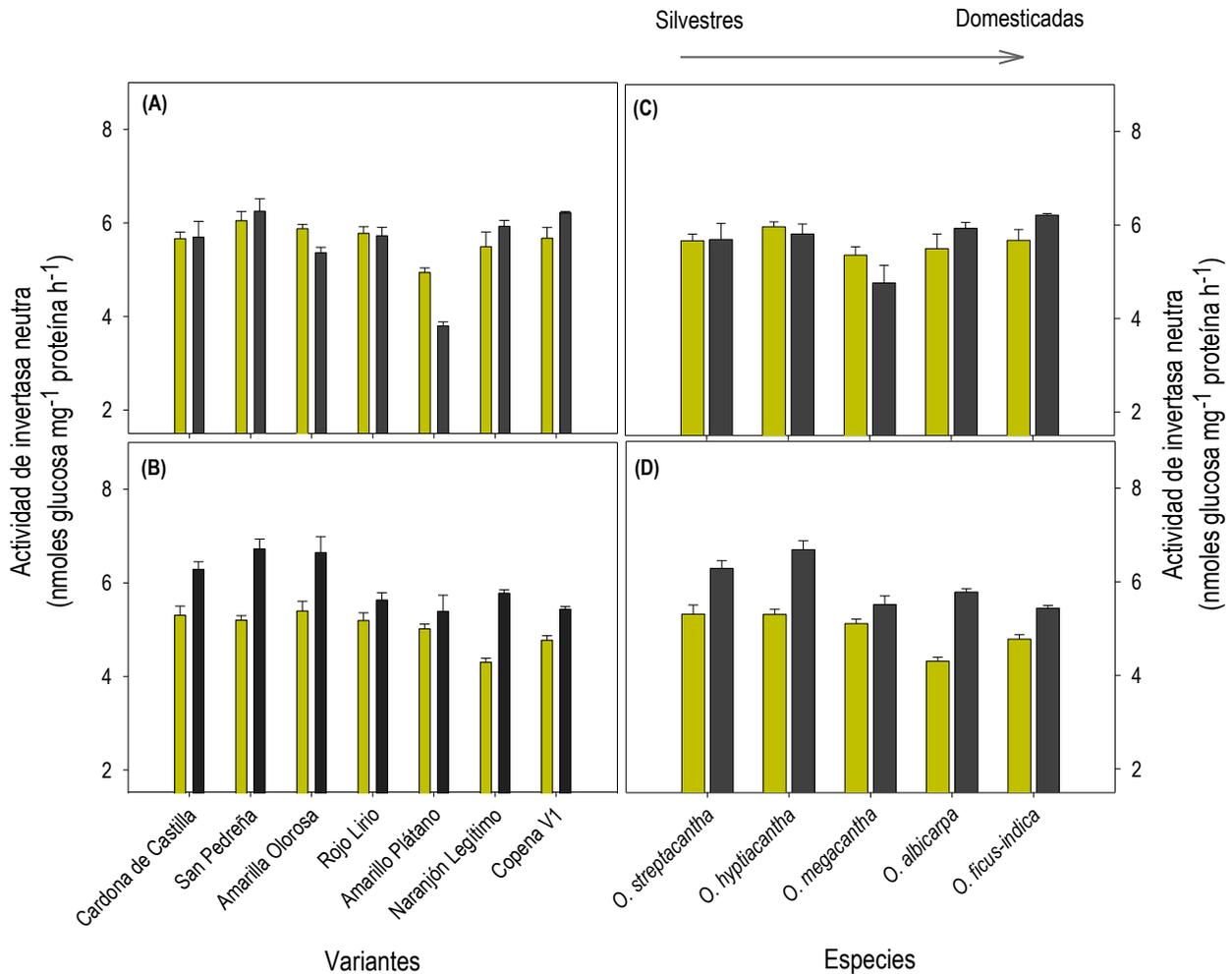


Figura 2.10. Actividad de invertasa neutra (+ e.e.) en cladodios de variantes (A, B) y especies (C, D) de *Opuntia* a las 7 h (■) y 15 h (■), cultivadas en invernadero, con riego (Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa) (A, C) y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (B, D) ($n=6$) (* 7 h, final de fase I de MAC; 15 h, fase III de MAC).

Con la restricción del riego, la actividad de invertasa neutra a las 15 h incrementó ($p \leq 0.05$) un 19.80 % respecto a las 7 h en las cinco especies y sólo a las 7 h la actividad de invertasa neutra promedio fue menor (11.93 %) en las cinco especies, respecto a la condición con riego (Anexo B4; Figura 2.10 D). Con la restricción del riego, la actividad de invertasa neutra disminuyó con el nivel de domesticación de las especies en ambas fases MAC, en donde *O. ficus-indica* registro 7.91 y 34.37 % menos actividad enzimática que de las especies silvestres en ambas fases MAC (Figura 2.10 D).

2.6 DISCUSIÓN

La caída en el contenido de ácido málico en los tejidos de los cladodios, respecto al amanecer, independientemente del Ψ_A en el suelo, es típica de las plantas MAC (Corrales-García *et al.*, 2004) y se presentó en las cinco especies independientemente de su nivel de domesticación. La caída en el contenido de ácido en la tarde coincidió con la que observaron García-Nava *et al.* (2015) en 15 variantes de cinco especies de *Opuntia*, después de 60 d sin riego en invernadero. La acumulación nocturna de ácido málico, que permanece hasta el amanecer, es resultado de la fijación de CO_2 catalizada por la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPCasa) en las plantas MAC (Borland *et al.*, 2014; Nelson y Sage, 2008; Ventura-Aguilar *et al.*, 2017).

Con el Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa (generado por la restricción de riego) el contenido de ácido málico incrementó (24 % en promedio) en las cinco especies al amanecer, respecto al riego regular. El aumento en la fijación nocturna de CO_2 se ha documentado en especies MAC constitutivas, como *Opuntia*, como respuestas a la sequía; ese aumento se refleja en el incremento del contenido de ácido málico, en las primeras horas del día (Dodd *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2008). En contraste, la disminución del contenido de ácido málico en la tarde se acentuó como resultado de la restricción del riego (en promedio 50 % menos que con riego) en las cinco especies. Este efecto puede resultar del incremento en la descarboxilación que mitiga la pérdida de agua. En las plantas MAC los estomas se cierran al iniciar el periodo con luz, el intercambio de gases con el ambiente y la salida de vapor de agua disminuyen, la descarboxilación del malato en el citosol inicia y el CO_2 así liberado es re-fijado por la ribulosa-1,5-bisfosfato

carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) en el ciclo de Calvin (Taybi *et al.*, 2002; Herrera, 2009). El déficit hídrico aumenta la actividad y cantidad de las principales descarboxilasas en las especies MAC y la descarboxilación de los ácidos orgánicos es mayor durante el día; esta se correlaciona positivamente con la actividad nocturna aumentada del metabolismo ácido crasuláceo (Borland *et al.*, 1998).

Durante el día, al agotarse el ácido orgánico, las concentraciones internas de CO₂ disminuyen y los estomas se abren nuevamente (Drennan y Nobel, 2000; Borland *et al.*, 2014). Si el contenido de ácido es bajo, como el que presentaron los cladodios a las 15 h con la restricción del riego, los estomas puede permanecerán abiertos más tiempo, respecto a las plantas con Ψ_A en el suelo de -0.17 MPa; por lo que, en esta condición la fijación de CO₂ puede incrementar, junto con la acumulación nocturna y al amanecer de ácido málico. *Opuntia* y otras especies tipo MAC fijan CO₂ casi exclusivamente en la fase I (18:00 a 6:00 h) incluso con alta disponibilidad de humedad (Osmond, 1978; Nobel, 1988).

La asimilación de C en *Opuntia* se estima mediante la acumulación nocturna del ácido málico (Scalisi *et al.*, 2016). *Opuntia ficus-indica* presentó acumulación menor de ácido málico (al amanecer con y sin riego), incluso en la tarde con restricción del riego, respecto a las especies silvestres y con nivel intermedio de domesticación. Este resultado puede indicar indirectamente la disminución de asimilación nocturna de CO₂ como resultado de la domesticación, su adaptación a los ambientes antrópicos y modificación de la dinámica de consumo y exportación de fotoasimilado dirigidas principalmente al crecimiento. En plantas MAC la fijación nocturna del CO₂ a través de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), utiliza PEP como sustrato, formado a partir de hidrólisis nocturna de los carbohidratos, con la formación de ácido málico como producto final (Borland *et al.*, 2011; Cushman *et al.*, 2015). Esto concuerda con los contenidos significativamente menores de glucosa y fructosa al amanecer y en la tarde, en ambos Ψ_A en el suelo y de sacarosa con -5.72 MPa para el disacárido en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* que son las especies con nivel mayor de domesticación. Además, la acumulación de almidón significativamente mayor en estas, al amanecer y en la tarde, en ambos Ψ_A en el suelo,

respecto a las especies silvestres y con nivel intermedio de domesticación indica que la asignación del C asimilado difiere en dependencia del nivel de domesticación.

Durante el proceso de domesticación las plantas incrementan su capacidad de adaptación a ambientes diferentes a los silvestres, que en general son desfavorables para el cultivo. Esa adaptación depende de las modificaciones del metabolismo, en diferentes niveles (García-Nava *et al.*, 2015; López-Palacios *et al.*, 2012, 2015). Por lo anterior, las diferencias en el contenido de los monosacáridos, la sacarosa y el almidón, pueden constituir una característica del síndrome de domesticación, con cambios fisiológicos y bioquímicos relacionados con el metabolismo de C, que les permite a las especies domesticadas de *Opuntia* diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Casas *et al.*, 1999).

Cushman y Borland (2002) indicaron que la acumulación de ácidos orgánicos en respuesta a la limitación de humedad puede ser un mecanismo de ajuste osmótico en especies tipo MAC; aunque, en *Opuntia* el aumento del contenido de ácido se cuantificó al amanecer y no se detectó en la tarde.

Los contenidos de ácido málico entre las especies difirieron parcialmente con los de García-Nava *et al.* (2015) en quince variantes de cinco especies de *Opuntia* con restricción de humedad por 60 días; en esas condiciones los valores matutinos (5 h) estuvieron en el intervalo de 0.66 a 1.00 g 100 g⁻¹. Estos son en promedio hasta 51 % menores a los de la presente investigación. Las diferencias pueden atribuirse a las discrepancias en edad de la planta, condiciones ambientales, época de cosecha, tiempo en la restricción de riego u otras. Los resultados coincidieron con la ausencia de una tendencia reconocible del contenido de ácido málico entre las cinco especies en la tarde.

Las plantas MAC exhiben fluctuaciones diarias en el contenido de glucosa, este azúcar puede almacenarse hasta el siguiente período oscuro (Smith y Bryce, 1992; Christopher y Holtum, 1996; Holtum *et al.*, 2005). El contenido nocturno de glucosa es producto de la degradación del almidón en el cloroplasto (Antony y Borland, 2009; Zeeman *et al.*, 2010).

El contenido mayor de glucosa en las especies silvestres únicamente a las 7 h confirma la conveniencia del desarrollo de estudios factoriales para identificar las diferencias y similitudes bioquímico-fisiológicas entre las especies.

La osmoprotección es un mecanismo asociado a la supervivencia de las plantas (Serraj y Sinclair, 2002). Los azúcares acumulados, como glucosa, fructosa, sacarosa, entre otros, funcionan en la preservación de la homeostasis, como osmolitos, para aliviar los efectos negativos del estrés abiótico, producidos por salinidad, déficit de humedad y frío (Hoesktra *et al.*, 2001; Bogdanović *et al.*, 2008; Sami *et al.*, 2016). En la presente investigación, los contenidos de los tres azúcares en los nopalitos por efecto del Ψ_A del suelo de -5.72 MPa, respecto a -0.17 MPa, variaron entre variantes y especies; pero, la tendencia general no mostró incrementos significativos que permitan suponer el papel osmoregulador de esos azúcares en los cladodios a una condición de estrés. Aunque, el aumento de los contenidos de estos azúcares puede que se exprese solo cuando la supervivencia de las plantas esté amenazada. Al respecto, Goldstein *et al.* (1991) demostraron que la acumulación de solutos del parénquima y clorénquima de *O. ficus-indica*, se ve poco afectada después de tres meses de sequía; lo cual, está en concordancia con la capacidad del género *Opuntia* para tolerar el déficit de humedad edáfico extremo causado por sequías prolongadas por varios meses (Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006). Las plantas de nopal muestran capacidad extraordinaria para almacenar agua en sus tallos suculentos, por lo que se consideran reservorios naturales de agua (Flores-Hernández *et al.*, 2004; Scalisi *et al.*, 2016), los cladodios con mayor edad, particularmente bajo condiciones de sequía, almacenan el agua y la proporcionan a los órganos fotosintéticamente activos (Scalisi *et al.*, 2016).

En el presente estudio, la suspensión de riego por un mes (Ψ_A del suelo de -5.72 MPa) pudo haber modificado el equilibrio hídrico en la planta; pero la acumulación de glucosa en los cladodios jóvenes no fue una respuesta al ajuste osmótico, ya que los contenidos diurnos y vespertinos del azúcar fueron en promedio entre 19 y 21 % menores, respecto a la condición con Ψ_A de -0.17 MPa en el suelo. Además, otros factores pueden modificar el estado hídrico de los cladodios de plantas en sequía; entre ellos está la penetración a

través de areolas del agua que se condensa durante la madrugada sobre los cladodios (Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006). El contenido de glucosa y fructosa menor en las especies domesticadas, puede estar relacionado con consumo por la producción mayor de brotes fotosintéticamente activos en el momento del muestreo.

Un déficit moderado de agua en nopal no produce ajustes severos en su maquinaria fotosintética (Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006), que pudieran dirigirse a la protección celular; por lo que parece que la osmoprotección es funcional solo cuando las plantas presentan déficit hídrico severo (Serraj y Sinclair, 2002). Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia (2006) hacen mención sobre la dificultad de reconocer la condición de déficit de humedad en nopal.

La sacarosa es la fuente principal de C orgánico, se almacena en la vacuola o se metaboliza, es un metabolito y una molécula de señalización (Reca *et al.*, 2008; Wind *et al.*, 2010; Ruan, 2012; Gao *et al.*, 2014). Durante el día el disacárido se sintetiza en el citoplasma a partir de triosa fosfato provenientes del cloroplasto, por la noche es producto de la degradación del almidón (Zeeman *et al.*, 2004, 2010; Padilla-Chacón y Martínez-Barajas, 2007; Antony y Borland, 2009). En dependencia de los requerimientos metabólicos de la planta, la sacarosa puede transportarse, a través del floema, desde tejidos fotosintéticamente activos (cladodios jóvenes en nopal) a tejidos que la demanden (Ruan *et al.*, 2010), como el fruto y los cladodios viejos y senescentes. El crecimiento y los procesos de mantenimiento celulares requieren aporte de C diurno y nocturno (Smith y Stitt, 2007). En promedio, el contenido de sacarosa no se modificó las 15 h respecto a las 7 h, en ninguna de las condiciones hídricas. Esto indica que independientemente del nivel de domesticación y disponibilidad de humedad, los cladodios jóvenes de *Opuntia*, mantuvieron en equilibrio la síntesis y exportación de la principal fuente de C orgánico.

El contenido de sacarosa incrementó directamente con el gradiente de domesticación cuando el Ψ_A en el suelo era -0.17 MPa. *Opuntia ficus-indica* presentó entre 24 y 38 % mayor contenido respecto a *O. streptacantha* a las 7 y 15 h. Esta tendencia fue opuesta a la que se presentó en el contenido del disacárido con el Ψ_A de -5.72 MPa en el suelo.

Con este Ψ_A las especies silvestres y con domesticación intermedia presentaron, en ambas horas del día, el doble o más sacarosa respecto a las especies domesticadas; esta tendencia fue similar a las de los monosacáridos. Los resultados pueden interpretarse como cierta reacción a la restricción de riego, inclusive anticipada a los periodos prolongados de sequía que enfrentan naturalmente las especies silvestres en su hábitat natural. Estos resultados coincidieron con los de Astello-García *et al.* (2015); ellos determinaron que el contenido de azúcares totales en *O. streptacantha* y *O. megacantha*, cultivadas en condiciones de campo, fue (54.7 y 66.4 mg g⁻¹) el doble que en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (28.3 y 38 mg g⁻¹). Pichereaux *et al.* (2016) también observaron que *O. streptacantha* tuvo cerca del doble (61.0 mg g⁻¹) de azúcares totales que *O. albicarpa* (36.9 mg g⁻¹) y *O. megacantha* presentó cerca de cuatro veces más azúcares que la especie domesticada (103.7 mg g⁻¹).

Una característica de las plantas domesticadas es su dependencia al ambiente humanizado para su sobrevivencia, mediante cambios en su adaptación ecológica (Perales y Aguirre, 2008). García-Nava *et al.* (2015) indicaron que *O. ficus-indica* tiene demanda mayor de agua que las variantes silvestres, lo que parece relacionarse con la presencia de contenidos mayores de sacarosa en sus cladodios jóvenes y fotosintéticamente activos (Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia, 2006). El contenido mayor del contenido de sacarosa en las especies domesticadas en la presente investigación, respecto a las silvestres el Ψ_A del suelo era -0.17 MPa concuerda con lo que señalan esos autores.

La sacarosa es sustrato para el metabolismo energético y la biosíntesis de macromoléculas, que resulta en acumulación de biomasa, crecimiento y desarrollo (Wang *et al.*, 2013). El disacárido es clave en la vida vegetal, tanto que una planta sin sacarosa no es concebible (Salerno y Curatti, 2003). Wind *et al.* (2010) indicaron que el aumento en la síntesis de sacarosa generalmente resulta en producción mayor de biomasa. El contenido mayor de sacarosa en esos cladodios, con disponibilidad de agua por el riego, parece relacionarse con la biomasa de los frutos y el contenido de su pulpa, que fueron

más del doble en 150 variantes de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* respecto a 48 silvestres de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* evaluadas por López-Palacio *et al.* (2015).

Durante la fase I del MAC, intervalo nocturno del ciclo en el que la PEPCasa está activa y participa en la fijación de CO₂, la degradación del almidón, como almacén transitorio de C y energía, suministra esqueletos de C para la síntesis de fosfoenolpiruvato (Dodd *et al.*, 2003). La presencia de almidón en los cloroplastos de tejidos fotosintéticos puede ser simultánea a la síntesis de sacarosa en el citosol (Zeeman *et al.*, 2004, 2010). Las reacciones nocturnas en plantas MAC expresan tasas elevadas de degradación del almidón, con lo que se abastecen sustratos para la síntesis de sacarosa y fosfoenolpiruvato (Christopher y Holtum, 1996; Wang *et al.*, 2001; Dodd *et al.*, 2003; Cushman *et al.*, 2008; Zeeman *et al.*, 2010). El aumento en el contenido de almidón a las 15 h, respecto a las 7 h, cuando el Ψ_A del suelo era -0.17 MPa, en *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, contrastó con la estabilidad del contenido del polisacárido, en ambas horas del día, en las especies silvestres. Pero, con el Ψ_A del suelo de -5.72 MPa las cinco especies incrementaron significativamente (hasta 80 %) el contenido de almidón a las 15 h respecto a las 7 h. En plantas C3, como girasol (*Helianthus annuus*), espinacas (*Spinacia oleracea*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Fredeen *et al.*, 1991; Zrenner y Stitt, 1991; Herrera-Flores *et al.*, 2012), con déficit hídrico el contenido de almidón disminuye, y su hidrólisis resulta en el incremento de los niveles de sacarosa y hexosas (Pelleschi *et al.*, 1997; Vu *et al.*, 1998). Un comportamiento similar se observó en las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*. Estos resultados evidencian algunos de los cambios en el metabolismo de C del género *Opuntia* durante su domesticación y su interacción con el ambiente.

La degradación del almidón transitorio se detiene durante el día (Zeeman *et al.*, 2002; Streb *et al.*, 2009) y durante la noche se hidroliza, a tasas más o menos constantes. Los gránulos de almidón no afectan la osmolaridad y las plantas almacenan grandes cantidades de este polisacárido sin alterar el equilibrio hídrico de las células (Ball y Morell, 2003). Por lo que el contenido diurno y vespertino de este polisacárido inverso al nivel de

domesticación entre las variantes, con la restricción del riego, no tiene relación con los ajustes en la osmolaridad en las especies.

Las invertasas (EC 3.2.1.26) y sacarosa sintasa (EC 2.4.1.13) catalizan la hidrólisis de la sacarosa (Salerno y Curatti, 2003; Vargas y Salerno, 2010; Tausin *et al.*, 2014). La invertasa ácida soluble es una enzima con actividad en la vacuola (Roitsch y González, 2004; Vargas *et al.*, 2007), donde el pH (4.5 a 5.5) para expresar esta actividad no es restrictivo (Linconl y Zeiger, 2006; Rae *et al.*, 2011). Este intervalo de pH es el que exhibe la vacuola de los cladodios jóvenes al amanecer (Corrales-García *et al.*, 2004; Bentacourt-Domínguez *et al.*, 2006; Rodríguez-García *et al.*, 2007). La actividad de la invertasa ácida regula el pH dentro de la vacuola, que depende de la actividad antiportadora de H⁺ / azúcar en el tonoplasto, u otros antiportadores, como potasio, cloruro y malato (Ruan, 2014; Wang *et al.*, 2014). La actividad mayor de la enzima a las 7 h, en las cinco especies en ambos Ψ_A del suelo, indica que el ambiente vacuolar en los cladodios jóvenes es favorable para la actividad de invertasa ácida independientemente del nivel de domesticación y condición hídrica y se modifica a las 15 h, probablemente por los cambios de pH debidos a la disminución de compuestos como el ácido málico.

La actividad de invertasa ácida en el presente estudio disminuyó con el gradiente de domesticación en ambas horas del día, con la restricción de riego, y a las 15 h cuando el Ψ_A del suelo era -0.17 MPa. En esta condición hídrica *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* mostraron actividad mayor a la tendencia del gradiente; además, estas especies presentaron contenidos mayor de sacarosa. Esto parece estar relacionado con la actividad metabólica mayor y demanda elevada de sustratos para el crecimiento y desarrollo de los cladodios que caracteriza a *O. ficus-indica* (Reyes-Agüero *et al.*, 2005b).

La invertasa vacuolar está implicada en la acumulación de hexosas y la expansión celular, mediante incremento de la osmolaridad y afluencia de agua (Ruan *et al.*, 2010). La disminución de la actividad de invertasa ácida a las 15 h en relación directa al gradiente de domesticación podría estar relacionada con los mecanismos bioquímicos que confieren eficiencia mayor a las especies silvestres para absorber agua, respecto a las

domesticadas. Lo que explicaría, parcialmente la tolerancia mayor de las silvestres a la sequía, respecto a las domesticadas. Además del rol fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas, el papel regulador de la invertasa vacuolar en la resistencia al estrés biótico y abiótico se ha documentado en maíz (*Zea mays* L.) tomate (*Lycopersicon esculentum*) y papa (*Solanum tuberosum*) (Zeng *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2000; Schaarschmidt *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011; Tauzin y Giardina, 2014). Además de lo anterior, otro aspecto que deberá caracterizarse es el referente a los transportadores de sacarosa y hexosas en el tonoplasto y su papel en la regulación de los flujos de C en especies MAC (Antony y Borland, 2009).

En la célula existe otra isoforma de invertasa, conocida como invertasa neutral/alcalina o invertasa citosólica/plastídica/mitocondrial, se encuentra principalmente en el citosol, pero también en cloroplastos (Vargas *et al.*, 2008), mitocondrias y núcleo (Vargas y Salerno, 2010). Seguramente, cada isoforma tiene función específica en la partición del C intracelular. Las especies silvestres presentaron contenidos mayores de hexosas, respecto a las domesticadas, y coincidió con el contenido menor de la sacarosa solo cuando el Ψ_A del suelo era -0.17 MPa; pero, la actividad mayor de invertasa neutra fue prácticamente similar entre las especies. Las invertasas están involucradas en varios aspectos del ciclo de vida de la planta y en su reacción a estímulos ambientales, pues sus sustratos y productos son moléculas del metabolismo primario y de señalización que pueden regular una variedad de genes en diferentes vías fisiológicas (Koch, 1996; Sheen *et al.*, 1999; Roitsch y González, 2004). Las invertasas son consideradas enzimas clave en la respuesta al estrés (Hare *et al.*, 1998; Bolouri-Moghaddam *et al.*, 2010; Ruan *et al.*, 2010; Ruan, 2014). Por lo que sobresalió que la actividad de invertasa neutra fuera similar dentro y entre las especies a las 7 y 15 h en el Ψ_A del suelo de -0.17 MPa, excepto alguna excepción. Aunque, con Ψ_A del suelo de -5.72 MPa las cinco especies presentaron actividad invertasa neutra significativamente mayor a las 15 h, respecto a las 7 h y las domesticadas presentaron en promedio 14 % más actividad. La actividad invertasa neutra mayor al atardecer concordó con los contenidos menores de sacarosa, sustrato para esta enzima y compuesto principal derivado de fotosíntesis que se sintetiza durante el día en el citosol (Gao *et al.*, 2014).

