



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE BOTÁNICA**

**Caracterización de semillas de nopal  
(*Opuntia* spp., Cactaceae) y contenido de  
fenoles, flavonoides y terpenoides en  
nopalitos**

**CRISTIAN LÓPEZ PALACIOS**

**T E S I S**


**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

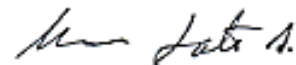
**DOCTOR EN CIENCIAS**

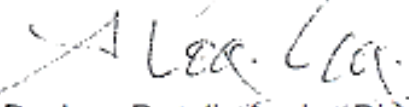
**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO  
2015**

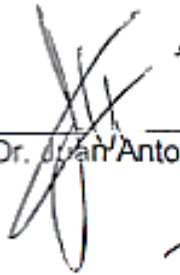
La presente tesis, titulada “**Caracterización de semillas de nopal (*Opuntia* spp., Cactaceae) y contenido de fenoles, flavonoides y terpenoides en nopalitos**”, realizada por el alumno: **Cristian López Palacios**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


**DOCTOR EN CIENCIAS  
BOTÁNICA  
CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA   
Dra. Cecilia Beatriz Peña Valdivia

ASESOR   
Dr. Ramón Marcos Soto Hernández

ASESOR   
Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

ASESOR   
Dr. Juan Antonio Reyes Agüero

ASESOR   
Dr. Juan Francisco Jiménez Bremont

ASESOR   
Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Septiembre de 2015

## CARACTERIZACIÓN DE SEMILLAS DE NOPAL (*Opuntia* spp., CACTACEAE) Y CONTENIDO DE FENOLES, FLAVONOIDES Y TERPENOIDES EN NOPALITOS

Cristian López Palacios, Dr.  
Colegio de Postgraduados, 2015

El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en los caracteres físicos de frutos y semillas y en los metabolitos secundarios (MS; fenoles, flavonoides y terpenoides) de los nopalitos como efecto de la variación inter- e intraespecífica del género *Opuntia* (Cactaceae). La hipótesis fue que los caracteres físicos de frutos y semillas, y los metabolitos secundarios de los nopalitos son inherentes de cada especie que pueden ser alterados como resultado de su humanización. Se realizaron experimentos con un diseño completamente al azar con número variable de tratamientos y repeticiones y un fruto o nopalito como unidad experimental. El tratamiento estadístico de los datos consistió en ANDEVA, comparación múltiple de medias por Tukey ( $p \leq 0.05$ ), ordenación (análisis de componentes principales, ACP) y clasificación (conglomerados) multivariable. Se recolectaron frutos de 115 variantes en la Altiplanicie Meridional de México y se les determinó la biomasa de la cáscara, de la pulpa y de las semillas normales y abortadas (deshidratadas); a la pulpa se le midió el contenido de sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix); a las semillas se les cuantificó su longitud, anchura y grosor, número total, de normales y de abortadas y la dureza de las normales. Los MS se determinaron en extractos metanólicos y hexánicos de nopalitos de 17.5 cm de longitud de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia* spp. y con diverso grado de humanización y analizados por cromatografía líquida en alta resolución. Los frutos de las variantes más domesticadas tuvieron biomasa mayor ( $p \leq 0.05$ ) que las intermedias y silvestres. No hubo diferencias significativas en grosor ni en dureza de las semillas. La biomasa del fruto y el número de semillas abortadas fueron las variables de mayor importancia según el ACP y separó a las especies y variantes de acuerdo a un gradiente de biomasa de pulpa y contenido de semillas abortadas. En la clasificación se aprecia la tendencia a mayor contenido de semillas abortadas en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, especies procedentes de ambientes humanizados y con grado mayor de domesticación. En el contenido de MS, *O. ficus-indica* tuvo el contenido mayor de ácidos fenólicos ( $86.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y flavonoides ( $23.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) pero menor de

terpenoides ( $1.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS); mientras que *O. hyptiacantha* tuvo el menor y mayor en ácidos fenólicos ( $20.8 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y terpenoides ( $5.0 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), respectivamente, y *O. megacantha* tuvo menos flavonoides ( $9.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). La variación intraespecífica de ácidos fenólicos en los nopalitos fue mayor en *O. ficus-indica* y para terpenoides los de *O. albicarpa* ( $p \leq 0.05$ ). Por primera vez se documenta la presencia de los ácidos clorogénico, siríngico y vainillínico en nopalitos de *Opuntia*. Como resultado de la domesticación de *Opuntia* existen diferencias significativas en el tamaño de los frutos y en la proporción de sus MS. Las variaciones inter- e intraespecíficas encontradas son muestra de la diversidad del género y como parte del proceso de adaptación y evolutivo de cada una de las especies de *Opuntia*.

**Palabras clave:** ácidos fenólicos, domesticación, flavonoides, intraespecífico, intravarietal, nopalitos, *Opuntia*, pulpa, semillas, terpenoides.



## CHARACTERIZATION OF SEEDS OF PRICKLY PEAR (*Opuntia* spp., CACTACEAE) AND CONTENT OF PHENOLS, FLAVONOIDS AND TERPENOIDS IN NOPALITOS

Cristian López Palacios, Dr.  
Colegio de Postgraduados, 2015

The objective of this study was to evaluate the changes in the physical characters of fruits and seeds and changes in the secondary metabolites (SM; phenols, flavonoids and terpenoids) of nopalitos as effect of the variation inter- and intraspecific of genus *Opuntia* (Cactaceae). The hypothesis was that the physical characters of fruits and seeds and the secondary metabolites of nopalitos are inherent of each species may be altered as a result of this humanization process. Experiments were carried out with a completely randomized design with variable number of treatments and replications with a fruit or nopalito as experimental unit. The statistical treatment of the data consisted of ANOVA, Tukey's multiple comparisons test ( $p \leq 0.05$ ), multivariate ordination (Principal Components) and classification (Clustering Analysis) multivariate. Fruits of 115 variants in the high plateau of Mexico were collected and the biomass of the skin, pulp, and normal and aborted seeds (dehydrated) was determined. The content of total soluble solids ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) was measured at the pulp; to the seeds were quantified its length, width and thickness, total number, normal and aborted seeds and the hardness of the normal ones. The SM were determined in methanolic and hexanic extracts obtained from nopalitos of 17.5 cm in length of 15 variants of five species of *Opuntia* spp. and with different degree of humanization and analyzed by high-performance liquid chromatography. The fruits of the most domesticated variants had greater biomass ( $p \leq 0.05$ ) than the intermediate and wild ones. There was no significant difference in thickness and hardness of the seeds. The biomass of the fruit and the number of aborted seeds were the variables of greater importance according to the PCA and it separated to the species and variants in accordance with a gradient of biomass pulp and content of aborted seeds. Classification shows the trend to higher content of aborted seeds in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*, species proceeding from humanized environments and with greater degree of domestication. In the content of SM, *O. ficus-indica* had the higher content of phenolic acids ( $86.9 \mu\text{g g}^{-1} \text{DM}$ ) and flavonoids ( $23.3 \mu\text{g g}^{-1} \text{DM}$ ) but less of terpenoids ( $1.9 \mu\text{g g}^{-1} \text{DM}$ ); while *O. hyptiacantha* had the

lowest and highest in phenolic acids ( $20.8 \mu\text{g g}^{-1}$  DM) and terpenoids ( $5.0 \mu\text{g g}^{-1}$  DM), respectively, and *O. megacantha* had fewer flavonoids ( $9.3 \mu\text{g g}^{-1}$  DM). Intraspecific variation of phenolic acids in nopalitos was greater in *O. ficus-indica* and for terpenoids those of *O. albicarpa*. For the first time documented the presence of acids chlorogenic, syringic and vainillinic in nopalitos of *Opuntia*. As a result of the domestication of *Opuntia* there are significant differences in the size of the fruits and the proportion of their SM. Inter- and intraspecifics variation found show the diversity of the genre and part of the process of adaptation and evolutionary of each of the species of *Opuntia*.

**Keywords:** domestication, flavonoids, intraspecific, intravarietal, nopalitos, *Opuntia*, phenolic acids, pulp, seeds, terpenoids

*Dedico esta tesis a mis padres y hermanos (Lulú, Toño, Luis, Cesar y July) que siempre me han apoyado en mis estudios. Se les quiere y se les agradece.*

*A Esther, mi pequeña Teté, llegaste a mí como luz para convertirte en mi compañera y amiga y emprender juntos este caminar hermoso llamado vida. Te amo.*

*A México, tierra de gente buena, honesta y trabajadora.*

## **Agradecimientos**

Al pueblo de México que gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología me otorgo la beca para mis estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados, a sus profesores, a sus trabajadores y compañeros, gracias por permitirme ser parte de esta comunidad y contribuir en mi formación de doctorado.

A la Dra. Cecilia Peña, mi consejera, gracias por todo su apoyo y disposición de tiempo. Por sus correcciones y comentarios tan acertados, pero en especial agradezco su paciencia, tolerancia y comprensión durante mis estudios de doctorado.

Al Dr. Toño Reyes, agradezco todos sus consejos, recomendaciones, apoyo y asesoría durante mis estudios de doctorado.

Al Dr. Marcos Soto por todas las facilidades para realizar la parte fitoquímica de los nopalitos y permitirme realizar estos experimentos en su laboratorio.

Al Dr. Rogelio Aguirre por todas sus observaciones y recomendaciones tan acertadas que ayudaron a mejorar la calidad del escrito de esta tesis.

Al Dr. Francisco Jimenez agradezco el apoyo para visualizar las diferencias micromorfológicas de las semillas mediante la toma de microfotografías.

Al Dr. Hugo Ramírez y familia agradezco su amistad y consejos para llevar a buen término mis estudios de posgrado.

A los MC Rubén y Ana Bertha, gracias por todas las facilidades y apoyo para trabajar en sus respectivos laboratorios.

A mis compañeros de cubículo y laboratorio Erasmo, Maki, Karina, Elena, Gerardo, Francisca, Huitzi y Ana.

A todos aquellos con los que tuve la fortuna de compartir experiencias buenas y malas, todas ellas de aprendizaje, y que forjaron una buena amistad: Paul, Yuri, Juan, Trino, Jorge, Angelica, Marco, Cipri, Ely, Magali, Lalo y Nestor.

A todos aquellos que en estos momentos no traigo a mi mente, pero que me ayudaron y apoyaron en esta etapa de mi vida, Gracias...!!!

## Contenido

Capítulo I. Introducción general .....	1
Literatura citada .....	7
Capítulo II. Revisión de literatura .....	13
Origen.....	13
Generalidades morfológicas de <i>Opuntia</i> .....	14
Cladodio.....	14
Flor y fruto.....	15
Semillas .....	17
Clasificación taxonómica .....	18
Metabolitos secundarios .....	21
Compuestos fenólicos.....	23
Terpenos.....	25
Metabolitos secundarios en nopal.....	27
Domesticación .....	30
Literatura citada .....	32
Capítulo III. Variación inter- e intraespecífica en biomasa de frutos, número de semillas y características de semillas en <i>Opuntia</i> spp. (Cactaceae).....	42
Resumen .....	42
Abstract .....	43
Introducción .....	44
Materiales y métodos.....	45
Resultados y discusión .....	48
Biomasa de fruto .....	48
Biomasa de la pulpa del fruto.....	52
Biomasa de semillas por fruto.....	56
Número de semillas por fruto .....	60
Dimensiones de las semillas normales .....	66
Dureza de las semillas normales .....	71
Análisis multivariable.....	74
Conclusiones .....	78
Literatura citada .....	79

Capítulo IV. Características físicas de frutos y semillas del género <i>Opuntia</i> (Cactaceae) en la Altiplanicie Meridional en relación con la domesticación.....	83
Resumen .....	83
Abstract .....	84
Introducción .....	85
Materiales y métodos.....	87
Resultados.....	89
ACP de las especies .....	89
Análisis de conglomerados de las especies.....	93
ACP de las variantes.....	95
Análisis de conglomerados de las variantes .....	99
Discusión .....	102
Conclusiones .....	106
Literatura citada .....	107
Capítulo V. Grafía química preliminar de nopalitos de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill. y <i>O. streptacantha</i> Lem. ....	112
Resumen .....	112
Abstract .....	114
Introducción .....	115
Materiales y métodos.....	117
Resultados y discusión .....	119
Pruebas colorimétricas.....	119
Fenoles .....	119
Alcaloides.....	120
Terpenoides .....	121
Cromatografía en capa fina.....	121
Conclusiones .....	123
Literatura citada .....	123
Capítulo VI. Variación inter- e intraespecífica del contenido y tipo de ácidos fenólicos en nopalitos ( <i>Opuntia</i> spp., Cactaceae) .....	128
Resumen .....	128
Abstract .....	129
Introducción .....	130
Materiales y métodos.....	132

Resultados y discusión .....	133
Perfil cromatográfico: identificación de ácidos fenólicos .....	133
Contenido de ácidos fenólicos .....	137
Ácido cafeico .....	138
Ácido clorogénico .....	139
Ácido <i>p</i> -coumárico .....	141
Ácido ferúlico .....	143
Ácido gálico .....	144
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico .....	144
Ácido siríngico .....	146
Ácido vainillínico .....	147
Conclusiones .....	150
Literatura citada .....	151
Capítulo VII. Variación inter- e intraespecífica de flavonoides en nopalitos ( <i>Opuntia</i> spp., Cactaceae) .....	157
Resumen .....	157
Abstract .....	159
Introducción .....	160
Materiales y métodos.....	162
Resultados y discusión .....	164
Perfil cromatográfico: identificación de flavonoides.....	164
Contenido de flavonoides.....	166
Apigenina .....	168
Isoramnetina.....	170
Quercetina.....	172
Rutina .....	174
Conclusiones .....	177
Literatura citada .....	177
Capítulo VIII. Variación inter- e intraespecífica de terpenoides en nopalitos ( <i>Opuntia</i> spp., Cactaceae) .....	183
Resumen .....	183
Abstract .....	184
Introducción .....	185
Materiales y métodos.....	187



Resultados y discusión .....	188
Perfil cromatográfico: identificación de terpenoides.....	188
Contenido de terpenoides .....	190
Ácido oleanólico .....	192
$\beta$ -amirina .....	194
Peniocerol .....	196
Conclusiones .....	198
Literatura citada .....	198
Capítulo IX. Discusión general .....	203
Literatura citada .....	207
Capítulo X. Conclusiones generales .....	213
Anexo A.....	214
Anexo B.....	234

## Lista de cuadros

### Capítulo II

<b>Cuadro 2.1</b> Contenido y biomasa de semillas en el fruto de <i>Opuntia</i> spp. registrados por diferentes autores.....	18
<b>Cuadro 2.2</b> Series taxonómicas de <i>Opuntia</i> (Bravo, 1978). .....	19
<b>Cuadro 2.3</b> Estructura de los tipos de compuestos fenólicos (Cheynier <i>et al.</i> , 2013).....	24
<b>Cuadro 2.4</b> Grupos de metabolitos secundarios registrados en <i>Opuntia</i> spp.....	28

### Capítulo III

<b>Cuadro 3.1</b> Especies, variantes y número de recolectas (N.R.) de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.) incluidas en el estudio. ....	46
<b>Cuadro 3.2</b> Componentes relativos (%) de la biomasa total del fruto de cinco especies de <i>Opuntia</i> , ordenadas de menor a mayor grado de domesticación. ....	54
<b>Cuadro 3.3</b> Coeficientes de correlación de Pearson de la biomasa de pulpa y del fruto con el número de semillas abortadas, normales y totales, en cinco especies de <i>Opuntia</i> con distinto grado de domesticación. ....	66
<b>Cuadro 3.4</b> Coeficientes de correlación de Pearson entre la dureza y dimensiones de la semilla de cinco especies de <i>Opuntia</i> con distinto grado de domesticación.....	74
<b>Cuadro 3.5</b> Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales basados en atributos de los frutos y semillas de 89 variantes de cinco especies de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.) con distinto grado de domesticación. ....	75

### Capítulo IV

<b>Cuadro 4.1</b> Identidad taxonómica de 115 variantes de 17 especies de <i>Opuntia</i> utilizadas para evaluar las características físicas de sus frutos y semillas. ....	88
---	----

**Cuadro 4.2** Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales obtenidos con atributos físicos de los frutos y las semillas de 17 especies de *Opuntia*. ..... 89

**Cuadro 4.3** Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales obtenidos con atributos físicos de los frutos y semillas de 115 variantes de *Opuntia* spp. .... 96

## Capítulo V

**Cuadro 5.1** Presencia (+) y ausencia (-) de grupos de compuestos en extractos obtenidos con agua, metanol y diclorometano de nopalitos de dos variantes silvestres (*O. streptacantha*) y dos domesticadas (*O. ficus-indica*), cosechados a las 5:00 y 12:00. .... 120

## Capítulo VI

**Cuadro 6.1** Ácidos fenólicos detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia*. .... 135

**Cuadro 6.2** Contenido de ácidos fenólicos ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) en nopalitos de cinco especies de *Opuntia* con distintos grados de humanización. .... 139

## Capítulo VII

**Cuadro 7.1** Flavonoides detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia*. .... 165

**Cuadro 7.2** Contenido medio de flavonoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) en nopalitos de cinco especies de *Opuntia*. .... 169

## Capítulo VIII

**Cuadro 8.1** Terpenoides detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia* spp. .... 189

**Cuadro 8.2** Contenido de terpenos en nopalitos de cinco especies (*Opuntia* spp.). .... 193

## Lista de figuras

### Capítulo II

- Figura 2.1** Ruta de biosíntesis de los compuestos fenólicos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009)..... 23
- Figura 2.2** Ruta de biosíntesis de los terpenos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009). ..... 26

### Capítulo III

- Figura 3.1** Distribución de frecuencias de biomasa del fruto (A-E) y pulpa (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación..... 49
- Figura 3.2** Biomasa de fruto (A) y pulpa (B) (+ e.e.) de las dos variantes con los valores extremos de las cinco especies de *Opuntia*..... 50
- Figura 3.3** Biomasa de frutos (A) y semillas (B) de *Opuntia* (+ e.e) en un gradiente de domesticación. .... 51
- Figura 3.4** Distribución de frecuencias de biomasa de las semillas normales (A-E) y abortadas (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación. .... 57
- Figura 3.5** Biomasa de las semillas normales (A) y abortadas (B) por fruto (+ e.e.) de las dos variantes con los valores extremos de cada una de las cinco especies de *Opuntia*..... 58
- Figura 3.6** Distribución de frecuencias del número de semillas normales (A-E) y abortadas (F-J) en frutos de cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación. .... 61
- Figura 3.7** Semillas normales (A) y abortadas (B) (+ e.e.) por fruto en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de *Opuntia*. .... 62
- Figura 3.8** Semillas normales y abortadas (A) por fruto y dimensiones de las semillas normales (B) (+ e.e.) de las cinco especies de *Opuntia* con distinto grado de domesticación..... 63
- Figura 3.9** Variación de la anchura (A-E) y grosor de las semillas normales (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación..... 67

<b>Figura 3.10</b> Anchura (A) y grosor (B) de semillas (+ e.e.) en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de <i>Opuntia</i> .....	68
<b>Figura 3.11</b> Variación en la longitud (A-E) y dureza de las semillas normales (F-J) de cinco especies de <i>Opuntia</i> . DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.....	70
<b>Figura 3.12</b> Longitud (A) y dureza (B) de las semillas normales (+ e.e.) en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de <i>Opuntia</i> .....	71
<b>Figura 3.13</b> Dureza de semillas normales (+ e.e.) de cinco especies de <i>Opuntia</i> con distinto grado de domesticación. ....	72
<b>Figura 3.14</b> Ordenación sobre los primeros tres componentes principales de 89 variantes pertenecientes a cinco especies de nopal con distinto grado de domesticación; n=89. ....	76
<b>Figura 3.15</b> Clasificación de 89 variantes de cinco especies de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.) con distinto grado de domesticación, con base en atributos del fruto y semillas.....	77

#### Capítulo IV

<b>Figura 4.1</b> Ordenación de los componentes principales (CP) 1, 2 y 3 de 17 especies de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.) basada en diez variables de frutos y semillas. ....	91
<b>Figura 4.2</b> Clasificación de 17 especies de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.) con base en las características del fruto y las semillas. Alb: <i>O. albicarpa</i> ; Cha: <i>O. chavena</i> ; Coc: <i>O. cochineria</i> ; Dur: <i>O. durangensis</i> ; Fic: <i>O. ficus-indica</i> ; Hyp: <i>O. hyptiacantha</i> ; Jal: <i>O. jaliscana</i> ; Joc: <i>O. joconostle</i> ; Las: <i>O. lasaiacantha</i> ; Leu: <i>O. leucotricha</i> ; Lin: <i>O. lindheimeri</i> ; Meg: <i>O. megacantha</i> ; Pha: <i>O. phaeacantha</i> ; Rob: <i>O. robusta</i> ; Rze: <i>O. rzedowskii</i> ; Str: <i>O. streptacantha</i> ; Vel: <i>O. velutina</i> . ....	94
<b>Figura 4.3</b> Ordenación de los componentes principales (CP) 1, 2 y 3 de 115 variantes de nopal de 17 especies ( <i>Opuntia</i> spp.) basada en nueve variables de frutos y semillas. ....	98

<b>Figura 4.4</b> Clasificación de 115 variantes y cultivares de <i>Opuntia</i> spp. con base en las características físicas de los frutos y las semillas.....	101
--	-----

## Capítulo V

<b>Figura 5.1</b> Placas cromatográficas con flavonoides (A) y fenoles (B) en el extracto obtenido con metanol, y terpenoides (C) en el extracto generado con diclorometano. FA y FRV: variantes Atlixco y Rojo Vigor de <i>O. ficus-indica</i> ; SC y STL: variantes Castilla y Tuna Loca de <i>O. streptacantha</i> .....	122
---	-----

## Capítulo VI

<b>Figura 6.1</b> Ruta de biosíntesis de los compuestos fenólicos (Ávalos y Perez-Urria, 2009).....	130
<b>Figura 6.2</b> Cromatogramas típicos de los ácidos fenólicos identificados por HPLC en nopalitos de <i>Opuntia</i> spp. A) COPENA V1 de <i>O. ficus-indica</i> ; B) Rojo Lirio de <i>O. megacantha</i> .....	134
<b>Figura 6.3</b> Proporción de ácidos fenólicos en nopalitos de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 9. ....	137
<b>Figura 6.4</b> Contenido medio de ácidos cafeico (A) y clorogénico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). ....	140
<b>Figura 6.5</b> Contenido medio de ácidos <i>p</i> -coumárico (A) y ferúlico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). ....	142
<b>Figura 6.6</b> Contenido medio de ácidos gálico (A) y <i>p</i> -hidroxibenzoico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). ....	145
<b>Figura 6.7</b> Contenido medio de ácido siríngico en nopalitos de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). ....	147

<b>Figura 6.8</b> Contenido medio de ácido vainillínico, + error estándar, en nopalitas de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> . (A) Variantes con contenidos menores que 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; (B) Variantes con contenidos menores que 40 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS (n = 3). .....	148
---	-----

## Capítulo VII

<b>Figura 7.1</b> Estructura química básica de los flavonoides (Winkel-Shirley, 2001). .....	160
<b>Figura 7.2</b> Ruta de biosíntesis de los flavonoides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009) .....	161
<b>Figura 7.3</b> Cromatogramas típicos de los flavonoides identificados por HPLC en nopalitas de <i>O. ficus-indica</i> variantes COPENA V1 (A) y Atlixco (B). .....	164
<b>Figura 7.4</b> Contenido medio de flavonoides en nopalitas de cinco especies (A; n = 9) y de 15 variantes (B; n = 3) de <i>Opuntia</i> , + error estándar (* Cardona de Castilla). .....	167
<b>Figura 7.5</b> Contenido medio de apigenina en nopalitas de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). .....	169
<b>Figura 7.6</b> Contenido de isoramnetina en nopalitas de cuatro especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). .....	171
<b>Figura 7.7</b> Contenido medio de quercetina en nopalitas de variantes de tres especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3. ....	173
<b>Figura 7.8</b> Contenido medio de rutina en nopalitas de variantes de cinco especies de <i>Opuntia</i> , + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). .....	175

## Capítulo VIII

<b>Figura 8.1</b> Cromatograma de Cardona de <i>O. streptacantha</i> , típico con los terpenoides identificados por HPLC. ....	188
<b>Figura 8.2</b> Contenido medio de terpenoides totales en nopalitas de cinco especies (A), y en 15 variantes (B), + error estándar (* Cardona de Castilla). .....	191
<b>Figura 8.3</b> Contenido medio de ácido oleanólico en nopalitas de nueve variantes, + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla). .....	194

<b>Figura 8.4</b> Contenido medio de $\beta$ -amirina en nopalitos de 15 variantes, + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla).....	195
<b>Figura 8.5</b> Contenido medio de peniocerol en nopalitos de nueve variantes, + error estándar; n = 3 (* Cardona de Castilla).....	197



## Capítulo I. Introducción general

En la familia Cactaceae el género *Opuntia* Mill. junto con *Mamillaria* Haw. destacan por su amplia diversidad y distribución. *Opuntia* incluye 188 especies y 66 de ellas, con numerosas variantes silvestres y cultivares, son nativas de México (Anderson, 2001; Hernández *et al.*, 2014). La clasificación de Britton y Rose (1919) divide al género *Opuntia* en los subgéneros *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Corynopuntia*, *Stenopuntia* y *Opuntia* (anteriormente *Platyopuntia*). A la vez, estos autores agruparon a las especies del subgénero *Opuntia* en 29 series taxonómicas.

Las tunas o frutos de *Opuntia* son bayas uniloculares y polispermicas, con forma cilíndrica, obovoide o elíptica, con cáscara cerosa o tomentosa; sus coloraciones varían de amarillo pálido a rojo púrpura, su longitud puede ser de 2.70 a 11.60 cm, su anchura de 2.30 a 6.90 cm y su peso de 7.50 a 237.90 g (Reyes-Agüero *et al.*, 2009). Tres tipos de frutos son identificables: 1) los de sabor dulce, con cáscara delgada y semillas rodeadas por pulpa abundante, 2) los secos, con cáscara delgada y semillas rodeadas con pulpa escasa o nula, y 3) los ácidos conocidos como xoconostles, con cáscara comestible, gruesa, succulenta y ácida, y semillas rodeadas con pulpa escasa (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009; García-Pedraza *et al.*, 2005; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). En 126 variantes de *Opuntia* spp. Reyes-Agüero *et al.* (2009) documentaron la amplitud de dulzura de la pulpa de los frutos de 1.7 a 19.7° Brix. En frutos de tuna dulce (*O. dillenii* Haw.) la dulzura fue de 10.3° Brix (Díaz-Medina *et al.*, 2007), y en los de la especie con distribución mayor (*O. ficus-indica* (L.) Mill.) los registros van desde 11.7 hasta 15.7 °Brix (Felker *et al.*, 2005; Schirra *et al.*, 1999; Walker *et al.*, 2011).

Debido a la diversidad y distribución amplia de especies y variantes se infiere que la variabilidad genética de este género es sobresaliente; esto se relaciona con su adaptabilidad ecológica alta para vivir en condiciones climáticas diversas (Stintzing y Carle, 2005). La variabilidad de las características físicas de las semillas del género *Opuntia*, como longitud, anchura, grosor y biomasa puede ser un reflejo de la variabilidad y riqueza del género (Adewale *et al.*, 2012), aunque en general el tamaño de las semillas es un rasgo asociado con la habilidad de las especies para dispersarse

y establecerse (Leishman y Murray, 2001; Obeso *et al.*, 2011), que en el caso de *Opuntia*, esta característica se complementa con su multiplicación vegetativa.

Las características morfológicas de las semillas pueden emplearse en estudios evolutivos. Caracteres micromorfológicos de las semillas de *Ephedra* (Ickert-Bond y Rydin, 2011), *Gentiana* (Davitashvili y Karrer, 2010) y *Moehringia* (Minuto *et al.*, 2011) fueron empleados para identificar especies y evaluar procesos evolutivos de esos géneros. En la literatura especializada no se encontraron estudios de evolución o domesticación con base en los caracteres morfológicos de las semillas de *Opuntia*. En contraste, sí existen aquellos donde las características de estas estructuras, se ha evaluado la calidad del fruto para consumo humano (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994).

La humanización de la biota es un proceso evolutivo integrado por presiones de selección naturales y culturales, que probablemente se inicia en ciertas poblaciones silvestres, elegidas por sus caracteres deseables, y puede terminar por efecto de la selección humana, en diferencias genéticas y morfológicas que las distingua claramente de sus ancestros silvestres (Harlan, 1992; Pickersgill, 2007; Perales y Aguirre, 2008). Este proceso es gradual y continuo, y su rapidez y profundidad depende de la especie (Perales y Aguirre, 2008) y del grado de interacción con los humanos. El conjunto de diferencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas entre las especies domesticadas y sus congéneres silvestres constituye el síndrome de domesticación que, en algunos casos, puede disminuir la capacidad de la especie domesticada para sobrevivir en ambientes naturales (Zohary, 2004). Los atributos que configuran el síndrome de domesticación o humanización extrema incluyen 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 (McKey *et al.*, 2010; Peña-Valdivia *et al.*, 2012; Pickersgill, 2007).

En *Opuntia*, Reyes-Agüero *et al.* (2005) reconocieron el grado de humanización de varias especies con base en la comparación multivariable de 42 características morfológicas de las plantas, cladodios, nopalitos y frutos de 483 variantes. Así,

establecieron que *O. streptacantha* Lem. se ubicó en el extremo menos humanizado o silvestre, seguida de *O. hyptiacantha* A. Web. y *O. megacantha* Salm-Dyck, en la parte intermedia, y en el otro extremo, el de las variantes con grado mayor de humanización, identificaron a *O. albicarpa* Sheinvar y a *O. ficus-indica*. Entre los cambios en los frutos relacionados directamente con la humanización, dichos autores reconocieron el incremento del dulzor de la pulpa y del tamaño del fruto, además de la disminución de la cantidad y dureza de las semillas, y el cambio en las proporciones de semillas abortadas y normales por fruto.

Además, Aguilar-Estrada *et al.* (2003) documentaron en *Opuntia* el efecto de la humanización en los caracteres morfológicos de las semillas. El interés por las semillas ha sido principalmente por su relación con la calidad del fruto para consumo humano (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994). En un análisis de los cultivares italianos Gailla y Rossa de *O. ficus-indica*, se registró que el tamaño del fruto dependió del número y peso de las semillas por fruto; que el peso de la pulpa (58 a 90 g) se correlacionó positiva y significativamente con el número de semillas (234 a 319); y que la relación de semillas normales y abortadas fue constante, independientemente de su cantidad total en los frutos (Barbera *et al.*, 1994). Aguilar-Estrada *et al.* (2003) documentaron que los frutos de *Opuntia* tienen en promedio 229 semillas, de las cuales 186 son normales y 43 son abortadas; pero, estos datos pueden variar con la especie, el cultivar y las condiciones de desarrollo de la planta (Barbera *et al.*, 1994). La pulpa de la tuna se desarrolla desde el exterior de las células epidérmicas de la envoltura funicular y del funículo de ambos tipos de semillas (Pimienta y Engleman, 1985), y el contenido de pulpa depende de la cantidad de semillas del fruto. Pero, en la elección de cultivares para la producción de frutos, se prefieren variantes con pocas semillas, pequeñas o con abundancia de abortadas (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994).

Otro aspecto a considerar en este estudio son los metabolitos secundarios, los cuales se definen como compuestos orgánicos que, en general, no tienen función directa con el desarrollo de la planta (Taiz y Zeiger, 2010). La distribución de estos metabolitos está restringida a ciertos grupos taxonómicos y tienen una función importante en la interacción de los organismos con su ambiente (Bourgaud *et al.*, 2001;

Wink, 2003). Además, varios de estos compuestos son responsables del color, apariencia, aroma y sabor de los frutos y hojas (Tomás-Barberán y Robins, 1997). Los metabolitos secundarios son una característica adaptativa que se ha diversificado por selección natural, y en las plantas tienen algún papel en la protección contra virus, bacterias, hongos, plantas competitivas y algunos herbívoros (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003).

Algunos de estos compuestos químicos se han empleado como marcadores junto con los caracteres morfológicos para identificar especies. En un estudio intra e inter específico de diversidad química de flavonoides en 67 muestras de *Dionysia* y *Primula*, se evidenció la relación de estos compuestos con caracteres morfológicos y taxonómicos (Valant-Vetschera *et al.*, 2010). Un estudio relacionado con la taxonomía y sistemática del género *Pinus* mostró que los patrones de algunos marcadores bioquímicos coinciden con la clasificación taxonómica (Kaundun y Lebreton, 2010). En el caso de *Opuntia*, Benson (1982) relacionó los resultados del análisis químico de flavonoides en cladodios de un año de edad con los análisis morfológicos en algunas variantes del sureste de California, EE.UU., que pudieron haberse originado por la hibridación de especies nativas de porte bajo, como *O. littoralis* Engelm. y *O. phaeacantha* Engelm., con *O. ficus-indica*, especie introducida desde México por los colonizadores españoles entre los siglos XVII y XVIII. El citado autor, observó que algunos flavonoides estaban sólo en la especie introducida y otros en las nativas; esto permitió comparar los compuestos presentes en los híbridos e identificar su procedencia.

La tendencia global actual hacia el consumo de alimentos con compuestos antioxidantes naturales ha impulsado el estudio de las especies que los contienen; entre ellas están las de *Opuntia* (Saleem *et al.*, 2006; Stintzing y Carle, 2005). La presencia de compuestos fenólicos se ha comprobado en *Opuntia* y se ha demostrado su dependencia de la especie, del órgano y del disolvente de extracción. Así, las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos de la cáscara de tuna de *O. ficus-indica* y del cladodio fueron de hasta 50 %, con la concentración mayor de estos metabolitos en los cladodios (Moussa-Ayoub *et al.*, 2014). Los cladodios de *O. ficus-indica*, *O. leucotricha* DC, *O. lindheimeri* Engelm., *O. rastrera*, *O. robusta* Wendl.,

*O. streptacantha* y *O. undulata* Griffiths también presentaron estos compuestos fenólicos (de 0.3 a 180.3 mg equivalentes de ácido gálico [GAE] g<sup>-1</sup>) (Lee *et al.*, 2002; Santos-Zea *et al.*, 2011). En un estudio entre variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* spp. se obtuvo entre 2.0 y 20.0 mg GAE g<sup>-1</sup> en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010). En las flores de *O. ficus-indica*, *O. stricta* Haw. y *O. microdays* (Lem.) Pfeiff. también se ha documentado la presencia de fenoles (de 1.24 a 80.9 mg GAE g<sup>-1</sup>) (Ammar *et al.*, 2012; Chahdoura *et al.*, 2014). En la pulpa de *O. ficus-indica*, *O. dillenii* (Ker Gawl.) Haw., *O. joconostle* A. Web. y *O. matudae* Sheinvar concentraciones de 0.4 a 72.3 mg GAE g<sup>-1</sup> se han documentado (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Moussa-Ayoub *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2012; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011).

Del grupo de compuestos fenólicos, los flavonoides han sido ampliamente estudiados en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2002; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011), flores (Chahdoura *et al.*, 2014) y frutos (Abdel-Hamed *et al.*, 2014; Kuti, 2004; Lee *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012 y 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). En menor medida también se han documentado los ácidos fenólicos en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010) y frutos (Morales *et al.*, 2014).

Los terpenoides se han cuantificado en concentración de 0.06 a 32.4 % con respecto al total de metabolitos secundarios, en flores de *O. ficus-indica* en etapas diferentes de desarrollo (Ammar *et al.*, 2012). En la literatura especializada no se encontró información de terpenoides en algún otro órgano de las plantas del género *Opuntia*.

El conjunto de caracteres bioquímico-morfológicos de la planta pueden explicar algunos cambios relacionados con el proceso de humanización. Las evidencias señalan que en *Opuntia* este proceso ha tenido como base el interés por los frutos y nopalitos (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Entre los cambios químicos documentados en *Opuntia* en este respecto, están las modificaciones del contenido y características de compuestos como polisacáridos estructurales (López-Palacios *et al.*, 2012; Peña-Valdivia *et al.*, 2012). De los polisacáridos estudiados, el grupo de los mucílagos ha recibido mayor atención por su papel fisiológico en las plantas, relacionado con la

resistencia a sequías y heladas (Goldstein y Nobel, 1994; Nobel, 2012; Nobel *et al.*, 1992). Además, los mucílago están en proporción mayor en *O. ficus-indica* (11.7 %) (López-Palacios *et al.*, 2012), una de las especies con grado mayor de humanización y de distribución más amplia en el mundo (Griffith, 2004; Nobel, 2012; Reyes-Agüero *et al.*, 2005), en contraste con las especies calificadas como silvestres.

Lo descrito en párrafos anteriores muestra que la diversidad génica de *Opuntia* puede describirse con base en los caracteres morfológicos, fisiológicos o bioquímicos (Wang *et al.*, 1998), y que estos caracteres pueden ayudar a reconocer los cambios con su humanización. El avance en la descripción del género y en su humanización y domesticación puede incrementarse reconociendo las diferencias y similitudes intra- e interespecíficas de las características menos estudiadas de las semillas, los frutos y los nopalitos. Por ello, objetivos de este estudio fueron:

- Evaluar los cambios en los caracteres físicos de frutos y semillas como efecto de la variación inter- e intraespecífica del género *Opuntia* (Cactaceae).
- Relacionar el grado de humanización de *Opuntia* con la biomasa del fruto y con la cantidad y características físicas de sus semillas.
- Evaluar la variación inter- e intraespecífica del contenido y tipos de fenoles, flavonoides y terpenoides en los nopalitos del género *Opuntia*.

La hipótesis planteada fue que los caracteres físicos de frutos y semillas, y los metabolitos secundarios de los nopalitos son inherentes de cada especie pueden ser alterados como resultado de su humanización. Las hipótesis particulares son:

- Las diferencias en las características físicas de frutos y semillas están relacionadas con los procesos de humanización y domesticación del género *Opuntia*.
- Los frutos de tamaño mayor con pocas semillas normales, mayor cantidad de semillas abortadas, corresponden a las variantes y especies con grado mayor de humanización.
- Por lo menos tres grupos de metabolitos (ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides) existen en los nopalitos del género *Opuntia* y su variación intraespecífica es menor que la interespecífica.

## Literatura citada

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry*. 160: 31-38.
- Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre R. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). En: Esparza, G., M.A. Salas L., J. Mena C. y R.D. Valdez Z. (eds.). Memoria del IX Congreso Nacional y VII Congreso Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas, México. pp. 117-120.
- Adeyemi, B.D., C.O. Aremu y U.E. Amazue. 2012. Intra-specific variability and diversity analysis of African yam bean by seed size parameters. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 7: 454-461.
- Álvarez A., R. y C. B. Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *Journal of Professional Association for the Cactus Development*, 11: 26-44.
- Ammar, I., M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yangui y H. Attia. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products*. 37: 34-40.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 776 p.
- Barbera, G., P. Inglese y T. La-Mantia. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia Horticulturae*. 58:161-165.
- Benson, L. 1982. The Cacti of the United States and Canada. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1044 p.
- Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi y E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851.
- Britton, N.L. y J.N. Rose. 1963. The Cactaceae, vol. 1. Carnegie Institution of Washington. Washington D.C., USA. 241 p.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia*

- microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. *Journal of Functional Foods*. 9: 27-37.
- Corral-Aguayo, R.D., E.M. Yahia, A. Carrillo-López y G. González-Aguilar. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measurement with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 10498-10504.
- Davitashvili, N. y G. Karrer. 2010. Taxonomic importance of seed morphology in *Gentiana* (Gentianaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 162: 101-115.
- Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chemistry*. 103: 38-45.
- Felker, P., S. del C. Rodríguez, R.M. Casoliba, R. Filippini, D. Medina y R. Zapata. 2005. Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *Journal of Arid Environments*. 60: 405-422.
- García-Pedraza, L.G., J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera y J.M. Pinos-Rodríguez. 2005. Preliminary nutritional and organoleptic assessment of xoconostle fruit (*Opuntia* spp.) as a condiment or appetizer. *Italian Journal of Food Science*. 3: 333-340.
- Goldstein, G. y P.S. Nobel. 1994. Water relations and low-temperature acclimation for cactus species varying in freezing tolerance. *Plant Physiology*. 104: 675-681.
- Griffith, M.P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *American Journal of Botany*. 91: 1915-1921.
- 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 y A.P. Barba de la R. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of comercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 23: 525-532.
- Harlan, J.R. 1992. *Crops & Man*. American Society of Agronomy. Wisconsin, USA. 295 p.



- Hernández, H., C. Gómez H., R.T. Bárcenas, R. Puente y J.A. Reyes-Agüero. 2014. A checklist of the subfamily Opuntioideae (Cactaceae) from North and Central America. En: Hunt, D. (Ed.) Further studies in the Opuntioideae (Cactaceae). Succulent Plant Research. The Mance, Chapel Lane, Milborne Port, England. pp. 185-200.
- Ickert-Bond, S. y C. Rydin. 2011. Micromorphology of the seed envelope of *Ephedra* L. (Gnetales) and relevance for the timing of evolutionary events. International Journal of Plant Science. 172: 36-48.
- Kaundun, S.S. y P. Lebreton. 2010. Taxonomy and systematics of the genus *Pinus* based on morphological, biogeographical and biochemical characters. Plant Systematic and Evolution. 284: 1-15.
- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. Food Chemistry. 85: 527-533.
- Lee, J.C., H.R. Kim, J. Kim y Y.S. Jang. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 6490-6496.
- Leishman, M.R. y B.R. Murray. 2001. The relationship between seed size and abundance in plant communities: model predictions and observed patterns. Oikos. 94: 151-161.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero y A.I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). Genetic Resources and Crop Evolution. 59: 1015-1026.
- McKey, D., M. Elias, B. Pujol y A. Duputié. 2010. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. New Phytologist 186: 318-332.
- Minuto, L. E. Roccatiello y G. Casazza. 2011. New seed morphological features in *Moehringia* L. (Cariophyllaceae) and their taxonomic and ecological significance. Plant Biosystems. 145: 60-67.
- Morales, P., L. Barros, E. Ramírez-Moreno, C. Santos-Buelga e I.C.F. Ferreira. 2014. Exploring xocconostle by-products as sources of bioactive compounds. Food Research International. 65: 437-444.

- Morales, P., E. Ramírez-Moreno, M. de C. Sánchez-Mata, A.M. Carvalho e I.C.F.R. Ferreira. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Sheinvar) of high consumption in Mexico. Food Research International. 46: 279-285.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.-S. El-Hady, H.T. Omran, S.K. El-Samahy, L.W. Kroh y S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. Food Research International. 54: 854-872.
- Nobel. P.S. 2012. Sabiduría del desierto, agaves y cactus: CO<sub>2</sub>, agua, cambio climático. Biblioteca Básica de Agricultura. Mundi Prensa México, Colegio de Postgraduados. México, D.F., México. 160 p.
- Nobel, P.S., J. Cavelier y J.L. Andrade. 1992. Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. Journal of Experimental Botany. 43: 641-648.
- Obeso, J.R., I. Martínez y D. García. 2011. Seed size is heterogeneously distributed among destination habitats in animal dispersed plants. Basic and Applied Ecology. 12: 134-140.
- Osorio-Esquivel, O., A. Ortiz-Moreno, V.B. Álvarez, L. Dorantes-Álvarez y M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. Food Research International. 44: 2150-2158.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo, V.B. Arroyo-Peña, A.B. Sánchez U. y R. Balois M. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). Chemistry & Biodiversity. 9: 1599-1610.
- Perales R., H.R. y J.R. Aguirre R. 2008. Biodiversidad humanizada. En: Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. pp. 565-603.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. Annals of Botany. 100: 925-940.

- Pimienta, E. y E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Agrociencia* 62:51-56.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R., F. Carlín C. y A. González D. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT. San Luis Potosí, S.L.P. México. 350 p.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R. y J.L. Flores F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia*. 30: 476-484.
- Saleem, M., H.J. Kim, Ch.K. Han, Ch. Jin, y Y.S. Lee. 2006. Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Phytochemistry*. 67: 1390-1394.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutiérrez-Urbe y O. Serna-Saldívar. 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.
- Schirra, M., P. Inglese y T. La Mantia. 1999. Quality of cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruit in relation to ripening time, CaCl<sub>2</sub> pre-harvest sprays and storage conditions. *Scientia Horticulturae*. 81: 425-436.
- Stintzing, F.C. y R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): a review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*. 49: 175-194.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetts, USA. 782 pp.
- Tomás-Barberán, F.A. y R.J. Robins. 1997. *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*. Clarendon Press. USA. 398 pp.
- Valant-Vetschera, K.M., T.D. Bhutia y E. Wollenweber. 2010. Chemodiversity of exudate flavonoids in *Dionysia* (Primulaceae): a comparative study. *Phytochemistry*. 71: 937-947.
- Walker, R.P., F. Famiani, A. Baldicchi, J.G. Cruz-Castillo y P. Inglese. 2011. Changes in enzymes involved in photosynthesis and other metabolic processes in the fruits of

- Opuntia ficus-indica* during growth and ripening. *Scientia Horticulturae*. 128: 213-219.
- Wang, X., P. Felker, D.M. Burow y H.A. Paterson. 1998. Comparison of RAPD marker patterns to morphological and physiological data in the classification of *Opuntia* accessions. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 3:3-14.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3-19.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany* 58: 5-10.

## Capítulo II. Revisión de literatura

### Origen

Las cactáceas son endémicas de América (Benson, 1982) y sus formas ancestrales fueron plantas foliadas extintas que vivieron en territorios emergidos del Caribe (Rodríguez-Mesa, 2001). De esas formas se originaron las subfamilias *Opuntioideae* y *Ceroideae*, aproximadamente hace 30 a 35 millones de años (Anderson, 2001; Arakaki *et al.*, 2011); a la vez, éstas se dispersaron hacia el norte y el sur del continente americano, regiones en las que la mayoría se diferenció en géneros que alcanzaron una diversificación y endemismo notable en las regiones áridas (Anderson, 2001; Arakaki *et al.*, 2011; Bravo, 1978).

*Opuntia* Mill. junto con *Mamillaria* Haw. son de los géneros con mayor diversidad y distribución en la familia Cactaceae (Anderson, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2009). El género *Opuntia* se diversificó aproximadamente hace 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011), por lo que aún se encuentra en un proceso de cambio continuo y diferenciación evolutiva (Labra *et al.*, 2003). Diversos autores señalaron que el origen geográfico y evolutivo de *Opuntia* es incierto (Anderson, 2001; Bravo, 1978; Britton y Rose, 1919; Griffith, 2004), en parte por la distribución amplia de sus especies en Norte y Sudamérica (Anderson, 2001). Sin embargo, Sáenz (2006) menciona que *Opuntia* se originó en las regiones tropicales y subtropicales de América. Al respecto, Majure *et al.* (2012), en un estudio para delinear el clado de *Opuntia* y su origen geográfico con base en métodos moleculares y biogeográficos, sugirió que el ancestro más reciente de *Opuntia* procede del oeste de América del Sur, desde donde se dispersó a los valles centrales de los Andes del Perú y a los desiertos del oeste de América del Norte. Los autores también señalan que su especiación se incrementó en América del Norte por hibridación y subsecuente aloploidía, evento común en *Opuntia*. Recientemente, la dispersión mayor del género en el mundo se llevó a cabo, por antropocoria, durante el periodo de la colonia española en América (Sáenz, 2006).

## **Generalidades morfológicas de *Opuntia***

### *Cladodio*

Las plantas de *Opuntia* tienen adaptación ecológica especializada, con divergencias en su morfología, que las hace sobrevivir en condiciones ambientales diferentes (Stintzing y Carle, 2005). Bravo (1978) las define como plantas arborescentes, arbustivas o rastreras con tronco bien definido o con ramas desde la base, con tallos globosos, claviformes o aplanados llamados cladodios. Los cladodios son verdes y muy carnosos, con forma lanceolada, elíptica u obovada e incluyen aréolas con yemas axilares y hojas caducas pequeñas (Bravo, 1978; Gibson y Nobel, 1986). La longitud de los cladodios, cuando han alcanzado su crecimiento máximo, es de 17 a 63 cm, la anchura es de 12 a 32 cm y el espesor es de 0.5 a 4.0 cm; en ocasiones tienen manchas rojas o púrpuras bajo la aréola y presentan epidermis cerosa o pubescente. En su estado juvenil los cladodios reciben el nombre de nopalitos, los cuales presentan un podario prominente o tendiendo a plano, con hojas verdaderas pequeñas (0.3 a 0.9 cm de longitud) con forma cónica y color verde o con aspecto rojizo (Reyes-Agüero *et al.*, 2009). Estas hojas pequeñas, originadas en las aréolas, son caducas y pueden persistir hasta que el cladodio se expande completamente (Gibson y Nobel, 1986). En la literatura especializada no hay información acerca de la función fisiológica de las hojas, particularmente sobre que compuestos aportan, como producto de la fotosíntesis, que probablemente realizan.

Los cladodios se lignifican con el tiempo y pueden llegar a transformarse en verdaderos tallos leñosos, agrietados, de color ocre blancuzco y grisáceo (Saénz, 2006). En México, los cladodios tiernos o nopalitos se consumen como verdura, mientras que los cladodios maduros tienen otros usos, principalmente como forraje (Stintzing y Carle, 2006).

Los cladodios de *Opuntia* tienen aréolas en ambas caras y en los márgenes, en esas aréolas se localizan los meristemos que dan lugar a espinas, estructuras foliares y espinas pequeñas, caducas, formadas de la misma manera que las espinas persistentes, llamadas gloquidios y que caracterizan a la subfamilia Opuntioideae (Bravo, 1978; Gibson y Nobel, 1986; Wallace y Gibson, 2002). En los nopalitos, las aréolas tienen indumento color castaño, negro, amarillo, blanco o gris, entre cero y

trece pelos setosos y de cero a tres espinas cada una (Reyes-Agüero *et al.*, 2009). El meristemo areolar puede formar una raíz adventicia, una flor o un cladodio nuevo cuando existe el estímulo ambiental apropiado (Sáenz, 2006); debido a que el meristemo se agota, sólo genera órganos nuevos una vez (Gibson y Nobel, 1986).

Por ser las hojas de *Opuntia* caducas, los cladodios de *Opuntia* evolucionaron para realizar la fotosíntesis. Asimismo, el establecimiento del metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC) fue un proceso adaptativo para sobrevivir en condiciones con temperaturas altas y periodos prolongados de restricción de humedad. El MAC se caracteriza por la entrada de CO<sub>2</sub> a la planta, predominantemente por la noche, con la intervención de la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPc) y el fosfoenolpiruvato se forman ácidos con cuatro átomos de carbono (fase I). Estos ácidos son descarboxilados durante el día, lo que eleva la concentración intercelular de CO<sub>2</sub> al permanecer cerrados los estomas en el día (fase III). Entre estas dos fases hay periodos transicionales de asimilación neta de CO<sub>2</sub> al comienzo y final del día (fases II y IV), cuando la PEPc y la ribulosa bifosfato carboxilasa (RUBISCO) pueden contribuir a la asimilación de CO<sub>2</sub> (Cushman, 2001; Lüttge, 1987; Osmond, 1978).

### *Flor y fruto*

Las yemas florales de *Opuntia* se desarrollan en el meristemo areolar (Bowers, 1996). Bravo (1978) y Reyes-Agüero *et al.* (2009) señalaron que las flores de *Opuntia* son grandes con segmentos del perianto comúnmente amarillos, pero a veces color rosa, anaranjado o rojizo, que pueden variar de tono después de abiertos. El pericarpelo es cilíndrico, cónico truncado, obovado u ovalado, lanceolado u oblongo, con aréolas rómbicas, circulares, ovaladas u obovadas, en ocasiones oblanceoladas u ovadas. Las aréolas de las que surgen las flores pueden tener o no cerdas, hojas, pelos y gloquidios, y ausencia de espinas. El estigma cuenta con 4 a 14 lóbulos verdes o amarillos. Los tépalos son oblanceolados o lanceolados con el ápice emarginado o mucronado.

El desarrollo de las yemas florales ocurre en cladodios desde un año de edad, y a partir de que las plantas tienen dos o más años de edad (Wessels y Swart, 1990); las flores aparecen en las aréolas marginales, principalmente (Nieddu y Spano, 1992). En

*O. ficus-indica* se observó que las yemas florales tienen un desarrollo rápido, a partir de un meristemo cubierto por tricomas pluricelulares sobre la cicatriz del pecíolo, y la diferenciación de la yema floral ocurre cuando alcanza 0.5 cm de longitud (Nieddu y Spano, 1992). El eje floral muestra al pedicelo unido al cladodio, al pericarpio en ovario ínfero y al receptáculo que contiene el perianto, androceo y gineceo (Bravo, 1978). Los granos de polen son esféricos, cúbicos o dodecaédricos (Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Algunas especies tienen nectarios en la base del estilo (Grant y Hurd, 1979). El estilo es simple, hueco y de color verde o amarillo, aunque también puede tener color rosa, rojo o anaranjado (Bravo, 1978). El estigma aparece sobre las anteras, al centro de las flores, y es verde, anaranjado o amarillo (Anderson 2001; Bravo, 1978). El ovario es unilocular y contiene numerosos óvulos y semillas primordio (Bravo, 1978).

El desarrollo del fruto sucede en tres fases consecutivas, en la primera el crecimiento es rápido y hay ganancia marcada de la biomasa fresca y seca en la cáscara; en la segunda el crecimiento es suspendido y se incrementa la masa en las semillas; en la tercera el crecimiento del fruto es rápido después del cambio de color y es cuando hay ganancia mayor de masa de la pulpa (Barbera *et al.*, 1992).

El fruto es más o menos globoso, ovoide hasta turbinado, algunas veces pedunculado, con longitud de 2.7 a 11.6 cm, anchura de 2.3 a 6.9 cm y biomasa de 7.5 a 238.0 g. El ápice presenta la concavidad del receptáculo u ombligo más o menos profunda, desnuda después de la caída del perianto, de los estambres y del estilo (Bravo, 1978; Reyes-Agüero *et al.*, 2009).

La cáscara tiene grosor de 0.14 a 3.10 cm y apariencia cerosa o tomentosa; está cubierta de aréolas (de 13 a 94) con gloquidios y las espinas están rara vez presentes. La consistencia de la pulpa al tacto es dura a suave; la dulzura de la pulpa se ubica entre 1.7 y 19.7 °Brix y su biomasa varía de 0.5 a 154.0 g (Bravo, 1978; Reyes-Agüero *et al.*, 2009).

Los frutos pueden ser de tres tipos: frescos, con semillas rodeadas de pulpa distribuidas en todo el fruto y con cáscara delgada; secos, con pulpa escasa, semillas abundantes y cáscara delgada; y tipo xoconostle, con pulpa escasa, semillas abundantes y circunscritas al centro, con funículos relativamente secos y cáscara gruesa y ácida (Bravo, 1978; Sheinvar, 1999). Además, se ha documentado que la



cantidad de pulpa está en función de la cantidad de semillas presentes, toda vez que la pulpa deriva de las envolturas funiculares (Ortiz-Hernández y Alcántar-González, 1999; Pimienta y Engleman, 1985).

### *Semillas*

Las semillas de *Opuntia* son lenticulares con testa clara, arilo ancho, embrión con hipocótilo, cotiledones grandes y perispermo bien desarrollado (Bravo, 1978). Los frutos de *Opuntia* contienen semillas normales y abortadas, pero la envoltura funicular de ambas contribuye igualmente a formar la pulpa (Pimienta, 1990; Pimienta y Engleman, 1985). Las tunas de 116 especies evaluadas por Reyes-Agüero *et al.* (2009) tuvieron de 3 a 447 semillas normales y hasta 306 abortadas, con biomasa total de 0.02 a 8.94 g por fruto. Otros autores han documentado contenidos diferentes (Cuadro 2.1).

Las semillas normales tienen tamaño y dureza mayores que las abortadas, características indeseables para consumo humano (Barbera *et al.*, 1994; Weiss *et al.*, 1993). Respecto al tamaño, se ha documentado que las semillas normales tienen de 0.3 a 0.5 cm de longitud y de 0.2 a 0.4 cm de anchura y dureza de 9 a 456 kgf (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2009; Rodríguez y Nava-Cedillo, 1998). En el presente estudio se cuantificó el número total de semillas, el de normales y el de las abortadas por fruto de 115 variantes, correspondientes a 17 especies; además se evaluó su longitud, anchura, grosor, masa deshidratada y dureza de las normales para identificar posibles diferencias relacionadas con la domesticación del género *Opuntia*.

Las semillas abortadas en los frutos pueden ser resultado de la falta de recursos maternos (Hossaert y Valero, 1988), la influencia de predadores o patógenos (Ghazoul y Satake, 2009), la mutación del esporofito o gametofito (Seavy y Carter, 1996), la degeneración del primordio seminal (Helenum y Schaal, 1996) o efecto de la concentración de giberelinas (Mitsubishi, 2003; Ortiz-Hernández y Alcántar-González, 1999). Al respecto, la reducción en el número de semillas normales e incremento en las abortadas en *O. ficus-indica* se observó al aplicar thidiazuron ( $1 \text{ mgL}^{-1}$ ) y ácido giberélico ( $5 \text{ mgL}^{-1}$ ) (Mitsubishi, 2003).

**Cuadro 2.1** Contenido y biomasa de semillas en el fruto de *Opuntia* spp. registrados por diferentes autores.

Especie	Contenido de semillas por fruto (Núm.)			Biomasa total de semillas por fruto (g)	Fuente
	Normales	Abortadas	Total		
<i>O. albicarpa</i>	206	72	278	3.93	López-Palacios <i>et al.</i> (2015)
<i>O. crassa</i>			212	3.64	Parish y Felker (1997)
<i>O. ficus-indica</i>	127-174	101-151	234-319	2.80-3-80	Barbera <i>et al.</i> (1994)
<i>O. ficus-indica</i>	202	69	271	3.60	López-Palacios <i>et al.</i> (2015)
<i>O. ficus-indica</i>	134-230	115-200	282-401	3.50-4.70	Mitsubishi (2003)
<i>O. ficus-indica</i>			121-129		Nerd <i>et al.</i> (1991)
<i>O. ficus-indica</i>			204-296	2.19-5.59	Parish y Felker (1997)
<i>O. ficus-indica</i>			85-122	3.10	Weiss <i>et al.</i> (1993)
<i>O. hyptiacantha</i>	187	20	207	2.76	López-Palacios <i>et al.</i> (2015)
<i>O. hyptiacantha</i>			191	2.95	Parish y Felker (1997)
<i>O. inermis</i>			279	3.54	Parish y Felker (1997)
<i>O. megacantha</i>	185	33	218	3.07	López-Palacios <i>et al.</i> (2015)
<i>O. megacantha</i>			248-304	2.79-4.31	Parish y Felker (1997)
<i>O. streptacantha</i>	168	8	176	2.11	López-Palacios <i>et al.</i> (2015)
<i>O. streptacantha</i>			201	3.29	Parish y Felker (1997)

En diversas especies de *Opuntia* se ha documentado apomixis (Reyes-Agüero *et al.*, 2006). La apomixis es una forma de reproducción asexual que ocurre en el primordio seminal (Koltunow, 1993). El proceso de apomixis imita muchos de los eventos que ocurren en la reproducción sexual y dan lugar a semillas fértiles, pero estas semillas tienen la misma constitución genética que la planta madre (Koltunow *et al.*, 1995). En *Opuntia* es común el desarrollo de embriones adventicios del tejido nucelar (agamosperma esporófito), o el desarrollo del embrión en un primordio seminal sin fertilizar (partenogénesis) (García y Pimienta, 1996; Vélez y Rodríguez, 1996).

### Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del nopal es la siguiente (Guzmán *et al.*, 2003):

Reino	Plantae Haeckel
División	Magnoliophyta Cronquist, Takht. & Zimmer
Clase	Magnoliopsida Cronquist, Takht. & Zimmer
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae Juss.

Subfamilia Opuntioideae K. Schum.

Tribu Opuntieae Salm-Dyck

Género *Opuntia* (L.) Mill.

Este género comprende numerosas especies agrupadas en tres subgéneros (*Cylindropuntia*, *Tephrocactus* y *Opuntia*, anteriormente *Platyopuntia*) y en 29 series. En México se han identificado especies de 17 series del subgénero *Opuntia* (Bravo, 1978; Cuadro 2.2).

**Cuadro 2.2** Series taxonómicas de *Opuntia* (Bravo, 1978).

Serie	Características	Especies
<i>Basilares</i>	Plantas desde postradas hasta arbustivas muy ramosas que forman matorrales. Los artículos son azulados y pubescentes, con numerosas aréolas pequeñas provistas de glóquidas abundantes, casi siempre sin espinas. El fruto es seco y carnoso con semillas grandes y lisas o irregularmente rugosas.	<i>O. basilaris</i> <i>O. microdasys</i> <i>O. pycnocantha</i> <i>O. rufida</i> <i>O. tapona</i>
<i>Criniferae</i>	Plantas con aréolas pequeñas y próximas que llevan, además de las espinas, numerosos pelos largos o cerdas.	<i>O. huajuapensis</i> <i>O. pailana</i> <i>O. pillifera</i> <i>O. scheeri</i>
<i>Chaffeyanae</i>	Difiere del resto de las especies de <i>Opuntia</i> porque tiene un rizoma muy desarrollado del que emergen tallos anuales con artículos largos casi cilíndricos.	<i>O. chaffeyi</i>
<i>Dillenianae</i>	Plantas arbustiformes o arbóreas con artículos grandes, aplanados y persistentes; sus espinas amarillas con la base color castaño y en ocasiones sin espinas.	<i>O. aricola</i> <i>O. bensonii</i> <i>O. cantabrigiensis</i> <i>O. chrolotica</i> <i>O. lindheimeri</i> <i>O. littoralis</i> <i>O. neochrysacantha</i> <i>O. pyriformis</i> <i>O. stricta</i> <i>O. tehuantepecana</i>
<i>Elatiores</i>	Plantas de porte alto con artículos planos, anchos y persistentes. Tienen aréolas aciculares, setosas o subuladas color castaño. Algunas especies están desprovistas de espinas.	<i>O. excelsa</i> <i>O. fuliginosa</i>

**Cuadro 2.2 (Continuación)**

Serie	Características	Especies
<i>Ficus-indicae</i>	Plantas arborescentes, con artículos grandes y sin espinas o muy escasas; cuando están presentes son pequeñas y blancas. Las flores son grandes, color amarillo o anaranjado.	<i>O. crassa</i> <i>O. ficus-indica</i> <i>O. undulata</i>
<i>Leucotrichae</i>	Plantas arborescentes con artículos pubescentes con aréolas pequeñas y próximas, provista de abundantes espinas setosas, largas y blancas, especialmente en el tallo. El fruto es globoso, blanco amarillento con tinte purpúreo y con olor suave y agradable.	<i>O. leucotricha</i>
<i>Macdougaliana</i>	Arborescentes con artículos persistentes, anchos y planos, delgados; epidermis pubescente y de espinas amarillas.	<i>O. atropes</i> <i>O. bravoana</i> <i>O. durangensis</i> <i>O. jaliscana</i> <i>O. velutina</i> <i>O. wilcoxii</i>
<i>Opuntiae</i>	Plantas postradas o rastreras, rara vez erectas, con artículos pequeños, persistentes, más o menos tuberculados, orbiculares hasta ovales con pocas espinas con raíces más o menos carnosas y flores grandes.	<i>O. compressa</i> <i>O. macrorhiza</i> <i>O. plumbea</i>
<i>Phaeacanthae</i>	Plantas arbustiformes o rastreras, con artículos relativamente grandes, aplanados y persistentes. Tienen espinas gruesas y subuladas de color castaño en la base y casi blancas en algunas especies.	<i>O. atrispina</i> <i>O. azurea</i> <i>O. phaeacantha</i> <i>O. rastrera</i> <i>O. violaceae</i>
<i>Polyacanthae</i>	Plantas de porte bajo, rastreras y de espinas abundantes, largas y setosas, de color claro a marrón.	<i>O. arenaria</i> <i>O. fragilis</i> <i>O. polyacantha</i> <i>O. erinacea</i>
<i>Pumilae</i>	Plantas de tamaño reducido, de espinas abundantes. Artículos cilíndricos, aplanados ligeramente. Tienen espinas con punta retrobarbada. Flores amarillas.	<i>O. pumila</i> <i>O. pubescens</i>
<i>Robustae</i>	Plantas grandes con tronco más o menos bien definido. Tiene artículos grandes de color verde azulado. Sus espinas son blancas o amarillentas.	<i>O. cochineria</i> <i>O. robusta</i>

**Cuadro 2.2 (Continuación)**

Serie	Características	Especies
<i>Streptacanthae</i>	Plantas arborescentes con ramificaciones numerosas. Tiene artículos glabros y de color verde. Sus espinas son blancas o ligeramente amarillas, aciculares o subuladas. Las flores son amarillas o anaranjadas de tamaño grande; su fruto es carnoso.	<i>O. albicarpa</i> <i>O. chavena</i> <i>O. hyptiakantha</i> <i>O. joconostle</i> <i>O. lasiakantha</i> <i>O. megakantha</i> <i>O. rzedowskii</i> <i>O. spinulifera</i> <i>O. streptakantha</i>
<i>Strigiles</i>	Plantas arbustiformes de porte bajo, con artículos grandes, provistos de aréolas numerosas y muy próximas que llevan espinas aciculares rojizas o morenas; su fruto es pequeño y jugoso.	<i>O. strigil</i>
<i>Tomentosae</i>	Plantas arborescentes con artículos planos, pubescentes y persistentes y con espinas blancas, en caso de haberlas.	<i>O. gullanchi</i> <i>O. rileyi</i> <i>O. spraguei</i> <i>O. tomentella</i> <i>O. tomentosa</i>
<i>Tunae</i>	Plantas arbustiformes de porte bajo o postradas, con tronco más o menos bien definido, artículos pubescentes y no se desprenden con facilidad. Las aréolas están rodeadas con una mancha roja en la época seca. Las espinas son aciculares subuladas, amarillas o blancas. El fruto es carnoso de color rojo.	<i>O. decumbens</i> <i>O. depressa</i> <i>O. puberula</i>

### Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios (MS) son compuestos orgánicos que no tienen función directa en el desarrollo o crecimiento de la planta (Taiz y Zeiger, 2010), pero que su distribución está restringida a ciertos grupos taxonómicos, en los que tienen alguna función importante en la interacción del organismo con el ambiente (Bourgand *et al.*, 2001; Wink, 2003). Algunos compuestos están acompañados por varios derivados y compuestos de menor importancia (Wink, 2003), y son responsables del color, apariencia, aroma y sabor de los frutos y otras estructuras de las plantas (Tomás-Barberán y Robins, 1997).

En una planta los patrones cualitativos y cuantitativos de sus MS son complejos, pues su contenido varía entre los tejidos, estadios de desarrollo, individuos y poblaciones; además, pueden sólo presentarse en un órgano-específico. Los órganos con la importancia mayor para la sobrevivencia y reproducción tienen el contenido de MS más alto (Wink, 2003). Los MS representan características adaptativas que se han diversificado con la evolución y selección natural contra virus, bacterias, hongos, plantas competidoras y algunos herbívoros (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003).