La invertasa neutra proporcionan sustrato para el ciclo de los ácidos tricarbónicos en tejidos en los que las actividades de invertasa ácida o sacarosa sintasa son bajas o insuficientes, por lo que se considera que es enzima de "mantenimiento" (Winter y Huber, 2000; Roitsch y González, 2004). La complementariedad de actividad de invertasas se observó en las cinco especies, con Ψ_A del suelo de -5.72 MPa; pero con riego, no se observó este comportamiento. Al respecto, las funciones fisiológicas de las isoformas de invertasa son dependientes del tipo de tejido y de su localización sub-celular (Roitsch y González, 2004).

Entre las aplicaciones del contenido de proteína total o soluble en los tejidos de las plantas está la actividad metabólica global de los tejidos; en general, la actividad mayor se desarrolla con más proteínas y viceversa (Nobel, 1983). Además, las condiciones ambientales, como temperatura, ciclo del día (luz u oscuridad) y disponibilidad de agua modulan la síntesis de proteínas en *Opuntia* (Nobel e Israel, 1994; Drennan y Nobel, 2000). Pichereaux *et al.* (2016) indicaron que aproximadamente la mitad de las proteínas de *Opuntia* corresponden a los procesos metabólicos. De acuerdo con lo anterior, los procesos metabólicos globales en los cladodios de las cinco especies en ambos Ψ_A del suelo fueron significativamente mayores a las 15 h; en promedio, entre 25 y 50 % en el Ψ_A de -0.17 MPa respecto a las 7 h. Pero, con el Ψ_A de -5.72 MPa las diferencias incrementaron hasta más de 100 % junto con el gradiente de domesticación. Estos resultados, muestran indirectamente la magnitud de los ajustes en la "maquinaria" metabólica de los cladodios tiernos de *Opuntia* en este Ψ_A disminuido por la falta de riego. Además, concuerdan con la reacción menor de las especies silvestres, ya que están adaptadas a las condiciones de déficit hídrico extremo de los ambientes áridos y semiáridos.

En el ciclo con diurno, *Opuntia* sobre expresa un número considerable de proteínas, principalmente las involucradas en la regulación de la glucólisis (Pichereaux *et al.*, 2016). Los contenidos mayores de proteínas a las 15 h en las cinco especies concuerdan con lo anterior. Guevara-Figueroa *et al.* (2010) observaron, en SDS al 15 %, la banda de la subunidad grande de Rubisco sobre expresada en todas las variedades de *Opuntia* que

analizaron. Eso concuerda con la observación de que Rubisco puede representar más de 50 % de la proteína soluble en hojas de plantas C3. Lo anterior permite explicar una fracción de los aumentos en la proteína soluble de los cladodios a las 15 h (Winter, 1982).

Los contenidos de proteína soluble de este estudio coinciden con la tendencia determinada por Pichereaux *et al.* (2016) en *Opuntia*, con déficit hídrico; los autores indicaron que *O. hyptiacantha* y *O. streptacantha* fueron las especie con menos proteína (10.5 y 11.0 %) y *O. ficus-indica* tuvo el contenido mayor (11.7 %). La respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés incluye la alteración en la expresión de proteínas. Estos cambios generalmente están relacionados con el aumento o la disminución de la expresión de genes específicos, y dependen de la naturaleza, duración y severidad del estrés (Moreno, 2009).

Las plantas en estrés abióticos y bióticos activan mecanismos de sobrevivencia (Shulaev *et al.*, 2008); puede suceder activación de genes y síntesis de compuestos, entre estos últimos destacan los aminoácidos. Estos compuestos se acumulan frecuentemente en respuesta al estrés (Hassan *et al.*, 1994). *Opuntia streptacantha* destacó entre las especies por su contenido significativamente alto de aminoácidos libres en ambos Ψ_A del suelo y en ambas horas del día (hasta dos veces más respecto a las otras especies). Esta característica puede estar asociada a su capacidad para sobrevivir períodos prolongados con humedad limitada; sin embargo, el contenido de aminoácidos libres en esta especie en el Ψ_A de -0.17 MPa fue mayor o igual que en el Ψ_A de -5.72 MPa. Según Pimienta-Barrios *et al.* (2007) las especies silvestres de nopal presentan resistencia mayor a la sequía que las cultivadas. La acumulación de aminoácidos como la prolina, además de inducir ajuste osmótico, protege las membranas y las proteínas de la deshidratación (Moreno, 2009). García-Nava *et al.* (2015) determinaron que las especies silvestres de plantas en invernadero, después de 60 sin riego, mostraron menor permeabilidad de membranas celulares (14.5 %) respecto a las especies domesticadas. En contraste con estas evidencias, en este estudio el incremento en el contenido de aminoácidos libres como reacción a la restricción del riego o su relación con el nivel de domesticación no fueron identificables.

Glaubitz *et al.* (2015) documentaron la biosíntesis de aminoácidos y poliaminas son algunas de las principales vías influenciadas por la temperatura; esto ayudaría a explicar las diferencias en los contenidos de aminoácidos libres entre los dos horarios. No obstante, las diferencias no se presentaron en las cinco especies.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, pero con un rol en el crecimiento, reproducción, protección contra patógenos y predadores en las plantas (Balasundram *et al.*, 2006; Neilson *et al.*, 2013). Las plantas, como organismos sésiles, discriminan entre los factores su entorno y responder a ellos, una manera es la producción de metabolitos secundarios (Neilson *et al.*, 2013).

Los compuestos fenólicos se han asociados con efectos benéficos para la salud humana, a través de su capacidad antioxidante, derivado del consumo de frutas y vegetales (Heim *et al.*, 2002; Parr y Bolwell, 2000). El género *Opuntia* es fuente de compuestos fenólicos; ya que se ha identificado en semillas, pulpa, cascara, cladodios y flores (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Benayad *et al.*, 2014; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2015; Astello-García *et al.*, 2015; Pichereaux *et al.*, 2016).

La relación inversa del contenido de fenoles totales y el nivel de domesticación ya se han documentado. Los resultados del presente estudio coincidieron con los de Guevara-Figueroa *et al.* (2010); estos autores determinaron que el contenido de fenoles totales en los cladodios de especies silvestres fueron (17.8 a 19.9 mg g⁻¹) significativamente mayores que los de las especies comerciales (5.25 y 11.7 mg g⁻¹). Pichereaux *et al.* (2016) también cuantificaron contenido mayor de fenoles (65.1 μmol g⁻¹) en *O. streptacantha* que en *O. megacantha* y *O. ficus-indica* (57.8 y 56.7 μmol g⁻¹). Astello-García *et al.* (2015) señalaron que *O. streptacantha* también fue la especie con el contenido mayor de compuestos fenólicos (56.8 μmol g⁻¹) y que en su estudio observaron una relación inversa del contenido de compuestos fenólicos y el nivel de domesticación, con excepción de *O. hyptiacantha*, que presentó el valor menor (33.4 μmol g⁻¹). Aunque, con Ψ_A de -5.72 MPa el contenido de fenoles totales no mostró el gradiente citado, en general.

Los contenidos de fenoles totales en la presente investigación fueron menores a lo reportado por Astello-García *et al.* (2015) y Pichereaux *et al.* (2016). Entre los factores que modifican el contenido de estos metabolitos está la temperatura y en este estudio observamos que el Ψ_A del suelo en combinación con la hora del día también los modifican las diferencias entre los resultados de este estudio y los de la literatura pueden deberse a factores del ambiente de cultivos de las muestras analizadas. El contenido fenólico también difiere entre tejidos, etapas de desarrollo del cladodio y épocas del año (Neilson *et al.*, 2013; Ventura-Aguilar *et al.*, 2017).

2.7 CONCLUSIONES

El contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres, y la actividad de invertasa ácida de cladodios jóvenes de nopalitos se modifican en dependencia del nivel de domesticación. *Opuntia streptacantha* y *O. ficus-indica* localizadas en los extremos del gradiente de domesticación son las que presentan el contraste mayor en la composición química de sus cladodios; pero el contraste se manifiesta en condiciones contrastantes de disponibilidad de humedad y en respuesta al MAC.

2.8 LITERATURA CITADA

- Abbo, S., R.P. van-Oss, A. Gopher, Y. Saranga, I. Ofner, Z. Peleg. 2014. Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends in Plant Science* 19: 351-360.
- Aguilar-Becerril, G., C.B. Peña-Valdivia. 2006. Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 231-237.
- Antony E., A.M. Borland. 2009. The Role and Regulation of Sugar Transporters in Plants with Crassulacean Acid Metabolism. Institute for Research on Environment and Sustainability, Devonshire Building, Newcastle University, UK. 127-143 p.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. 1141 p.
- Astello-García, M.G., I. Cervantes, V. Nair, M.S. Santos-Días, A. Reyes-Agüero, F. Guéraud, A. Negre-salvayre, M. Rossignol. 2015. Chemical composition and phenolic

compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivar with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 119-130.

Balasundram, N., K. Sundram, S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.

Ball, S.G., M.K. Morell. 2003. From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annual Review of Plant Biology* 54: 207-233.

Benayad, Z., C. Martinez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cordoves, N. E. Es-Safi. 2014. Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products* 62: 412-420.

Betancourt-Domínguez, M.A., T. Hernández-Pérez, P. García-Saucedo, A. Cruz-Hernández, O. Paredes-López. 2006. Physico-Chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61: 115-119.

Bogdanović, J., M. Mojović, N. Milosavić, A. Mitrović, Z. Vucinić, I. Spasojević. 2008. Role of fructose in the adaptation of plants to cold-induced oxidative stress. *European Biophysics Journal* 37: 1241-6.

Bolouri-Moghaddam, M.R., K. Le Roy, L. Xiang, F. Rolland, W. Van den Ende. 2010. Sugar signaling and antioxidant network connections in plant cells. *The FEBS J.* 277: 2022-2037.

Borland A.M., L.I. Tecsí, R.C. Leegood, R.P. Walker. 1998. Inducibility of crassulacean acid metabolism (CAM) in *Clusia* species: physiological/biochemical characterisation and intercellular localization of carboxylation and decarboxylation processes in three species which exhibit different degrees of CAM. *Planta* 205: 342-351.

Borland A.M., V.A. Barrera-Zambrano, J. Ceusters, K. Shorrocks. 2011. The photosynthetic plasticity of crassulacean acid metabolism: an evolutionary innovation for sustainable productivity in a changing world. *New Phytology* 191: 619-633.

Borland A.M., J. Hartwell, D.J. Weston, K.A. Schlauch, T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan, X. Yang, J.C. Cushman. 2014. Engineering crassulacean acid metabolism to improve water-use efficiency. *Trends in Plant Science* 14: 327-338.

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brown, J.H., T.J. Valone, C.G. Curtin. 1997. Reorganization of an arid ecosystem in response to recent climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences or the USA* 94: 9729-9733.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente-Banuet, J.A. Soriano, P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central México. *American Journal of Botany* 86: 522-533.
- Christopher, J.T., J.A.M. Holtum. 1996. Patterns of carbon partitioning in leaves of crassulacean acid metabolism species during deacidification. *Plant Physiology* 112: 393-399.
- Cook, B.I., J.E. Smerdon, R. Seager, S. Coats. 2014. Global warming and 21st century drying. *Climate Dynamics* 43: 2607-2627.
- Corrales-García, J., C.B. Peña-Valdivia, Y. Razo-Martínez, M. Sánchez-Hernández. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32: 169-174.
- Cushman, J.C., A.M. Borland. 2002. Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. *Plant Cell and Environment* 25: 295-310
- Cushman, J.C., S. Agarie, R. L. Albion, S.M. Elliot, T. Taybi, A.M. Borland. 2008. Isolation and characterization of mutants of common ice plant deficient in crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology* 147: 228-238.
- Cushman, J.C., S.C. Davis, X. Yang, A. M. Borland. 2015. Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66: 4177-4193.
- Dai, A. 2013. Increasing drought under global warming in observations and models. *Nature Climate Change* 3: 52-58.
- Díaz-Padilla, G., I. Sánchez-Cohen, R.A. Guajardo-Panes, A.L. Del Ángel-Pérez, A. Ruíz-Corral, G. Medina-García, D. Ibarra-Castillo. 2011. Mapeo del índice de aridez y su distribución poblacional en México. *Rev. Chapingo Ser. Ciencias Forestales Ambient.* Volumen XVII: 267-275.

- Dirzo, R., P.H. Raven. 2003. Global state of biodiversity and loss. *Annual Review of Environment and Resources* 28: 137-167.
- Dodd A.N., A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 569-580.
- Dodd, A.N., H. Griffiths, T. Taybi, J.C. Cushman, A.M. Borland. 2003. Integrating diel starch metabolism with the circadian and environmental regulation of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Planta* 216: 789-797.
- Drennan, P.M., P.S. Nobel. 2000. Responses of CAM species to increasing atmospheric CO₂ concentrations. *Plant, Cell and Environment* 23: 767-781.
- Flores-Hernández, A., I. Orona-Castillo, B. Murillo-Amador, J.L. García-Hernández. 2004. Yield and physiological traits of prickly pear cactus “nopal” (*Opuntia* spp.) cultivars under drip irrigation. *Agricultural Water Management* 70: 97-107.
- Frary, A., S. Doganlar. 2003. Comparative Genetics of Crop Plant Domestication and Evolution. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 59-69.
- Fredeen, A.L., J.A. Gamon, C.B. Field. 1991. Responses of photosynthesis and carbohydrate partitioning to limitations in nitrogen and water availability in field-grown sunflower. *Plant, Cell and Environment* 14: 963-970.
- Gao, J., P.J.M. van Kleeff, C. Oecking, K.W. Li, A. Erban, J. Kopka, D.K. Hinch, A.H. de Boer. 2014. Light modulated activity of root alkaline/neutral invertase involves the interaction with 14-3-3 proteins. *The Plant Journal* 80: 785-796.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García-Nava, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 927-938.
- Gepts, P. 2004. Crop domestication as a long-term selection experiment. In: *Plant breeding reviews*. Volumen 24, Part 2, New York, USA. Edited by Jules Janick. 1-44 p.
- Gerland, P., A.E. Raftery, H. Sevcikova, N. Li, D. Gu, T. Spoorenberg, L. Alkema, B.K. Fosdick, J. Chunn, N. Lalic, G. Bay, T. Buettner, G. K. Heilig, J. Wilmoth. 2014. World population stabilization unlikely this century. *Science* 346: 234-237.
- Gibson, A.C. 1996. *Structure-function relations of warm desert plants*. Springer-Verlag. Heidelberg. 215 p.

- Gibson, A.C., P.S. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 286 p.
- Glaubitz, U., A. Erban, J. Kopka, D.K. Hinch, E. Zuther. 2015. Metabolite Profiling Reveals Sensitivity-Dependent Metabolic Shifts in Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars under High Night Temperature Stress. *Functional Plant Biology* 41: 437-448.
- Goldstein, G., J.K.E. Ortega, 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.
- Granados, S.D., P.A. Castañeda. 1991. El nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola. Editorial Trillas. México. 205 p.
- Griffiths H., W.E. Robe, J. Girnus, K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during crassulacean acid metabolism species. *Journal of Experimental Botany* 59: 1851-1861.
- Guevara-Figueroa, T., H. Jiménez-Islas, M.L. Reyes-Escogido, A.G. Mortensen, B.B. Laursen, L.W. Lin, A. De León-Rodríguez, I.S. Fomsgaard. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525-532.
- Guillén, S., A. Casas, T. Terrazas, E. Vega, A. Martínez-Palacios. 2013. Differential survival and growth of wild and cultivated seedlings of columnar cacti: consequences of domestication. *American Journal of Botany* 100: 2364-2379.
- Hare, P.D., W.A. Cress, J. Van Staden, 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell and Environment* 21: 535-553.
- Hassan, M.T., C.C. Y. Chang, T.Y. Chang. 1994. Somatic cell genetic biochemical characterization of cell lines resulting from human genomic DNA transfections of Chinese hamster ovary cell mutants defective in sterol-dependent activation of sterol synthesis and receptor expression. *Somatic Cell and Molecular Genetics* 20: 183-194.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G. P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, D.J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572-584.

- Herrera, A. 2009. Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for?. *Annals of Botany* 103: 645-653.
- Herrera-Flores, T.S., J. Ortiz-Cereceres, A. Delgado-Alvarado, J.A. Acosta-Gallegos. 2012. Crecimiento y contenido de prolina y carbohidratos de plántulas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 713-725.
- Hoeskstra, F.A., E.A. Golovina, J. Butinik. 2001. Mechanism of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 431-438.
- Holtum, J.A.M., J.A.C. Smith, H.E. Neuhaus. 2005. Intracellular transport and pathways of carbon flow in plants with crassulacean acid metabolism. *Functional Plant Biology* 32: 429-449.
- Jiménez-Aguilar, D.M., J.M. López-Martínez, C. Hernández-Brenes, J.A. Gutiérrez-Uribe, J. Welti-Chanes. 2015. Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis* 41: 66-73.
- Jones, D.L., A.G., Owen, J.F., Farrar. 2002. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solution and soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1893-1902.
- Kim, J.Y., J. MahéA Brangeon, J.L. Prioul. 2000. A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by waterstress. organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. *Plant Physiology* 124: 71-84.
- Koch, K.E., 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 509-540.
- Lincoln y Zeiger, 2006. *Fisiología Vegetal. Volumen I. Publicacions de la Universitat Jaume. Tercera Edicion. U.S.A.*
- Liu, X., C. Zhang, Y. Ou, Y. Lin, B. Song, C. Xie, J. Liu, X.Q. Li. 2011. Systematic analysis of potato acid invertase genes reveals that a cold-responsive member, regulates cold-induced sweetening of tubers. *Molecular Genetics and Genomics* 286: 109-118.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, A.I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Gene Resources and Crop Evolution* 59: 1015-1026.

- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera, H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández, J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter-and intra-specific variation in fruit biomass number of seeds, and physical characteristic of seeds in *Opuntia* spp. *Gene Resources and Crop Evolution* 62: 1205-1223.
- Magalhães, L.M., F. Santos, M.A. Segundo, S. Reis, J.L.F.C. Lima. 2010. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83: 441-447.
- Majdoub, H., L. Picton, D. Le Cerf, S. Roudesli. 2010. Water retention capacity of polysaccharides from prickly pear nopals of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia littoralis*: physical-chemical approach. *Journal of Polymers and the Environment* 18: 451-458.
- Meyer, R.S., A.E. DuVal, H.R. Jensen. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist* 196: 29-48.
- Moreno, L.P. 2009. *Agronomía Colombiana* 27: 179-191.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.A.A. El-Hady, H.T. Omran, S.K. El-samahy, L.W. Kroh, S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. *Food Research International* 64: 864-872.
- Nägele, T., S. Henkel, I. Hörmiller, T. Sauter, O. Sawodny, M. Ederer, A. G. Heyer. 2010. Mathematical modeling of the central carbohydrate metabolism in arabidopsis reveals a substantial regulatory influence of vacuolar invertase on whole plant carbon metabolism. *Plant Physiology* 153: 260-272.
- Neilson, E.H., J.Q.D. Goodger, I.E. Woodrow, B.L. Møller. 2013. Plant chemical defense: at what cost?. *Trends in Plant Science* 18: 250-258.
- Nelson, E.A., R.F. Sage. 2008. Functional constraints of CAM leaf anatomy: tight cell packing is associated with increased CAM function across a gradient of CAM expression. *Journal of Experimental Botany* 59: 1841-1850.
- Nobel, P.S. 1983. Nutrient levels in cacti—relation to nocturnal acid accumulation and growth. *American Journal of Botany* 70: 1244-1253.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental biology of agaves and cactus*. New York, Cambridge University Press. 36 p.

- Nobel, P.S. 1995. Environmental biology. In: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. Food and Agricultural Organization. Roma, 36-48 p.
- Nobel, P.S., A.A. Israel, 1994. Cladode development, environmental responses of CO₂ uptake, and productivity for *Opuntia ficus-indica* under elevated CO₂. Journal Experimental Botany 45: 295-303.
- Odoux, E., A. Domínguez-López. 1996. Le figuier de Barbarie: une source industrielle de bétalases. Fruits 56: 61-77.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Annual Review of Plant Physiology 29: 379-414.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. L. Hamrick, J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, Central México. Molecular Ecology 14: 1603-1611.
- Padilla-Chacón, D., E. Martínez-Barajas. 2007. Factores involucrados en la distribución de azúcares en las plantas vasculares: comunicación entre los tejidos fuente y tejido demanda. REB 26: 99-105.
- Padilla-Chacón, D., E. Martínez-Barajas, A. García-Esteva, R. Leal-Delgado, J. Kohashi-Shibata, C. B. Peña-Valdivia. 2017. Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water restriction. South African Journal of Botany 112: 79-88.
- Parr A.J., G.P. Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food Agriculture 80: 985-1012.
- Pelleschi, S., J.P. Rocher, J.L. Prioul. 1997. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. Plant, Cell and Environment 20: 493-503.
- Peña-Valdivia, C.B., M.L. Ortega-Delgado. 1991. Non-structural carbohydrate partitioning in *Phaseolus vulgaris* after vegetative growth. Journal of the Science of Food and Agriculture 55: 563-577.
- Perales, H.R., J.R. Aguirre. 2008. Biodiversidad humanizada. Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. 565-603 p.

- Pichereaux, C., E.E. Hernández-Domínguez, M.S. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, M. Astello-García, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, O. Schiltz, M. Rossignol, A.P.B. de la Rosa. 2016. Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication. *Journal of Proteomics* 143: 353-364.
- Pimienta-Barrios, E., I. Castillo-Cruz, J. Zañudo-Hernández, L. Méndez-Morán, P.S. Nobel. 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annals of Applied Biology* 151: 137-144.
- Rae, A.L., R.E. Casu, J.M. Perroux, M.A. Jackson. 2011. A soluble acid invertase is directed to the vacuole by a signal anchor mechanism. *Journal of Plant Physiology* 168: 983-989.
- Reca, I.B., A. Brutus, R. D'Avino, C. Villard, D. Bellincampi, T. Giardina. 2008. Molecular cloning, expression and characterization of a novel apoplasmic invertase inhibitor from tomato (*Solanum lycopersicum*) and its use to purify a vacuolar invertase. *Biochimie* 90: 1611-1623.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, J.L. Flores-Flores. 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., J. R. Aguirre-Rivera, H. Hernández. 2005b. Systematic notes and detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) (Cactaceae). *Agrociencia* 39: 395-408.
- Rodríguez-García, M.E., C. de Lira, E. Hernández-Becerra, M.A. Cornejo-Villegas, A.J. Palacios-Fonseca, I. Rojas-Molina, R. Reynoso, L.C. Quintero, A. Del-Real, T.A. Zepeda, C. Muñoz-Torres. 2007. Physicochemical characterization of nopal pads (*Opuntia ficus indica*) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation. *Plant Foods for Human Nutrition* 62: 107-112.
- Roitsch T., M.C. González. 2004. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9: 606-613.
- Ruan, Y.L. 2012. Signaling role of sucrose metabolism in development. *Molecular Plant* 5: 763-765.
- Ruan, Y.L. 2014. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annual Review of Plant Biology* 65: 33-67.

- Ruan, Y.L., Y. Jin, Y.-J. Yang, G.-J. Li, J.S. Boyer. 2010. Sugar Input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3: 942-955.
- Sáenz, C., H. Berger, J. C. García, L.J. Galletti, V. García de Cortázar, L. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez-Félix, E. Sepúlveda, M. Varnero. 2006. Utilización Agroindustrial del Nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. 165 p.
- Salerno, G.L., L. Curatti L. 2003. Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? *Trends in Plant Science* 8: 63-69.
- Sami F., M. Yusuf, M. Faizan, A. Faraz, S. Hayat. 2016. Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology Biochemistry* 109: 54-61.
- Scalisi, A., B. Morandi, P. Inglese, R. Lo Bianco. 2016. Cladode growth dynamics in *O. ficus-indica* under drought. *Environmental and Experimental Botany* 122: 158-167.
- Schaarschmidt, S., T. Roitsch, B. Hause. 2006. Arbuscular mycorrhiza induces gene expression of the apoplastic invertase LIN6 in tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Journal Experimental Botany* 57: 4015-4023.
- Schwinning S., J.R. Ehleringer. 2001. Water use trade-offs and optimal adaptations to pulse-driven arid ecosystems. *Journal of Ecology* 89: 464-480.
- Serraj R., T.R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell and Environment* 25: 333-341.
- Sheen, J., L. Zhou, J.C. Jang. 1999. Sugars as signaling molecules. *Current opinions in plant biology* 2: 410-418.
- Shulaev, V., D. Cortes, G. Miller, R. Mittler. 2008. Metabolomic for plant stress response. *Physiologia Plantarum* 132: 199-208.
- Smith, J.A.C. y J.H. Bryce. 1992. Metabolic compartmentation and transport in CAM plants. In: Tobin A. (ed) *Plant Organelles: Compartmentation of Metabolism in Photosynthetic Cells*. Cambridge University Press, Cambridge. 141-167 p.
- Smith, A.M. y M. Stitt. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30: 1126-1149.

- Smith, S.D., T.E. Huxman, S. F. Zitzer, T. N. Charlet, D. C. Housman, J. S. Coleman, L. K. Fenstermaker, J. R. Seemann, R. S. Nowak. 2000. Elevated CO₂ increases productivity and invasive species success in an arid ecosystem. *Nature* 408: 79-82.
- Stewart, J.R. 2015. Agave as a model CAM crop system for a warming and drying world. *Frontier in Plant Science* 6: 1-20.
- Streb, S., B. Egli, S. Eicke, S.C. Zeeman. 2009. The debate on the pathway of starch synthesis: a closer look at low-starch mutants lacking plastidial phosphoglucomutase supports the chloroplast-localized pathway. *Plant Physiology* 151: 1769-1772.
- Tauzin, A.S., T. Giardina. 2014. Sucrose and invertases, a part of the plant defense response to the biotic stresses. *Frontier in Plant Science* 5: 1-8.
- Tauzin, A.S., G. Sulzenbacher, M. Lafond, V. Desseaux, I.B. Reça, J. Perrier, D. Bellincampi, P. Fourquet, C. Lévêque, T. Giardina. 2014. Functional characterization of a vacuolar invertase from *Solanum lycopersicum*: Post-translational regulation by N-glycosylation and a proteinaceous inhibitor. *Biochimie* 101: 39-49.
- Taybi, T., J.C. Cushman, A.M. Borland. 2002. Environmental, hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. *Functional Plant Biology* 29: 669-678.
- Trenberth, K. E. 2011. Changes in precipitation with climate change. *Climate Research* 47: 123-138.
- Vargas, W.A., G.L. Salerno. 2010. The Cinderella story of sucrose hydrolysis: alkaline/neutral invertases, from cyanobacteria to unforeseen roles in plant cytosol and organelles. *Plant Science* 178: 1-8.
- Vargas, W.A, H.G. Pontis, G.L. Salerno. 2007. Differential expression of alkaline and neutral invertases in response to environmental stresses: characterization of an alkaline isoform as a stress response enzyme in wheat leaves. *Planta* 226: 1535-1545.
- Vargas, W. A., H. G. Pontis, G. L. Salerno. 2008. New insights on sucrose metabolism: evidence for an active A/N-Inv in chloroplasts uncovers a novel component of the intracellular carbon trafficking. *Planta* 227: 795-807.
- Ventura-Aguilar, R.I., E. Bosquez-Molina, S. Bautista-Baños, F. Rivera-Cabrera. 2017. Cactus stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition

- with emphasis on its biofunctional properties. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture* 97: 9 p.
- Vu, J.C.V., J.T. Baker, A.H. Pennanen, A.L.H. Bowes, J.K.J. Boote. 1998. Elevated CO₂ and water deficit effects on photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice. *Physiologia Plantarum* 103: 327-339.
- Wang, S.J., K.W. Yeh, C.Y. Tsai. 2001. Regulation of starch granulebound starch synthase I gene expression by circadian clock and sucrose in the source tissue of sweet potato. *Plant Science* 16: 635-644.
- Wang, X.C., Q.Y. Zhao, C.L. Ma, Z.H. Zhang, H.L. Cao, Y.M. Kong, C. Yue, X.Y. Hao, L. Chen, J.Q. Ma, J.Q. Jin, X. Li, Y.J. Yang. 2013. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation. *BMC Genomics* 14: 1-15.
- Wang, L., A. Cook, J.W. Patrick, X. Chen, Y. Ruan. 2014. Silencing the vacuolar invertase gene blocks cotton fiber initiation from the ovule epidermis, probably by suppressing a cohort of regulatory genes via sugar signaling. *The Plant Journal* 78: 686–696.
- Wickens, E.G. 1998. *Ecophysiology of economic plants in arid and semi-arid lands*. Springer-Verlag. Heidelberg. 343 p.
- Wind, J., S. Smeeckens, J. Hanson. 2010. Sucrose: Metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry* 71: 1610-1614.
- Winter, K. 1982. Properties of phosphoenolpyruvate carboxylase in rapidly prepared, desalted leaf extracts of the crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Planta* 154: 298-308.
- Winter, H., S.C. Huber. 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35: 253-289.
- Winter K., M. García, J. A. M. Holtum. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë* and *Opuntia* *Journal of Experimental Botany* 59: 1829-1840.
- Xu, H., Y. Li, G. Xu, T. Zou. 2007. Ecophysiological response and morphological adjustment of two Central Asian desert shrubs towards variation in summer precipitation. *Plant Cell and Environment* 30: 399-409.

- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2002. The Priming of Amylose Synthesis in *Arabidopsis* Leaves. *Plant Physiology* 128: 1069-1076.
- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2004. The breakdown of starch in leaves. *New Phytology* 163: 247-261.
- Zeeman, S.C., J. Kossmann, A.M. Smith. 2010. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* 61: 209-234.
- Zeeman S.C. y T. AP Ress. 1999. Changes in carbohydrate metabolism and assimilate export in starch-excess mutantas of *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* 22: 1445-1453.
- Zeng, Y., Y. Wu, W.T. Avigne, K.E. Koch. 1999. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. *Plant Physiology* 121: 599-608.
- Zika, M., K. Erb. 2009. The global loss of net primary production resulting from human-induced soil degradation in drylands. *Ecological Economics* 69: 310-318.
- Zrenner R., M. Stitt. 1991. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing wáter-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. *Plant, Cell and Environment* 14: 939-946.

CAPÍTULO III. CICLO ÁCIDO CRASULÁCEO DEL CONTENIDO DE ÁCIDO MÁLICO, CARBOHIDRATOS, AMINOÁCIDOS LIBRES Y PROTEÍNA SOLUBLE DE CLADODIOS DE *Opuntia* CON DIFERENTE NIVEL DE DOMESTICACIÓN

3.1 RESUMEN

El metabolismo ácido crasuláceo (MAC), es una de las tres vías de fijación de CO₂ fotosintético en las plantas superiores y se acompaña por la eficiencia mayor del uso de agua. El objetivo de este estudio fue determinar la expresión del metabolismo ácido crasuláceo en el contenido de ácido málico, carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad de invertasa y potencial osmótico en cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto de la domesticación en un ciclo de 24 h. La hipótesis fue que los cambios en el contenido de carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad de invertasa y potencial osmótico en el ciclo MAC de cladodios jóvenes de *Opuntia* a lo largo del día se relacionan directamente con el nivel de domesticación. El estudio se realizó en cladodios de 3 a 4 semanas de edad, cosechados cada 4 h en un ciclo de 24 h, de plantas sin riego por 30 d (Ψ_A del suelo de -5.72 MPa), de siete variantes de *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. El diseño experimental fue factorial, completamente al azar, 5 x 6 (especies x horario de muestreo). La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes, con seis repeticiones. Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres y proteína soluble, actividad de invertasa ácida e invertasa neutra y potencial osmótico. Las especies, hora del día, e interacción entre los factores especie x hora del día fueron altamente significativas ($p \leq 0.0001$) para las 11 variables. La composición química de los cladodios de *Opuntia* se modificó significativamente por la hora del día y en dependencia de la especie. Las especies en los extremos del gradiente de domesticación (silvestres y con nivel mayor de domesticación) presentaron el contraste mayor en la composición química y actividad de invertasa ácida en sus cladodios.

Palabras clave: *Opuntia*, domesticación, especies, ácido málico, ciclo de 24 h.

3.2 ABSTRACT

The crassulacean acid metabolism (CAM) is one of the three photosynthetic CO₂ fixation routes in higher plants and is the one with the highest water use efficiency. The objective in this study was to determine the content variation malic acid, carbohydrates, free amino acids, soluble proteins, total phenols, invertase activity, and osmotic potential in young cladodes of *Opuntia* plants with different domestication degrees during their 24 h CAM photosynthetic cycle. We hypothesized that the variation in the carbohydrates, free amino acids, soluble proteins, total phenols, invertase activity, and osmotic potential in during the CAM cycle of young *Opuntia* cladodes throughout the day directly correlates with their domestication degree. This study was carried out in 3 to 4 weeks age cladodes, harvested every 4 h during a 24 h cycle, on plants without irrigation for 30 d (soil Ψ_w of -5.72 MPa), from seven variants of *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*. The experimental design was factorial, completely randomized, 5 x 6 (species x sampling time). Each cladode as an independent experimental unit, with six repetitions. The analyzed variables were: malic acid content, glucose, fructose, sucrose, starch, total phenols, free amino acids and soluble protein, acid invertase activity and neutral invertase and osmotic potential. The species, time of day, and interaction between species x time of day factors were highly significant ($p \leq 0.0001$) for the 11 evaluated variables. The chemical composition of the *Opuntia* cladodes is significantly modified by the time of day and species dependent. The species at the extremes of the domestication gradient (wild and with a highest domestication degree) report the highest contrast to regard their chemical composition and acidic invertase activity in their cladodes.

Keywords: *Opuntia*, domestication, species, malic acid, 24 h cycle

3.3 INTRODUCCIÓN

El metabolismo ácido crasuláceo (MAC) es una de las tres formas de asimilación fotosintética del CO₂ atmosférico, es una forma modificada de fotosíntesis, que evolucionó a partir de antepasados con metabolismo tipo C3, al menos 35 veces en linajes de plantas independientes (Silvera *et al.*, 2010; Winter *et al.*, 2015; Heyduk *et al.*, 2016). Las plantas MAC de linajes independientes han convergido en un conjunto de rasgos que están directamente relacionados con la capacidad de la vía para funcionar eficiente en ciertas condiciones ambientales, como áridos, semiáridos o epifíticos, y se relaciona con transiciones en la morfología y anatomía de las hojas (Heyduk *et al.*, 2016). De las 350 mil especies estimadas de plantas vasculares, 6 % es capaz de realizar fotosíntesis MAC; estas pertenecen al menos a 35 familias y más de 400 géneros, dos veces más que las plantas tipo C4 (Silvera *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015).

Los rasgos deseables para productividad mayor y conservación del agua en plantas MAC, como *Opuntia*, pueden atribuirse a la separación temporal de dos procesos de carboxilación que definen a las plantas con este tipo de metabolismo fotosintético (Cushman *et al.*, 2015). Las plantas MAC muestran tasas de fotorrespiración imperceptibles y eficiencia en el uso del agua de cinco a diez veces mayor al de las plantas con metabolismo fotosintético C4, como resultado de la permanencia de los estomas cerrados la mayor parte del día. Todas estas características les permiten ser altamente productivas en regiones áridas y semiáridas (Herppich y Pekman, 2000; Cushman, 2001; Nobel, 2001). En general, las plantas MAC ocupan ambientes desfavorables para el crecimiento de las plantas con fotosíntesis C3 y C4 (Andrade, 2007). En estos ambientes la evolución de los miembros del género *Opuntia* ha permitido que las especies desarrollen características morfológicas, anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que les permiten su adaptación a tales condiciones (Gibson y Nobel, 1986; Nobel, 1995; Gibson, 1996; Wickens, 1998).

De acuerdo con Taybi *et al.* 2002, uno de los factores más efectivos para inducir y modular la expresión MAC es el déficit de agua. Además, la expresión del MAC en los cladodios depende de la especie, la variante y horario de cosecha (Acevedo *et al.*, 1983;

Corrales-García *et al.*, 2004; García-Nava *et al.*, 2015). Existen otros factores que también pueden modular los atributos bioquímicos y fisiológicos de las plantas con este tipo de metabolismo fotosintético, como la ontogenia y el ambiente (intensidad de luz, temperatura, humedad relativa, manejo del cultivo, tiempo en postcosecha de las estructuras) (Nobel y Hartsock 1983; Cushman, 2001; Dodd *et al.*, 2002; Corrales-García *et al.*, 2004).

En el MAC la actividad carboxilasa de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco) y de la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPCasa) ocurren en una misma célula, con actividad enzimática separada temporalmente (Dodd *et al.*, 2002). Los ácidos orgánicos acumulados en la noche son descarboxilados durante el día, con liberación de CO₂, que se refija por la rubisco en el cloroplasto; esto conduce a la producción de carbohidratos a través del ciclo de Calvin-Benson (Borland *et al.*, 2014).

El ciclo de 24 horas (día/noche) es una unidad de tiempo en la que se analizan los procesos bioquímicos en las plantas MAC (Osmond, 1978); porque, la evaluación de las variables fisiológicas a lo largo del día en estas plantas se relaciona con su metabolismo global. Es el caso del contenido de ácido málico, el que exhibe fluctuaciones en el ciclo de 24 h y que se han documentado ampliamente (Corrales-García *et al.*, 2004). En contraste, su relación con las fluctuaciones de los contenidos de azúcares, como glucosa, fructosa, sacarosa, polisacáridos, como almidón, compuestos nitrogenados, como aminoácidos libres y proteína soluble, y otros compuestos como fenoles totales se conoce parcialmente (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Astello-García *et al.*, 2015; Pichereaux *et al.*, 2016). Específicamente, esa información en el género *Opuntia* y su relación con el proceso de domesticación no se ha investigado. Además, ese conocimiento puede complementarse con el de los cambios en la actividad de enzimas relacionadas con la dinámica de síntesis y degradación de los metabolitos a lo largo del ciclo de 24 h, como el de las invertasas. Estas enzimas desempeñan funciones múltiples en el metabolismo primario del carbono, el crecimiento, el desarrollo, y la respuesta al estrés de las plantas (Ruan *et al.*, 2010). Además, en plantas MAC, como *Opuntia*, los cambios en el potencial

osmótico de tejido de los cladodios ha permitido reconocer las fluctuaciones de solutos a lo largo del día (García-Nava *et al.*, 2015).

La domesticación como proceso evolutivo y dinámico que modifica el bagaje genético de plantas y animales y que conduce a cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos continuos (Harlan, 1992; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005) ha generado interés entre los botánicos, fisiólogos y genetista entre otros especialistas, durante décadas. El interés por aprovechar la riqueza de las especies mexicanas de nopal y estudiar el proceso de domesticación en el género *Opuntia* ha incrementado por diversas características expuestas y discutidas por Reyes-Agüero *et al.* (2005), López-Palacios *et al.* (2012, 2015 y 2016) y García-Nava *et al.* (2015 y 2018). El género *Opuntia* también ha adquirido relevancia debido a que las proyecciones del cambio climático, relacionadas con la modificación de los patrones de precipitación, el incremento de las zonas áridas y semiáridas, con disminución de las áreas cultivables, parecen probables; por lo que, es indispensable conocer las especies que crecen y se desarrollan en esos ambientes.

De acuerdo con Peña-Valdivia *et al.* (2013) las evidencias documentadas de los cambios sucedidos durante la domesticación de especies vegetales comprenden aspectos morfológicos, y sólo existe información limitada de los procesos bioquímicos, de los que finalmente dependen la expresión morfológica y el rendimiento económico.

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la expresión del metabolismo ácido crasuláceo en el contenido de ácido málico, carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad de invertasa y potencial osmótico en cladodios jóvenes de *Opuntia* por efecto de la domesticación en un ciclo de 24 h, de plantas cultivadas en condiciones de invernadero y con restricción de humedad por 30 días. La hipótesis fue que los cambios en el contenido de ácido málico, carbohidratos, aminoácidos libres, proteínas solubles, fenoles totales, actividad de invertasa y potencial osmótico en el ciclo MAC de cladodios jóvenes de *Opuntia* a lo largo del día se relacionan directamente con el nivel de domesticación.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Material vegetal

Plantas de 6 años de edad y de siete variantes de cinco especies de *Opuntia* se mantuvieron en suelo sin riego por 30 días (Ψ_A de -5.72 MPa), en las condiciones descritas por García-Nava *et al.* (2015). Las plantas crecieron en macetas de 19 L de capacidad, las cuales contienen una mezcla de suelo y grava tezontle, distribuidas al azar en un invernadero del Postgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27' 40" N, 98° 54' 19" O, altitud de 2352 m). El potencial de agua del suelo (Ψ_A del suelo) se determinó en tres muestras de cada tratamiento con un medidor de Ψ_A (Dewpoint Potential Meter, WP4C, EE.UU.). Los cladodios analizados tuvieron 3 a 4 semanas de edad y longitud promedio de 25 cm \pm 3 cm; su cosecha fue a las 7, 11, 15, 19, 23 y 3 h. La temperatura y humedad relativa promedio dentro del invernadero, y en cada hora de muestreo, durante el crecimiento de los cladodios fueron 10° C/87 %, 40° C/25 %, 39° C/23 %, 19° C/55 %, 13° C/73%, 11° C/80 %.

Las variantes y especies con grado menor de domesticación estudiadas fueron Cardona de *O. streptacantha*, San Pedreña y Amarilla Olorosa de *O. hyptiacantha*, las de domesticación intermedia fueron Rojo Lirio y Amarillo Plátano de *O. megacantha* y las de grado mayor de domesticación fueron Naranjón Legítimo de *O. albicarpa* y Copena V1 de *O. ficus-indica*. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Biofísica y Fisiología Vegetal Ambiental del Postgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, en muestras liofilizadas (Labcono® modelo Free Zone 6, Kansas City, MO, EE.UU.) y trituradas.

3.4.2 Variables evaluadas

3.4.2.1 Ácido málico

El contenido de ácido málico se cuantificó con el método de la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC, 1990). Muestras de 10 mg se resuspendieron en 5 mL de agua destilada, se centrifugaron a 4 000 g por 10 min. Alícuotas de 2 mL del sobrenadante se titularon con NaOH 0.01 N y fenolftaleína como indicador. La concentración se calculó con la ecuación:

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

3.4.2.2 Azúcares solubles y almidón

Muestras de 25 mg de cladodio deshidratado y triturado se homogenizaron con 800 μL de etanol al 80 % en agua (v/v), calentaron a 80 °C en baño maría por una hora y centrifugaron a 13 000 g por 10 min. En 5 μL de la fracción soluble se determinó el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa, en la fracción insoluble se cuantificó el almidón. Los azúcares se cuantificaron a 340 nm, en secuencia con hexoquinasa (EC 2.7.1.1) a 1 U mL^{-1} , glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) a 1 U mL^{-1} , fosfoglucosa-isomerasa (EC 5.3.1.9) a 1 U mL^{-1} e invertasa (EC 3.2.1.26) a 1 U mL^{-1} . El extracto etanólico se mezcló con 200 μL HEPES-NaOH 500 mM (pH 8.0), KCl 200 mM, MgCl_2 200 mM, ATP 1 mM y NAD^+ 0.3 mM. Las determinaciones se hicieron en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) y una curva estándar de glucosa (0 a 5 mM) (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

Para cuantificar el almidón, la fracción insoluble se resuspendió en 750 μL de agua destilada, calentó a baño maría a 90 °C por 4 h. A las muestras se adicionó α -amilasa (EC 3.2.1.1) (0.5 U) y β -glucosidasa (EC 3.2.1.2.1) (5 U) en un medio con acetato de sodio 200 mM (pH 5.5). Las muestras se mantuvieron a 37 °C por 12 h. La glucosa se cuantificó con el método enzimático descrito antes. El factor de conversión para calcular el contenido de almidón fue 0.90 (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1991).

3.4.2.3 Fenoles totales

El contenido de fenoles totales se evaluó por el método descrito por Magalhães *et al.* (2010) con modificaciones. 25 mg de muestra se homogenizaron con 800 μL de etanol al 80 % en agua (v/v), se calentaron a 80° C en baño maría por 1 h y se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 μL del extracto etanólico se adicionaron 50 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido con agua destilada (1:20 v/v) y 100 μL de NaOH 0.175 M. La mezcla se mantuvo a 30 °C por 3 min. La absorbancia a 620 nm se determinó en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). La curva estándar de ácido gálico (0 a 1 mM) se utilizó para calcular el contenido de fenoles totales. La concentración en el tejido deshidratado se expresó en $\mu\text{mol g}^{-1}$.

3.4.2.4 Aminoácidos libres

El contenido de aminoácidos libres se cuantificó con el método modificado descrito por Jones *et al.* (2002). Muestras de 25 mg homogenizadas con 800 μL de etanol al 80 % en agua (v/v) se calentaron a 80° C, por 1 hora, en baño maría, se centrifugaron a 13 000 g por 10 min. A 50 μL del extracto etanólico se mezcló con 50 μL de etanol al 80 % y 75 μL de un medio que contenía acetato de sodio 4 M (pH 5.2), dimetil sulfoxido y ninhidrina. Las muestras se calentaron a 80 °C por 30 min, se adicionaron 100 μL de etanol al 50 % y la absorbancia se midió a 620 nm en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.). Las concentraciones se calcularon con una curva estándar de glicina (0 a 1 mM).

3.4.2.5 Proteína soluble

El contenido de proteína soluble se determinó con el método Bradford (1976) en microplacas y curva estándar de albumina de suero bovino (0 a 0.5 mg mL^{-1}).

3.4.2.6 Actividad de invertasa ácida y neutra

La actividad de la invertasa (EC 3.2.1.26) soluble ácida y neutra se determinó con el método descrito por Nägele *et al.* (2010) con algunas modificaciones. A 120 mg de muestra se adicionaron 2 mL de HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5), que contenía MgCl_2 5 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, PMSF 1 mM, mercaptoetanol 2 mM, Triton X-100 0.1 % y glicerina 10 %. La suspensión se agitó y centrifugó a 4,000 g , a 4 °C, por 15 minutos. En el sobrenadante, con 20 μg de proteína, se determinó la actividad de invertasa ácida y neutra. La primera se determinó con 50 mM de acetato de sodio (pH 4.5) y sacarosa 100 mM como sustrato. La actividad de la invertasa neutra se determinó con HEPES-KOH 50 mM (pH 7.5) y sacarosa 100 mM como sustrato. Las muestras se mantuvieron a 37 °C por una hora, luego se calentaron a 95 °C por 3 min. El pH del medio para cuantificar la actividad de invertasa ácida, previo al calentamiento, se neutralizó con HEPES-KOH (pH 7.5). Se prepararon testigos para cada ensayo. La glucosa generada en la reacción se cuantificó enzimáticamente en un espectrómetro de microplacas (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc. EE.UU.) a 340 nm (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

3.4.2.7 Potencial osmótico

Segmentos de 1 cm de diámetro, del centro de los nopalitos, se envolvieron en papel aluminio y se mantuvieron en congelación 5 días. Después las muestras se introdujeron en una jeringa hipodérmica y se mantuvieron a temperatura ambiente. Cuando las muestras estuvieron descongeladas, se hizo presión con el émbolo y una gota (aproximadamente 250 μ L) de savia se colocó sobre un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro. Este se colocó en un medidor de presión de vapor (Wescor 5520, EE.UU.). El cálculo de la presión de vapor se hizo con la igualdad descrito por Taiz y Zeiger (2010).