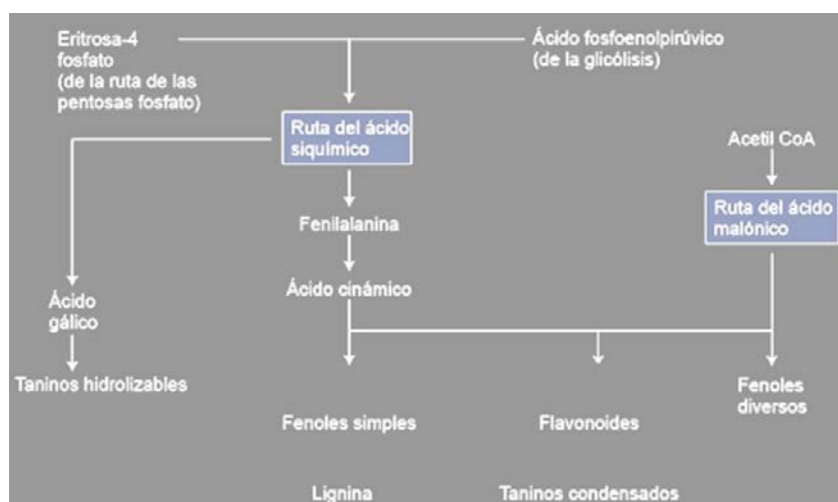
Durante la etapa reproductora de las plantas los MS pueden ser atractivos de los polinizadores, como son los terpenos, antocianinas y carotenoides en las flores. También, se ha documentado la presencia de algunos compuestos tóxicos en los frutos inmaduros y su eliminación en la madurez, por lo que se ha sugerido que funcionan como protección de las semillas en esta etapa crítica de desarrollo (Wink, 2003). Algunos MS tienen ciertas funciones fisiológicas, como coadyuvantes en la movilización de algunos compuestos tóxicos y como almacén de compuestos fenólicos (flavonoides), los cuales a la vez, pueden proteger a la planta de los rayos UV (Bourgaud *et al.*, 2001; Li *et al.*, 1993; Wink, 1988 y 2003).

Los MS se encuentran en concentración baja, frecuentemente menor que 1 % del carbono total, y usualmente se encuentran almacenados en células u órganos específicos (Bourgaud *et al.*, 2001). Estos productos del metabolismo se clasifican de acuerdo con su ruta de síntesis y se consideran tres familias de moléculas: compuestos fenólicos, terpenos y nitrogenados (Bourgaud *et al.*, 2001; Taiz y Zeiger, 2010). Debido a la abundancia y diversidad de compuestos en las diferentes especies, en el presente estudio sólo se analizaron los compuestos fenólicos y terpenoides.

Existen cambios en la concentración de MS en relación con condiciones de estrés está documentada. Cuando los recursos son limitados, las especies que producen los metabolitos para su protección asignarán cantidades menores de esos recursos al crecimiento y reproducción; lo anterior resulta en un balance entre desarrollo y protección, el cual regulará el flujo de carbono entre los metabolismos primario y secundario. Así, las plantas expresan sus adaptaciones contra el estrés ambiental (Herms y Wattson, 1992; Susuki *et al.*, 2004).

### Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los MS con distribución mayor en el reino vegetal (Cheynier *et al.*, 2013) y se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno, dos o más grupos OH (Taiz y Seiger, 2010). Quideaeu *et al.* (2011) señalaron que el término “compuestos fenólicos vegetales” se refiere a los MS naturales biogenéticamente derivados de la ruta del siquimato/fenilpropanoide, la cual produce directamente fenilpropanoides, o de la ruta del acetato/mevalonato, la cual puede producir fenoles simples. La ruta del ácido siquímico es la responsable de la mayoría de los compuestos fenólicos en plantas superiores, y la del ácido malónico es poco común en ellas, pero es importante en bacterias y hongos. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una serie de reacciones que conducen a la síntesis de ácido siquímico y de sus derivados (amino ácidos aromáticos: fenilalanina, triptófano y tirosina) (Figura 2.1) (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).



**Figura 2.1** Ruta de biosíntesis de los compuestos fenólicos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Algunos de estos compuestos son solubles en disolventes orgánicos, los ácidos carboxílicos y ciertos glucósidos son solubles en agua, y otros, los de cadenas largas, son polímeros insolubles (Taiz y Seiger, 2010). Los compuestos fenólicos se clasifican de acuerdo con su estructura básica (Cuadro 2.3), y son de tamaño molecular bajo.

Diversas especies vegetales comparten varios de estos compuestos y otros se encuentran sólo en ciertas especies (Cheynier *et al.*, 2013).

**Cuadro 2.3** Estructura de los tipos de compuestos fenólicos (Cheynier *et al.*, 2013).

Tipo de compuesto	Estructura
Fenoles simples	$C_6$
Benzoquinonas	
Ácidos fenólicos	$C_6-C_1$
Aldehídos	
Acetofenonas	$C_6-C_2$
Ácido fenilacético	
Ácido hidroxicinámico	$C_6-C_3$
Coumarinas	
Fenilpropanos	
Cromonas	
Naftoquinonas	$C_6-C_4$
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$
Antraquinonas	
Flavonoides	$C_6-C_3-C_6$
Isoflavonoides	
Neoflavonoides	
Bi-, tri- flavonoides	$(C_6-C_1-C_6)_{2,3}$
Dímeros antocianidinas	
Lignanós	$(C_6-C_3)_2$
Neolignanós	
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Catecol melaninas	$(C_6)_n$
Florotaninos	
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

En esta revisión se consideran únicamente los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. Los ácidos fenólicos generalmente se encuentran confinados en forma de complejos con azúcares o ácidos orgánicos; son componentes de estructuras complejas, como la lignina y los taninos hidrolizables (Tomás-Barberan *et al.*, 2000). Los flavonoides y sus complejos forman un grupo amplio de productos naturales con más de 10,000 estructuras diferentes identificadas actualmente (Veicht y Grayer, 2008). Los flavonoides se encuentran en diversos tejidos vegetales, dentro de las células y en



la superficie de los órganos vegetales. De acuerdo con la unión del anillo aromático al benzopirano, este grupo se divide en tres clases: flavonoides, isoflavonoides y neoflavonoides (Grotewold, 2006).

Los taninos son compuestos fenólicos con peso molecular relativamente alto, que forman complejos con los carbohidratos y las proteínas. En plantas superiores se conocen dos grupos principales: taninos hidrolizables y taninos condensados; estos últimos son los polifenoles más abundantes en plantas leñosas, menos comunes en las plantas herbáceas y frecuentemente restringidos a tejidos específicos (Cheynier *et al.*, 2013).

Los fenoles vegetales intervienen en varias funciones que les permiten a las plantas sobrevivir y adaptarse a disturbios naturales. En condiciones de estrés, el incremento en el contenido de compuestos fenólicos se asocia al aumento de la actividad de la amonio fenilalanina liasa, chalcona sintasa y otras enzimas (Cheynier *et al.*, 2013).

### *Terpenos*

Los terpenos son el grupo más numeroso de MS, pues se conocen más de 20,000 tipos. Estos metabolitos son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas (e.g. fitohormonas tipo giberelina) y también intervienen en la interacción de la planta con el ambiente (Tholl, 2006). Los terpenos volátiles y no volátiles están implicados en la atracción de los polinizadores y los predadores de los herbívoros, en la protección contra el estrés foto-oxidativo, en la mediación de la termotolerancia y en la protección directa contra microorganismos e insectos (Loreto *et al.*, 2004; Pichersky y Gershenzon, 2002; Sharkey y Yen, 2001). Los terpenos suelen ser insolubles en agua y derivan de la unión de unidades de isopreno ( $C_5$ ); por esto, se clasifican por el número de unidades de isopreno: en monoterpenos ( $C_{10}$ ), sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ), triterpenos ( $C_{30}$ ), tetraterpenos ( $C_{40}$ ) y politerpenos (con más de ocho unidades de isopreno) (Avalos y Pérez-Urria, 2009). Este tipo de MS se sintetiza por dos rutas; una es la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil coenzima A se condensan para formar isopentenil pirofosfato (IPP, por sus siglas en inglés); la otra ruta es la del metileritritol fosfato en los cloroplastos, la cual

también genera IPP. El IPP se condensa en su isómero alílico (dimetilalil difosfato, DMAPP) y por medio de reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas se obtiene geranil difosfato (GPP, precursor de monoterpenos), farnesil difosfato (FPP, precursor de sesquiterpenos) y geranilgeranil difosfato (GGPP, precursor de diterpenos) (Figura 2.2). La terpeno sintasa (TPS) es la enzima responsable de catalizar la formación de estos compuestos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009; Tholl, 2006).

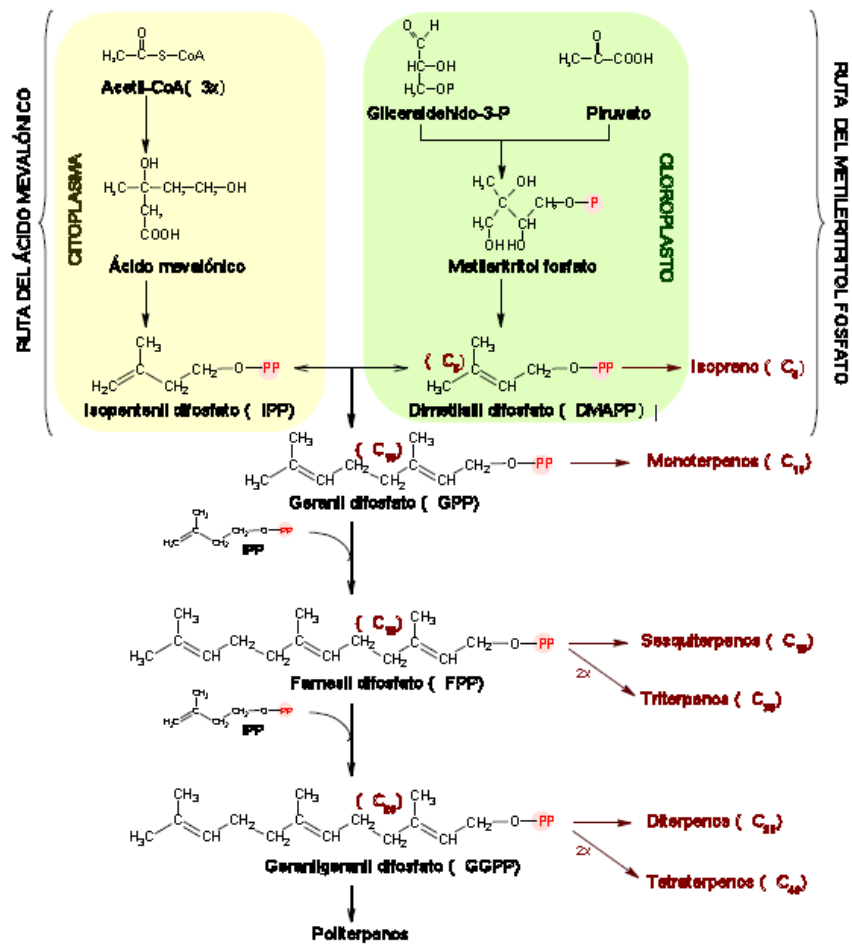


Figura 2.2 Ruta de biosíntesis de los terpenos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

La gran variedad estructural de los terpenos presentes en el reino vegetal se debe principalmente a la evolución de la superfamilia de terpeno sintasa, la cual incluye más de 100 genes *TPS* conocidos (Tholl, 2006). Estudios realizados por Martin *et al.* (2004) mostraron que muchos *TPS* de las gimnospermas forman una familia distinta a la de

las angiospermas. Sin embargo, estos estudios indican que las TPS tienen un ancestro común para la síntesis de diterpenos, que es previo a la diferenciación de angiospermas y gimnospermas (Martin *et al.*, 2004; Trapp y Croteau, 2001).

#### *Metabolitos secundarios en nopal*

Recientemente, el consumo frecuente de frutas y vegetales ricos en antioxidantes se ha señalado que es adecuado para reducir los riesgos de padecer ciertas enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer (Abdel-Hameed *et al.*, 2014). Los cladodios de *Opuntia* han sido empleados tradicionalmente como plantas medicinales para tratar una variedad de enfermedades, particularmente diabetes e hipercolesterolemia. A los cladodios también se les han atribuido con otros efectos benéficos para la salud, como anti-inflamatorios, cicatrizantes, antígenotóxicos, neuroprotectores, hipotensores, inmunomoduladores, antivirales y antioxidantes (Ahmad *et al.*, 1996; Dok-Go *et al.*, 2003; Galati *et al.*, 2003; Saleem *et al.*, 2005; Zorgui *et al.*, 2009). Estudios recientes se han enfocado a la capacidad antioxidante de extractos hidrofílicos de los cladodios, principalmente atribuido a fenoles y flavonoides (Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2002).

La concentración y tipo de compuestos fenólicos varían entre los órganos de las plantas. Al respecto, se ha documentado que en *O. ficus-indica* la cáscara de la tuna tienen contenido mayor de fenoles que los cladodios (Moussa-Ayoub *et al.*, 2014). También, la concentración de los compuestos fenólicos totales cambia en dependencia de la naturaleza química (polaridad) del disolvente utilizado para su extracción (Cuadro 2.4). La comparación de la información en la literatura se facilita debido a que el contenido de fenoles se expresa comúnmente en mg equivalentes de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés) por g de extracto.

**Cuadro 2.4** Grupos de metabolitos secundarios registrados en *Opuntia* spp.

Especie	Órgano	Solvente	Grupo de MS	Contenido	Fuente
<i>O. dillenii</i>	Fruto (pulpa)	Metanol	Comp. fenólicos	1.2 mg GAE g <sup>-1§</sup>	Díaz-Medina <i>et al.</i> (2007)
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodio	Etanol	Comp. fenólicos	180.3 mg GAE g <sup>-1</sup>	Lee <i>et al.</i> (2002)
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	9.5 – 11.0 mg GAE g <sup>-1</sup>	Moussa-Aroub <i>et al.</i> (2014)
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.32 – 0.59 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. ficus-indica</i>	Cladodio	Hexano	Comp. fenólicos	209.1 mg GAE g <sup>-1</sup>	Corral-Aguayo <i>et al.</i> (2008)
<i>O. ficus-indica</i>	Flor	Etanol	Comp. fenólicos	13.3 – 49.0 mg GAE g <sup>-1</sup>	Ammar <i>et al.</i> (2012)
<i>O. ficus-indica</i>	Flor	Hexano	Terpenoides	0.06 – 32.4 % <sup>†</sup>	Ammar <i>et al.</i> (2012)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (cáscara)	Agua	Comp. fenólicos	7.9 - 11.5 mg GAE ml <sup>-1</sup>	Abdel-Hameed <i>et al.</i> (2014)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (cáscara)	Metanol	Comp. fenólicos	7.0 - 9.0 mg GAE g <sup>-1</sup>	Moussa-Ayoub <i>et al.</i> (2014)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (pulpa)	Agua	Comp. fenólicos	6.7 – 10.6 mg GAE ml <sup>-1</sup>	Abdel-Hameed <i>et al.</i> (2014)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (pulpa)	Hexano	Comp. fenólicos	72.3 mg GAE g <sup>-1</sup>	Corral-Aguayo <i>et al.</i> (2008)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (pulpa)	Metanol	Comp. fenólicos	0.45 mg GAE g <sup>-1</sup>	Díaz-Medina <i>et al.</i> (2007)
<i>O. ficus-indica</i>	Fruto (pulpa)	Metanol	Comp. fenólicos	2.5 – 3.5 mg GAE g <sup>-1</sup>	Moussa-Ayoub <i>et al.</i> (2014)
<i>O. joconostle</i>	Fruto	Metanol	Comp. fenólicos	0.11 - 18.45 mg g <sup>-1</sup>	Morales <i>et al.</i> (2014)
<i>O. joconostle</i>	Fruto	Metanol	Comp. fenólicos	15.0 – 20.0 mg GAE g <sup>-1</sup>	Osorio-Esquivel <i>et al.</i> (2011)
<i>O. joconostle</i>	Fruto (pulpa)	Metanol	Comp. fenólicos	38.6 mg GAE g <sup>-1</sup>	Morales <i>et al.</i> (2012)
<i>O. joconostle</i>	Semillas	Metanol	Comp. fenólicos	50.4 mg GAE g <sup>-1</sup>	Morales <i>et al.</i> (2012)
<i>O. leucotricha</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.80 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. lindheimeri</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.75 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. matudae</i>	Fruto (pulpa)	Metanol	Comp. fenólicos	33.7 mg GAE g <sup>-1</sup>	Morales <i>et al.</i> (2012)
<i>O. matudae</i>	Semillas	Metanol	Comp. fenólicos	59.5 mg GAE g <sup>-1</sup>	Morales <i>et al.</i> (2012)
<i>O. microdays</i>	Flor	Metanol/ Agua	Comp. fenólicos	1.24 mg g <sup>-1</sup>	Chahdoura <i>et al.</i> (2014)
<i>O. rastrera</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.69 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. robusta</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.56 – 0.64 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. streptacantha</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.66 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>O. stricta</i>	Flor	Etanol	Comp. fenólicos	13.1 – 80.9 mg GAE g <sup>-1</sup>	Ammar <i>et al.</i> (2012)
<i>O. undulata</i>	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	0.90 mg GAE g <sup>-1</sup>	Santos-Zea <i>et al.</i> (2011)
<i>Opuntia</i> spp.	Cladodio	Metanol	Comp. fenólicos	2.0 – 19.9 mg GAE g <sup>-1</sup>	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> (2010)

§ Expresado como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) g<sup>-1</sup> de extracto

† Porcentaje con respecto al total de muestra analizada

Para cladodios de *O. ficus-indica* se ha documentado la presencia de 0.3 a 0.6 mg GAE g<sup>-1</sup> en un extracto metanólico (Santos-Zea *et al.*, 2011) y hasta 180.3 mg GAE g<sup>-1</sup> en un extracto etanólico (Lee *et al.*, 2002). Esta amplitud de concentraciones es superior a la obtenida en los cladodios de otras especies, como *O. leucotricha*, *O. lindheimeri*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. undulata*, en las cuales dicha concentración varía entre 0.6 y 0.9 mg GAE g<sup>-1</sup> (Santos-Zea *et al.*, 2011). Guevara-Figueroa *et al.* (2010) registraron una amplitud de 2.0 y 20.0 mg GAE g<sup>-1</sup> al evaluar variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* spp.

Las flores de *O. stricta* presentaron concentración mayor de compuestos fenólicos (13.1 a 80.9 mg GAE g<sup>-1</sup>) que las flores de *O. ficus-indica* (13.3 a 49.0 mg GAE g<sup>-1</sup>) y de *O. microdasys* (1.24 mg g<sup>-1</sup>) (Ammar *et al.*, 2012; Chahdoura *et al.*, 2014).

En la pulpa de los frutos de *O. ficus-indica* el contenido de fenoles varió desde 0.4 hasta 72.3 mg GAE g<sup>-1</sup>, y en *O. dillenii* fue de 1.2 mg GAE g<sup>-1</sup> (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Moussa-Ayoub *et al.*, 2007).

La cáscara de tuna de *O. ficus-indica* presentó contenido mayor de compuestos fenólicos (7.0-11.5 mg GAE g<sup>-1</sup>) que la pulpa (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014). En el tejido comestible de *O. joconostle* la amplitud del contenido de compuestos fenólicos totales fue de 15.0 a 38.6 mg GAE g<sup>-1</sup> (Morales *et al.*, 2012; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011), mientras que sus semillas tuvieron 50.4 mg GAE g<sup>-1</sup>. En *O. matudae*, otra especie de xoconostle, se cuantificaron 33.7 y 59.5 mg GAE g<sup>-1</sup> en la región comestible del fruto y las semillas, respectivamente (Morales *et al.*, 2012).

Del grupo de compuestos fenólicos, los flavonoides han sido ampliamente estudiados en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2002; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011), flores (Chahdoura *et al.*, 2014) y frutos (Abdel-Hamed *et al.*, 2014; Kuti, 2004; Lee *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012 y 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). Los ácidos fenólicos han sido menos documentados en cladodio (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010) y en fruto (Morales *et al.*, 2014).

Otros productos del metabolismo secundario detectados en *Opuntia* son los terpenoides. Estos compuestos se han detectado en flores de *O. ficus-indica*, en etapas

diferentes de desarrollo, en concentración de 0.06 a 32.4 % respecto al total de metabolitos secundarios observados (Ammar *et al.*, 2012). Sobresale la ausencia en la literatura especializada de información referente a los terpenoides en el género *Opuntia*, pues con excepción del estudio citado no se localizó más información al respecto ni para otro órgano de *Opuntia*.

La variabilidad en el contenido de productos del metabolismo secundario entre estudios de diversos autores para un mismo tejido puede deberse a factores intrínsecos (genéticos, etapa de desarrollo) de cada especie o variante, extrínsecos (ambientales) o a la interacción entre ellos (Stintzing y Carle, 2005). Los resultados de diversos estudios mostraron que los tejidos con contenido alto de compuestos fenólicos tienen capacidad antioxidante mayor que aquellos con contenidos bajos (Santos-Zea *et al.*, 2011). Lee *et al.* (2002) observaron que los extractos etanólicos de *O. ficus-indica* mitigan efectivamente el estrés oxidativo en biomoléculas susceptibles, como el ADN. Ammar *et al.* (2012) estudiaron el efecto microbicida de extractos hexánicos aislados de flores de *O. ficus-indica* y *O. stricta* en estado diferente de desarrollo; estos autores encontraron que las flores en etapa post-antesis tuvieron el mayor efecto antioxidante y antibacterial.

## **Domesticación**

Antes de describir el concepto de domesticación es conveniente identificar las diferencias entre humanización y domesticación. La humanización, en general, se refiere a la interacción de los humanos con la biota y es un proceso continuo en el cual se pueden reconocer tres fases: la primera es la recolección de las especies espontáneas más abundantes, persistentes, útiles y reactivas positivamente a ese proceso; la segunda es el desarrollo de un cultivo incipiente, en el que las especies recolectadas con mayor frecuencia y durante más tiempo también resultan las mejores y funcionales en los ambientes más humanizados; la tercera incluye la diferenciación genética, con la que las especies más exitosas bajo cultivo empiezan a diferir morfológica, fisiológica y ecológicamente de sus conspecíficas silvestres (Perales y Aguirre, 2008). En los vegetales, los extremos del gradiente de humanización corresponden a las especies silvestres que ocasionalmente son recolectadas y a las

especies producidas exclusivamente en campos agrícolas (domesticadas). Así, todas las especies domesticadas son humanizadas, pero no todas las especies humanizadas son domesticadas.

De acuerdo con Harlan (1992), la domesticación vegetal se entiende como el proceso evolutivo continuo, dirigido por la selección humana, que produce la fijación de un conjunto de alelos característicos de los fenotipos favorables para el consumo y cultivo humano existentes en las poblaciones silvestres, y que las disminuye o elimina su capacidad para sobrevivir en ambientes naturales.

En la escala evolutiva humana, la domesticación es un evento relativamente reciente, en el cual, es posible reconocer e identificar al ancestro silvestre de las variantes domesticadas. Este proceso de identificación se basa principalmente en análisis de similitudes morfológicas, genéticas, de distribución geográfica, u otras (Ladizinsky, 1987). En las regiones donde se llevó a cabo el proceso de humanización se pueden localizar poblaciones con diferentes niveles de asociación con *Homo sapiens* (Reyes-Agüero, 2005). Así, en las plantas con cierto grado de domesticación se observan cambios en la habilidad competitiva, incremento en el tamaño de los órganos de interés, variabilidad morfológica mayor, reducción de la dispersión y de estructuras y sustancias con funciones de protección, ausencia de fertilidad seminal en variantes con reproducción vegetativa, cambios en los hábitos de crecimiento y fotoperiodo, pérdida de latencia y germinación uniforme, auto compatibilidad mayor, rendimiento mayor, y otros (Baker, 1971; Casas *et al.*, 1999 y 1996; Reyes-Agüero, 2005).

En algunos árboles frutales y en productoras de órganos subterráneos de almacenamiento el proceso de domesticación favoreció la propagación vegetativa (Zohary, 2004; Zohary y Hopf, 2004). En el caso de los cultivos reproducidos por semilla, las plantas se sometieron a un ciclo de recombinación y selección en cada siembra. Consecuentemente estos cultivos tuvieron cientos de ciclos de selección, lo que condujo a que divergieran gradualmente de sus ancestros silvestres (Zohary, 2004).

Los cultivos con posibilidad de ser propagados vegetativamente tienen una historia de selección diferente. Primero se seleccionaron individuos que se

distinguieron por sus caracteres excepcionales ya sea en sus frutos, tubérculos u otras estructuras de la planta. Subsecuentemente, pudieron ocurrir segregaciones producidas por cruza espontáneas o favorecidas entre clones *cultivados x cultivados* o entre individuos *cultivados x silvestres*. El cambio en el predominio de la reproducción sexual por la propagación vegetativa hizo posible fijar caracteres deseables rápidamente en los cultivos. Los cultivos propagados asexualmente tienen ciclos pequeños de recombinación y selección comparados con los cientos de ciclos que tuvieron que ocurrir en los cultivos propagados por semilla (Zohary, 2004).

También la fertilidad de las semillas y el polen presenta diferencias entre los cultivos reproducidos por semilla y los propagados asexualmente. En los cultivos reproducidos sexualmente la fertilidad es automáticamente salvaguardada mediante la estabilización de la selección, y las mutaciones que la pudieran afectar son eliminadas rápidamente. En contraste, la propagación vegetativa brinda una relajación rápida en la selección que salvaguarda la fertilidad. Bajo este supuesto, los clones deseables pueden ser estériles o semi estériles. Esto deriva en polimorfismo entre los cultivos propagados vegetativamente (Zohary, 2004).

En Mesoamérica el registro de los primeros signos de domesticación de plantas muestra que este proceso ocurrió hace unos 7000 a 9600 años, y la selección artificial *in situ* podría haber sido la forma utilizada en el proceso (Casas *et al.*, 1997). En un principio, la selección por los humanos se enfocó a la producción de alimentos; sin embargo, con el tiempo se amplió a la obtención de otros bienes como fibras, estimulantes, medicamentos, colorantes, forrajes, materiales para construcción de habitación, ornamentales, y otros (Zohary, 2001).

### **Literatura citada**

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. Food Chemistry. 160: 31-38.
- Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre R. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). En: Esparza, G., M.A. Salas L.,



- J. Mena C. y R.D. Valdez Z. (eds.). Memoria del IX Congreso Nacional y VII Congreso Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas, México. pp. 117-120.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. USA.
- Ahmad, A., J. Davies, S. Randall y G.R. Skinner. 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. Antiviral Research. 30: 75-85.
- Ammar, I., M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yangui y H. Attia. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. Industrial Crops and Products. 37: 34-40.
- 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.
- Ávalos G., A. y E. Pérez-Urria C. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología), Serie Fisiología Vegetal. 2: 119-145.
- Baker, H.G. 1971. Human influences of plant evolution. BioScience 21(3): 108.
- Barbera G., F. Carimi, P. Inglese y M. Panno. 1992. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear. *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. Journal of Horticultural Science. 67: 307-312.
- Barbera, G., P. Inglese y T. La-Mantia. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). Scientia Horticulturae. 58: 161-165.
- Benson, L. 1982. The Cacti of the United States and Canada. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1044 p.
- Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi y E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science. 161: 839-851.
- Bowers, J.W. 1996. More flowers or new cladodes? Environmental correlates and biological consequences of sexual reproduction in a Sonoran Desert prickly pear cactus *O. engelmannii*. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 123: 34-40.
- Bravo H., H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 365 p.

- Britton, N.L.; Rose, J.N. 1919. The Cactaceae, vol. 1. Carnegie Institution of Washington. Washington D.C., EE.UU. 241 p.
- Casas, A., J. Caballero, C. Mapes y S. Zárate. 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.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente B., A. Soriano y P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication os *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. American Journal of Botany. 86: 522-533.
- Casas, A., M. del C. Vásquez, J.L. Viveros y J. Caballero. 1996. Plant management among de Nahua and the Mixtec in the Balsas River Basin, Mexico: an ethnobotanical approach to the study of plant domestication. Human Ecology. 24: 465-478.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. Journal of Functional Foods. 9: 27-37.
- Cheynier, V., G. Comte, K.M. Davies, V. Lattanzio y S. Martens. 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry. 72: 1-20.
- Corral-Aguayo, R.D., E.M. Yahia, A. Carrillo-López y G. González-Aguilar. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measurement with six different assays in eight horticultural crops. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 10498-10504.
- Cushman, J.C. 2001. Crassulacean acid metabolism: a plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiology. 127: 1439-1448.
- Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. Food Chemistry. 103: 38-45.
- Dok-Go, H., K.H. Lee, H.J. Kim, E.H. Lee, J. Lee, Y.S. Song, Y.H. Lee, C. Yin, Y.S. Lee y J. Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids

- quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. Brain Research. 28: 1844-1852.
- Galati, E.M., M.R. Mondello, M.T. Monforte, M. Galluzo, N. Miceli y M.M. Tripodo. 2003. Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes in wound-healing process. Journal of the Professional for Cactus Development. 5: 1-16.
- García, A.M. y E. Pimienta B. 1996. Cytological evidences of agamospermy in *Opuntia* (Cactaceae). Haseltonia. 4: 39-42.
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. USA. 286 p.
- Ghazoul, J. y A. Satake. 2009. Nonviable seed set enhances plant fitness: the sacrificial sibling hypothesis. Ecology. 90: 369-377.
- Granados S., A. y A.D. Castañeda P. 1991. El nopal, historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Trillas. México, D.F. 227 p.
- Grant, V, y P.D. Hurd. 1979. Pollinitation of the southwestern Opuntias. Plant Systematics and Evolution. 133: 15-28.
- Griffith, M.P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. American Journal of Botany. 91: 1915-1921.
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. Annual Reviews of Plant Biology. 57: 761-780.
- 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 y A.P. Barba-de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolics acids, and flavonoids characterization of comercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). Journal of Food Composition and Analysis. 23: 525-532.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad de México. 315 p.
- Harlan, J.R. 1992. Crops and Man. 2<sup>nd</sup> Ed. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America. Wisconsin, USA.

- Helenum, K. y B.A. Schaal. 1996. Genetic and maternal effects of offspring fitness in *Lupinus texensis* (Fabaceae). *American Journal of Botany*. 83: 1596-1608.
- Herms, D.A. y W.J. Mattson. 1992. The dilemma of plants to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*. 67: 283-335.
- Hossaert, M. y M. Valero. 1988. Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of *Lathyrus* (Leguminosea: Papilionoideae). *American Journal of Botany*. 75: 1714-1731.
- Koltunow, A.M. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell*. 5: 1425-1437.
- Koltunow, A.M., R.A. Bicknell y A.M. Chaudhury. 1995. Apimixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. *Plant Physiology*. 108: 1345-1352.
- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85: 527-533.
- Labra, M.; Grassi, F.; Bardini, M.; Imazio, S.; Guiggi, A.; Cittero, S.; Banfi, E.; Sgorbati, S. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. Genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science*. 165: 1129-1136.
- Ladizinski, G. 1987. Pulse domestication before cultivation. *Economic Botany*. 41: 60-65.
- Lee, J.C., H.R. Kim, J. Kim y Y.S. Jang. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6490-6496.
- Li, J., T.M. Ou-Lee, R. Raba, R.G. Amundson y R.L. Last. 1993. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. *Plant Cell*. 5: 171-179.
- Loreto, F., P. Pinelli, F. Manes y H. Kollis. 2004. Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isopropen-like antioxidant action of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* leaves. *Tree Physiology*- 24: 361-367.
- Luttge, U. 1987. Carbon dioxide and water demand: crassulacean acid metabolism (CAM), a versatile ecological adaptation exemplifying the need for integration in ecophysiological work. *New Phytologist*. 106: 593-629.

- Majure, L.C., R. Puente, M.P. Griffith, W.S. Judd, P.S. Soltis y D.E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany*. 99: 847-864.
- Martin, D.M., J. Fäldt y J. Bohlmann. 2004. Functional characterization of nine Norway spruce *TPS* genes and evolution of gymnosperm terpene synthases of the *TPS-d* subfamily. *Plant Physiology*. 135: 1908-1927.
- Mitsubishi G., K.M. 2003. Thidiazuron (TDZ) y ácido giberelico ( $AG_3$ ), sus efectos en frutos de nopal (*Opuntia ficus-indica* M.) 'Solferino' con y sin semilla. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, estado de México. México. 77 p.
- Morales, P., L. Barros, E. Ramírez-Moreno, C. Santos-Buelga e I.C.F. Ferreira. 2014. Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. *Food Research International*. 65: 437-444.
- Morales, P., E. Ramírez-Moreno, M. de C. Sánchez-Mata, A.M. Carvalho e I.C.F.R. Ferreira. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weberex Diguét and *Opuntia matudae* Sheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*. 46: 279-285.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.-S. El-Hady, H.T. Omran, S.K. El-Samahy, L.W. Kroh y S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. *Food Research International*. 54: 854-872.
- Nerd, A., A. Karady y Y. Mizrahi. 1991. Characteristics and effect of fertilization and short droughts on productivity. *HortScience*. 26: 527-529.
- Nieddu, G. y D. Spano. 1992. Flowering and fruit growth in *Opuntia ficus-indica*. *Acta Horticulturae*. 296: 153-159.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology*. 29: 379-414.
- Osorio-Esquivel, O., A. Ortiz-Moreno, V.B. Álvarez, L. Dorantes-Álvarez y M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*. 44: 2150-2158.

- Ortiz-Hernández, Y.D. y G.E. Alcántar-González. 1999. Efecto de reguladores del crecimiento en tuna (*Opuntia amyclaea*) y pitahaya (*Hylocereus undatus*). En: Aguirre R, J.R. y J.A. Reyes-Agüero (Eds.) Memorias del VIII Congreso Nacional y VI internacional sobre conocimiento y aprovechamiento del nopal. San Luis Potosí, S.L.P., México. pp 34-35.
- Parish, J. y P. Felker. 1997. Fruit quality and production of cactus pear (*Opuntia* spp.) fruit clones selected for increased frost hardiness. *Journal of Arid Environments*. 37: 123-143.
- Perales R., H.R., J.R. Aguirre R. 2008. Biodiversidad humanizada. En: Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. Pp. 565-603.
- Pichersky, E. y J. Gershenzon. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*. 5. 237-243.
- Pimienta, E. y E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Agrociencia*. 62:51-56.
- Quidaeau, S., D. Deffieux, C. Douat-Casassus y L. Pouységu. 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*. 50: 586-621.
- Reyes-Agüero, J.A. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) y su relación con la domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 175p.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, F. Carlín-Castelán y A. González-Durán. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACyT. San Luis Potosí, México.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R. y A. Valiente-Banuet. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments*. 64: 549-585.
- Rodríguez-Mesa, J.M. 2001. Caracterización isoenzimática, citológica y morfológica de especies e híbridos interespecíficos de nopal tunero (*Opuntia* spp.). Tesis de

- Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, estado de México. México. 76 p.
- Rodríguez S., E. y A. Nava-Cedillo. 1998. Nopal, riqueza agroecológica de México. Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológica. México, D.F. 160p.
- Sáenz, C. 2006. Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO. FAO. Roma, Italia. 165 p.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 28: 1844-1852.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutiérrez-Urbe y O. Serna-Saldívar. 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.
- Seavy, S.R. y S.K. Carter. 1996. Ovule fates in *Epilobium obcordatum* (Onagraceae). American Journal of Botany. 83: 316-325.
- Sharkey, T.D. y S. Yen. 2001. Isopropen emission from plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 52: 407-436.
- Sheinvar, L. 1999. Biosistemática de los xoconostles mexicanos y su potencial económico. En: Aguirre R., J.R. y J.A. Reyes-Agüero (Eds.). Memoria del VIII Congreso Nacional y III Internaciones sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, pp. 255-274.
- Stintzing, F. y R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): s review on their chemistry, technology and uses. Molecular Nutrition & Food Research. 49: 175-194.
- Suzuki, H., Y. Xia, R. Cameron, G. Shadle, J. Blount, C. Lamb y R.A. Dixon. 2004. Signals for local and systemic responses of plants to pathogen attack. Journal of Experimental Botany. 55: 169-179.

- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. Plant physiology. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetes, U.S.A. 782 pp.
- Tholl, D. 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*. 9: 297-304.
- Tomás-Barberán, F.A. y R.J. Robins. 1997. *Phytochemistry of fruits and vegetables*. Clarendon Press. U.S.A. 398 pp.
- Trapp, S.C. y R.B. Croteau. 2001. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genetics*. 158: 811-832.
- Veitch, N.C. y R.J. Grayer. 2008. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural Products Reports*. 25: 555-611.
- Vélez, G.C. y B. Rodríguez, G. 1996. Microscopic analysis of poliembryony in *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 1: 39-48.
- Wallace, R.S. y A.C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. En: Nobel, P.S. (Ed.). *Cacti: Biology and Uses*. University of California Press. Los Angeles, California. EE. UU. Pp. 1-22.
- Weiss, J., A. Nerd y Y. Mizrahi. 1993. Vegetative parthenocarpy in the cactus pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. *Annals of Botany*. 72: 521-526.
- Wessels, A.B. y E. Swart. 1990. Morphogenesis of the reproductive bud and fruit of the prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cv. Morado). *Acta Horticulturae*. 275: 245-253.
- Wink, M. 1988. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical Applied Genetic*. 75: 225-233.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3-19.
- Zohary, D. 2001. Domestication of crop plants. *Encyclopedia of Biodiversity*. 2: 217-227.
- Zohary, D. 2004, Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany*. 58: 5-10.



Zohary, D. y M. Hopf. 2004. Domestication of Plants in the Old World. The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and Nile Valley. 3<sup>rd</sup>. Ed. Oxford University Press. New York, USA. 316 p.

Zorgui, L., I. Ayed-Boussema, Y. Ayed, H. Bacha y W. Hassen. 2009. The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. Food and Chemical Toxicology. 47: 662-667.

### Capítulo III. Variación inter- e intraespecífica en biomasa de frutos, número de semillas y características de semillas en *Opuntia* spp. (Cactaceae)<sup>1</sup>

#### Resumen

La domesticación es un proceso evolutivo, que culmina con la generación de individuos o poblaciones que se diferencian morfo-fisiológica, química y genéticamente de sus congéneres silvestres. En *Opuntia* se ha identificado un gradiente de domesticación con *O. streptacantha* en el extremo silvestre, seguida por *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* con grado intermedio y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con domesticación mayor. El objetivo del estudio fue cuantificar y caracterizar los frutos y las semillas de las variantes de *Opuntia* en este gradiente. La hipótesis fue que durante la domesticación se han seleccionado frutos más grandes y con menos semillas (normales y abortadas) y con dureza menor. A frutos de 89 variantes de la Altiplanicie meridional de México se les determinó la biomasa total y la de la pulpa con semillas; a las semillas se les cuantificó su longitud, anchura y grosor, su número total y el de las normales y abortadas, su masa deshidratada y la dureza de las normales. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 89 tratamientos (variantes), seis repeticiones por tratamiento y un fruto como unidad experimental. El tratamiento estadístico de los datos consistió en ANDEVA, comparación múltiple de medias por Tukey ( $p \leq 0.05$ ), ordenación (componentes principales) y clasificación (conglomerados) multivariable. Los frutos de las variantes más domesticadas tuvieron biomasa mayor ( $p \leq 0.05$ ) que las intermedias y silvestres. No hubo diferencias significativas en grosor ni en dureza de las semillas. La biomasa del fruto y la pulpa se correlacionaron positiva y significativamente con la biomasa de las semillas. Las especies más domesticadas se agruparon por sus frutos de tamaño mayor y con más semillas abortadas. Con la domesticación de *Opuntia* se han modificado las dimensiones de las semillas e incrementado su número de abortadas por fruto.

**Palabras clave:** Fruto, domesticación, *Opuntia*, semillas, tuna.

---

<sup>1</sup> Artículo publicado: López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera, H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández y J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. Genetic Resources and Crop Evolution. DOI 10.1007/s10722-015-0223-9 (Anexo A).

## **Abstract**

Domestication is an evolutionary process that culminates with the origin of individuals or populations that are morpho-physiologically, chemically and genetically different from their wild, congeneric relatives. In *Opuntia*, a gradient of domestication has been identified from *O. streptacantha* in the wild, followed by *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* as intermediates, to *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* at the higher end of domestication. The aim of the present study was to quantify and characterize the fruits and seeds of *Opuntia* varieties in this domestication gradient. The hypothesis was that fruits were selected to be larger and to contain fewer and softer seeds (normal and aborted) for domestication. For fruits of 89 varieties of the Southern Mexican Plateau, total biomass and biomass of pulp with seeds was quantified; seed length, width, thickness and dehydrated mass were measured, as well as hardness of normal seeds. The total number of seeds was quantified and normal and aborted seeds were counted separately. Experimental design was completely random with 89 treatments (variants) and six replicates per treatment; the fruit was the experimental unit. The statistical tests used were an ANDEVA, Tukey's multiple comparison test ( $p \leq 0.05$ ), multivariate ordination (Principal Components Analysis) and classification (Clustering Analysis). Fruits of the most highly domesticated varieties had higher biomass ( $p \leq 0.05$ ), followed by intermediate and wild varieties. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were found in seed thickness or hardness. Fruit and pulp biomass were positively and significantly correlated with seed biomass. Species with greater domestication clustered according to their larger fruits and the greater number of aborted seeds. Domestication of *Opuntia* has modified seed dimensions and increased the number of aborted seeds per fruit.

**Keywords:** Domestication, fruit, *Opuntia*, prickly pear, seeds.

## Introducción

La humanización de la biota es un proceso evolutivo integrado por presiones de selección naturales y culturales, que comienza con ciertas poblaciones silvestres, elegidas por sus caracteres deseables, y que puede terminar por efecto de la selección humana, en diferencias genéticas y morfológicas que las distinga de sus ancestros silvestres (Harlan, 1992; Pickersgill, 2007; Perales y Aguirre, 2008). Este proceso es gradual y continuo y su rapidez y profundidad depende de la especie (Perales y Aguirre, 2008) y del grado de interacción con los humanos. El conjunto de diferencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas entre las especies domesticadas y sus congéneres silvestres constituye el síndrome de domesticación; en algunos casos puede disminuir la capacidad de la especie domesticada para sobrevivir en ambientes naturales (Zohary, 2004). 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 (McKey *et al.*, 2010; Peña-Valdivia *et al.*, 2012; Pickersgill, 2007).

*Opuntia* y *Mamillaria* son los géneros con mayor diversidad y distribución en la familia Cactaceae; *Opuntia* incluye 188 especies y 78 de ellas, con su riqueza de variantes silvestres y cultivares, son nativas de México (Anderson, 2001). La recolección continua y sistemática de órganos de interés antropocéntrico durante la domesticación de *Opuntia* ha favorecido la persistencia de variantes con nopalitos, frutos o ambos con características excepcionales pues probablemente desde el inicio de su humanización fueron toleradas, auspiciadas o cultivadas (Reyes-Agüero *et al.*, 2009).

Reyes-Agüero *et al.* (2005), con base en la comparación multivariable de 42 características morfológicas de las plantas, cladodios, nopalitos y los frutos de 483 variantes, pudieron reconocer en ellas su grado de domesticación. Así, establecieron que *O. streptacantha* Lem. ocupó el extremo silvestre, seguida de *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber y *O. megacantha* Salm-Dycck, con grado intermedio de domesticación, y en el otro extremo, con grado mayor de domesticación identificaron a *O. albicarpa*

Sheinvar y a *O. ficus-indica* (L.). Entre los cambios en los frutos ocurridos con la domesticación, dichos autores reconocieron el incremento del dulzor de la pulpa y del tamaño del fruto, 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.

En *Opuntia* se ha documentado el efecto de la domesticación en los caracteres morfológicos de las semillas (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003). El interés por las semillas ha sido por su relación con aspectos de la calidad del fruto para consumo humano (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994). En un análisis de cultivares italianos Gailla y Rossa de *O. ficus-indica*, se registró que el tamaño del fruto dependió del número y peso de las semillas por fruto; el peso de la pulpa se correlacionó positiva y significativamente con el número de semillas; y la relación de semillas normales y abortadas fue constante, independientemente de su cantidad total en los frutos (Barbera *et al.*, 1994). Aguilar-Estrada *et al.* (2003) documentaron que los frutos de *Opuntia* tienen en promedio 229 semillas, de ellas 186 son normales y 43 son abortadas; sin embargo, estos datos pueden variar con la especie, el cultivar y las condiciones de desarrollo de la planta (Barbera *et al.*, 1994). La pulpa de la tuna se desarrolla desde el exterior de las células epidérmicas de la envoltura funicular y del funículo de ambos tipos de semillas (Pimienta y Engleman, 1985), y el contenido de pulpa depende de la cantidad de semillas del fruto. Sin embargo, en la elección de cultivares para la producción de frutos, se prefieren variantes con pocas semillas, pequeñas o con abundancia de abortadas (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994).

El objetivo de este estudio fue relacionar el grado de domesticación de *Opuntia* con la biomasa del fruto, y con la cantidad y características físicas de sus semillas. La hipótesis fue que los frutos de tamaño mayor con pocas semillas normales, mayor cantidad de abortadas, con dureza menor en las normales, correspondieron a las variantes más domesticadas.

## **Materiales y métodos**

Se realizó una exploración botánica en plantaciones comerciales, experimentales, nopaleras de solar y nopaleras silvestres en 29 localidades de la Altiplanicie Meridional

de México. Se recolectaron seis frutos de 89 variantes de cinco especies con distinto grado de domesticación (número variable de recolectas por especie) (Cuadro 3.1).

**Cuadro 3.1** Especies, variantes y número de recolectas (N.R.) de nopal (*Opuntia* spp.) incluidas en el estudio.

Especie y variantes	N.R.	Especie y variantes	N.R.	Especie y variantes	N.R.
<i>O. streptacantha</i>		Chamacuero Monteza	1	Bola de Masa	3
Aguirrana	4	Chirriona	4	Burro	4
Burra	1	Cuervo Tuna	2	Burrona	5
Cardón	1	Jagüño	4	Copa de Oro	11
Cardón Potosino	2	Jarilla	2	COPENA T12	10
Demshikjä	5	Jarilla Grande	6	Cristalina	7
Isbiní	1	Jarrilla Kjä	4	Cristalino	5
Jocoquillo	6	Manso Apastillada	4	Dadokjä	4
Sandía	2	Mieluda	3	Esmeralda	5
Santo Tomás	3	Morada de San Martín	6	Fafayuco	3
Trompa de Cochino	1	Naranjona	2	Gavia	5
		Naranjona Dulce	1	Mango	2
<i>O. hyptiacantha</i>		Naranjona Helia	2	Octubreña	3
Amarilla 24	1	Oshikjä	1	Papantón	8
Blanca Victoria	1	Pico Chulo	7	Papino	2
Camueso	2	Reventón	11	Reyna	4
Cardón Blanco	5	Roja Saeta	1	Reynita	1
Cardón de la Papas	1	Rojo 10	3		
Jaqueña	5	Rubi Reyna	5	<i>O. ficus-indica</i>	
Jokjä	1	Sangre	1	Copena F1	3
Ladrillo	1	Sangre de Toro	1	Amarilla Milpa Alta	5
Nistokjä	2	Sangrita	1	Amarillo Huevo	2
Pachón	5	Sgt-INIFAP	1	Atlixco	1
		Tonikjä	5	Camuesa	2
<i>O. megacantha</i>		Torreaja	1	Doctor Mora	4
Amarilla China	1	Tzebekjä	4	Liso	4
Amarilla Mansa	2			Liso Blanco	1
Amarilla Monteza	2	<i>O. albicarpa</i>		Liso Forrajero	13
Amarilla Naranjona	3	Amarilla Olorosa	1	Promotora	1
Amarilla Raleña	1	Amarilla Pera	5	Solferino	7
Apastillada Anaranjada	2	Anaranjado	2	Telokjä	6
Astikjä	1	Blanca	4	Telokjä Roja	6
Bola de Masa	5	Blanca Chapeada	3		

Las cinco especies cubren el gradiente de domesticación reconocido por Reyes-Agüero *et al.* (2005). En los frutos se determinó la biomasa total, la de la pulpa con las semillas y la correspondiente a las semillas; también se determinó el porcentaje de pulpa, semillas y cáscara. En las semillas se cuantificó el número total por frutos, y su correspondiente a las normales y las abortadas; de las semillas normales se midió su biomasa deshidratada y la longitud, anchura, grosor y dureza. Para estas evaluaciones las semillas fueron separadas de la pulpa con ayuda de una licuadora doméstica, con aspas sin filo; la pulpa se colocó en 1 L de agua, se accionaron las aspas por 45 seg, a velocidad baja. El contenido del vaso se vertió en un cernedor con 48 orificios/cm<sup>2</sup>. Para eliminar los vestigios de las envolturas funiculares, el cernedor con las semillas se colocó bajo un chorro de agua. Luego, las semillas se colocaron en cajas Petri y se dejaron secar a temperatura del laboratorio (26 ± 2°C) por 3 d. Las semillas secas se mantuvieron en sobres de papel a la misma temperatura (Reyes-Agüero *et al.*, 2007).

La biomasa de los frutos y de la pulpa se cuantificó con una balanza granataria (Precisa modelo XB2200C, Suiza, con precisión de ± 0.1 g). La biomasa de las semillas secas se obtuvo en una balanza analítica (Scientech modelo SA120, EE.UU., con precisión de ± 0.0001 g). Las dimensiones de las semillas se obtuvieron con calibrador (Caliper-Mitutoyo, Japón; con precisión de ± 0.0001 cm y de lectura digital); la dureza se cuantificó en seis repeticiones por fruto, a través de la energía necesaria para comprimir al 50 % el grosor de cada semilla, con una máquina universal de pruebas (Instron Modelo 1000, EE.UU.), y con una celda de carga de 4.9 kN (500 kg<sub>f</sub>).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para evaluar los 89 tratamientos o variantes de nopal, con un fruto como unidad experimental por recolecta y seis repeticiones. Las unidades experimentales se derivaron de 399 recolectas. La distribución de frecuencias de la biomasa de los frutos y semillas, y las del tamaño y dureza de las semillas fue analizada para probar su normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks mediante el software InfoStat (Versión 2011e) (Balzarini *et al.*, 2008; Di-Rienzo *et al.*, 2011). Las variables fueron transformadas cuando no se cumplió el supuesto de normalidad. Los datos se sometieron a ANDEVA, comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey,

correlación de Pearson y análisis multivariable, de componentes principales (ACP) y de conglomerados (método de distancias medias). Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (versión 9).

## Resultados y discusión

### *Biomasa de fruto*

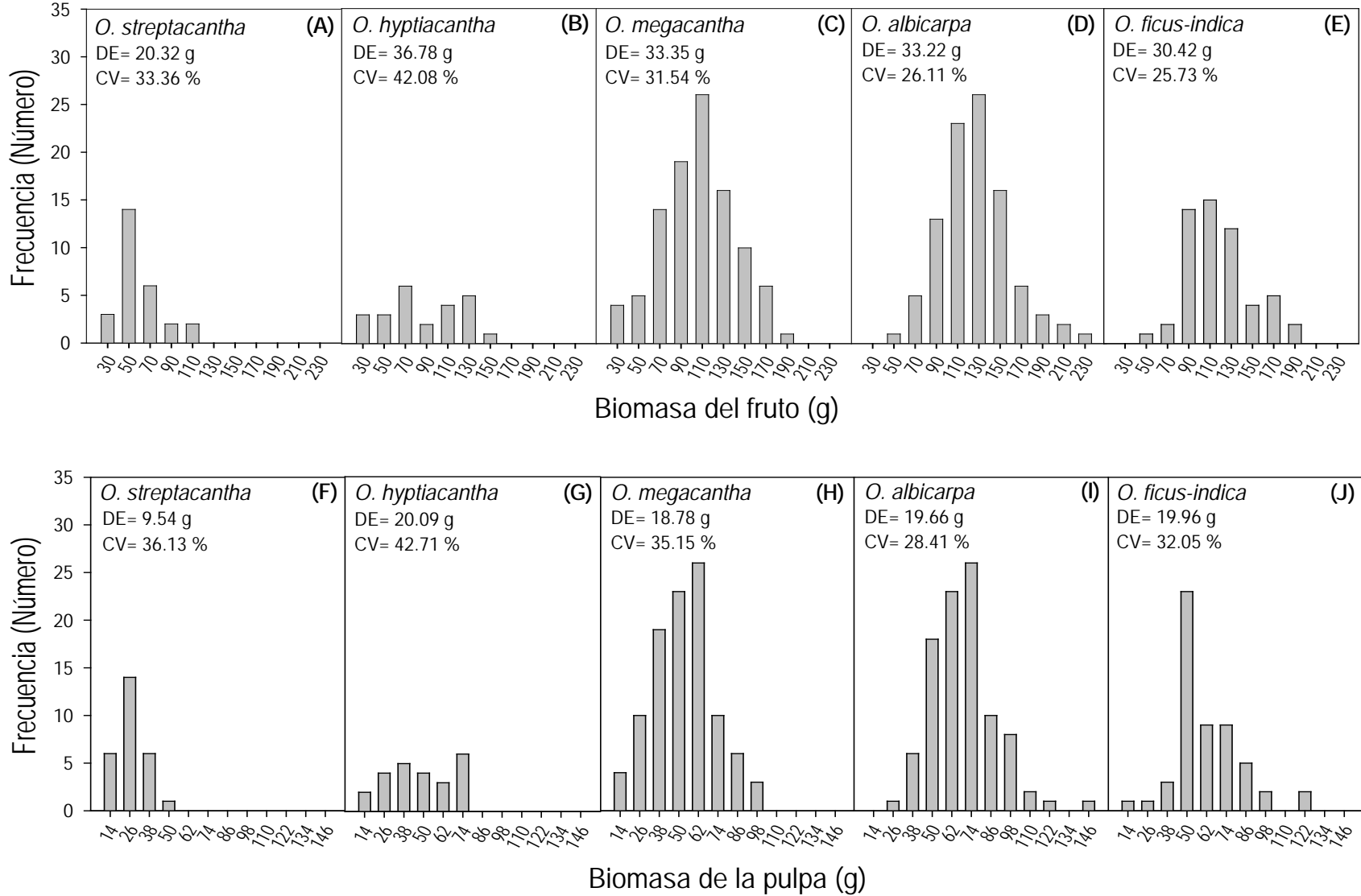
La amplitud en biomasa de frutos de las cinco especies fue de 30 a 230 g. Los frutos menos variables fueron de *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* (CV = 25.73 y 26.11 %, respectivamente). La distribución de frecuencias del tamaño de frutos también fue diferente entre especies, y únicamente para *O. megacantha* y *O. albicarpa* fue simétrica alrededor de la media. En *O. ficus-indica* la distribución fue sesgada hacia frutos de tamaño mayor, con picos en 110, 130 y 170 g. La variabilidad en biomasa de frutos de *O. hyptiacantha* fue elevada (CV= 42.08 %), sin predominio en frecuencia de un tamaño específico (Figura 3.1 A-E).

Las diferencias en biomasa de frutos entre variantes de cada especie fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ). En todas las especies, la amplitud entre sus variantes significó alrededor del 50 % de la biomasa. Estas diferencias fueron mayores en *O. megacantha* y *O. albicarpa*, lo cual se reflejó en su distribución de frecuencias (Figura 3.2 A).

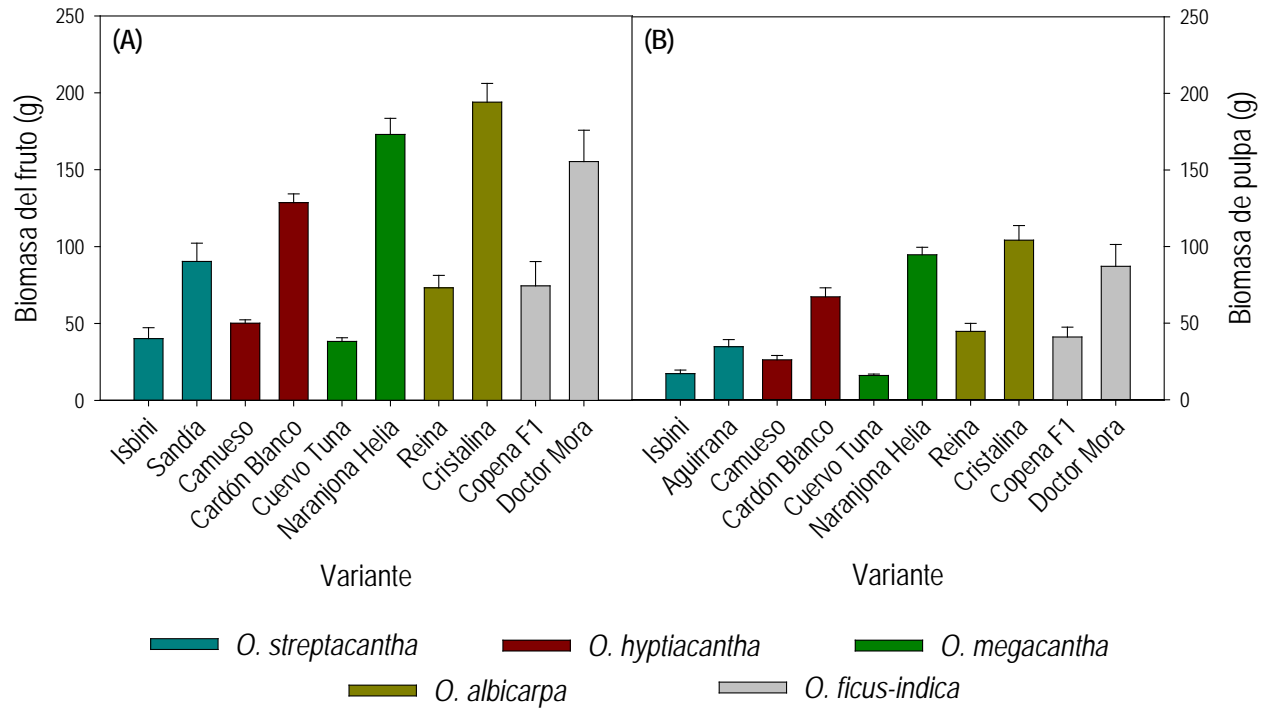
La biomasa promedio de frutos también fue contrastante entre especies ( $p \leq 0.05$ ), y se incrementó con el grado de domesticación. Así, *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* presentaron los frutos con mayor biomasa (de 118 a 127 g) de las cinco especies, el doble de los frutos de *O. streptacantha* (61 g), la especie con los frutos más pequeños (Figura 3.3 A).

Reyes-Agüero *et al.* (2009) documentaron la amplitud en la biomasa de frutos de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* (de 23.5 a 116.4 g y de 23.7 a 199.9 g, respectivamente), dentro de la cual se encuentran los valores obtenidos en este estudio (Figuras 3.1 A-B, 3.2 A y 3.3 A); en contraste, Parish y Felker (1997) encontraron que los frutos de variantes con valor comercial de las mismas especies presentaron mayor biomasa (135 y 160 g, respectivamente).





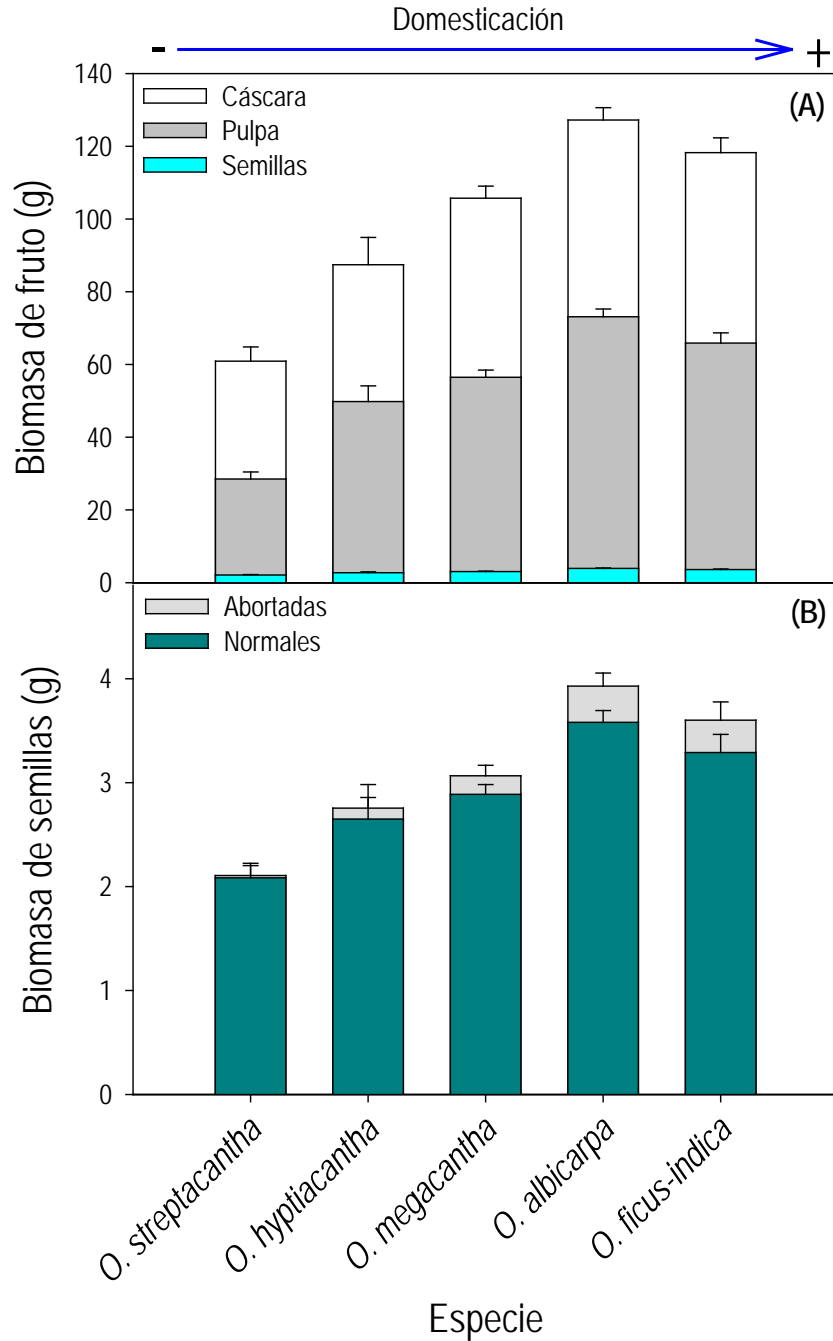
**Figura 3.1** Distribución de frecuencias de biomasa del fruto (A-E) y pulpa (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.



**Figura 3.2** Biomasa de fruto (A) y pulpa (B) (+ e.e.) de las dos variantes con los valores extremos de las cinco especies de *Opuntia*.

La amplitud de la biomasa de los frutos de *O. megacantha* (Figura 3.1 C) también fue similar a la registrada por Reyes-Agüero *et al.* (2009) (de 29.8 a 256.4 g) y la biomasa promedio del fruto de esta especie fue parcialmente similar a la máxima (de 117 y 140 g) encontrada por Parish y Felker (1997) (Figura 3.3 A).

Las diferencias entre los valores en la literatura y los de las especies estudiadas (Figura 3.3 A) pueden deberse a la diversidad de las variantes y a las condiciones de crecimiento previas a la recolección. Al respecto, el peso del fruto de *O. ficus-indica* es afectado por el turno de brotación de la yema floral y la cantidad de frutos en el cladodio. Por lo que, las yemas que brotan primero, generalmente forman frutos con más biomasa que los de cladodios en los que sólo se desarrollaron seis frutos (Inglese *et al.*, 1994; Wessels y Swart, 1990).



**Figura 3.3** Biomasa de frutos (A) y semillas (B) de *Opuntia* (+ e.e) en un gradiente de domesticación.

*Opuntia ficus-indica* es la especie más estudiada y documentada, por su distribución amplia en el mundo y su nivel mayor de domesticación (Barbera *et al.*, 1992; Griffith, 2004), lo cual se refleja en la biomasa de sus frutos. En efecto,

Reyes-Agüero *et al.* (2005), con base en un muestreo de frutos de 72 cultivares, en 17 localidades de ocho estados de México, registraron una amplitud en su biomasa de 86 a 146 g, pero hubo casos con sólo 45 g (una variante tradicional sin semilla) o hasta 223 g. En algunos cultivares como Amarilla Huesona, Amarilla Naranjona y Rojo Pelón se han registrado frutos de 114 a 143 g (Pimienta-Barrios, 1994), en los de Gialla y Rosa de 135 a 146 g (Barbera *et al.*, 1994; Schirra *et al.*, 1999) y entre 114 y 152 g (Parish y Felker, 1997); en recolectas de Argentina los frutos han pesado de 112 a 212 g (Felker *et al.*, 2005); en los de Tenerife, España, tuvieron 98 g (Díaz-Medina *et al.*, 2007); y en Italia los frutos comerciales pesan entre 80 y 160 g (Inglese *et al.*, 1995). Esta variabilidad en biomasa de los frutos de *O. ficus-indica* también se presentó en los cultivares de este estudio (Figuras 3.2 A y 3.3 A).

Los resultados obtenidos (Figuras 3.1 A-E, 3.2 A y 3.3. A) también apoyan la hipótesis de la relación directa del tamaño de frutos con la domesticación, y confirman lo documentado por otros autores (Barbera *et al.*, 1992; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Felker *et al.*, 2005; Inglese *et al.*, 1995; Parish y Felker, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2005), quienes señalan que el fruto de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* es mayor que el de especies con grado de domesticación menor o silvestres, como *O. streptacantha*. El incremento del tamaño del fruto es uno de los efectos asociados a la selección humana (Colunga *et al.*, 1986; Reyes-Agüero *et al.*, 2005) y forma parte del síndrome de domesticación de muchas otras especies. Se ha postulado que las diferencias en el tamaño del fruto entre poblaciones cultivadas y silvestres se deben a niveles diversos de ploidía (Pimienta-Barrios *et al.*, 1994), pero también es probable que se trate de extremos de variación natural. Al inicio de la domesticación los fenotipos con cladodios vigorosos y frutos de tamaño mayor fueron reconocidos y establecidos en forma vegetativa en solares y parcelas de cultivo (Figueroa *et al.*, 1980; Colunga *et al.*, 1986; Pimienta-Barrios *et al.*, 1994). Así, esas poblaciones persistieron en los ambientes humanizados contribuyeron a la diversidad de tamaño y forma del fruto.

#### *Biomasa de la pulpa del fruto*

La amplitud en biomasa de la pulpa de frutos del grupo completo, de las cinco especies, fue de 14 a 146 g. Los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* fueron los

menos variables (CV = 28.41 y 32.05 %) y los de *O. hyptiacantha* presentaron la variabilidad mayor (CV = 42.71 %). La distribución de frecuencias de biomasa de la pulpa, como sucedió con la de frutos, fue distinta entre especies; únicamente en *O. megacantha* fue simétrica alrededor de la media, y con dos picos en *O. hyptiacantha*. La amplitud en *O. streptacantha* fue de 13 a 49 g con moda de 26 g; en *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* la amplitud y moda fue de 14 a 98 g y 62 g, de 26 a 146 g y 74 g y de 14 a 122 g y 50 g, respectivamente (Figura 3.1 F-J).