3.4.3 Diseño experimental y análisis de resultados

El diseño experimental fue completamente al azar, con arreglo factorial de tratamientos 5 x 6. Los factores y niveles fueron: especie (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*) y hora del día (7, 11, 15, 19, 23 y 3 h). La unidad experimental fue un cladodio de plantas independientes y las evaluaciones tuvieron número variable de repeticiones (seis o 12). Las variables analizadas fueron el contenido de ácido málico, glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales, aminoácidos libres y proteína soluble, y actividad de invertasa ácida, actividad de invertasa neutra y potencial osmótico. Las concentraciones de los compuestos se presentaron en 100 mg de tejido seco de tejido seco, a excepción de fenoles totales, la actividad de invertasa y el potencial osmótico. El análisis de los supuestos del modelo estadístico se efectuó con base en el análisis gráfico de residuales, y las pruebas Shapiro Wilks y Bartlett; las variables se transformaron cuando los supuestos no se cumplieron. Los datos se examinaron con ANDEVA, comparación múltiple de medias, entre variantes con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) con el paquete estadístico SAS V9.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Ácido málico

Las especies y hora del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de ácido málico, la interacción especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo C1). El contenido de ácido málico en el género *Opuntia* se modificó ($p \leq 0.05$) a

lo largo del día, entre las 3 y 11 h los valores fueron los mayores (1.34 mg 100 mg⁻¹) y entre las 15 y 19 h los valores fueron los menores (0.26 mg 100 mg⁻¹) (Anexo C2).

El contenido de ácido málico se modificó significativamente por la especie y hora del día en las cinco especies. En todas ellas del contenido máximo de ácido se registró a las 7 h. En *O. albicarpa*, que es una especie con nivel alto de domesticación, el contenido promedio fue mayor (1.61 mg 100 mg⁻¹) y *O. ficus-indica*, también con nivel alto de domesticación, el contenido del ácido fue el menor (1.17 mg 100 mg⁻¹) (Figura 3.1).

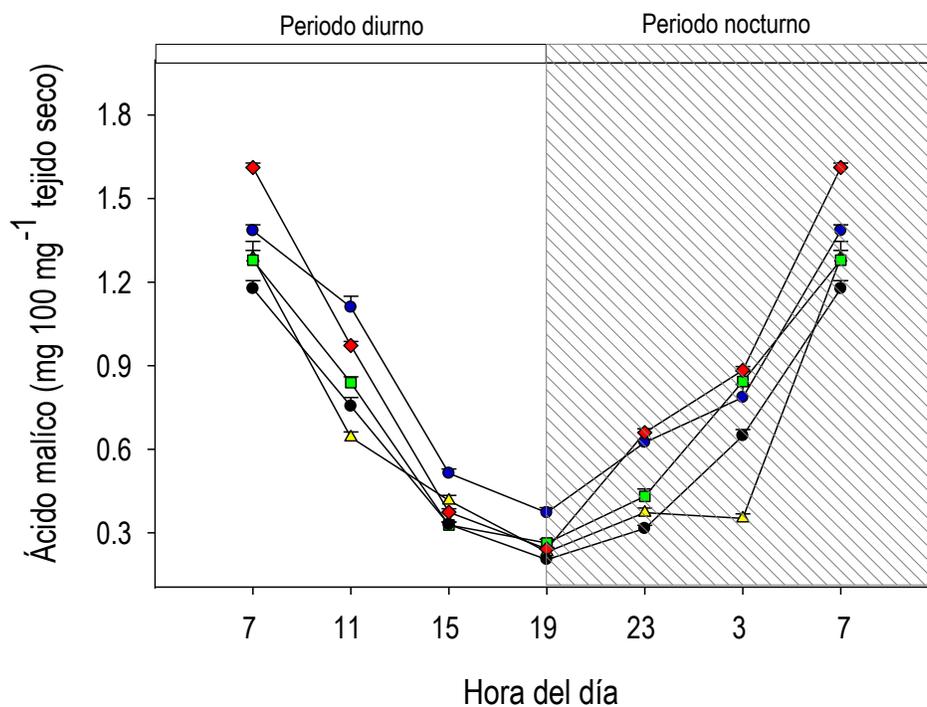


Figura 3.1. Contenido de ácido málico (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (△), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●), cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

El contenido de ácido málico disminuyó ($p \leq 0.05$), de las 7 a las 19 h. La disminución promedio en las especies representó entre 73.11 % en la especie silvestre *O. streptacantha* y 83.77 % en las especies con grado mayor de domesticación *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 3.1).

A partir de las 19 h el contenido de ácido málico incrementó paulatinamente, con excepción de *O. hyptiacantha* que mantuvo los niveles bajos ($p = 0.05$) entre las 19 y 3 h (Figura 3.1).

3.5.2 Glucosa

Las especies y las horas del día tuvieron efectos diferentes ($p \leq 0.05$) en el contenido de glucosa. La interacción especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido del monosacárido (Anexo C1). En el género *Opuntia* los valores mayores de glucosa ($7.28 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) se presentaron entre las 19 y 23 h y los menores ($5.45 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$) entre las 7 y 11 h (Anexo C2).

El contenido de este monosacárido se modificó ($p \leq 0.05$) por efecto de la especie y hora del día. Ambas especies con grado mayor de domesticación presentaron al inicio del periodo diurno (7 a 11 h) los contenidos menores ($p \leq 0.5$) de glucosa respecto al nocturno y al resto de las especies. Las dos especies silvestres presentaron sus contenidos menores de glucosa en el periodo nocturno, a las 3 h. En contraste, la glucosa se acumuló en las especies hacia el final del periodo diurno, 15 a 19 h, inclusive *O. albicarpa* y *O. ficus indica* mantuvieron alto el contenido de este azúcar hasta las 23 h (Figura 3.2).

En ambas especies con grado de domesticación mayor el contenido de glucosa incrementó y mostró los aumentos mayores ($p \leq 0.05$) del monosacáridos desde cerca del doble hasta cerca de cinco veces los contenidos nocturnos respecto a los diurnos. En contraste, las especies silvestres registraron los contenidos mayores de glucosa y las variaciones menores a lo largo del día (Figura 3.2).

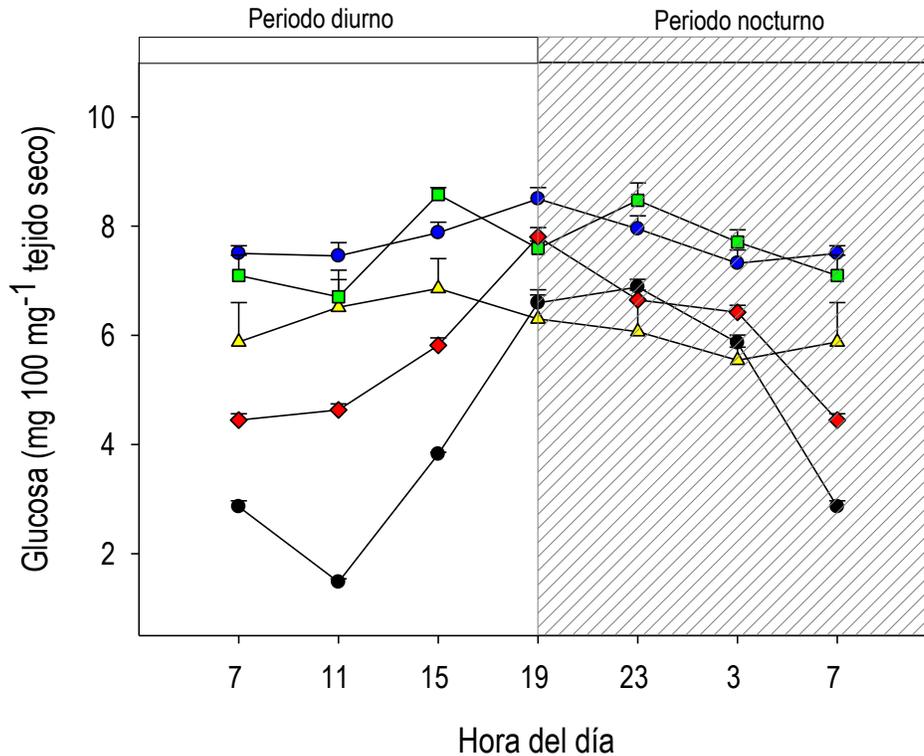


Figura 3.2. Contenido de glucosa (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (△), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

3.5.3 Fructosa

Las especies y las horas del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de fructosa y la interacción especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$). (Anexo C1). En el género *Opuntia* el contenido de fructosa fue diferente ($p \leq 0.05$) debido a la hora del día; en promedio los valores máximos (6.72 mg 100 mg⁻¹) se presentaron a las 19 h y los menores (4.70 mg 100 mg⁻¹) al amanecer (Anexo C2).

El contenido de fructosa se modificó ($p \leq 0.05$) por efecto de la especie y hora del día. Los cambios en el contenido de fructosa de ambas especies con nivel mayor de domesticación, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, fue similar y las diferencias se detectaron en los contenidos, en los que la última especie mostró hasta 50 % menos ($p \leq 0.05$) azúcar que *O. albicarpa* en el ciclo completo de 24 h. Además, *O. ficus-indica* mostró las

concentraciones menores ($p \leq 0.05$) del grupo de especies en el periodo diurno y *O. streptacantha* registró las concentraciones mayores en el mismo periodo, las diferencias representaron en promedio 33 % en el periodo nocturno hasta más de tres veces en el periodo diurno (Figura 3.3).

Una tendencia relacionada con el gradiente de domesticación se observó en el contenido máximo de fructosa. La hora del día de acumulación máxima de este azúcar se modificó durante la domesticación. En las especies silvestres los máximos (7.59 y 5.82 mg 100 mg⁻¹ en *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*) se presentaron a las 11 h, el máximo (7.67 mg 100 mg⁻¹) en la especie semidomesticada (*O. megacantha*) se presentó a las 15 h, y en las especies con nivel mayor de domesticación las concentraciones máximas de fructosa se presentaron hasta las 19 h (6.89 y 5.97 mg 100 mg⁻¹) en *O. albicarpa* y *O. ficus indica* (Figura 3.3).

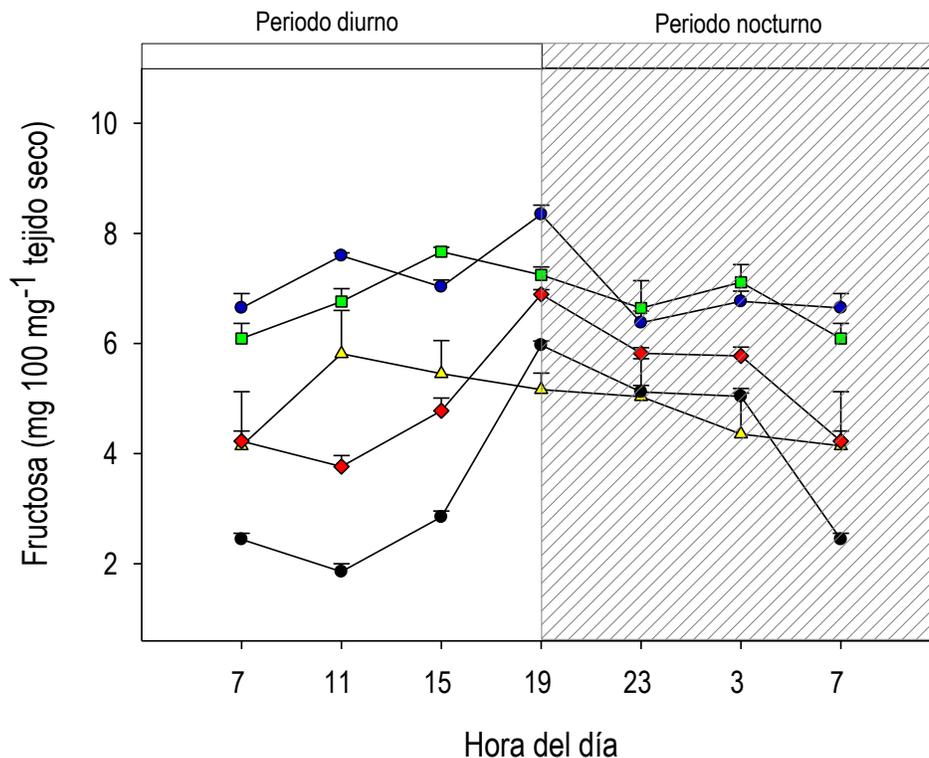


Figura 3.3. Contenido de fructosa (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

3.5.4 Sacarosa

Las especies y las horas del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de sacarosa y la interacción entre especie y hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido del disacárido (Anexo C1). El contenido promedio de sacarosa en el ciclo de 24 h mostró que durante la domesticación la concentración de sacarosa en los cladodios ha disminuido ($p \leq 0.05$) desde 4.39 mg 100 mg⁻¹ en la especie silvestre *O. streptacantha* hasta 2.51 mg 100 mg⁻¹ en la especie domesticada *O. ficus-indica* y que las concentraciones mayores del disacárido (3.84 mg 100 mg⁻¹) se presentan en el periodo nocturno, alrededor de la 3 h y disminuye en el periodo diurno, alrededor de las 11 h, hasta 15 % (Anexo C2).

El contenido de sacarosa se modificó ($p \leq 0.05$) por la hora del día y por la especie. El contenido mínimo de sacarosa varió entre 1.43 mg 100 mg⁻¹ en *O. ficus-indica* y 3.96 mg 100 mg⁻¹ en *O. streptacantha* y los valores disminuyeron en relación opuesta al nivel de domesticación en las cinco especies. En las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* y en la semidomesticada *O. megacantha* los contenidos mínimos de sacarosa se presentaron hacia el final de la fase diurna e inicio de la nocturna (15 y 19 h) y en las domesticadas *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* el contenido mínimo se detectó en plena fase diurna, a las 11 h (Figura 3.4).

El contenido máximo del disacárido varió entre 3.22 mg 100 mg⁻¹ en *O. ficus-indica* y 4.74 mg 100 mg⁻¹ en *O. streptacantha* y los valores disminuyeron en relación opuesta al nivel de domesticación, con excepción de *O. hyptiacantha* que presentó contenido inferior a la tendencia. En las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* esos contenidos máximos se presentaron al inicio de la fase diurna (7 y 11 h); en contraste, en las especies con nivel intermedio y mayor de domesticación las concentraciones mayores del disacárido se detectaron en la fase nocturna (23 y 3 h) (Figura 3.4).

Las fluctuaciones en el contenido de sacarosa a lo largo del día se observaron mínimos en las especies silvestres y menos domesticadas y en *O. streptacantha* describió una

línea cercanamente lineal; en contraste las fueron pronunciadas en las especies domesticadas (Figura 3.4).

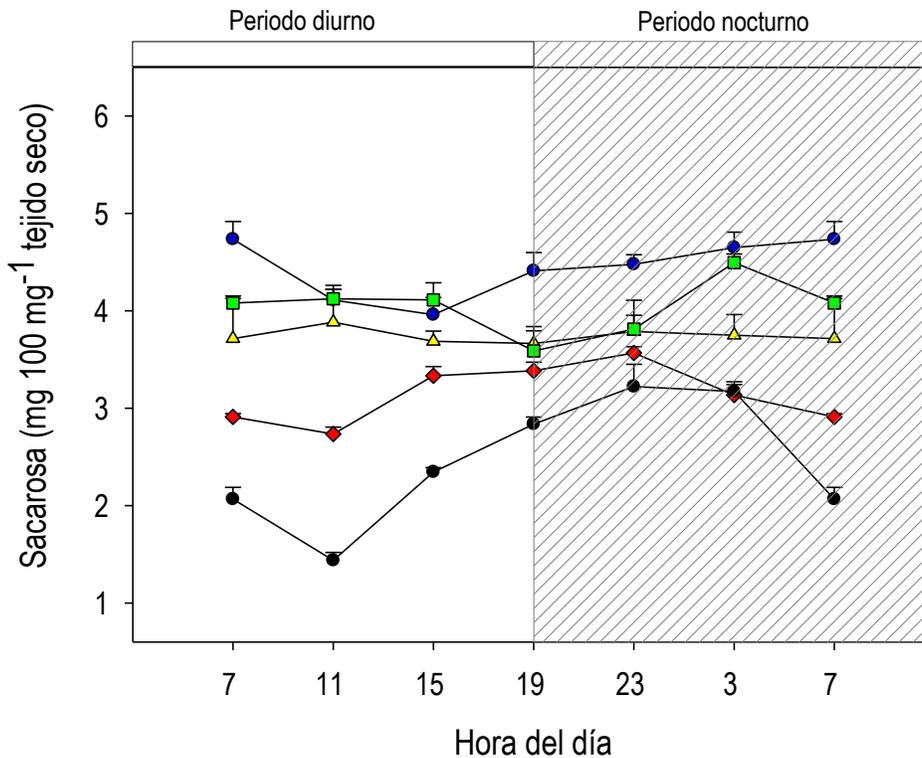


Figura 3.4. Contenido de sacarosa (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

3.5.5 Almidón

Las especies y las horas del día afectaron significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de almidón y la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo C1). El contenido promedio de almidón en el ciclo diurno-nocturno mostró que durante la domesticación los cladodios han incrementado ($p \leq 0.05$) la presencia del polisacárido, desde 1.20 mg 100 mg⁻¹ en la especie silvestre *O. streptacantha* hasta 1.77 mg 100 mg⁻¹ en la especie con nivel mayor de domesticación. Además, en promedio los cladodios del género *Opuntia* mantienen contenido menor de almidón (1.16 mg 100 mg⁻¹; $p \leq 0.05$) en pleno periodo nocturno, a las 3 h y acumulan más almidón (1.87 mg 100

mg⁻¹; $p \leq 0.05$) hacia el final de la etapa diurna (15 h), que representa hasta 60 % de acumulación (Anexo C2).

El contenido de almidón se modificó ($p \leq 0.05$) por la hora del día y por la especie. El contenido mínimo del polisacárido varió con el gradiente de domesticación, de 0.73 mg 100 mg⁻¹ en *O. streptacantha* y cerca del doble (1.13 mg 100 mg⁻¹) en *O. ficus-indica*. Los contenidos mínimos de almidón en las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* y en la semidomesticada *O. megacantha* se presentaron al inicio de la fase diurna (7 h); en contraste, en las domesticadas *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* el contenido mínimo se detectó en plena fase nocturna, a las 3 h (Figura 3.5).

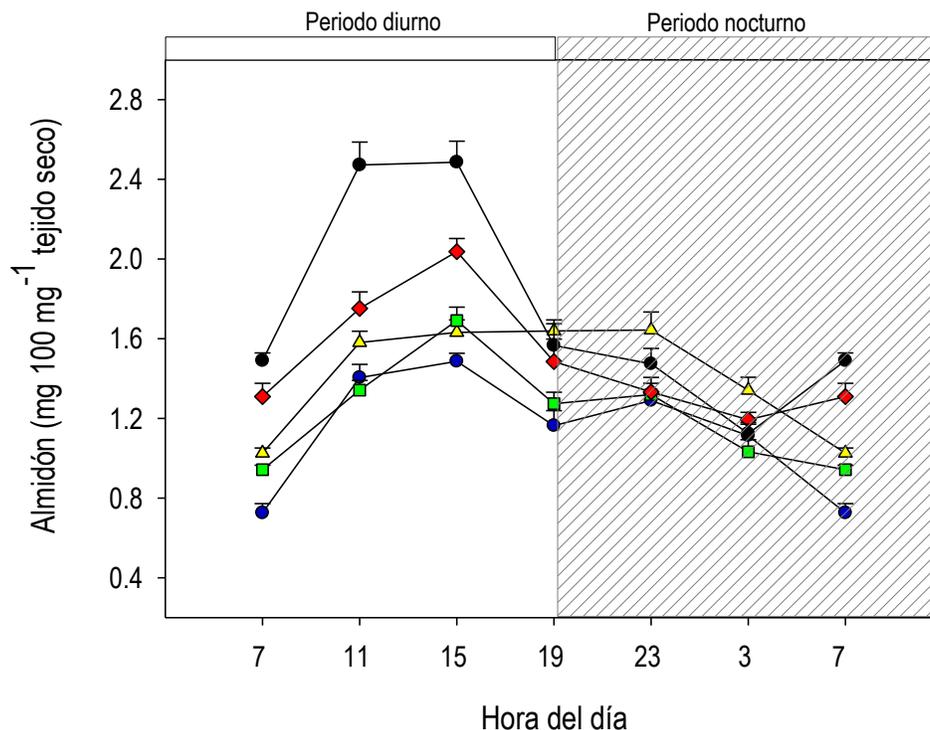


Figura 3.5. Contenido de almidón (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

El contenido máximo del polisacárido varió con el gradiente de domesticación entre 1.49 mg 100 mg⁻¹ en *O. streptacantha* a 2.49 mg 100 mg⁻¹ en la especie con nivel mayor de domesticación *O. ficus-indica*. Con excepción de *O. hyptiacantha*, que presentó el contenido mayor de almidón en el periodo nocturno, las especies de *Opuntia* presentaron el contenido mayor de almidón hacia el final de la fase diurna (15 h) (Figura 3.5).

Las diferencias y fluctuaciones en el contenido de almidón dentro y entre las especies en el ciclo diurno-nocturno fueron mayores en el periodo diurno y tendieron a disminuir o igualarse en el periodo nocturno (Figura 3.5).

3.5.6 Fenoles totales

Las especies y las horas del día mostraron efectos diferentes y significativos ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles totales; además, la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo C1). El contenido promedio de estos compuestos en el ciclo diurno-nocturno mostró su disminución ($p \leq 0.05$) por efecto de la domesticación progresiva en los cladodios, desde 20.75 $\mu\text{molas g}^{-1}$, en la especie silvestre *O. streptacantha*, hasta 16.59 $\mu\text{molas g}^{-1}$ en la especie con nivel mayor de domesticación *O. ficus-indica*. Aunque, en la especie el contenido de fenoles totales se modificó durante el ciclo diurno-nocturno no se identificó algún patrón (Anexo C2).

El contenido mínimo de fenoles totales disminuyó entre las especies en relación opuesta al nivel de domesticación, desde 19.80 $\mu\text{molas g}^{-1}$ en *O. streptacantha* hasta 14.28 $\mu\text{molas g}^{-1}$ en *O. ficus-indica* y se presentaron en el periodo diurno, a las 15 h en la mayoría de las especies (Figura 3.6).

El contenido máximo de fenoles totales en el ciclo diurno-nocturno varió ($p \leq 0.05$) entre las especies; aunque, las diferencias no mostraron una relación directa con el nivel de domesticación, la especie domesticada *O. ficus-indica* presentó 6 % menos fenoles totales que la especie silvestre *O. streptacantha* (20.52 y 21.75 $\mu\text{molas g}^{-1}$) y, en general, los contenidos mayores de estos compuestos se presentaron en la fase nocturna o al final de esta (3 o 7 h) en las cinco especies (Figura 3.6).

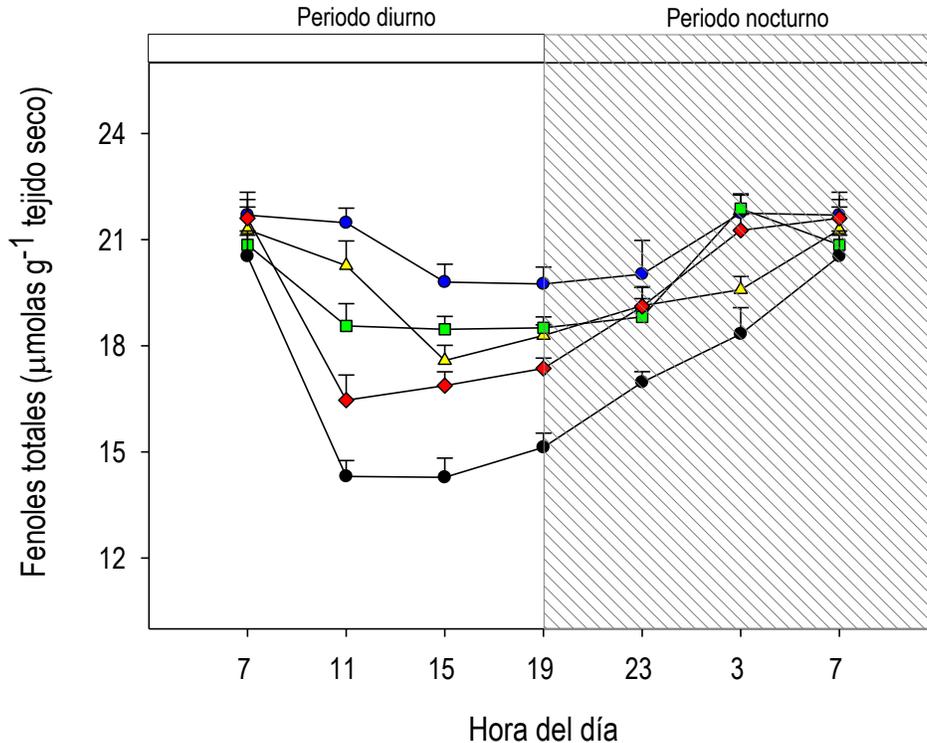


Figura 3.6. Contenido de fenoles totales (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (△), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días ($n= 6$ o 12).

Las diferencias y fluctuaciones en el contenido de fenoles totales dentro y entre las especies en el ciclo diurno-nocturno fueron mayores en el periodo diurno y tendieron a disminuir en el periodo nocturno (Figura 3.6).

3.5.7 Aminoácidos libres

Las especies y las horas del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de aminoácidos libres y la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo C1). El contenido promedio de aminoácidos libres en el ciclo diurno-nocturno del género *Opuntia* mostró que durante la domesticación el contenido de estos compuestos ha disminuido ($p \leq 0.05$), desde 0.120 mg 100 mg⁻¹ en la especie silvestre *O. streptacantha* hasta 0.053 mg 100 mg⁻¹ en la especie con nivel mayor de domesticación. Además, en promedio los cladodios del género *Opuntia* mantienen

contenido menor de estos compuestos nitrogenados ($0.070 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$; $p \leq 0.05$) en la etapa nocturna (23 h) y al amanecer (7 h) acumulan más aminoácidos libres ($0.081 \text{ mg } 100 \text{ mg}^{-1}$; $p \leq 0.05$) (Anexo C2).

El contenido de aminoácidos libres se modificó significativamente por la especie y hora del día. En *O. streptacantha* los contenidos mínimo y máximo en el ciclo diurno-nocturno fueron significativamente mayores respecto a las otras especies. Los valores extremos se presentaron en las especies en los extremos del gradiente de domesticación. *Opuntia streptacantha* mostró a las 23 h la concentración mínima de aminoácidos libres y a las 15 h la concentración máxima; en contraste *O. ficus-indica* presentó entre 50 y 55 % menos de estos compuestos (Figura 3.7).

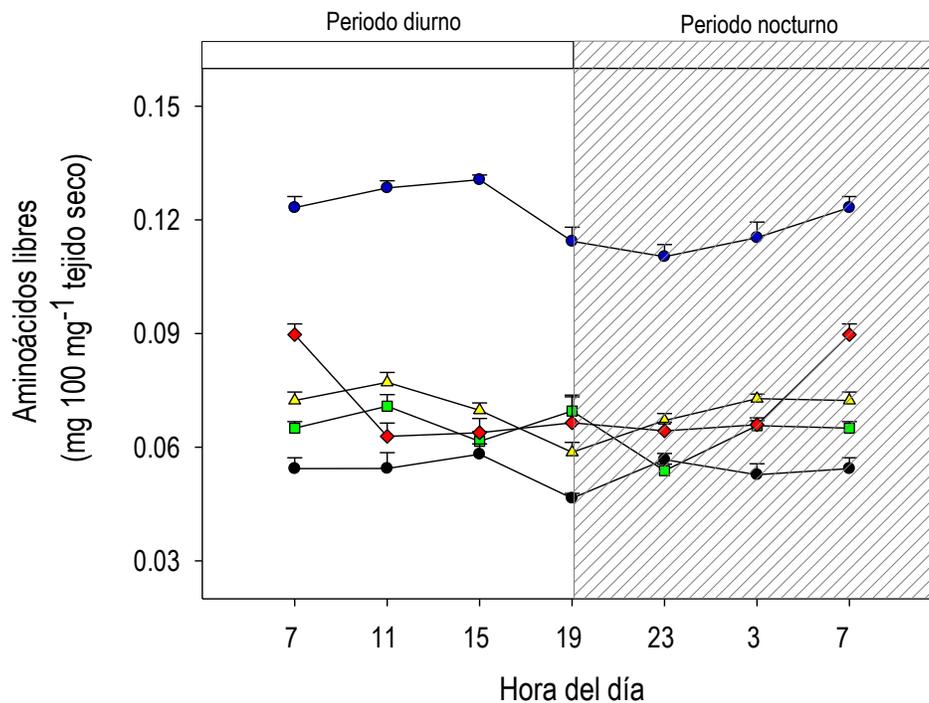


Figura 3.7. Contenido de aminoácidos libres (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días ($n= 6$ o 12).

3.5.8 Proteína soluble

Las especies y las horas del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en el contenido de proteína soluble y la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el contenido de proteína soluble (Anexo C1). Los cambios del contenido de proteína soluble en el ciclo diurno-nocturno del género *Opuntia* no mostraron alguna relación dependiente de la domesticación. El contenido promedio de proteína soluble en el género varió ($p \leq 0.05$) entre 0.613 y 0.750 mg 100 mg⁻¹ y se modificó ($p \leq 0.05$) con la hora del día. En promedio, el contenido menor de proteína soluble (0.393 mg 100 mg⁻¹) en el género se presentó al amanecer y el máximo (0.944 mg 100 mg⁻¹) al finalizar la fase diurna (19 h) (Anexo C2).

En las cinco especies el contenido mínimo de proteína soluble se detectó al final del periodo nocturno (7 h) y esos contenidos fueron similares ($p > 0.05$) entre las especies, con excepción de *O. ficus-indica* que presentó 35 % menos proteína que las otras especies. El contenido mayor de proteína soluble incrementó en las cinco especies durante el periodo diurno y alcanzó los valores máximos al final de este periodo (19 h), esos variaron ($p \leq 0.05$) entre las especies en orden diferente al gradiente de domesticación. El contenido de proteína soluble decayó significativamente del inicio de la etapa nocturna al final de esta en las cinco especies; aunque, en *O. hyptiacantha* el valor alto se mantuvo en la mayor parte de esta etapa (Figura 3.8).

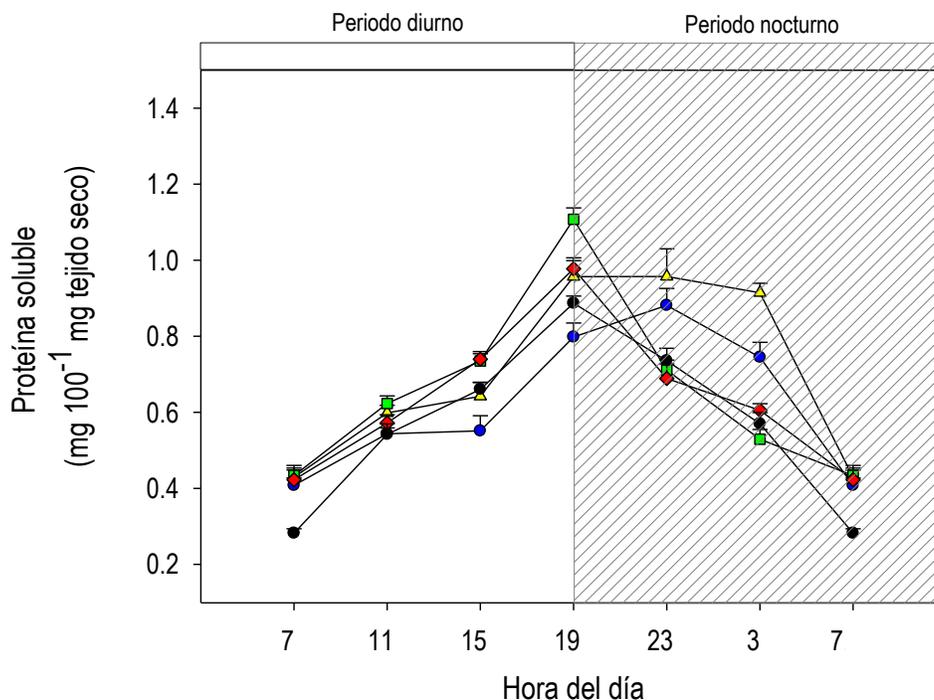


Figura 3.8. Contenido de proteínas solubles (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días ($n= 6$ o 12).

3.5.9 Actividad de invertasa ácida

Las especies y las horas del día produjeron efecto diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa ácida y la interacción entre la especie x la hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) (Anexo C1). Los cambios en la actividad promedio de la invertasa ácida del ciclo diurno-nocturno mostraron disminución significativa ($p \leq 0.05$) con el nivel de domesticación del género *Opuntia*. La actividad promedio varió de 6.23 a 5.35 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. La actividad promedio de invertasa ácida cambió en el ciclo de 24 h, de 5.21 a 6.29 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, entre las 3 y 15 h, si un patrón en el ciclo de 24 h (Anexo C2).

La actividad mínima de invertasa ácida entre las especies mostró disminución ($p \leq 0.05$) relacionada con el nivel de domesticación, de 5.80 a 4.35 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en las especies

silvestre y con nivel mayor de domesticación, *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. La actividad de invertasa ácida mínima se detectó en la etapa diurna (alrededor de las 15 h) en las cinco especies (Figura 3.9 A).

La actividad máxima de invertasa ácida entre las especies fueron similares ($p > 0.05$) en el grupo de especies (6.39 a 6.76 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$). Esta actividad máxima en las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* se presentó más temprano (al amanecer y al inicio de la etapa nocturna) que en la especie con nivel intermedio y mayor de domesticación (3 h) (Figura 3.9 A).

3.5.10 Actividad de invertasa neutra

Las especies y las horas del día afectaron diferente ($p \leq 0.05$) en la actividad de invertasa neutra y la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en esta actividad enzimática (Anexo C1). La actividad promedio de invertasa neutra del ciclo diurno-nocturno completo mostró disminución significativa ($p \leq 0.05$) con el nivel de domesticación del género *Opuntia*. La actividad promedio del ciclo de 24 h varió de 5.8 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en las dos especies silvestres y con nivel intermedio de domesticación a 5.4 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ en ambas especies con grado mayor de domesticación. Además, esos valores promedio cambiaron en el ciclo diurno-nocturno, las actividades mayores se presentaron en la tarde y al final de la etapa diurna (15 y 19 h) (Anexo C2).

La actividad mínima de invertasa neutra en las especies disminuyó ($p \leq 0.05$) en las especies domesticadas respecto a las silvestres, de 5.30 a 4.30 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$. Esta actividad invertasa neutra mínima se detectó al inicio de la etapa diurna (7 h) en las cinco especies (Figura 3.9 B). La actividad máxima de invertasa neutra en las cinco especies vario ($p > 0.05$) de 6.00 a 6.69 nmolas $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, sin alguna tendencia reconocible en dependencia del nivel de domesticación; además, esa actividad mayor en las cinco especies se registró en un periodo de 12 h, desde las 15 hasta las 3 h, sin una tendencia definida (Figura 3.9 B).

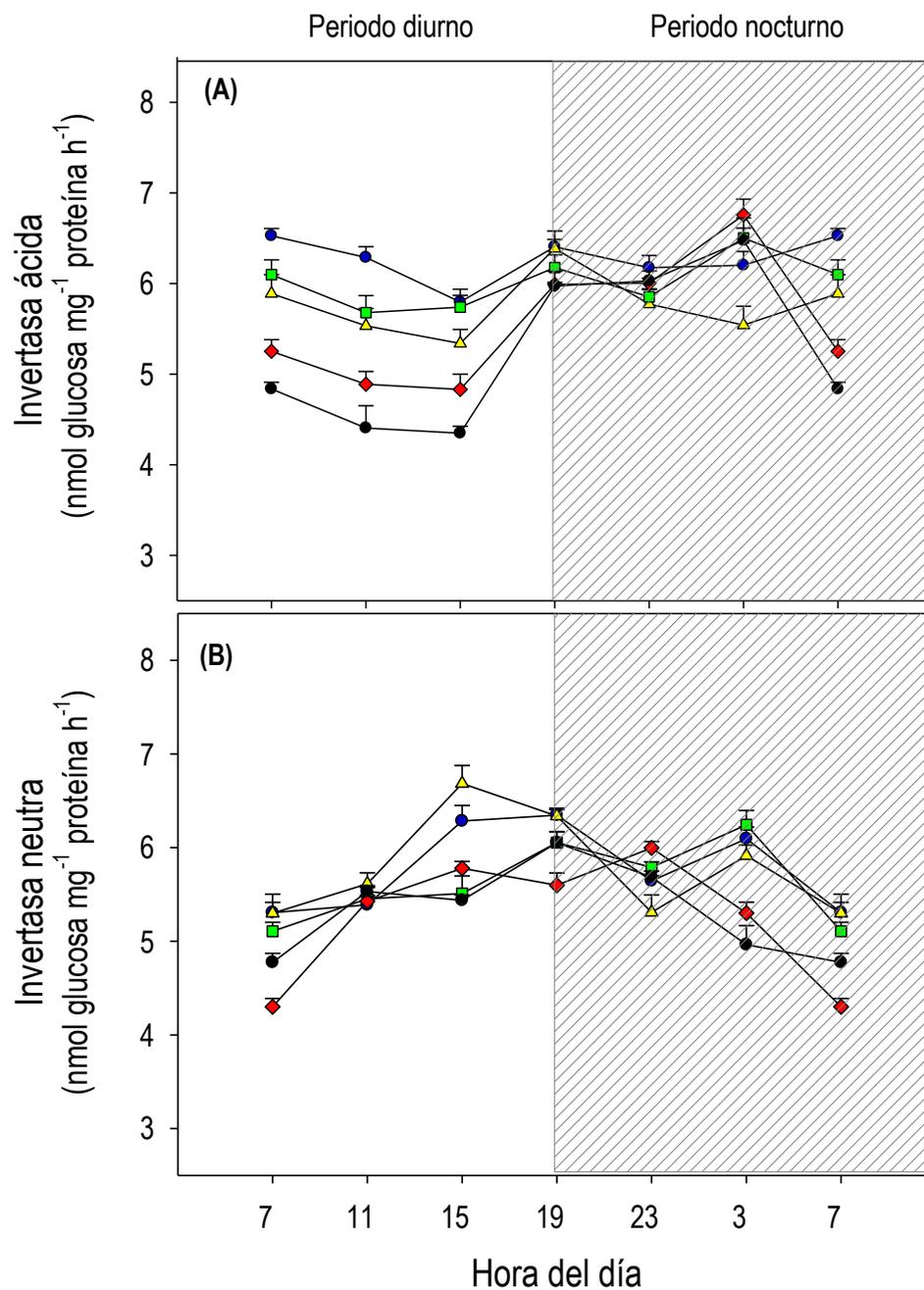


Figura 3.9. Actividad de invertasa ácida (A) e invertasa neutra (B) (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

3.5.11 Potencial osmótico (Ψ_s)

Las especies y las horas del día afectaron diferente ($p \leq 0.05$) el potencial osmótico y la interacción entre especie x hora del día fue altamente significativa ($p \leq 0.0001$) en el Ψ_s (Anexo C1). El promedio del Ψ_s del ciclo diurno-nocturno completo disminuyó ($p \leq 0.05$) con el nivel de domesticación del género *Opuntia*, de -0.84 MPa en las especies domesticadas *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* a -0.93 MPa en la especie silvestre *O. streptacantha*. Los Ψ_s promedio del ciclo de 24 h fueron mayores (entre -0.74 y -0.76 MPa) a las 11 y 19 h y menores (entre -0.95 y -0.97 MPa) en el periodo nocturno (entre las 23 y 7 h) (Anexo C2).

El Ψ_s mínimo en el ciclo de 24 h se modificó ($p \leq 0.05$) con el gradiente de domesticación, de -0.93 MPa en la especie domesticada a -1.03 MPa en la especie silvestre. La tendencia general del Ψ_s mínimo de las especies se detectó en plena etapa nocturna o al final de ella (3 y 7 h) en las cinco especies (Figura 3.10).

El Ψ_s máximo en el ciclo de 24 h se modificó ($p \leq 0.05$) con el gradiente de domesticación, de -0.80 MPa en la especie silvestre *O. streptacantha* a -0.66 MPa en las especies domesticada *O. albicarpa*. Los Ψ_s máximos se detectaron en la etapa diurna, a las 11 y 19 h en las cinco especies (Figura 3.10).

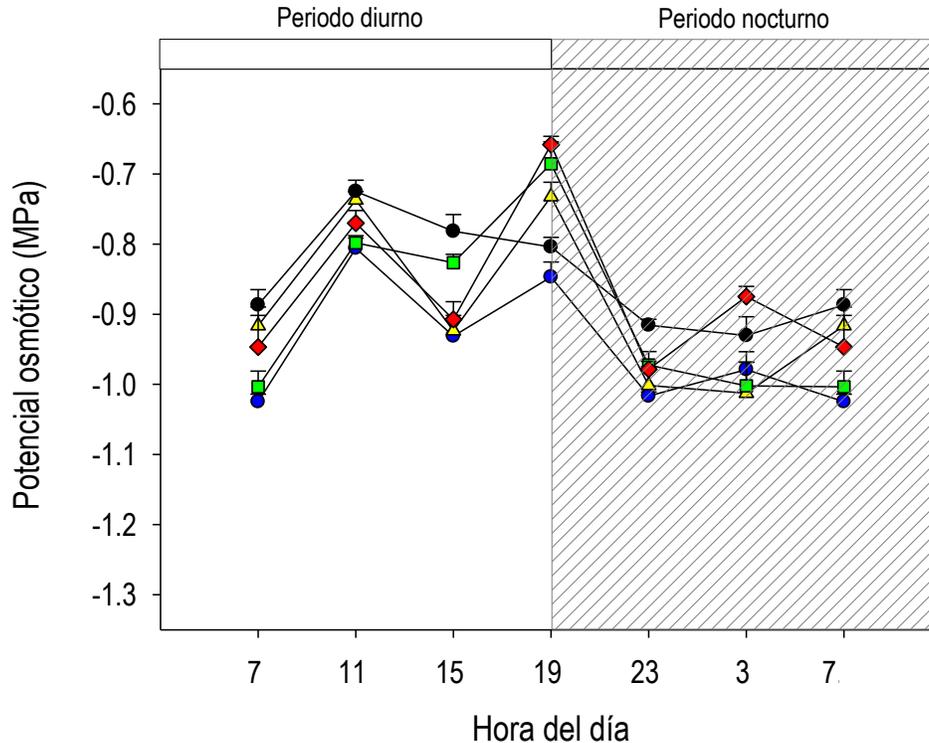


Figura 3.10. Potencial osmótico (+ e.e.) en cladodios de *Opuntia streptacantha* (●), *O. hyptiacantha* (▲), *O. megacantha* (■), *O. albicarpa* (◆), *O. ficus-indica* (●) cultivados en invernadero y sin riego (Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa) por 30 días (n= 6 o 12).

3.6 DISCUSIÓN

El contenido máximo de ácido málico en las cinco especies fue más alto al final del periodo nocturno o inicio del diurno (7 h). Además, los contenidos mínimos de todas las especies se detectaron al final de periodo diurno o inicio del nocturno (19 h). Estos cambios son propios de las plantas CAM típicas (Osmond, 1978; Nobel, 1988). En el periodo nocturno, a las 23 h, la especie con nivel mayor de domesticación, *O. ficus-indica*, acumuló 50 % menos ácido málico que la silvestre *O. streptacantha*. Además, esta última especie presentó los contenidos mayores de ácido málico. La diferencia en la acidez en las especies de *Opuntia* puede deberse a varios factores. Winter *et al.* (2015) documentaron que la contribución en la fijación nocturna CO_2 puede variar en dependencia de la especie, las condiciones ambientales y el estado de desarrollo. Es el caso del aumento en la fijación nocturna de CO_2 en especies MAC, como *Opuntia*, como

respuestas a la sequía; el aumento se refleja en el incremento del contenido de ácido málico, en las primeras horas del día (Dodd *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2008).

La descarboxilación del malato en el citosol inicia en las primeras horas con luz, el contenido de ácido mallico disminuye conforme el día transcurre, como se evidenció en este estudio; la disminución del ácido, como resultado de su descarboxilación mantiene la producción diurna de carbohidratos a través del ciclo de Calvin-Benson; en esta fase de descarboxilación los estomas permanecen cerrados, con lo que la pérdida de agua por transpiración se reduce (Drennan y Nobel, 2000; Taybi *et al.*, 2002; Borland *et al.*, 2014; Winter *et al.*, 2015). En el presente estudio, además de las diferencias en el contenido de ácido málico, durante el periodo diurno ese contenido disminuyó gradualmente en las cinco especies y a las 11 h la reducción promedio alcanzó 36 %, pero fue diferente entre las especies, las más domesticadas, *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* disminuyeron 32 y 12 % respecto a *O. streptacantha*. A esta hora del día, ambas especies domesticadas además presentaron los contenidos menores de glucosa, fructosa y sacarosa y los mayores de almidón. Estos cambios están relacionados con los cambios en la actividad metabólica durante la domesticación.

De acuerdo con Cushman *et al.* (2008) los monosacáridos y disacáridos muestran patrones de acumulación opuestos al patrón de acumulación de los ácidos orgánicos. Este efecto se presentó en las cinco especies con intensidades diferentes. En general la especie silvestre y la domesticada en los extremos del gradiente mostraron los contrastes menores y mayores respectivamente en el citado patrón. Aunque la disminución diurna del contenido de ácido málico fue drástica en las cinco especies, las especies silvestres presentaron cambios menos conspicuos en la concentración de los azúcares. *Opuntia ficus-indica*, como las demás especies, mantuvo los cambios diurno-nocturnos típicos MAC en la concentración del ácido málico. Sin embargo, *O. ficus-indica*, acumuló entre 15.01 y 35.76 % menos del ácido en el periodo diurno y entre 17.51 y 49.49 % en el periodo nocturno respecto a la especie silvestre *O. streptacantha*. Las diferencias también se observaron en ambas especies en el contenido de azúcares; pero, fueron

mayores en la etapa diurna respecto a la nocturna en esas especies. Por ejemplo, en plena etapa diurna, a las 11 h, *O. ficus-indica* contenía 80.14, 75.57 y 65.01 % menos glucosa, fructosa y sacarosa respecto a *O. streptacantha* y a las 23 h esos porcentajes disminuyeron a 13.43, 19.73 y 28.01; aunque, los patrones de cambio de los tres azúcares en el ciclo diurno-nocturno completo fueron en general similares entre las dos especies (Figuras 3.2 a 3.4).

La sacarosa puede movilizarse desde los tejidos fuente, como los cladodios jóvenes, a otros tejidos que la demanden como fuente de carbono y energía para crecimiento o mantenimiento de actividades fisiológicas, canalizarse a compartimentos subcelulares específicos, almacenarse, o metabolizarse para almacenarse como polisacáridos de reserva. Lo anterior dependerá de factores intrínsecos a la planta, como etapa de desarrollo, y extrínsecos, como disponibilidad de humedad (Reca *et al.*, 2008; Wind *et al.*, 2010). Los cambios en la concentración de sacarosa y de otros azúcares en el ciclo diurno-nocturno aporta información de la dinámica de uso de C por los cladodios. Como en el contenido de glucosa y fructosa, las cinco especies contrastaron en el contenido global de sacarosa, probablemente a las 11 h, la sacarosa sintetizada en las especies con grado mayor domesticación, fue transportada a través del floema a tejidos que lo demandaron (Ruan *et al.*, 2010), utilizado para su crecimiento, hidrolizada por invertasas o bien, estas especies presentan niveles diferentes en la biosíntesis de sacarosa.