Las variantes dentro de especies mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de pulpa. En *O. streptacantha* los frutos de su variante Isbini presentó la cantidad menor de pulpa (17 g) y Aguirrana los frutos con más pulpa (35 g). En *O. hyptiacantha* los frutos de Camueso (26 g) y Cardón Blanco (67 g) representaron los extremos en cantidad de pulpa. El contraste mayor se presentó entre las variantes de *O. megacantha*, Cuervo Tuna (16 g) y Naranjona Helia (95 g). En *O. albicarpa*, Reina tuvo mucho menos pulpa (45 g) que Cristalina (104 g). Entre los cultivares de *O. ficus-indica* los extremos en peso de pulpa fueron COPENA F1 (41 g) y Doctor Mora (87 g). Estos resultados indican que la amplitud en contenido de pulpa se ha incrementado con la domesticación: 18, 41, 79, 60 y 46 g en *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, respectivamente (Figura 3.2 B).

La biomasa promedio de pulpa de frutos contrastó entre especies, desde 26 g en *O. streptacantha* hasta 62 y 69 g en *O. albicarpa* y en *O. ficus-indica*, respectivamente (Figura 3.3 A). En contraste, la biomasa de la pulpa expresada como porcentaje de la biomasa del fruto fue menor en *O. streptacantha* (44.13 %;  $p \leq 0.05$ ) y diferente al resto de las especies, las cuales fueron estadísticamente similares al respecto ( $p > 0.05$ ; Cuadro 3.2).

Existe información limitada sobre el contenido de pulpa de los frutos de especies silvestres de *Opuntia*. Parish y Felker (1997) estimaron el peso de frutos completos de *O. streptacantha* (71 g) y *O. hyptiacantha* (76 g); con la información de estos autores se calculó que esos frutos contenían 52 y 47 % de pulpa, respectivamente, superiores a los del presente estudio; en contraste, Reyes-Agüero *et al.* (2009) registraron

porcentajes de pulpa en los frutos de 32.7 a 46.9 % para *O. streptacantha*, y entre 46.1 y 54.8 % para *O. hyptiacantha*, similares a los presentado en el Cuadro 3.2.

**Cuadro 3.2** Componentes relativos (%) de la biomasa total del fruto de cinco especies de *Opuntia*, ordenadas de menor a mayor grado de domesticación.

Especie	Pulpa (%)	Semilla (%)	Cáscara (%)
<i>O. streptacantha</i>	44.13 b	3.62 a	52.25 a
<i>O. hyptiacantha</i>	53.69 a	3.28 a	43.03 b
<i>O. megacantha</i>	50.36 a	2.98 b	46.66 b
<i>O. albicarpa</i>	54.51 a	3.10 b	42.38 b
<i>O. ficus-indica</i>	52.74 a	3.07 b	44.19 b

Valores seguidos por letras diferentes dentro de las columnas son estadísticamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

El contenido de pulpa de los frutos de *O. megacantha* del presente estudio (53 g; Figura 3.3 A) también fue menor que el de las variantes comerciales selectas (de 72 a 79 g) y evaluadas por Parish y Felker (1997) pero está dentro del intervalo (de 12.1 a 132.7 g) descrito por Reyes-Agüero *et al.* (2009) para variantes diversas de la misma especie. La proporción relativa de pulpa en el fruto (de 54 a 57 %), calculada con los datos de estos autores, fue ligeramente superior a la del presente estudio (50 %; Cuadro 3.2). Las diferencias entre algunos de los resultados pueden deberse a la gran diversidad de variantes dentro de la especie (Colunga *et al.*, 1986; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Con el presente estudio se confirma la gran riqueza de variantes (Cuadro 3.1) y variabilidad de biomasa de sus frutos (Figura 3.2 A) y del contenido de pulpa (Figura 3.2 B). Además, las variantes evaluadas por Parish y Felker (1997) contrastaron parcialmente con las incluidas en este estudio, pues estudiaron únicamente frutos comerciales preferentes o selectos, y en este estudio se incluyeron variantes establecidas en ambientes muy diversos.

La información referente a los frutos de variantes de *O. albicarpa* son escasos en la literatura. Pimienta-Barrios *et al.* (1994) registraron 106 g de pulpa en los frutos de la variante Alfajayucan, lo cual representó 56 %; y otros autores (Mondragón-Jacobo y Pérez-González, 1994) registraron en la variante 'Reyna' 67 %. Estos valores son

similares a los obtenidos en variantes como Naranjona Helia, con cerca de 100 g de pulpa por fruto (Figura 3.2 B), pero superiores a la proporción media (54 %), de las 22 de este estudio (Cuadro 3.2).

Sobre la pulpa de los frutos de *O. ficus-indica* existen estimaciones desde 46 hasta 81 g por fruto (Barbera *et al.*, 1994; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Parish y Felker, 1997; Pimienta-Barrios, 1994), pero Reyes-Agüero *et al.* (2009) registraron una amplitud mayor, de 14.2 a 170.1 g, la cual coincide con la del estudio presente (Figura 3.2 B y 3.3 A). El contenido relativo de pulpa de los frutos depende de la variante y de su procedencia; la de los cultivares de México varía de 39 a 55 % del fruto, según Parish y Felker (1997) y Pimienta-Barrios (1994). Esto coincide con lo registrado en el presente estudio (Cuadro 3.2), y sugiere que la variabilidad de este carácter es relativamente estable en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. En contraste, los frutos de Italia son menos variables y contienen alrededor de 60 % de pulpa (Barbera *et al.*, 1994).

En general, se confirma la hipótesis de incremento del contenido de pulpa de los frutos con mayor grado de domesticación (Figura 3.2 B y 3.3 A), al igual que la reducción en la proporción de cáscara (Cuadro 3.2). La proporción mayor de cáscara en frutos de *O. hyptiacantha* y *O. streptacantha* (52.5 y 47.7 %) que en los de *O. megacantha* y *O. ficus-indica* (37.4 y 35.8 %) fue registrada por Parish y Felker (1997). También, los frutos de cultivares de *O. ficus-indica* con biomasa entre 140 y 160 g adaptados a zonas frías más altas presentaron mayor proporción de cáscara (59.7 %) que los de ambientes menos fríos (50 %) (Felker *et al.*, 2005). De acuerdo con Bachmann (1978), el incremento de las dimensiones de las células u órganos disminuye la relación superficie/volumen y puede alterar el metabolismo y los procesos de absorción celular de nutrientes; además, las células de tamaño menor tienden a responder más rápido a los cambios ambientales, por lo que en algunos organismos se incrementa la proporción de células de sus órganos en formación como adaptación al ambiente. La reducción de la proporción de cáscara con la domesticación en *Opuntia* es difícil que repercuta en el desarrollo final del fruto porque la actividad fotosintética de la cáscara sólo apoyará la formación de la pulpa antes de la madurez (Pimienta y Engleman, 1985) y porque la reducción relativa de la cáscara se debe principalmente a su menor grosor. En especies silvestres, que frecuentemente se desarrollan en

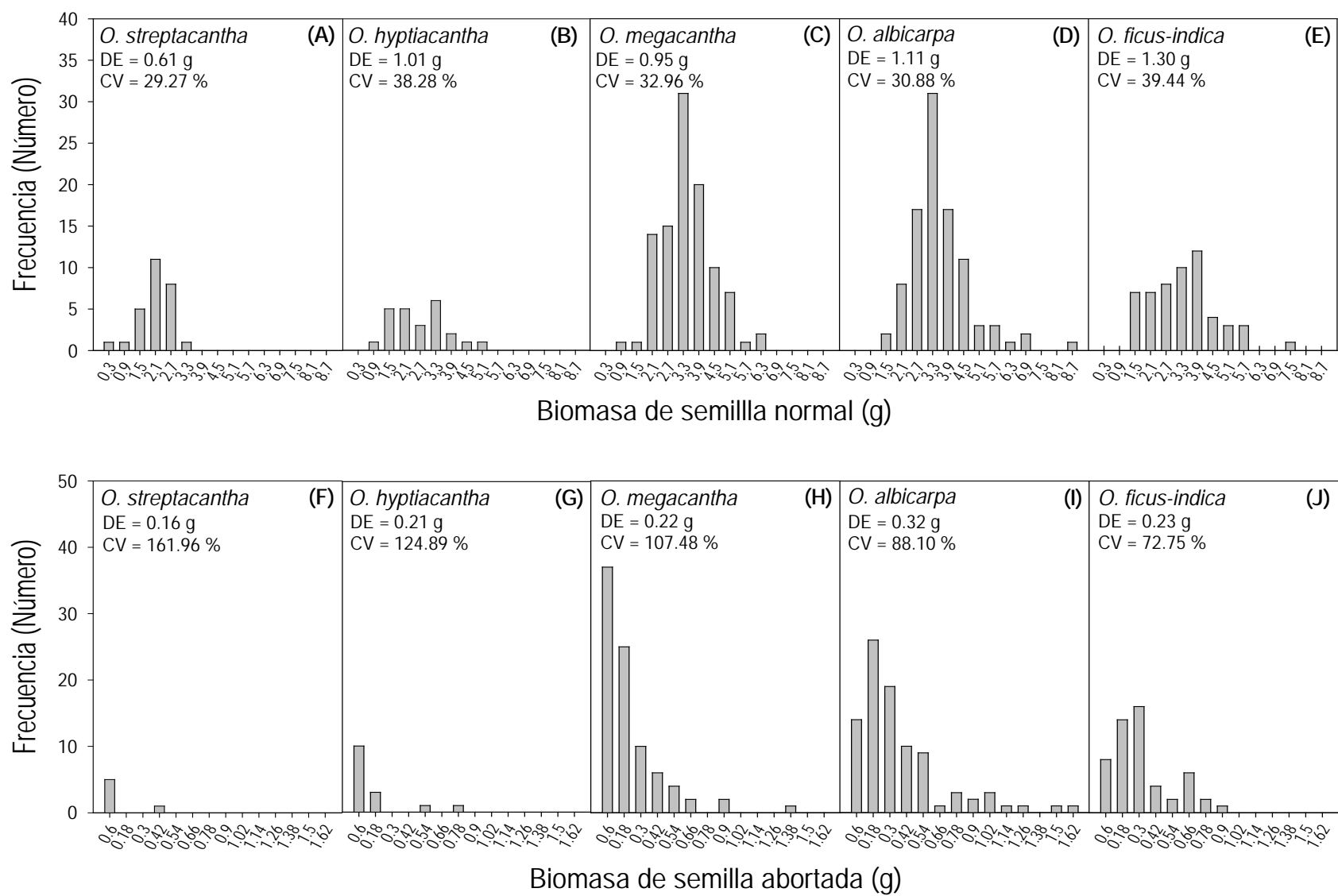
condiciones de estrés, la proporción mayor de cáscara podría complementar la actividad metabólica de los órganos vegetativos y conformar una protección mayor y aislamiento del fruto. Al respecto, se ha señalado que los tejidos de la cáscara son similares a los del cladodio, con la diferencia que tienen los conductos mucilaginosos más desarrollados y las células de la corteza en disposición irregular (Corrales-García, 2003; Pimienta y Engleman, 1985).

#### *Biomasa de semillas por fruto*

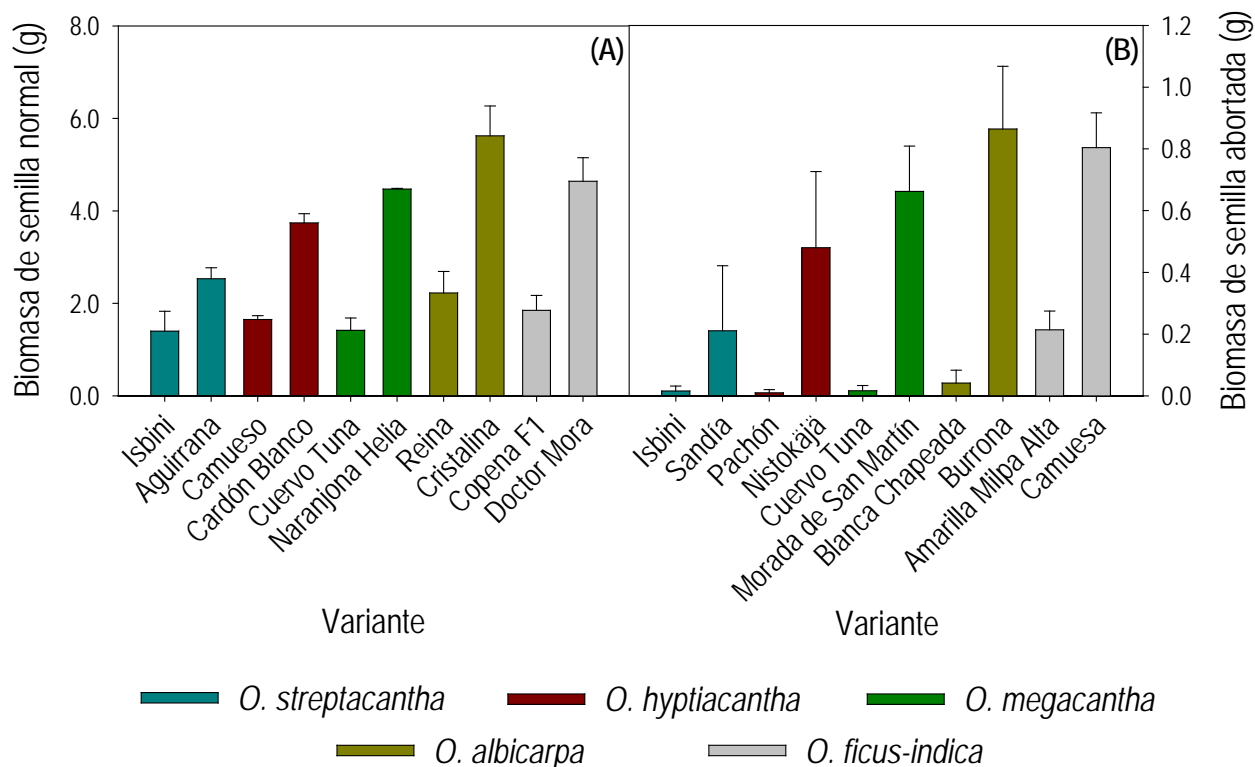
La biomasa de semillas normales de las cinco especies varió entre 0.3 y 8.7 g por fruto. La distribución de frecuencias de la biomasa de este tipo de semillas en los frutos de *O. streptacantha* y *O. megacantha* fue simétrica y modal; *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* presentaron distribuciones muy asimétricas con valores atípicos muy elevados (7.5 y 8.7 g por fruto, respectivamente); en *O. hyptiacantha* la distribución aplanada contrastó con las otras especies. Además de estas diferencias, también se observó que la moda de la biomasa de las semillas normales por fruto se incrementó con la domesticación, de 2.1 g en *O. streptacantha* a 3.3 g en *O. megacantha* y *O. albicarpa*, y 3.9 g en *O. ficus-indica* (Figura 3.4 A-E). El 90% de la pulpa está formado por células de parénquima que se originan en la epidermis dorsal de la envoltura funicular; el otro 10 % son tejidos del funículo (Pimienta y Engleman, 1985); por ello, los frutos de las especies consideradas con mayor grado de domesticación tienen más biomasa de semillas.

La biomasa de las semillas normales varió ( $p \leq 0.05$ ) dentro de las especies y su amplitud se incrementó con la domesticación. En *O. streptacantha* la diferencia, entre Isbini y Aguirrana con los valores extremos de semillas normales representó 45 %. En *O. hyptiacantha* la diferencia entre Camueso y Cardón Blanco se incrementó a 56 %; pero las diferencias mayores (entre 60 y 68 %) se registraron en *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, en variantes como Cuervo Tuna y Naranjón Helia, Reina y Cristalina, y Copena F1 y Doctor Mora, respectivamente (Figura 3.5 A).





**Figura 3.4** Distribución de frecuencias de biomasa de las semillas normales (A-E) y abortadas (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.



**Figura 3.5** Biomasa de las semillas normales (A) y abortadas (B) por fruto (+ e.e.) de las dos variantes con los valores extremos de cada una de las cinco especies de *Opuntia*.

La biomasa de las semillas normales por fruto también se incrementó con el grado de domesticación. Así, los frutos de *O. streptacantha* presentaron en promedio 2 g de semillas, de los cuales casi la totalidad eran normales; en cambio los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* presentaron 3.6 y 3.3 g de semillas normales y 3.9 y 3.6 g de semillas totales, respectivamente (Figura 3.3 B).

La distribución de frecuencias de biomasa de las semillas abortadas mostró ciertas diferencias entre especies pero la correspondiente a las cinco especies fue asimétrica y ninguna fue modal; los extremos del intervalo completo para las cinco especies fueron 0.06 y 1.62 g por fruto (Figura 3.4 F-J). La asimetría hacia la izquierda indicó que los frutos con biomasa baja de semillas abortadas son más frecuentes en las cinco especies, independientemente de su nivel de domesticación. Los intervalos, como las frecuencias, se incrementaron con la domesticación. Los frutos de *O.*

*streptacantha* en promedio presentaron entre 0.06 y 0.42 g de semillas abortadas por fruto; los de *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* tuvieron los intervalos mayores, con máximos hasta de 1.0 y 1.6 g, respectivamente (Figura 3.4 F-J).

Las variantes dentro de las especies presentaron diferencias amplias y significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de semillas abortadas; con excepción de *O. ficus-indica*, hubo variantes con contenidos menores que 0.05 g, como Isbini de *O. streptacantha* (0.02 g), Pachón de *O. hyptiacantha* (0.01 g), Cuervo Tuna de *O. megacantha* (0.02 g) y Blanca Chapeada de *O. albicarpa* (0.04 g). En contraste, los frutos de *O. ficus-indica* con contenido menor de semillas abortadas, como Amarillo Milpa Alta, presentaron 0.21 g en promedio. Se observó también cierta relación directa entre los contenidos máximos de semilla abortada y el grado de domesticación, desde 0.2 g en *O. streptacantha*, hasta 0.83 g en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 3.5 B).

La semilla abortada por fruto, como la normal, en promedio se incrementó con el grado de domesticación. Esta información permite asegurar que las semillas abortadas en los frutos de *O. streptacantha* representan sólo el 6 % de las presentes en los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 3.3 B).

Los resultados de este estudio confirman que la biomasa total de las semillas (normales más abortadas) por fruto se incrementa ( $p \leq 0.05$ ) en *Opuntia* durante la domesticación, desde 2.1 g en *O. streptacantha* a 3.6 g en *O. ficus-indica* y 3.9 g en *O. albicarpa* (Figura 3.3 B). Sin embargo, la biomasa relativa de semilla por fruto disminuyó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) con la domesticación, desde 3.6 % en los frutos de *O. streptacantha*, a 3.1 %, en *O. ficus-indica* (Cuadro 3.2). Esta disminución indica que, aunque con la domesticación hubo incremento significativo del número de semillas, el de las abortadas también se incrementa pero con biomasa menor por semilla, lo cual aporta poco a la biomasa total de semilla y del fruto. Los cambios también pueden deberse a que hay formación de más pulpa por cada semilla en las especies más domesticadas que en las silvestres.

Parish y Felker (1997) documentaron la biomasa total de semilla de algunos frutos de *O. streptacantha* (3.3 g) y *O. hyptiacantha* (2.9 g); con la información publicada por estos autores se calculó que el contenido relativo de semillas por fruto de esas especies fue de 2.4 y 1.8 %, respectivamente. Estos valores son claramente menores

que los obtenidos en el estudio presente (3.6 y 3.3 %, Cuadro 3.2). En contraste, nuestros datos y los de Parish y Felker (1997) referentes a *O. megacantha* fueron similares. También los datos de Reyes-Agüero *et al.* (2009) para *O. streptacantha* (1.2 a 3.9 g), *O. hyptiacantha* (0.7 a 6.3 g), *O. megacantha* (0.03 a 7.9 g) y *O. albicarpa* (0.5 a 10.8 g) concuerdan con los del presente estudio (Figuras 3.3 B y 3.4 A-E).

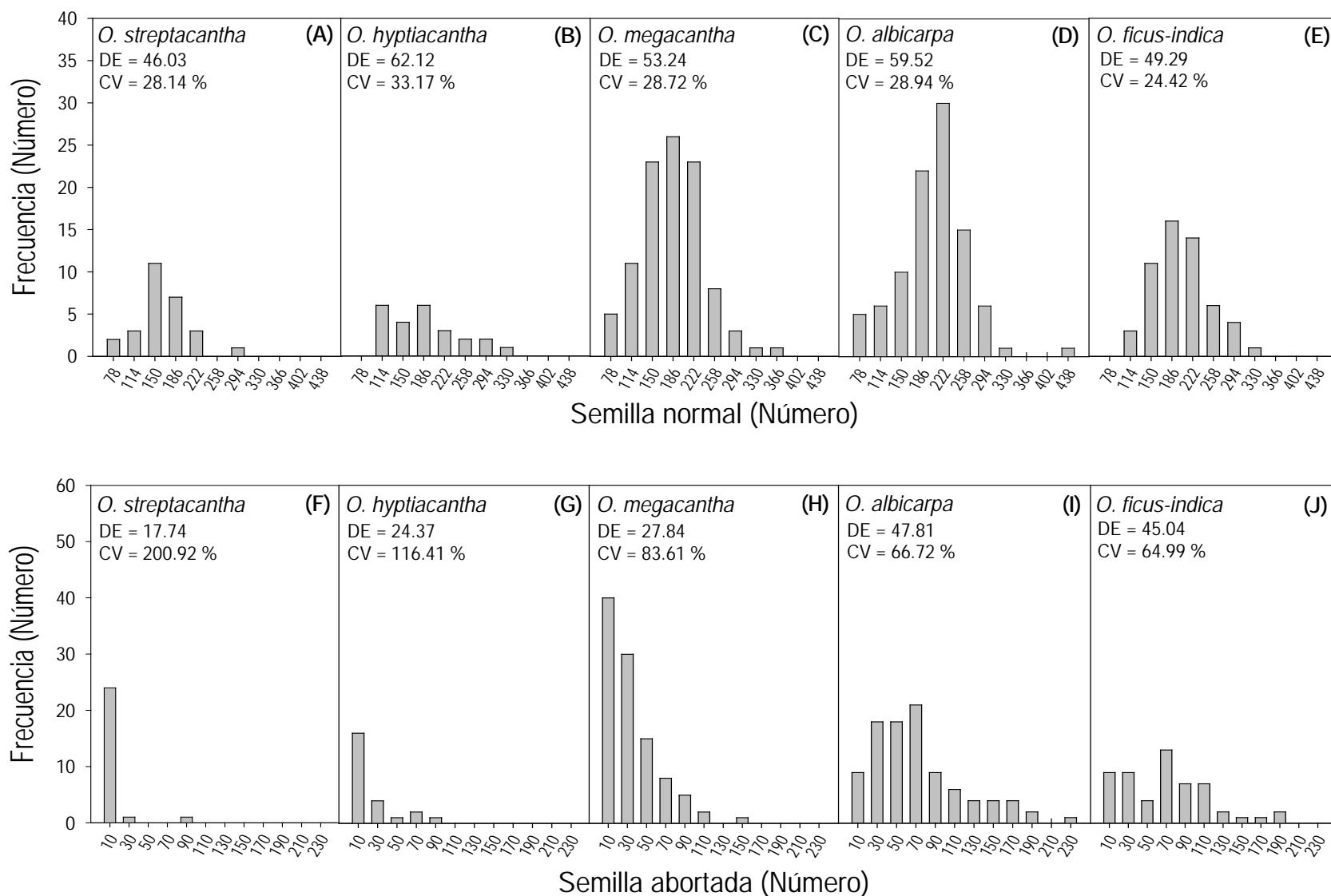
La biomasa de semilla por fruto de *O. ficus-indica* en la literatura oscila entre 2.2 y 4.3 g (entre 1.8 y 4.9 %) (Barbera *et al.*, 1994; Parish y Felker, 1997; Pimienta-Barrios, 1994) coincidente con lo obtenido en este estudio. En contraste, otros valores registrados están entre 0.2 y 33.6 g (Reyes-Agüero *et al.*, 2009), y en proporción hasta 5.9 % (Díaz-Medina *et al.*, 2007), amplitud mucho mayor que la registrada en el presente estudio (Figura 3.4).

#### *Número de semillas por fruto*

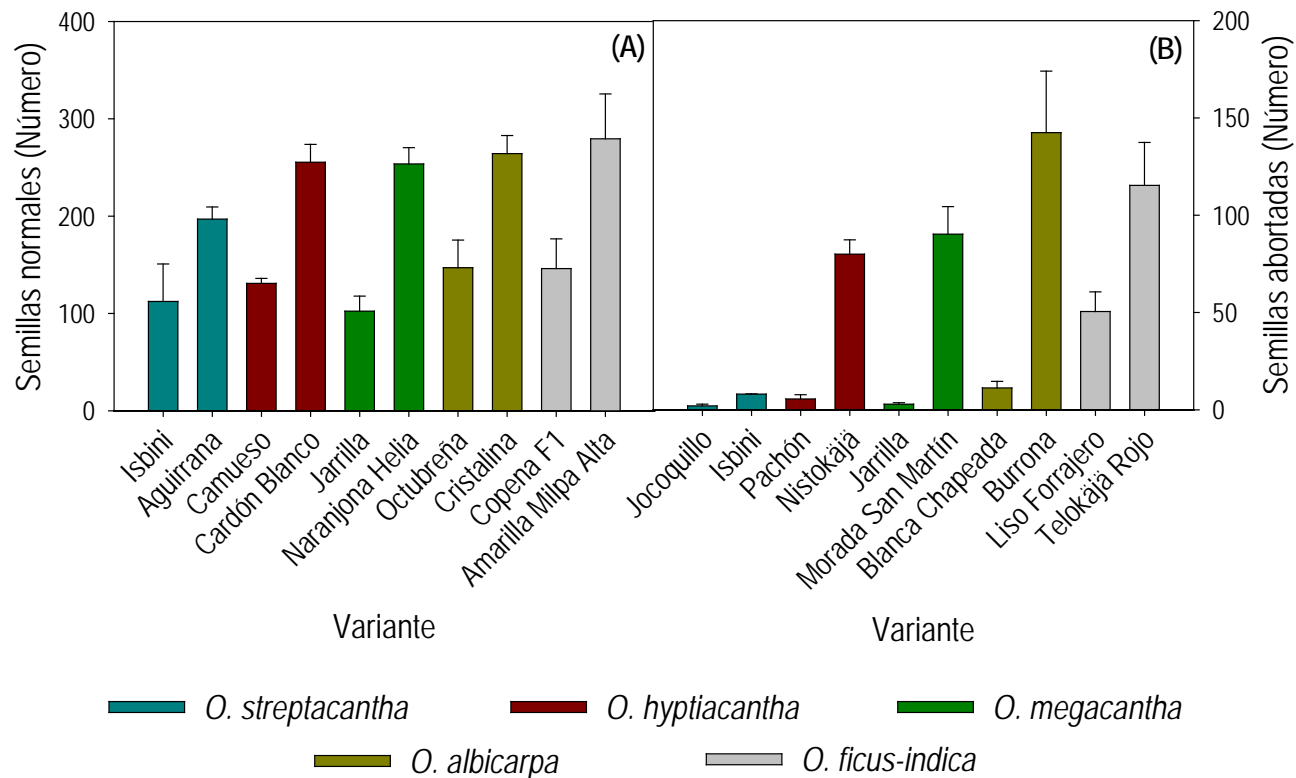
Las semillas normales por fruto de las cinco especies variaron entre 78 y 438; su distribución en las especies de *Opuntia*, excepto *O. hyptiacantha*, fue simétrica con moda entre 150 y 222, y se incrementó con el grado de domesticación. La variación mayor en el número de semillas normales la tuvo *O. hyptiacantha* (CV = 33.17 %) y la menor *O. ficus-indica* (CV = 24.42 %), y la distribución de aquella fue asimétrica hacia la izquierda y con dos picos (Figura 3.6 A-E).

La cantidad de semilla normal por fruto difirió ( $p \leq 0.05$ ) entre variantes de cada especie; de las cinco especies estudiadas, las variantes similares ( $p > 0.05$ ) con menos semilla normal fueron Isbini, Camuezo, Jarrilla, Octubreña y Copena F1, con contenido promedio de 139 semillas. Entre las variantes con más semillas normales se registró a Aguirrana de *O. streptacantha* con 197 por fruto, pero superada por otras especies, como Cardón Blanco de *O. hyptiacantha*, Naranjona Helia de *O. megacantha*, Cristalina de *O. albicarpa* y Amarillo Milpa Alta de *O. ficus-indica*, sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellas, y con 239 semillas por fruto (Figura 3.7 A).

Entre especies el número de semillas normales por fruto tendió a incrementarse con la domesticación. Así, se observó que el contenido de semillas de los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* superaron hasta en 20 % el de *O. streptacantha* (Figura 3.8 A).



**Figura 3.6** Distribución de frecuencias del número de semillas normales (A-E) y abortadas (F-J) en frutos de cinco especies de *Opuntia*. DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

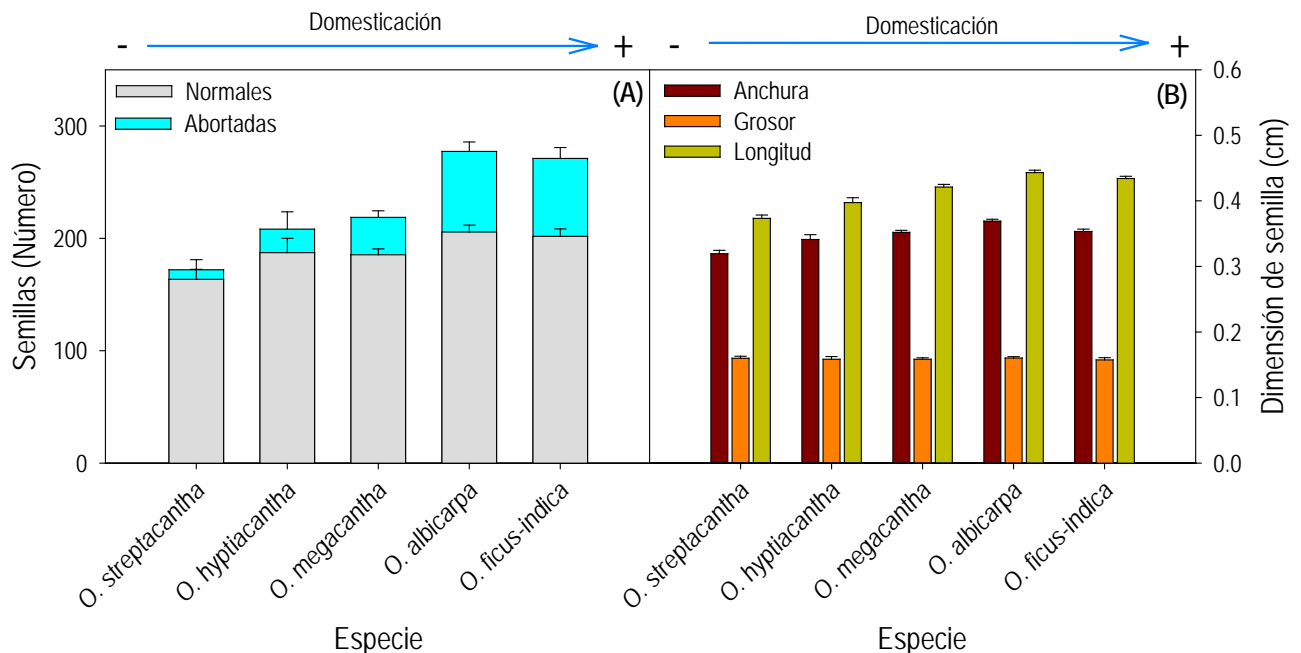


**Figura 3.7** Semillas normales (A) y abortadas (B) (+ e.e.) por fruto en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de *Opuntia*.

La distribución de frecuencias para el número de semillas abortadas por fruto contrastó parcialmente entre las cinco especies, pues para todas fue asimétrica y truncada. El sesgo general hacia la izquierda indica que los frutos con proporción baja de semillas abortadas son los más frecuentes en las cinco especies, independientemente del nivel de domesticación; el intervalo total de las cinco especies fue de 10 a 230 semillas por fruto (Figura 3.6 F-J). Además, los intervalos y las frecuencias, se incrementaron con la domesticación; así, la mayoría de los frutos de las especies silvestres o con menor grado de domesticación, como *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha*, presentaron 10 semillas abortadas, y una proporción menor de frutos con 30 a 150 semillas abortadas fue más frecuente en *O. hyptiacantha* y *O. megacantha*. En contraste, en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* los frutos con 30 a 70 y 10 a 110 semillas abortadas, respectivamente, fueron los más frecuentes (Figura 3.6 F-J).

Las diferencias en número de semillas abortadas por fruto dentro de las especies fueron amplias y significativas ( $p \leq 0.05$ ); así, en *O. streptacantha* hubo variantes con únicamente dos de ellas, como Jocoquillo, y otras como Isbini presentaron seis semillas de este tipo. Estos valores contrastaron ampliamente con los de variantes de *O. albicarpa*, como Blanca Chapeada con 11 semillas abortadas y Burrona con 142, y también con las de *O. ficus-indica*, pues sus cultivares con menos semillas abortadas por fruto, como Liso Forrajero, presentaron 50 de ellas, y otros como Telokäjä Rojo, presentaron hasta 115 (Figura 3.7 B).

En promedio, el número de semillas abortadas por fruto se incrementó ( $p \leq 0.05$ ) con el grado de domesticación. Los frutos de *O. streptacantha* tuvieron el número menor (ocho) de todas las especies, y *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, en promedio tuvieron 70. La misma tendencia se observó entre especies para el número total de semillas (normales más abortadas) por fruto, pues los de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* tuvieron en promedio 50 % más semillas ( $p > 0.05$ ) que los de *O. streptacantha* (Figura 3.8 A).



**Figura 3.8** Semillas normales y abortadas (A) por fruto y dimensiones de las semillas normales (B) (+ e.e.) de las cinco especies de *Opuntia* con distinto grado de domesticación.

Los contenidos totales de semilla registrados contrastaron parcialmente con lo ya publicado. En *O. streptacantha* se han documentado 201 semillas totales (Parish y Felker, 1997), cantidad algo mayor a la registrada en el estudio presente (174 semillas); lo registrado en *O. hyptiacantha* por dichos autores (191 semillas) fue similar a lo encontrado en este estudio (200 semillas); y en los frutos de *O. megacantha* los mismos autores registraron desde 248 hasta 304 semillas, intervalo superior al obtenido en este estudio (Figura 3.8 A). En cambio, el promedio de semillas totales registrado en los frutos de *O. ficus-indica* está dentro del intervalo (144 a 342 semillas por fruto) conocido (Barbera *et al.*, 1994; Parish y Felker, 1997). Respecto a la proporción de semillas, Reyes-Agüero *et al.* (2009) señalaron que las semillas abortadas estuvieron ausentes o hasta 107, 135 y 306 en *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*, respectivamente; y que *O. megacantha* y *O. albicarpa* tuvieron desde dos hasta 238 y 272 semillas abortadas por fruto. Los intervalos anteriores fueron más amplios que los registrados en este estudio. Los mismos autores encontraron amplitudes para semillas normales de 70 a 319 en *O. streptacantha*, de 36 a 559 en *O. hyptiacantha*, de 13 a 404 en *O. megacantha*, de 55 a 402 en *O. albicarpa* y de 10 a 566 en *O. ficus-indica*; estos valores fueron similares a los obtenidos en este estudio (Figura 3.6).

La abundancia, tamaño y dureza de las semillas afectan la calidad del fruto fresco de *Opuntia* (Inglese *et al.*, 1995; Nobel, 2011; Parish y Felker, 1997). Así, en las Islas Canarias los frutos de *O. dillenii* (Ker Gawl.) Haw. no se consumen por su abundancia de semillas (Díaz-Medina, 2007). Sin embargo, la abundancia de semillas aparentemente tiende a compensarse con su tamaño menor, lo cual mejora la aceptación del fruto (Colunga *et al.*, 1986). Esta tendencia se observó en las especies con nivel mayor de domesticación (Figura 3.8 A) y coincidió con lo registrado por Reyes-Agüero *et al.* (2005), quienes señalan que las especies más domesticadas presentan frutos con menor valor de la relación semillas normales/abortadas. Los frutos de *Opuntia* preferidos y seleccionados durante la domesticación seguramente son los que contienen semillas más fáciles de ingerir, como son las abortadas (Barbera *et al.*, 1994; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Lo anterior coincide parcialmente con lo observado



en este estudio ya que el contenido relativo de semillas abortadas fue mayor en los frutos de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (25 %) respecto a *O. streptacantha* (5 %); pero, también el número total de semillas fue mayor (Figura 3.9; Cuadro 3.2). El incremento de hasta de un tercio de semillas abortadas en las especies con mayor nivel de domesticación respecto a las silvestres fue documentado por Reyes-Agüero *et al.* (2005).

La relación entre la biomasa del fruto o de la pulpa con la cantidad de semillas, tanto abortadas como normales, en los frutos de *Opuntia* ha cambiado por efecto de la domesticación (Cuadro 3.3). En *O. streptacantha* la correlación de la biomasa de la pulpa y la del fruto con el número de semillas abortadas careció de significación; en *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* la biomasa de la pulpa y del fruto sí se correlacionaron ( $p \leq 0.001$ ) positivamente con la cantidad de semillas abortadas, normales y las totales; en contraste, en *O. albicarpa*, una de las especies con mayor grado de domesticación, la correlación entre la biomasa de la pulpa o la del fruto fue significativa ( $p \leq 0.001$ ) sólo con las semillas abortadas, y en la especie con el nivel mayor de domesticación reconocido actualmente, *O. ficus-indica*, ninguna de las correlaciones anteriores fue significativa (Cuadro 3.3).

La envoltura funicular de las semillas origina el tejido comestible del fruto (Pimienta y Engleman, 1985), por lo que se esperaría mejor correlación entre el contenido de semillas y de pulpa en las especies con nivel de domesticación mayor. Sin embargo, la correlación entre la biomasa de la pulpa o del fruto con el número de semillas no fue significativa en *O. ficus-indica* (Cuadro 3.3). Esta tendencia fue opuesta a la observada por Barbera *et al.* (1994), quienes sí detectaron una correlación significativa de las semillas con la pulpa del fruto; aunque la correlación fue no significativa al considerar únicamente las semillas abortadas o las normales, tal como sucedió en el estudio presente. Colunga *et al.* (1986) observaron correlación significativa entre la biomasa de frutos silvestres y su número de semillas normales ( $r=0.747$ ); además, señalaron que al aumentar el tamaño del fruto esta correlación se pierde ( $r=0.410$ ) por el incremento del número de semillas abortadas, lo cual coincide con lo encontrado en el estudio presente (Cuadro 3.3).

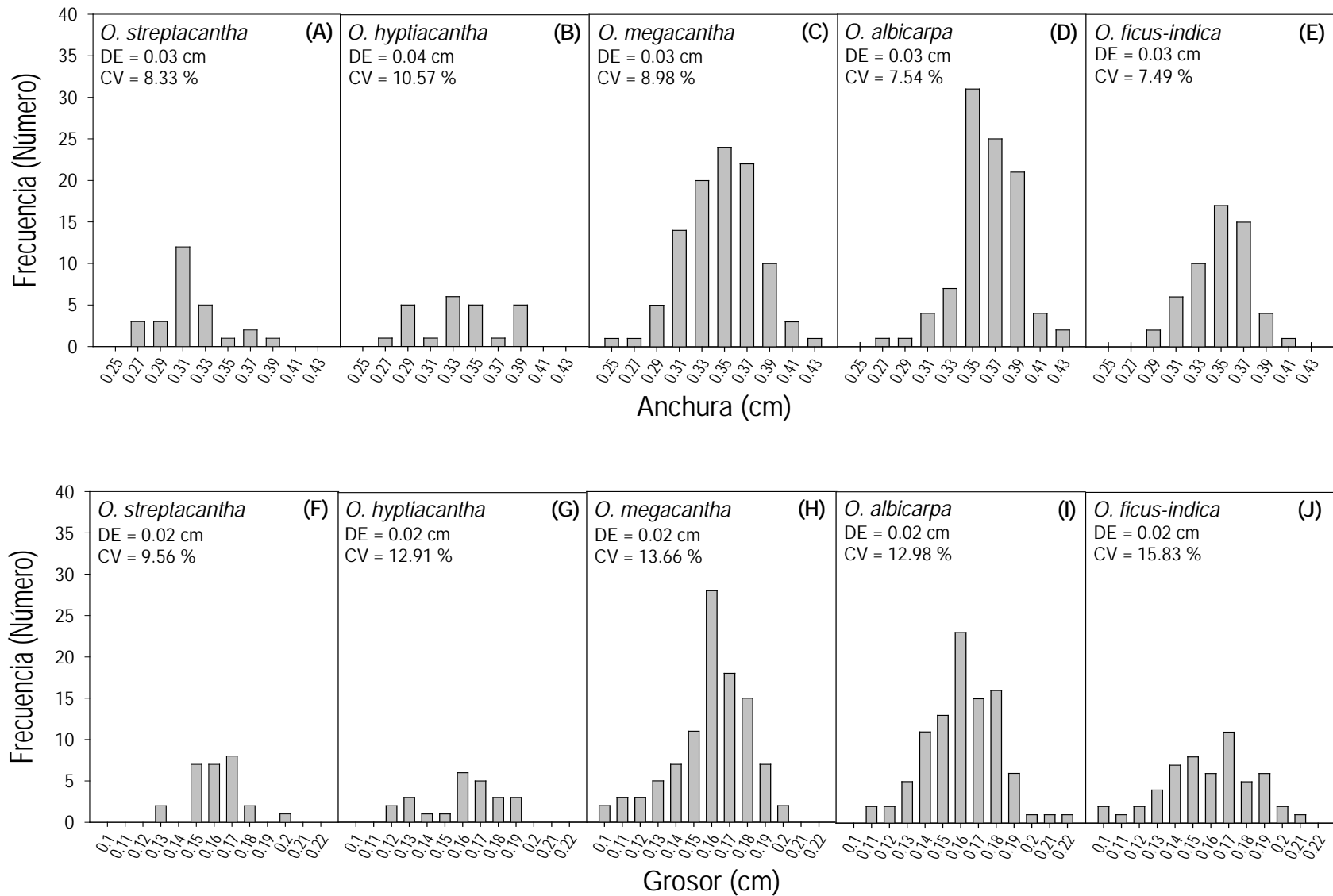
**Cuadro 3.3** Coeficientes de correlación de Pearson de la biomasa de pulpa y del fruto con el número de semillas abortadas, normales y totales, en cinco especies de *Opuntia* con distinto grado de domesticación.

	Número de semillas		
	Abortadas	Normales	Totales
<i>O. streptacantha</i>			
Biomasa de pulpa	0.12 ns	0.68 ***	0.72 ***
Biomasa de fruto	0.17 ns	0.43 *	0.49 ***
<i>O. hyptiacantha</i>			
Biomasa de pulpa	0.53 ***	0.78 ***	0.82 ***
Biomasa de fruto	0.55 **	0.69 ***	0.74 ***
<i>O. megacantha</i>			
Biomasa de pulpa	0.38 ***	0.53 ***	0.38 ***
Biomasa de fruto	0.45 ***	0.45 ***	0.45 ***
<i>O. albicarpa</i>			
Biomasa de pulpa	0.35 ***	-0.004 ns	0.22 *
Biomasa de fruto	0.39 ***	-0.007 ns	0.20 ns
<i>O. ficus-indica</i>			
Biomasa de pulpa	-0.06 ns	0.13 ns	0.05 ns
Biomasa de fruto	0.07 ns	0.22 ns	0.20 ns

\*:  $p \leq 0.05$ ; \*\*:  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $p \leq 0.001$ ; ns:  $p > 0.05$

#### *Dimensiones de las semillas normales*

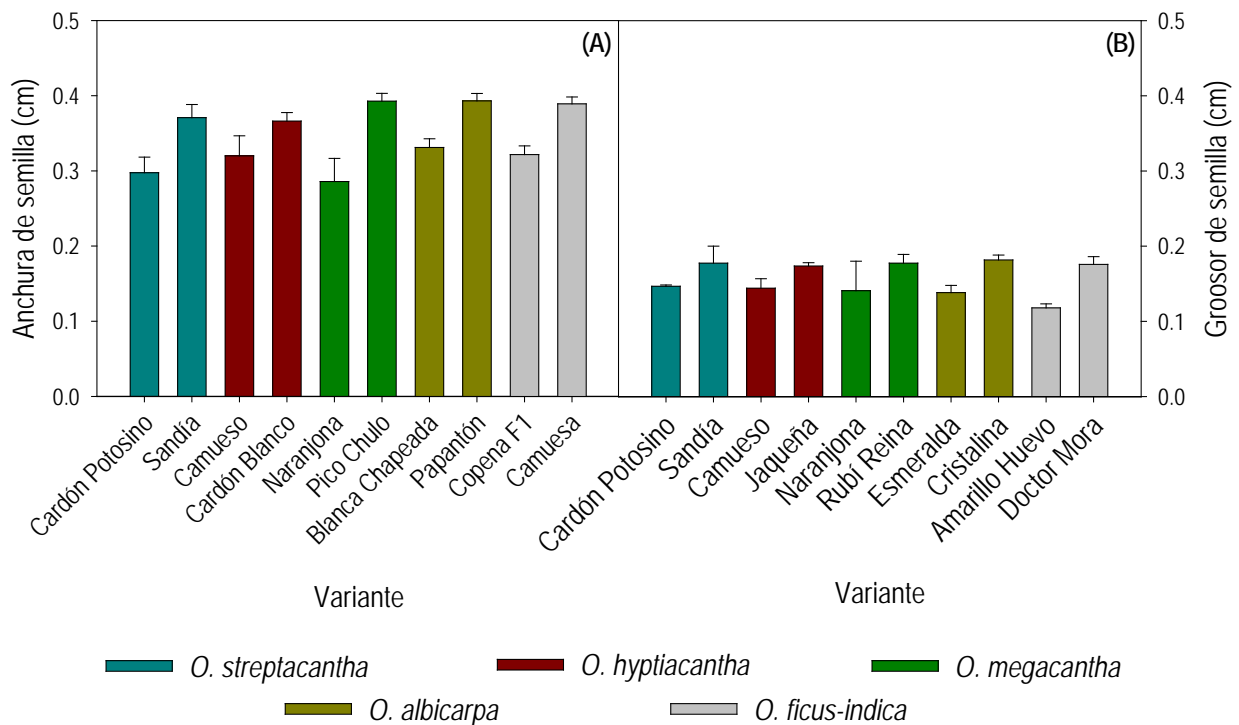
La anchura de las semillas normales en los frutos de las cinco especies varió entre 0.25 y 0.43 cm; su distribución de frecuencias fue simétrica con respecto a la moda en *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*. En *O. streptacantha* la moda de la anchura de las semillas fue 0.31 cm, con un pico mucho menos frecuente de 0.37 cm; en *O. hyptiacantha* la distribución de este carácter alternó valores altos y bajos (distribución dentada o tipo peine) entre los 0.27 y 0.39 cm (Figura 3.9 A-E).



**Figura 3.9** Variación de la anchura (A-E) y grosor de las semillas normales (F-J) de las cinco especies de *Opuntia*.

DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Los resultados indican que en las especies con grado intermedio y mayor de domesticación las semillas normales más frecuentes son las que tienen anchura de 0.35 cm (Figura 3.9 A-E). La anchura promedio de las semillas normales fue un carácter relativamente homogéneo entre las variantes de cada especie, pues las diferencias entre las variantes con semillas menos anchas y las de mayor anchura ( $p \leq 0.05$ ) fueron mínimas; en *O. streptacantha* una variante con las semillas menos anchas fue Cardón Potosino (0.29 cm) y contrastó con Sandía (0.37 cm), una de sus variantes con semillas más anchas. En *O. megacantha* hubo variantes con los valores más dispersos registrados, y las semillas más anchas de esta especie, como Pico Chulo, fueron 39 % más anchas que las más angostas (Figura 3.10 A). En promedio la anchura de las semillas normales se incrementó ( $p \leq 0.05$ ) con mayor grado de domesticación, pero los valores mayores correspondieron a las semillas de *O. albicarpa* (Figura 3.8 B).



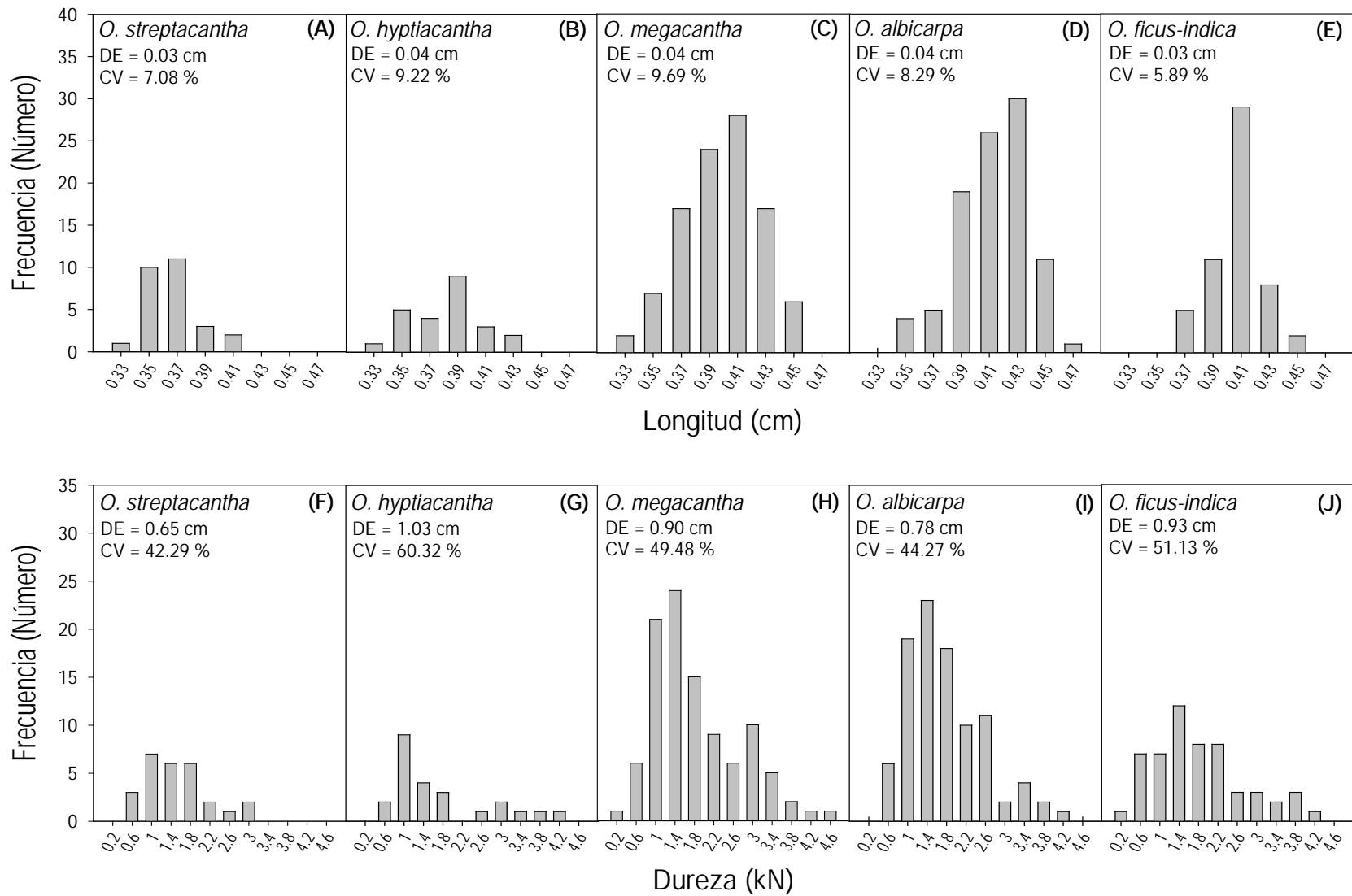
**Figura 3.10** Anchura (A) y grosor (B) de semillas (+ e.e.) en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de *Opuntia*.

El grosor promedio de las semillas normales careció de diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre especies (Figura 3.8 B). El intervalo total en grosor de las semillas normales de las cinco especies fue de 0.10 a 0.22 cm. La distribución de frecuencias del grosor de las semillas normales contrastaron entre especies; así, en *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha* fue truncada, en *O. megacantha* y *O. albicarpa* fue sesgada y en *O. ficus-indica* fue dentada (Figura 3.9 F-J).

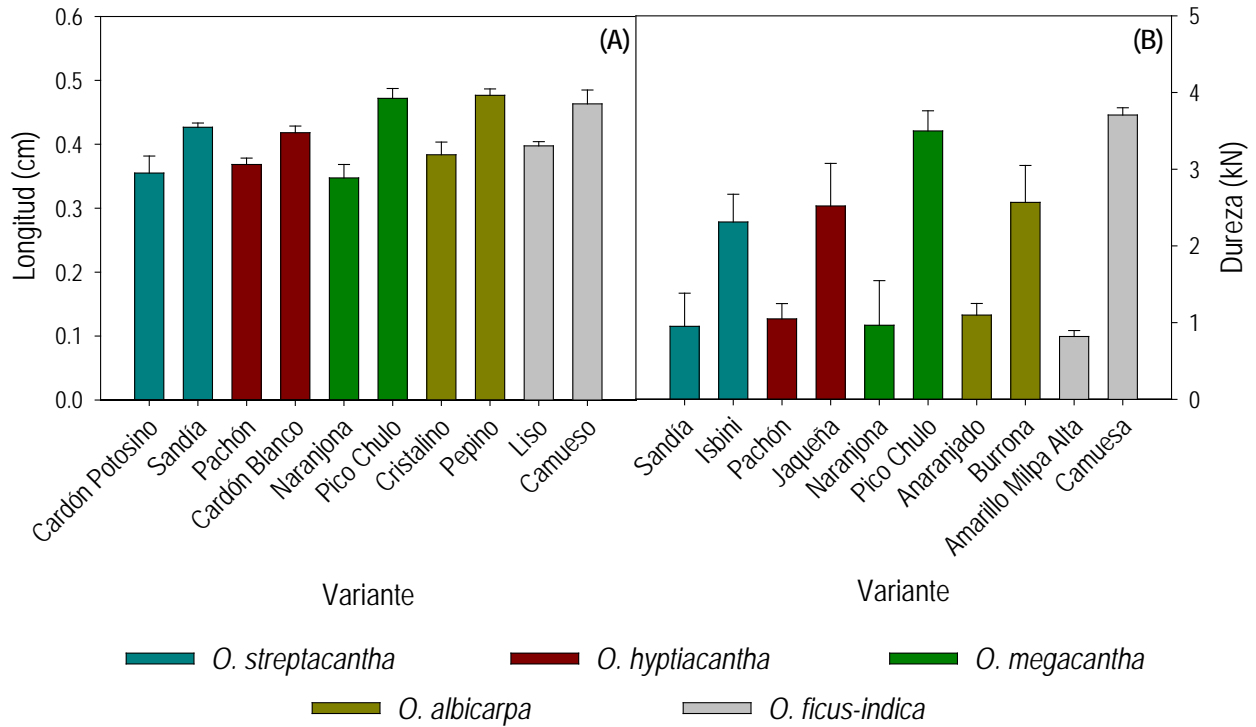
Entre las variantes de las especies silvestres y las menos domesticadas, no se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el grosor de sus semillas normales. En contraste, en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* sí hubo cultivares con grosor promedio de semillas significativamente ( $p\leq 0.05$ ) diferente, como fue el caso de Esmeralda (0.14 cm) y Cristalina (0.18 cm) de *O. albicarpa* y de Amarilla Huevo (0.12 cm) y Doctor Mora (0.18 cm) de *O. ficus-indica* (Figura 3.10 B).

La longitud de las semillas normales de las cinco especies varió entre 0.33 y 0.47 cm, y con excepción de *O. hyptiacantha*, la distribución de esta variable fue modal. La frecuencia mayor de la longitud varió de 0.37 cm en *O. streptacantha* a 0.43 cm en *O. albicarpa* (Figura 3.11 A-E). La longitud de las semillas varió significativamente ( $p\leq 0.05$ ) dentro de especies; así, en *O. streptacantha* las semillas de Cardón Potosino (0.36 cm), fueron de las más cortas, y Sandía (0.43 cm) de las más largas. En *O. hyptiacantha* la diferencia entre los valores extremos, aunque significativa, fue la menor entre las cinco especies, 0.37 cm en Pachón y 0.42 cm en Cardón Blanco. En contraste, en *O. megacantha* se presentaron las variantes con semillas más cortas (Naranjona) y más largas (Pico Chulo). En *O. albicarpa* las diferencias fueron intermedias (15 a 26 %) con respecto a las otras especies (Figura 3.12 A).

La longitud de las semillas de las cinco especies (Figura 3.8 B) quedó dentro del intervalo conocido (de 0.21 a 0.57 cm) al igual que la anchura (entre 0.23 y 0.44 cm) (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2009; Rodríguez y Nava-Cedillo, 1998). Además, el grosor de las semillas coincidió con el promedio de 0.16 cm documentado por Aguilar-Estrada *et al.* (2003) y Reyes-Agüero *et al.* (2004).



**Figura 3.11** Variación en la longitud (A-E) y dureza de las semillas normales (F-J) de cinco especies de *Opuntia*.  
 DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.



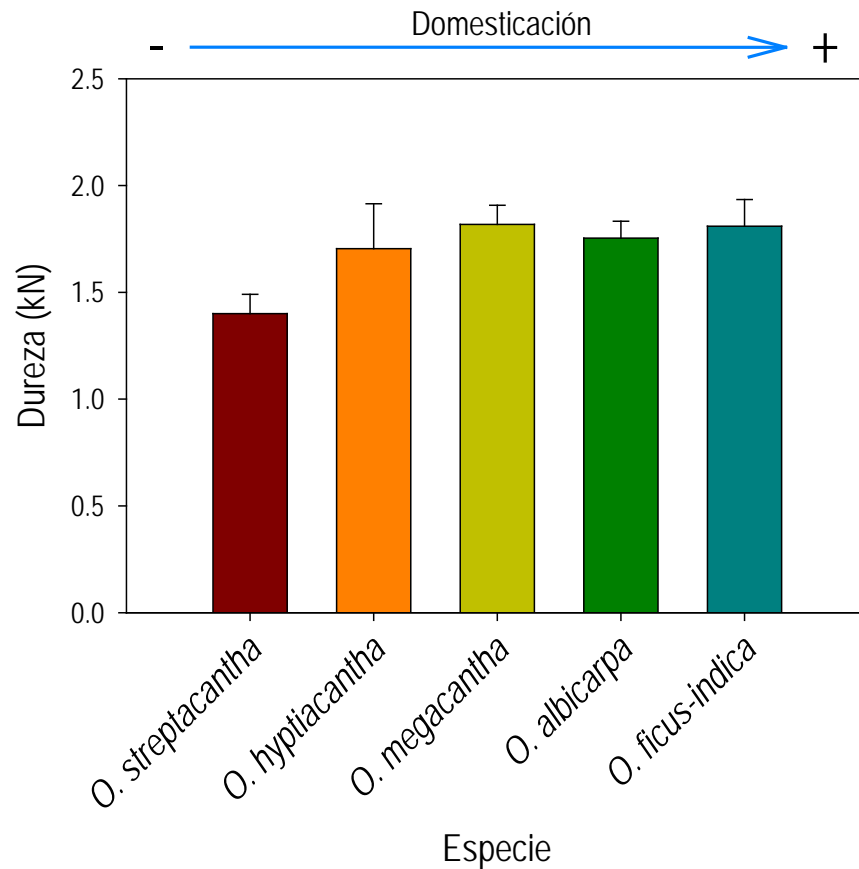
**Figura 3.12** Longitud (A) y dureza (B) de las semillas normales (+ e.e.) en las dos variantes con los valores extremos de cinco especies de *Opuntia*.

El incremento en longitud y anchura de las semillas asociado a la domesticación mayor, cuantificado en este estudio, coincide con lo documentado por Aguilar-Estrada *et al.* (2003) y Reyes-Agüero *et al.* (2005). Al respecto, Colunga *et al.* (1986) registraron longitud mayor de las semillas domesticadas (0.43 cm) que las silvestres (0.39 cm) y la atribuyeron a un efecto asociado al gigantismo del fruto, el órgano de interés antropocéntrico.

#### *Dureza de las semillas normales*

La dureza de las semillas normales de las cinco especies varió entre 0.2 y 4.6 kN. La distribución de frecuencias de la dureza de este tipo de semillas fue similar entre especies. Las especies menos variables en dureza seminal fueron *O. streptacantha* (CV=42.29 %) y *O. albicarpa* (CV=44.27 %), y la más variable fue *O. hyptiacantha* (CV=60.32 %) (Figura 4.11 F-J).

La dureza de las semillas normales fue heterogénea entre variantes de cada especie. Las diferencias en dureza dentro de las especies se incrementaron ( $p \leq 0.05$ ) con su grado de domesticación. En *O. streptacantha* la dureza varió de 0.95 a 2.31 kN; estos valores equivalen a una diferencia media entre sus variantes de 43 %. En *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* las diferencias fueron más que el doble; pero en *O. ficus-indica*, cultivares como Camuesa tuvieron semillas cuatro veces más duras (3.71 kN) que Amarillo Milpa Alta (0.82 kN) (Figura 3.12 B). En contraste con esta variabilidad dentro de especies, al respecto no se detectaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre especies (Figura 3.13).



**Figura 3.13** Dureza de semillas normales (+ e.e.) de cinco especies de *Opuntia* con distinto grado de domesticación.

Los resultados sobre dureza de las semillas de las cinco especies de este estudio coincidieron con lo conocido, 1.59 a 1.68 kN (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003;



Reyes-Agüero *et al.*, 2005 y 2009). La tenacidad de las semillas puede ser un atributo indeseable de los frutos de *Opuntia* (Inglese *et al.*, 1995; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Al respecto, Aguilar-Estrada *et al.* (2003) señalaron la relación inversa de la dureza de la semilla con el número total de semillas en los frutos de *Opuntia*. Además, Reyes-Agüero (2005) mencionó la posibilidad de que la selección cultural que favoreció a los frutos pulposos condujo al incremento de semillas normales con dureza menor; los resultados del presente estudio no son consistentes al respecto.

Con excepción de *O. streptacantha*, la dureza de las semillas normales se correlacionó positiva y significativamente ( $p \leq 0.001$ ) con sus dimensiones (Cuadro 3.4); es decir, con el aumento del tamaño de las semillas normales durante la domesticación también se ha incrementado su dureza. Estos cambios parecen concomitantes a los cambios promovidos durante la selección por los domesticadores de la especie pues la dureza, cantidad y, probablemente el tamaño, tienen efecto en la aceptación de los frutos por los consumidores. Las relaciones entre el tamaño, dureza y abundancia de las semillas normales en los frutos de las especies domesticadas parece compensarse, al menos parcialmente, con el incremento de semillas abortadas, las cuales son ingeridas más fácilmente que las semillas normales por los humanos (Nobel, 2011). Por ello, la búsqueda actual de variantes se ha enfocado al menor contenido de semillas normales, aunque éste no ha podido separarse del incremento de semillas abortadas (Barbera *et al.*, 1994) toda vez que también contribuyen a la formación de pulpa (Pimienta y Engleman, 1985). Sin embargo, en el estudio presente la correlación entre semillas abortadas y biomasa de la pulpa en la especie con mayor grado de domesticación no fue significativa (Cuadro 3.3), lo que muestra que las semillas normales tienen un efecto mayor sobre la proporción de pulpa. En efecto, Pimienta y Engleman (1985) encontraron envolturas funiculares más prominentes en las semillas normales que en las abortadas.

**Cuadro 3.4** Coeficientes de correlación de Pearson entre la dureza y dimensiones de la semilla de cinco especies de *Opuntia* con distinto grado de domesticación.

	Dimensión de semilla		
	Longitud	Anchura	Grosor
Dureza	-0.25 ns	<i>O. streptacantha</i> -0.07 ns	0.03 ns
Dureza	0.52 **	<i>O. hyptiacantha</i> 0.52 **	0.46 *
Dureza	0.44 ***	<i>O. megacantha</i> 0.46 ***	0.28 **
Dureza	0.20 *	<i>O. albicarpa</i> 0.28 **	0.28 **
Dureza	0.31 *	<i>O. ficus-indica</i> 0.53 ***	0.34 *

\*:  $p \leq 0.05$ ; \*\*:  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $p \leq 0.001$ ; ns:  $p > 0.05$ .

#### *Análisis multivariable*

El ACP se realizó para reconocer cuáles atributos de los frutos y de las semillas pueden estar relacionados con la domesticación de *Opuntia*. En este análisis el grosor de la semilla se excluyó porque su correlación con la mayoría de las otras variables no fue significativa. Con las otras variables los primeros tres CP concentraron 99.53 % de la varianza total (Cuadro 3.5).

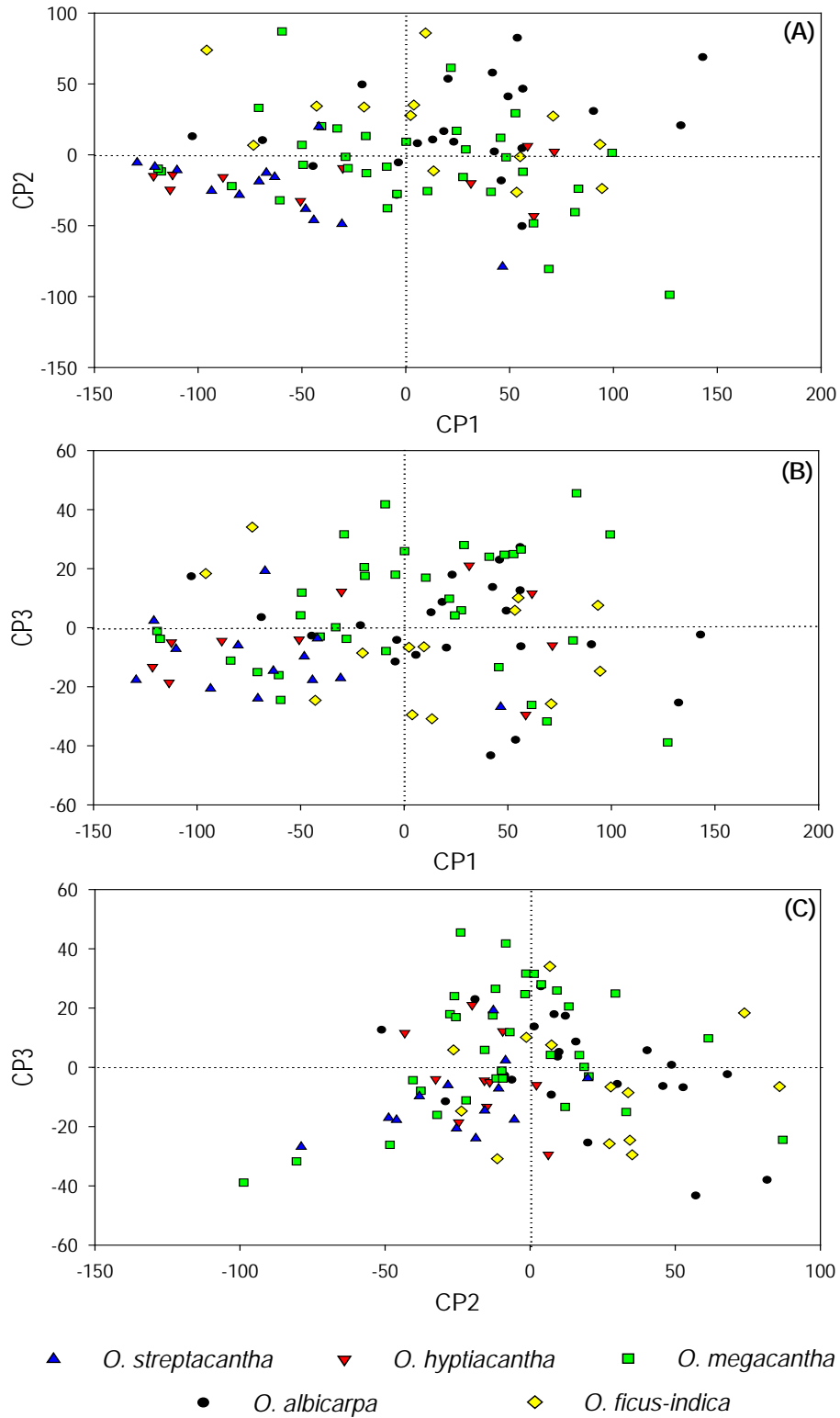
En el CP1 la variable número de semillas normales fue la más importante y se relacionó directamente con la biomasa del fruto; el CP2 reveló que el número de semillas abortadas fue inversamente proporcional al número de semillas normales; el CP3 muestra que la biomasa del fruto fue inversamente proporcional al número de semillas abortadas. La ordenación de los primeros tres CP confirmó que la biomasa del fruto y su número de semillas normales y abortadas pueden ser utilizados como marcadores para diferenciar las especies y variantes de acuerdo con su grado de humanización; además, que estos tres caracteres destacando ampliamente en su importancia relativa en los primeros tres CP (Cuadro 3.5).

**Cuadro 3.5** Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales basados en atributos de los frutos y semillas de 89 variantes de cinco especies de nopal (*Opuntia* spp.) con distinto grado de domesticación.

	Componente principal		
	1	2	3
Anchura de semilla	0.0002	0.0003	0.0005
Biomasa del fruto	0.4946	0.3190	<b>0.6760</b>
Biomasa de la pulpa	0.2965	0.1333	0.3065
Biomasa de semillas normales	0.0148	-0.0001	0.0072
Biomasa de semillas abortadas	0.0016	0.0043	-0.0033
Dureza de semilla	0.0002	0.0039	0.0004
Número de semillas normales	<b>0.7702</b>	<b>-0.5297</b>	-0.3506
Número de semillas abortadas	0.2720	<b>0.7745</b>	<b>-0.5710</b>
Longitud de semilla	0.0002	0.0005	0.0007
Proporción acumulada de la varianza	0.7188	0.9322	0.9953

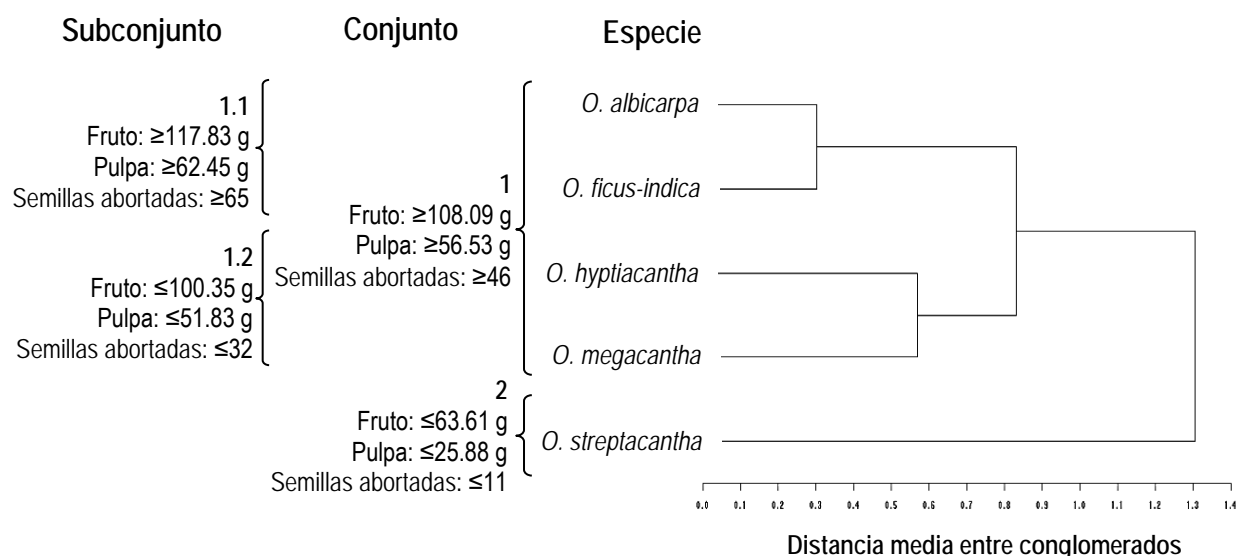
Variables en negritas tuvieron efecto relativo mayor en cada componente principal.

En la representación gráfica del CP1 con el CP2 se aprecia claramente la separación de las variantes de *O. albicarpa* y de *O. ficus-indica*, con frutos de biomasa mayor y más semillas normales, con respecto a *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, y a la vez, la falta de tendencia en la disposición de las variables de *O. megacantha*. La representación gráfica del CP1 en relación con el CP3 también mostró la afinidad mayor en la ordenación de las variantes de *O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*, por una parte, y las de un grupo de *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* por otra, así como la gran dispersión de las variantes de *O. megacantha*. La representación gráfica del CP2 con el CP3 también muestra a las variantes de *O. streptacantha*, con frutos de biomasa y contenido de semilla menor, separadas de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, a la vez la dispersión de las variantes de *O. megacantha* (Figura 3.14).



**Figura 3.14** Ordenación sobre los primeros tres componentes principales de 89 variantes pertenecientes a cinco especies de nopal con distinto grado de domesticación; n=89.

Los primeros dos conjuntos principales generados por el análisis de conglomerados separaron claramente a las especies con humanización mayor (*O. albicarpa* y *O. ficus-indica*) e intermedias (*O. hyptiacantha* y *O. megacantha*) de la especie francamente silvestre (*O. streptacantha*). Las especies del primer conjunto se caracterizan por sus frutos grandes ( $\geq 56.53$  g) con numerosas semillas abortadas ( $\geq 46$ ), y en contraste, el segundo por sus frutos pequeños ( $\leq 64.61$  g), poca pulpa ( $\leq 26$  g) y semillas abortadas escasas ( $\leq 11$ ) (Figura 3.15).



**Figura 3.15** Clasificación de 89 variantes de cinco especies de nopal (*Opuntia* spp.) con distinto grado de domesticación, con base en atributos del fruto y semillas.

El primer conjunto se subdividió para generar dos grupos, el de las especies más domesticadas (*O. albicarpa* y *O. ficus-indica*) con frutos grandes, biomasa igual o superior a 118 g y número mayor de semillas abortadas. El otro grupo se conformó con las especies con grado intermedio de domesticación (*O. hyptiacantha* y *O. megacantha*), con frutos alrededor de 100 g y contenido intermedio de semillas abortadas (32, en promedio; Figura 3.15).

Los resultados confirman la presencia de mayor biomasa y pulpa en los frutos de especies y variantes con grado más intenso de domesticación (Figuras 3.14 y 3.15). Pimienta-Barrios (1994) atribuye estos cambios al nivel de ploidía, pero ello sólo

explicaría parte de la variabilidad en las poblaciones silvestres (Harlan, 1992). Luna-Páez *et al.* (2007) utilizaron marcadores moleculares para caracterizar especies de *Opuntia* y señalaron la dificultad que existe para delimitar las especies de *Opuntia*, similar a lo observado con ACP (Figura 3.14) pero ello puede suceder porque se involucran variantes de estas especies con distinto grado de humanización.

La variación en el contenido de semillas y la proporción normales/abortadas parecen relacionarse con la domesticación, ya que se observó el incremento de las semillas abortadas en las especies con domesticación mayor (Figuras 3.14 y 3.15). La tendencia de incremento de la relación de las semillas normales/abortadas observada en este estudio concuerda con lo registrado por Aguilar-Estrada *et al.* (2003) y Reyes-Agüero *et al.* (2005) y su señalamiento de que el incremento de las semillas abortadas está directamente relacionado con las presiones de selección bajo domesticación, a lo cual se contraponen la reducción en el número de semillas normales, la biomasa del fruto y el grosor de la semilla. Zohary (2004) señaló que en especies perennes humanizadas, como las de árboles frutales, parte del síndrome de domesticación es la facilidad de reproducción sexual en las variantes silvestres; así, por medio de la propagación vegetativa puede realizarse la multiplicación de algún individuo excepcional y realizar lo que Harlan (1992) denomina domesticación instantánea. Así, el número alto de semillas abortadas en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figuras 3.14 y 3.15), favorece la aceptación del fruto y carece de importancia reproductiva, pues son especies fácilmente clonables por los productores.

La cercanía entre *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figura 3.15) ya ha sido señalada con bases moleculares (Luna-Páez *et al.*, 2007) y con caracteres morfológicos (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Además, estos autores también encontraron cierta cercanía de *O. hyptiacantha* y *O. megacantha* con las especies más domesticadas, como se observó en el presente estudio (Figura 3.15). Esta cercanía parece deberse a que ambas presentan variantes con frutos y semillas similares a las de especies con mayor grado de domesticación (Figura 3.14).

## **Conclusiones**

Como resultado de la domesticación de *Opuntia* existen diferencias significativas en el tamaño de los frutos y en la proporción de sus componentes. La biomasa del fruto y de

su pulpa en las especies más domesticadas fue mayor y menos variable. También, estas especies presentan mayor número y biomasa de semillas normales y abortadas, y más longitud y anchura en sus semillas normales. La domesticación careció de relación significativa con el grosor y dureza de las semillas. La especie menos domesticada, *O. streptacantha*, tiene proporción mayor de cáscara y menor de pulpa que las especies con grado mayor de domesticación. La biomasa mayor del fruto resulta de proporción mayor de pulpa y menor de semilla y cáscara.

### Literatura citada

- Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre R. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). En: Esparza F., G.; Salas L., M.A.; Mena C., J.; Valdez Z., R.D. (Eds.). Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas. México. pp. 117-120.
- Anderson, E.F. 2001. The Cactus Family. Timberm Portland. 776 p.
- Bachmann, K. 1978. Biología para médicos. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. 370 p.
- Balzarini M., G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di-Rienzo y C.W. Robledo. 2008. Infostat. Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Barbera, G., F. Carimi, P. Inglese y M. Panno. 1992. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. Journal of Horticultural Science 67: 307-312.
- Barbera, G., P. Inglese y T. La-Mantia. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). Scientia Horticulturae 58: 161-165.
- Colunga G-M., P., E. Hernández X. y A. Castillo M. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío Guanajuatense. Agrociencia 65: 7-49.
- Corrales-García, J. 2003. Fisiología y tecnología poscosecha de la tuna y el nopalito. En: Corrales-García, J. y C.A. Flores-Valdez (Eds.). Nopalitos y tuna: producción,

comercialización, poscosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. pp. 117-170.

Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez, y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. Food Chemistry 103: 38-45.

Di-Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C.W. Robledo. InfoStat v. 2011. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.

Felker, P., S. del C. Rodríguez, R.M. Casoliba, R. Filippini, D. Medina y R. Zapata. 2005. Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. Journal of Arid Environments 50: 405-422.

Figueroa, H.F., J.R. Aguirre, R. y E. García M. 1980. Estudio de las nopaleras cultivadas y silvestres sujetas a recolección para el mercado en el Altiplano Potosino-Zacatecano. Avances en la Enseñanza de la Investigación. Colegios de Postgraduados. México. pp. 31-32.

Griffith, M.P. 2004. The origins of and important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. American Journal of Botany. 91: 1915-1921.

Harlan, J.R. 1992. Crops and Man. American Society of Agronomy and Crop Sciences Society of America. Madison, WI, USA. 284 p.

Inglese, P., G. Barbera, G., F. Carimi. 1994. The effect of different amount of cladodes removal on reflowering of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Miller). The Journal of Horticultural Science & Biotechnology 69: 61-65.

Inglese, P., G. Barbera y T. La-Mantia. 1995. Research strategies for the improvement of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. Journal of Arid Environments 29: 455-468.

Luna-Páez, A., E. Valadez-Moctezuma, A.F. Barriento-Priego y C. Gallegos-Vázquez. 2007. Caracterización de *Opuntia* spp. mediante semilla con marcadores RAPD e ISSR y su posible uso para diferenciación. Journal of the Professional Association for the Cactus Development 9: 43-59.

Mauricio L., R. 1985. Caracterización fenológica y morfológica de formas de nopal tunero (*Opuntia* spp.) en el altiplano potosino-zacatecano. II Primavera-Verano



1983. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. 113 p.
- McKey, D., M. Elias, B. Pujol y A. Duputié. 2010. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytologist* 186: 318-332.
- Mondragón-Jacobo, C., S. Pérez-González. 1994. 'Reyna' (syn. 'Alfajayucan') is the leading cactus pear cultivar in Central Mexico. *Fruit Varieties Journal*. 48: 134-136.
- Nobel, P.S. 2011. Sabiduría del desierto, agaves y cactus: CO<sub>2</sub>, agua, cambio climático. Biblioteca Básica de Agricultura. Texcoco, México. 160 p.
- Parish, J. y P. Felker. 1997. Fruit quality and production of cactus pear (*Opuntia* spp.) fruit clones selected for increased frost hardiness. *Journal of Arid Environments* 37: 123-143.
- Peña-Valdivia, C.B., J.R. Aguirre R. y V.B. Arroyo-Peña. 2012. El frijol silvestre. Síndrome de domesticación. Biblioteca Básica de Agricultura. Guadalajara, México. 206 p.
- Perales R., H.R. y J.R. Aguirre R. 2008. Biodiversidad humanizada. En: Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. pp. 565-603.
- Peralta, M.V.M. 1983. Caracterización fenológica y morfológica de formas de nopal (*Opuntia* spp.) de fruto (tuna) en el altiplano Potosino-Zacatecano. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, México. 88 p.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*. 100: 925-940.
- Pimienta-Barrios, E. 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments* 28: 1-11.
- Pimienta, E. y E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Agrociencia* 62:51-56.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R., F. Carlín-Castelán. 2004. Análisis de variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. En: Esparza-Frausto, G., Valdez-Cepeda, R.D., Méndez-Gallegos, S.J. (Eds.). El

nopal, tópicos de actualidad. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 21-47.

- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R., F. Carlín-Castelán y A. González-Durán. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT. San Luis Potosí, México. 350 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.
- Reyes-Agüero, J.A., F. Carlín-Castelán, J.R. Aguirre R., H.M. Hernández. 2007. Preparation of *Opuntia* herbarium specimens. *Haseltonia* 13: 76-82.
- Rodríguez S., E. y A. Nava-Cedillo. 1998. Nopal, riqueza agroecológica de México. Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológica. México, D.F. 160 p.
- Schirra, M., P. Inglese y T. La-Mantia. 1999. Quality of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill.) fruit in relation to ripening time, CaCl<sub>2</sub> pre-harvest sprays and storage conditions. *Scientia Horticulturae* 81: 425-436.
- Wessels, A.B.; E. Swart. 1990. Morphogenesis of the reproductive bud and fruit of the prickly pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. Morado). *Acta Horticulturae* 275: 245-253.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany* 58: 5-10.

## Capítulo IV. Características físicas de frutos y semillas del género *Opuntia* (Cactaceae) en la Altiplanicie Meridional en relación con la domesticación

### Resumen

El género *Opuntia*, de la familia Cactaceae, presenta diversidad y distribución amplia en México y sus frutos pueden ser de tres tipos, 1) con cáscara delgada y semillas rodeadas por pulpa dulce y abundante, 2) con cáscara delgada y semillas rodeadas de pulpa escasa o nula, conocidos como frutos secos, y 3) los de cáscara gruesa, succulenta, ácida y comestible, con semillas rodeadas de pulpa escasa, conocidos como tunas ácidas o xoconostles. El objetivo del presente estudio fue caracterizar los frutos y las semillas de 115 variantes pertenecientes a 17 especies de nopal (*Opuntia* spp., Cactaceae) recolectados en el Altiplano Mexicano. La hipótesis fue que la biomasa del fruto (cáscara, pulpa y semillas) y el contenido de semillas abortadas y normales permiten reconocer su nivel de domesticación. A los frutos de 115 variantes de las 17 especies obtenidos de 347 recolectas, de la Altiplanicie Meridional de México, se les determinó la biomasa de la cáscara, de la pulpa y de las semillas normales y abortadas (deshidratadas); a la pulpa se le midió el contenido de sólidos solubles totales (°Brix); a las semillas se les cuantificó su longitud, anchura y grosor, número total, de normales y de abortadas y la dureza de las normales. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 115 tratamientos (variantes), seis repeticiones por tratamiento y un fruto como unidad experimental. El tratamiento estadístico de los datos consistió en ordenación (análisis de componentes principales, ACP) y clasificación (conglomerados) multivariable. La biomasa del fruto y el número de semillas abortadas fueron las variables de mayor importancia según el ACP y separó a las especies y variantes de acuerdo a un gradiente de biomasa de pulpa y contenido de semillas abortadas. En la clasificación se aprecia la tendencia a mayor contenido de semillas abortadas en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, especies procedentes de ambientes humanizados y con grado mayor de domesticación. El ambiente de solar o traspatio es fuente de la variación en el género *Opuntia* ya que fue ahí donde se encontró la diversidad mayor de variantes. Los frutos tipo xoconostle se clasificaron por poseer proporción inversa de cáscara:pulpa y menos semillas abortadas. Existe relación entre el número de semillas normales y abortadas con la biomasa de la pulpa.

**Palabras clave:** dendrograma, domesticación, *Opuntia*, selección humana.

## **Abstract**

The genus *Opuntia* from the Cactaceae family, presents wide diversity and distribution in Mexico and its fruits can be of three types, 1) with thin skin and seeds surrounded by sweet and abundant pulp, 2) with thin skin and seeds surrounded with scarce or void pulp, known as dried fruits, and 3) thick, succulent, acid, and edible skin with seeds surrounded by scarce pulp, known as acid tunas or xoconostles. The objective of this study was to characterize the fruits and seeds of 115 variants belonging to 17 species of prickly pear (*Opuntia* spp., Cactaceae) collected in the Mexican Plateau. The hypothesis was the biomass of the fruit (skin, pulp and seeds) and the content of aborted and normal seeds allow recognizing its level of domestication. To the fruits of 115 variants of the 17 species obtained from 347 collecting, of the High Plateau of Mexico, were determined the biomass of the skin, of the pulp and of the normal and aborted seeds (dehydrated); was measured the total soluble solids content (°Brix) at the pulp; to the seeds were quantified its length, width and thickness, total number, normal and aborted and the hardness of the normal ones. The experimental design employed was completely random with 115 treatments (variants), six replications per treatment and a fruit as the experimental unit. The statistical treatment of data consisted of arrangement (principal components analysis, PCA) and multivariate classification (conglomerated). The biomass of the fruit and the number of aborted seeds were the variables most important according to the PCA and separated the species and variants according to a gradient of biomass of pulp and aborted seeds content. The classification analysis shows the trend to higher content of aborted seeds in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*, species from humanized environments and with greater degree of domestication. The environment of solar or backyard is source of variation in the genus *Opuntia* since it was there where was found the diversity of variants. The fruits type xoconostle were classified by possess inverse proportion of skin:pulp and less aborted seeds. There is relationship among the number of normal and aborted seeds with pulp biomass.

**Keywords:** dendogram, domestication, *Opuntia*, human selection.

## Introducción

En la familia Cactaceae *Opuntia* y *Mamillaria* son los géneros con riqueza mayor y distribución amplia; *Opuntia* incluye 188 especies y 78 de ellas, con numerosas variantes silvestres y cultivares, son nativas de México (Anderson, 2001). Briton y Rose (1963) agruparon a las especies de este género en los subgéneros *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Corynopuntia*, *Stenopuntia* y *Opuntia* (anteriormente *Platyopuntia*). A la vez, estos autores juntaron las especies del subgénero *Opuntia* en 29 series, con base en las similitudes morfológicas de los cladodios, aréolas, espinas, flores y frutos.

Los frutos o tunas de *Opuntia* son bayas uniloculares y polispérmicas, con forma cilíndrica, obovoide o elíptica, y cáscara cerosa o tomentosa; sus coloraciones van de amarillo pálido a rojo púrpura; su longitud puede ser de 2.70 a 11.60 cm, su anchura de 2.30 a 6.90 cm y su peso de 7.50 a 237.90 g (Reyes-Agüero *et al.*, 2009). Tres tipos de frutos son identificables: 1) los de sabor dulce, con cáscara delgada y semillas rodeadas por pulpa abundante; 2) los secos, con cáscara delgada y semillas rodeadas con pulpa escasa o nula; y 3) los ácidos, conocidos como xoconostles, con cáscara comestible, gruesa, succulenta y ácida, y semillas rodeadas con pulpa escasa (Álvarez y Peña-Valdivia, 2009; García-Pedraza *et al.*, 2005; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). En 116 variantes de *Opuntia* spp. Reyes-Agüero *et al.* (2009) documentaron una amplitud de dulzura de la pulpa de 1.7 a 19.7° Brix. En frutos de tuna dulce (*O. dillenii*) la dulzura fue de 10.3° Brix (Díaz-Medina *et al.*, 2007), y en los de la especie con distribución mayor (*O. ficus-indica*) los registros van desde 11.7 hasta 15.7 ° Brix (Felker *et al.*, 2005; Schirra *et al.*, 1999; Walker *et al.*, 2011).

La variabilidad de las características físicas de las semillas del género *Opuntia*, como longitud, anchura, grosor y biomasa puede ser un atributo con valor taxonómico dentro del género (Adewale *et al.*, 2012) y el tamaño de las semillas es un rasgo adaptativo asociado con la diseminación y establecimiento (Leishman y Murray, 2001; Obeso *et al.*, 2011).

Las características morfológicas de las semillas pueden emplearse en estudios evolutivos. Caracteres micromorfológicos de las semillas de *Ephedra* (Icker-Bond y Rydin, 2011), *Gentiana* (Davitashvili y Karrer, 2010) y *Moehringia* (Minuto *et al.*, 2011) fueron empleados para identificar especies y evaluar procesos evolutivos de esos géneros. En la literatura especializada no se han localizado estudios taxonómicos o

evolutivos basados en los caracteres morfológicos de las semillas de *Opuntia*. En contraste, con base en las características de estas estructuras se ha descrito la calidad del fruto para consumo humano (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994), y se les ha relacionado con el proceso de domesticación del género (López-Palacios *et al.*, 2015).

Al respecto, Barbera *et al.* (1994) evaluaron los cultivares Gialla y Rossa de *O. ficus-indica* y señalaron que el tamaño del fruto depende del número, peso y distribución de sus semillas, pues reconocieron que el peso de la pulpa se correlacionó positiva y significativamente con el número de semillas. Los mismos autores observaron que la proporción de semillas normales y abortadas fue constante, independientemente de la cantidad total de ellas en los frutos. Aguilar-Estrada *et al.* (2003) documentaron que un fruto tiene en promedio 229 semillas, de ellas 186 son normales y 43 son abortadas; sin embargo, estos datos pueden variar con el genotipo y las condiciones en que se desarrolle la planta (Barbera *et al.*, 1994). La pulpa en el fruto se desarrolla desde el exterior de las células epidérmicas de la envoltura funicular y del funículo de ambos tipos de semillas (Pimienta y Engleman, 1985), y el contenido de pulpa depende de la cantidad de semillas del fruto. Sin embargo, en cultivares para la producción de frutos se prefieren aquellos con menor número o tamaño de semillas o con mayor número de semillas abortadas (Aguilar-Estrada *et al.*, 2003; Barbera *et al.*, 1994).

En un estudio sobre el efecto de la domesticación en la biomasa del fruto y en las características físicas de las semillas (López-Palacios *et al.*, 2015) se observó que los frutos de las especies con grado de domesticación mayor (*O. albicarpa* y *O. ficus-indica*) tuvieron fruto con más biomasa (de 118 a 127 g) y pulpa (de 62 a 69 g) que los de la especie silvestre *O. streptacantha*; en general, el número de semillas normales y abortadas por fruto tendió a incrementarse en las especies domesticadas, pues los frutos de *O. streptacantha* tuvieron hasta 50 % menos semillas (174 semillas) que los de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (342 semillas). En ese sentido también se encontró correlación positiva y significativa de las semillas y la biomasa del fruto con la pulpa únicamente en *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. streptacantha*. Además, Las diferencias en las dimensiones de las semillas normales y su dureza de esas cinco especies estudiadas no fueron significativas.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar los frutos y las semillas de 115 variantes pertenecientes a 17 especies de nopal (*Opuntia* spp.) del Altiplano Mexicano con la finalidad de conocer qué caracteres proporcionan la variabilidad mayor. La hipótesis fue que la biomasa del fruto (cascara, pulpa y semillas) y el contenido de semillas abortadas y normales permiten reconocer su nivel de domesticación.

### **Materiales y métodos**

Una exploración botánica se realizó en plantaciones comerciales, experimentales, nopaleras de solar y nopaleras silvestres de 29 localidades de la Altiplanicie Meridional de México. Seis frutos se recolectaron de cada una de las 115 variantes de 17 especies, agrupadas en siete series taxonómicas (Cuadro 4.1). Los frutos se analizaron en el Instituto de Investigación de Zonas Desérticas (IIZD), de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y ejemplares de cada individuo recolectado se depositaron en los herbarios “Isidro Palacios” (SLPM) del IIZD, CHAPA del departamento de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo y en el Herbario Nacional de la Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU) (Anexo B1).

En los frutos se cuantificó la biomasa total, de la pulpa con semillas y de las semillas. El contenido total de sólidos solubles (°Brix) se determinó en la pulpa con un refractómetro digital. En las semillas se cuantificó el número total por fruto, separadas en normales y abortadas; de las semillas normales se midió su biomasa deshidratada y la longitud, anchura, grosor y dureza. Para evaluar las semillas fueron separadas de la pulpa con una licuadora doméstica, con aspas sin filo; la pulpa se colocó en 1 L de agua y se licuó a velocidad baja por 45 seg. El contenido del vaso se vertió en un cernidor con 48 orificios  $\text{cm}^{-2}$ , colocado bajo un chorro de agua para eliminar los vestigios de las envolturas funiculares. Las semillas se colocaron en cajas Petri y se dejaron secar a temperatura del laboratorio ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por 3 d. Las semillas secas se mantuvieron en sobres de papel a la misma temperatura (Reyes-Agüero *et al.*, 2007).

**Cuadro 4.1** Identidad taxonómica de 115 variantes de 17 especies de *Opuntia* utilizadas para evaluar las características físicas de sus frutos y semillas.

Serie	Especies	Número de variantes
Dillenianae	<i>O. lindheimeri</i> Engelm.	2
Ficus-indicae	<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.	13
Leucotrichae	<i>O. leucotricha</i> DC	1
Macdougalianae	<i>O. durangensis</i> Britton & Rose	2
	<i>O. jaliscana</i> Bravo	1
	<i>O. velutina</i> Sheinvar	1
Phaeacanthae	<i>O. phaeacantha</i> Engelm.	1
Robustae	<i>O. cochineria</i> Griffiths	1
	<i>O. robusta</i> Wendl.	1
Streptacanthae	<i>O. albicarpa</i> Sheinvar	22
	<i>O. chavena</i> Griffiths	5
	<i>O. hyptiacantha</i> A. Web.	10
	<i>O. joconostle</i> A. Web.	5
	<i>O. lasiacantha</i> Pfeiff	5
	<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck	34
	<i>O. rzedowskii</i> Sheinvar	1
	<i>O. streptacantha</i> Lem.	10

La biomasa de los frutos y de la pulpa se cuantificó en una balanza granataria (Precisa modelo XB2200C, Suiza, con precisión de  $\pm 0.1$  g). La biomasa de las semillas secas se obtuvo en una balanza analítica (Scientech modelo SA120, EE.UU.; con precisión de  $\pm 0.0001$  g). Las dimensiones de las semillas se obtuvieron con calibrador o pie de rey (Caliper-Mitutoyo, Japón; con precisión de  $\pm 0.0001$  cm y de lectura digital). La dureza se cuantificó en seis semillas por fruto; para ello se midió la cantidad de energía necesaria para comprimir al 50 % el grosor de cada semilla, lo cual se realizó con una máquina universal de pruebas (Instron, Modelo 1000, EE.UU.) y con una celda de carga de 4.9 kN (500 kg<sub>f</sub>).

El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 115 tratamientos o variantes de nopal, un fruto como unidad experimental y seis repeticiones. Las unidades experimentales se obtuvieron de 347 recolectas. Los datos se sometieron a análisis multivariable de componentes principales (ACP) y de conglomerados, este último por el método de distancias medias. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (Versión 9).



## Resultados

### ACP de las especies

Para reconocer la variación en los atributos de los frutos y las semillas que diferencian a las especies se realizó un ACP con las características de esas estructuras. Los tres primeros CP acumularon 93.0 % de la varianza total. El CP1, con variabilidad de 59.9 %, representó la biomasa del fruto con aporte relativo alto de la biomasa de todas sus estructuras, cáscara, pulpa, semillas normales y abortadas, pero la de estas últimas fue inversa a la de las otras tres. Además de la biomasa, el número de semillas normales y abortadas también definieron el CP1 por su aporte relativo alto. El segundo CP, que contribuyó con 21.8 % de la variación, reveló la relación directa de la biomasa de la pulpa con las semillas abortadas, tanto la biomasa como la cantidad de ellas. El CP3 concentró el 11.3 % de la varianza y confirmó la relevancia de la biomasa de la pulpa y su relación directa con la de las semillas normales e inversa con el número de semillas abortadas en los frutos del género *Opuntia* (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2** Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales obtenidos con atributos físicos de los frutos y las semillas de 17 especies de *Opuntia*.

	Componente principal		
	1	2	3
Varianza (%)	59.91	21.83	11.27
Proporción acumulada de la varianza (%)	59.91	81.74	93.01
Anchura de las semillas normales (mm)	0.0267	0.0346	0.0430
Biomasa de la cáscara (g)	<b>0.2519</b>	0.1221	-0.0179
Biomasa de la pulpa por fruto (g)	<b>0.4397</b>	<b>0.4391</b>	<b>0.4537</b>
Biomasa de semilla abortada (g)	<b>-0.5842</b>	<b>0.7902</b>	0.0203
Biomasa de semilla normal (g)	<b>0.3061</b>	0.1351	<b>0.2855</b>
Dureza de la semilla normal (kN)	0.1975	0.0460	0.0196
Longitud de la semilla normal (mm)	0.0440	0.0436	0.0261
Número de semilla abortada	<b>0.4336</b>	<b>0.3611</b>	<b>-0.7961</b>
Número de semilla normal	<b>0.2733</b>	0.0830	0.2108
Sólidos solubles totales (°Brix)	0.0622	0.0843	0.1759

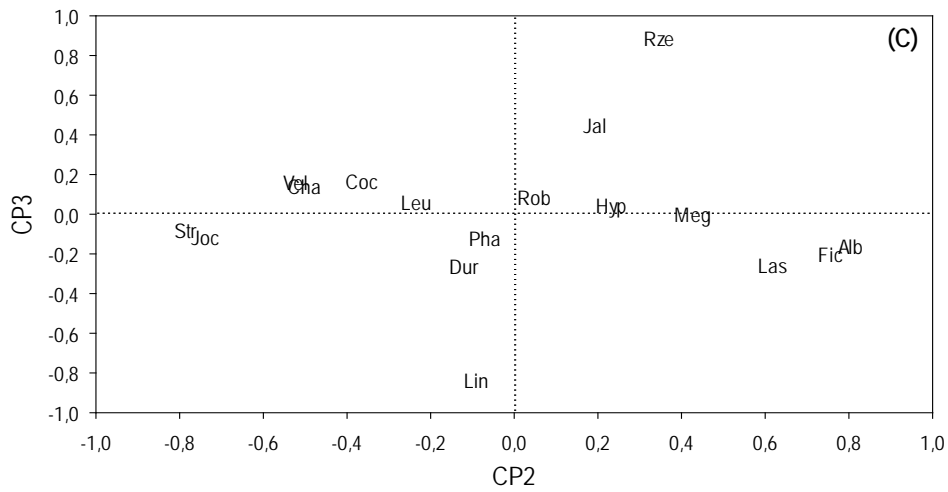
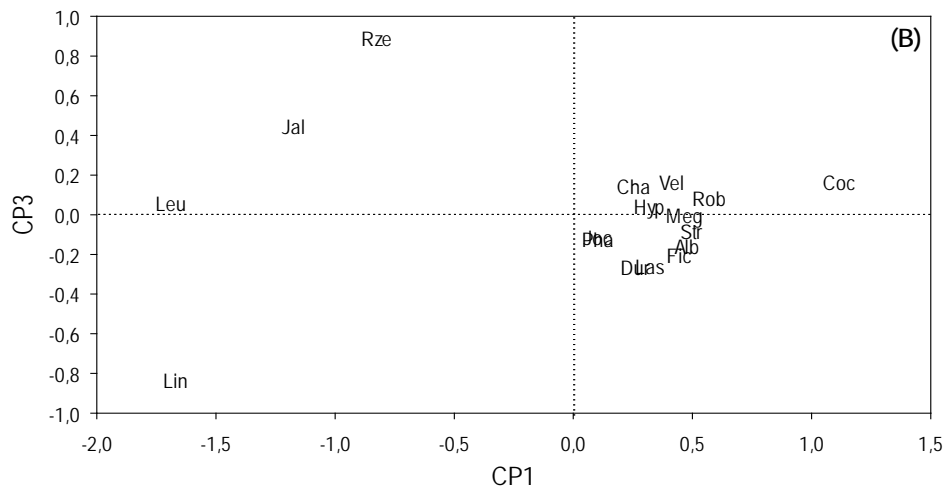
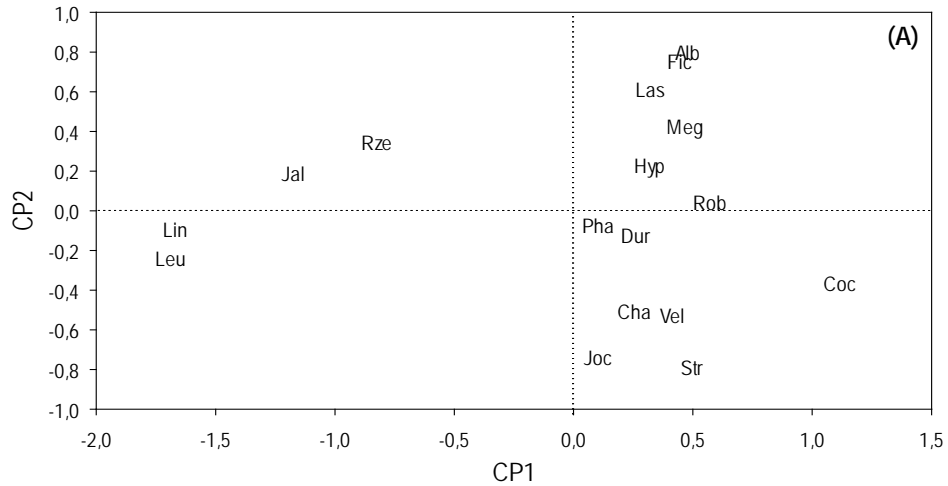
Las variables en negritas tuvieron el efecto relativo mayor en cada componente principal.

Este ACP mostró que cuatro de las 10 características de los frutos fueron sobresalientes, por su participación relativa relevante en más de uno de los primeros CP. Estas fueron la biomasa de las semillas abortadas, de las normales y de la pulpa y la biomasa y el número de semillas abortadas por fruto, además, la relevancia de las dos últimas características fue la mayor de todas por su peso relativo alto en los tres primeros CP (Cuadro 4.2).

La representación gráfica del CP1 con el CP2 permitió reconocer un gradiente con base en la biomasa de las estructuras del fruto y el número de semillas (Figura 4.1 A). En ese gradiente, sobre el CP1 se distribuyeron *O. leucotricha* y *O. lindheimeri* en el extremo negativo del CP1 (-1.7), ambas especies tuvieron los frutos de biomasa promedio menor (14.50 g) entre las 17 especies, enseguida, separada entre sí y del resto de las especies, se ubicó *O. jaliscana*, con frutos de poca biomasa en sus estructuras y total (26.67 g). Además de su biomasa menor, las tres especies se caracterizaron por el número bajo de semillas abortadas (cinco en promedio).

En la misma representación gráfica (Figura 4.1 A), *O. rzedowskii* también se aisló del resto de las especies, aunque en su caso la biomasa de las estructuras del fruto no estuvo entre los valores menores (22.20 g la cáscara, 40.65 g la pulpa, 0.78 y 1.88 g las semillas abortadas y normales) y por lo tanto la de sus frutos tampoco (65.52 g), pero el número de semillas abortadas también fue uno de los menores (1.83 semillas por fruto).

En el extremo positivo de CP1 (1.1), separada del resto de las especies, se ubicó *O. cochineria* con biomasa de pulpa y cáscara (49.6 y 59.7 g) y con semillas abortadas y normales abundantes (25 y 294 por fruto), pero las abortadas con biomasa baja (0.02 g). Las otras 12 especies se localizaron en un intervalo relativamente estrecho del CP1 y cercano al origen. Sus frutos, con biomasa variable en la cáscara (de 17.82 g en *O. phaeacantha* a 52.72 g en *O. albicarpa*; semillas normales de 1.67 g en *O. joconostle* a 3.85 g en *O. robusta*) y en el número de semillas normales (de 113 en *O. phaeacantha* a 318 en *O. robusta*), se distribuyeron parcialmente separadas a lo largo del CP2. En el extremo negativo de este CP se ubicó *O. streptacantha*, que se caracterizó por sus semillas abortadas ligeras (0.03 g por fruto), las siguientes especies fueron *O. joconostle*, *O. velutina* y, casi superpuesta, *O. chavena*, todas con biomasa de semillas abortadas ligeras (entre 0.02 y 0.04 g por planta).



Alb	<i>O. albicarpa</i>	Fic	<i>O. ficus-indica</i>	Las	<i>O. lasiacantha</i>	Pha	<i>O. phaeacantha</i>
Cha	<i>O. chavena</i>	Hyp	<i>O. hytiacantha</i>	Leu	<i>O. leucoctricha</i>	Rob	<i>O. robusta</i>
Coc	<i>O. cochinera</i>	Jal	<i>O. jaliscana</i>	Lin	<i>O. lindheimeri</i>	Rze	<i>O. rzedowskii</i>
Dur	<i>O. durangensis</i>	Joc	<i>O. joconostle</i>	Meg	<i>O. megacantha</i>	Str	<i>O. streptacantha</i>
Vel	<i>O. velutina</i>						

**Figura 4.1** Ordenación de los componentes principales (CP) 1, 2 y 3 de 17 especies de nopal (*Opuntia* spp.) basada en diez variables de frutos y semillas.

En el origen o cercanas a él se ubicaron *O. durangensis*, *O. phaeacantha* y *O. robusta* con biomasa de semillas abortadas similar (0.08 g). En el extremo positivo del CP2 (entre 0.4 y 0.8) se ubicaron *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. lasiacantha*, *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* y caracterizadas por poseer la biomasa y el número de semillas abortadas mayor de todas las especies incluidas en el estudio (de 0.16 a 0.30 g y de 34 a 65 por fruto). Este último conjunto de especies fueron recolectadas en ambientes de solar y humanizados. Lo anterior indicó que la ordenación del CP2 dependió principalmente del contenido de semillas abortadas y su relación con el nivel de humanización de las especies (Figura 4.1 A).

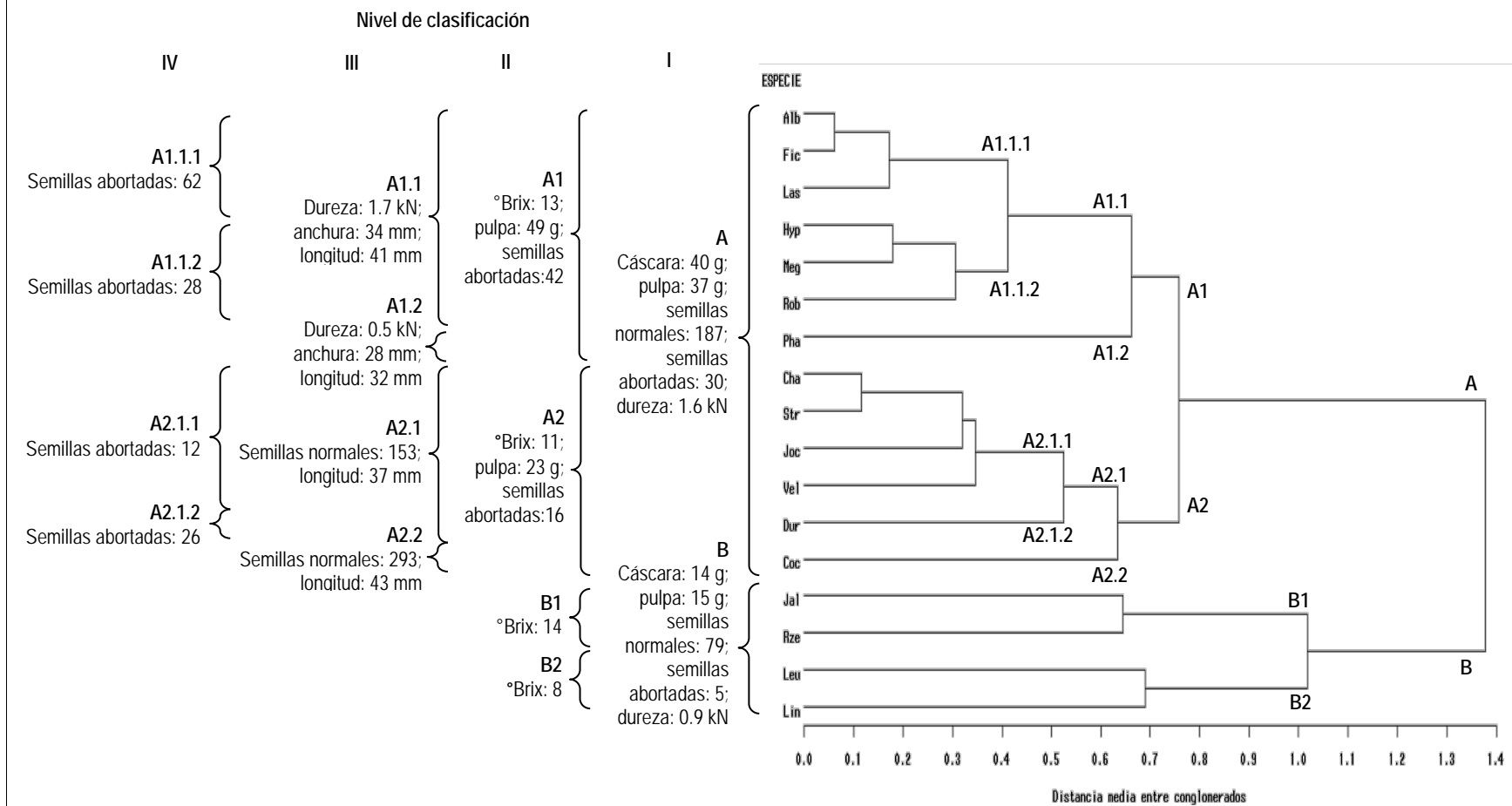
La representación gráfica del CP3 en función del CP1 (Figura 4.1 B) mostró tendencias de ordenación parcialmente similares a las descritas por la del CP2 en función del CP1 (Figura 4.1 A). En el extremo del cuadrante negativo de los CP1 y CP3 (-1.7, -0.8) estuvo *O. lindheimeri* y en el cuadrante formado por el segmento negativo del CP1 y el positivo del CP3 estuvieron, también aisladas entre ellas y del resto de las especies, *O. leucotricha*, *O. jaliscana* y *O. rzedowskii*. La separación de *O. lindheimeri* y *O. leucotricha* en esta representación gráfica se debió a que ambas especies tuvieron en sus frutos el contenido promedio de pulpa (1.93 y 2.17 g) y de semillas normales (0.28 y 0.87 g) menores entre las 17 especies. Además, con excepción de *O. chavena* las demás especies se concentraron cerca del origen de ambos CP (Figura 4.1 B).

La representación gráfica del CP3 en función del CP2 contrastó con las dos descritas antes. Las especies se alienaron a lo largo del CP2 y entre los valores -0.2 y 0.2 del CP3 con excepción de tres de ellas que se alejaron del origen y también se presentaron como unidades biológicas independientes (Figura 4.1 C). En esta ordenación *O. streptacantha* y *O. joconostle* se ubicaron en el extremo negativo del CP2 (-0.8), les siguió *O. velutina* y *O. chavena*, sobrepuestas una con otra, en los frutos de estas especies la biomasa de semillas abortadas fue baja (entre 0.02 y 0.04 g) y el número de ellas estuvo entre los valores menores (entre 10.10 y 16.17) en el grupo de especies. En el otro extremo se encontró a *O. megacantha*, *O. lasiacantha*, *O. ficus-indica* y *O. albicarpa*; los frutos de estas especies presentaron la biomasa promedio de la pulpa, y la biomasa y número de las semillas abortadas mayores de todo el grupo de especies y en gradiente ascendente, de 54.59 a 64.78 g, de 0.16 a 0.32 g y de 33.95 a 64.80) (Figura 4.1 C).

### *Análisis de conglomerados de las especies*

El análisis de conglomerados clasificó a las especies en dos conjuntos principales. La clasificación se basó en la variabilidad de biomasa de cáscara y pulpa, en el contenido de semillas y la dureza de las normales. En el primer nivel de clasificación, el conjunto A fue el más numeroso ya que agrupó al 76.0 % de las especies estudiadas. Este conjunto de especies destacó por poseer biomasa de cáscara y pulpa mayor (40 y 37 g, respectivamente), más semillas por fruto (187 normales y 30 abortadas) y semillas normales más duras (1.6 kN). En contraste, el conjunto B relacionó a especies que se encontraron únicamente en solares, ellas son *O. jaliscana*, *O. leucotricha*, *O. lindheimeri* y *O. rzedowskii* (Anexo B2). Así, el primer nivel de clasificación corresponde a las diferencias entre especies que persistieron en los solares y que su persistencia en los ambiente de esos sitios seguramente se debió a que sobresalieron por sus características excepcionales (Figura 4.2).

El segundo nivel de clasificación diferenció a las especies por sus características inherentes a la pulpa (biomasa y dulzor). El conjunto A se diferenció en dos subconjuntos, de ellos el A1 destacó por sus frutos con más pulpa (49 g), ligeramente dulce (13 °Brix) y con número de semillas abortadas mayor (42). Este concentró a *O. albicarpa*, *O. ficus-indica*, *O. hyptiacantha*, *O. lasiacantha*, *O. megacantha*, *O. phaeacantha* y *O. robusta*, todas ellas tienen la peculiaridad que se encontraron en ambientes con grado variado de humanización, la excepción fue *O. phaeacantha* que se presentó en ambientes silvestres. En contraste, las especies del subconjunto A2 se caracterizaron por poseer frutos de pulpa (23 g) ligeramente menos dulce (11 °Brix) y menos semillas abortadas (16). Este grupo de especies se recolectaron de ambientes poco humanizados. Los subconjuntos B1 y B2 se diferenciaron por su dulzura y los de *O. jaliscana* y *O. rzedowskii* fueron los que tuvieron más sólidos solubles (14 °Brix) en contraste con los del subconjunto B2 (Figura 4.2).



**Figura 4.2** Clasificación de 17 especies de nopal (*Opuntia* spp.) con base en las características del fruto y las semillas.

**Alb:** *O. albicarpa*; **Cha:** *O. chavena*; **Coc:** *O. cochineria*; **Dur:** *O. durangensis*; **Fic:** *O. ficus-indica*; **Hyp:** *O. hyptiacantha*; **Jal:** *O. jaliscana*; **Joc:** *O. joconostle*; **Las:** *O. lasaiacantha*; **Leu:** *O. leucotricha*; **Lin:** *O. lindheimeri*; **Meg:** *O. megacantha*; **Pha:** *O. phaeacantha*; **Rob:** *O. robusta*; **Rze:** *O. rzedowskii*; **Str:** *O. streptacantha*; **Vel:** *O. velutina*.

El tercer nivel de clasificación se definió por las características inherentes de las semillas normales. Así, el subconjunto A1.1 concentró a *O. albicarpa*, *O. ficus-indica*, *O. lasiacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. robusta*; estas especies se caracterizaron por tener las semillas más duras y de dimensiones mayores en contraste con las especies del subconjunto A1.2. En el subconjunto A2 sobresale el número de semillas normales como criterio de clasificación que permitió reconocer dos subconjuntos. De ellos, el A2.1 agrupó a *O. chavena*, *O. durangensis*, *O. joconostle*, *O. streptacantha* y *O. velutina* con menos semillas normales (153). Los subconjuntos A1.2 y A2.2 tuvieron solo una especie cada uno, *O. phaeacantha* y *O. cochineria*, respectivamente; la primera de ellas con semillas menos duras (0.5 kN) y de dimensiones menores (anchura: 28 mm; longitud: 32 mm) y la segunda con destacó por contener más semillas normales (293) (Figura 4.2).

El cuarto nivel de clasificación se definió por la persistencia de semillas abortadas, así las especies con nivel mayor de domesticación *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, fueron las que tuvieron el contenido mayor de estas semillas (62) y se agruparon en el A1.1.1 junto a *O. lasiacantha*. Luego estuvieron especies con niveles de domesticación intermedios, como *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. robusta* en el subconjunto A1.1.2 con 28 semillas abortadas, les siguió *O. durangensis* en el A2.1.2 y en el extremo, con menos semillas abortadas (12), se agruparon *O. chavena*, *O. joconostle*, *O. streptacantha* y *O. velutina* (subconjunto A2.1.1), que son las especies consideradas silvestres (Figura 4.2).

#### *ACP de las variantes*

Con las variantes se realizó ACP con la finalidad de observar la variación intraespecífica en caracteres de fruto y semillas. Los primeros tres CP acumularon 92.7 % de la varianza. De ellos, el CP1 contribuyó con el 46.8 % y el número y la biomasa de las semillas abortadas y la biomasa de pulpa fueron las características con la contribución mayor. El CP2, con 36.5 % de la varianza, estuvo definido por la biomasa de semillas abortadas. El CP3, con 9.6 % de la varianza, se definió principalmente por cuatro características del fruto, la biomasa de pulpa y las semillas normales y el número de estas y la relación opuesta con el número de semillas abortadas (Cuadro 4.3).

**Cuadro 4.3** Valores propios y proporción acumulada de la varianza de los tres primeros componentes principales obtenidos con atributos físicos de los frutos y semillas de 115 variantes de *Opuntia* spp.

	Componente principal		
	1	2	3
Varianza (%)	46.77	36.31	9.65
Proporción acumulada de la varianza (%)	46.77	83.08	92.73
Anchura de las semillas normales (mm)	0.0332	0.0214	0.0388
Biomasa de la cáscara (g)	0.1927	0.1512	0.0679
Biomasa de la pulpa por fruto (g)	<b>0.3855</b>	0.3319	<b>0.4381</b>
Biomasa de semilla abortada (g)	<b>0.5406</b>	<b>-0.8214</b>	0.1756
Biomasa de semilla normal (g)	0.2118	0.2388	<b>0.3994</b>
Dureza de la semilla normal (kN)	0.1333	0.0740	0.1228
Longitud de la semilla normal (mm)	0.0449	0.0259	0.0290
Número de semilla abortada	<b>0.6564</b>	0.2921	<b>-0.6717</b>
Número de semilla normal	0.1487	0.2004	<b>0.3571</b>
Sólidos solubles totales (°Brix)	0.0569	0.0539	0.1301

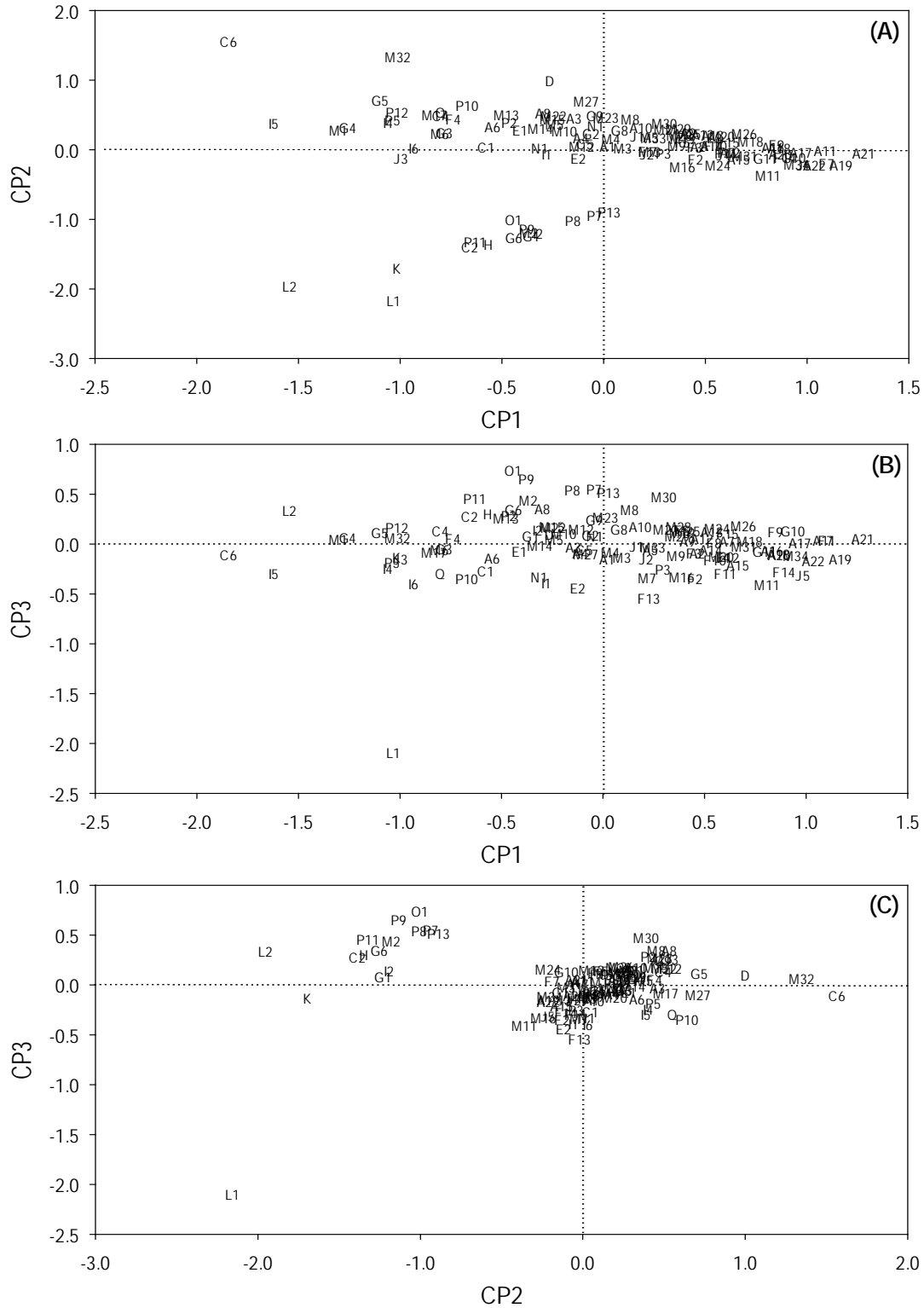
Las variables en negritas tuvieron el efecto relativo mayor en cada componente principal.

La representación gráfica del CP1 en función del CP2 ordenó en el cuadrante de valores negativos a variantes con contenido de semillas abortadas bajo (de 0.3 a 24.8) pero con diferencias en la biomasa de la pulpa. Así, en los extremos negativos se localizó a Guilanchi de *O. lindheimeri* (L2) de pulpa (3.3 g) y semillas abortadas (0.3) escasas. Después estuvieron Duraznillo (K) y Oreja de Elefante (L1) de *O. leucotricha* y *O. lindheimeri*, ambas con poca pulpa (2.2 y 0.5 g, respectivamente) pero con diferencia amplia en el número de semillas abortadas (2.1 y 24.8, respectivamente). A ellas les siguieron Cimarrón (C2) de *O. chavena*, Chamacuero (H) de *O. jaliscana* y Trompa de Cochino (P11) de *O. streptacantha* con pulpa ligeramente más abundante (11.2 g). El siguiente conjunto de variantes se conformó por Amarilla 24 (G4) y Cardón de las Papas (G6) de *O. hyptiacantha*, Amarilla Monteza (M22) de *O. megacantha*, Cenizo (O1) de *O. rzedowskii* y Jocoquillo (P9) de *O. streptacantha* que se identificaron por contener ligeramente más pulpa (30.1 g). En este mismo cuadrante y cercanas al origen se localizaron tres variantes de *O. streptacantha* variantes Aguirrana (P13), Cardón Potosino (P8) y Santo Tomás (P7), con contenido promedio de 29.1 g de pulpa. En los extremos positivo de CP2 y negativo de CP1 se ubicaron, separadas del resto de las



variantes, a Chiquihuitillo de *O. chavena* (C6), con semillas abortadas escasas (4.6) y contenido bajo de pulpa (21.8 g) y Huevo de Gato (I5) de *O. joconostle* con poca pulpa (6.2 g). Con incremento ligero de semillas abortadas (media de 6.9) y pulpa (media de 22.0 g) se encontró a Pachón (G5) de *O. hyptiacantha*, Xoconostle Agrio (I4) de *O. joconostle* y Demshikäjä (P12) e Isbini (P5) de *O. streptacantha*. También separadas del resto de las variantes se observó a Sangre (M32) de *O. megacantha*, identificada por poseer proporción mayor de pulpa (53.4 g) y contenido bajo de semillas abortadas (9.6), y a Cacalote (D) de *O. cochineria* con más semillas abortadas (25.3). En el extremo positivo de CP1 se encontró a Cristalina (A21) de *O. albicarpa* caracterizada por poseer semillas abortadas abundantes (135.8) con más biomasa (0.8 g) y frutos con más pulpa (104.2 g). El resto de las variantes se distribuyeron a lo largo del CP1 lo que puede ser indicio de la variabilidad del género *Opuntia*. Sobresalió que en el extremo positivo de este CP se encontraron las variantes procedentes de ambientes de grado diverso de humanización y que las del lado negativo del CP1 fueran únicamente variantes provenientes de ambientes silvestres (Figura 4.3 A).

La representación gráfica del CP3 en función del CP1 ordenó a Oreja de Elefante (L1) de *O. lindheimeri* separada del resto del grupo de variantes en el extremo negativo del CP3, esta variante se caracterizó por la proporción mayor de semillas abortadas (24.8) y normales (5.4) y por su menor contenido de pulpa (0.5 g) por fruto. En el extremo positivo de este componente se encontró a Cenizo (O1) de *O. rzedowskii*, Aguirrana (P13), Cardón Potosino (P8), Jocoquillo (P9), Santo Tomás (P7) y Trompa de Cochino (P11) de *O. streptacantha* mismas que tuvieron semillas abortadas escasas (1.9) en comparación con el número de las normales (150.0) y poca pulpa (31.4 g) en sus frutos. El resto de las variantes se ordenó alrededor del origen (Figura 4.3 B).



**Figura 4.3** Ordenación de los componentes principales (CP) 1, 2 y 3 de 115 variantes de nopal de 17 especies (*Opuntia* spp.) basada en nueve variables de frutos y semillas.

La representación del CP3 en función del CP2 permitió reconocer a Oreja de Elefante (L1) de *O. lindheimeri* como una variante con semillas abortadas abundantes (24.8) en frutos con pulpa escasa (0.5 g) y semillas normales escasas (5.3). Guilanchi (L2) de *O. lindheimeri* y Duraznillo (K) de *O. leucotricha* también estuvieron separados del resto de las variantes por sus frutos con semillas abortadas (0.3 y 2.1) y pulpa escasas (3.3 y 2.2 g). Enseguida de estas se ordenó el 10 % de las variantes, que incluyó a Cimarrón (C2) de *O. chavena*, Ladrillo (G1) y Cardón de las Papas (G6) de *O. hyptiacantha*, Chamacuero (H) de *O. jaliscana*, Xoconostle de las Pirámides (I2) de *O. joconostle*, Jarrilla (M2) de *O. megacantha*, Cenizo (O1) de *O. rzedowskii*, Aguirrana (P13), Cardón Potosino (P8), Jocoquillo (P9), Santo Tomás (P7) y Trompa de Cochino (P11) de *O. streptacantha*. Estas variantes tuvieron en promedio más semillas abortadas (3.3) y normales (125.0) y biomasa de pulpa (19.7 g) que las anteriores, además, son variantes que fueron recolectadas en ambientes silvestres y de solar. En el extremo positivo del CP2 se localizó a Chiquihuitillo (C6) de *O. chavena* y Sangre (M32) de *O. megacantha*, que son variantes con semillas abortadas escasas (4.6 y 9.6 por fruto) y que además su biomasa es notablemente baja, por lo que después de deshidratarse no la registró la balanza (semigranataria) empleada. Enseguida de ellas estuvo Cacalote (D) de *O. cochineria* con contenido mayor de semillas abortadas (25.3) pero de biomasa baja (0.02 g). El resto de las variantes estuvieron alrededor del origen y presentaron valores medios de contenido de pulpa y semillas (Figura 4.3 C).

#### *Análisis de conglomerados de las variantes*

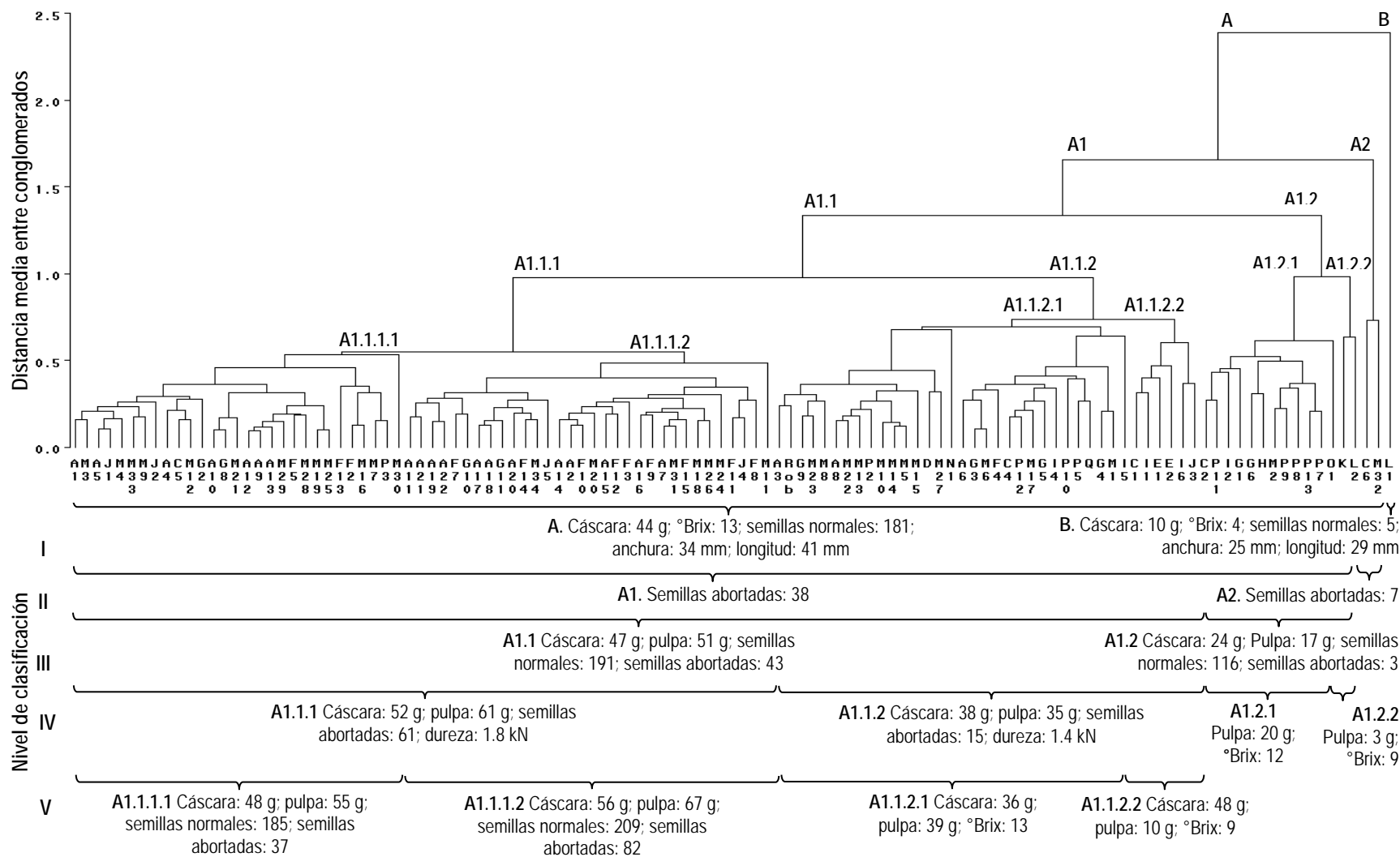
El análisis de clasificación de conglomerados delimitó a las especies en el conjunto A y colocó fuera de este a Oreja de Elefante (L1) de *O. lindheimeri*. Esta variante se caracterizó por tener frutos cáscara escasa, pulpa poco dulce y semillas escasas. La diferencia con la otra variante de la misma especie, ésta (L1) se recolectó de una plantación experimental y talvez su delimitación como un genotipo diferente al resto se deba a la diferencia de los ambientes donde se desarrolla. El segundo nivel de clasificación estuvo definido por el contenido de semillas abortadas y el conjunto A se dividió en dos, de ellos, A1 concentró a 97.0 % del total de las variantes y A2 al resto.

Este último tuvo sólo dos variantes, Chiquihuitillo (C6) y Sangre (M32) de *O. chavena* y *O. megacantha*, caracterizadas por su contenido menor de semillas abortadas (Figura 4.4).

El tercer nivel de clasificación dividió a las variantes en dos subconjuntos que concentraron 85.2 y 12.2 % del total de variantes en el A1.1 y A1.2, respectivamente. El A1.2 se identificó por contener variantes recolectadas en ambientes de solar y silvestre e identificadas por poseer frutos con menos cáscara, pulpa y semillas. En el cuarto nivel de clasificación los subconjuntos también se clasificaron en dos cada uno; el primero de ellos con base en el contenido de cascara, pulpa y semillas abortadas y la dureza de las semillas normales y el segundo en el contenido y dulzura de la pulpa. El subconjunto A1.1.2 estuvo representado por 32.2 % de las variantes, entre ellas hubo provenientes de ambientes silvestres, de solar y de campos experimentales, y se caracterizaron por sus frutos con más cáscara y pulpa y semillas normales menos duras. En contraste, las del subconjunto A1.1.1, con 53.0 % de las variantes, fueron recolectadas de campos experimentales y de solar y se distinguieron por tener menos abundancia de cascara, pulpa y semillas abortadas (Figura 4.4).

Los subconjuntos A1.2.1 y A1.2.2 clasificaron a las variantes de acuerdo a sus caracteres inherentes a la pulpa, ya que el A1.2.2 estuvo representado por variantes de *O. leucotricha* y *O. lindheimeri* con pulpa escasa y poco dulce. En contraste con las del subconjunto A1.2.1 que tuvieron más pulpa y más dulce (Figura 4.4).