Las invertasas hidrolizan irreversiblemente a la sacarosa en hexosas (Roitsch y González, 2004; Ruan *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014). La actividad de invertasa neutra a las 15 h mostró diferencias significativas entre las especies, los valores mayores se registraron en las especies silvestres y esta actividad no correspondió con contenidos mayores de glucosa y fructosa ni contenidos menores de sacarosa. La invertasa neutral/alcalina o invertasa citosólica/plastídica/mitocondrial está principalmente en el citosol y en cloroplastos (Vargas *et al.*, 2008), mitocondrias y núcleo (Vargas y Salerno, 2010). Por lo que esta actividad depende de condiciones diversas en regiones subcelulares distintas y estas parecen ser diferentes entre las especies con grado de domesticación también diferente. Con respecto a la actividad de invertasa ácida, a las 15

h mostró diferencias significativas entre las especies y las especies con grado mayor de domesticación presentaron 26 % menos de esta actividad respecto a las especies silvestres. El contenido menor de sacarosa en estas especies correspondió con la actividad menor de esta enzima; y la glucosa y fructosa, productos derivados de la hidrólisis también se mantuvieron en niveles bajos en las especies más domesticadas. Esto concordó con las condiciones menos ácidas en la vacuola, por la caída del contenido de ácido málico en el periodo diurno y la disminución del pH, que es la condición en la que la actividad de la invertasa ácida decae. La invertasa ácida es una enzima con actividad en la vacuola (Roitsch y González, 2004; Vargas *et al.*, 2007). El nivel de sacarosa altera la cantidad de sus metabolitos derivados y su señalización específica, y está determinado por el equilibrio entre su biosíntesis y degradación (Wind *et al.*, 2010; Moghaddam y Van den Ende, 2013).

El contenido menor de sacarosa en las especies con grado mayor de domesticación en etapa diurna temprana parece relacionarse con su consumo nocturno mayor para el mantenimiento celular, para el crecimiento nocturno o ambos (Cushman y Borland, 2002; Andrade *et al.*, 2007). Sin embargo, a esa hora de muestreo las especies silvestres y con domesticación intermedia, presentaban contenidos de sacarosa significativamente mayores, por lo que probablemente alguna proporción del disacárido en estas especies (grado menor de domesticación) no proviene de su biosíntesis en las horas de luz, sino como un mecanismo para el mantenimiento de esqueletos de carbono proporcionado en la fase oscura. La sacarosa se sintetiza en el citosol a partir de carbón fijado fotosintéticamente, de reservas de almidón o de lípidos (Wind *et al.*, 2010).

Zeeman *et al.* (2004, 2010) indicaron que puede haber almidón en los cloroplastos de tejidos fotosintéticos, como los cladodios jóvenes de este estudio, simultáneamente con la síntesis de sacarosa. La cantidad de fotoasimilados sintetizados y reasignados varía entre especies (Zeeman y Rees, 1999). Algunos autores proponen dos modelos en el flujo de C para plantas MAC, las especies que predominantemente acumulan almidón, como *Kalanchoë daigremenotiana* y *Mesembryanthemum crystallinum* y las que predominantemente acumula azúcares solubles, como *Ananas comosus* y *Clusia minor*

(Black *et al.*, 1996; Dood *et al.*, 2002; Antony y Borland 2009; Borland *et al.*, 2016). Los resultados en del presente estudio indican que las cinco especies de *Opuntia* mantienen contenidos significativamente más alto de sacarosa con respecto al contenido de almidón; el polisacárido representó 40 % del promedio total de sacarosa acumulada en las cinco especies. Particularmente, en *O. streptacantha* el contenido promedio de almidón representó 27 % que el de sacarosa, en *O. hyptiacantha* fue 39 %, en *O. megacantha* fue 31 %, en *O. albicarpa* fue 48 % y en *O. ficus-indica* fue 70 %. Prácticamente, durante el ciclo diurno-nocturno completo el contenido de sacarosa fue significativamente más alto que el de almidón en las cinco especies.

El contenido de almidón se incrementó en las primeras horas del ciclo diurno, entre las 7 y las 15 h. El aumento promedio para las especies silvestres y con domesticación intermedia representó 80 % respecto al contenido del final de la fase nocturna, en las especies con nivel mayor de domesticadas representó 60 %. En particular *O. ficus-indica* acumuló 68 % más almidón que *O. streptacantha*. Este comportamiento coincidió con el incremento de la actividad de la rubisco descrito en *Kalanchoe daigremontiana*. En esta especie la actividad rubisco aumentó gradualmente durante las horas con luz y la máxima concentración de 3 o 4 h antes del final del fotoperíodo (Griffiths *et al.*, 2002).

Durante la descarboxilación del malato se sintetizan carbohidratos a través de la gluconeogénesis; esto impone un costo energético alto, pero asegura la producción del sustrato que se usa unas horas después para la carboxilación nocturna y producción de “esqueletos” hidrocarbonados que se dirige al crecimiento (Antony y Borland, 2009). El incremento de azúcares, a lo largo del periodo con luz fue evidente. Así, *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* duplicaron su contenido de sacarosa hacia el final del fotoperíodo. Esto contrastó con los contenidos significativamente menores que acumularon las especies silvestres y con domesticación intermedia; pero, estas especies mantuvieron contenidos significativamente mayores de azúcares en el ciclo diurno-nocturno completo. Específicamente, *O. streptacantha* acumuló 50 % más glucosa, fructosa y sacarosa que *O. ficus-indica*. Además, las especies silvestres y con menor domesticación presentaron fluctuaciones mínimas en su contenido de azúcares el ciclo diurno-nocturno completo. El

incremento del contenido de glucosa y fructosa en las especies domesticadas, en el periodo nocturno puede ser debido a una acción combinada de las invertasas, la actividad de la invertasa neutra fue incrementando durante las horas con luz, con actividad mayor a las 15 h; el aumento promedio en las especies silvestres fue de 22 %, y en promedio 24 % en las especies domesticadas. A las 15 h, las especies silvestres tenían un 16 % más actividad de invertasa que las especies domesticadas. Así, la actividad de la invertasa neutra mayor coincidió con el contenido significativamente alto de glucosa y fructosa en *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*; además, en estas especies, el contenido de sacarosa fue significativamente mayor en el ciclo completo, respecto a las domesticadas. La actividad de invertasa ácida, durante el periodo de luz, en la especie silvestre, *O. streptacantha*, y las domesticadas, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* fueron opuestas; en la silvestre representó 19.50 % más respecto a *O. albicarpa* y 27 % más que en *O. ficus-indica*. Además, durante las horas de luz, *O. streptacantha* presentó contenidos extremos en el contenido de sacarosa respecto a *O. ficus-indica*, coincidiendo con los contenidos extremos en glucosa y fructosa. La hidrólisis irreversible de la sacarosa, en el enlace α 1- β 2-glucosídico de la sacarosa, catalizada por las invertasas produce glucosa y fructosa, por lo que tiene un papel fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Pero, esta actividad se modifica en reacción al estrés biótico y abiótico y durante el metabolismo del C primario (Roitsch y González, 2004; Ruan *et al.*, 2010; Kulshrestha *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

Además de los contenidos significativamente mayores de azúcares en la especie silvestre respecto a las domesticadas, en el contenido de aminoácidos libres y fenoles totales también se observaron diferencias similares. *Opuntia streptacantha* destacó entre las especies por su contenido significativamente alto de aminoácidos libres (más del doble) en el ciclo diurno-nocturno respecto a las otras cuatro especies. El aumento de los niveles de prolina libre en las plantas se ha observado como reacción a ciertos factores ambientales; es el caso del déficit de humedad o temperaturas extremas. El aumento en la concentración de ese aminoácido tiene función osmoprotectora multifuncional y a menudo se asocia con los niveles incrementados de sacarosa; por lo que, el incremento en la síntesis de prolina también depende de los eventos de señalización específicos de

sacarosa (Hanson *et al.*, 2008; Sperdoui y Moustakas, 2012). Van den Ende y El-Esawe (2014) indicaron que los azúcares solubles y prolina pueden incrementar en las plantas en reacción a algunas condiciones de estrés. La acumulación de metabolitos secundarios, como los fenoles, desempeña un papel en la protección de las plantas contra herbívoros y patógenos (Astello-García *et al.*, 2015; Pichereaux *et al.*, 2016); además, esto podría estar relacionado con los mecanismos bioquímicos que incrementan la eficiencia a las especies silvestres en su permanencia en ambientes menos propicios para el crecimiento, respecto a las domesticadas; estas últimas frecuentemente han perdido la habilidad para crecer en ambientes silvestres. Al respecto, *O. streptacantha* en el periodo de diurno-nocturno presentó contenidos de fenoles totales hasta 34.37 % mayores que *O. ficus-indica*.

Pichereaux *et al.* (2016) indicaron que en *Opuntia* se sobre expresa un número considerable de proteínas, principalmente las involucradas en la regulación de la glucólisis. Borland *et al.* (2009) indicaron que la activación de rubisco inicia con el comienzo del fotoperiodo; lo que coincide con los resultados en el presente estudio. Ya que el contenido de proteína soluble incrementó en el periodo diurno. Así, al inicio del periodo nocturno las especies con grado mayor de domesticación incrementaron hasta tres veces su contenido de proteína y las especies silvestres el doble respecto al amanecer. En el periodo nocturno destacaron las especies silvestres *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* con los contenidos mayores de proteínas y contrastaron con las especies con grado mayor de domesticación, ya que presentaron hasta 37.68 % menos proteína en el periodo diurno-nocturno, con excepción de los contenidos a las 15 h, cuando los contenidos fueron estadísticamente similares entre esas especies. El contraste en el contenido de proteína entre las especies silvestres y domesticadas permiten suponer que las especies silvestres tienen actividad metabólica mayor, específicamente o principalmente en el periodo nocturno, característico de las plantas MAC. Respecto a la relación del contenido de proteína y la actividad metabólica en las plantas, se ha documentado que aproximadamente la mitad de las proteínas en *Opuntia* interviene en los procesos metabólicos (Pichereaux *et al.*, 2016).

Las concentraciones nocturnas mayores de proteínas mostraron cierta relación con el reloj circadiano, el que juega papel cardinal en el establecimiento y mantenimiento de las fases características de la MAC; al respecto, el recambio diurno/nocturno de carbohidratos es un componente clave para determinar la magnitud de la expresión MAC (Borland *et al.*, 2009). La captación nocturna de CO₂ define a las plantas MAC y se sustenta en un reducido grupo de carbohidratos que se degradan cada noche para la síntesis del sustrato (fosfoenolpiruvato) de la fosfoenol piruvato carboxilasa. Esta enzima es responsable de la fijación nocturna del CO₂ (Borland *et al.*, 2016). Los carbohidratos que derivarán en sustratos para las reacciones nocturnas y, en dependencia de la especie, se transportan al cloroplasto y se almacenan como almidón o se transportan a la vacuola y se almacenan como sacarosa, hexosa o ambas (Christopher y Holtum 1996; Antony y Borland 2009; Borland *et al.*, 2016). Antony y Borland (2009) indicaron que, para evitar ciclos “inútiles”, las hexosas deberán almacenarse en la vacuola y no liberarse al citoplasma hasta el siguiente período nocturno. Así, los contenidos elevados de glucosa, fructosa, y sacarosa, junto con la actividad mayor de invertasa ácida y neutra en el periodo nocturno en las cinco especies de *Opuntia* en el presente estudio coinciden con lo descrito por Antony y Borland (2009). Este comportamiento permite explicar también, porque, en promedio, el contenido de azúcares es *O. ficus-indica* fue mayor a las 7 h respecto a las 11 h, y mayor en las especies silvestres, en el periodo diurno-nocturno completo.

La sacarosa y los productos de su hidrólisis actúan en la regulación del desarrollo de la planta, en la respuesta al estrés por factores abióticos y bióticos a través de la asignación de C y la señalización por azúcares (Roitsch y González 2004); por lo que, probablemente las especies silvestres podrían enfrentar condiciones adversas con eficiencia mayor a las especies domesticadas. La acumulación de azúcares solubles puede tener efectos osmóticos en el mantenimiento de la turgencia celular en condiciones de déficit hídrico, además puede ayudar a proteger la integridad de las membranas y preservar la funcionalidad de las proteínas (Krasensky y Jonak, 2012; Lissar *et al.*, 2012).

La degradación del almidón durante la fase I del MAC, como almacén transitorio de C y energía, también suministra esqueletos de C para la síntesis de fosfoenolpiruvato (Dodd *et al.*, 2003). La hidrólisis del almidón transitorio se detiene durante el día (Zeeman *et al.*, 2002; Streb *et al.*, 2009) y durante la noche se activa, a tasas más o menos constantes. Esto permite explicar los resultados del presente estudio; ya que, durante el inicio del periodo nocturno, se registró la disminución del contenido del polisacárido, en *O. streptacantha* la reducción fue 22 %, en *O. megacantha* fue 25 % y en las especies con grado mayor de domesticación representó 32 %. Durante el estrés hídrico el contenido de almidón puede disminuir debido a su hidrólisis, lo que incrementa los niveles de sacarosa y hexosas (Pellerchi *et al.*, 1997; Vu *et al.*, 1998). Estos cambios se observaron en la presente investigación; ya que se registró la relación inversa entre la hidrólisis de almidón y la acumulación de azúcares.

La separación de carbohidratos asignados a la fijación nocturna de CO₂ debe modularse de acuerdo con las demandas de otros sumideros que compiten entre sí, y que incluye la respiración, la exportación y el crecimiento (Borland y Dodd, 2002).

La acumulación de solutos, conduce a la reducción del potencial osmótico en las células, lo que permite la entrada de agua (Serray y Sinclair, 2002; Lisar *et al.*, 2012). Los solutos que se acumulan varían con la especie, e incluyen ácidos orgánicos, azúcares y aminoácidos (Simposon, 1981). En la presente investigación, durante el periodo diurno se presentaron fluctuaciones amplias en el potencial de solutos; a las 7 h los valores fueron los menores. En estos, destacaron *O. streptacantha* y *O. megacantha* con los potenciales de solutos menor (-1.01 MPa). El potencial de solutos bajo concordó con los contenidos altos de azúcar. Al contrario, la disminución de solutos propicia incremento del potencial osmótico, por lo que los contenidos menores de azúcares, a las 11 h, en general, coincidieron con los potenciales de solutos mayores; en estos valores, destacaron *O. ficus-indica* con -0.72 MPa y *O. albicarpa* con -0.65 MPa. Durante el periodo nocturno, las concentraciones de glucosa, fructosa, sacarosa y ácido málico permitieron el establecimiento de potenciales de solutos menores, específicamente en *O. ficus-indica* fluctuó entre -0.88 y -0.93 MPa y en *O. streptacantha* entre -0.97 y -1.02 MPa.

De acuerdo con Huang (2006) y Scalisi *et al.* (2016), los nopales mantienen hidratados sus tejidos y la turgencia celular a través de la acumulación de solutos, cuando la humedad del suelo es baja. La acumulación de malato en la especie *Kalanchoe daigremontiana*, causó reducción en el potencial osmótico en la savia de la hoja, que favoreció la absorción de agua (Smith y Lüttge, 1985).

3.7 CONCLUSIONES

Opuntia streptacantha y *O. ficus-indica*, en los extremos del gradiente de domesticación, muestran el contraste mayor en los contenidos de glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, fenoles totales y en la actividad de invertasa ácida durante el periodo diurno. Durante el periodo nocturno el comportamiento entre *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* también muestran contrastes el contenido de proteína soluble. Además, *O. ficus-indica* acumula menos de ácido málico en el periodo nocturno y más almidón en las horas con luz. Por lo que las características fisiológico-bioquímicas, expresadas en la composición química parcial de los cladodios, la actividad de las invertasas y los ajustes del potencial osmótico en los cladodios, corresponden con el síndrome de domesticación.

3.8 LITERATURA CITADA

- Acevedo, E., I. Bonilla, P.S. Nobel. 1983. Water relation, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Andrade, J.L., E. De la Barrera, C. Reyes-García, M.F. Ricalde, G. Vargas-Soto, C. Cervera. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 37-50.
- Antony E., A.M. Borland. 2009. The Role and Regulation of Sugar Transporters in Plants with Crassulacean Acid Metabolism. Institute for Research on Environment and Sustainability, Devonshire Building, Newcastle University, UK. 127-143 p.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. 1141 p.
- Astello-García, M.G., I. Cervantes, V. Nair, M.S. Santos-Días, A. Reyes-Agüero, F. Guéraud, A. Negre-salvayre, M. Rossignol, L. Cisneros-Zevallos, A.P. Barba de la Rosa. 2015. Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from

- Opuntia* spp. cultivar with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 119-130.
- Black, C.C., J.Q. Chen, R.L. Doong, M.N. Angelov, S.J.S. Sung. 1996. Alternative carbohydrate reserves used in the daily cycle of Crassulacean acid metabolism. In: Winter, K. J.A.C. Smith (eds). *Crassulacean Acid Metabolism; Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. Springer, Berlin. 31-43 p.
- Borland, A.M., A.N. Dodd. 2002. Carbohydrate partitioning in CAM plants: reconciling potential conflicts of interest. *Functional Plant Biology* 29: 707-716.
- Borland, A.M., H.B. Guo, X. Yang, J.C. Cushman. 2016. Orchestration of carbohydrate processing for crassulacean acid metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* 31: 118-124.
- Borland A.M., H. Griffiths, J. Hartwell, J.A.C. Smith. 2009. Exploiting the potential of plants with Crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany* 60: 2879-2896.
- Borland A.M., J. Hartwell, D.J. Weston, K.A. Schlauch, T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan, X. Yang, J.C. Cushman. 2014. Engineering Crassulacean acid metabolism to improve water-use efficiency. *Trends in Plant Science* 14: 327-338.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Christopher, J.T., J.A.M. Holtum. 1996. Patterns of carbon partitioning in leaves of Crassulacean acid metabolism species during deacidification. *Plant Physiology* 112: 393-399.
- Corrales-García, J., C.B. Peña-Valdivia, Y. Razo-Martínez, M. Sánchez-Hernández. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32: 169-174.
- Cushman, J.C. 2001. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environment. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- Cushman, J.C., A.M. Borland. 2002. Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. *Plant, Cell and Environment* 25: 295-310.

- Cushman, J.C., S. Agarie, R. L. Albion, S.M. Elliot, T. Taybi, A.M. Borland. 2008. Isolation and characterization of mutants of common ice plant deficient in crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology* 147: 228-238.
- Cushman, J.C., S.C. Davis, X. Yang, A. M. Borland. 2015. Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany* 66: 4177-4193.
- Dodd, A.N., A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 569-580.
- Dodd, A.N., H. Griffiths, T. Taybi, J.C. Cushman, A.M. Borland. 2003. Integrating diel starch metabolism with the circadian and environmental regulation of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Planta* 216: 789-797.
- Drennan, P.M., P.S. Nobel. 2000. Responses of CAM species to increasing atmospheric CO₂ concentrations. *Plant, Cell and Environment* 23: 767-781.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García-Nava, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 927-938.
- García N.F., H.M., López, C.B. Peña-Valdivia, G.C. Romo, S.Y. Marmolejo. 2018. Chemical characteristics of non-starch polysaccharides of *Opuntia* cladodes as evidence of changes through domestication. *Food Bioscience* 22: 69-77.
- Gibson, A.C. 1996. Structure-function relations of warm desert plants. Springer-Verlag. Heidelberg. 215 p.
- Gibson, A.C., P.S. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 286 p.
- Griffiths, H., B. Helliker, A. Roberts, R.P. Haslam, J. Girnus, W.E. Robe, A.M. Borland, K. Maxwell. 2002. Regulation of Rubisco activity in crassulacean acid metabolism plants: better late than never. *Functional Plant Biology* 29: 689-696.
- Griffiths H., W.E. Robe, J. Girnus, K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during crassulacean acid metabolism species. *Journal of Experimental Botany* 59: 1851-1861.

- Guevara-Figueroa, T., H. Jiménez-Islas, M.L. Reyes-Escogido, A.G. Mortensen, B.B. Laursen, L.W. Lin, A. De León-Rodríguez, I.S. Fomsgaard. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525-532.
- Hanson, J., M. Hanssen, A. Wiese, M.M. Hendriks, S. Smeeckens. 2008. The sucrose regulated transcription factor bZIP11 affects amino acid metabolism by regulating the expression of asparagine synthetase and proline dehydrogenase. *The Plant Journal* 53: 935-949.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G. P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Herpich, W., K. Peckmann. 2000. Influence of drought on mitochondrial activity, photosynthesis, nocturnal acid accumulation and water relations in the CAM plants *Prenia sladeniana* (me-type) and *Crassula lycopodioides* (pepck-type). *Annals of Botany*. 86: 611-620.
- Heyduk, K., M.R. McKain, F. Lalani, J. Leebens-Mack. 2016. Evolution of a CAM anatomy predates the origins of Crassulacean acid metabolism in the Agavoideae (Asparagaceae). *Molecular Phylogenetic and Evolution* 105: 102-113.
- Huang, B. 2006. Plant-environment interactions. In: *Physiological and biochemical indicators for stress tolerance*. Rachmilevitch, S.; DaCosta, M.; Hunag, B.; Bingru Huang (ed.), Florida, E.U. 335-336 p.
- Jones, D.L., A.G., Owen, J.F., Farrar. 2002. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solution and soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1893-1902.
- Krasensky, J., C. Jonak. 2012. Drought, salt, and temperature stress induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63: 1593-1608.
- Kulshrestha, S., P. Tyagi, V. Sindhi, K.S. Yadavilli. 2013. Invertase and its applications-a brief review. *Journal of Pharmacy Research* 7: 792-797.
- López-Palacios C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, A.I. Rodríguez-Hernández 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Gene Resources and Crop Evolution* 59: 1015-1026.

- López-Palacios C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero. J.R. Aguirre R, H. M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández, J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter-and intra-specific variation in fruit biomass number of seeds, and physical characteristic of seeds in *Opuntia* spp. *Gene Resources and Crop Evolution* 62: 1205-1223.
- López-Palacios C., C.B. Peña-Valdivia, A.I. Rodríguez-Hernández, J.A. Reyes A. 2016. Content and rheology of polysaccharides extracted from edible tender cladodes of wild, semidomesticated and cultivated nopal (*Opuntia* spp., Cactaceae). *Plant Food Human Nutrition* 71: 388-395.
- Lisar, S.Y.S., R. Motafakkerzad, M.M. Hossain, I.M.M. Rahman. 2012. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: Rahman IMM, Hasegawa H, eds. *Water Stress*. Rijeka, Croatia: In Tech. 1-14 p.
- Magalhães, L.M., F. Santos, M.A. Segundo, S. Reis, J.L.F.C. Lima. 2010. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83: 441-447.
- Moghaddam, M.R.B., W.V. den Ende. 2013. Sugars, the clock and transition to flowering. *Frontiers in Plant Science* 4: 1-6.
- Nägele, T., S. Henkel, I. Hörmiller, T. Sauter, O. Sawodny, M. Ederer, A, G. Heyer. 2010. Mathematical modeling of the central carbohydrate metabolism in arabidopsis reveals a substantial regulatory influence of vacuolar invertase on whole plant carbon metabolism. *Plant Physiology* 153: 260-272
- Nobel, P.S. 2001. *Ecophysiology of Opuntia ficus-indica* In: J. Mondragón C. S. Pérez G. (eds). *Cactus (Opuntia spp.) as Forage*. FAO. *Plant Production and Protection*. Paper 169. 13-20 p.
- Nobel, P.S. 1995. *Environmental biology*. In: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. Food and Agricultural Organization. Roma. 36-48 p.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental biology of agaves and cactus*. New York, Cambridge University Press. 36 p.
- Nobel, P.S., T.L. Hartsock. 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.

- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 379-414.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. L. Hamrick, J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central México. *Molecular Ecology* 14: 1603-1611.
- Padilla-Chacón, D., E. Martínez-Barajas, A. García-Esteva, R. Leal-Delgado, J. Kohashi-Shibata, C. B. Peña-Valdivia. 2017. Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water restriction. *South African Journal of Botany* 112: 79-88.
- Pelleschi, S., J.P. Rocher, J.L. Prioul. 1997. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20: 493-503.
- Peña-Valdivia, C.B., J. R. Aguirre-Rivera, V. B. Arroyo-Peña. 2013. El frijol: Síndrome de domesticación. Editorial del Colegio de Postgraduados. Montecillo. 198 p
- Peña-Valdivia, C.B., M.L. Ortega-Delgado. 1991. Non-structural carbohydrate partitioning in *Phaseolus vulgaris* after vegetative growth. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 55: 563-577.
- Pichereaux, C., E.E. Hernández-Domínguez, M.S. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, M. Astello-García, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, O. Schiltz, M. Rossignol, A.P.B. de la Rosa. 2016. Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication. *Journal of Proteomics* 143: 353-364.
- Reca, I.B., A. Brutus, R. D'Avino, C. Villard, D. Bellincampi, T. Giardina. 2008. Molecular cloning, expression and characterization of a novel apoplasmic invertase inhibitor from tomato (*Solanum lycopersicum*) and its use to purify a vacuolar invertase. *Biochimie* 90: 1611-1623.
- Reyes-Agüero JA, Aguirre-Rivera JR, Flores-Flores JL (2005) Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484.
- Roitsch T., M.C. González. 2004. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9: 606-613.