El quinto nivel de clasificación permitió identificar cuatro grupos en los que las diferencias se definieron por la biomasa de la cáscara y la pulpa. Cada subconjunto sobresalió por el ambiente específico de recolección, lo que indica que están relacionados con el grado de humanización de las especies. Así, el A1.1.1.1, con 24.3 % de las variantes, lo conformaron las recolectadas de solar y campos experimentales, y se caracterizaron por contener hasta 48.0 g de cáscara y 55 g de pulpa y proporción menor de semillas abortadas en relación con las normales (1:5). Este subconjunto tuvo variantes de *O. albicarpa* (7), *O. chavena* (1), *O. ficus-indica* (3), *O. hyptiacantha* (2), *O. lasiacantha* (2), *O. megacantha* (12) y *O. streptacantha* (1) (Figura 4.4).



**Figura 4.4** Clasificación de 115 variantes y cultivares de *Opuntia* spp. con base en las características físicas de los frutos y las semillas.

El subconjunto A1.1.1.2 se formó con 27.8 % de las variantes, ellas fueron recolectadas de plantaciones comerciales y experimentales y se caracterizaron por contener biomasa mayor de cascara (56.0 g) y pulpa (67.0 g) y proporción mayor de semillas abortadas respecto a las normales (1:3). Este subconjunto se definió por variantes de *O. albicarpa* (12), *O. ficus-indica* (9), *O. hyptiacantha* (2), *O. lasiacantha* (2) y *O. megacantha* (7) (Figura 4.4).

Los subconjuntos A1.1.2.1 con 27.0 % de las variantes y A.1.1.2.2 con 5.3 % de las variantes parecen diferenciarse con base en la relación cáscara:pulpa y el contenido de sólidos solubles. Así, la relación cáscara:pulpa de las variantes en A1.1.2.1 fue 0.9:1.0 y su pulpa tuvo 13° Brix. Las variantes de este grupo estuvieron en campos experimentales, en solares y ambientes silvestres y fue el grupo con la diversidad mayor de especies, ya que en él se identificaron variantes de *O. albicarpa* (3), *O. chavena* (1), *O. cochineria* (1), *O. ficus-indica* (1), *O. hyptiacantha* (4), *O. joconostle* (2), *O. megacantha* (12), *O. phaeacantha* (1), *O. robusta* (1), *O. streptacantha* (4) y *O. velutina* (1). El análisis de clasificación colocó en A1.1.2.2 a las variantes que tuvieron una proporción de cascara mayor en una relación con la pulpa (5:1) y pulpa menos dulce (9° Brix). Los frutos de estas variantes fueron del tipo xoconostle y correspondieron a *O. chavena* (1), *O. durangensis* (2) y *O. joconostle* (3) (Figura 4.4).

## Discusión

La variabilidad mayor se observó en la biomasa de cáscara, pulpa y semillas por fruto (biomasa de fruto) y en el número de semillas por fruto (Figuras 4.1 y 4.3). En efecto, estas variables tuvieron los coeficientes de variación mayores entre especies y variantes. Pero, las características de *O. cochineria* la separaron del resto. Al respecto, Bravo (1978) señaló la posibilidad de que ésta especie sea un híbrido entre *O. robusta* y alguna de las especies de la serie *Streptacanthae* lo que explicaría por qué el análisis de clasificación la sitúa cercana a las especies de esta serie (Figura 4.2).

La separación de variantes por el CP1 (Figuras 4.1 y 4.4) coincide con las descritas por Colunga *et al.* (1986) y Reyes-Agüero *et al.* (2005). Esos autores reconocieron gradientes de domesticación mediante el análisis de las características

morfológicas diversas de las plantas y de sus estructuras (cladodios maduros y jóvenes, frutos, flores, espinas y semillas) de variantes de ambientes silvestres, solares y campos experimentales. Los autores citados también señalan que ese gradiente se determinó, principalmente, con base en el contenido de pulpa y tamaño del fruto. Lo que coincide con la variabilidad amplia en la biomasa de los frutos entre las variantes y especies incluidas en el presente estudio y el contenido menor de pulpa en las especies reconocidas como silvestres.

De acuerdo con Barbera *et al.* (1994) y Pimienta y Engleman (1985) las diferencias en el tamaño del fruto y su contenido de pulpa están correlacionadas con el contenido de semillas. Pimienta y Engleman (1985) señalaron que las semillas abortadas en *Opuntia* forman una envoltura funicular carnosa, semejante a la que forman las semillas normales; por lo que los frutos con proporción mayor de semillas abortadas ocuparían más volumen por tejido comestible debido al volumen menor ocupado por ellas en comparación con las normales. Esto confirma el papel destacado del contenido de semillas abortadas como un carácter sobresaliente en las variantes de ambientes más humanizados detectado en este estudio.

Las características de los frutos y las semillas en las especies con grado de interés antropocéntrico mayor permiten suponer que son parte del síndrome de domesticación (Colunga *et al.*, 1986; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Al respecto, Bravo (1978) mencionó que las especies de la serie *Ficus-indicae* son las formas inermes de la serie *Streptacanthae*. Griffiths (1914) señala a *O. megacantha* como el ancestro de *O. ficus-indica*, mientras que Reyes-Agüero *et al.* (2005) señalan a *O. albicarpa* como la especie domesticada con espinas, de la cual se derivó aquella. Los resultados del ACP (Figura 4.1) y del análisis de clasificación (Figura 4.2) confirman las semejanzas y la relación probable entre ambas especies.

En relación con la presencia de las semillas abortadas en los frutos y el proceso de domesticación, los resultados de la presente coinciden con los de López-Palacios *et al.* (2015), que concluyeron, a partir del análisis de 89 recolectas de cinco especies, que con la domesticación de *Opuntia* el número de semillas abortadas por fruto ha incrementado ( $\leq 11$  a  $\geq 65$ ).

Los análisis de clasificación mostraron dos tendencias entre las especies, basadas principalmente en las biomasas de la cáscara y la pulpa y en el contenido de semillas (Figura 4.2); estas tendencias de clasificación también fueron documentadas por Reyes-Agüero *et al.* (2005). Este nivel de clasificación se basó principalmente en las especies recolectadas en solares y que seguramente han persistido en esos sitios debido a ciertas características excepcionales que son parte de las incluidas en el síndrome de domesticación en niveles diferentes (Perales y Aguirre, 2008).

Las variaciones intervarietales encontradas en el análisis de clasificación (Figuras 4.3 y 4.4) pueden deberse a fenómenos como la hibridación asociada con los niveles diversos de ploidía (Gibson y Nobel, 1986; Pimienta-Barrios y Muñoz-Urías, 1995; Sheinvar, 1995) entre especies y variantes y al efecto del ambiente de humanización en que se desarrollaron los frutos recolectados. En un estudio realizado con cladodios de *Opuntia* del desierto chihuahuense se encontró que dentro de una misma especie hay variación de las características morfo-anatómicas de los cladodios que las hace yuxtaponerse con otras poblaciones, lo que genera una diversidad de variantes (Muñoz-Urías *et al.*, 2008). Sin embargo, los citados autores no emplearon características de los frutos, y los resultados obtenidos en este estudio muestran la variabilidad del tamaño y contenido de semillas, que son reflejo de la diversidad del género *Opuntia* y de sus especies.

En este estudio sobresalió la cantidad de variantes provenientes de solares (Anexo B2), lo que confirma que los ambientes de esos sitios son reservorios de la riqueza mayor de variantes. Reyes-Agüero *et al.* (2005) llevaron a cabo un estudio con variantes de *O. ficus-indica* en el que reconocieron la influencia de los ambientes de humanización (solar y plantaciones comerciales) en la especie. Los autores señalaron que las diferencias entre los frutos se deben al interés comercial de las variantes, ya que son apreciadas por sus frutos, nopalitos o producción de cochinilla (*Dactylopius coccus*).

Las evidencias indican que durante el proceso de domesticación de *Opuntia*, el fruto ha sido el órgano de interés antropocéntrico y actualmente *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* son reconocidas como las especies con nivel mayor de domesticación (Bravo, 1978; Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Aguilar-Estrada *et al.* (2003) describieron dos



tendencias de domesticación con base en las características y contenido de las semillas, una hacia la selección de frutos en los que predominan la semillas normales y otra en la que las abortadas son más abundantes, lo que coincide con la separación de las variantes en los subconjuntos A1.1.1.1 y A1.1.1.2 en el dendrograma de variantes (Figura 4.4). Los resultados del presente estudio también coincidieron con los de Guerrero-Muñoz *et al.* (2006) quienes encontraron diferencias en la micromorfología de las semillas de *Opuntia* entre las variantes recolectadas de solares y las cultivadas.

Los estudios de biología molecular realizados por Griffith (2004), Griffith y Porter (2009), Luna-Páez *et al.* (2005 y 2007), Majure *et al.* (2012) y Segura *et al.* (2007) mostraron la relación entre especies diversas de *Opuntia* y la similitud entre *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, pero separadas de otras especies de las series Robustae y Streptacathae. Esos resultados coinciden con los del presente estudio aunque incluyera únicamente características físicas de los frutos y las semillas (Figuras 4.3 y 4.4).

La dispersión de las variantes de *O. albicarpa*, *O. ficus-indica* y *O. megacantha* (Figura 4.4) también fue observada por Luna-Páez *et al.* (2007) y Reyes-Agüero *et al.* (2005) tanto en los grupos considerados silvestres como en los domesticados. Esto puede deberse a que *O. ficus-indica* puede incluir clones derivados de linajes múltiples lo que indica la cercanía entre especies como *O. leucotricha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. streptacantha* (Griffith, 2004). Asimismo, la delimitación escasa de las variantes de cada especie sugiere que el género *Opuntia* se encuentra en un proceso continuo de cambio y diferenciación evolutiva, que se incrementa por la presión de selección humana (Granados y Castañeda, 1991).

En algunas especies silvestres se ha encontrado una correlación significativa entre la tasa de germinación y la dureza de las semillas (Romo-Campos *et al.*, 2010), la que puede estar asociada a la capacidad de esas semillas para sobrevivir en ambientes adversos y a los dispersores (Janzen, 1986). En contraste, la dureza mayor de las semillas de especies domesticadas puede deberse a la disminución del éxito en la propagación por vía sexual del género *Opuntia* (Harlan, 1975; Romo-Campos *et al.*, 2010); esto puede ayudar a explicar la ausencia de las especies con nivel mayor de domesticación en ambientes silvestres (Colunga *et al.*, 1986). Sin embargo, los

resultados previos (López-Palacios *et al.*, 2015) y los de este estudio mostraron que la dureza (Cuadros 4.2 y 4.3) no es un carácter absoluto de las especies con grado mayor de domesticación. Lo que confirma la necesidad de realizar estudios que permitan reconocer la relación entre la capacidad germinativa de las semillas, su relación con las características de la testa (como la dureza) y el grado de domesticación en *Opuntia*; también debe considerarse la pérdida de los dispersores naturales en el síndrome de domesticación de especies en las que la propagación vegetativa es la de mayor éxito, como es el caso de las del género *Opuntia* (Baskin y Baskin, 1998; Colunga *et al.*, 1986; Harlan, 1975).

Nuestros resultados también confirmaron las diferencias entre las especies silvestres con frutos tipo xoconostle y las de frutos tipo tuna. El conjunto de variantes con frutos tipo xoconostle (subconjunto A1.1.2.2; Figura 4.4) se identifican por la proporción menor de pulpa y dulzura menor. Estas características coincidieron con lo registrado por Sheinvar (1999) en los frutos tipo xoconostle.

Los resultados confirmaron la variabilidad de *Opuntia* previamente documentada por García-Nava *et al.* (2015) y López-Palacios *et al.* (2015) para la región de la Altiplanicie Meridional. Esta diversidad de variantes cultivadas y silvestres revela que las plantas de *Opuntia* han sido valoradas por los habitantes de la región desde tiempos prehispánicos. También, la diversidad de variantes de *O. megacantha* ha sido documentada por Reyes-Agüero *et al.* (2005) con una distribución amplia en ambientes diversos, como los de las poblaciones silvestres, solares y plantaciones comerciales, por lo que estudios futuros son necesarios para describir su diversificación y la relación entre los ambientes y los caracteres del fruto.

## **Conclusiones**

La biomasa del fruto (cáscara, pulpa y semillas) y el número de semillas abortadas son los caracteres que proporcionan la variabilidad mayor entre las especies y variantes. El número de semillas abortadas es inherente a las especies y variantes en proceso de humanización, ya que es el carácter que se incrementa en las provenientes de ambientes humanizados. El ambiente de solar o traspatio es fuente de la variación en el género *Opuntia* ya que fue ahí donde se encontró la diversidad mayor de variantes.

Los frutos tipo xoconostle se clasificaron por poseer proporción inversa de cáscara:pulpa y menos semillas abortadas. Existe relación entre el número de semillas normales y abortadas con la biomasa de la pulpa. La biomasa de las estructuras del fruto, la cascara, la pulpa y las semillas y el contenido de semillas abortadas y normales permiten reconocer un gradiente de domesticación entre las especies de *Opuntia*.

### Literatura citada

- Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre R. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). En: Esparza F., G., M.A. Salas L., J. Mena C. y R.D. Valdez Z. (Eds.). Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional Sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas. Zacatecas, México. pp. 117-120.
- Adewale, B.D., C.O. Aremu y U.E. Amazue. 2012. Intra-specific variability and diversity analysis of African yam bean by seed size parameters. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 7: 454-461.
- Álvarez A., R, y C. B. Peña-Valdivia. 2009. Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *Journal of Professional Association for the Cactus Development*, 11: 26-44.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timberm Portland, Oregon. EE.UU. 776 p.
- Barbera, G., P. Inglese y T. La-Mantia. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia Horticulturae*. 58:161-165.
- Baskin, C.C. y J.M. Baskin. 1998. Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press. California, USA. 666 p.
- Bravo H., H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 365 p.
- Colunga G-M., P., E. Hernández X., A. Castilla M.. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío Guanajuatense. *Agrociencia*. 65: 7-49.
- Davitashvili, N. y G. Karrer. 2010. Taxonomic importance of seed morphology in *Gentiana* (Gentianeaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 162: 101-115.

- Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. Food Chemistry. 103: 38-45.
- Felker, P., S. del C. Rodríguez, R.M. Casoliba, R. Filippini, D. Medina y R. Zapata. 2005. Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. Journal of Arid Environments. 60: 405-422.
- García-Nava, F.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo; R. García N.; J. A. Reyes A.; J. R. Aguirre R. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp. Cactaceae) as influenced by domestication. Genetic Resources and Crop Evolution. 62: 927-938.
- García-Pedraza, L.G., J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera y J.M. Pinos-Rodríguez. 2005. Preliminary nutritional and organoleptic assessment of xoconostle fruit (*Opuntia* spp.) as a condiment or appetizer. Italian Journal of Food Science. 3: 333-340.
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. The Cactus Primer. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. USA. 286 p.
- Granados S., A. y A.D. Castañeda P. 1991. El Nopal, Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola. Editorial Trillas. México, D.F. 227 p.
- Griffith, M.P. 2004. The origin of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. American Journal of Botany. 91: 1915-1921.
- Griffiths, M.P. 1914. Reversion in prickly pears. Journal of Heredity. 5:222-225.
- Griffith, M.P. y J.M. Porter. 2009. Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). International Journal of Plant Science. 170: 107-116.
- Guerrero-Muñoz, P., H.A. Zavaleta-Mancera, A.F. Barrientos-Priego, C. Gallegos-Vázquez, C.A. Núñez-Colin, E. Valadez-Moctezuma y J.A. Cuevas-Sánchez. 2006. Técnica para el estudio de la micromorfología interna de semillas duras en *Opuntia*. Revista Fitotecnia Mexicana. 29: 37-43.
- Harlan, J.R. 1975. Crops & Man. American Society of Agronomy. Wisconsin, USA. 295 p.

- Icker-Bond, S.M. y C. Rydin. 2011. Micromorphology of the seed envelope of *Ephedra* L. (Gnetales) and its relevance for the timing of evolutionary events. *International Journal of Plant Science*. 172: 36-48.
- Janzen, D.H. 1986. Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17: 595-636.
- Leishman, M.R. y B.R. Murray. 2001. The relationship between seed size and abundance in plant communities: model predictions and observed patterns. *Oikos*. 94: 151-161.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera, H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández y J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. *Genetic Resources and Crop Evolution*. DOI 10.1007/s10722-015-0223-9
- Luna-Páez, A., E. Valadez-Moctezuma, A.F. Barrientos-Priego y C. Gallegos-Vázquez. 2007. Caracterización de *Opuntia* spp. Mediante semilla con marcadores RAPD e ISSR y su posible uso para diferenciación. *Journal of the Professional Association Cactus Development*. 9: 43-59.
- Majure, L.C., R. Puente, M.P. Griffith, W.S. Judd, P.S. Soltis y D.E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany*. 99: 847-864.
- Minuto, L., E. Roccatiello and G. Casazza. 2011. New seed morphological features in *Moehringia* L. (Caryophyllaceae) and their taxonomic and ecological significance. *Plant Biosystems*. 145: 60-67.
- Muñoz-Urias, A., G. Palomino-Hasbach, T. Terrazas, A. García-Velázquez y E. Pimienta-Barrios. 2008. Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense. *Boletín de las Sociedad Botánica de México*. 83: 1-11.
- Obeso, J.R., I. Martínez y D. García. 2011. Seed size is heterogeneously distributed among destination habitats in animal dispersed plants. *Basic and Applied Ecology*. 12: 134-140.

- Perales R., H.R., J.R. Aguirre R. 2008. Biodiversidad humanizada. En: Capital natural de México. Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. Pp. 565-603.
- Pimienta-Barrios, E. y A. Muñoz-Urias. 1995. Domestication of *Opuntia* and agricultural varieties. Pp. 58-61. En: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (Eds.). Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear. International Technical Cooperation Network on Cactus Pear. FAO Publications. Rome, Italy.
- Pimienta, E. y E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro en tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). Agrociencia. 62: 51-56.
- 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.
- Reyes-Agüero, J.A., F. Carlín-Castelán, J.R. Aguirre R. y H.M. Hernández. 2007. Preparation of *Opuntia* herbarium specimens. Halsetonia. 13: 76-82.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, F. Carlín-Castelán y A. González-Durán. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACyT. San Luis Potosí, México.
- Romo-Campos, L., J.L. Flores-Flores, J. Flores y G. Álvarez-Fuentes. 2010. Seed germination of *Opuntia* species from an aridity gradient in Central Mexico. Journal of Professional Association Cactus Development. 12: 181-198.
- Segura, S., L. Sheinvar, G. Olalde, O. Leblanc, S. Filardo, A. Muratalla, C. Gallegos y C. Flores. 2007. Genomic size and ploidy levels in Mexican cactus pear species *Opuntia* (Tourn.) Mill. series *Streptacanthae* Britton et Rose, *Leucotrichae* DC., *Heliabravoanae* Scheinvar and *Robustae* Britton et Rose. Genetic Resources and Crop Evolution. 54: 1033-1041.
- Sheinvar, L. 1995. Taxonomy of utilized opuntias. En: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (Eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Roma, Italia. pp. 20-27.

- Schirra, M., P. Inglese, T. La Mantia. 1999. Quality of cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruit in relation to ripening time, CaCl<sub>2</sub> pre-harvest sprays and storage conditions. *Scientia Horticulturae*. 81: 425-436.
- Walker, R.P., F. Famiani, A. Baldicchi, J.G. Cruz-Castillo y P. Inglese. 2011. Changes in enzymes involved in photosynthesis and other metabolic processes in the fruits of *Opuntia ficus-indica* during growth and ripening. *Scientia Horticulturae*. 128: 213-219.

## Capítulo V. Grafía química preliminar de nopalitos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. y *O. streptacantha* Lem.

### Resumen

El género *Opuntia* Mill. y *Mamillaria* Haw., destacan por su gran diversidad y distribución más amplia en la familia Cactaceae. Los cladodios de *Opuntia* se emplean en el tratamiento de enfermedades como diabetes, hipotensión e hipercolesterolemia, y se han reconocido sus efectos benéficos anti-inflamatorios, antígenotóxicos, neuroprotectores, inmunomoduladores, antivirales y antioxidantes. En nopalitos de *Opuntia* se ha registrado la presencia de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides), y de terpenoides en las flores. El objetivo de este estudio fue realizar la grafía química preliminar de nopalitos de una especie silvestre (*O. streptacantha*) y una domesticada (*O. ficus-indica*) mediante extracciones con disolventes de diferente polaridad, para confirmar o descartar la presencia de cinco grupo de metabolitos. La hipótesis fue que en los nopalitos de las variantes de ambas especies hay presencia de ácidos fenólicos y flavonoides, y de terpenoides en las flores. El estudio se realizó con un modelo experimental completamente al azar con seis repeticiones, representadas por un nopalito. Los nopalitos de  $15 \pm 2.5$  cm de longitud de las variantes Tuna Loca y Cardona de *O. streptacantha*, y Atlixco y Rojo Vigor de *O. ficus-indica* se desespitaron, liofilizaron y trituraron. De las muestras se obtuvieron extractos con agua, metanol o diclorometano, a los cuales se les hicieron pruebas colorimétricas para reconocer la presencia de alcaloides, fenoles, flavonoides, saponinas y terpenoides. Dicha presencia se corroboró en cromatografía de capa fina. Las pruebas colorimétricas confirmaron la presencia de fenoles en el extracto acuoso de *O. streptacantha* y en el de metanol de ambas especies; en los extractos con metanol y diclorometano los terpenoides se detectaron en ambas especies, y alcaloides en el de *O. streptacantha*. La cromatografía en capa fina corroboró la presencia de fenoles, terpenos y flavonoides, pero la de alcaloides se descartó. En conclusión, la presencia de fenoles, flavonoides y terpenoides se reconoció en nopalitos de *O. ficus-indica* y de *O. streptacantha*; el metanol fue el mejor disolvente de los fenoles y flavonoides del tejido, y el diclorometano de los terpenoides. La presencia de terpenoides en los nopalitos destacó



por la carencia de registros previos de su presencia en *Opuntia*. Se recomiendan estudios especializados para identificar los compuestos de cada grupo en los nopalitos.

**Palabras clave:** Nopalitos, *O. ficus-indica*, *O. streptacantha*, fenoles, flavonoides, terpenoides

## Abstract

*Opuntia* Mill. and *Mamillaria* Haw. are the genus with the greater diversity and distribution in the Cactaceae family. The *Opuntia* cladodes are used in the treatment of diseases such as diabetes, hypotension and hypercholesterolemia and its anti-inflammatory, anti-genotoxic, neuroprotective, immunomodulatory, anti-viral agents, and antioxidant effects have been recognized. The presence of phenolic compounds (phenolic acids and flavonoids) and terpenoids have been described in nopalitos and flowers of *Opuntia*, respectively. The objective of this work was to conduct a phytochemical fingerprinting in nopalitos of a wild (*O. streptacantha*) and the domesticated one (*O. ficus-indica*) through extractions with solvents of different polarity to confirm or rule out the presence of five group of metabolites. The hypothesis was that in both species there are presence of phenolic acids, flavonoids and terpenoids. The study was conducted in a completely randomized design with six replications, represented by a nopalito. In nopalitos of  $15 \pm 2.5$  cm of length of the variants Tuna Loca and Cardona of *O. streptacantha* and Atlixco and Rojo Vigor of *O. ficus-indica* were removed the thorns, freeze-drying and ground. The metabolites were extracted with water, methanol or dichloromethane. Colorimetric tests were performed to determine alkaloids, phenols, flavonoids, saponins, and terpenes. Its presence was confirmed by thin layer chromatography. The colorimetric tests confirmed the presence of phenols in the aqueous extract of *O. streptacantha* and methanol in both species. The terpenes were detected in methanol and dichloromethane extract in both species; alkaloids were detected in dichloromethane extract in *O. streptacantha*. The thin layer chromatography confirmed the presence of phenols, flavonoids and terpenes but the alkaloids was discarded. In conclusion, the presence of phenols, flavonoids and terpenoids were recognized in nopalitos of *O. ficus-indica* and *O. streptacantha*. Methanol was the best solvent of phenols and flavonoids of tissue and dichloromethane by the terpenoids. The presence of terpenoids in nopalitos highlighted by that it seems to not be reports in the specializing literature about their presence in *Opuntia*. Studies specialized are recommended to identify the compounds of each group in nopalitos.

**Keywords:** Flavonoids, nopalitos, *O. ficus-indica*, *O. streptacantha*, phenols, terpenoid.

## Introducción

Los metabolitos secundarios (MS) son compuestos orgánicos que, en general, no tienen función directa en el desarrollo de la planta (Taiz y Zeiger, 2010). La distribución de estos metabolitos está restringida a ciertos grupos taxonómicos y tienen un rol importante en la interacción de estos organismos con su ambiente (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003). Además, varios de ellos son responsables del color, apariencia, aroma y sabor de los frutos y verduras (Tomás-Barberán y Robins, 1997). Los MS son características adaptativas que se han diversificado de manera evolutiva por selección natural, en las plantas tienen algún papel en la protección contra virus, bacterias, hongos, plantas competitivas y algunos herbívoros (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003). Algunos MS tienen funciones fisiológicas, como coadyuvantes en la movilización de ciertos compuestos tóxicos y como almacén de compuestos fenólicos (flavonoides), los cuales a su vez pueden funcionar como protectores contra los rayos UV (Bourgaud *et al.*, 2001; Li *et al.*, 1993; Wink, 1988 y 2003).

También se ha descrito que los compuestos fenólicos pueden actuar como marcadores dinámicos (Kaundun y Lebreton, 2010; Valant-Vetschera *et al.*, 2010). Al respecto, Valant-Vetschera *et al.* (2010) incluyeron a los flavonoides en un estudio comparativo intra- e inter-específico y los relacionaron con características morfológicas y taxonómicas; así, mediante análisis de componentes principales y matriz binaria de presencia o ausencia de dichos compuestos, diferenciaron al género *Dionysia* Fenzl. de *Primula* L., ubicado filogenéticamente como un grupo anidado dentro del género *Primula*.

En la familia Cactaceae *Opuntia* Mill. y *Mamillaria* Haw., son los géneros con mayor diversidad y distribución más amplia en la familia Cactaceae (Anderson, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2009). Los cladodios de *Opuntia* han sido empleados tradicionalmente como medicinales para tratar una variedad de enfermedades, particularmente diabetes e hipercolesterolemia. El consumo de cladodios también ha sido relacionado con otros efectos benéficos para la salud, incluyendo efectos anti-inflamatorios, cicatrizantes, antígenotóxicos, neuroprotectores, hipotensores, inmunomoduladores y antivirales para combatir el estrés oxidativo (Ahmad *et al.*, 1996; Dok-Go *et al.*, 2003; Galati *et al.*, 2003; Saleem *et al.*, 2005; Zorgui *et al.*, 2009). La

capacidad antioxidante de extractos hidrofílicos de los cladodios también se ha evaluado, y los fenoles y flavonoides se han identificado con este carácter químico (Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2002).

Benson (1982) relacionó los resultados del análisis químico de flavonoides en cladodios de un año de edad con los análisis morfológicos en algunas variantes del Sureste de California, EE.UU., que pudieron haberse originado por la hibridación de especies nativas de porte bajo, como *O. littoralis* Engelm. y *O. pheaecantha* Engelm., con *O. ficus-indica* (L.) Mill., especie introducida desde México por los colonizadores españoles entre los siglos XVII y XVIII. El citado autor, observó que algunos flavonoides estaban sólo en la especie introducida y otros en las nativas; esto permitió comparar los compuestos en los híbridos y postular su procedencia.

En *Opuntia* se ha descrito la presencia de compuestos fenólicos en concentraciones variables en dependencia de la especie, del órgano y del disolvente de extracción. Así, en la cáscara de la tuna de *O. ficus-indica* se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos mayor que en los cladodios, y la diferencias entre la cáscara y cladodio fue de 50 % más concentración de estos metabolitos en los cladodios (Moussa-Ayoub *et al.*, 2014). Los cladodios de *O. ficus-indica*, *O. leucotricha* DC., *O. lindheimeri* Engelm., *O. rastrera*, *O. robusta* Wendl., *O. streptacantha* Lem. y de *O. undulata* Griffiths también presentaron estos compuestos fenólicos (de 0.3 a 180.3 mg equivalentes de ácido gálico [GAE] g<sup>-1</sup>, entre las siete especies) (Lee *et al.*, 2002; Santos-Zea *et al.*, 2011). En un estudio entre variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* spp. se obtuvo entre 2.0 y 20.0 mg GAE g<sup>-1</sup> en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010). En las flores de *O. ficus-indica*, *O. stricta* (Haw.) y *O. microdasys* (Lem.) Pfeiff. también se ha documentado la presencia de fenoles (de 1.24 a 80.9 mg GAE g<sup>-1</sup>) (Ammar *et al.*, 2012; Chahdoura *et al.*, 2014). En la pulpa de *O. ficus-indica*, *O. dillenii* (Ker Gawl.) Haw., *O. joconostle* A. Web. y *O. matudae* Sheinvar se han detectado estos compuestos en concentraciones de 0.4 a 72.3 mg GAE g<sup>-1</sup> (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Moussa-Ayoub *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2012; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011).

Del grupo de compuestos fenólicos, los flavonoides han sido ampliamente estudiados en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2002;

Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011), flores (Chahdoura *et al.*, 2014) y frutos (Abdel-Hamed *et al.*, 2014; Kuti, 2004; Lee *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012 y 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011). En menor medida también se han documentado los ácidos fenólicos en cladodio (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010) y en fruto (Morales *et al.*, 2014).

Los terpenoides se han cuantificado, en concentración de 0.06 a 32.4 % con respecto al total de metabolitos secundarios, en flores de *O. ficus-indica* en etapas diferentes de desarrollo (Ammar *et al.*, 2012). En la literatura especializada no se encontró información de estos compuestos en ningún otro órgano de las plantas del género *Opuntia*.

El análisis fitoquímico preliminar es una grafía general de metabolitos secundarios presentes en una muestra vegetal generada mediante disolventes con diferente polaridad, la cual permite agrupar en fracciones los metabolitos con semejanzas estructurales y permitir su caracterización química, mediante reacciones químicas estandarizadas. En estas reacciones los cambios químicos en algún grupo funcional de la estructura del metabolito, propicia la pérdida o cambio de color, precipitación de un compuesto nuevo o el desprendimiento de gas (Rodríguez, 1997).

Aunque la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides se ha documentado en cladodios de *Opuntia*, en la literatura especializada son inexistentes los registros de alcaloides, terpenoides ni saponinas. El presente estudio tuvo por objetivo realizar la grafía fitoquímica de nopalitos de dos variantes silvestres (*O. streptacantha*) y dos domesticadas (*O. ficus-indica*), mediante la extracción de compuestos con disolventes con polaridad diferente (agua, metanol y diclorometano), y confirmar o descartar la presencia de cinco grupos de metabolitos (alcaloides, fenoles, flavonoides, saponinas y terpenos). La hipótesis fue que en los nopalitos de ambas especies están presentes por lo menos tres grupos de metabolitos, ácidos fenólicos y flavonoides y, ya que se han identificado en flores, terpenoides.

## **Materiales y métodos**

Nopalitos de dos a tres semanas de edad, con  $15 \pm 2.5$  cm de longitud se cosecharon de plantas cultivadas en condiciones de invernadero (Colegio de Postgraduados,

Campus Montecillo, Edo. de México; 19°29' LN, 98°53' LO; 2240 msnm y clima Cb(w<sub>o</sub>)(w)(i')g, lluvias en verano e invierno frío y seco, de acuerdo con García, 2004). Las variantes estudiadas fueron Cardona y Tuna Loca de *O. streptacantha*, y Atlixco y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*. Para disminuir la probabilidad de presencia o ausencia falsa de alguno de los grupos de metabolitos debida a la hora del día, la cosecha se realizó al amanecer (5:00) y al medio día (12:00). Los nopalitos se desespitaron, liofilizaron y trituraron en mortero hasta obtener un polvo fino.

Un gramo de muestra se colocó en tres series de tubos de ensaye, con triplicado, y a cada una se le añadieron 10 mL de uno de tres disolventes (agua, metanol o diclorometano). Los tubos se mantuvieron en un baño ultrasónico (Leb, Surban, España) durante 15 min; luego se centrifugó durante 10 min a 4075 g. Del sobrenadante de cada tubo se colocó 1 mL en cinco tubos y se usaron para las pruebas de detección de los grupos de compuestos químicos. Para determinar la presencia de alcaloides se adicionaron tres gotas del reactivo Dragendorff. En esta prueba la presencia de alcaloides se identifica por el desarrollo de una coloración marrón (Shivaranjani *et al.*, 2014). Para identificar la presencia de fenoles se adicionaron tres gotas de cloruro férrico al 15 %; el desarrollo de coloración verde oscuro indica la presencia de compuestos fenólicos (Subramanian *et al.*, 2015). La presencia de flavonoides se detectó al mezclar 1 mL de extracto con unas gotas de ácido clorhídrico concentrado y un trozo de tira de magnesio; la formación de espuma rojiza indica la presencia de flavonoides (Shivaranjani *et al.*, 2014). Para reconocer la presencia de terpenos se evaporó el disolvente y se añadieron tres gotas de cloroformo, tres gotas de anhídrido acético y tres gotas de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo; el desarrollo de coloración rosa-violeta confirma la presencia de este grupo de compuestos (Shivaranji *et al.*, 2014). Las saponinas fueron detectadas al adicionar 2 mL de agua con agitación constante por 5 min; la presencia de saponinas se confirma cuando la espuma formada persiste por 15 min (Ayoola *et al.*, 2008).

Con base en los resultados de presencia de grupos de compuestos, los extractos se utilizaron para realizar pruebas de cromatografía en capa fina; con esto se reconocieron algunos de los compuestos más frecuentes. La mezcla de elusión para los fenoles y flavonoides fue acetato de etilo y metanol (9:1) y se revelaron con cloruro

férrico el primer caso y solución NP/PEG (natural products/polyethylene glycol reagent) al 1 % el segundo grupo. Los flavonoides se observaron en una cámara de luz ultra-violeta. Los terpenoides se detectaron a través de una separación con hexano y acetato de etilo en una relación 8:2. La placa se reveló con vainillina al 1 % en etanol y ácido sulfúrico, y se expuso a 110°C durante cinco minutos.

## **Resultados y discusión**

### *Pruebas colorimétricas*

La presencia de fenoles, terpenos y alcaloides fue reconocida en las pruebas colorimétricas con los extractos obtenidos con los tres disolventes. La presencia de flavonoides y saponinas fue negativa en todos los casos.

### *Fenoles*

Los fenoles se detectaron en el extracto acuoso de las dos variantes silvestres (*O. streptacantha*) y en los dos tiempos de cosecha. Este grupo de compuestos también se detectó en los extractos con metanol del par de variantes silvestres de *O. streptacantha* y de las dos domesticadas de *O. ficus-indica* para ambas horas de cosecha (Cuadro 5.1). La ausencia de fenoles en el extracto acuoso de los nopalitos de *O. ficus-indica*, puede deberse a su polaridad baja. En contraste, los nopalitos silvestres contienen fenoles diversos, con polaridades diferentes. Es decir, este resultado puede tomarse como evidencia de composición fenólica diferente, en los nopalitos de estas dos especies.

Los resultados de este estudio relacionados con la presencia de compuestos fenólicos en nopalitos de *O. ficus-indica* y en *O. streptacantha*, en los extractos con metanol, coincidió con los de otros autores (Lee *et al.*, 2002; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Santos-Zea *et al.*, 2011), para éstas y otras cinco especies. En contraste, ningún registro fue localizado, en la literatura especializada, relacionado con la presencia de estos compuestos en extractos acuosos de *Opuntia* spp.

**Cuadro 5.1** Presencia (+) y ausencia (-) de grupos de compuestos en extractos obtenidos con agua, metanol y diclorometano de nopalitos de dos variantes silvestres (*O. streptacantha*) y dos domesticadas (*O. ficus-indica*), cosechados a las 5:00 y 12:00.

Extracto y grupo	Hora de cosecha							
	5:00				12:00			
	<i>O. ficus-indica</i>		<i>O. streptacantha</i>		<i>O. ficus-indica</i>		<i>O. streptacantha</i>	
	Atlixco	Rojo Vigor	Cardona	Tuna Loca	Atlixco	Rojo Vigor	Cardona	Tuna Loca
Acuoso								
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenoles	-	-	+	+	-	-	+	+
Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Metanol								
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenoles	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Diclorometano								
Alcaloides	-	-	+	+	-	-	+	+
Fenoles	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-

### *Alcaloides*

El grupo de los alcaloides se registró en los extractos de diclorometano, con coloración baja, únicamente en las variantes de *O. streptacantha* (Cuadro 5.1). Se ha documentado la presencia de alcaloides en frutos de *O. elatior* Mill., pero sin especificar el tipo de alcaloide presente (Ramyashree *et al.*, 2012). Por su parte, El-Moghazy *et al.* (1982) documentan la presencia del alucinógeno mescalina en cladodios de *O. ficus-indica*, aunque Stintizing y Carle (2005) señalan que la presencia de alcaloides en *Opuntia* debe verificarse, ya que este grupo de compuestos es considerado característico de las cactáceas de porte globular, en particular de la tribu Cereeae de la subfamilia Cactoideae. La mescalina también es uno de los 50 diferentes tipos de



alcaloides registrados en el peyote (*Lophophora williamsii* (Lem. ex Salm-Dyck) J.M. Coult.) (Kalam *et al.*, 2013). Así, con base en los resultados se requiere confirmar la presencia de estos compuestos en otras variantes de *O. ficus-indica* y en especies silvestres de *Opuntia*; además, deberá realizarse la identificación y cuantificación de los alcaloides que puedan presentarse en este género.

### *Terpenoides*

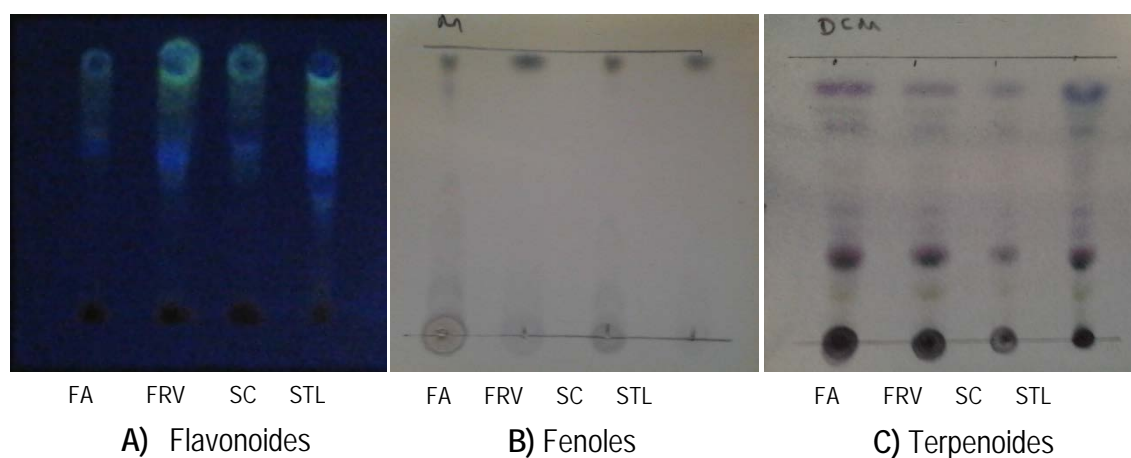
Los terpenoides también se detectaron en el extracto obtenido con metanol de los nopalitos de ambas especies (Cuadro 5.1). Este resultado también es sobresaliente, pues actualmente los terpenoides se habían detectado únicamente en las flores de *O. ficus-indica* y *O. stricta* (Ammar *et al.*, 2012). Así, los resultados permiten sugerir la conveniencia de confirmar la presencia de estos compuestos en los nopalitos de *Opuntia*.

### *Cromatografía en capa fina*

Para corroborar los resultados de las pruebas colorimétricas, se llevó a cabo la separación de compuestos mediante cromatografía en capa fina en fenoles en el extracto generado con metanol, y en terpenoides en el extracto obtenido con diclorometano, y con la finalidad de descartar la ausencia de flavonoides en las variantes evaluadas (Cuadro 5.1); ya que, la presencia de flavonoides en los nopalitos y cladodios desarrollados de nopal ha sido documentada recientemente con frecuencia (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Benayab *et al.*, 2014; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2012; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011). La ausencia de flavonoides en los nopalitos en este estudio podría ser aparente debido a su concentración menor que el nivel de sensibilidad de la prueba colorimétrica (Cuadro 5.1).

La placas cromatográficas (Figura 5.1) confirmaron la presencia de fenoles y terpenos en los nopalitos de ambas especies (Cuadro 5.1). Además, con cromatografía fue posible confirmar la presencia de flavonoides en las variantes de ambas especies (Figura 5.1). Así, se confirmó que su concentración es menor que la detectable por el método colorimétrico, lo cual coincidió con lo publicado en la literatura (Abdel-Hameed

*et al.*, 2014; Benayab *et al.*, 2014; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2012; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011) referente a su ubicuidad en el género *Opuntia*.



**Figura 5.1** Placas cromatográficas con flavonoides (A) y fenoles (B) en el extracto obtenido con metanol, y terpenoides (C) en el extracto generado con diclorometano. FA y FRV: variantes Atlixco y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*; SC y STL: variantes Castilla y Tuna Loca de *O. streptacantha*.

La longitud y continuidad de las bandas en las placas cromatográficas indica la diversidad mayor de compuestos en los grupos de flavonoides y de terpenoides. La diversidad del grupo de los fenoles fue notoriamente menor (Figura 5.1 B). La eficiencia mayor del metanol para extraer los compuestos fenólicos fue documentada por Pinelo *et al.* (2004) en piñones (*Pinus pinea* L.), pero en almendras (*Prunus amygdalus* L.) encontraron que el etanol fue mejor. Los autores citados indicaron que la eficiencia del disolvente para extraer ese grupo de compuestos es dependiente de la especie, ya que la solvatación depende principalmente de la naturaleza química de los compuestos a extraer, aunque las variaciones en la concentración también pueden tener algún efecto.

## Conclusiones

La grafía fitoquímica permitió reconocer la presencia de fenoles y flavonoides en nopalitos de *O. ficus-indica* y *O. streptacantha*. La presencia de terpenoides es novedosa en nopalitos. La presencia de alcaloides únicamente en los nopalitos silvestres merece ser corroborada. El metanol fue el disolvente más adecuado para la extracción de los fenoles y flavonoides; para los terpenoides el diclorometano fue el más adecuado. Estudios detallados son necesarios para identificar y cuantificar los componentes de cada grupo de compuestos en nopalitos.

## Literatura citada

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. Food Chemistry. 160: 31-38.
- Anderson, E.F. 2001. The Cactus Family. Timber Press. Portland, Oregon. USA.
- Ahmad, A., J. Davies, S. Randall y G.R. Skinner. 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. Antiviral Research. 30: 75-85.
- Ammar, I., M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yangui y H. Attia. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. Industrial Crops and Products. 37: 34-40.
- Ayoola, G.A., H.A.B. Coker, S.A. Adesegun, A.A. Adepoju-Bello, K. Obaweya, E.C. Ezennia y T.O. Atangbayila. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 7: 1019-1024.
- Benayad, Z., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cordoves y 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.
- Benson, L. 1982. The Cacti of the United States and Canada. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1044 p.

- Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi y E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. *Journal of Functional Foods*. 9: 27-37.
- Corral-Aguayo, R.D., E.M. Yahia, A. Carrillo-López y G. González-Aguilar. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measurement with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 10498-10504.
- Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chemistry*. 103: 38-45.
- Dok-Go, H., K.H. Lee, H.J. Kim, E.H. Lee, J. Lee, Y.S. Song, Y.H. Lee, C. Yin, Y.S. Lee y J. Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Brain Research*. 28: 1844-1852.
- El-Moghazy, A.M., S.M. El-Syyad, A.M. Abdel-Baky y E.Y. Bechait. 1982. A phytochemical study of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cultivated in Egypt. *Egyptian Journal Pharmaceutical Sciences*. 23: 247 –254.
- Galati, E.M., M.R. Mondello, M.T. Monforte, M. Galluzo, N. Miceli y M.M. Tripodo. 2003. Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes in wound-healing process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 5: 1-16.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.
- 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 y 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.

- Kalam, M.A., M.T. Klein, D. Hulsey, K. Trout, P. Daley y M. Terry. 2013. A preliminary report of mescaline concentrations in small regrowth crowns vs. mature crowns of *Lophophora williamsii* (Cactaceae): cultural, economic, and conservation implications. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*. 7: 435-440.
- Kaundun, S.S. y P. Lebreton. 2010. Taxonomy and systematics of the genus *Pinus* based on morphological, biogeographical and biochemical characters. *Plant Systematic and Evolution*. 284: 1-15.
- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85: 527-533.
- Lee, J.C., H.R. Kim, J. Kim y Y.S. Jang. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6490-6496.
- Li, J., T.M. Ou-Lee, R. Raba, R.G. Amundson y R.L. Last. 1993. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. *Plant Cell*. 5: 171-179.
- Morales, P., L. Barros, E. Ramírez-Moreno, C. Santos-Buelga e I.C.F. Ferreira. 2014. Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. *Food Research International*. 65: 437-444.
- Morales, P., E. Ramírez-Moreno, M. de C. Sánchez-Mata, A.M. Carvalho e I.C.F.R. Ferreira. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Sheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*. 46: 279-285.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.-S. El-Hady, H.T. Omran, S.K. El-Samahy, L.W. Kroh y S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. *Food Research International*. 54: 854-872.
- Osorio-Esquivel, O., A. Ortiz-Moreno, V.B. Álvarez, L. Dorantes-Álvarez y M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*. 44: 2150-2158.

- Pinelo, M., M. Rubilar, J. Sineiro y M.J. Núñez. 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*. 85: 267-273.
- Ramyashree M., Shivabasavaiah y H. Krishna R. 2012. Ethnomedicinal value of *Opuntia elatior* fruits and its effects in mice. *Journal of Pharmacy Research*. 5: 4554-4558.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, F. Carlín-Castelán y A. González-Durán. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACyT. San Luis Potosí, México.
- Rodríguez, R.M. 1997. Análisis Preliminar Fitoquímico Preliminar. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutiérrez-Urbe y O. Serna-Saldívar. 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.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 1844-1852.
- Shivaranjani, V.L., H. Poornima, J. Umamaheswari y K.L. Devi. 2014. Preliminary phytochemical screening and quantification of bioactive compounds in the leaves of spinach (*Spinaceae oleraceae* L.). *Journal of Pharmacy Research*. 8: 1113-1119.
- Stintzing, F.C. y R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): a review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutritional & Food Research*. 49: 175-194.
- Subramanian, V., I. Basu, R. Pranav y N. Rajendran. 2015. Phytochemical screening and functional group analysis of four medicinally important plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7: 116-123.

- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. Plant Physiology. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetts, USA. 782 pp.
- Tomás-Barberán, F.A. y R.J. Robins. 1997. Phytochemistry of Fruits and Vegetables. Clarendon Press. USA. 398 pp.
- Valant-Vetschera, K.M., T.D. Bhutia y E. Wollenweber. 2010. Chemodiversity of exudate flavonoids in *Dionysia* (Primulaceae): a comparative study. *Phytochemistry*. 71: 937-947.
- Wink, M. 1988. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical Applied Genetic*. 75: 225-233.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3-19.
- Zorgui, L., I. Ayed-Boussema, Y. Ayed, H. Bacha y W. Hassen. 2009. The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 662-667.

## Capítulo VI. Variación inter- e intraespecífica del contenido y tipo de ácidos fenólicos en nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae)

### Resumen

Los ácidos fenólicos son el grupo principal de compuestos fenólicos y pueden ser derivados del ácido hidroxibenzoico, con estructura C6-C1 que incluye a los ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, vainillínico y siríngico, o del ácido hidroxicinámico, que es un compuesto aromático con una cadena lateral de tres carbonos (C6-C3), del que se derivan los ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico, *p*-coumárico y sinápico. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la variación intra- e interespecífica del contenido y tipos de ácidos fenólicos en nopalitos (*Opuntia* spp.). La hipótesis fue que la variación intra-específica de ácidos fenólicos en los nopalitos del género *Opuntia* es menor que la inter-específica. En el estudio se emplearon nopalitos de 17.5 cm de longitud, de 15 variantes de las especies con mayor a menor grado de humanización *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica* (L.) Mill., *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. Los extractos metanólicos de 0.5 g de tejido seco se analizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 15 tratamientos y tres repeticiones. Los resultados se analizaron mediante ANDEVA y comparación múltiple de medias por Tukey. En los nopalitos fueron identificados los ácidos cafeico, *p*-coumárico, clorogénico, ferúlico, gálico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico y vainillínico. *Opuntia ficus-indica* tuvo el contenido mayor de ácidos fenólicos y *O. hyptiacantha* el menor. Los derivados del ácido hidroxibenzoico fueron los más abundantes en los nopalitos; el ácido gálico fue el más abundante y el *p*-coumárico el de concentración menor. La variación intra-específica de ácidos fenólicos en los nopalitos fue mayor en *O. ficus-indica*.

**Palabras clave:** Ácidos fenólicos, ácido hidroxibenzoico, ácido gálico, ácido *p*-coumárico, *Opuntia*.



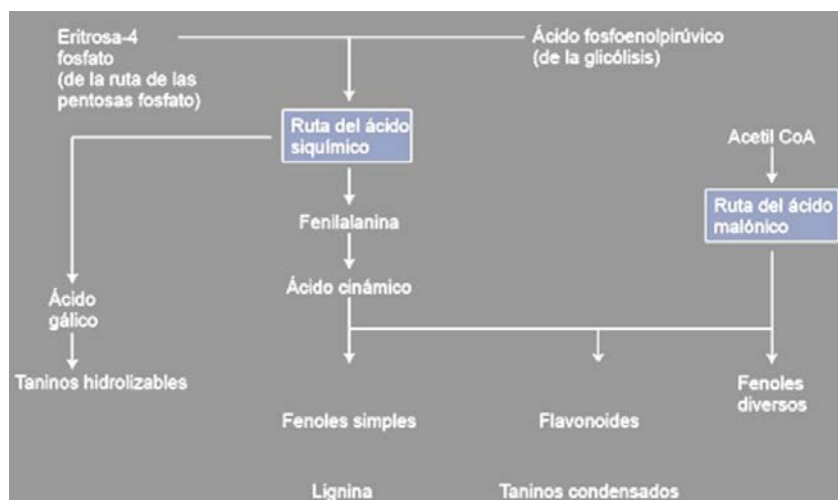
## Abstract

Phenolic acids are the main group of phenolic compounds and they are derived from the hydroxybenzoic acid, with structure C6-C1 that includes gallic, *p*-hydroxybenzoic, syringic, and vanillinic acids; also they are derived from the hydroxycinnamic acid, which is an aromatic compound with a side chain of three carbons (C6-C3), which are derived from caffeic, chlorogenic, ferulic, *p*-coumaric, and synapic acids. Aim of this study was to evaluate the variation intra- e inter- specific content and types of phenolic acids in nopalitos (*Opuntia* spp.). The hypothesis was that the intraspecific variation of phenolic acids in nopalitos genus *Opuntia* is lower than the inter-specific one. In the study, were used nopalitos of 17.5 cm in length of 15 variants the following species with greater to less humanization degree of *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica* (L.) Mill., *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. Extracts methanol of 0.5 g of dry tissue were analyzed in a high-performance liquid chromatographic. The experimental design employed was a completely random with 15 treatments and three replications. The results were analyzed by ANOVA and multiple comparisons of means by Tukey. In the nopalitos were identified caffeic, chlorogenic, *p*-coumaric, ferulic, gallic, *p*-hydroxybenzoic, syringic, and vanillinic acids. *Opuntia ficus-indica* had the higher content of phenolic acids and *O. hyptiacantha* the lower one. The hydroxybenzoic acid derivatives were the most abundant in nopalitos; gallic acid was the most abundant and the *p*-coumaric had the lower concentration. The intra-specific variation of phenolic acids in nopalitos was higher in *O. ficus-indica*.

**Keywords:** *p*-coumaric acid, gallic acid, hydroxybenzoic acid, *Opuntia*, phenolic acids,

## Introducción

Los compuestos fenólicos son el grupo de metabolitos secundarios con distribución mayor en el reino vegetal (Cheynier *et al.*, 2013) y se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno, dos o más grupos -OH (Taiz y Seiger, 2010). Quideaeu *et al.* (2011) señalaron que el término “compuestos fenólicos vegetales” se refiere a los metabolitos secundarios naturales biogenéticamente derivados de la ruta del siquimato/fenilpropanoide, la cual produce directamente fenilpropanoides, o también de la ruta del acetato/mevalonato, la cual puede producir fenoles simples. La ruta del ácido siquímico es la responsable de la mayoría de los compuestos fenólicos en plantas superiores, y la del ácido malónico es poco común en ellas, pero más importante en bacterias y hongos. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una serie de reacciones que conducen a la síntesis de ácido siquímico y de sus derivados (amino ácidos aromáticos: fenilalanina, triptófano y tirosina) (Figura 6.1) (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).



**Figura 6.1** Ruta de biosíntesis de los compuestos fenólicos (Ávalos y Perez-Urria, 2009).

Los ácidos fenólicos son el grupo principal de los compuestos fenólicos y se caracterizan por poseer al menos un ácido carboxílico funcional (Zarra *et al.*, 2012). Los ácidos fenólicos se dividen en derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico (Proestos *et al.*, 2012). En el primer grupo se incluyen los ácidos gálico,

*p*-hidroxibenzoico, vainillínico y siríngico, que tienen en común la estructura C6-C1 (Edi-Soetaredjo *et al.*, 2012). En plantas con órganos comestibles estos ácidos se encuentran en concentraciones bajas (< 10 µg g<sup>-1</sup> de peso fresco [PF]) (Proestos *et al.*, 2012).

Los ácidos hidroxicinámicos son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos (C6-C3), dentro de los cuales los ácidos cafeico, ferúlico, *p*-coumárico y sinápico son los más frecuentes (Edi-Soetaredjo *et al.*, 2012). Estos ácidos se encuentran en todas las partes comestibles de las plantas; de ellos el cafeico es el ácido fenólico más abundante y puede llegar a representar entre 75 y 100 % de los ácidos derivados del hidroxicinámico en muchas frutas y verduras (Ignat *et al.*, 2011; Proteos *et al.*, 2012). Recientemente, los ácidos fenólicos han generado interés mayor debido a su carácter antioxidante, anti-inflamatorio, anti-cancerígeno, antiviral, antibacterial y vaso dilatante (Cheynier, 2005; Kuti, 2004; Mattila y Helltröm, 2007).

Rodríguez-Félix (1986) documentó que el contenido total de compuestos fenólicos en cladodios de *Opuntia* spp. de los cultivares COPENA F1 y V1 varía de 80 a 90 µg g<sup>-1</sup> PF. Guevara-Figueroa *et al.* (2010), en nopalitos de variantes comerciales y de especies silvestres, detectaron la presencia de diversos ácidos fenólicos, de los cuales el 3,4-dihidroxi-benzoico (0.6-19.0 µg g<sup>-1</sup> de materia seca: MS), 4-hidroxi benzoico (5.0-47.0 µg g<sup>-1</sup> MS), ferúlico (5.5-348.0 µg g<sup>-1</sup> MS) y salicílico (6.0-35.0 µg g<sup>-1</sup> MS) se presentaron en todas las variantes estudiadas mientras que el ácido gálico (6.0-24.0 µg g<sup>-1</sup> MS) y el *p*-coumárico (141-162 µg g<sup>-1</sup> MS) sólo estuvieron en algunas variantes silvestres.

El género *Opuntia* presenta la mayor diversidad y distribución geográfica de la familia Cactaceae, después de *Mamillaria* (Anderson, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2009); con un proceso de especiación iniciado hace aproximadamente 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011), es un género que aún se encuentra en proceso de cambio continuo y diferenciación evolutiva (Griffiths, 2004; Labra *et al.*, 2003; Majure *et al.*, 2012). Debido a lo anterior el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la variación intra- e inter- específica del contenido y tipos de ácidos fenólicos en nopalitos de variantes de especies de *Opuntia* con distinto grado de humanización. La hipótesis fue

que la variación intra-específica de ácidos fenólicos en los nopalitos del género *Opuntia* es menor que la inter-específica.

### **Materiales y métodos**

Nopalitos de dos a tres semanas de edad, con  $15 \pm 2.5$  cm de longitud se cosecharon de plantas cultivadas bajo las mismas condiciones en un invernadero (Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. De México; 19°29' LN, 98°53' LO, 2240 msnm y clima Cb(w<sub>o</sub>)(w)(i')g, lluvias en verano e invierno frío y seco, de acuerdo con García, 2004). Las variantes y especies estudiadas fueron COPENA Z1, Naranjón Legítimo y Villanueva de *O. albicarpa* Sheinvar; Atlixco, COPENA V1 y Rojo Vigor de *O. ficus-indica* (L.) Mill.; Amarillo Olorosa, Memelo 1 y San Pedreña de *O. hyptiacantha* A. Web.; Amarillo Plátano, Rojo Lirio y Rubí Reyna de *O. megacantha* Salm-Dyck; Cardona, Cardona de Castilla y Tuna Loca de *O. streptacantha* Lem. Estas especies fueron elegidas por poseer grado decreciente de humanización (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Mediante pruebas preliminares se determinó que el contenido de ácidos fenólicos no se modifica por la hora de cosecha de los nopalitos; las muestras se cosecharon al mediodía (12:00). Los nopalitos se desespinaron, liofilizaron y trituraron en mortero hasta obtener un polvo fino.

A muestras de 0.5 g se le adicionaron 5 mL de metanol al 60 % en agua (v:v) y 1.25 mL de ácido clorhídrico 6 M. Las muestras se mantuvieron a 90°C durante 2 h en baño María, se centrifugaron a 4075 g por 10 min y se filtraron con acrodiscos de membranas de nylon y poros de 0.45 µm (Pall Corporation, Michigan, USA). Luego, se inyectaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC Agilent Technologies, modelo 1100, EE.UU.), equipado con un detector de arreglo de diodos, inyector automático (Agilent Technologies modelo 1200, EE.UU.) y columna de 125 por 4 mm de Nucleosil Nautilus 100-5 (Macherey-Nagel, Düren, Alemania). La fase móvil fue agua, con pH 2.5 ajustado con ácido trifluoroacético y acetonitrilo a 30°C, con flujo de 1 mL por min. La detección se hizo a 280 nm. Como estándares se utilizaron los de los ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico, gálico, *p*-coumárico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico y vainillínico de Sigma-Aldrich (EE.UU.).

Los resultados fueron expresados en  $\mu\text{g}$  de compuesto por gramo de tejido seco ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS). El estudio se desarrolló con un diseño experimental completamente al azar, con 15 tratamientos o variantes de nopal de cinco especies, y con tres repeticiones. Una repetición estuvo representada por un nopalito proveniente de plantas distintas. A los datos de cada compuesto identificado se les determinó su normalidad, con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks, mediante el programa InfoStat (Versión 2011e) (Balzarini *et al.*, 2008; Di-Rienzo *et al.*, 2011). Las variables que lo necesitaron fueron transformadas para cumplir con el requisito de normalidad. Los datos se sometieron a ANDEVA y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS.

## Resultados y discusión

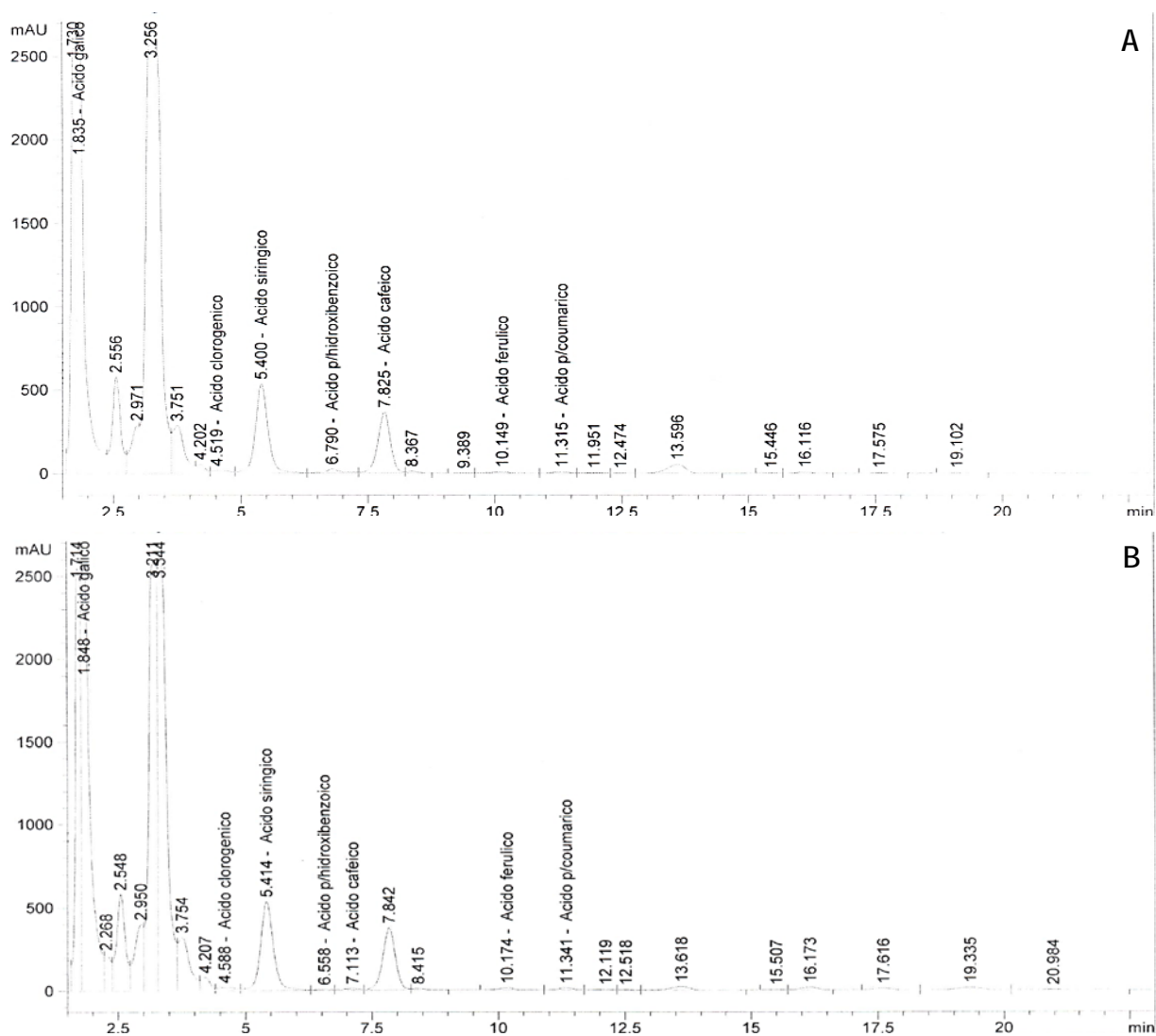
### *Perfil cromatográfico: identificación de ácidos fenólicos*

De los ácidos fenólicos detectados en los nopalitos, cuatro son derivados del ácido hidroxicinámico (ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico y *p*-coumárico), y otros cuatro del ácido hidroxibenzoico (ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, vainillínico y siríngico). Estos ocho compuestos fueron identificados mediante los estándares disponibles (Figura 6.2) en al menos una variante de las cinco especies; esto es, los compuestos identificados fueron diferentes entre variantes y especies (Cuadro 6.1). Así, los resultados indican que los nopalitos del género *Opuntia* son ricos en ácidos fenólicos.

De los dos grupos de ácidos fenólicos los derivados del ácido hidroxicinámico fueron los más comunes en los nopalitos, pues los ácidos cafeico y ferúlico estuvieron presentes en las 15 variantes; en contraste, del grupo derivado del ácido hidroxibenzoico únicamente el ácido siríngico se identificó en todas ellas (Cuadro 6.1).

El ácido *p*-coumárico, otro integrante del grupo derivado del ácido hidroxicinámico, aunque estuvo presente en las cinco especies y en 87 % de las variantes, en 54 % de éstas sólo se detectaron trazas del compuesto. También, sobresalió que el ácido *p*-coumárico estuviera en las tres variantes de *O. ficus-indica*, la especie con grado mayor de domesticación, pero ausente en las variantes de *O. hyptiacantha* (Amarilla Olorosa y San Pedreña) o sólo en cantidades traza (Memelo). Así, en 67 % de las

variantes de *O. albicarpa*, *O. megacantha* y *O. streptacantha* la presencia de ácido *p*-coumárico fue suficientemente baja para considerarla como trazas del compuesto (Cuadro 6.1).



**Figura 6.2** Cromatogramas típicos de los ácidos fenólicos identificados por HPLC en nopalitos de *Opuntia* spp. A) COPENA V1 de *O. ficus-indica*; B) Rojo Lirio de *O. megacantha*.

**Cuadro 6.1** Ácidos fenólicos detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia*.

Variante	Ácido fenólico †							
	Caf	Cou	Clo	Fer	Gal	Hid	Sir	Vai
<i>O. albicarpa</i>								
COPENA Z1	+++	T	Nd	+++	Nd	Nd	+++	+++
Naranjón Legítimo	+++	T	+++	+++	Nd	+++	+++	+++
Villanueva	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>O. ficus-indica</i>								
Atlixco	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Nd
COPENA V1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Nd
Rojo Vigor	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>O. hyptiakantha</i>								
Amarilla Olorosa	+++	Nd	Nd	+++	Nd	Nd	+++	T
Memelo 1	+++	T	+++	+++	+++	Nd	+++	Nd
San Pedreña	+++	Nd	+++	+++	Nd	T	+++	+++
<i>O. megakantha</i>								
Amarillo Plátano	+++	T	+++	+++	Nd	T	+++	+++
Rojo Lirio	+++	T	+++	+++	+++	T	+++	Nd
Rubí Reyna	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>O. streptakantha</i>								
Cardona	+++	T	+++	+++	Nd	Nd	+++	+++
Cardona de Castilla	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Nd
Tuna Loca	+++	T	Nd	+++	Nd	+++	+++	+++

† Caf, cafeico; Cou, *p*-coumarico; Clo, clorogénico; Fer, ferúlico; Gal, gálico; Hid, *p*-hidroxibenzoico; Sir, sirínico; Vai, vainillínico. +++, compuesto detectado; T, trazas del compuesto; Nd, no detectado.

El ácido clorogénico estuvo presente en 80 % de las variantes estudiadas (12) y en al menos dos variantes de cada especie; las excepciones, donde estuvo ausente fueron COPENA Z1, Amarilla Olorosa y Tuna Loca de *O. albicarpa*, *O. hyptiakantha* y

*O. streptacantha*, respectivamente. Es decir, únicamente dos especies (*O. ficus-indica*, con humanización mayor, y *O. megacantha*, con humanización intermedia), 40 % de las incluidas en el estudio, presentaron ácido clorogénico en todas sus variantes (Cuadro 6.1).

Entre los compuestos del grupo del ácido hidroxibenzoico, el ácido gálico se detectó sólo en 53 % de las variantes incluidas en el estudio, pero en al menos una variante por especie; así, este fue el ácido fenólico menos frecuente entre especies y variantes. Sin embargo, en las tres variantes de *O. ficus-indica* estuvo presente este ácido fenólico (Cuadro 6.1).

El ácido *p*-hidroxibenzoico se detectó en las cinco especies, pero sólo en 73 % de las variantes y, de éstas, 27 % presentaron sólo trazas. Sobresalió que en dos de las variantes (Amarilla Olorosa y Memelo 1) de *O. hyptiacantha* no se detectó este compuesto y sólo trazas en una de ellas (San Pedreña); es decir, el ácido *p*-hidroxibenzoico fue menos frecuente en esta especie. También sobresalió que este ácido fuera detectado en las tres variantes de *O. ficus-indica* (Cuadro 6.1).

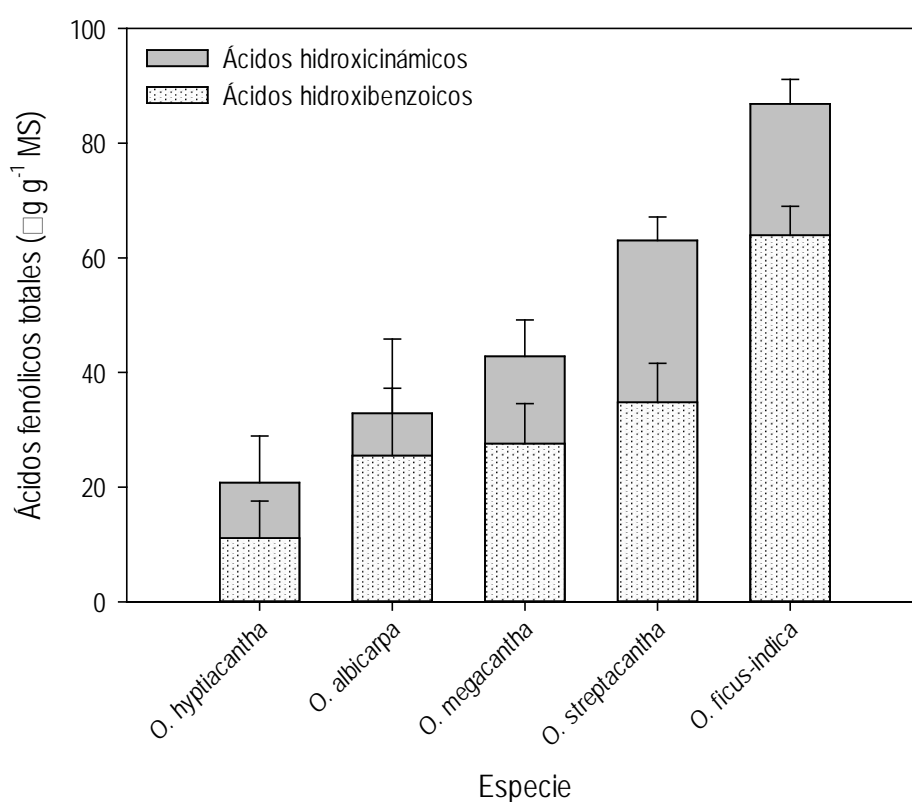
El ácido vainillínico estuvo presente en 66 % de las variantes, pero únicamente en *O. albicarpa* ocurrió en el 100 % de sus variantes (Atlixco y COPENA V1), y en las variantes de *O. ficus-indica* no se detectó este ácido fenólico. En 33 % de las variantes de *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* y *O. streptacantha* tampoco se detectó este compuesto (Cuadro 6.1).

Los ácidos fenólicos detectados coincidieron parcialmente con los encontrados por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) en nopalitos de variantes de especies silvestres y domesticadas, ya que en el presente estudio también se registró la presencia de los ácidos clorogénico, siríngico y vainillínico. La presencia de ácido salicílico no se comprobó en el presente estudio por la falta del estándar respectivo. En flores y frutos también se ha detectado el ácido gálico (Abdel-Hammed *et al.*, 2014) y derivados de los ácidos cafeico, *p*-coumárico, ferúlico y siríngico (Benayad *et al.*, 2014; Chahdoura *et al.*, 2014).



### Contenido de ácidos fenólicos

El contenido total de los ácidos fenólicos evaluados mostró un gradiente entre las especies, en el siguiente orden *O. hyptiacantha* < *O. albicarpa* < *O. megacantha* < *O. streptacantha* < *O. ficus-indica*, en el que la especie con grado mayor de domesticación tuvo hasta 4.5 veces el contenido de la especie con menos ácidos fenólicos (*O. hyptiacantha*) (Figura 6.3). Así, pareciera que este atributo carece de relación directa con la humanización de las especies estudiadas, pero podría estar vinculado con su taxonomía.



**Figura 6.3** Proporción de ácidos fenólicos en nopalitos de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 9.

Los ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxibenzoico presentaron una tendencia parcialmente similar a los totales, pues *O. albicarpa* presentó concentración similar a *O. megacantha* y *O. streptacantha*, y *O. ficus-indica* presentó seis veces el contenido de la especie con menos concentración (*O. hyptiacantha*) (Figura 6.3).

Los contenidos de ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico en *O. albicarpa* fueron similares a los de *O. hyptiacantha*, y los de *O. streptacantha* fueron cuatro veces los correspondientes a la especie con los contenidos menores (*O. albicarpa*) (Figura 6.3).

En general, el contenido de los ácidos fenólicos derivados del hidroxibenzoico fue significativamente mayor que el de los derivados del ácido hidroxicinámico; la excepción al respecto correspondió a *O. hyptiacantha* donde ambos contenidos fueron similares (Figura 6.3).

Las concentraciones de ácidos fenólicos totales en *O. ficus-indica* ( $86.87 \mu\text{g g}^{-1}$  MS; Figura 6.3), cuantificadas en este estudio fueron inferiores a las registradas por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) para nopalitos de la misma especie ( $95 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). Aunque no hay registros en la literatura sobre cada grupo de ácidos fenólicos en nopalitos, sí los hay en flores y frutos de *Opuntia* spp.; en estas estructuras se observó riqueza mayor del grupo de los ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, *p*-coumárico, sinápico y clorogénico) (Benayad *et al.*, 2014).

#### Ácido cafeico

El contenido de ácido cafeico varió sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las especies (de  $1.76$  a  $5.36 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Cuadro 6.2). En contraste entre las 15 variantes las diferencias detectadas sí fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ) y las concentraciones mayores ( $13.53 \mu\text{g g}^{-1}$  MS en COPENA V1 de *O. ficus-indica*) fueron hasta diez veces superiores que las menores ( $1.29$  a  $2.37 \mu\text{g g}^{-1}$  MS en Naranjón Legítimo y COPENA Z1 de *O. albicarpa*, Atlixco de *O. ficus-indica* y Rojo Lirio y Rubí Reyna de *O. megacantha*). Las diferencias intraespecíficas en el contenido de ácido cafeico no fueron significativas, con excepción de COPENA V1 de *O. ficus-indica* con hasta tres veces más que las otras variantes de la misma especie (Figura 6.4 A).

**Cuadro 6.2** Contenido de ácidos fenólicos ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) en nopalitos de cinco especies de *Opuntia* con distintos grados de humanización.

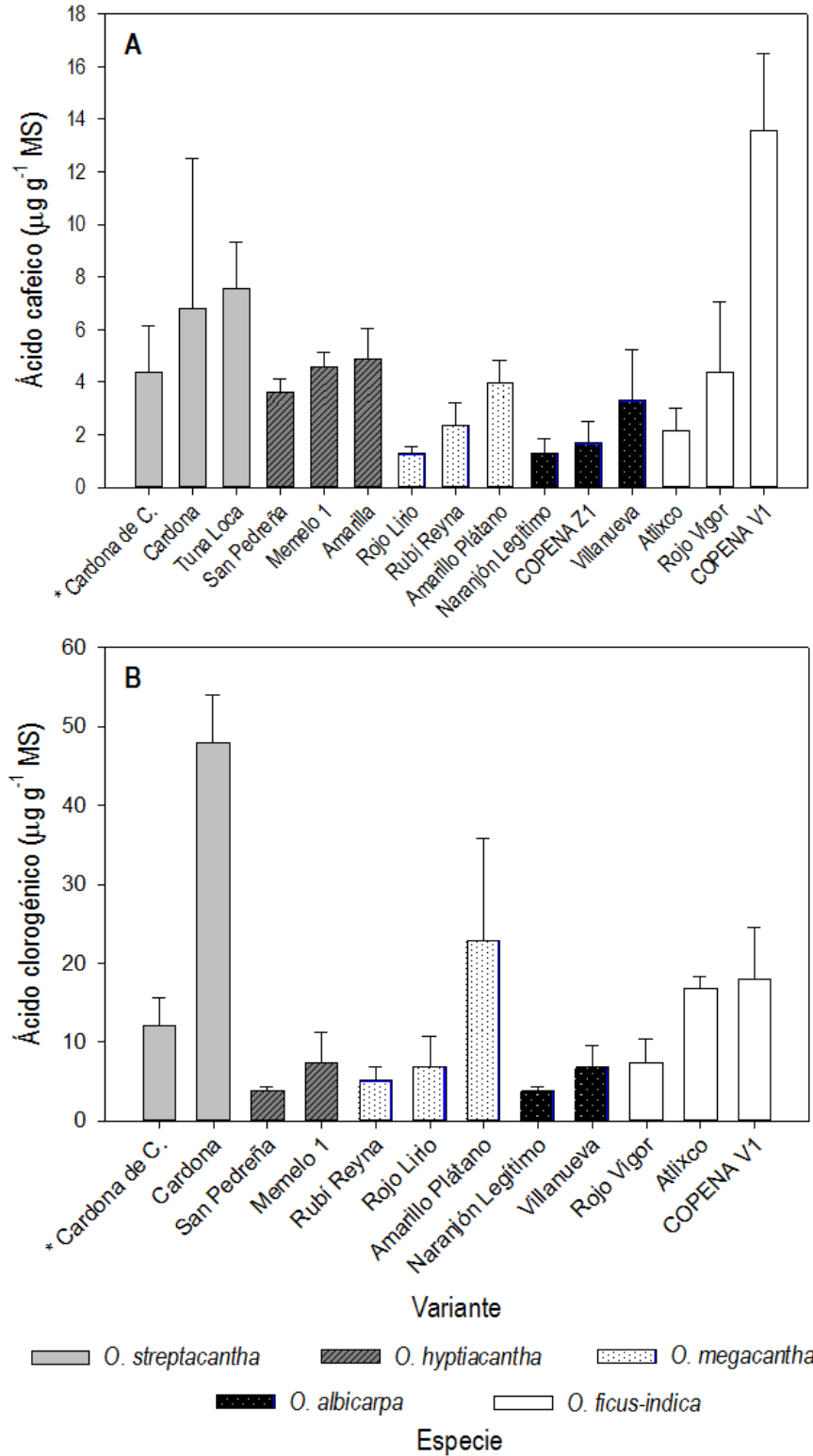
Ácido fenólico	Especie*				
	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. hyptiacantha</i>	<i>O. megacantha</i>	<i>O. albicarpa</i>	<i>O. ficus-indica</i>
Cafeico	5.13 a	4.25 a	2.24 a	1.76 a	5.36 a
Clorogénico	26.49 a	5.08 b	7.57 b	5.00 b	12.94 ab
<i>p</i> -coumárico	0.05 a	0.04 a	0.06 a	0.03 a	0.12 a
Ferúlico	1.92 a	1.56 a	2.16 a	1.66 a	2.09 a
Gálico	34.61 a	23.07 a	20.53 a	36.00 a	38.96 a
<i>p</i> -hidroxibenzoico	0.56 a	0.08 a	0.14 a	0.48 a	1.84 a
Siríngico	8.15 ab	2.34 b	4.75 ab	4.46 b	13.99 a
Vainillínico	19.02 ab	0.11 b	7.79 ab	7.44 ab	24.30 a

\*Filas con la misma letra indican similitud estadística ( $p \leq 0.05$ ),  $n = 9$ .

El ácido cafeico es uno de los más abundantes en el reino vegetal y se tienen registros de que puede representar entre el 75 y 100 % del contenido total de ácidos hidroxicinámicos, concentrados principalmente en la cáscara de frutas, *i.e.* albaricoque (*Prunus armeniaca* L.), ciruela (*Prunus domestica* L.), mango (*Mangifera indica* L.), manzana (*Malus domestica* Borkh.), pera (*Pirus communis* L.) y uva (*Vitis vinifera* L.), en frutos subterráneos de almacenamiento, *i.e.* camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) y papa (*Solanum tuberosum* L.), verduras como la berenjena (*Solanum melongena* L.) y en semillas de café (*Coffea arabica* L.) (Proestos *et al.*, 2012). El ácido cafeico es reconocido por su efecto antioxidante, su potencial para ralentizar la inflamación y contra el daño endotelial (Valero-Navarro *et al.*, 2011).

#### Ácido clorogénico

El contenido medio de ácido clorogénico presentó diferencias interespecíficas significativas (Cuadro 6.2). Este ácido fenólico en la especie *O. streptacantha* ( $26.49 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) reconocida como silvestre, y en *O. ficus-indica* ( $12.94 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), con el grado de domesticación mayor, fue más abundante que en las otras especies, las cuales no presentaron diferencias significativas entre sí ( $p > 0.05$ ).



**Figura 6.4** Contenido medio de ácidos cafeico (A) y clorogénico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

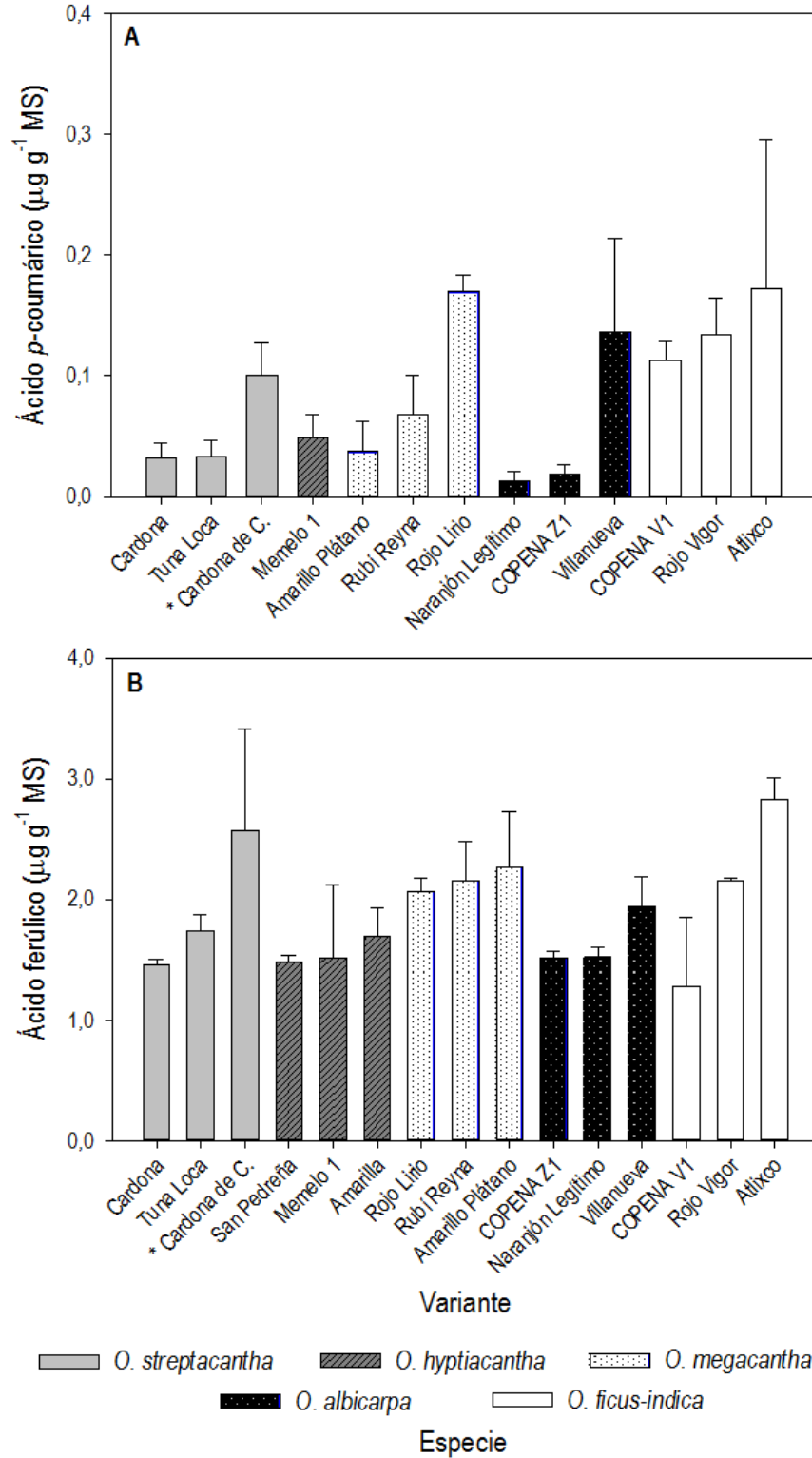
La diferencia intraespecífica fue mayor entre las dos variantes de *O. streptacantha* para el ácido clorogénico (cuatro veces mayor en Cardona respecto a Cardona de Castilla). También hubo diferencias entre las variantes de las otras especies pero aunque fueron significativas, fueron mucho menores que en *O. streptacantha* (Figura 6.4 B). Además, la proporción media de este compuesto representó 28 % del total de los ácidos fenólicos en los nopalitos de *O. streptacantha* y en las otras cuatro especies fluctuó entre 9 % en *O. albicarpa* y 13 % en *O. ficus-indica* (Cuadro 6.2).

La identificación y cuantificación del ácido clorogénico en los nopalitos del 80 % de las variantes es destacable, pues se carece de antecedentes sobre presencia de este compuesto en *Opuntia* en la literatura especializada.

Varios autores han documentado las propiedades antioxidantes de algunas hortalizas, *i.e.* la cáscara del jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) que contienen ácido clorogénico libre (Nara *et al.*, 2006). Otros autores han encontrado efectos antimicrobianos bajos o nulos de este compuesto (Giada, 2012; Wen *et al.*, 2003), por lo que este ácido fenólico podría participar principalmente en el control de los daños oxidativos y no en el control de enfermedades originadas por bacterias. Lo que podría explicar su mayor concentración en la especie silvestre (*O. streptacantha*).

#### *Ácido p-coumárico*

El ácido *p*-coumárico fue el ácido fenólico menos abundante en los nopalitos (0.03 a 0.12  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) y sin diferencias significativas entre las especies (Cuadro 6.2). Además, las diferencias ( $p \leq 0.05$ ) dentro de las especies fueron poco frecuentes, pues sólo en tres de ellas una de sus variantes presentó contenido mayor de este compuesto que las otras dos variantes (Figura 6.5 A).



**Figura 6.5** Contenido medio de ácidos *p*-coumárico (A) y ferúlico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar;  $n = 3$  (\* Cardona de Castilla).

El contenido de ácido *p*-coumárico cuantificado en los nopalitos de las 15 variantes (Figura 6.5 A) fue menor que el registrado en nopalitos silvestres con tonalidades purpúreas de *O. robusta* Wendl. (141 a 162  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010). Saleem *et al.* (2006) registraron la presencia de este compuesto en cladodios de *O. ficus-indica* var. Saboten, pero sin indicar la concentración del compuesto.

El ácido *p*-coumárico actúa como regulador del desarrollo rizobial (Seneviratne y Jayasinghearachchi, 2003), y está asociado a la pared celular donde actúa como enlace entre los polisacáridos (Zarra *et al.*, 2012). Posiblemente en *Opuntia* bajo condiciones de estrés hídrico se incrementa su concentración ya que se ha documentado un incremento en la concentración de polisacáridos en estas condiciones (García, 2007). Sin embargo, serán necesarios estudios especializados que comprueben este supuesto. Estudios diversos han mostrado que este ácido en los alimentos previene la oxidación de lipoproteínas de densidad baja y la aterosclerosis (Cheng *et al.*, 2007; Giada, 2012).

#### Ácido ferúlico

El contenido de ácido ferúlico fue uno de los más homogéneos entre las especies ( $p > 0.05$ ; 1.56 a 2.16  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Cuadro 6.2), y entre variantes de las especies, ya que sólo entre las de *O. ficus-indica* hubo diferencias significativas (Figura 6.5 B).

Las concentraciones de ácido ferúlico de los nopalitos del presente estudio fueron menores a las publicadas por Guevara-Figueroa *et al.* (2010), de 5.6 a 19.6  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS en variantes cultivadas y de 7.7 a 347.7  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS en variantes silvestres. Este compuesto también fue detectado por Saleem *et al.* (2006) en cladodios de *O. ficus-indica* var. Saboten, aunque sin precisar el contenido, y en flores de *O. ficus-indica* se registraron sus derivados (Benayab *et al.*, 2014). El ácido ferúlico ha sido asociado con propiedades desinflamantes, como antidiabético y neuroprotector, y se tiene conocimiento de que es un antioxidante potente que previene en la planta daños celulares, por su efecto protector contra los rayos UV (Srinivasan *et al.*, 2007).

### Ácido gálico

El ácido gálico fue el ácido fenólico más abundante de los ocho evaluados en los nopalitos (20.53 a 38.96  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS), pero sin diferencias significativas entre las especies ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 6.2). Debido a que este compuesto estuvo ausente en 47 % de variantes de las cinco especies de *Opuntia*, la variabilidad intraespecífica no se detectó, con excepción de *O. ficus-indica* que presentó contenido similar ( $p > 0.05$ ) entre sus tres variantes (Figura 6.6 A). Guevara-Figueroa *et al.* (2010) registraron en nopalitos de *O. ficus-indica*, *O. leucotricha* y *O. robusta* contenidos inferiores de ácido gálico (6.4 a 23.7  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) a los obtenidos en este estudio.

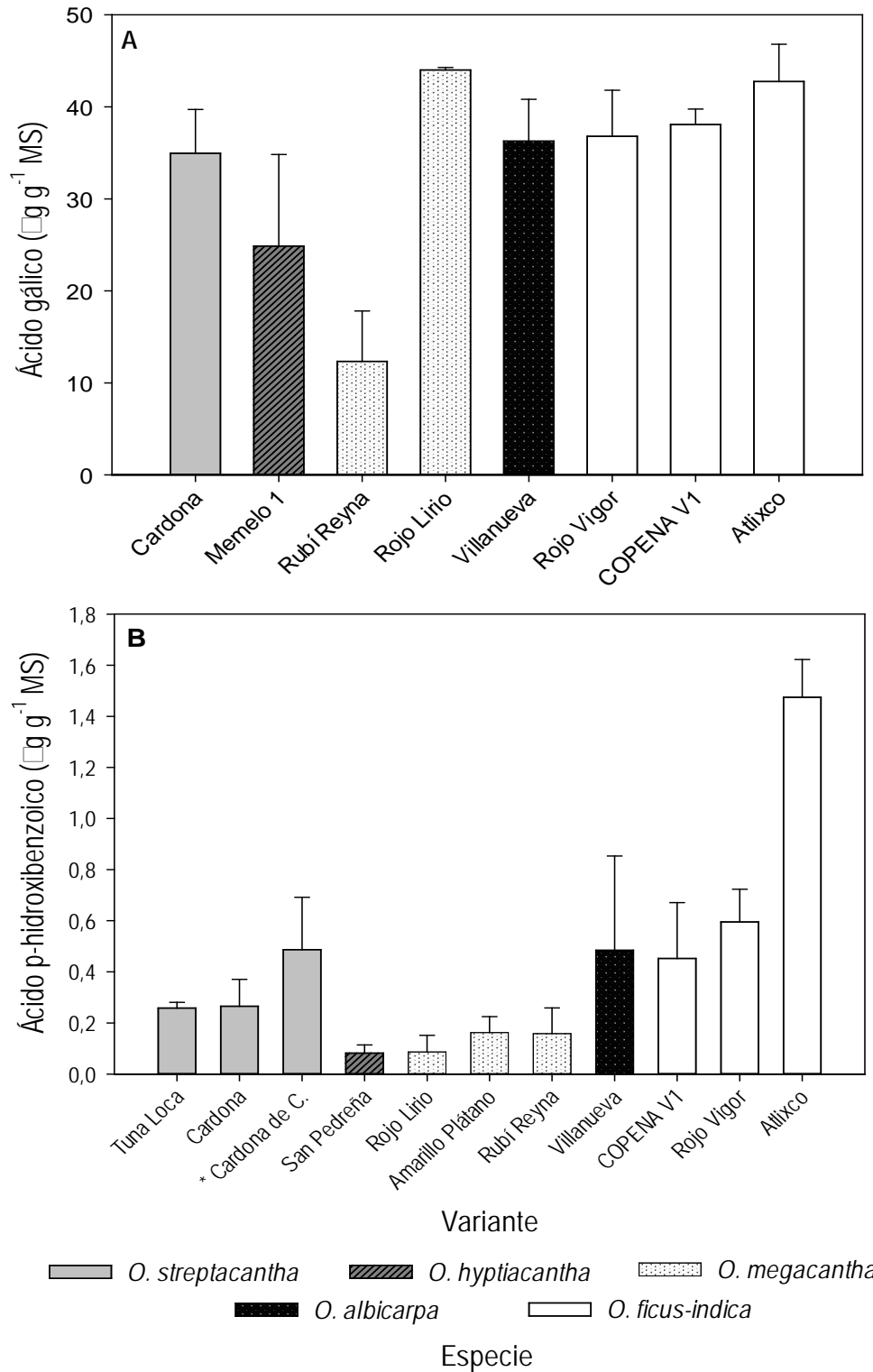
Los resultados de estudios *in vivo* e *in vitro* han permitido reconocer que el ácido gálico puede actuar como antioxidante, y entre sus efectos probables está el control de la obesidad y la diabetes (Glick, 1981; Hsu *et al.*, 2007). Otros estudios demostraron que el ácido gálico inhibió el desarrollo de pre-adipocitos e indujo la apoptosis en esas células (Hsu y Yen, 2006; Ross *et al.*, 2000). Por lo anterior, las variantes de *O. ficus-indica*, especie con distribución amplia y nivel de humanización mayor, pueden considerarse como fuente rica de este compuesto.

### Ácido *p*-hidroxibenzoico

El contenido medio de ácido *p*-hidroxibenzoico (0.08 a 1.84  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) fue estadísticamente similar entre las especies (Cuadro 6.2). La variabilidad intraespecífica fue baja; únicamente en *O. ficus-indica*, Atlixco tuvo contenido significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que las otras variantes de esta especie. Además, Atlixco sobresalió porque su contenido de ácido *p*-hidroxibenzoico fue en promedio tres veces mayor que el de las otras dos variantes de *O. ficus-indica* (Figura 6.6 B).

Las concentraciones de ácido *p*-hidroxibenzoico en los nopalitos en este estudio (Cuadro 6.2; Figura 6.6 B) fueron varias veces menores que las publicadas por Guevara-Figueroa *et al.* (2010), quienes registraron desde 5.0 hasta 47.2  $\mu\text{g g}^{-1}$  en nopalitos de diversas especies. Este compuesto se ha descrito como un antioxidante en kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) (Fiorentino *et al.*, 2009).



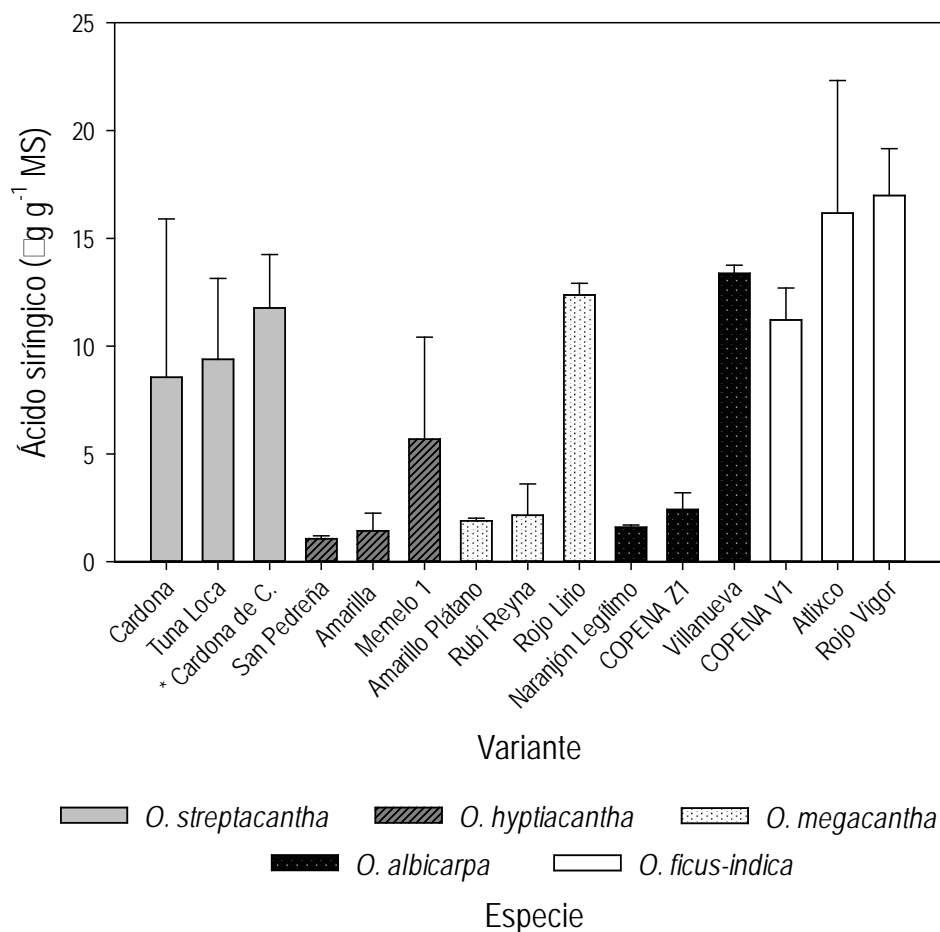


**Figura 6.6** Contenido medio de ácidos gálico (A) y *p*-hidroxibenzoico (B) en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

### Ácido siríngico

En el contenido de ácido siríngico hubo diferencias interespecíficas significativas ( $p \leq 0.05$ ), una de las especies que se considera silvestre, *O. hyptiacantha*, y una de las más humanizadas, *O. albicarpa*, tuvieron el contenido menor de este ácido (en promedio  $3.4 \mu\text{g g}^{-1}$  MS); en contraste, la otra especie muy humanizada (*O. ficus-indica*) mostró un contenido cuatro veces superior (Cuadro 6.2).

El contenido medio de ácido siríngico dentro de las especies en tres de ellas (*O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. ficus-indica*) fue estadísticamente similar ( $p > 0.05$ ). En contraste, en las otras dos especies, únicamente una de sus variantes se diferenció por su contenido significativamente alto de ácido siríngico (Figura 6.7). Estos resultados indican que el contenido de ácido siríngico inter e intraespecífico es poco variable. Esta información es destacable porque en nopalitos de *Opuntia* no hay registro previo de la presencia de este compuesto; sin embargo, su presencia sí se ha documentado en flores de *O. ficus-indica* (Benayad *et al.*, 2014). El estudio de Fernández *et al.* (1996) mostró que el ácido siríngico tiene efecto antibacterial. Otro estudio mostró que este compuesto tuvo efecto discreto o nulo como antioxidante (Papadopoulos y Boskou, 1991).



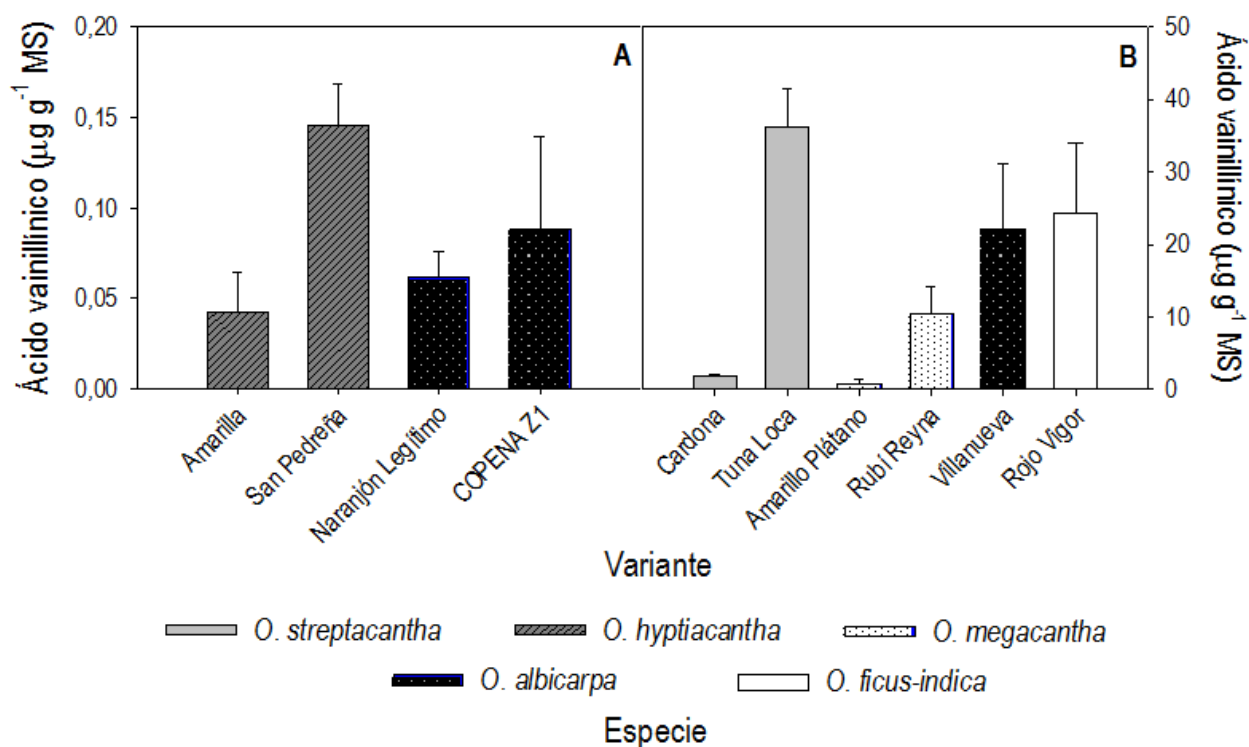
**Figura 6.7** Contenido medio de ácido siríngico en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

### Ácido vainillínico

El contenido medio de ácido vainillínico presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre especies. Los contenidos de este ácido en los nopalitos variaron de  $0.11 \mu\text{g g}^{-1}$  MS en *O. hyptiacantha*, una de las especies con grado menor de humanización, a  $24.30 \mu\text{g g}^{-1}$  MS en *O. ficus-indica* (Cuadro 6.2).

La variación intraespecífica del contenido de ácido vainillínico fue notablemente amplia. Además de que este ácido fenólico estuvo ausente en una o dos variantes de cuatro de las cinco especies, en una se presentó sólo en trazas y las concentraciones suficientes para detectarlos variaron de  $0.03$  a  $1.89 \mu\text{g g}^{-1}$  MS, en Amarilla Plátano de *O. megacantha*, a  $35.76 \mu\text{g g}^{-1}$  MS en Tuna Loca de *O. strepacantha* (Figura 6.8).

Como en el caso del ácido siríngico, los estudios con el ácido vainillínico han mostrado que carece de efecto antioxidante, pero sí muestra efecto antibacteriano (Fernández *et al.*, 1996; Papadopoulos y Boskou, 1991). Otro aspecto sobresaliente fue que la presencia de ácido vainillínico en los tejidos de plantas del género *Opuntia* no está documentada en la literatura especializada. Así, parece pertinente conocer el papel de este ácido fenólico en la fisiología de la planta y en la salud humana a través de estudios detallados.



**Figura 6.8** Contenido medio de ácido vainillínico, + error estándar, en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*. (A) Variantes con contenidos menores que  $0.2 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$ ; (B) Variantes con contenidos menores que  $40 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$  ( $n = 3$ ).

La presencia de derivados del ácido hidroxibenzoico en tejidos vegetales en ambientes áridos podría deberse en parte a la irradiación solar. Este factor abiótico tiene incidencia en el proceso evolutivo y adaptativo de las especies (Nobel, 1988). La presencia de los derivados del ácido hidroxibenzoico se ha relacionado con los

mecanismos antioxidantes de las plantas para tolerar ambientes con estrés abiótico, como el generado por temperaturas extremas (Horváth *et al.*, 2007), restricción de humedad (Galieni *et al.*, 2015) y periodos prolongados de exposición a la luz solar (Carvalho *et al.*, 2010). Al respecto, Horváth *et al.* (2007) encontraron en trigo que el incremento en el contenido de ácidos fenólicos se correlaciona con la capacidad mayor de la planta a sobrevivir en condiciones de sequía y temperaturas bajas. Por su parte, Carvalho *et al.* (2010), en un estudio realizado en plantas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam., encontraron que en plantas expuestas a fotoperiodos de 16 h durante 10 d el contenido de los derivados del ácido hidroxibenzoico fue tres veces mayor que el de las plantas sometidas a fotoperiodos de 8 h, y fue hasta 12 veces mayor después de 30 d de haber sido sometida la planta a 16 h de luz; por ello, estos autores concluyeron que los ácidos hidroxibenzoicos se relacionan con la protección de la planta a regímenes prolongados de luz. En *Opuntia* parece que los estudios de la función fisiológica de estos compuestos son inéditos por lo que son necesarios estudios en los que se evalúen las modificaciones, síntesis y acumulación de los ácidos fenólicos en reacción a los factores ambientales aislados y en conjunto. Ello será un reto para los especialistas debido a la cantidad de especies y variantes, a los niveles distintos de humanización en los que se encuentran y a los climas diversos donde se desarrollan las plantas de este género.

Por otro lado, los derivados del ácido hidroxicinámico se han identificado como metabolitos relacionados con la protección de las plantas contra patógenos, pues están involucrados en la estructura y composición de la pared celular (Benayad *et al.*, 2014). La presencia de algunos de estos compuestos se han documentado en las flores de *Opuntia*; por lo que la evidencia en este estudio de su presencia en nopalitos (Cuadros 6.1 y 6.2) es un precedente para investigaciones futuras. En las especies identificadas en los extremos de un gradiente de humanización, *O. ficus-indica*, con el grado mayor de domesticación, y *O. streptacantha*, una de las más silvestres (García-Nava *et al.*, 2015; López-Palacios *et al.*, 2015; Reyes-Agüero *et al.*, 2005), en promedio también se presentaron los contenidos extremos del total de los derivados del ácido hidroxicinámico de las cinco especies. Lo anterior sugiere que durante el proceso de selección humana, en *O. ficus-indica* se redujo o eliminó la producción de estos

compuestos, en parte probablemente debido a que sus variantes son utilizadas como hospederas para la cría de la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), de la cual se obtiene el tinte de grana. Al respecto, los aspectos históricos descritos por Chávez-Moreno *et al.* (2009) indican que la domesticación de *D. coccus* y el desarrollo de cultivares de *O. ficus-indica* sucedieron de manera simultánea en regiones de la cultura Tolteca. Sin embargo, serán necesarios estudios detallados para comprobar o rechazar el supuesto de que la composición química de las variantes interfiere en la infestación de *D. coccus*. Las diferencias en presencia y contenido de ácidos fenólicos en las variantes de *O. ficus-indica* con respecto a las de especies silvestres puede deberse también a los procesos de selección durante la humanización dirigida a la eliminación de las espinas (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), a la producción de nopalitos o tunas y al cambio de ambiente, de silvestre a humanizado.

## **Conclusiones**

Se reconoció la presencia de ocho tipos de ácidos fenólicos, aunque su distribución entre las especies y sus variantes fue diversa. Por primera vez se documenta la presencia de los ácidos clorogénico, siríngico y vainillínico en nopalitos de *Opuntia*. Los nopalitos de *O. ficus-indica* tienen la concentración menor de ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico, y los de *O. hyptiacantha* la menor. Con excepción del ácido vainillínico, los ácidos fenólicos están presentes en el 100 % de las variantes de *O. ficus-indica* evaluadas. De los ocho ácidos fenólicos caracterizados en el estudio, el ácido gálico fue el más abundante en los nopalitos de las cinco especies estudiadas, y el ácido *p*-coumárico fue el menos abundante; los ácidos cafeico, ferúlico y siríngico fueron comunes a todas las variantes de las cinco especies. Se sugieren estudios detallados en los que se evalúe el efecto que estos compuestos que puedan tener en la planta y en su interacción con factores abióticos y bióticos, y su posible efecto en la fisiología de los consumidores. La variación intra-específica de ácidos fenólicos en los nopalitos fue mayor en *O. ficus-indica*.

## Literatura citada

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. Food Chemistry. 160: 31-38.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 776 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.
- Ávalos G., A. y E. Pérez-Urria C. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología), Serie Fisiología Vegetal. 2: 119-145.
- Balzarini M., G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di-Rienzo y C.W. Robledo. 2008. Infostat. Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Benayad, Z., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cordoves y 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.
- Carvalho, I.S., T. Cavaco, L.M. Carvalho y P. Duque. 2010. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. Food Chemistry. 118: 384-390.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. Journal of Functional Foods. 9: 27-37.
- Chávez-Moreno, C., A. Casas y A. Tecante. 2009. The *Opuntia* (Cactaceae) and *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use, interaction and distribution. Biodiversity and Conservation. 18: 3337-3355.

- Cheng, J.C., F. Dai, B. Zhou, L. Yang y Z.L. Liu. 2007. Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: mechanism and structure-activity relationship. *Food Chemistry*. 104: 132-139.
- Cheynier, V., G. Comte, K.M. Davies, V. Lattanzio y S. Martens. 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 72: 1-20.
- Di-Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C.W. Robledo. InfoStat v. 2011. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- Edi-Soetaredjo, F., S. Ismadji y Y-H. Ju. 2012. Phenolic compounds in stable plants. En: Munné-Bosch, S. (Ed.). *Phenolic acids: compositions, applications and health benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. pp. 14-31.
- Fernández, M.A., M.D. García y M.T. Sáenz. 1996. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. *Journal of the Ethnopharmacology*. 53: 11-14.
- Fiorentino, A., B. D'Abrosca, S. Pacifico, C. Mastellone, M. Scognamilio y P. Monaco. 2009. Identification and assessment of antioxidant capacity of phytochemicals from Kiwi fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 57: 4148-4155.
- Galieni, A., C. di Mattia, M. de Gregorio, S. Speca, D. Mastrocola, M. Pisante y F. Stagnari. 2015. Effects of nutrient deficiency and abiotic environmental stresses on yield, phenolic compounds and antiradical activity in lettuce. *Scientia Horticulturae*. 187: 93-101.
- García, E. 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.
- García-Nava, F.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo; R. García N.; J. A. Reyes A.; J. R. Aguirre R. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp. Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution*. DOI 10.1007/s10722-014-0201-7.
- García R., M.T. 2007. Procesos fisiológicos y contenido de polisacáridos estructurales en nopalito (*Opuntia* spp.) y su modificación por el potencial de agua del suelo.



- Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. México. 124 p.
- Giada, M.L.R. 2012. Phenolic acids as additives in the food industry. En: Munné-Bosch, S. (Ed.). Phenolic acids: compositions, applications and health benefits. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. pp. 125-145.
- Glick, Z. 1981. Modes of action of gallic acid in suppressing food intake of rats. The Journal of Nutrition. 111: 1910-1916.
- Granados S., A. y A.D. Castañeda P. 1991. El nopal, historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Editorial Trillas. México, D.F. 227 p.
- Griffith, M.P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. American Journal of Botany. 91: 1915-1921.
- 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 y A.P. Barba-de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolics acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). Journal of Food Composition and Analysis. 23: 525-532.
- Horváth, E., M. Pál, G. Szalai, E. Páldi y T. Janda. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Biologia Plantarum. 51: 480-487.
- Hsu, C.L., W.H. Lo y G.C. Yen. 2007. Gallic acid apoptosis in 3T3-L1 Pre-adipocytes via a Fas- and mitochondrial-mediated pathway. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 7359-7365.
- Hsu, C.L. y G.C. Yen. 2006. Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes by flavonoids is associated with their antioxidant activity. Molecular Nutrition and Food Research. 50: 1072-1079.
- Ignat, I., I. Volf y V.I. Popa. 2011. A critical review for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chemistry. 126: 1821-1835.
- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. Food Chemistry. 85: 527-533.

- Labra, M.; Grassi, F.; Bardini, M.; Imazio, S.; Guiggi, A.; Cittero, S.; Banfi, E.; Sgorbati, S. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. Genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science*. 165: 1129-1136.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero, J.R. Aguirre-Rivera, H.M. Ramírez-Tobías, R.M. Soto-Hernández y J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. *Genetic Resources and Crop Evolution*. DOI 10.1007/s10722-015-0223-9
- Mattila, P. y J. Hellström. 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 152-160.
- Majure, L.C., R. Puente, M.P. Griffith, W.S. Judd, P.S. Soltis y D.E. Soltis. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany*. 99: 847-864.
- Nara, K., Miyoshi, T. Honma, T. y Koga Hidenori. 2006. Antioxidative activity of bound-form phenolics in potato peel. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 70: 1489-1491.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press. New York, USA. 270 p.
- Papadopoulos, G. y D. Boskou. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 9: 669-671.
- Proestos, C., A.E. Koutelidakis, M. Kapsokefalou y M. Komaitis. 2012. Fruits and vegetables: a rich source of phenolic acids. En: Munné-Bosch, S. (Ed.). *Phenolic acids: compositions, applications and health benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. pp. 1-13.
- Quidaeau, S., D. Deffieux, C. Douat-Casassus y L. Pouységu. 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*. 50: 586-621.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre-Rivera, F. Carlin-Castelán y A. González-Durán. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACyT. San Luis Potosí, México.

- 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.
- Rodríguez-Félix, A. 1986. Cambios Químicos y fisiológicos durante el desarrollo de cladodios (nopalitos) de 3 especies de *Opuntia*. Tesis de Maestría. Departamento de Nutrición y Alimentos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. 83 pp.
- Ross, S.E., N. Hemati, K.A. Longo, C.N. Bennett, P.C. Lucas, R.L. Erickson y O.A. MacDougald. 2000. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science*. 289: 950-953.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 1844-1852.
- Seneviratne, G. y H.S. Jayasinghearachchi. 2003. Phenolic acids: posible agents of modifying N<sub>2</sub>- fixing symbiosis through rhizobial alteration?. *Plant and Soil*. 252: 385-395.
- Soetaredjo, F. E., S. Ismadji y Y. H. Ju. 2012. Phenolic compounds in stable plants. En: Munné-Bosch, S. (Ed.). *Phenolic acids: compositions, applications and health benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. pp. 14-31.
- Srinivasan, M., A.R. Sudheer y V.P. Menon. 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of Clinical and Biochemicas Nutrition*. 40: 92-100.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. *Plant physiology*. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachesets, USA. 782 pp.
- Valero-Navarro, A., M. Gómez-Romero, J.F. Fernández-Sánchez, P.A.G. Cormack, A. Segura-Carretero y A. Fernández-Gutiérrez. 2011. Synthesis of caffeic acid molecularly imprinted polymer microspheres and high-performance liquid chromatography evaluation of their sorption properties. *Journal of Chromatography A*. 1218: 7289-7296.

Wen, A., P. Delaquis, K. Stanich y P. Tolonen. 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*. 20: 305-311.

Zarra, I., G. Revilla, J. Sampedro y E.R. Valdivia. Phenolic acids in plant cell walls: composition and industrial applications. En: Munné-Bosch, S. (Ed.). *Phenolic acids: compositions, applications and health benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. pp. 33-71.

## Capítulo VII. Variación inter- e intraespecífica de flavonoides en nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae)

### Resumen

Los flavonoides forman un grupo amplio de productos naturales presentes en diversos tejidos vegetales, dentro de las células y en la superficie de los órganos de las plantas. Se sintetizan por la ruta de los fenilpropanoides; entre sus funciones biológicas está la protección contra radiación UV y fitopatógenos, señalización durante la nodulación, fertilidad del polen, transporte de las auxinas y coloración de las flores que favorece la atracción de polinizadores. Los flavonoides ya han sido estudiados en cladodios, flores y frutos del género *Opuntia*, pero el objetivo de este estudio fue evaluar las diferencias intra- e interespecíficas de flavonoides en nopalitos (*Opuntia* spp.). La hipótesis fue que la variación intraespecífica de flavonoides en los nopalitos del género *Opuntia* es menor que la inter-específica. En el estudio se emplearon nopalitos de 17.5 cm de longitud, de 15 variantes de *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica* (L.) Mill., *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. Los extractos metanólicos de 0.5 g de tejido seco se analizaron por cromatografía de líquidos de alta resolución. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 15 tratamientos y tres repeticiones. Los resultados se analizaron mediante ANDEVA y comparación múltiple de medias de Tukey. Sobresalió la presencia de apigenina en los nopalitos, lo cual es novedoso en la literatura especializada. Entre especies no se detectaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en apigenina ni en rutina; y aunque tampoco hubo diferencias significativas en el contenido de isoramnetina y quercetina, el primer flavonoide estuvo ausente en *O. hyptiacantha* y el segundo en *O. streptacantha* y *O. megacantha*. Las especies sí difirieron en el contenido total de esos cuatro flavonoides; *O. ficus-indica*, la especie con grado mayor de humanización, tuvo la concentración mayor ( $23.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y *O. megacantha* la menor ( $9.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). La quercetina fue más abundante en los nopalitos de *O. albicarpa* (70 %), *O. ficus-indica* (50 %) y *O. hyptiacantha* (80 %), la isoramnetina en *O. streptacantha* (71 %), y la rutina en *O. megacantha* (51 %). Las diferencias intraespecíficas fueron diversas para cada flavonoide y cada especie.

**Palabras clave:** apigenina, flavonoides, isoramnetina, nopalitos, *Opuntia*, quercetina, rutina.

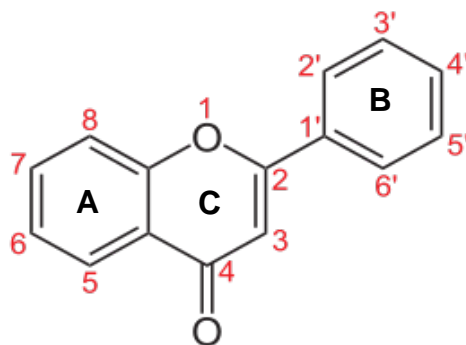
## Abstract

Flavonoids are a large group of natural products and are found in various plant tissues, inside the cells and on the surface of plant organs. They are synthesized by the route of the phenylpropanoids. Flavonoids have different biological functions that include protection against UV radiation and phytopathogens, signaling in nodulation, pollen fertility, transport of auxins, and providing colored flowers to attract pollinators. Flavonoids have been studied in cladodes, flowers, and fruits of *Opuntia*. The objective was to assess the differences intra- and inter-specific of flavonoids in nopalitos (*Opuntia* spp.). The hypothesis was that the variation intra-specific of flavonoids in nopalitos genus *Opuntia* is lower than the inter-specific. In the study, were used nopalitos of 17.5 cm in length of 15 variants of *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica* (L.) Miller, *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. Methanolic extracts of 0.5 g of dry tissue were analyzed by high-performance liquid chromatography. The experimental design employed was a completely random with 15 treatments and three replications. The results were analyzed by ANOVA and multiple comparisons of means by Tukey. The presence of apigenin stood out in nopalitos, because in the specialized literature had not documented. Among the species were not detected significant differences ( $p > 0.05$ ) in apigenin and rutin; although there were no significant differences in the content of quercetin and isorhamnetin, the first flavonoid was absent in *O. hyptiacantha* and the second in *O. streptacantha* and *O. megacantha*. Species differed in the total content of these four flavonoids and *O. ficus-indica*, species with higher degree of domestication, had the highest concentration ( $23.3 \mu\text{g g}^{-1}$  DM) and *O. megacantha* the lower ( $9.3 \mu\text{g g}^{-1}$  DM). Quercetin was the flavonoid more abundant in nopalitos of *O. albicarpa* (70 %), *O. ficus-indica* (50 %) and *O. hyptiacantha* (80 %), isorhamnetin in *O. streptacantha* and rutin in *O. megacantha* (51 %). Intravarietales differences were different for each type of flavonoid and each species.

**Keywords:** apigenin, flavonoid, isorhamnetin, nopalitos, *Opuntia*, quercetin, rutin.

## Introducción

La palabra flavonoide viene del latín "flavus" y significa "amarillo". El grupo de compuestos identificados como flavonoides incluye numerosos compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- $\gamma$ -pirano; en las plantas vasculares están distribuidos ampliamente y se encuentran en forma libre o unidos pues azúcares formando heterósidos (glucósidos). En los flavonoides se incluyen todos los compuestos fenólicos con estructura básica de 15 carbonos (Figura 7.1), organizados en tres anillos: dos bencénicos (con seis carbonos: A y B), unidos con un heterocíclico (C, en la Figura 7.1), el cual puede ser pirano o pirona (si tiene un doble enlace en la posición 4). En plantas se han descrito varios miles de flavonoides naturales, los cuales se han agrupado de acuerdo con su estructura química (Winkel-Shirley, 2001). Los flavonoides comparten su biosíntesis con los fenoles (Figura 7.2).

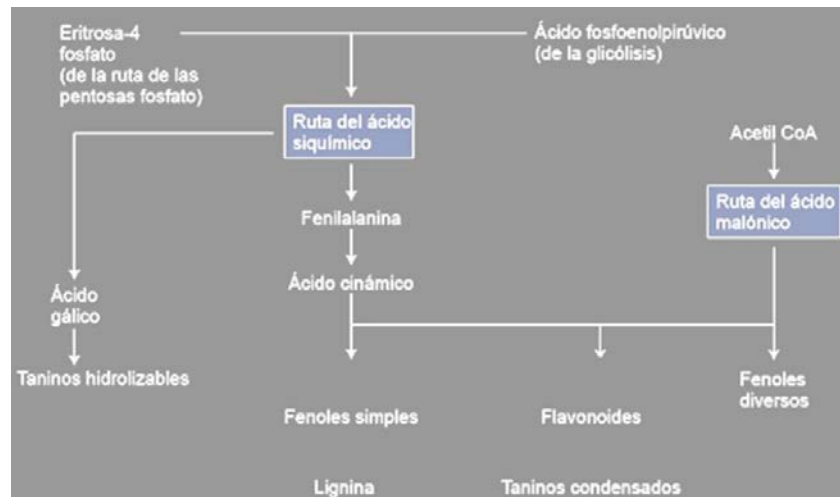


**Figura 7.1** Estructura química básica de los flavonoides (Winkel-Shirley, 2001).

Los flavonoides libres y sus heterósidos forman un grupo amplio de productos naturales, con más de 10,000 estructuras diferentes ya identificadas (Veicht y Grayer, 2008). Los flavonoides se biosintetizan por la ruta de los fenilpronoides mediante la transformación de la fenilalanina en 4-coumaroyl-CoA, que se incorpora a la biosíntesis del flavonoide (Figura 7.2). La primera enzima específica de la biosíntesis de los flavonoides es chalcona sintasa la cual produce la chalcona base; de esta molécula se derivan todos los flavonoides. Después, un grupo de enzimas isomerasas, reductasas, hidroxilasas y varias dioxigenasas  $Fe^{2+}$ /2-oxoglutarato modifican la estructura de los flavonoides (Martens *et al.*, 2010). Al final de la ruta, las transferasas modifican la



cadena de los flavonoides con azúcares y grupos metilo y regulan la actividad fisiológica de los flavonoides resultantes con diversa solubilidad, reactividad e interacción con las células (Ferrer *et al.*, 2008).



**Figura 7.2** Ruta de biosíntesis de los flavonoides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Los flavonoides tienen funciones biológicas en los tejidos, dentro de las células y en la superficie de los órganos vegetales que incluyen la protección contra la radiación ultravioleta y fitopatógenos, señalización durante la nodulación, fertilidad del polen, transporte de las auxinas y atracción de polinizadores mediante la coloración de las flores (Winkel-Shirley, 2006). Los flavonoides también intervienen en la protección de las células contra el daño por fotooxidación durante la senescencia (Feild *et al.*, 2001).

El género *Opuntia* presenta la mayor diversidad y distribución de la familia Cactaceae (Anderson, 2001), con un proceso de especiación originado hace aproximadamente 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011) y en continuo cambio y diferenciación evolutiva (Granados y Castañeda, 1991; Labra *et al.*, 2003). Los cladodios de *Opuntia* han sido empleados tradicionalmente para tratar una variedad de enfermedades, como diabetes e hipercolesterolemia. Los cladodios también se han relacionado con otros efectos benéficos para la salud, como anti-inflamatorios, cicatrizantes, antígenotóxicos, neuroprotectores, hipotensores, inmunomoduladores, antivirales y antioxidantes (Ahmad *et al.*, 1996; Dok-Go *et al.*, 2003; Galati *et al.*, 2003; Saleem *et al.*, 2005; Zorgui *et al.*, 2009).

Los flavonoides han sido ampliamente estudiados en cladodios (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2002; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011), flores (Chahdoura *et al.*, 2014) y frutos (Abdel-Hamed *et al.*, 2014; Kuti, 2004; Lee *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012 y 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011) de *O. ficus-indica* (L.) Mill., *O. joconostle* A. Web., *O. leucotricha* DC, *O. lindheimeri* Engelm., *O. rastrera* Wendl., *O. streptacantha* Lem. y *O. undulata* Griffiths. Las concentraciones varían con la especie, el órgano y el disolvente utilizado para su extracción.

Benson (1982) relacionó la presencia de flavonoides en cladodios de un año de edad con características morfológicas de variantes del sureste de California, EE.UU., que pudieron haberse originado por la hibridación de especies nativas de porte más bajo, como *O. littoralis* Engelm. y *O. pheaeacantha* Engelm. con *O. ficus-indica*, especie introducida. El citado autor identificó flavonoides propios de las especies nativas y de las introducidas. Esto permitió comparar los compuestos en los híbridos y postular su procedencia.

El objetivo del presente estudio fue evaluar diferencias intra- e interespecíficas de flavonoides en nopalitos (*Opuntia* spp.). La hipótesis fue que la variación intraespecífica de flavonoides en los nopalitos del género *Opuntia* es menor que la interespecífica.

## **Materiales y métodos**

Los nopalitos analizados tenían de 2 a 3 semanas de edad,  $17.5 \pm 2.5$  cm de longitud, y se cosecharon de plantas cultivadas en un invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. de México (19°29' LN, 98°53' LO, 2240 msnm, y clima Cb(w<sub>o</sub>)(w)(i')g, lluvias en verano e invierno frío y seco; García, 2004). Las variantes y especies estudiadas fueron COPENA Z1, Naranjón Legítimo y Villanueva de *O. albicarpa* Sheinvar; Atlixco, COPENA V1 y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*; Amarillo Olorosa, Memelo 1 y San Pedreña de *O. hyptiacantha* A. Web.; Amarillo Plátano, Rojo Lirio y Rubí Reyna de *O. megacantha* Salm-Dyck; Cardona, Cardona de Castilla y Tuna Loca de *O. streptacantha*. Estas especies han sido identificadas por poseer nivel decreciente de humanización (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Mediante pruebas preliminares se determinó que no hubo efecto de la hora del día en la presencia de los flavonoides. A los nopalitos se les eliminaron las espinas, liofilizaron y trituraron en mortero hasta obtener un polvo fino.

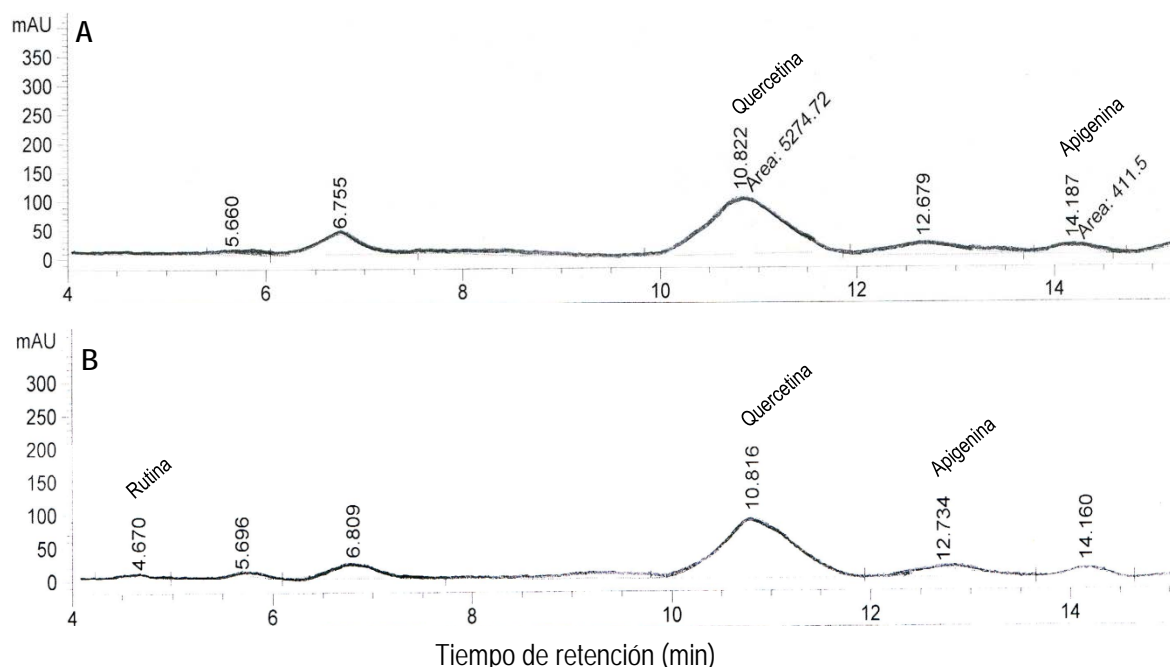
A muestras de 0.5 g de dichos polvos se le adicionaron 5 mL de metanol al 60 % en agua (v:v) y 1.25 mL de ácido clorhídrico 6 M. Las muestras se mantuvieron a 90°C durante 2 h en baño María. Luego, las muestras se centrifugaron a 4075 g por 10 min y se filtraron con acrodiscos de membranas de nylon y poros de 0.45  $\mu\text{m}$  (Pall Corporation, Michigan, EE.UU.). El filtrado se inyectó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC Agilent Technologies, modelo 1100, EE.UU.), equipado con un detector de arreglo de diodos e inyector automático (Agilent Technologies modelo 1200, EE.UU.) y columna de 125 por 4 mm de Hypersyl ODS (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, EE.UU.) de 125 x 4 mm. La fase móvil fue agua, con pH 2.5 ajustado con ácido trifluoroacético y acetonitrilo a 30 °C, con flujo isocrático de 1 ml por min. La detección se hizo a 350 nm. Los estándares de los flavonoides fueron apigenina, isoramnetina, luteolina, quercetina y rutina de Sigma-Aldrich (EE.UU.).

Los resultados fueron expresados en  $\mu\text{g}$  de compuesto por gramo de tejido seco ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS). El estudio se desarrolló de acuerdo con un diseño experimental completamente al azar, con 15 tratamientos o variantes de nopal de cinco especies, y tres repeticiones. Las unidades experimentales o repeticiones fueron nopalitos provenientes de plantas distintas. A cada compuesto identificado se le determinó su normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks, mediante el software infoStat (Versión 2011e) (Balzarini *et al.*, 2008; Di-Rienzo *et al.*, 2011). Las variables fueron transformadas cuando no se cumplió el requisito de normalidad. Los datos se sometieron a ANDEVA y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS.

## Resultados y discusión

### Perfil cromatográfico: identificación de flavonoides

En nopalitos se detectaron los flavonoides apigenina, isoramnetina, quercetina y rutina; en al menos una variante se reconocieron los cuatro (Figura 7.3). La luteolina estuvo ausente en los nopalitos de las 15 variantes (Cuadro 7.1).



**Figura 7.3** Cromatogramas típicos de los flavonoides identificados por HPLC en nopalitos de *O. ficus-indica* variantes COPENA V1 (A) y Atlixco (B).

La apigenina fue detectada en las cinco especies y en el 87 % de sus variantes. Este es el flavonoide con presencia mayor en los nopalitos, aunque estuvo ausente en una de las variantes de *O. megacantha* (Rubí Reyna) y de *O. albicarpa* (Villanueva). La isoramnetina se detectó en cuatro especies, pero sólo se detectó en 73 % de sus variantes y estuvo ausente en la totalidad de variantes de *O. hyptiacantha* (Amarilla, Memelo 1 y San Pedreña) y en el una de *O. albicarpa* (COPENA Z1) (Cuadro 7.1).

**Cuadro 7.1** Flavonoides detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia*.

Variante	Flavonoides detectados <sup>‡</sup>				
	Apigenina	Isoramnetina	Luteolina	Quercetina	Rutina
<i>O. streptacantha</i>					
Cardona	+++	+++	Nd	Nd	+++
Cardona de Castilla	+++	+++	Nd	Nd	+++
Tuna Loca	+++	+++	Nd	Nd	+++
<i>O. hyptiacantha</i>					
Amarilla	+++	Nd	Nd	+++	+++
Memelo 1	+++	Nd	Nd	+++	T
San Pedreña	+++	Nd	Nd	+++	Nd
<i>O. megacantha</i>					
Amarillo Plátano	+++	+++	Nd	Nd	+++
Rojo Lirio	+++	+++	Nd	Nd	+++
Rubí Reyna	Nd	+++	Nd	Nd	+++
<i>O. albicarpa</i>					
COPENA Z1	+++	Nd	Nd	+++	T
Naranjón Legítimo	+++	+++	Nd	+++	+++
Villanueva	Nd	+++	Nd	Nd	+++
<i>O. ficus-indica</i>					
Atlixco	+++	+++	Nd	+++	+++
COPENA V1	+++	+++	Nd	+++	+++
Rojo Vigor	+++	+++	Nd	Nd	+++

<sup>‡</sup> +++, compuesto detectado; Nd, no detectado; T, trazas del compuesto

La quercetina sobresalió porque sólo fue detectada en tres especies, *O. hyptiacantha*, considerada silvestre (Reyes-Agüero *et al.*, 2005) y en las más humanizadas *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, pero únicamente en 47 % de sus variantes.