- Ruan, Y.L., Y. Jin, Y.-J. Yang, G.-J. Li, J.S. Boyer. 2010. Sugar Input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3: 942-955.
- Scalisi, A., B. Morandi, P. Inglese, R. Bianco. 2016. Cladode growth dynamics in *Opuntia ficus-indica* under drought. *Environmental and Experimental Botany* 122: 158-167.
- Serraj R., T.R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?. *Plant, Cell and Environment* 25: 333-341.
- Silvera, K., K.M. Neubig, W.M. Whitten, N.H. Williams, K. Winter, J. C. Cushman. 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. *Functional Plant Biology* 37: 995-1010.
- Simpson, G.M. 1981. Water stress on plants. Praeger (ed). 324 p.
- Smith, J.A.C., U. Lüttge. 1985. Day-night changes in leaf water relations associated with the rhythm of crassulacean acid metabolism in *Kalanchoe*. *Planta* 163: 272-282.
- Sperdoui, I., M. Moustakas. 2012. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Plant Physiology* 169: 577-585.
- Streb, S., B. Egli, S. Eicke, S.C. Zeeman. 2009. The debate on the pathway of starch synthesis: a closer look at low-starch mutants lacking plastidial phosphoglucomutase supports the chloroplast-localized pathway. *Plant Physiology* 151: 1769-1772.
- Taybi, T., J.C. Cushman, A.M. Borland. 2002. Environmental, hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. *Functional Plant Biology* 29: 669-678.
- Van den Ende, W., S.K. El-Esawe. 2014. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses? *Environmental and Experimental Botany* 108: 4-13.
- Vargas, W.A., G.L. Salerno. 2010. The Cinderella story of sucrose hydrolysis: alkaline/neutral invertases, from cyanobacteria to unforeseen roles in plant cytosol and organelles. *Plant Science* 178: 1-8.
- Vargas, W.A., H.G. Pontis, G.L. Salerno. 2008. New insights on sucrose metabolism: evidence for an active A/N-Inv in chloroplasts uncovers a novel component of the intracellular carbon trafficking. *Planta* 227: 795-807.

- Vargas, W.A, H.G. Pontis, G.L. Salerno. 2007. Differential expression of alkaline and neutral invertases in response to environmental stresses: characterization of an alkaline isoform as a stress response enzyme in wheat leaves. *Planta* 226: 1535-1545.
- Vu, J.C.V., J.T. Baker, A.H. Pennanen, A.L.H. Bowes, J.K.J. Boote. 1998. Elevated CO₂ and water deficit effects on photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice. *Physiologia Plantarum* 103: 327-339.
- Wang, L., A. Cook, J.W. Patrick, X. Chen, Y. Ruan. 2014. Silencing the vacuolar invertase gene blocks cotton fiber initiation from the ovule epidermis, probably by suppressing a cohort of regulatory genes via sugar signaling. *The Plant Journal* 78: 686-696.
- Wickens, E. G. 1998. *Ecophysiology of economic plants in arid and semi-arid lands*. Springer-Verlag. Heidelberg. 343 p.
- Wind, J., S. Smeeckens, J. Hanson. 2010. Sucrose: Metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry* 71: 1610-1614.
- Winter, K., J.A.M. Holtum, J.A.C. Smith. 2015. Crassulacean acid metabolism: a continuous or discrete trait? *New Phytologist* 208: 73-78.
- Winter K., M. García, J. A. M. Holtum. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë* and *Opuntia*. *Journal of Experimental Botany* 59: 1829-1840.
- Yang X., J.C. Cushman, A.M. Borland, E.J. Edwards, S.D. Wulfschleger, G.A. Tuskan, N.A. Owen, H. Griffiths, J.A.C. Smith, H.C. De Paoli. 2015. A roadmap for research on crassulacean acid metabolism (CAM) to enhance sustainable food and bioenergy production in a hotter, drier world. *New Phytologist* 207: 491-504.
- Zeeman, S.C., J. Kossmann, A.M. Smith. 2010. Starch: its metabolism, revolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* 61: 209-234.
- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2004. The breakdown of starch in leaves. *New Phytologist* 163: 247-261.
- Zeeman, S.C., S.M. Smith, A.M. Smith. 2002. The Priming of Amylose Synthesis in *Arabidopsis* Leaves. *Plant Physiology* 128: 1069-1076.
- Zeeman S.C. y T. AP Ress. 1999. Changes in carbohydrate metabolism and assimilate export in starch-excess mutantas of *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* 22: 1445-1453.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GENERALES

El desarrollo de las sociedades agrícolas fue uno de los eventos más transformadores en la historia humana y ecológica, que resultó de la domesticación de plantas y animales. Los orígenes de la domesticación de plantas se pueden rastrear en varias áreas del mundo, como el suroeste de Asia, el norte y sur de China, Mesoamérica y Sudamérica, hace 10 a 12 mil años (Piperno, 2017). Se estima que 2 500 especies de plantas han sido domesticación en todo el mundo, con más de 160 familias que contribuyen con una o más especies de cultivos (Dirzo y Raven, 2003). La domesticación de plantas se puede describir como un proceso que combina la evolución natural y la selección artificial que conduce a un aumento de la frecuencia de rasgos deseables en las poblaciones cultivadas y adaptadas a las necesidades humanas (Martínez-Ainstworth y Tenaillon, 2016).

El síndrome de domesticación es un conjunto de rasgos que denota las diferencias entre las plantas domesticadas y sus congéneres silvestres (Frary y Doganlar, 2003; Abbo *et al.*, 2014). El síndrome de domesticación puede evolucionar a lo largo de miles de generaciones, a medida que los rasgos deseables se seleccionan en el entorno agrícola y se fijan en el genoma del cultivo, también puede evolucionar en un período corto de tiempo, como en el caso de los cultivos domesticados en los últimos 100 años; y puede incluir combinaciones de varios rasgos diferentes (Fuller, 2007).

Los resultados de la presente investigación (Capítulo 1) indican que los cladodios jóvenes de doce variantes de cinco especies de *Opuntia*, en un gradiente de domesticación y cultivadas con riego, presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las características bioquímico-fisiológicas, y en donde, el contenido de almidón y biomasa cambiaron en dependencia directa con el nivel de domesticación (Figuras 1.5 y 1.11). La domesticación de *Opuntia* cambió el contenido de almidón en los cladodios jóvenes, sintetizado y almacenado en los cloroplastos de tejidos fotosintéticos, que es uno de los productos de reserva primarios de la fijación fotosintética de CO₂ atmosférico (Zeeman y Rees, 1999). El suministro de carbono por el almidón es vital para el crecimiento normal de la planta, tal que el agotamiento de sus reservas, puede disminuir la tasa de

crecimiento de la planta (Smith y Stitt, 2007; Zeeman *et al.*, 2010). Además, el crecimiento de las plantas generalmente se expresa mediante la biomasa (fresca o seca) acumulada; ésta es esencialmente determinada por el intercambio gaseoso relacionado con la fotosíntesis y la respiración a lo largo del tiempo (Kubota, 2016). El contenido mayor de almidón y de biomasa en las variantes y especies más domesticadas se relaciona con algunas de las características utilizadas para la selección de *Opuntia* en su domesticación, y representa el efecto conocido como gigantismo de los órganos de interés para los humanos. Además, el contenido de almidón más alto se registró en el periodo diurno en las variantes y especies con grado mayor de domesticación, cuando las plantas estuvieron con baja disponibilidad de agua en el suelo (Figuras 2.5 B y D); lo que se relaciona con la inactividad osmótica de los gránulos de almidón que permite a las plantas almacenar grandes cantidades de carbohidratos sin perturbar el equilibrio hídrico de las células (Ball y Morell, 2003).

Las especies con domesticación más avanzada incrementan más de 50 % su contenido de sacarosa cuando la disponibilidad de agua es favorable (Figuras 2.4 A, C). Los resultados permiten sugerir que los fotosintatos generados en las especies más domesticadas se destinan principalmente al crecimiento. La sacarosa es sustrato para el metabolismo energético y la biosíntesis de macro-moléculas, que resulta en acumulación de biomasa, crecimiento y desarrollo (Wang *et al.*, 2013). La biosíntesis del disacárido en las especies con grado mayor de domesticación se vio disminuida cuando se restringió la humedad por 30 días (Figura 2.4 D). Una característica de las plantas domesticadas es su dependencia al ambiente agrícola para su sobrevivencia, debido al cambio en su adaptación ecológica (Perales y Aguirre, 2008).

Durante la descarboxilación del malato se sintetizan carbohidratos a través de la gluconeogénesis (Antony y Borland, 2009). En esta investigación se evidenció el incremento del contenido de azúcares, durante el periodo con luz (Figuras 3.2, 3.3, 3.4). *Opuntia ficus-indica* y *O. albicarpa* duplicaron su contenido de sacarosa hacia el final del fotoperiodo, que contrastó con los contenidos significativamente menores en las especies silvestres y con domesticación intermedia (Figura 3.4); en contraste, estas especies

mantuvieron contenidos significativamente mayores de azúcares en la fase diurna-nocturna completa cuando la disponibilidad de agua en el suelo fue limitante.

En la presente investigación, los contenidos de glucosa, fructosa y sacarosa en los nopalitos por efecto del Ψ_A del suelo de -5.72 MPa, respecto a -0.17 MPa, variaron entre variantes y especies (Figuras 2.2, 2.3, 2.4 A-D); pero, la tendencia general no mostró incrementos significativos que permitan suponer el papel osmoregulador de esos azúcares en los cladodios a una condición de estrés. Aguilar-Becerril y Peña-Valdivia (2006) hacen mención sobre la dificultad de reconocer la condición de déficit de humedad en nopal.

Durante el proceso de domesticación las plantas incrementan su capacidad de adaptación a ambientes diferentes a los silvestres, que en general son desfavorables para el cultivo. Esa adaptación depende de las modificaciones del metabolismo, en diferentes niveles (García-Nava *et al.*, 2015; López-Palacios *et al.*, 2012, 2015). Por lo anterior, las diferencias en el contenido de los monosacáridos, la sacarosa y el almidón, pueden constituir una característica del síndrome de domesticación, con cambios fisiológicos y bioquímicos relacionados con el metabolismo de C, que, a la vez, les permite a las especies domesticadas de *Opuntia* diferenciarse de sus antecesores (Harlan, 1992; Casas *et al.*, 1999).

En la fase nocturna, a las 23 h, la especie con nivel mayor de domesticación, *O. ficus-indica*, acumuló 50 % menos ácido málico que la silvestre *O. streptacantha* (Figura 3.1) y en general, la especie con grado mayor de domesticación, presentó los contenidos menores de ácido málico (Capítulo 3). La diferencia en la acidez entre las especies de *Opuntia* puede deberse a varios factores. De acuerdo con Winter *et al.* (2015), puede ser efecto de la contribución en la fijación nocturna CO₂, que, a la vez, puede variar en dependencia de la especie, las condiciones ambientales y el estado de desarrollo.

Además, con el Ψ_A en el suelo de -5.72 MPa, (generado por la restricción de riego) el contenido de ácido málico incrementó (24 % en promedio) en las cinco especies al

amanecer, respecto al riego regular (Figuras 2.1 C y D). El aumento en la fijación nocturna de CO₂ se ha documentado en especies MAC constitutivas, como *Opuntia*, como respuestas a la sequía; ese aumento se refleja en el incremento del contenido de ácido málico, en las primeras horas del día (Dodd *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2008). Además, la caída en el contenido de ácido málico en los tejidos de los cladodios, respecto al amanecer, independientemente del Ψ_A en el suelo, es típica de las plantas MAC (Corrales-García *et al.*, 2004) y se presentó en las cinco especies independientemente de su nivel de domesticación y Ψ_A en el suelo en el que permanecieron (Figura 3.1).

La domesticación de las plantas ha disminuido el contenido de metabolitos secundarios, principalmente asociados con la resistencia; se han encontrado variaciones en los niveles de metabolitos secundarios en 203 especies de cultivos domesticados, según Meyer *et al.* (2012). Akula y Ravishankar (2011) indicaron que los metabolitos secundarios participan en la adaptación de las plantas al ambiente y en la reacción a las condiciones de estrés. En el presente estudio las variantes y especies silvestres mostraron potencial mayor para la producción de estos metabolitos que las especies con grado mayor de domesticación e independiente del contenido de humedad del suelo (Figuras 2.6 A-D; 3.6). Las rutas biosintéticas de los compuestos fenólicos se derivan del metabolismo primario (Pichereaux *et al.*, 2006). Esto permite sugerir que la asignación diferenciada de los recursos para el metabolismo primario, entre las especies silvestres y domesticadas, interviene en la producción de los compuestos fenólicos. Hammer (1984) propuso que el cambio en la asignación de nutrientes dentro de la planta (síndrome de domesticación) podría ser una herramienta útil para estudiar la compensación entre la producción de biomasa y los metabolitos secundarios en el proceso de domesticación de las plantas.

A lo largo del proceso de domesticación de *Opuntia*, las características del síndrome de domesticación se reflejan en un ajuste del metabolismo primario y secundario del C. Las variantes y especies incluidas en el estudio expresan los cambios registrados en el gradiente de domesticación.

Literatura citada

- Abbo, S., R.P. van-Oss, A. Gopher, Y. Saranga, I. Ofner, Z. Peleg. 2014. Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends in Plant Science* 19: 351-360.
- Aguilar-Becerril, G., C.B. Peña-Valdivia. 2006. Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 231-237.
- Akula, R. y G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
- Antony E., A.M. Borland. 2009. The Role and Regulation of Sugar Transporters in Plants with Crassulacean Acid Metabolism. Institute for Research on Environment and Sustainability, Devonshire Building, Newcastle University, UK. 127-143 p.
- Ball, S.G., M.K. Morell. 2003. From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annual Review of Plant Biology* 54: 207-233.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente-Banuet, J.A. Soriano, P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central México. *American Journal of Botany* 86: 522-533.
- Corrales-García, J., C.B. Peña-Valdivia, Y. Razo-Martínez, M. Sánchez-Hernández. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitas (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 32: 169-174.
- Dirzo, R. y P.H. Raven. 2003. Global state of biodiversity and loss. *Annual Review of Environment and Resources* 28: 137-167.
- Dodd, A.N., A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 569-580.
- Fuller, D.Q. 2007. Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archaeobotanical insights from the Old World. *Annals of Botany* 100: 903-924.
- Frary, A., S. Doganlar. 2003. Comparative Genetics of Crop Plant Domestication and Evolution. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 59-69.
- García-Nava, F., C.B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García-Nava, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitas (*Opuntia* spp., Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 927-938.

- Griffiths H., W.E. Robe, J. Girnus, K. Maxwell. 2008. Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during crassulacean acid metabolism species. *Journal of Experimental Botany* 59: 1851-1861.
- Hammer, K. 1984. Das domestikationssyndrom. *Kulturpflanze* 32: 11-34.
- Harlan, J.R. 1992. Origins and processes of domestication. In: Chapman G. P. (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge University Press, Cambridge. 159-175 p.
- Kubota, C. 2016. Growth, development, transpiration and translocation as affected by abiotic environmental factors. University of Arizona, Tucson, Arizona, USA. 151-164 p.
- López-Palacios C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, A.I. Rodríguez-Hernández 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Gene Resources and Crop Evolution* 59: 1015-1026.
- López-Palacios C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero. J.R. Aguirre R, H. M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández, J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter-and intra-specific variation in fruit biomass number of seeds, and physical characteristic of seeds in *Opuntia* spp. *Gene Resources and Crop Evolution* 62: 1205-1223.
- Martínez-Ainstworth, N. y M. Tenaillon. 2016. Superheroes and masterminds of plant domestication. *Comptes Rendus Biologies* 339: 268-273.
- Meyer, R.S., A.E. DuVal, H.R. Jensen. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist* 196: 29-48.
- Perales, H.R., J.R. Aguirre. 2008. Biodiversidad humanizada. Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. 565-603 p.
- Pichereaux, C., E.E. Hernández-Domínguez, M.S. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, M. Astello-García, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, O. Schiltz, M. Rossignol, A.P.B. de la Rosa. 2016. Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication. *Journal of Proteomics* 143: 353-364.
- Piperno, D.R. 2017. Assessing elements of an extended evolutionary synthesis for plant domestication and agricultural origin research. *PNAS*. 114: 6429-6437.
- Smith, A.M. y M. Stitt. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30: 1126-1149.

- Wang, X.C., Q.Y. Zhao, C.L. Ma, Z.H. Zhang, H.L. Cao, Y.M. Kong, C. Yue, X.Y. Hao, L. Chen, J.Q. Ma, J.Q. Jin, X. Li, Y.J. Yang. 2013. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation. *BMC Genomics* 14: 1-15.
- Winter, K., J.A.M. Holtum, J.A.C. Smith. 2015. Crassulacean acid metabolism: a continuous or discrete trait? *New Phytologist* 208: 73-78.
- Winter K., M. García, J. A. M. Holtum. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë* and *Opuntia*. *Journal of Experimental Botany* 59: 1829-1840.
- Zeeman S.C. y T. AP Ress. 1999. Changes in carbohydrate metabolism and assimilate export in starch-excess mutantas of *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* 22: 1445-1453.
- Zeeman, S.C., J. Kossmann, A.M. Smith. 2010. Starch: its metabolism, revolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* 61: 209-234.

ANEXOS

Anexo A. Análisis de varianza de las características bioquímico-fisiológicas doce variantes de especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivadas con riego.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	0.2947	0.0267	3.76	0.0003
Fase MAC	1	3.2180	3.2180	451.03	<.0001
Variantes x fase MAC	10	0.4126	0.0412	5.78	<.0001
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	239.4265	21.7660	138.32	<.0001
Fase MAC	1	59.2850	59.2850	376.74	<.0001
Variantes x fase MAC	10	47.5962	4.7596	30.25	<.0001
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	108.3019	9.8456	30.78	<.0001
Fase MAC	1	13.3881	13.3881	41.86	<.0001
Variantes x fase MAC	10	51.4554	5.1455	16.09	<.0001
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	37.7296	3.4299	15.12	<.0001
Fase MAC	1	0.0060	0.0060	0.03	0.8709
Variantes x fase MAC	10	10.2792	1.0279	4.53	<.0001
Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	4.3137	0.3921	24.22	<.0001
Fase MAC	1	0.5914	0.5914	36.53	<.0001
Variantes x fase MAC	10	1.1765	0.1176	7.27	<.0001
Fenoles totales (μmol g⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	108.6767	9.8797	10.72	<.0001
Fase MAC	1	15.3097	15.3097	16.61	0.0001
Variantes x fase MAC	10	87.4463	8.7446	9.49	<.0001
Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	0.0337	0.0030	25.91	<.0001
Fase MAC	1	0.0087	0.0087	73.50	<.0001
Variantes x fase MAC	10	0.0077	0.0007	6.56	<.0001
Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	0.2804	0.0254	6.65	<.0001
Fase MAC	1	1.1598	1.1598	302.62	<.0001
Variantes x fase MAC	10	0.1744	0.0174	4.55	<.0001

Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	31.8426	2.8947	17.02	<.0001
Fase MAC	1	52.2879	52.2879	307.45	<.0001
Variantes x fase MAC	10	12.5738	1.2573	7.39	<.0001
Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	24.8721	2.2611	18.72	<.0001
Fase MAC	1	1.1291	1.1291	9.35	0.0032
Variantes x fase MAC	10	5.2918	0.5291	4.38	<.0001
Biomasa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variantes	11	115.7796	10.5254	41.73	<.0001
Fase MAC	1	1.0770	1.0770	4.27	0.0425
Variantes x fase MAC	10	68.4414	6.8441	27.13	<.0001

Anexo B1. Análisis de varianza de la composición química parcial de siete variantes de especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivadas con y sin riego.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	0.4364	0.0727	15.98	<.0001
Ψ_A del suelo	1	0.0320	0.0320	7.03	0.0092
Fase MAC	1	15.4030	15.4036	3383.80	<.0001
Variante x Ψ_A del suelo	6	0.4683	0.0780	17.15	<.0001
Variante x fase MAC	6	0.5451	0.0908	19.96	<.0001
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	2.3723	2.3723	521.15	<.0001
Variante x Ψ_A del suelo x fase MAC	6	0.1901	0.0316	6.96	<.0001
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	249.9967	41.6661	367.62	<.0001
Ψ_A del suelo	1	62.5289	62.5289	551.69	<.0001
Fase MAC	1	31.2478	31.2478	275.70	<.0001
Variante x Ψ_A del suelo	6	83.6826	13.9471	123.06	<.0001
Variante x fase MAC	6	11.9158	1.98597	17.52	<.0001
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	0.03354	0.03354	0.30	0.5878
Variante x Ψ_A del suelo x fase MAC	6	11.3487	1.89145	16.69	<.0001
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	148.3713	24.7285	110.97	<.0001
Ψ_A del suelo	1	22.3050	22.3050	100.09	<.0001
Fase MAC	1	8.6959	8.6959	39.02	<.0001
Variante x Ψ_A del suelo	6	95.9965	15.9994	71.80	<.0001
Variante x fase MAC	6	5.6182	0.9363	4.20	0.0010
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	5.8820	5.8820	26.40	<.0001
Variante x Ψ_A del suelo x fase MAC	6	10.2696	1.7116	7.68	<.0001
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	7.5536	1.2589	8.64	<.0001
Ψ_A del suelo	1	29.6973	29.6973	203.82	<.0001
Fase MAC	1	0.02222	0.02222	0.15	0.6971
Variante x Ψ_A del suelo	6	51.7916	8.6319	59.24	<.0001
Variante x fase MAC	6	6.1387	1.0231	7.02	<.0001
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	0.0097	0.0097	0.07	0.7965
Variante x Ψ_A del suelo x fase MAC	6	3.1279	0.5213	3.58	0.0033

Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	8.5048	1.4174	86.52	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.0036	0.0036	0.22	0.6368
Fase MAC	1	7.6519	7.6519	467.04	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	0.3766	0.0627	3.83	0.0016
Variante x fase MAC	6	0.9419	0.1569	9.58	<.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	2.3571	2.3571	143.87	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	0.4755	0.0792	4.84	0.0002
Fenoles totales (μmolas g⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	90.4312	15.0718	9.34	<.0001
Ψ _A del suelo	1	56.2886	56.2886	34.88	<.0001
Fase MAC	1	233.4054	233.4054	144.62	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	54.5166	9.0861	5.63	<.0001
Variante x fase MAC	6	28.8862	4.8143	2.98	0.0097
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	29.6798	29.6798	18.39	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	29.6798	5.1794	3.21	0.0060
Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	0.0694	0.0115	164.75	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.0045	0.0045	64.59	<.0001
Fase MAC	1	0.0050	0.0050	71.89	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	0.0011	0.0001	2.77	0.0151
Variante x fase MAC	6	0.0050	0.0008	12.00	<.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	0.0023	0.0023	33.92	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	0.0034	0.0005	8.25	<.0001
Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	0.3019	0.0503	11.44	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.6423	0.6423	146.06	<.0001
Fase MAC	1	2.1369	2.1369	485.87	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	0.1217	0.0202	4.61	0.0003
Variante x fase MAC	6	0.1325	0.0220	5.02	0.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	0.0071	0.0071	1.62	0.2056
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	0.0897	0.0149	3.40	0.0040
Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	24.9368	4.1561	19.79	<.0001
Ψ _A del suelo	1	1.5690	1.5690	7.47	0.0073
Fase MAC	1	33.4087	33.4087	159.09	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	17.3554	2.8925	13.77	<.0001
Variante x fase MAC	6	3.5819	0.5969	2.84	0.0129
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	8.5134	8.5134	40.54	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	6.6906	1.1151	5.31	<.0001

Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Variante	6	18.8363	3.1393	16.79	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.3087	0.3087	1.65	0.2014
Fase MAC	1	6.5780	6.5780	35.18	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo	6	10.0989	1.6831	9.00	<.0001
Variante x fase MAC	6	5.8729	0.9788	5.24	<.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	8.8787	8.8787	47.49	<.0001
Variante x Ψ _A del suelo x fase MAC	6	2.3667	0.3944	2.11	0.0576