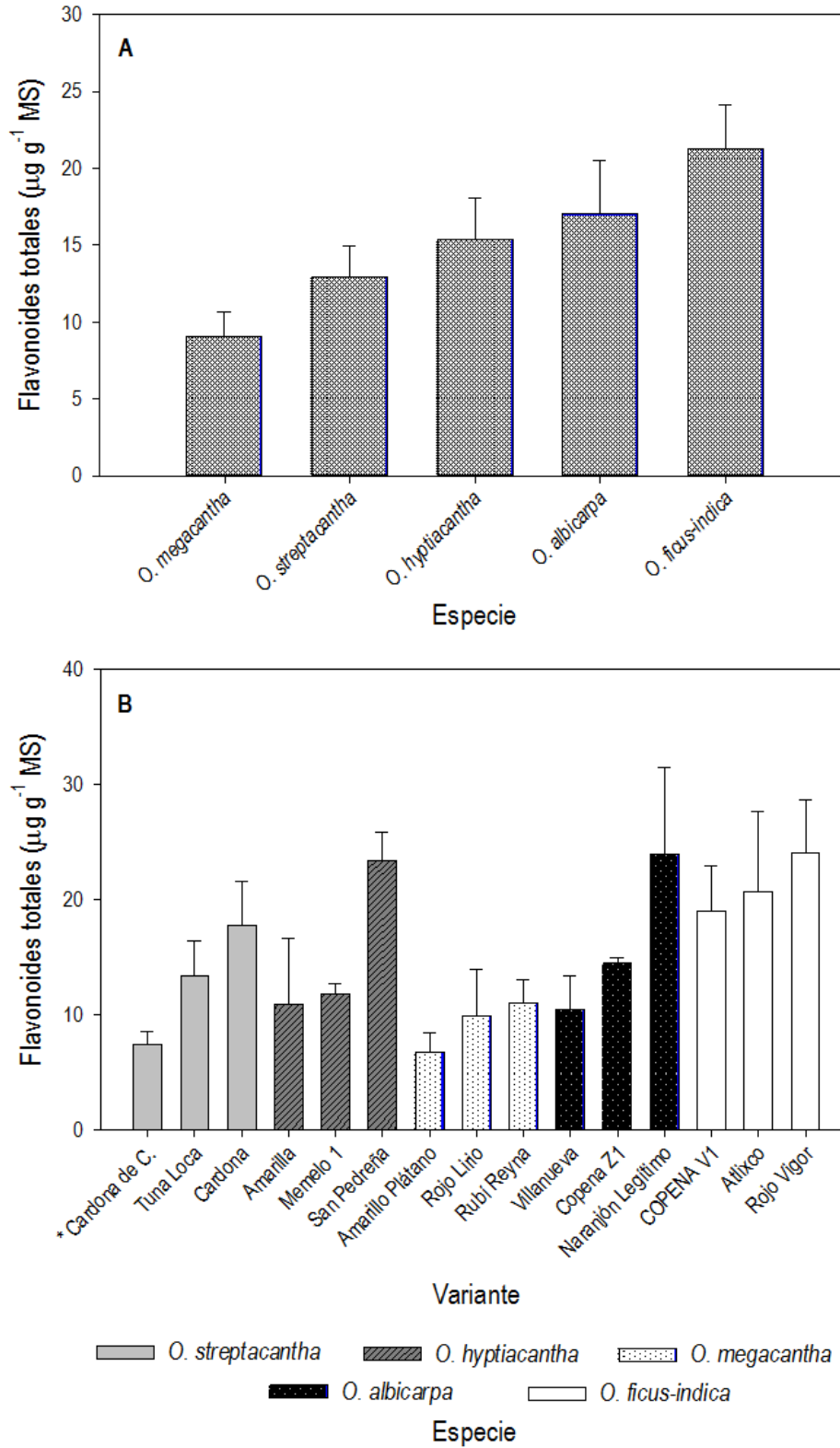
Este flavonoide estuvo presente en las tres variantes de *O. hyptiacantha* (Amarilla, Memelo 1 y San Pedreña) y en dos de las de *O. albicarpa* (COPENA Z1 y Naranjón Legítimo) y de *O. ficus-indica* (Atlixco y COPENA V1). Las variantes sin quercetina en sus nopalitos fueron Villanueva de *O. albicarpa* y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*. Así, este flavonoide fue el menos frecuente en los nopalitos (Cuadro 7.1).

La rutina se detectó en las cinco especies y en 93 % de sus variantes, de las cuales en dos solo se identificaron cantidades traza del flavonoide. En *O. hyptiacantha* sobresalió que la rutina estuvo ausente en una de sus variantes (San Pedreña) y que sólo se detectó concentración traza en otra (Memelo 1). También en una variante de *O. albicarpa* (COPENA Z1) se detectaron trazas de este flavonoide. Así, este compuesto también fue uno de los más frecuentes en los nopalitos (Cuadro 7.1).

Sobresale como hallazgo la detección de apigenina, flavonoide no detectado previamente en nopalitos. No obstante, en flores y frutos de *Opuntia* se han detectado apigenina, quercetina y rutina (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Chahdoura *et al.*, 2014). Así, los flavonoides detectados en los nopalitos de las cinco especies sólo coincidieron parcialmente con los registrados por Berger *et al.* (2007), Guevara-Figueroa *et al.* (2010), Saleem *et al.* (2006) y Santos-Zea *et al.* (2011).

#### *Contenido de flavonoides*

El contenido total de flavonoides en los nopalitos de *O. ficus-indica*, una de las dos especies con grado mayor de humanización, fue hasta 2.5 veces mayor ( $23.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) que en los de *O. megacantha*, especie con humanización intermedia pero con el contenido menor de flavonoides ( $9.3 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Figura 7.4 A).



**Figura 7.4** Contenido medio de flavonoides en nopalitos de cinco especies (A;  $n = 9$ ) y de 15 variantes (B;  $n = 3$ ) de *Opuntia*, + error estándar (\* Cardona de Castilla).

El contenido intervarietal fue significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) en las especies, con excepción de *O. ficus-indica*. En las cuatro especies con diferencias intra-específicas significativas ( $p \leq 0.05$ ) los contrastes fueron sobresalientes. En el caso de *O. streptacantha*, Cardona y Tuna Loca tuvieron hasta 42 % más flavonoides que Cardona de Castilla; en *O. hyptiacantha*, Amarilla y Memelo 1 tuvieron 53 % menos flavonoides que San Pedreña. En *O. megacantha*, Amarillo Plátano presentó 40 % menos flavonoides que las otras dos variantes de la especie; y dentro de *O. albicarpa*, Naranjón Legítimo destacó por contener dos veces más ( $23.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) flavonoides que Villanueva, con el contenido menor ( $10.4 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Figura 7.4 B). Así, en este respecto no hubo tendencia alguna reconocible.

Las concentraciones de flavonoides en este estudio fueron menores que las registradas por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) en nopalitos de ocho variantes silvestres y dos cultivadas ( $368$  a  $2402 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), y por Santos-Zea *et al.* (2011) en cladodios de *O. ficus-indica* ( $846$  a  $1129 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y de *O. streptacantha* ( $101 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). La concentración de flavonoides en los nopalitos de este estudio es intermedio de la registrada para otras especies como ajo (*Allium sativum* L.;  $148 \mu\text{g g}^{-1}$ ), brócoli (*Brassica oleracea* Plenck;  $6750 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), cebolla (*Allium cepa* L.;  $61 \mu\text{g g}^{-1}$ ), chile (*Capsicum annum* L.;  $4.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ), tomate (*Solanum lycopersicum* L.;  $183 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y papa (*Solanum tuberosum* L.;  $31 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (Reis *et al.*, 2015; Taskeen *et al.*, 2010).

### Apigenina

Las diferencias interespecíficas del contenido de apigenina ( $0.2$  a  $0.6 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) no fueron significativas ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 7.2), como tampoco lo fueron las diferencias intervarietales de este flavonoide (Figura 7.5).

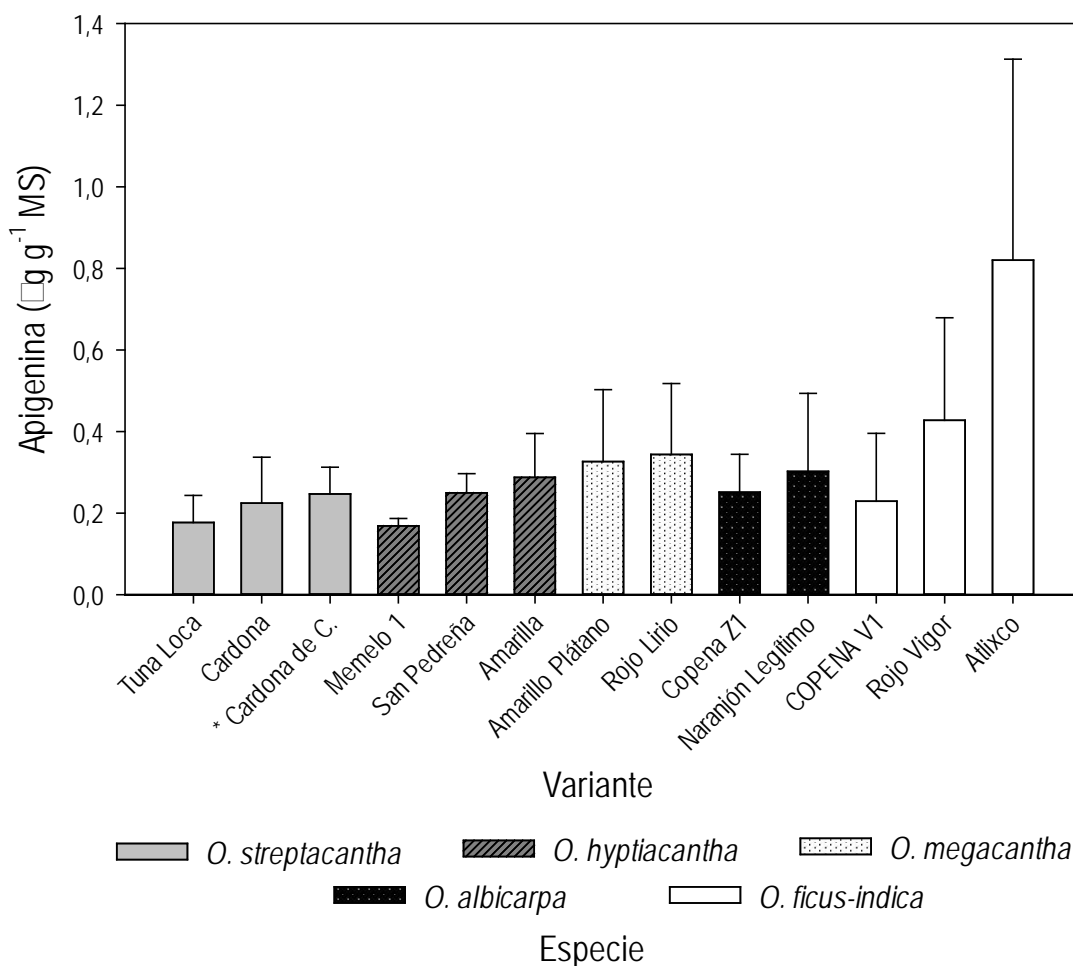
Los resultados de la presencia y contenido de apigenina de este estudio son relevantes porque en estudios previos no se había registrado su presencia en *Opuntia* (Abdel-Hameed *et al.*, 2014; Berger *et al.*, 2007; Chahdoura *et al.*, 2014; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011).



**Cuadro 7.2** Contenido medio de flavonoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) en nopalitos de cinco especies de *Opuntia*.

Especie	Flavonoides <sup>†</sup>			
	Apigenina	Isoramnetina	Quercetina	Rutina
<i>O. megacantha</i>	0.22 a	4.47 a	Nd	4.95 a
<i>O. streptacantha</i>	0.24 a	9.51 a	Nd	3.57 a
<i>O. hyptiacantha</i>	0.19 a	Nd	15.44 a	2.11 a
<i>O. albicarpa</i>	0.22 a	3.31 a	16.83 a	3.75 a
<i>O. ficus-indica</i>	0.65 a	10.21 a	15.49 a	4.90 a

<sup>†</sup> Nd, no detectado. Columnas con la misma letra indican similitud estadística ( $p \leq 0.05$ ),  $n = 9$ .



**Figura 7.5** Contenido medio de apigenina en nopalitos de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar;  $n = 3$  (\* Cardona de Castilla).

En algunos estudios se ha registrado correlación entre la radiación solar y el contenido de apigenina. El incremento de la concentración resulta en un efecto antioxidante mayor en la planta como reacción a la irradiación alta y a la exposición directa a rayos UV-B o del sol (Agati y Tattini, 2010).

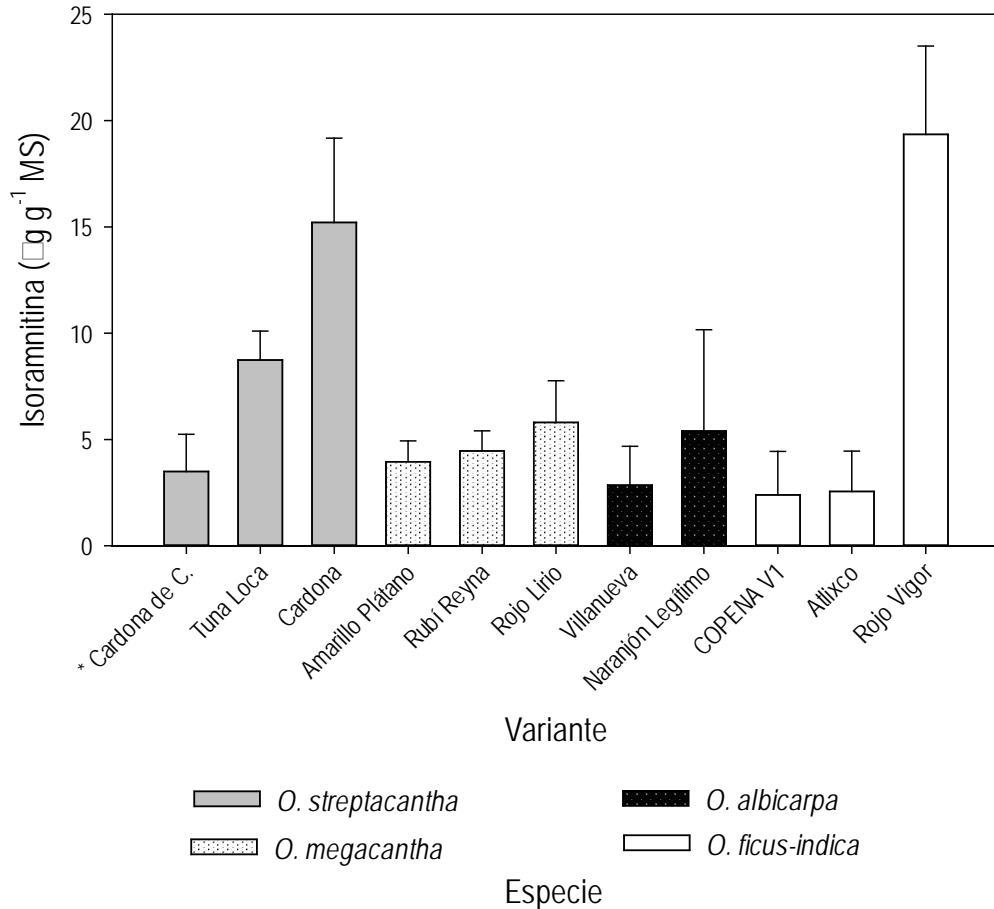
La apigenina tiene efectos benéficos en la salud humana, pues actúa como desinflamante, antiviral y antioxidante (Wang y Huang, 2004); en contraste con otros flavonoides, su toxicidad es menor (Agati *et al.*, 2012). En la literatura no hay información relacionada con las funciones de apigenina en *Opuntia* y si están relacionadas con los procesos de adaptación a los ambientes áridos donde se desarrolla.

### *Isoramnetina*

La variabilidad inter-específica del contenido de isoramnetina mostró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) si consideramos la ausencia de este flavonoide en *O. hyptiacantha* (Cuadro 7.1). Aunque, la concentración de isoramnetina en las otras cuatro especies fue estadísticamente similar ( $p > 0.05$ ), sobresalió que en los nopalitos de *O. streptacantha* fue el flavonoide más abundante (71 %) entre los identificados.

Las diferencias intervarietales del contenido de isoramnetina fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ) sólo en *O. streptacantha* y en *O. ficus-indica*. Así, en *O. streptacantha* Cardona tuvo hasta cuatro veces más ( $15.21 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) de este flavonoide que Cardona de Castilla ( $3.50 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). En *O. ficus-indica* las diferencias intervarietales fueron mayores, pues Rojo Vigor presentó hasta ocho veces más isoramnetina ( $19.35 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) que las otras dos variantes (COPENA V1 y Atlixco) (Figura 7.6).

La proporción de isoramnetina en los nopalitos de *O. megacantha* y *O. albicarpa*, además de contrastar con la registrada en los nopalitos de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*, también difiere de lo documentado por Santos-Zea *et al.* (2011), quienes señalaron que este flavonoide fue el más abundante en los cladodios de *O. ficus-indica*, *O. leucotricha*, *O. lindheimeri*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. undulata*.



**Figura 7.6** Contenido de isoramnetina en nopalitos de cuatro especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

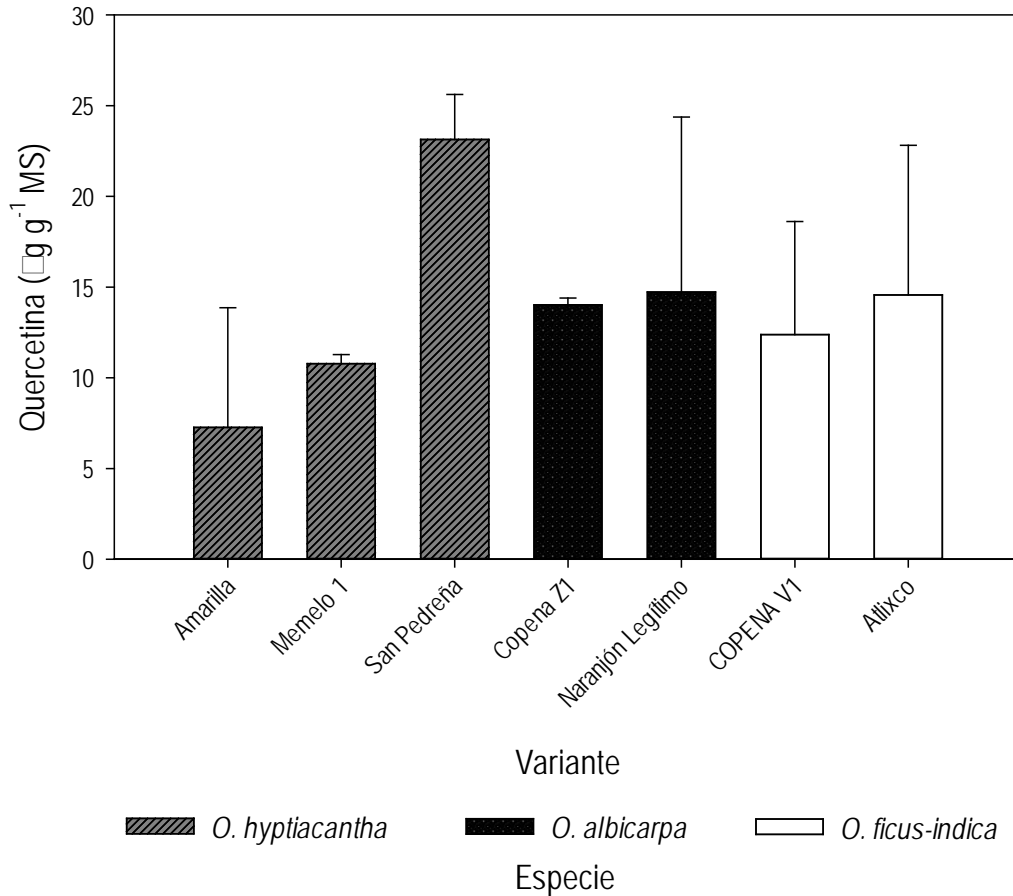
Los contenidos y variabilidad intraespecífica altos de isoramnetina en los nopalitos de *O. streptacantha*, una de las especies consideradas silvestre, y en *O. ficus-indica*, una de las más humanizadas, parecen indicar falta de relación de la abundancia de este flavonoide con el ambiente donde se desarrollan. Las observaciones de Santos-Zea *et al.* (2011) coinciden con las de este estudio; esos autores no detectaron isoramnetina en nopalitos de la especie silvestre *O. lindheimeri* pero sí en otras especies silvestres y domesticadas (*O. ficus-indica*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. undulata*) en las que abundó este flavonoide. La concentración de isoramnetina obtenida en este estudio fue inferior a lo registrado por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) en nopalitos de variantes cultivadas y silvestres (desde 45.9 hasta 343.6 µg g<sup>-1</sup> MS).

Berger *et al.* (2007) estudió el efecto de la radiación solar en cladodios de *O. violaceae* Engelm. y de *O. wilcoxii* Britton & Rose; ellos observaron que la concentración de isoramnetina fue mayor en las plantas que crecían bajo luz solar directa que en las plantas que se mantuvieron bajo sombra; además, señalan que el contenido de este compuesto decreció hasta 50 % al avanzar el desarrollo del cladodio. Estos resultados confirmaron que la isoramnetina está relacionada con la protección adaptativa contra los rayos UV-B en los primeros estados de desarrollo. Las concentraciones bajas de este compuesto pueden deberse a que los nopalitos del estudio presente se obtuvieron de plantas que crecían en condiciones homogéneas dentro de un invernadero, donde la radiación generalmente es menor que la exterior. En esas condiciones sí se detectaron diferencias interespecíficas e intervarietales. Para abundar en el conocimiento del papel de la isoramnetina en la adaptación y permanencia de *Opuntia* en las condiciones adversas de los ambientes áridos, será necesario ampliar estos estudios.

#### *Quercetina*

El contenido interespecífico de quercetina presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), si se considera la ausencia de este flavonoide en *O. streptacantha* y en *O. megacantha* (Cuadro 7.2), y fue significativamente similar ( $p > 0.05$ ) en los nopalitos de *O. hyptiacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (15.44 a 16.83  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS), la primera reconocida por Reyes-Agüero *et al.* (2005) como especie silvestre, y las dos últimas como especies con grado alto de humanización (Bravo, 1978).

La quercetina fue el flavonoide estudiado más abundante (Cuadro 7.2). Las diferencias intraespecíficas o intervarietales se detectaron únicamente en *O. hyptiacantha*, donde San Pedreña presentó tres veces más (23.1  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) que Amarilla y que Memelo 1 (7.3 a 10.8  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Figura 7.7).



**Figura 7.7** Contenido medio de quercetina en nopalitos de variantes de tres especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3.

La quercetina se ha registrado en cladodios (Berger *et al.*, 2007; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Saleem *et al.*, 2006), flores (Benayad *et al.*, 2014) y frutos (Abdel-Hameed *et al.*, 2014) de *Opuntia*. La concentración de este flavonoide en *O. hyptiacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica*, las tres especies donde se detectó, fue menor que la cuantificada (22.9 hasta 396.7 µg g<sup>-1</sup> MS) por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) en nopalitos de variantes silvestres y cultivadas; en cambio fueron similares a los encontrados por Berger *et al.* (2007) en cladodios jóvenes y maduros de *O. wilcoxii* (de 15.0 a 16.6 y de 1.0 a 2.7 µg g<sup>-1</sup> MS) y en cladodios maduros de *O. violaceae* (desde 4.8 hasta 31.9 µg g<sup>-1</sup> MS).

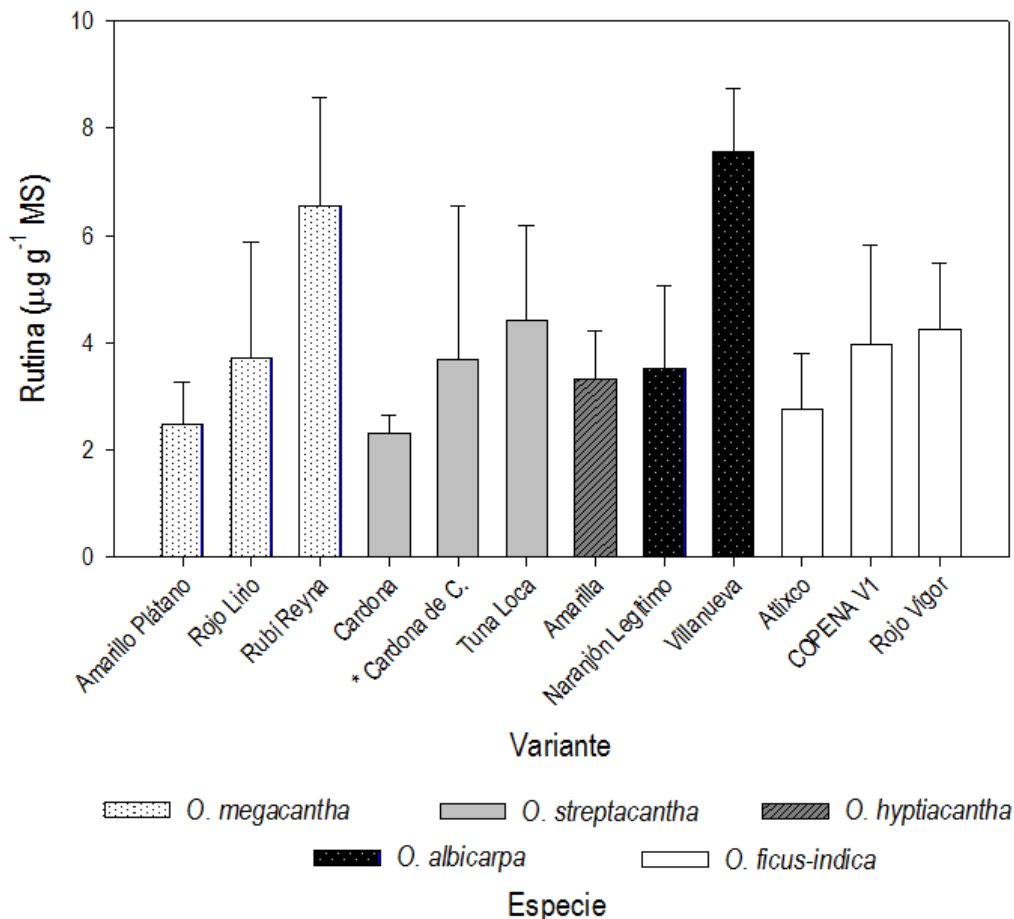
En *Arabidopsis* la función conocida de la quercetina es la protección contra daños oxidativos debidos a irradiación solar alta, ya que este flavonoide en células sanas

dona electrones o átomos de hidrógeno e incrementa su concentración como reacción al estrés por irradiación solar alta (Hernández *et al.*, 2009). La quercetina y sus derivados también regulan la actividad de varias proteínas, con lo cual puede suprimir o alterar el crecimiento y diferenciación celular (Peer y Murphy, 2006). Por lo anterior, la quercetina podría tener control específico en la expresión de la forma (arquitectura) de la planta y en su aclimatación o adaptación a exceso de irradiación solar de numerosas especies (Hectors *et al.*, 2012; Jansen, 2002), pero también contribuiría en la reacción de las plantas a los ambientes extremos que causan daño oxidativo al ADN (Agati *et al.*, 2012). Bajo estos supuestos se esperaría que este compuesto estuviera presente en las especies silvestres (*O. streptacantha* y *O. hyptiacantha*), propias de ambientes naturales poco favorables para el crecimiento de las plantas, como irradiación alta. Sin embargo, la quercetina estuvo presente en las dos especies más humanizadas (*O. albicarpa* y *O. ficus-indica*). Por ello, es probable que la quercetina esté relacionada con el proceso de humanización que condujo a la modificación de la forma del cladodio y su adaptación a los ambientes diversos donde se cultiva.

### *Rutina*

El contenido interespecífico de rutina no varió significativamente ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 7.2); pero en *O. megacantha* este fue el flavonoide más abundante (51 %). Diferencias intervarietales ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de rutina se detectaron en *O. albicarpa*, *O. hyptiacantha* y *O. megacantha*. En las dos primeras especies la ausencia de este flavonoide y concentraciones traza en una o dos de sus variantes confirman las diferencias intraespecíficas. Dentro de *O. megacantha* Rubí Reyna tuvo 2.5 veces más rutina ( $6.6 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) que Amarillo Plátano ( $2.5 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Figura 7.8).

Se cuenta con antecedentes de la presencia de rutina en nopalitos de variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* spp. (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010) y en frutos de *O. ficus-indica* (Abdel-Hameed *et al.*, 2014). Los resultados del presente estudio son menores a los registrados por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) en nopalitos silvestres ( $23.6$  a  $193.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y en los cultivados ( $36.2$  a  $53.0 \mu\text{g g}^{-1}$  MS).



**Figura 7.8** Contenido medio de rutina en nopalitos de variantes de cinco especies de *Opuntia*, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

En plantas de *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. desarrolladas en condiciones de estrés por radiación UV-B alta, temperaturas bajas y sequía, la rutina se incrementó hasta 130 % en las hojas jóvenes, y la enzima rutina glucosidasa, responsable de la síntesis de rutina, hasta 190 %, de donde se concluyó que la rutina está relacionada con el incremento en el sistema de protección al estrés abiótico en esta especie (Suzuki *et al.*, 2005).

La falta de un patrón en las diferencias intraespecíficas de rutina y demás flavonoides en el presente estudio puede ser evidencia parcial de su especiación aún activa, iniciado hace 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011), y del proceso continuo de cambio y diferenciación evolutiva del género *Opuntia* (Granados y Castañeda, 1991; Labra *et al.*, 2003).

Independientemente de las funciones de la rutina en la planta, en animales este flavonoide tiene efecto antioxidante, desinflamante, anti alergénico y antitumoral (Koval'skii *et al.*, 2014). Estos efectos resaltan la importancia del estudio de la rutina en los nopalitos, dado su uso alimentario.

Las espinas en cladodios de *Opuntia* funcionan como protección contra el exceso de irradiación solar y temperaturas extremas (Mausseth, 2006), ya que incrementan la capa de frontera de la planta (Gibson y Nobel, 1986). La ausencia de estructuras físicas de protección puede resultar en el incremento de compuestos relacionados con la protección química (Nassar y Lev-Yadun, 2009). Lo anterior podría explicar el contenido mayor de flavonoides totales en *O. ficus-indica*, una de las especies con grado mayor de humanización, con pocas espinas o sin ellas en sus cladodios (Bravo, 1978). El gigantismo de sus cladodios, como elemento del síndrome de domesticación (Reyes-Agüero *et al.*, 2005), implica mayor área de percepción de rayos UV; así, es posible que el aumento de ciertos compuestos químicos constituya una adaptación contra los efectos de esos rayos, y puede estar relacionada con la humanización. Al respecto, los estudios realizados para identificar la función fisiológica de los flavonoides se han enfocado a su efecto protector contra los rayos UV-B y el daño oxidativo que puedan ejercer en el ADN en las células (Hichri *et al.*, 2011). Para ejercer esta función, la acumulación de los flavonoides se incrementa en las células epidermales, ceras y tricomas, y en condiciones de estrés abiótico se activa el mecanismo molecular que los sintetiza (Ferreyra *et al.*, 2012). Así, la concentración mayor de flavonoides en *O. ficus-indica* pueden ser una adaptación de la especie a los ambientes humanizados y una reacción compensatoria a la pérdida de las espinas.

La hipótesis de este estudio fue que las diferencias intraespecíficas de flavonoides en los nopalitos es menor que la interespecífica. Pero, nuestros resultados muestran lo contrario, las diferencias interespecíficas no fueron significativas ( $p > 0.05$ ; Cuadro 7.1) y las intraespecíficas sí lo fueron ( $p \leq 0.05$ ; Cuadro 7.1 y 7.2, Figuras 7.4 y 7.5). Las variaciones intraespecíficas tuvieron tendencias diferentes en los cuatro flavonoides detectados. Es decir, no se reconoció un patrón que permita identificar una especie a partir de sus variantes. La diversidad amplia, propia o natural del género *Opuntia* en su composición química, posiblemente se ha incrementado con la humanización de ciertas



especies o variantes. Por otro lado, la presencia de flavonoides en los nopalitos confirma su carácter heliófilo desde su desarrollo incipiente en el cladodio madre.

## Conclusiones

En las condiciones de cultivo del estudio, los nopalitos de *O. ficus-indica* presentan la concentración mayor de flavonoides y *O. megacantha* la menor. La presencia de isoramnetina, quercetina y rutina se confirma en los nopalitos; la presencia de apigenina es posiblemente inédita. La quercetina es el flavonoide más abundante en los nopalitos de *O. albicarpa*, *O. ficus-indica* y *O. hyptiacantha*, la isoramnetina en *O. streptacantha* y la rutina en *O. megacantha*. La apigenina es el flavonoide menos abundante en las cinco especies. Las diferencias intraespecíficas son diversas para cada tipo de compuesto y cada especie.

## Literatura citada

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry*. 160: 31-38.
- Agati, G., E. Azzarello, S. Pollastri y M. Tattini. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: locations and functional significance. *Plant Science*. 196: 67-76.
- Agati, G. y M. Tattini. 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytology*. 186: 786-793.
- Ahmad, A., J. Davies, S. Randall y G.R. Skinner. 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. *Antiviral Research*. 30: 75-85.
- Anderson, E.F. 2001. *The cactus family*. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 776 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.

- Balzarini M., G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di-Rienzo y C.W. Robledo. 2008. Infostat. Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Benayad, Z., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cardoves y 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.
- Benson, L. 1982. The Cacti of the United States and Canada. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1044 p.
- Berger, J.M., Y. Itagaki y K. Nakanishi. 2007. Effect of ultraviolet-depleted light on flavonol contents of the cactus species *Opuntia wilcoxii* and *Opuntia violaceae*. *Chemistry & Biodiversity*. 4: 1525-1532.
- Bravo H., H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 365 p.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. *Journal of Functional Foods*. 9: 27-37.
- Di-Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C.W. Robledo. InfoStat v. 2011. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- Dok-Go, H., K.H. Lee, H.J. Kim, E.H. Lee, J. Lee, Y.S. Song, Y.H. Lee, C. Yin, Y.S. Lee y J. Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Brain Research*. 28: 1844-1852.
- Feild, T.S., D.W. Lee y N.M. Holbrook. 2001. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanin in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology*. 127: 566-577.
- Ferrer, J. M. Austin, C.J. Stewart y J. Noel. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. 46:356-370.

- Ferreyra, M.L.F., S.P. Rius y P. Casati. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*. 3: 1-15.
- Galati, E.M., M.R. Mondello, M.T. Monforte, M. Galluzo, N. Miceli y M.M. Tripodo. 2003. Effectt of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes in wound-healing process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 5: 1-16.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA. 286 p.
- Granados S., A. y A.D. Castañeda P. 1991. El nopal, historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Editorial Trillas. México, D.F. 227 p.
- 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 y 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.
- Hernández, I., L. Alegre, F. van Breusege y S. Munne-Bosch. 2009. How relevant are flavonoids as antioxidants plants. *Trends in Plant Science*. 14: 125-132.
- Hectors, K. S. van Oevelen, Y. Guisez, E. Prinsen y M.A.K. Jansen. 2012. The phytohormone auxin is a component of the regulatory system that controls UV-mediated accumulation of flavonoids and UV-induced morphogenesis. *Physiologia Plantarum*. 145: 594-603.
- Hichri, I., F. Barrieu, J. Bogs, C. Kappel, S. Delrot y V. Lauvergeat. 2011. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway. *Journal of Experimental Botany*. 62: 2465-2483.
- Jansen, M.A.K. 2002. Ultraviolet-B-radiation effects on plants: induction of morphogenic responses. *Physiologia Plantarum*. 116: 423-439.
- Koval'skii, I.V., I.I. Krasnyuk, I.I. Krasnyuk Jr., O.I. Nikulina, A.V. Belyatskaya, Y.Y. Kharitonov, N.B. Feldman y S.V. Lutsenko. 2014. Mechanisms of rutin pharmacological action. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 48: 73-76.

- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85: 527-533.
- Labra, M., F. Grassi, M. Bardini, S. Imazio, A. Guiggi, S. Cittero, E. Banfi y S. Sgorbati. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. Genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science*. 165: 1129-1136.
- Lee, J.C., H.R. Kim, J. Kim y Y.S. Jang. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6490-6496.
- Martens, S., A. Preuss y U. Matern. 2010. Multifunctional flavonoid dioxygenases: flavonols and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry*. 71: 1040-1049.
- Mausseth, J.D. 2006. Structure-function relationships in highly modified shoots of cactaceae. *Annals of Botany*. 98: 901-926.
- Morales, P., L. Barros, E. Ramírez-Moreno, C. Santos-Buelga e I.C.F. Ferreira. 2014. Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. *Food Research International*. 65: 437-444.
- Morales, P., E. Ramírez-Moreno, M. de C. Sánchez-Mata, A.M. Carvalho e I.C.F.R. Ferreira. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weberex Diguet and *Opuntia matudae* Sheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*. 46: 279-285.
- Moussa-Ayoub, T.E., E.-S. El-Hady, H.T. Omran, S.K. El-Samahy, L.W. Kroh y S. Rohn. 2014. Influence of cultivar and origin on the flavonol profile of fruits and cladodes from cactus *Opuntia ficus-indica*. *Food Research International*. 54: 854-872.
- Nassar, O. y S. Lev-Yadum. 2009. How prickly is a prickly pear? *Israel Journal of Plant Sciences*. 57: 117-124.
- Osorio-Esquivel, O., A. Ortiz-Moreno, V.B. Álvarez, L. Dorantes-Álvarez y M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*. 44: 2150-2158.

- Peer, W.A. y A.S. Murphy. 2006. Flavonoids as signal molecules. En: Grotewold, E. (Ed.). *The Science of Flavonoids*. Springer. New York, USA. Pp. 239-267.
- Reis, L.C.R. dos, V.R. de Oliveira, M.E.K. Hagen, A. Jablonski, S.H. Flôres y A. de O. Rios. 2015. Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). *LWT-Food Science and Technology*. 63: 177-183.
- 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.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 1844-1852.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutiérrez-Urbe y O. Serna-Saldívar. 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.
- Suzuki, T., Y. Honda y Y. Mukasa. 2005. Effects of UV-B radiation, cold and desiccation stress on rutin concentration and rutin glucosidase activity in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) leaves. *Plant Science*. 168: 1303-1307.
- Taskeen, A. I. Naeem, Sh. Bakhtawar y T. Mehmood. 2010. A comparative study of flavonoids in fruits and vegetables with their products using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 9: 1372-1377.
- Veitch, N.C. y R.J. Grayer. 2008. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural Products Reports*. 25: 555-611.
- Wang, S.P. y K.J. Huang. 2004. Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 1032: 273-279.

- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*. 126: 485-493.
- Winkel-Shirley, B. 2006. The biosynthesis of flavonoids. En: Grotewold, E. (Ed.). *The Science of Flavonoids*. Springer. New York, USA. Pp. 71-95.
- Zorgui, L., I. Ayed-Boussema, Y. Ayed, H. Bacha y W. Hassen. 2009. The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 662-667.

## Capítulo VIII. Variación inter- e intraespecífica de terpenoides en nopalitos (*Opuntia* spp., Cactaceae)

### Resumen

Los terpenoides son el grupo más numeroso de metabolitos secundarios, pues se conocen más de 20,000. Estos compuestos se han detectado en flores de *O. ficus-indica* (L.) Mill. en etapas diferentes de desarrollo, pero la literatura especializada carece del registro de la presencia de estos metabolitos en nopalitos. El objetivo de este estudio fue identificar y evaluar las diferencias intra- e interespecíficas de algunos terpenoides en nopalitos (*Opuntia* spp.). La hipótesis fue que la variación intraespecífica de los terpenoides en los nopalitos del género *Opuntia* es menor que la interespecífica. En el estudio se emplearon nopalitos de 17.5 cm de longitud, de 15 variantes de *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica*, *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. Los extractos hexánicos de 1 g de tejido seco se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 15 tratamientos (tres variantes de cada especie) y tres repeticiones; la unidad experimental fue un nopalito. Los resultados se analizaron mediante ANDEVA y comparación múltiple de medias de Tukey. Los terpenoides identificados fueron ácido oleanólico,  $\beta$ -amirina y peniocerol, sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre especies. La  $\beta$ -amirina fue el compuesto más abundante en los nopalitos de las cinco especies (1.3 a 4.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS). El ácido oleanólico fue el menos abundante (13.9 a 63.3  $\text{ng g}^{-1}$  MS) y sólo hubo trazas en el 40 % de las variantes. El peniocerol estuvo presente (0.73 a 0.83  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) en el 60 % de las variantes. Las diferencias intraespecíficas ( $p \leq 0.05$ ) fueron mayores en *O. albicarpa*, y en *O. streptacantha* no fueron significativas ( $p > 0.05$ ).

**Palabras clave:** ácido oleanólico,  $\beta$ -amirina, nopalitos, *Opuntia*, peniocerol, terpenoide.

## Abstract

Terpenoids are the most numerous group of secondary metabolites and more than 20,000. They have been detected in flowers of *O. ficus-indica* (L.) Mill. at different stages of development; but in the literature there is not register of the presence of these metabolites in nopalitos. The aim of this study was identify and evaluate the differences intra- and interspecific of some terpenoids in nopalitos (*Opuntia* spp.). The hypothesis was that the intra-specific variation of the terpenoids in nopalitos in the genus *Opuntia* is less than the interspecific. In the study, were used nopalitos of 17.5 cm in length of 15 variants of *O. albicarpa* Sheinvar, *O. ficus-indica*, *O. hyptiacantha* A. Web., *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. streptacantha* Lem. The hexane extracts of 1.0 g of dry tissue were analyzed by high-performance liquid chromatography. The experimental design employed was a completely random with 15 treatments (three variants of each species) and three replications; the experimental unit was a nopalito. The results were analyzed by ANOVA and multiple comparisons of means by Tukey. Oleanolic acid,  $\beta$ -amyrin and peniocerol were detected with no significant differences ( $p > 0.05$ ) among the species.  $\beta$ -amyrin was the compound most abundant in the five species (1.3 a 4.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  DM). Oleanolic acid was the least abundant (13.9 a 63.3  $\text{ng g}^{-1}$  DM) and, among variants, there were only traces in 40 % of them. Peniocerol was present (0.73 to 0.83  $\mu\text{g g}^{-1}$  DM) in 60 % of variants. The intraspecific differences ( $p \leq 0.05$ ) were higher in *O. albicarpa* while in *O. streptacantha* were not significant ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:**  $\beta$ -amyrin, nopalitos, oleanolic acid, *Opuntia*, peniocerol, terpenoid.



## Introducción

Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos que, en general, no tienen función directa en el desarrollo o crecimiento de la planta (Taiz y Zeiger, 2010). La distribución de estos compuestos está restringida a ciertos grupos taxonómicos y tienen una función importante en la interacción de los organismos con el ambiente (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003). Varios de ellos son responsables del color, apariencia, aroma y sabor de las frutas y hortalizas (Tomás-Barberán y Robins, 1997). Los metabolitos secundarios constituyen un atributo adaptativo que se ha diversificado por selección natural; así, en las plantas tienen algún papel en la protección contra virus, bacterias, hongos, competidores y depredación (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2003). Algunos metabolitos tienen funciones fisiológicas, como coadyuvantes en la movilización de algunos compuestos tóxicos y como almacén de compuestos fenólicos (flavonoides), que a su vez pueden funcionar como protectores de los rayos UV (Bourgaud *et al.*, 2001; Li *et al.*, 1993; Wink, 2003).

Los terpenoides son el grupo más numeroso de metabolitos secundarios y se conocen más de 20,000 diferentes tipos. Estos metabolitos coadyuvan en el crecimiento y desarrollo de las plantas e intervienen en la interacción de la planta con su ambiente (Tholl, 2006). Los terpenos volátiles y no volátiles están implicados en la atracción de polinizadores y predadores de los herbívoros, en la protección contra el estrés foto-oxidativo, en la mediación de la termotolerancia y en la protección directa contra microorganismos e insectos (Loreto *et al.*, 2004; Pichersky y Gershenzon, 2002; Sharkey y Yen, 2001). Los terpenos suelen ser insolubles en agua y se derivan de la unión de unidades de isopreno ( $C_5$ ) (Ávalos y Pérez, 2009). Este tipo de metabolitos se sintetizan por dos caminos metabólicos, uno es el del ácido mevalónico, activo en el citosol, en el cual tres moléculas acetil Coenzima A se condensan para formar isopentenil pirofosfato (IPP, por sus siglas en inglés). El otro camino es el del metileritritol fosfato, el cual se desarrolla en los cloroplastos y también genera IPP. El IPP se condensa en su isómero alílico (dimetilalil difosfato, DMAPP) y por medio de reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas se obtiene geranyl difosfato (GPP, precursor de monoterpenos), farnesil difosfato (FPP, precursor de sesquiterpenos) y geranylgeranyl difosfato (GGPP, precursor de diterpenos). La terpeno

sintasa (TPS) es la enzima responsable de catalizar la formación de estos compuestos (Ávalos y Pérez, 2009; Tholl, 2006). Cuando los terpenos son modificados químicamente, ya sea por oxidación o reorganización del esqueleto hidrocarbonado, suelen denominarse terpenoides.

La gran variedad estructural de los terpenos presentes en el reino vegetal se debe principalmente a la evolución de la superfamilia de terpeno sintasa, la cual incluye más de 100 genes *TPS* (Tholl, 2006). Estudios realizados por Martin *et al.* (2004) mostraron que muchos TPS de las gimnospermas forman una familia distinta a la de las angiospermas. Sin embargo, estos estudios indican que las TPS tienen un ancestro común para la síntesis de diterpenos, previo a la diferenciación de angiospermas y gimnospermas (Martin *et al.*, 2004; Trapp y Croteau, 2001).

El género *Opuntia* presenta la mayor diversidad y distribución de la familia Cactaceae (Anderson, 2001), con un proceso de especiación originado hace aproximadamente 7.5 millones de años (Arakaki *et al.*, 2011) y un proceso activo de cambio continuo y diferenciación evolutiva (Granados y Castañeda, 1991; Labra *et al.*, 2003). Los cladodios jóvenes de *Opuntia* o nopalitos, además de utilizarse como alimento, han sido empleados tradicionalmente como medicinales para tratar una variedad de enfermedades, particularmente diabetes e hipercolesterolemia. Los cladodios también se han relacionado con otros efectos benéficos para la salud, como anti-inflamatorios, cicatrizantes, antígenotóxicos, neuroprotectores, hipotensores, inmunomoduladores, antivirales y antioxidantes (Ahmad *et al.*, 1996; Dok-Go *et al.*, 2003; Galati *et al.*, 2003; Saleem *et al.*, 2005; Zorgui *et al.*, 2009).

Los terpenoides se han detectado en flores de *O. ficus-indica* (L.) Mill., con diferente desarrollo, en concentración de 0.06 a 32.4 % respecto al total de metabolitos secundarios observados (Ammar *et al.*, 2012). Sin embargo, se desconoce en la literatura especializada la presencia de estos metabolitos en cladodios jóvenes de *Opuntia*.

El objetivo de este estudio fue identificar y evaluar las diferencias intra- e inter-específicas de algunos terpenoides en nopalitos (*Opuntia* spp.). La hipótesis fue que la variación intraespecífica de los terpenoides en los nopalitos es menor que la interespecífica.

## Materiales y métodos

Los nopalitos evaluados tenían de 2 a 3 semanas de edad,  $17.5 \pm 2.5$  cm de longitud, y se cosecharon de plantas cultivadas en un invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. de México ( $19^{\circ}29'$  LN,  $98^{\circ}53'$  LO, 2240 msnm y clima Cb(w<sub>o</sub>)(w)(i')g, lluvias en verano e invierno frío y seco; García, 2004). Las variantes y especies estudiadas fueron COPENA Z1, Naranjón Legítimo y Villanueva de *O. albicarpa* Sheinvar; Atlixco, COPENA V1 y Rojo Vigor de *O. ficus-indica*; Amarillo Olorosa, Memelo 1 y San Pedreña de *O. hyptiacantha* A. Web.; Amarillo Plátano, Rojo Lirio y Rubí Reyna de *O. megacantha* Salm-Dyck; Cardona, Cardona de Castilla y Tuna Loca de *O. streptacantha* Lem. Estas especies fueron elegidos por poseer nivel decreciente de humanización (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

Mediante pruebas preliminares se determinó que no hubo efecto de la hora del día en estos compuestos, por lo que la cosecha para las evaluaciones finales se realizó a las 12 h. Los nopalitos se desespinaron, liofilizaron y trituraron en mortero hasta obtener un polvo fino.

A un gramo de muestra en polvo se le adicionó hexano suficiente para cubrirla y se dejó en reposo por 48 h. Luego, se eliminó el hexano del sobrenadante en un rotavapor (marca Buchi modelo R-210, Flawil, Suiza). Un mg del residuo se disolvió en 1 mL de metanol grado HPLC y se filtró en un acrodisco de membranas de nylon y poros de  $0.45 \mu\text{m}$  (Pall Corporation, Michigan, EE.UU.). El filtrado se inyectó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC Agilent Technologies modelo 1100, EE.UU.), equipado con un detector de arreglo de diodos, un inyector automático (Agilent Technologies modelo 1200, USA) y columna de 250 por 4.6 mm (marca Agilent Technologies modelo Zorbax Eclipse XDB-C8, EE.UU.). La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo (80 %) y agua (20 %) (v:v), sin ajuste de pH, a 40 °C. La detección se hizo a 220 y 215 nm.

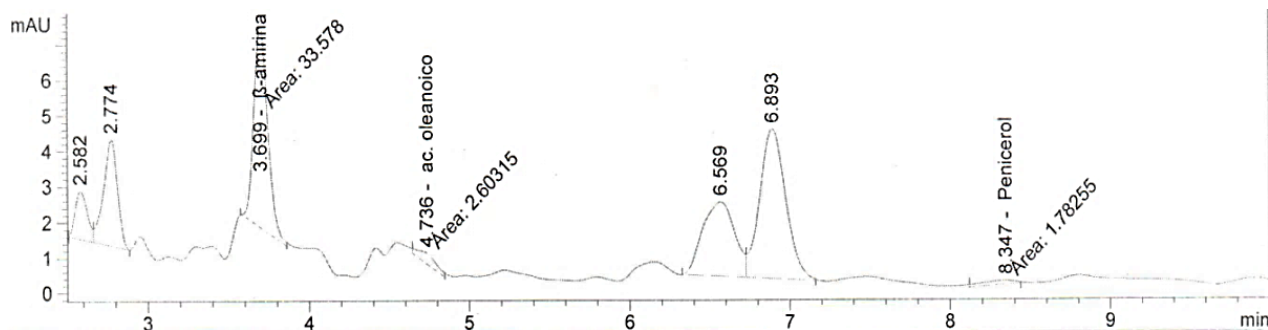
Los estándares de los terpenoides fueron ácido oleanólico,  $\beta$ -amirina y peniocerol de Sigma-Aldrich (EE.UU.). Los resultados del ácido oleanólico fueron expresados en ng de compuesto por gramo de tejido seco ( $\text{ng g}^{-1}$  MS) y los de  $\beta$ -amirina y peniocerol se expresaron en  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS.

El estudio se desarrolló de acuerdo con un diseño experimental completamente al azar, con 15 tratamientos resultantes de tres variantes de nopal de cada una de las cinco especies y tres repeticiones. La repetición o unidad experimental fue un nopalito. A cada compuesto identificado se le determinó su normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks, mediante el software infoStat (Versión 2011e) (Balzarini *et al.*, 2008; Di-Rienzo *et al.*, 2011). Las variables fueron transformadas cuando no se cumplió el requisito de normalidad. Los datos se sometieron a ANDEVA y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS.

## Resultados y discusión

### *Perfil cromatográfico: identificación de terpenoides*

En los nopalitos de las cinco especies se detectaron  $\beta$ -amirina, ácido oleanólico y penicero. Pero, su distribución fue diferente entre las variantes y al menos en una de ellas estuvieron presentes los tres terpenoides (Cuadro 8.1; Figura 8.1).



**Figura 8.1** Cromatograma de Cardona de *O. streptacantha*, típico con los terpenoides identificados por HPLC.

**Cuadro 8.1** Terpenoides detectados en nopalitos de 15 variantes de cinco especies de *Opuntia* spp.

Variante	Ácido oleanólico	$\beta$ -amirina	Peniocerol
<i>O. streptacantha</i>			
Cardona	T	+++	+++
Cardona de Castilla	+++	+++	+++
Tuna Loca	+++	+++	Nd
<i>O. hyptiacantha</i>			
Amarilla	+++	+++	Nd
Memelo 1	T	+++	+++
San Pedreña	+++	+++	+++
<i>O. megacantha</i>			
Amarillo Plátano	+++	+++	+++
Rojo Lirio	T	+++	+++
Rubí Reyna	T	+++	Nd
<i>O. albicarpa</i>			
COPENA Z1	+++	+++	Nd
Naranjón Legítimo	+++	+++	+++
Villanueva	+++	+++	Nd
<i>O. ficus-indica</i>			
Atlixco	T	+++	+++
COPENA V1	+++	+++	+++
Rojo Vigor	T	+++	Nd

† +++: compuesto detectado; T: trazas del compuesto; Nd: no detectado.

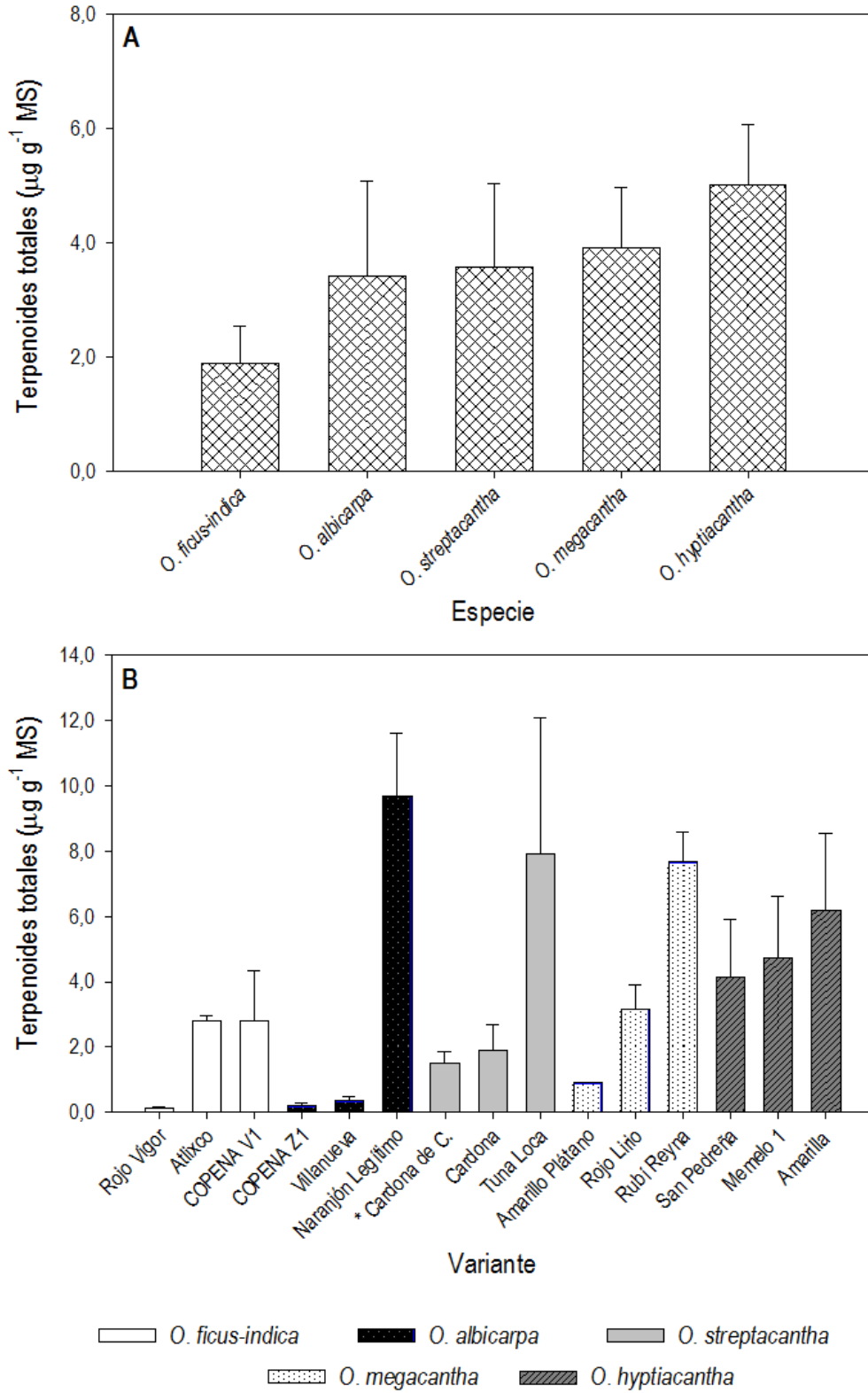
En las cinco especies y sus variantes se detectó ácido oleanólico, pero en el 40 % de éstas sólo hubo trazas del compuesto (menos de 100 ng g<sup>-1</sup> MS). Con excepción de *O. albicarpa*, una o dos de las variantes de las especies restantes presentaron sólo trazas de ácido oleanólico (Cuadro 8.1).

La  $\beta$ -amirina fue detectada en todas de las variantes. El peniocerol se detectó en 60 % de las variantes y en el resto estuvo ausente. La presencia intravarietal de este compuesto fue escasa, pues al menos en una variante de las cinco especies estuvo ausente este terpenoide y en *O. albicarpa* ya que sólo se detectó en Naranjón Legítimo. Así, el peniocerol fue el menos frecuente de los terpenoides detectados (Cuadro 8.1).

Es sobresaliente la falta de antecedentes sobre la presencia de terpenos en cladodios de *Opuntia*; aunque terpenos aromáticos sí se han detectado en yemas florales y flores en todas sus etapas de desarrollo en *O. ficus-indica* y *O. stricta* (Haw.) (Ammar *et al.*, 2012). En dicho estudio cuatro monoterpenos, dos sesquiterpenos y un triterpeno fueron registrados. Los siete terpenos identificados por Ammar *et al.* (2012) en las flores son diferentes a los encontrados en este estudio en nopalitos (Cuadro 8.1). Los terpenos identificados en flores de *Opuntia* también se han detectado en las flores de otras cactáceas de los géneros *Selenicereus*, *Hylocereus*, *Epiphyllum*, *Harrisa*, *Trichocereus*, *Echinopsis* y *Discocactus* (Kaiser y Tollsten, 1995). Además, coincide el hecho de que los estudios de terpenos en otros géneros tampoco documenten la presencia de terpenos en las estructuras vegetativas.

#### *Contenido de terpenoides*

Diferencias intraespecíficas significativas ( $p \leq 0.05$ ) fueron detectadas en el contenido total de terpenoides. Los nopalitos de *O. hyptiacantha*, calificada como silvestre por Reyes-Agüero *et al.* (2005), tuvieron hasta 2.5 veces más ( $5.0 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) de estos compuestos que los de *O. ficus-indica* ( $1.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), una de las especies con grado mayor de humanización (Figura 8.2 A). Esta diferencia parece indicar que la humanización del género *Opuntia* puede estar relacionada con el contenido de terpenoides.



**Figura 8.2** Contenido medio de terpenoides totales en nopalitos de cinco especies (A), y en 15 variantes (B), + error estándar (\* Cardona de Castilla).

Las diferencias intraespecíficas del contenido total de terpenoides fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ), excepto para *O. hyptiacantha*. En *O. streptacantha* su variante Tuna Loca tuvo hasta cinco veces más terpenoides ( $7.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) que sus otras dos variantes. En *O. megacantha*, su variante Rubí Reyna, la variante con concentración mayor, presentó 8.5 veces ( $7.7 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) más que Amarillo Plátano, su variante con la concentración menor ( $0.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). Las diferencias intervarietales en el contenido total de terpenoides fueron más amplias en *O. albicarpa*; en esta especie, Naranjon Legítimo, la variante con la concentración mayor ( $9.7 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), superó hasta 46 veces a las otras dos (Figura 8.2 B).

La presencia de terpenoides en *Opuntia* sólo se ha registrado en flores y en concentraciones menores que 1.0% (Ammar *et al.*, 2012). Los terpenos en las plantas tienen función de atrayentes de los polinizadores, pero también son barrera química y física contra insectos y otros herbívoros, protectores contra el estrés foto-oxidativo y reguladores de la termotolerancia de la planta (Tholl, 2006). Peñuelas y Lluísà (2002) señalaron que la formación de terpenos en la planta se incrementa con temperaturas altas y en ambientes secos. Así, las concentraciones mayores de terpenoides en algunas especies de *Opuntia*, como *O. hyptiacantha*, puede ser parte de su adaptación a los ambientes secos y de alta radiación donde se distribuye naturalmente; en contraste, la concentración menor de estos compuestos en una especie más humanizada como *O. ficus-indica* puede estar relacionada con el proceso de humanización y el cambio concomitante en las condiciones ambientales. Pero esto contrastaría parcialmente con la explicación al contenido mayor de flavonoides en los nopalitos de *O. ficus-indica*, en comparación con los de *O. streptacantha* (Capítulo VII de esta tesis); sin embargo, en este caso la concentración mayor en la especie más humanizada puede estar relacionada con la amplitud del ambiente de cultivo a los que ha sido sometida *O. ficus-indica*.

#### *Ácido oleanólico*

Las diferencias intraespecíficas del contenido de ácido oleanólico no fueron significativas ( $p > 0.05$ ) pues, con excepción de *O. albicarpa*, una o dos variantes de cada especie tuvieron sólo concentraciones traza de este terpenoide. La variabilidad



inter-específica en el contenido de ácido oleanólico (de 15.87 a 63.26 ng g<sup>-1</sup> MS; Cuadro 8.2) se reflejó en su coeficiente de variación de 70.2 %. Entre las nueve variantes donde este terpenoide fue detectado tampoco hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ; Figura 8.3).

**Cuadro 8.2** Contenido de terpenos en nopalitos de cinco especies (*Opuntia* spp.).

Especie	Terpenoides †		
	Ácido oleanólico ng g <sup>-1</sup> MS	β-amirina μg g <sup>-1</sup> MS	Peniocerol μg g <sup>-1</sup> MS
<i>O. streptacantha</i>	22.84 a	3.09 a	0.73 a
<i>O. hyptiacantha</i>	15.87 a	4.39 a	0.83 a
<i>O. megacantha</i>	27.19 a	3.39 a	0.74 a
<i>O. albicarpa</i>	63.26 a	3.09 a	0.79 a
<i>O. ficus-indica</i>	13.92 a	1.33 a	0.83 a

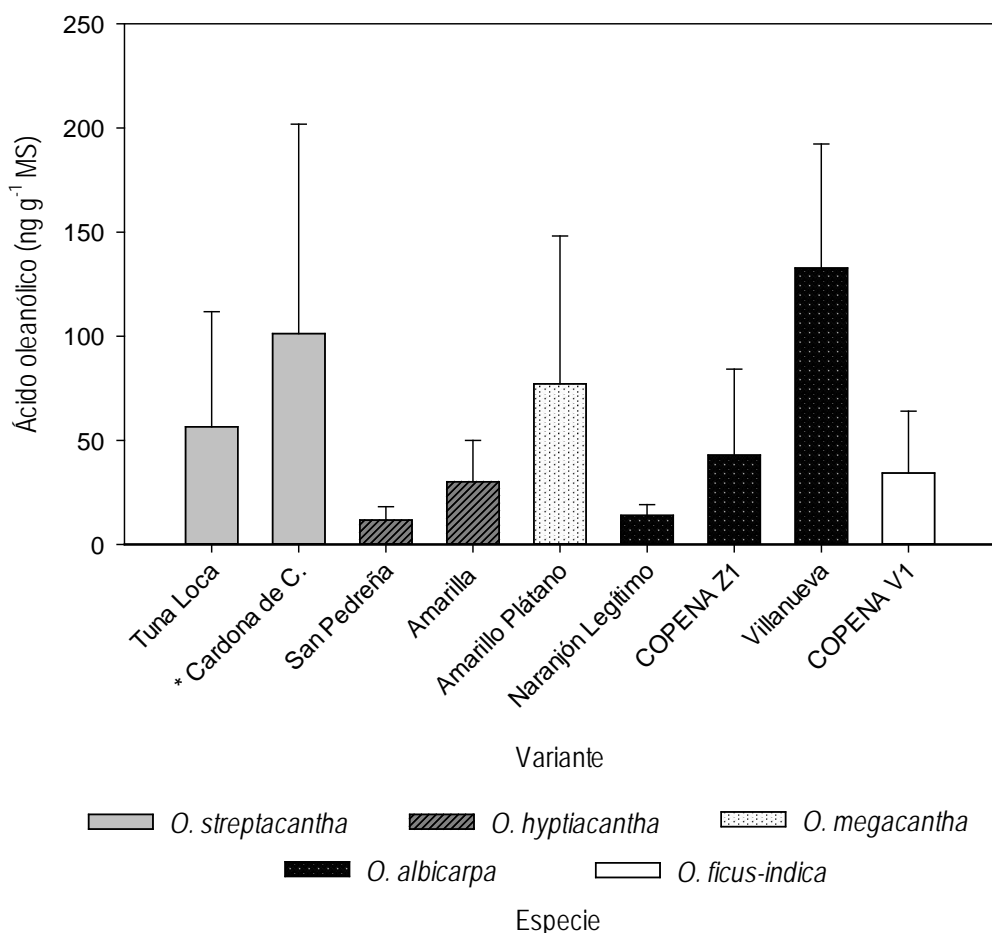
† Columnas con la misma letra indican similitud estadística en la prueba de ANDEVA ( $p \leq 0.05$ ); n = 9.

Las diferencias intraespecíficas en el contenido de ácido oleanólico sólo fueron significativas ( $p > 0.05$ ) en algunas especies. En el caso de *O. albicarpa*, una especie que de acuerdo con Reyes-Agüero *et al.* (2005) es de las más humanizadas, su variante Villanueva tuvo 9.5 veces más ácido oleanólico que Naranjón Legítimo, su variante con el contenido menor. Así, como el ácido oleanólico fue el terpenoide menos abundante en los nopalitos de *Opuntia* spp. y su contenido fue estadísticamente similar en las cinco especies, pareciera que este compuesto carece de relación con su humanización (Figura 8.3).

El ácido oleanólico está presente en las ceras epicuticulares de las plantas, las cuales previenen la deshidratación de los tejidos y representan la primera barrera de protección contra patógenos (Heinzen *et al.*, 1996). Las diferencias registradas en el contenido de ácido oleanólico en *Opuntia*, como se ha especulado para otros metabolitos secundarios del tipo flavonoide, parecen estar relacionadas con su proceso de especiación, iniciado hace millones de años (Arakaki *et al.*, 2011) y la diferenciación evolutiva actual del género.

En relación con los efectos en la fisiología de los animales, al ácido oleanólico se le atribuyen varias propiedades farmacológicas, como la acción contra la diabetes y

síndrome metabólico (Castellano *et al.*, 2013), y efecto anticancerígeno, desinflamante y antioxidante (Pollier y Goossens, 2012; Sánchez-Quesada *et al.*, 2013).