Anexo B2. Análisis de varianza de la composición química parcial cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivadas con y sin riego.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.2398	0.0599	18.31	<.0001
Ψ_A del suelo	1	0.0038	0.0038	1.18	0.2806
Fase MAC	1	11.0848	11.0848	3386.36	<.0001
Especies x Ψ_A del suelo	4	0.2372	0.0593	18.12	<.0001
Especies x fase MAC	4	0.3907	0.0976	29.84	<.0001
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	1.8265	1.8265	557.98	<.0001
Especies x Ψ_A del suelo x fase MAC	4	0.1401	0.0350	10.71	<.0001
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	188.7613	47.1903	555.32	<.0001
Ψ_A del suelo	1	48.0255	48.0255	565.15	<.0001
Fase MAC	1	22.9821	22.9821	270.45	<.0001
Especies x Ψ_A del suelo	4	36.4484	9.1121	107.23	<.0001
Especies x fase MAC	4	7.2035	1.8008	21.19	<.0001
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	0.0275	0.0275	0.32	0.5711
Especies x Ψ_A del suelo x fase MAC	4	8.4529	2.1132	24.87	<.0001
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	92.9937	23.2484	129.62	<.0001
Ψ_A del suelo	1	15.4221	15.4221	85.99	<.0001
Fase MAC	1	4.2620	4.2620	23.76	<.0001
Especies x Ψ_A del suelo	4	37.3610	9.3402	52.08	<.0001
Especies x fase MAC	4	3.3143	0.8285	4.62	0.0026
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	2.9368	2.9368	16.37	0.0002
Especies x Ψ_A del suelo x fase MAC	4	2.5428	0.6357	3.54	0.0116
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	2.7471	0.6867	6.33	0.0003
Ψ_A del suelo	1	29.5087	29.5087	272.13	<.0001
Fase MAC	1	0.0577	0.0577	0.53	0.4685
Especies x Ψ_A del suelo	4	33.0760	8.2690	76.26	<.0001
Especies x fase MAC	4	2.2922	0.5730	5.28	0.0010
Ψ_A del suelo x fase MAC	1	0.0310	0.0310	0.29	0.5945
Especies x Ψ_A del suelo x fase MAC	4	0.6449	0.1612	1.49	0.2175

Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	7.7404	1.9351	118.02	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.0083	0.0083	0.51	0.4773
Fase MAC	1	6.2788	6.2788	382.93	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	0.1048	0.0262	1.60	0.1827
Especies x fase MAC	4	0.7458	0.1864	11.37	<.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	1.5790	1.5790	96.30	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	0.2039	0.0509	3.11	0.0197
Fenoles totales (μmolas g⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	66.6158	16.6539	13.68	<.0001
Ψ _A del suelo	1	51.1853	51.1853	42.04	<.0001
Fase MAC	1	196.8006	196.8006	161.66	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	26.7391	6.6847	5.49	0.0006
Especies x fase MAC	4	18.3706	4.5926	3.77	0.0073
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	20.5876	20.5876	16.91	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	28.0315	7.0078	5.76	0.0004
Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.0637	0.0159	253.01	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.0034	0.0034	54.07	<.0001
Fase MAC	1	0.0047	0.0047	75.15	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	0.0008	0.0002	3.31	0.0146
Especies x fase MAC	4	0.0027	0.0006	10.87	<.0001
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	0.0023	0.0023	37.27	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	0.0031	0.0007	12.56	<.0001
Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.2428	0.0607	19.30	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.4409	0.4409	140.15	<.0001
Fase MAC	1	1.4629	1.4629	464.94	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	0.0425	0.0106	3.38	0.0131
Especies x fase MAC	4	0.0668	0.0167	5.31	0.0008
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	0.0134	0.0134	4.27	0.0420
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	0.0558	0.0139	4.44	0.0027
Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	20.4981	5.1245	38.04	<.0001
Ψ _A del suelo	1	0.0768	0.0768	0.57	0.4523
Fase MAC	1	27.1274	27.1274	201.36	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	9.2505	2.3126	17.17	<.0001
Especies x fase MAC	4	3.0094	0.7523	5.58	0.0005
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	7.3528	7.3528	54.58	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	4.5591	1.1397	8.46	<.0001

Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	6.7355	1.6838	12.34	<.0001
Ψ _A del suelo	1	1.0160	1.0160	7.45	0.0078
Fase MAC	1	6.3798	6.3798	46.77	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo	4	4.9107	1.2276	9.00	<.0001
Especies x fase MAC	4	2.8034	0.7008	5.14	0.0010
Ψ _A del suelo x fase MAC	1	5.2074	5.2074	38.18	<.0001
Especies x Ψ _A del suelo x fase MAC	4	1.2494	0.3123	2.29	0.0669

Anexo B3. Comparación de medias de la composición química parcial siete variantes de especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivadas con y sin riego.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Amarilla Olorosa	0.9446	a
	Cardona	0.9444	a
	Naranjón Legítimo	0.92410	a
	Rojo Lirio	0.8824	ab
	San Pedreña	0.8189	bc
	Copena V1	0.7911	c
	Amarillo Plátano	0.7863	c
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.8888	a
	-5.72 MPa	0.8579	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	1.2354	a
	15 h (fase III de MAC)	0.5052	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	1.0945	b
	-0.17 MPa x 15 h	0.6831	c
	-5.72 MPa x 7 h	1.3293	a
	-5.72 MPa x 15 h	0.3865	d
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	San Pedreña	8.7529	a
	Cardona	8.6606	a
	Rojo Lirio	8.2616	b
	Amarillo Plátano	7.4906	c
	Amarilla Olorosa	6.6219	d
	Naranjón Legítimo	5.0689	e
	Copena V1	4.9545	e
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	7.8630	a
	-5.72 MPa	6.3686	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	6.5876	b
	15 h (fase III de MAC)	7.6440	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	7.3521	ab
	-0.17 MPa x 15 h	8.3739	a
	-5.72 MPa x 7 h	5.8231	c
	-5.72 MPa x 15 h	6.9142	bc
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	San Pedreña	6.9832	a
	Rojo Lirio	6.9500	a
	Cardona	6.6321	ab
	Amarillo Plátano	6.4215	b
	Amarilla Olorosa	4.8554	c

	Naranjón Legítimo	5.5749	c
	Copena V1	4.0446	d
Ψ _A del suelo	-0.17 MPa	6.2265	a
	-5.72 MPa	5.3339	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.5016	b
	15 h (fase III de MAC)	6.0589	a
Ψ _A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	6.1770	a
	-0.17 MPa x 15 h	6.2760	a
	-5.72 MPa x 7 h	4.8262	b
	-5.72 MPa x 15 h	5.8418	ab
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Amarillo Plátano	4.3912	a
	Amarilla Olorosa	4.3753	a
	Cardona	4.3183	ab
	San Pedreña	4.2735	abc
	Naranjón Legítimo	3.9252	bcd
	Copena V1	3.9008	cd
	Rojo Lirio	3.6902	d
Ψ _A del suelo	-0.17 MPa	4.6398	a
	-5.72 MPa	3.6100	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	4.1390	a
	15 h (fase III de MAC)	4.1108	a
Ψ _A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	4.6633	a
	-0.17 MPa x 15 h	4.6155	a
	-5.72 MPa x 7 h	3.6148	b
	-5.72 MPa x 15 h	3.6053	b
Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Copena V1	1.9549	a
	Naranjón Legítimo	1.6348	b
	San Pedreña	1.3786	c
	Amarillo Plátano	1.3769	c
	Amarilla Olorosa	1.3191	cd
	Rojo Lirio	1.2321	de
	Cardona	1.1319	e
Ψ _A del suelo	-0.17 MPa	1.4263	a
	-5.72 MPa	1.4368	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	1.1675	b
	15 h (fase III de MAC)	1.6977	a
Ψ _A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	1.3202	c
	-0.17 MPa x 15 h	1.5325	b
	-5.72 MPa x 7 h	1.0658	d
	-5.72 MPa x 15 h	1.8078	A

Fenoles totales ($\mu\text{molas g}^{-1} \text{ts}$)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	San Pedreña	20.0109	a
	Cardona	19.5853	ab
	Rojo Lirio	19.1481	ab
	Amarilla Olorosa	18.8312	ab
	Amarillo Plátano	18.7822	b
	Naranjón Legítimo	18.3862	bc
	Copena V1	17.2007	c
	Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	18.0727
	-5.72 MPa	19.3670	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	20.2611	a
	15 h (fase III de MAC)	17.4374	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	18.9206	b
	-0.17 MPa x 15 h	17.2248	c
	-5.72 MPa x 7 h	21.1547	a
	-5.72 MPa x 15 h	17.5792	c
Aminoácidos libres ($\text{mg } 100 \text{ mg}^{-1} \text{ts}$)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Cardona	0.1337	a
	San Pedreña	0.0777	b
	Naranjón Legítimo	0.0775	b
	Amarilla Olorosa	0.0738	b
	Rojo Lirio	0.0710	bc
	Copena V1	0.0637	c
	Amarillo Plátano	0.0634	c
	Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.0871
	-5.72 MPa	0.0755	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	0.0854	a
	15 h (fase III de MAC)	0.0748	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	0.0974	a
	-0.17 MPa x 15 h	0.0767	b
	-5.72 MPa x 7 h	0.0774	b
	-5.72 MPa x 15 h	0.0735	b
Proteínas solubles ($\text{mg } 100 \text{ mg}^{-1} \text{ts}$)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Amarilla Olorosa	0.6450	a
	Naranjón Legítimo	0.6359	a
	Amarillo Plátano	0.6356	a
	Rojo Lirio	0.5991	ab
	San Pedreña	0.5924	ab
	Cardona	0.5369	bc
	Copena V1	0.5143	c
	Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.6771
	-5.72 MPa	0.5388	b

Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	0.4666	b
	15 h (fase III de MAC)	0.7217	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	0.5583	c
	-0.17 MPa x 15 h	0.7959	a
	-5.72 MPa x 7 h	0.4055	d
	-5.72 MPa x 15 h	0.6722	b
Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	Cardona	6.2217	a
	San Pedreña	5.8689	ab
	Amarillo Plátano	5.4489	bc
	Rojo Lirio	5.4076	c
	Amarilla Olorosa	5.3572	c
	Naranjón Legítimo	5.1120	cd
	Copena V1	4.8409	d
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	5.3356	b
	-5.72 MPa	5.5517	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.9135	a
	15 h (fase III de MAC)	5.0170	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	6.0859	a
	-0.17 MPa x 15 h	4.5854	c
	-5.72 MPa x 7 h	5.7987	a
	-5.72 MPa x 15 h	5.3049	b
Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Variantes	San Pedreña	6.0370	a
	Amarilla Olorosa	5.8609	ab
	Cardona	5.7478	abc
	Rojo Lirio	5.5489	bcd
	Copena V1	5.4402	cd
	Naranjón Legítimo	5.3074	d
	Amarillo Plátano	4.8685	e
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	5.6019	a
	-5.72 MPa	5.5060	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.2717	b
	15 h (fase III de MAC)	5.8170	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	5.6377	b
	-0.17 MPa x 15 h	5.5661	b
	-5.72 MPa x 7 h	5.0278	c
	-5.72 MPa x 15 h	5.9843	a

Anexo B4. Comparación de medias de la composición química parcial de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación, cultivadas con y sin riego.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	0.9444	a
	<i>O. albicarpa</i>	0.9241	ab
	<i>O. hyptiacantha</i>	0.8818	bc
	<i>O. megacantha</i>	0.8344	cd
	<i>O. ficus-indica</i>	0.7911	d
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.8828	a
	-5.72 MPa	0.8701	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	1.2425	a
	15 h (fase III de MAC)	0.5078	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	1.0846	b
	-0.17 MPa x 15 h	0.6809	c
	-5.72 MPa x 7 h	1.3478	a
	-5.72 MPa x 15 h	0.3923	d
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	8.6606	a
	<i>O. megacantha</i>	7.8761	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	7.6874	b
	<i>O. albicarpa</i>	5.0689	c
	<i>O. ficus-indica</i>	4.9545	c
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	7.6243	a
	-5.72 MPa	6.0746	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	6.3135	b
	15 h (fase III de MAC)	7.3854	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	7.0698	ab
	-0.17 MPa x 15 h	8.1788	a
	-5.72 MPa x 7 h	5.5573	c
	-5.72 MPa x 15 h	6.5921	bc
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. megacantha</i>	6.6858	a
	<i>O. streptacantha</i>	6.6321	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	5.9193	b
	<i>O. albicarpa</i>	4.4749	c
	<i>O. ficus-indica</i>	4.0446	d
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	6.0104	a
	-5.72 MPa	5.1311	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.3405	b
	15 h (fase III de MAC)	5.8021	a

Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	5.9712	a
	-0.17 MPa x 15 h	6.0496	a
	-5.72 MPa x 7 h	4.7099	b
	-5.72 MPa x 15 h	5.5547	ab
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. hyptiakantha</i>	4.3244	a
	<i>O. streptakantha</i>	4.3183	a
	<i>O. megakantha</i>	4.0407	ab
	<i>O. albicarpa</i>	3.9252	b
	<i>O. ficus-indica</i>	3.9008	b
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	4.7092	a
	-5.72 MPa	3.4945	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	4.1287	a
	15 h (fase III de MAC)	4.0750	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	4.7558	a
	-0.17 MPa x 15 h	4.6627	a
	-5.72 MPa x 7 h	3.5017	b
	-5.72 MPa x 15 h	3.4874	b
Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. ficus-indica</i>	1.9549	a
	<i>O. albicarpa</i>	1.6348	b
	<i>O. hyptiakantha</i>	1.3488	c
	<i>O. megakantha</i>	1.3045	c
	<i>O. streptakantha</i>	1.1319	d
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	1.4638	a
	-5.72 MPa	1.4825	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	1.1936	b
	15 h (fase III de MAC)	1.7564	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	1.3363	c
	-0.17 MPa x 15 h	1.5913	b
	-5.72 MPa x 7 h	1.0985	d
	-5.72 MPa x 15 h	1.8665	a
Fenoles totales (µmol g⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptakantha</i>	19.5853	a
	<i>O. hyptiakantha</i>	19.4211	a
	<i>O. megakantha</i>	18.9652	ab
	<i>O. albicarpa</i>	18.3862	b
	<i>O. ficus-indica</i>	17.2007	c
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	17.8355	b
	-5.72 MPa	19.2959	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	20.2361	a
	15 h (fase III de MAC)	17.1873	b

Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	18.8042	b
	-0.17 MPa x 15 h	16.8668	c
	-5.72 MPa x 7 h	21.1907	a
	-5.72 MPa x 15 h	17.4010	c
Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	0.1337	a
	<i>O. albicarpa</i>	0.0775	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	0.0757	b
	<i>O. megacantha</i>	0.0672	c
	<i>O. ficus-indica</i>	0.0637	c
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.0907	a
	-5.72 MPa	0.0788	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	0.0896	a
	15 h (fase III de MAC)	0.0775	b
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	0.1027	a
	-0.17 MPa x 15 h	0.0787	b
	-5.72 MPa x 7 h	0.0809	b
	-5.72 MPa x 15 h	0.0767	b
Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. albicarpa</i>	0.6359	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	0.6187	a
	<i>O. megacantha</i>	0.6173	a
	<i>O. streptacantha</i>	0.5369	b
	<i>O. ficus-indica</i>	0.5143	b
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	0.6659	a
	-5.72 MPa	0.5304	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	0.4588	b
	15 h (fase III de MAC)	0.7104	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	0.5543	c
	-0.17 MPa x 15 h	0.7776	a
	-5.72 MPa x 7 h	0.3951	d
	-5.72 MPa x 15 h	0.6657	b
Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	6.2217	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	5.6130	b
	<i>O. megacantha</i>	5.4283	bc
	<i>O. albicarpa</i>	5.1120	cd
	<i>O. ficus-indica</i>	4.8409	d
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	5.4092	a
	-5.72 MPa	5.4658	a
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.9194	a
	15 h (fase III de MAC)	4.9669	b

Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	6.2176	a
	-0.17 MPa x 15 h	4.6009	d
	-5.72 MPa x 7 h	5.7207	b
	-5.72 MPa x 15 h	5.2110	c
Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. hyptiacantha</i>	5.9489	a
	<i>O. streptacantha</i>	5.7478	ab
	<i>O. ficus-indica</i>	5.4402	bc
	<i>O. albicarpa</i>	5.3074	c
	<i>O. megacantha</i>	5.2087	c
Ψ_A del suelo	-0.17 MPa	5.6540	a
	-5.72 MPa	5.4483	b
Fase MAC	7 h (final de fase I de MAC)	5.2262	b
	15 h (fase III de MAC)	5.8349	a
Ψ_A del suelo x fase MAC	-0.17 MPa x 7 h	5.6292	a
	-0.17 MPa x 15 h	5.6790	a
	-5.72 MPa x 7 h	4.9576	b
	-5.72 MPa x 15 h	5.9390	a

Anexo C1. Análisis de varianza de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación en un ciclo de 24 h y cultivadas sin riego por 30 días.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	1.9792	0.4948	220.24	<.0001
Hora del día	5	23.3067	4.6613	2074.70	<.0001
Especies x hora del día	20	1.3956	0.0697	31.06	<.0001
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	169.5981	42.3995	425.18	<.0001
Hora del día	5	68.3613	13.6722	137.11	<.0001
Especies x hora del día	20	79.9457	3.9972	40.08	<.0001
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	181.1107	45.2776	489.85	<.0001
Hora del día	5	46.6293	9.3258	100.89	<.0001
Especies x hora del día	20	63.0511	3.1525	34.11	<.0001
Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	52.5891	13.1472	180.98	<.0001
Hora del día	5	4.4602	0.8920	12.28	<.0001
Especies x hora del día	20	11.0552	0.5527	7.61	<.0001
Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	7.3544	1.8386	75.96	<.0001
Hora del día	5	13.5124	2.7024	111.65	<.0001
Especies x hora del día	20	5.4815	0.2740	11.32	<.0001
Fenoles totales (µmol g⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	334.6604	83.6651	57.02	<.0001
Hora del día	5	356.0661	71.2132	48.53	<.0001
Especies x hora del día	20	131.3656	6.5682	4.48	<.0001
Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.0966	0.0241	500.75	<.0001
Hora del día	5	0.0026	0.0005	10.87	<.0001
Especies x hora del día	20	0.0054	0.0002	5.64	<.0001
Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.3610	0.0902	20.50	<.0001
Hora del día	5	5.2781	1.0556	239.74	<.0001
Especies x hora del día	20	1.1317	0.0565	12.85	<.0001

Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	16.9748	4.2437	32.68	<.0001
Hora del día	5	29.0861	5.8172	44.79	<.0001
Especies x hora del día	20	22.6796	1.1339	8.73	<.0001
Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	7.3552	1.8388	20.92	<.0001
Hora del día	5	23.3215	4.6643	53.06	<.0001
Especies x hora del día	20	14.9404	0.7470	8.50	<.0001
Potencial osmótico (MPa)					
FUENTE	DF	SS	CM	F-Valor	Pr > F
Especies	4	0.1838	0.0459	18.33	<.0001
Hora del día	5	1.5701	0.3140	125.24	<.0001
Especies x hora del día	20	0.2983	0.0149	5.95	<.0001

Anexo C2. Comparación de medias de cinco especies de *Opuntia* en un gradiente de domesticación en un ciclo de 24 h y cultivadas sin riego por 30 días.

Acidez (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	0.7985	a
	<i>O. albicarpa</i>	0.7906	a
	<i>O. megacantha</i>	0.6639	b
	<i>O. ficus-indica</i>	0.5716	c
	<i>O. hyptiacantha</i>	0.5503	c
Hora de día	07 h	1.3478	a
	11 h	0.8639	b
	03 h	0.7027	c
	23 h	0.4805	d
	15 h	0.3923	e
	19 h	0.2626	f
Glucosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	7.7688	a
	<i>O. megacantha</i>	7.6932	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	6.1940	b
	<i>O. albicarpa</i>	5.9633	b
	<i>O. ficus-indica</i>	4.5848	c
Hora de día	19 h	7.3580	a
	23 h	7.2057	a
	15 h	6.5921	b
	03 h	6.5719	b
	07 h	5.5572	c
	11 h	5.3587	c
Fructosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	7.1554	a
	<i>O. megacantha</i>	6.9197	a
	<i>O. albicarpa</i>	5.2097	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	4.9939	b
	<i>O. ficus-indica</i>	3.8791	c
Hora de día	19 h	6.7235	a
	03 h	5.8088	b
	23 h	5.7989	b
	15 h	5.5547	b
	11 h	5.1578	c
	07 h	4.7098	d

Sacarosa (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	4.3902	a
	<i>O. megacantha</i>	4.0353	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	3.7477	c
	<i>O. albicarpa</i>	3.1774	d
	<i>O. ficus-indica</i>	2.5134	e
Hora de día	03 h	3.8398	a
	23 h	3.7733	ab
	19 h	3.5768	bc
	07 h	3.5017	cd
	15 h	3.4874	cd
	11 h	3.2579	d

Almidón (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. ficus-indica</i>	1.7686	a
	<i>O. albicarpa</i>	1.5182	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	1.4770	b
	<i>O. megacantha</i>	1.2666	c
	<i>O. streptacantha</i>	1.1973	c
Hora de día	15 h	1.8665	a
	11 h	1.7102	b
	19 h	1.4256	c
	23 h	1.4118	c
	03 h	1.1606	d
	07 h	1.0985	d

Fenoles totales (μmol g⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	20.7480	a
	<i>O. megacantha</i>	19.5128	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	19.3567	b
	<i>O. albicarpa</i>	18.7780	b
	<i>O. ficus-indica</i>	16.5914	c
Hora de día	07 h	21.1907	a
	03 h	20.5610	a
	23 h	18.8100	b
	11 h	18.2147	bc
	19 h	17.8070	c
	15 h	17.4010	c

Aminoácidos libres (mg 100 mg⁻¹ ts)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	0.1203	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	0.0696	b
	<i>O. albicarpa</i>	0.0688	bc
	<i>O. megacantha</i>	0.0644	c

	<i>O. ficus-indica</i>	0.0538	d
Hora de día	07 h	0.0809	a
	11 h	0.0787	ab
	15 h	0.0767	ab
	03 h	0.0745	bc
	19 h	0.0711	c
	23 h	0.0704	c

Proteínas solubles (mg 100 mg⁻¹ ts)

Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. hyptiacantha</i>	0.7497	a
	<i>O. megacantha</i>	0.6860	b
	<i>O. albicarpa</i>	0.6670	b
	<i>O. streptacantha</i>	0.6544	bc
	<i>O. ficus-indica</i>	0.6129	c
Hora de día	19 h	0.9439	a
	23 h	0.7933	b
	03 h	0.6740	c
	15 h	0.6655	c
	11 h	0.5751	d
	07 h	0.3929	e

Actividad de invertasa ácida (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)

Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. streptacantha</i>	6.2316	a
	<i>O. megacantha</i>	6.0076	a
	<i>O. hyptiacantha</i>	5.7438	b
	<i>O. albicarpa</i>	5.6209	b
	<i>O. ficus-indica</i>	5.3446	c
Hora de día	03 h	6.2956	a
	19 h	6.1858	ab
	23 h	5.9665	bc
	07 h	5.7206	c
	11 h	5.3588	d
	15 h	5.2109	d

Actividad de invertasa neutra (nmolas mg⁻¹ h⁻¹)

Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. hyptiacantha</i>	5.8600	a
	<i>O. streptacantha</i>	5.8844	a
	<i>O. megacantha</i>	5.6928	a
	<i>O. ficus-indica</i>	5.4074	b
	<i>O. albicarpa</i>	5.4007	b
Hora de día	19 h	6.0776	a
	15 h	5.9390	a
	03 h	5.7036	b
	23 h	5.6856	b
	11 h	5.4829	b

	07 h	4.9576	c
Potencial osmótico (MPa)			
Factor	Nivel	Medias	Agrupamiento
Especies	<i>O. ficus-indica</i>	-0.8405	a
	<i>O. albicarpa</i>	-0.8559	ab
	<i>O. megacantha</i>	-0.8813	b
	<i>O. hyptiacantha</i>	-0.8872	b
	<i>O. streptacantha</i>	-0.9340	c
Hora de día	19 h	-0.7454	a
	11 h	-0.7672	a
	15 h	-0.8740	b
	07 h	-0.9556	c
	03 h	-0.9597	c
	23 h	-0.9769	c