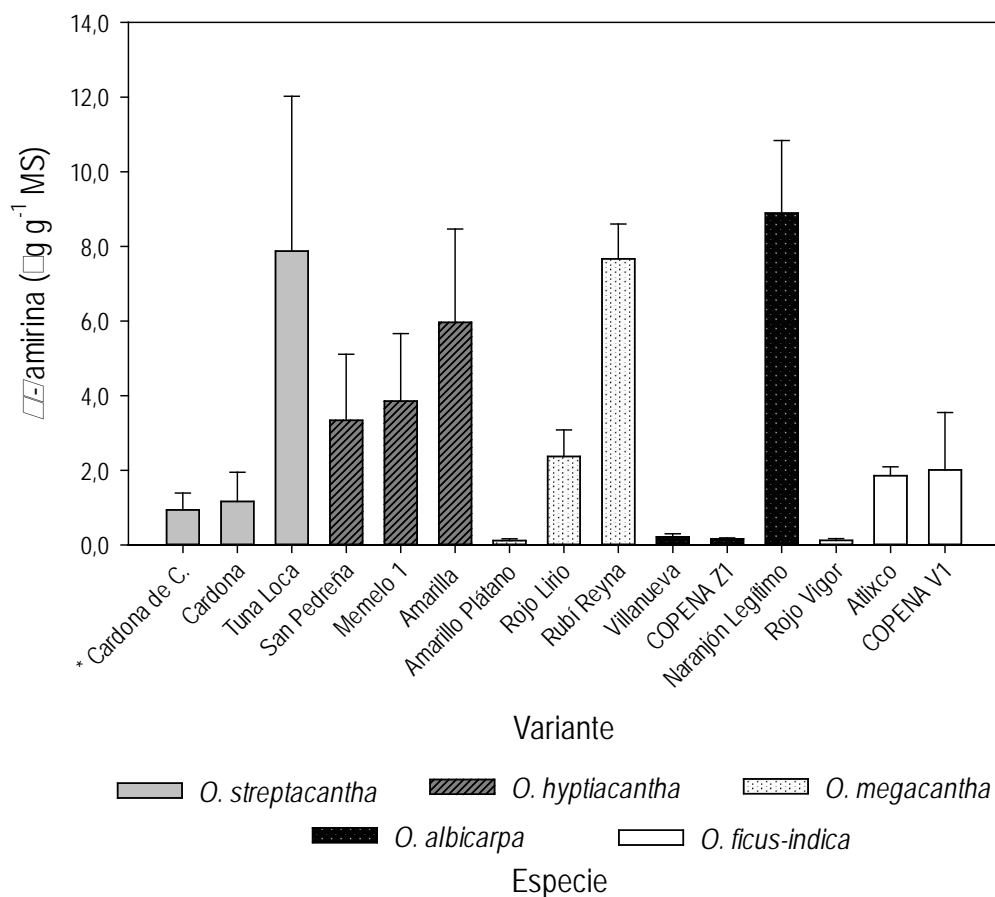


**Figura 8.3** Contenido medio de ácido oleanólico en nopalitos de nueve variantes, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

### *β*-amirina

Las diferencias inter-específicas en el contenido de *β*-amirina no fueron significativas ( $p > 0.05$ ). De los tres terpenoides detectados, *β*-amirina fue el más abundante (1.33 a 3.09  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Cuadro 8.2). Pero, la variabilidad del contenido de este compuesto en los nopalitos del género *Opuntia* se evidenció al comparar sus 15 variantes ( $p \leq 0.05$ ); las concentraciones mayores (entre 8.0 y 8.8  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) las presentaron Naranjón Legítimo de *O. albicarpa*, Rubí Reyna de *O. megacantha* y Tuna Loca de *O. streptacantha*, y resultaron casi setenta veces mayores (0.1 a 0.2  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) que las

de Villanueva y COPENA Z1 de *O. albicarpa*, Rojo Vigor de *O. ficus-indica*, y Amarillo Plátano de *O. megacantha* (Figura 8.4).



**Figura 8.4** Contenido medio de  $\beta$ -amirina en nopalitos de 15 variantes, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

Las diferencias intra-específicas en el contenido de  $\beta$ -amirina fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ). En *O. albicarpa* y *O. megacantha* dichas diferencias fueron amplias; en la primera especie la concentración en Naranjón Legítimo ( $8.9 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) fue 55 veces mayor que la de COPENA Z1 y Villanueva ( $0.2 \mu\text{g g}^{-1}$  MS), y en *O. megacantha* las diferencias fueron similares entre Rubí Reyna ( $7.6 \mu\text{g g}^{-1}$  MS) y Amarillo Plátano ( $0.2 \mu\text{g g}^{-1}$  MS). También las diferencias en las variantes de *O. streptacantha* y en las de *O. ficus-indica* fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ), pero menores que en las otras especies (Figura 8.4). La proporción de este compuesto fue menor en los nopalitos de *O.*

*ficus-indica* y representó el 61 % del total de terpenoides, mientras que en las otras especies osciló entre 78 y 83 % (Cuadro 8.2).

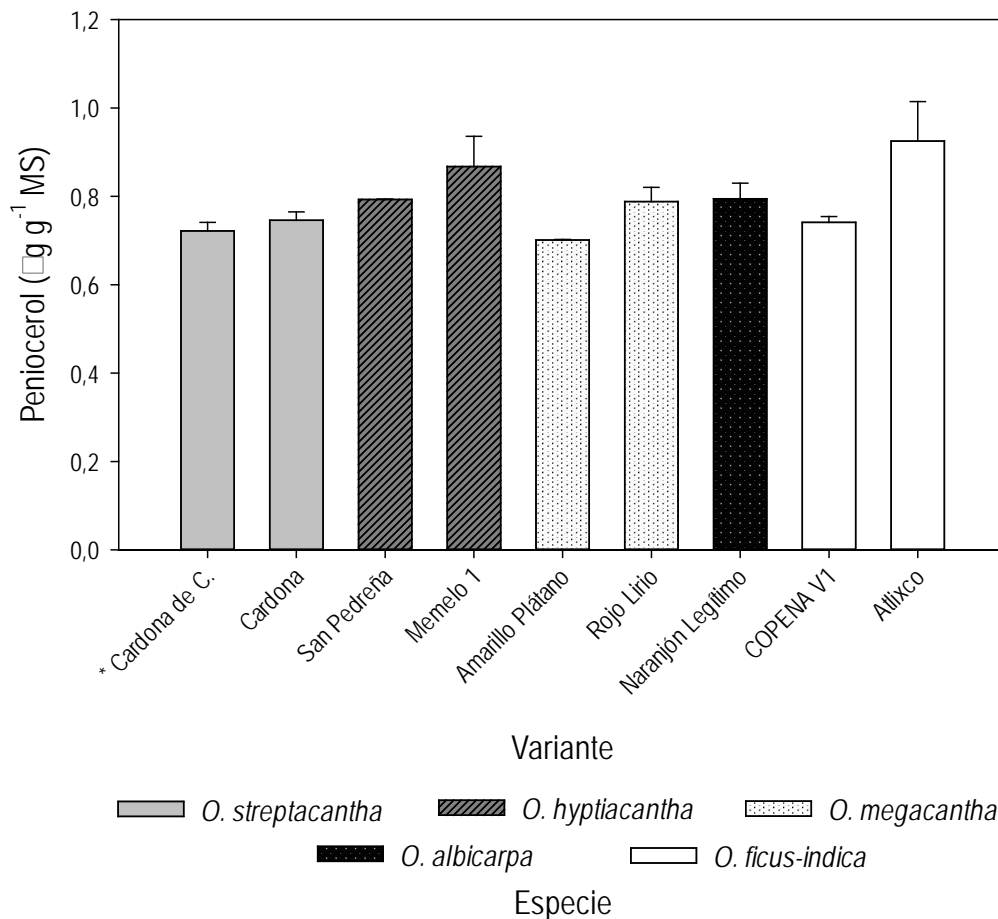
$\beta$ -amirina como compuesto del grupo de los triterpenos es el más abundante en el reino vegetal (Kemen *et al.*, 2014). Este compuesto es precursor del ácido oleanólico (Pollier y Goossens, 2012), lo cual explicaría sus las concentraciones bajas ( $\text{ng g}^{-1}$  MS en contraste con los  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS de los otros terpenoides) en los nopalitos (Cuadro 8.2). Los efectos fisiológicos de los triterpenos en las plantas, así como los factores bióticos y abióticos que activan su síntesis, acumulación y posible degradación se conocen escasamente. Recientemente, en raíces de avena se registró la acumulación de  $\beta$ -amirina junto con el incremento en el número de células epidérmicas (Kemen *et al.*, 2014), lo que sugiere que éste compuesto coadyuva al crecimiento y desarrollo de la planta.

En la literatura especializada no se encontró información relacionada con la presencia de estos compuestos en las estructuras vegetativas de *Opuntia*. Por ello la detección de los terpenoides en los nopalitos es destacable y amerita estudiar su papel en la fisiología del nopal y su relación con el ambiente donde se desarrolla, pues se les ha vinculado con la reacción de la planta a la deshidratación (Buschhaus y Jetter, 2012).

### *Peniocerol*

Las diferencias interespecíficas en el contenido de peniocerol (0.73 a 0.83  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS; Cuadro 8.2) no fueron significativas ( $p > 0.05$ ). En contraste, entre las 15 variantes sí hubo diferencias estadísticas ( $p \leq 0.05$ ). Las concentraciones mayores (0.93  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) correspondieron a la variante Atlixco de *O. ficus-indica*, las cuales fueron hasta 30 % mayores que las menores (0.70  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS), correspondientes a Amarillo Plátano de *O. megacantha* (Figura 8.5).

Algunas diferencias intraespecíficas fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ); las mayores se registraron en *O. ficus-indica*, pues su variante Atlixco (0.93  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) superó 20 % el contenido de peniocerol de COPENA V1 (0.74  $\mu\text{g g}^{-1}$  MS) (Figura 8.5).



**Figura 8.5** Contenido medio de peniocerol en nopalitos de nueve variantes, + error estándar; n = 3 (\* Cardona de Castilla).

El peniocerol es un esterol que se ha aislado de varias especies de la familia Cactaceae, i.e. *Lemaireocereus chichipe* Gosselin, *Peniocereus greggii* Engelm. y *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex Pfeiff.) Con. (Céspedes *et al.*, 2005; Khong y Lewis, 1975; Kircher y Bird, 1982; Knight y Petit, 1969). Los estudios para conocer la función del peniocerol en las cactáceas son escasos. En uno de ellos se observó que las larvas de *Spodoptera frugiperda* y *Tenebrio molitor*, cuando alcanzaron la etapa de pupa en la raíces de *M. geometrizans*, se deformaban con dosis bajas de peniocerol (5 a 50 ppm) (Céspedes *et al.*, 2005). La presencia de peniocerol puede asociarse con la defensa contra insectos en el género *Opuntia* y la ausencia de este compuesto al menos en una variante de cada especie puede evidenciar la variabilidad de reacción intraespecífica a insectos.

En fisiología humana se han descrito propiedades anticancerígenas y desinflamantes del peniocerol, lo que le confiere usos farmacéuticos importantes a este compuesto (Salazar *et al.*, 2011).

## Conclusiones

La variación interespecífica del contenido de ácido oleanólico,  $\beta$ -amirina y peniocerol no fue estadísticamente significativa, pero sí hay diferencias en la contribución de las variantes de cada especie a su contenido del total y de cada uno de los compuestos. Las diferencias intraespecíficas al respecto fueron estadísticamente significativas, pues al menos una variante de cada especie presentó concentraciones traza o careció de alguno de los isoprenoides. Este estudio es el primero en documentar la presencia de terpenoides en nopalitos de *Opuntia* spp. En las cinco especies de *Opuntia* estudiadas, la  $\beta$ -amirina fue el compuesto más abundante, y el ácido oleanólico el menos abundante. *Opuntia albicarpa* tuvo las diferencias varietales mayores, mientras que la especie silvestre *O. streptacantha* no varió varietalmente al respecto.

## Literatura citada

- Ahmad, A., J. Davies, S. Randall y G.R. Skinner. 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. *Antiviral Research*. 30: 75-85.
- Ammar, I., M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yanguy y H. Attia. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products*. 37: 34-40.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 776 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108: 8379-8384.
- Ávalos G., A. y E. Pérez-Urria C. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, Serie Fisiología Vegetal. 2: 119-145.

- Balzarini M., G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di-Rienzo y C.W. Robledo. 2008. Infostat. Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 336 p.
- Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi y E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839-851.
- Buschhaus, C. y R. Jetter. 2012. Composition and physiological function of the wax coating *Arabidopsis* leaves:  $\beta$ -amyrin negatively affects the intracuticular water barrier. *Plant Physiology*. 160: 1120-1129.
- Castellano, J.M., A. Guinda, T. Delgado, M. Rada y J.A. Cayuela. 2013. Biochemical basis of the antidiabetic activity of oleanolic acid and related pentacyclid triterpenes. *Diabetes*. 62: 1791-1799.
- Céspedes, C.L., J.R. Salazar, M. Martínez y E. Aranda. 2005. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. *Phytochemistry*. 66: 2481-2493.
- Di-Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C.W. Robledo. InfoStat v. 2011. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- Dok-Go, H., K.H. Lee, H.J. Kim, E.H. Lee, J. Lee, Y.S. Song, Y.H. Lee, C. Yin, Y.S. Lee y J. Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Brain Research*. 28: 1844-1852.
- Galati, E.M., M.R. Mondello, M.T. Monforte, M. Galluzo, N. Miceli y M.M. Tripodo. 2003. Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes in wound-healing process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 5: 1-16.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.
- Granados S., A. y A.D. Castañeda P. 1991. El nopal, historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Editorial Trillas. México, D.F. 227 p.

- Heinzen, H., J.X. de Vries, P. Moyna, G. Remberg, R. Martínez y L.F. Tietze. 1996. Mass spectrometry of labelled triterpenoids: thermospray and electron impact ionization analysis. *Phytochemical Analysis*. 7: 237-244.
- Labra, M.; Grassi, F.; Bardini, M.; Imazio, S.; Guiggi, A.; Cittero, S.; Banfi, E.; Sgorbati, S. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. Genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science*. 165: 1129-1136.
- Kaiser, R. y L. Tollsten. 1995. An introduction to the scent of cacti. *Flavour and Fragrance Journal*. 10: 153-164.
- Kemen, A.C., S. Honkanen, R.E. Melton, K.C. Findlay, S.T. Mugford, K. Hayashi, K. Haralampidis, S.J. Rosser y A. Osbourn. 2014. Investigation of triterpene synthesis and regulation in oats reveals a role for  $\beta$ -amyirin in determining root epidermal cell patterning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111: 8679-8684.
- Khong, P. y K. Lewis. 1975. New triterpenoid extractives from *Lemaurocereus chichipe*. *Australina Journal of Chemistry*. 28: 165-172.
- Kircher, H.W. y H.L. Bird. 1982. Five  $3\alpha$ ,  $6\beta$ -dihydroxysterols in organ –pipe cactus. *Phytochemistry*. 21: 1705-1710.
- Knight, J.C. y G.R. Petit. 1969. Arizona flora: the sterols of *Peniocereus greggii*. *Phytochemistry*. 8: 477-482.
- Li, J., T.M. Ou-Lee, R. Raba, R.G. Amundson y R.L. Last. 1993. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. *Plant Cell*. 5: 171-179.
- Loreto, F., P. Pinelli, F. Manes y H. Kollis. 2004. Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isopropen-like antioxidant action of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* leaves. *Tree Physiology*- 24: 361-367.
- Martin, D.M., J. Fäldt y J. Bohlmann. 2004. Functional characterization of nine Norway spruce *TPS* genes and evolution of gymnosperm terpene synthases of the *TPS-d* subfamily. *Plant Physiology*. 135: 1908-1927.
- Peñuelas, J. y J. Llusià. 2002. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytologist*. 155: 227-237



- Pichersky, E. y J. Gershenzon. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*. 5: 237-243.
- Pollier, J. y A. Goossens. 2012. Oleanolic acid. *Phytochemistry*. 77: 10-15.
- 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.
- Salazar, J.R., M. Martínez-Vázquez, C.L. Céspedes, T. Ramírez-Apan, A. Nieto-Camacho, J. Rodríguez-Silverio y F. Flores-Murrieta. 2011. Anti-inflammatory and cytotoxic activities of chichipenin, peniocerol, and macdougalli isolated from *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. Ex Pfeiff.) Con. *Zeitschrift für Naturforschung*. 66: 24-30.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 1844-1852.
- Sánchez-Quesada, C., A. López-Biedma, F. Warleta, M. Campos, G. Beltrán y J.J. Gaforio. 2013. Bioactive properties of the main triterpenes found in olives, virgin olive oil, and leaves of *Olea europea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 12173-12182.
- Sharkey, T.D. y S. Yen. 2001. Isopropen emission from plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 52: 407-436.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2010. *Plant physiology*. Fifth edition. Sinauer Associates Inc., Publishers. Massachusetts, U.S.A. 782 pp.
- Tholl, D. 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*. 9: 297-304.
- Tomás-Barberán, F.A. y R.J. Robins. 1997. *Phytochemistry of fruits and vegetables*. Clarendon Press. USA. 398 p.
- Trapp, S.C. y R.B. Croteau. 2001. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genetics*. 158: 811-832.

- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3-19.
- Zorgui, L., I. Ayed-Boussema, Y. Ayed, H. Bacha y W. Hassen. 2009. The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 662-667.

## Capítulo IX. Discusión general

La diversidad de especies y variantes del género *Opuntia* está también reflejada en la variabilidad de las características físicas de sus semillas, las cuales, en general, son un rasgo asociado con la capacidad de las especies para dispersarse y establecerse en sitios con condiciones climáticas diversas (Adewale *et al.*, 2012; Leishman y Murray, 2001; Obeso *et al.*, 2011; Stintzing y Carle, 2005). El proceso de humanización de algunas especies de este género indujo cierta variabilidad en caracteres morfológicos de diferentes órganos y estructuras de las plantas, *i.e.* la longitud, anchura, grosor y biomasa de semillas y de los frutos, en la composición química de los nopalitos y los frutos, *i.e.* polisacáridos (López-Palacios *et al.*, 2012 y 2015; McKey *et al.*, 2010; Peña-Valdivia *et al.*, 2012; Pickersgill, 2007), y en las características fisiológicas y biofísicas de los nopalitos, *i.e.* firmeza, permeabilidad de las membranas celulares, sólidos solubles totales, contenido de ácido málico, potencial de agua y potencial osmótico (García-Nava *et al.*, 2015).

En este estudio las variaciones inter- e intraespecíficas en la biomasa del fruto, número de semillas y características de semillas se observaron en variantes de especies reconocidas por Reyes-Agüero *et al.* (2005) por poseer grados diversos de humanización. Los resultados mostraron que las especies con grado mayor de domesticación *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Reyes-Agüero *et al.*, 2005) tuvieron frutos con biomasa de fruto, pulpa y semillas (normales y abortadas) mayores que la especie silvestre o menos humanizada (*O. streptacantha*) ( $p \leq 0.05$ ; Figuras 3.3, 3.14 y 3.15). Estos resultados muestran las modificaciones relacionadas con el síndrome de domesticación y confirman los resultados de Barbera *et al.* (1992), Díaz-Medina *et al.* (2007), Felker *et al.* (2005), Inglese *et al.* (1995), Parish y Felker (1997) y Reyes-Agüero *et al.* (2005), quienes señalan que el fruto de *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* es mayor que el de especies con humanización menor o silvestres, como *O. streptacantha*.

El incremento en el tamaño del fruto es uno de los efectos asociados a la selección humana (Colunga *et al.*, 1986; Reyes-Agüero *et al.*, 2005) y forma parte del síndrome de domesticación de muchas otras especies. Es probable que las diferencias

intraespecíficas en el tamaño del fruto de variantes cultivadas y silvestres se deban a extremos de variación natural. Puede ser también que en la domesticación incipiente los fenotipos con cladodios vigorosos y frutos de tamaño mayor fueran reconocidos y establecidos en forma vegetativa en solares y parcelas de cultivo (Colunga *et al.*, 1986; Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995). Así, esas poblaciones que persistieron en los ambientes humanizados contribuyeron a incrementar la diversidad de tamaño y forma del fruto.

También se observó incremento en el número de semillas por fruto y en anchura y longitud del fruto con el aumento de la humanización ( $p \leq 0.05$ ; Figuras 3.8 y 3.12 A). La tendencia al incremento de la relación semillas normales/abortadas en los frutos en este estudio concuerda con lo registrado por Aguilar-Estrada *et al.* (2003) y Reyes-Agüero *et al.* (2005), y con su señalamiento de que el incremento de las semillas abortadas está directamente relacionado con las presiones de selección humana, lo que se contrapone a la reducción en el número de semillas normales, la biomasa del fruto y el grosor de la semilla. Zohary (2004) señaló que las especies perennes humanizadas, como las de árboles frutales, generalmente presentan facilidad natural de reproducción sexual en sus variantes silvestres; así, por medio de la propagación vegetativa puede realizarse la multiplicación de algún individuo excepcional y realizar lo que Harlan (1992) denomina domesticación instantánea. Así, el número alto de semillas abortadas en *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* (Figuras 3.14 y 3.15), favorece la aceptación del fruto sin menoscabo reproductor, pues son especies fácilmente clonables por los productores.

En este estudio también se obtuvo la grafía química preliminar en nopalitos de 14 variantes de cinco especies extremas del gradiente de humanización (*O. ficus-indica* y *O. streptacantha*), identificado por Reyes-Agüero *et al.* (2005), para conocer las diferencias inter- e intraespecíficas de los grupos de metabolitos secundarios en ellas. Los resultados mostraron que dichos nopalitos son fuente de ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides (Figura 5.1). Sobresalió la presencia de los terpenoides ya que sólo se habían registrado en flores de *O. ficus-indica* y *O. stricta* (Ammar *et al.*, 2012), mientras que los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides) ya se han encontrado en varias especies y en diversos órganos de *Opuntia* (Abdel-Hammed

*et al.*, 2014; Benayad *et al.*, 2014; Chahdoura *et al.*, 2014; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Kuti, 2004; Lee *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012 y 2014; Moussa-Ayoub *et al.*, 2014; Osorio-Esquivel *et al.*, 2011; Saleem *et al.*, 2006; Santos-Zea *et al.*, 2011).

La ausencia de espinas en los cladodios de *O. ficus-indica* (Bravo, 1978) pudo haber propiciado un incremento en el metabolismo secundario de la planta como mecanismo compensatorio de protección (Nassar y Lev-Yadun, 2009) contra la irradiación solar alta y las temperaturas extremas. La irradiación solar alta es un factor abiótico que pudo haber incidido en el proceso evolutivo y adaptativo de las especies de *Opuntia* (Nobel, 1988), lo que podría explicar la concentración mayor del contenido de compuestos fenólicos derivados del ácido hidroxibenzoico (ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, vainillínico y síringico) y de flavonoides en *O. ficus-indica* que en *O. streptacantha* y *O. megacantha* con humanización mayor, menor e intermedia, respectivamente (Figuras 6.3 y 7.3). Ambos grupos de compuestos actúan como mecanismos antioxidantes que permiten a la planta tolerar ambientes abióticos generadores de estrés, como las temperaturas extremas (Horváth *et al.*, 2007), restricción de humedad (Galieni *et al.*, 2015) y periodos prolongados de exposición a la radiación solar (Carvalho *et al.*, 2010; Hichri *et al.*, 2011). Al respecto, se ha documentado que los flavonoides se acumulan de manera considerable en las células epidérmicas, ceras y tricomas, y en condiciones de estrés abiótico se activa el mecanismo molecular que los sintetiza (Ferreira *et al.*, 2012). Observaciones similares se han hecho para los terpenoides (Peñuelas y Llusà, 2002); en este estudio estos compuestos se detectaron en concentración mayor en *O. hypticantha* y menor en *O. ficus-indica*, con humanización mayor y menor, respectivamente (Figura 8.2). Estos compuestos también han sido postulados como barrera química contra insectos y otros herbívoros (Tholl, 2006); debido a esta característica, su abundancia en una de las especies silvestres puede entenderse como una protección química. Esta función se comparte con los compuestos derivados del ácido hidroxicinámico (ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, vainillínico y síringico), los cuales además están involucrados en la composición y estructura de la pared celular (Benayad *et al.*, 2014). La presencia de algunos derivados del ácido hidroxicinámico se ha documentado únicamente en las flores de *Opuntia*; por ello, esta evidencia de su presencia en nopalitos (Cuadros 6.1 y

6.2) es novedosa y fundamenta investigar sus funciones en estos tejidos y su relación con el proceso de domesticación de *Opuntia*.

En las especies identificadas en los extremos del gradiente de humanización, *O. ficus-indica* y *O. streptacantha*, reconocido por Reyes-Agüero *et al.* (2005) con características morfológicas, comprobado por García-Nava *et al.* (2015) con características biofísicas y fisiológicas de los nopalitos, y por López-Palacios *et al.* (2015) con características físicas de las semillas y frutos, en general también se cuantificaron los contenidos extremos del total de los derivados del ácido hidroxicinámico de las cinco especies (Figura 6.3). Así, resultados parciales de la composición química permiten identificar en las especies más humanizadas tendencias crecientes en contenido de compuestos fenólicos y decrecientes de terpenoides (Figuras 6.3, 7.3 y 8.2). Esto permite postular que los cambios en la presencia de algunos metabolitos secundarios pueden ser mecanismos adaptativos a los ambientes humanizados y a la eliminación de las espinas, lo cual también podría ayudar a explicar que las especies más domesticadas presenten diferencias intraespecíficas mayores ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de ácidos fenólicos (*O. ficus-indica*) (Figuras 6.4-6.7) y terpenoides (*O. albicarpa*) (Figuras 8.2-8.4).

La hipótesis planteada en este estudio fue que los caracteres físicos de frutos y semillas de nopal, y los metabolitos secundarios de los nopalitos, inherentes de cada especie, pueden ser modificados debido al proceso de humanización. Al respecto, los resultados obtenidos en este estudio permiten reconocer un gradiente con base en los caracteres inherentes de los frutos y semillas, y en la composición de los metabolitos secundarios identificados (Figuras 3.15, 6.3, 7.3 y 8.2), en el cual las especies humanizadas sobresalen por sus frutos de tamaño mayor y abundantes semillas, con nopalitos donde algunos metabolitos secundarios se incrementaron (compuestos fenólicos) y otros disminuyeron (terpenoides). Así, se establece que no sólo las estructuras físicas y de interés antropocéntrico se modifican por humanización, sino que la composición química relacionada con el metabolismo secundario también se altera. Observaciones similares se han hecho en otras especies como frijol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum sativum*) y yuca (*Manihot* sp.) (Galindo, 2006; Harlan, 1992; Mondolot *et al.*, 2008; Peña-Valdivia *et al.*, 2011; Sótelo *et al.*,

1995). En nopalito esta tendencia se observó en la composición de los polisacáridos estructurales y su relación con la aceptación del consumidor (López-Palacios *et al.*, 2012; Peña-Valdivia *et al.*, 2012). Las variaciones inter- e intraespecíficas detectadas en este estudio son muestra de la diversidad del género, la complejidad de su evolución y el impacto de la humanización. Falta avanzar en los detalles del papel fisiológico de los metabolitos secundarios en el género *Opuntia* y su relación con los ambientes en los que cada especie prevalece.

### Literatura citada

- Abdel-Hameed, E.-S.S., M.A. Nagaty, M.S. Salman y S.A. Bazaid. 2014. Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry*. 160: 31-38.
- Adewale, B.D., C.O. Aremu y U.E. Amazue. 2012. Intra-specific variability and diversity analysis of African yam bean by seed size parameters. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 7: 454-461.
- Aguilar-Estrada, A., J.A. Reyes-Agüero y J.R. Aguirre R. 2003. Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). En: Esparza F., G., M.A. Salas L., J. Mena C. y R.D. Valdez Z. (Eds.). *Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional Sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*. Gobierno del Estado de Zacatecas. Zacatecas, México. pp. 117-120.
- Ammar, I., M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yangui y H. Attia. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products*. 37: 34-40.
- Barbera, G., P. Inglese y T. La-Mantia. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia Horticulturae*. 58:161-165.
- Benayad, Z., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, C. Gómez-Cordoves y 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.

- Bravo H., H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 365 p.
- Carvalho, I.S., T. Cavaco, L.M. Carvalho y P. Duque. 2010. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. Food Chemistry. 118: 384-390.
- Chahdoura, H., J.C.M. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira y L. Achour. 2014. Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. Journal of Functional Foods. 9: 27-37.
- Colunga G-M., P., E. Hernández X., A. Castilla M.. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío Guanajuatense. Agrociencia. 65: 7-49.
- Díaz-Medina, E.M., E.M. Rodríguez-Rodríguez y C. Díaz-Romero. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. Food Chemistry. 103: 38-45.
- Felker, P., S. del C. Rodríguez, R.M. Casoliba, R. Filippini, D. Medina y R. Zapata. 2005. Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. Journal of Arid Environments. 60: 405-422.
- Ferreira, M.L.F., S.P. Rius y P. Casati. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. Frontiers in Plant Science. 3: 1-15.
- Galieni, A., C. di Mattia, M. de Gregorio, S. Speca, D. Mastrocola, M. Pisante y F. Stagnari. 2015. Effects of nutrient deficiency and abiotic environmental stresses on yield, phenolic compounds and antiradical activity in lettuce. Scientia Horticulturae. 187: 93-101.
- Galindo Z., M.V. 2006. Cambios ocurridos en las semillas de frijol común bajo domesticación. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 88p.
- García-Nava, F., C. B. Peña-Valdivia, C. Trejo, R. García N.; J. A. Reyes A. y J. R. Aguirre R. 2015. Biophysical and physiological characteristics of nopalitos



- (*Opuntia* spp. Cactaceae) as influenced by domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 62: 927-938.
- 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 y A.P. Barba-de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolics acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 23: 525-532.
- Harlan, J.R. 1992. *Crops & Man*. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA. 295 p.
- Hichri, I., F. Barrieu, J. Bogs, C. Kappel, S. Delrot y V. Lauvergeat. 2011. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway. *Journal of Experimental Botany*. 62: 2465-2483.
- Horváth, E., M. Pál, G. Szalai, E. Páldi y T. Janda. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biologia Plantarum*. 51: 480-487.
- Inglese, P., G. Barbera y T. La Mantia. 1995. Research for the improvement of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. *Journal of Arid Environments*. 29: 455-468.
- Kuti, J.O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*. 85: 527-533.
- Lee, J.C., H.R. Kim, J. Kim y Y.S. Jang. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6490-6496.
- Leishman, M.R. y B.R. Murray. 2001. The relationship between seed size and abundance in plant communities: model predictions and observed patterns. *Oikos*. 94: 151-161.
- López-Palacios, C., C.B. Peña-Valdivia, J.A. Reyes-Agüero y A.I. Rodríguez-Hernández. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Genetic 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 y J.F. Jiménez-Bremont. 2015. Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. Genetic Resources and Crop Evolution. DOI 10.1007/s10722-015-0223-9.
- Morales, P., L. Barros, E. Ramírez-Moreno, C. Santos-Buelga e I.C.F. Ferreira. 2014. Exploring xoconostle by-products as sources of bioactive compounds. Food Research International. 65: 437-444.
- Morales, P., E. Ramírez-Moreno, M. de C. Sánchez-Mata, A.M. Carvalho e I.C.F.R. Ferreira. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weberex Diguét and *Opuntia matudae* Sheinvar) of high consumption in Mexico. Food Research International. 46: 279-285.
- McKey, D., M. Elias, B. Pujol y A. Duputié. 2010. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. New Phytologist. 186: 318-332.
- Nassar, O. y S. Lev-Yadum. 2009. How prickly is a prickly pear? Israel Journal of Plan Sciences. 57: 117-124.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press. New York, USA. 270 p.
- Obeso, J.R., I. Martínez y D. García. 2011. Seed size is heterogeneously distributed among destination habitats in animal dispersed plants. Basic and Applied Ecology. 12: 134-140.
- Osorio-Esquivel, O., A. Ortiz-Moreno, V.B. Álvarez, L. Dorantes-Álvarez y M.M. Giusti. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. Food Research International. 44: 2150-2158.
- Parish, J. y P. Felker. 1997. Fruit quality and production of cactus pear (*Opuntia* spp.) fruit clones selected for increased frost hardiness. Journal of Arid Environments. 37: 123-143.
- Peña-Valdivia, C.B., J.R. García-Nava, J.R. Aguirre R., M.C. Ybarra-Moncada y M. López H. 2011. Variation in physical and chemical characteristics of common bean

- (*Phaseolus vulgaris* L.) grain along a domestication gradient. *Chemistry & Biodiversity*. 8: 2211-2225.
- Peña-Valdivia, C.B., C. Trejo, V.B. Arroyo-Peña, A.B. Sánchez U. y R. Balois M. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Chemistry & Biodiversity*. 9: 1599-1610.
- Peñuelas, J. y J. Llusià. 2002. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytologist*. 155: 227-237
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*. 100: 925-940.
- Pimienta-Barrios, E. y A. Muñoz-Urias. 1995. Domestication of *Opuntia* and agricultural varieties. En: Barbera, G., P. Inglese y E. Pimienta-Barrios (Eds.). *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. International Technical Cooperation Network on Cactus Pear. FAO Publications. Rome, Italy. pp. 58-61.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre R. y J.L. Flores F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia*. 30: 476-484.
- Saleem, R., M. Ahmad, A. Azmat, S.I. Ahmad, Z. Faizi, L. Abidi y S. Faizi. 2005. Hypotensive activity, toxicology and histopathology of opuntioside-I and methanolic extract of *Opuntia dillenii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 1844-1852.
- Santos-Zea, L., J.A. Gutiérrez-Urbe y O. Serna-Saldívar. 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.
- Sótelo, A., H. Souza y M. Sánchez. 1995. Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods for Human Nutrition*. 47: 93-100.
- Stintzing, F.C. y R. Carle. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): a review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*. 49: 175-194.

- Tholl, D. 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*. 9: 297-304.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany* 58: 5-10.

## Capítulo X. Conclusiones generales

- Como resultado de la domesticación de *Opuntia* existen diferencias significativas en el tamaño de los frutos y en la proporción de sus componentes. La biomasa del fruto y de su pulpa en las especies más domesticadas fue mayor y menos variable. También, estas especies presentan mayor número y biomasa de semillas normales y abortadas, y más longitud y anchura en sus semillas normales.
- La domesticación careció de relación significativa con el grosor y dureza de las semillas. La especie menos domesticada, *O. streptacantha*, tiene proporción mayor de cáscara y menor de pulpa que las especies con grado mayor de domesticación.
- La biomasa mayor del fruto resulta de proporción mayor de pulpa y menor de semilla y cáscara.
- El mapeo fitoquímico permitió reconocer la presencia de fenoles, flavonoides y terpenoides en nopalitos de *Opuntia*.
- Se reconoció la presencia de ocho tipos de ácidos fenólicos, cinco flavonoides y tres terpenoides aunque su distribución dentro de las especies y entre las variantes fue diversa.
- Por primera vez se documenta la presencia de los ácidos clorogénico, siríngico y vainillínico en nopalitos de *Opuntia*.
- Los nopalitos de *O. ficus-indica* tienen la concentración menor de ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico y los de *O. hyptiacantha* la menor. Las mismas tendencias se observaron en la concentración de terpenoides.
- De cada grupo de metabolitos estudiados en los nopalitos de *Opuntia* spp., los más abundantes fueron el ácido gálico y quercetina de los compuestos fenólicos y  $\beta$ -amirina en los terpenoides.
- La variación intraespecífica de ácidos fenólicos en los nopalitos fue mayor en *O. ficus-indica* y *O. albicarpa* en los terpenoides.
- Las variaciones inter- e intraespecíficas encontradas son muestra de la diversidad del género y como parte del proceso de adaptación y evolutivo de cada una de las especies de *Opuntia*.

Anexo A

*Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in Opuntia spp., Cactaceae*

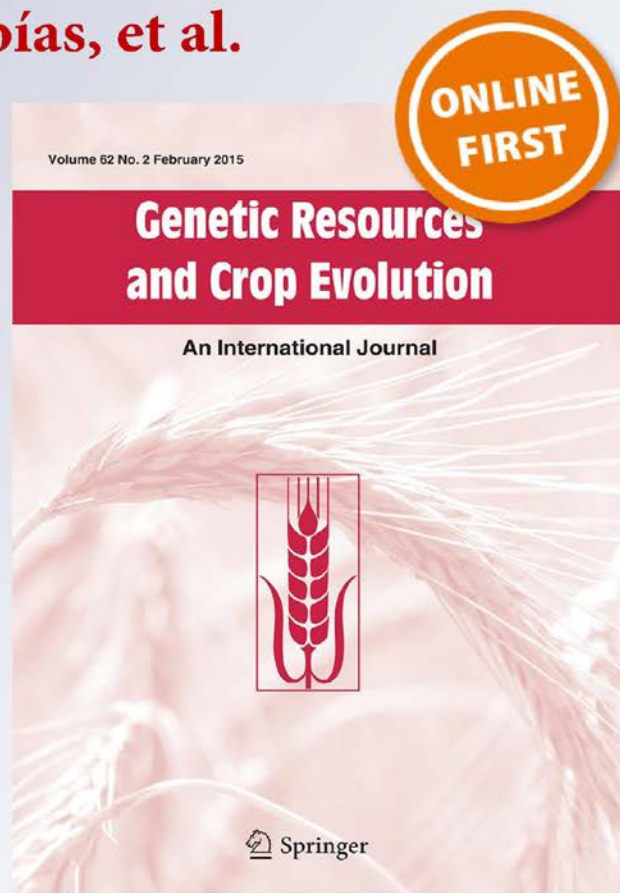
**Cristian López-Palacios, Cecilia B. Peña-Valdivia, J. Antonio Reyes-Agüero, J. Rogelio Aguirre-Rivera, Hugo M. Ramírez-Tobías, et al.**

**Genetic Resources and Crop Evolution**

An International Journal

ISSN 0925-9864

Genet Resour Crop Evol  
DOI 10.1007/s10722-015-0223-9



 Springer

## Inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae

Cristian López-Palacios · Cecilia B. Peña-Valdivia · J. Antonio Reyes-Agüero · J. Rogelio Aguirre-Rivera · Hugo M. Ramírez-Tobías · Ramón Marcos Soto-Hernández · Juan Francisco Jiménez-Bremont

Received: 6 November 2014 / Accepted: 5 February 2015  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

**Abstract** Domestication is an evolutionary process that culminates with the origin of individuals or populations that are morpho-physiologically, chemically and genetically different from their wild, congeneric relatives. The aim of the present study was to quantify the inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *O. streptacantha* Lem., *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber, *O. megacantha* Salm-Dyck, *O. albicarpa* Scheinvar and *O. ficus-indica* (L.) Mill., the least, intermediate, and most highly domesticated species. The hypothesis was that selecting larger fruits with fewer and softer seeds (normal and aborted) during domestication reduced the interspecific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. For fruits of 89 variants of the Southern

Mexican Plateau, total biomass and biomass of pulp with seeds was quantified; seed length, width, thickness and dehydrated mass were measured, as well as hardness of normal seeds. The total number of seeds was quantified and normal and aborted seeds were counted separately. A randomized design, with 89 treatments (variants) and six replicates and a fruit as experimental unit per treatment was used. The data were analysed by ANOVA, Tukey's multiple comparison test ( $p \leq 0.05$ ), multivariate ordination (principal components analysis) and classification (clustering analysis). Inter-specific analysis indicated that fruits of the most highly domesticated variants (*O. albicarpa* and *O. ficus-indica*) had higher biomass ( $p \leq 0.05$ ), followed by those of *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* and wild variants of *O. streptacantha*, and non-significant differences existed in seed thickness or hardness. Fruit and pulp biomass were positively and significantly correlated with seed biomass. Species with greater domestication clustered

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s10722-015-0223-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.

C. López-Palacios · C. B. Peña-Valdivia (✉) · R. M. Soto-Hernández  
Postgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, 56230 Mexico, Mexico  
e-mail: cecilia@colpos.mx; cecibetipv@gmail.com

J. A. Reyes-Agüero · J. R. Aguirre-Rivera  
Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Altair 200, Colonia Del Llano, 78377 San Luis Potosí, S.L.P., Mexico

H. M. Ramírez-Tobías  
Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis Potosí-Matehuala km 14.5, Ejido Palma de la Cruz, 78321 Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., Mexico

J. F. Jiménez-Bremont  
Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa de San José 2055, Colonia Lomas 4 Sección, 78216 San Luis Potosí, S.L.P., Mexico



according to their larger fruits ( $\geq 117.83$  g) and the greater number of aborted seeds ( $\geq 65$ ). Domestication of *Opuntia* has also modified seed dimensions and increased the number of aborted seeds per fruit ( $\leq 11$  to  $\geq 65$ ).

**Keywords** Domestication · Fruit biomass · *Opuntia* seeds · *Opuntia* species · Physical characteristics of seed · Prickly pear

## Introduction

Human-induced changes in biota reflect an evolutionary process defined by natural and artificial selection; this process begins with the selection of certain wild individuals or populations for their desired characteristics, and it results in genetic and morphological attributes that differentiate the new individuals from their wild relatives (Pickersgill 2007; Perales and Aguirre 2008). This process is gradual and continuous, and its speed and depth depend on the species (Perales and Aguirre 2008) and on the level of interaction with humans. The combination of morphological, physiological, biochemical and genetic differences between domesticated species and their wild congeneric relatives constitutes the domestication syndrome; in some cases, the ability of the domesticated species to survive in natural environments decreases (Zohary 2004). The attributes that define the domestication syndrome include diverse modifications, such as a decrease in dispersal capacity or in the number of viable seeds, enlargement of organs of interest to humans, modification of sexual reproduction, a decrease in seed latency capacity, and loss of chemical or mechanical protection against herbivores (McKey et al. 2010; Peña-Valdivia et al. 2012; Pickersgill 2007).

*Opuntia* and *Mammillaria* are the genera with the greatest diversity and widest distribution in the family Cactaceae; *Opuntia* includes 188 species, 78 of which, with both wild and cultivated variants, are native to Mexico (Anderson 2001). Continuous and systematic gathering of *Opuntia* organs of interest to humans has favored the persistence of variants with “nopalitos” (edible cactus pads or cladodes), fruits, or both, with exceptional characteristics, likely because from the start of their humanization variants with these traits were tolerated, favored, or cultivated (Reyes-Agüero et al. 2009).

Measuring degree of domestication within and between species is already very problematic. Reyes-Agüero et al. (2005) were able to identify the level of domestication based on a multivariate analysis of 42 morphological characteristics of the plants, cladodes, nopalitos and fruits of 483 accessions. The cited authors determined that *O. streptacantha* Lem. represented the wild end of the spectrum, followed by *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber and *O. megacantha* Salm-Dyck, with an intermediate level of domestication. On the other end of the spectrum, with the highest level of domestication, were *O. albicarpa* Scheinvar and *O. ficus-indica* (L.) Mill. Among the changes that occurred with domestication, these authors identified an increase in pulp sweetness and fruit size, a decrease in the number and hardness of seeds and a change in the proportion of aborted seeds per fruit.

In *Opuntia* genera also an inter- and intra-specific physiological and chemical variability has been observed. García-Nava et al. (2014) evaluated nopalitos of 15 variants of five *Opuntia* species sampled from plants without irrigation for 60 days; much bigger differences were present when they compared turgor potential (fivefold), osmotic potential (up to 55 %), membrane permeability (36 %), firmness (20 %) and tissue water potential ( $\Psi_w$ ) (12 %) among wild variants of *O. streptacantha*, and this heterogeneity widely contrasted with the homogeneity among cultivars of *O. ficus-indica*. Similarly, López-Palacios et al. (2012) contrasting the content of structural polysaccharides in nopalitos of 14 variants of five species of *Opuntia* documented the greatest differences in mucilages (up to 50 %) within wild variants of *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha* than in domesticated species. Meanwhile in a study regarding the polysaccharides and dietary fiber abundance in the most consumed Mexican cultivars of nopalitos, including 10 cultivars of *O. ficus-indica* (L.) Mill., significant and wide variation were observed among the cultivars in structural polysaccharides: mucilages [from 3.8 to 8.6 % dry matter (DM)], pectins (from 6.1 to 14.2 % DM), loosely bound hemicelluloses (from 4.3 to 10.7 % DM), tightly bound hemicelluloses (from 2.2 to 4.7 % DM), cellulose (5.0 to 14.0 % DM), soluble fiber (16.0 to 30.0 % DM), and insoluble fiber (7.8 to 16.2 % DM) (Peña-Valdivia et al. 2012).

In *Opuntia*, the effect of domestication on the morphological characteristics of the seeds has been partially documented (Aguilar-Estrada et al. 2003). The



interest in seeds arises due to its relationship with aspects of fruit quality for human consumption (Aguilar-Estrada et al. 2003; Barbera et al. 1994). In an analysis of the Italian cultivars of *O. ficus-indica*, Gailla and Rossa, the size of the fruit depended on the number and weight of seeds per fruit. Pulp weight was positively and significantly correlated with the number of seeds, and the ratio of normal to aborted seeds was constant, independent of their total number in the fruits (Barbera et al. 1994). Aguilar-Estrada et al. (2003) documented that the *Opuntia* fruits have, on average, 229 seeds, of which 186 are normal and 43 are aborted. However, these attributes varied across species, variants, cultivars, and conditions during plant development (Barbera et al. 1994). The pulp of the prickly pear develops from the outside of the epidermal cells of the funicular wrapping and the funiculus of both types of seeds (Pimienta and Engleman 1985), and the pulp content depends on the number of seeds in the fruit. However, in cultivars for fruit production, preferred variants have few, small seeds, with a high abundance of aborted seeds (Aguilar-Estrada et al. 2003; Barbera et al. 1994).

The aim of the present study was to quantify the inter- and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa*, and *O. ficus-indica*, this identified as the most highly domesticated species. The hypothesis was that selecting larger fruits with fewer and softer seeds (normal and aborted) during domestication reduced the inter-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae.

## Materials and methods

Botanical material was obtained from commercial plantations, experimental prickly pear plantations, home gardens and wild nopal plants populations in 29 localities of the Southern Mexican Plateau as reported by Reyes-Agüero et al. (2005). Six fruits of 89 variants of five species with extreme and intermediate levels of domestication were collected; the number of variants accessions per species was variable (Table 1). The passport information of these accessions is provided in Supplementary Table S1.

For fruits, total pulp with seeds and seed-only biomass were determined; the percentages of pulp,

seeds and skin were also measured. The total number of seeds per fruit and the number of normal versus aborted seeds were quantified; for normal seeds, dehydrated mass, length, width, thickness and hardness were quantified. For these measurements, seeds were separated from the pulp with the help of a domestic blender with blunt blades. The pulp was mixed with 1 L of water, and the blades were activated for 45 s at low speed. The jar contents were poured through a strainer with 48 holes/cm<sup>2</sup>. To eliminate the remains of funicular wrappings, the strainer with seeds was put under running water. Seeds were then set in Petri dishes and were left to dry at room temperature in the laboratory (26 ± 2 °C) for 3 days. Dry seeds were kept in paper envelopes at the same temperature.

Fruit and pulp biomass were quantified using a beam balance (Precisa model XB2200C, Switzerland, with ±0.1 g precision). Dry seed biomass was measured with an analytical balance (Scientech model SA120, USA, with ±0.0001 g). Seed dimensions were measured with a caliper (Caliper-Mitutoyo, Japan; digital, with ±0.0001 cm precision); hardness was quantified, with six repetitions per fruit, by the energy necessary to compress each seed to 50 % of its thickness with an universal test machine (Instron Model 1000, USA) and with a load cell of 4.9 kN (500 kg<sub>r</sub>).

A completely randomized experimental design was used to assess the 89 treatments or nopal variants, with six fruits as experimental unit. Frequency distribution of fruit size and seed biomass and of size and hardness of seeds were tested for normality based on the graphic residual analysis and the Shapiro-Wilks test with the InfoStat software (Version 2011e) (Balzarini et al. 2008; Di-Rienzo et al. 2011). Variables were transformed when the normality assumption was not met. The data were analyzed with ANOVA, Tukey's multiple comparison test, Pearson's correlation and multivariate Principal Components Analysis (PCA), and clustering (mean distance method). Statistical analyses were performed with the SAS statistical package (version 9).

## Results and discussion

### Fruit biomass

The range in fruit biomass for the five species included in this study was between 30 and 230 g. The least variable fruits were from *O. ficus-indica* and

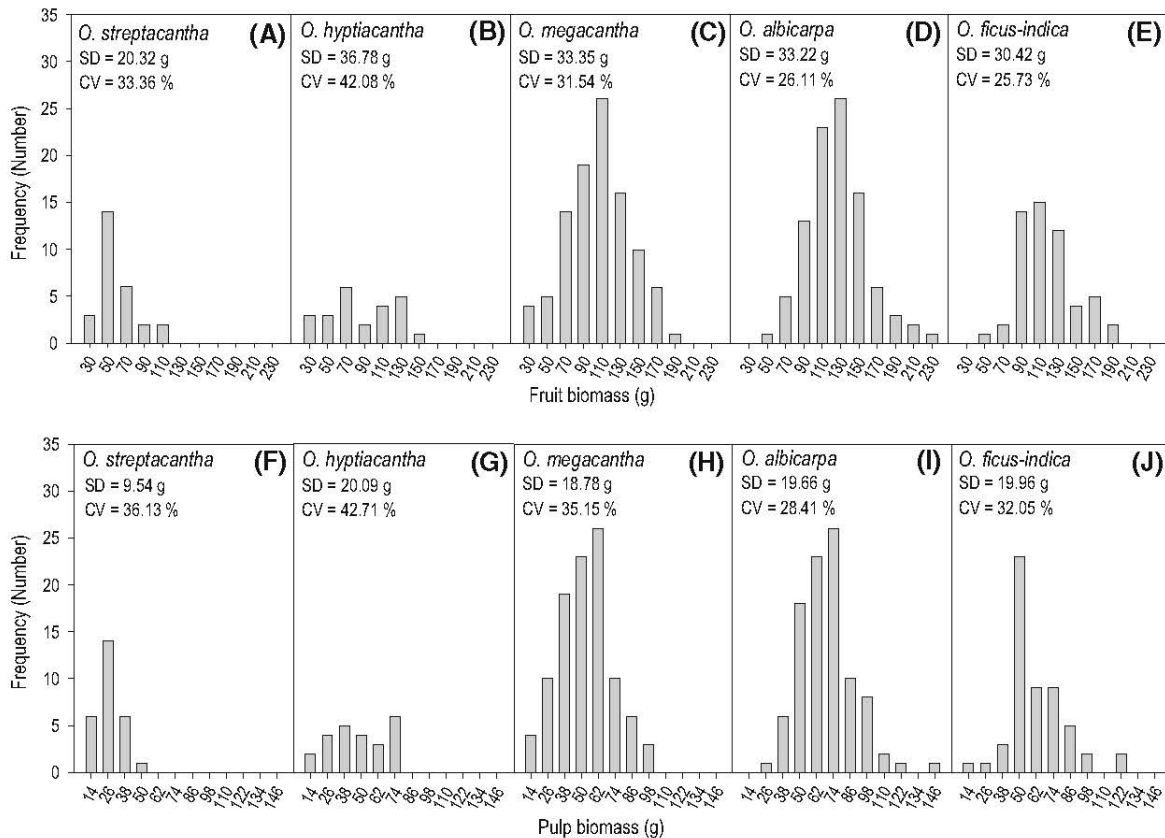
**Table 1** Nopal species (*Opuntia* spp.), variants and number of accessions (N.A.) included in the study

Species and variants	N.A.	Species and variants	N.A.	Species and variants	N.A.
<i>O. streptacantha</i> Lem.		Chamacuero Monteza	1	Bola de Masa	3
Burra	1	Chirriona	4	Burro	4
Cardón	1	Cuervo Tuna	2	Burrona	5
Cardón Potosino	2	Jagüeño	4	Copa de Oro	11
Charola	2	Jarilla	2	COPEÑA T12	10
Demshikájä	5	Jarilla Grande	6	Cristalina	7
Isbiní	1	Jarrilla Kájä	4	Cristalino	5
Jocoquillo	6	Manso Apastillada	4	Dadokájä	4
Sandía	2	Mieluda	3	Esmeralda	5
Santo Tomás	3	Morada de San Martín	6	Fafayuco	3
Trompa de Cochino	1	Naranjona	2	Gavia	5
		Naranjona Dulce	1	Mango	2
<i>O. hyptiacantha</i> F.A.C. Weber		Naranjona Helia	2	Octubreña	3
Amarilla 24	1	Oshikájä	1	Papantón	8
Blanca Victoria	1	Pico Chulo	7	Papino	2
Camueso	2	Reventón	11	Reyna	4
Cardón Blanco	5	Roja Saeta	1	Reynita	1
Cardón de la Papas	1	Rojito 10	3		
Jaqueña	5	Rubí Reyna	5	<i>O. ficus-indica</i> (L.) Miller	
Jokjá	1	Sangre	1	Copena F1	3
Ladrillo	1	Sangre de Toro	1	Amarilla Milpa Alta	5
Nistokájä	2	Sangrita	1	Amarillo Huevo	2
Pachón	5	Sgt-INIFAP	1	Atlixco	1
		Tonikájä	5	Camuesa	2
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck		Torreaja	1	Doctor Mora	4
Amarilla China	1	Tzebekájä	4	Liso	4
Amarilla Mansa	2			Liso Blanco	1
Amarilla Monteza	2	<i>O. albicarpa</i> Scheinvar		Liso Forrajero	13
Amarilla Naranjona	3	Amarilla Olorosa	1	Promotora	1
Amarilla Raleña	1	Amarilla Pera	5	Solferino	7
Apastillada Anaranjada	2	Anaranjado	2	Telokájä	6
Astikájä	1	Blanca	4	Telokája Roja	6
Bola de Masa	5	Blanca Chapeada	3		

*O. albicarpa* (CV = 25.73 and 26.11 %, respectively). The frequency distribution of fruit sizes was also different among species and was only symmetrical around the mean for *O. megacantha* and *O. albicarpa*. In *O. ficus-indica*, the distribution was biased towards larger fruits with peaks at 110, 130 and 170 g. Biomass variability in *O. hyptiacantha* fruits was high (CV = 42.08 %), without dominance of any one size (Fig. 1A–E).

The intra-specific differences in fruit biomass were significant ( $p \leq 0.05$ ). In all species, the range within variants represented approximately 50 % of the biomass (Fig. 2A). These differences were greater in *O. megacantha* and *O. albicarpa*, as reflected in their frequency distributions.

The inter-specific mean biomass of fruits was also significant ( $p \leq 0.05$ ; the ANOVA analysis information is provided in Supplementary Table S2). The



**Fig. 1** Frequency distribution of fruit biomass (A–E) and fruit pulp (F–J) of five species of *Opuntia*. *SD* standard deviation, *CV* coefficient of variation

more domesticated species *O. ficus-indica* and *O. albicarpa* had the fruits with the highest biomass out of the five species, twice that of the fruits of *O. streptacantha*, the smallest fruits (Fig. 3A).

Reyes-Agüero et al. (2009) recorded the range in biomass of *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* fruits (from 23.5 to 116.4, 23.7 to 199.9, and 29.8 to 256.4 g respectively), and the values found in this study fall within these ranges (Figs. 1A–C, 2A, 3A). In contrast, Parish and Felker (1997) found that the fruits of the same species, belonging to variants with commercial value, showed greater biomass (117 and 160 g) (Fig. 3A).

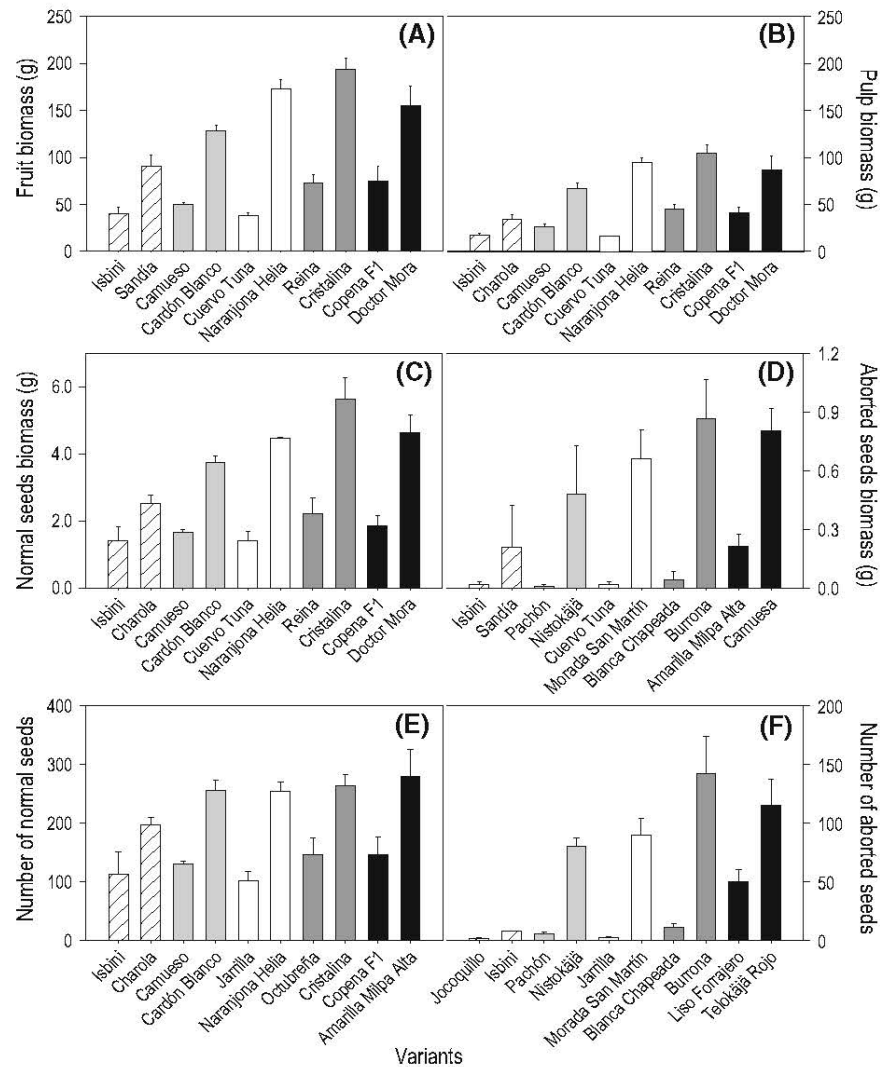
The differences between values in the literature and those found in the present study (Fig. 3A) might have occurred due to the diversity of the variants and the growing conditions before harvest. The weight of *O. ficus-indica* fruits is affected by the time of sprouting

of the flower bud and the number of fruits in the cladode. Therefore, the buds that sprout earlier generally form fruits with higher biomass than the cladodes in which only six fruits develop (Inglese et al. 1994; Wessels and Swart 1990).

*Opuntia ficus-indica* is the most studied and documented species due to its worldwide distribution and high level of domestication (Barbera et al. 1992; Griffith 2004), which is also reflected in its fruit biomass. In fact, Reyes-Agüero et al. (2005), based on a sample of fruits from 72 cultivars in 17 localities from eight states of Mexico, recorded a range in biomass between 86 and 146 g, but there were fruits with only 45 g (a traditional variety without seeds) and up to 223 g. In some cultivars, such as Amarilla Huesona, Amarilla Naranjona and Rojo Pelón, fruits ranged between 114 and 143 g (Pimienta-Barrios 1994); in Gialla and Rosa, they ranged from 135 to



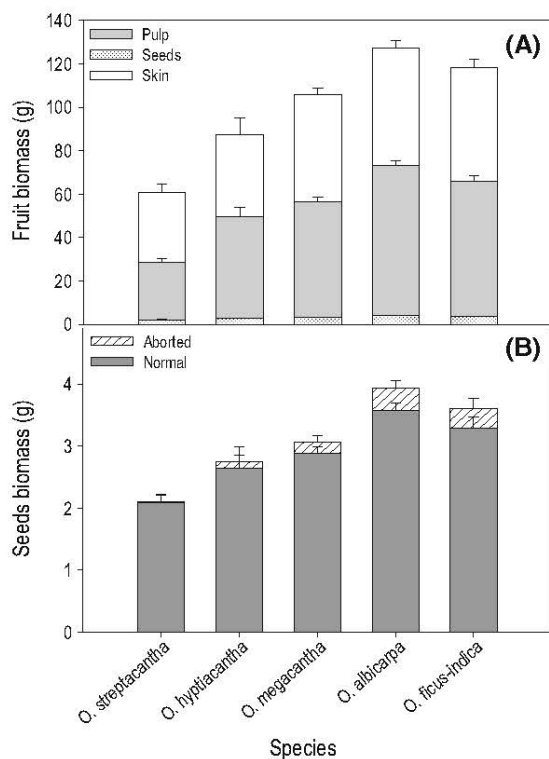
**Fig. 2** Two variants with the lowest and highest fruit biomass (A), pulp biomass (B), normal seed biomass in fruit (C), aborted seed biomass (D), number of normal seeds (E), and number of aborted seeds (F) (+SE) of five species of *Opuntia*. *Opuntia streptacantha* Lem. (hatch pattern), *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber (light grey), *O. megacantha* Salm-Dyck (white bars), *O. albicarpa* Scheinvar (dark grey bars), and *O. ficus-indica* (L.) Mill. (black bars)



146 g (Barbera et al. 1994; Schirra et al. 1999) and between 114 and 152 g (Parish and Felker 1997), respectively; in harvests from Argentina, fruits weighed between 112 and 212 g (Felker et al. 2005); in Tenerife Island, Spain, they weighed 98 g (Díaz-Medina et al. 2007), and in Italy, commercial fruits weighed between 80 and 160 g (Inglese et al. 1995). This variation in fruit biomass in *O. ficus-indica* was also recorded in cultivars of the present study (Figs. 2A, 3A).

The results shown (Figs. 1A–E, 2A, 3A; the ANOVA analysis information is provided in Supplementary Table S3) also support the hypothesis of a direct relationship between fruit size and domestication, and

confirm records from other authors (Barbera et al. 1992; Díaz-Medina et al. 2007; Felker et al. 2005; Inglese et al. 1995; Parish and Felker 1997; Reyes-Agüero et al. 2005) who reported that the fruits of *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* are larger than those of wild or less domesticated species, such as *O. streptacantha*. The increase in fruit size is one of the effects associated with selection by humans (Colunga-García et al. 1986; Reyes-Agüero et al. 2005) and is part of the domestication syndrome in many other species. It has been postulated that the differences in the sizes of fruits between cultivated and wild species are due to differing ploidy (Pimienta-Barrios 1994), but natural extreme fruit size variation, hybridization, and mutations are also



**Fig. 3** Fruit biomass (A) and seed biomass in fruit (B) (+SE) of *Opuntia* species

possible in *Opuntia* genus. During humanization, phenotypes with vigorous cladodes and larger fruits were probably identified and cultivated in home gardens and cultivated parcels in semiarid regions (Colunga-García et al. 1986; Figueroa et al. 1980; Pimienta-Barrios 1994). Therefore, these populations persisted in anthropic environments and contributed to the diversity in fruit size and shape.

#### Fruit pulp biomass

The range in fruit pulp biomass in the five species was 14–146 g. The fruits of *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* were the least variable (CV = 28.41 and 32.05 %), and those of *O. hyptiacantha* showed the greatest variability (CV = 42.71 %). The frequency distributions of pulp biomass, similar to those of fruits, were different between species; it was symmetrical around the mean only in *O. megacantha*, and in *O. hyptiacantha* it had two peaks. The range in *O. streptacantha* was 13–49 g with a mode of 26 g; in *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-*

*indica*, the ranges were from 14 to 98, 26 to 146 and 14 to 122 g, and the modes were 62, 74, and 50 g, respectively (Fig. 1F–J).

Intraspecific variation in pulp biomass showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ). In *O. streptacantha*, fruits of the variety Isbini showed the lowest amount of pulp, and those of the Charola variant doubled it. Cardón Blanco of *O. hyptiacantha* contained twofold of pulp amount than Camueso. The largest contrast was between variants of *O. megacantha*, Cuervo Tuna and Naranjona Helia, which had almost five times more pulp. In *O. albicarpa*, Reina had significantly less pulp than Cristalina. The extremes in pulp weight cultivars of *O. ficus-indica* were COPENA F1 with the lowest content and Doctor Mora with the highest content. These results indicate that the range in pulp content increased: 23, 52, 100, 76 and 58 % in *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*, respectively (Fig. 2B).

The mean biomass of fruit pulp was different between species, from 26 g in *O. streptacantha* to 62 and 69 g in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (Fig. 3A). In contrast, it expressed as percentage of fruit biomass was lower ( $p \leq 0.05$ ) in *O. streptacantha* and not significantly different from the remainder of the species ( $p > 0.05$ ; Table 2).

There is limited information on pulp content in fruits of *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha*. The whole fruit weight (71 and 76 g) and pulp content (52 and 47 % pulp) estimated by Parish and Felker (1997) was greater than in the present study. In contrast, Reyes-Agüero et al. (2009) recorded fruit pulp percentages between 32.7 and 46.9 % for *O. streptacantha* and between 46.1 and 54.8 % for *O. hyptiacantha*, values similar to that recorded in the present study (Table 2).

Fruit pulp content in *O. megacantha* (Fig. 3A) was also lower than that of certain commercial variants (between 72 and 79 g) and those assessed by Parish and Felker (1997), but it was within the interval (between 12.1 and 132.7 g) described by Reyes-Agüero et al. (2009) for diverse variants of the same species. The relative proportion of pulp in the fruit (from 54 to 57 %), obtained by these authors, was slightly above the found in the present study (50 %; Table 2). The differences in some of the results may be due to the great diversity of variants within the species (Colunga-García et al. 1986; Reyes-Agüero



**Table 2** Relative proportion (%) of pulp, seeds and skin in fruits of five species of *Opuntia*

Species	Pulp (%)	Seeds (%)	Skin (%)
<i>O. streptacantha</i> Lem.	44.13b	3.62a	52.25a
<i>O. hyptiacantha</i> F.A.C. Weber	53.69a	3.28a	43.03b
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck	50.36a	2.98b	46.66b
<i>O. albicarpa</i> Scheinvar	54.51a	3.10b	42.38b
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.	52.74a	3.07b	44.19b

Values followed by different letters within columns are statistically different ( $p > 0.05$ )

et al. 2005). The present study confirms the great richness of variants (Table 1) and their variability in fruit biomass (Fig. 2A) and pulp content (Fig. 2B). Moreover, the variants studied by Parish and Felker (1997) partially differed from those included in this study because those authors studied only commercial variants, whereas in this study, variants from very diverse environments were included.

Information regarding the fruits of *O. albicarpa* variants is scarce in the research literature. Pimienta-Barrios (1994) recorded 106 g (56 %) of pulp in the Alfajayucan variant, and Mondragón-Jacobo and Pérez-González (1994) recorded 67 % in the Reyna variant. These values are similar to those reported for the Naranjona Helia variant, with close to 100 g of pulp per fruit (Fig. 2B) but greater than the mean proportion (54 %) of the 22 accessions of *O. albicarpa* included in the present study (Table 2). There are estimations of fruit pulp in *O. ficus-indica* between 46 and 81 g per fruit (Barbera et al. 1994; Díaz-Medina et al. 2007; Parish and Felker 1997; Pimienta-Barrios 1994), but Reyes-Agüero et al. (2009) recorded a wider range, between 14.2 and 170.1 g, which matches the range found in the present study (Figs. 2B, 3A). The relative content of pulp in the fruits depends on the variant and its origin; in the cultivars from Mexico, this parameter varies between 39 and 55 % of the fruit (Parish and Felker 1997; Pimienta-Barrios 1994). This range coincides with results from the present study (Table 2) and suggests that the variability of this trait is relatively stable in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*. In contrast, fruits from Italy are less variable and contain approximately 60 % pulp (Barbera et al. 1994).

In general, the hypothesis of an increase in pulp content in fruits with a greater level of domestication was confirmed (Figs. 2B, 3A), as was a decrease in the proportion of skin (Table 2). The greater proportion of

skin in *O. hyptiacantha* and *O. streptacantha* (52.5 and 47.7 %) fruits than in those of *O. megacantha* and *O. ficus-indica* (37.4 and 35.8 %) was recorded by Parish and Felker (1997). Additionally, fruits from cultivars of *O. ficus-indica* with biomass between 140 and 160 g adapted to cold, higher altitude zones showed a greater proportion of skin (59.7 %) than those from warmer environments (50 %) (Felker et al. 2005). According to Bachmann (1978), the size increase of cells or organs correlates with decreases in surface/volume and can alter metabolism and cellular processes such as nutrient absorption. Moreover, smaller cells respond faster to environmental changes, and therefore, in some organisms there is an increase in the proportion of cells in developing organs as an adaptation to the environment. The reduction in the skin proportion that accompanies the domestication of *Opuntia* is not likely to affect the final development of the fruit because photosynthetic activity only supports pulp production before maturity (Pimienta and Engleman 1985) and because a relative reduction in skin occurs mainly due to reduced thickness. In wild species, which frequently develop under stressful conditions, the higher proportion of skin could complement the metabolic activity of vegetative organs and offer greater protection and isolation of the fruit. In this regard, it has been noted that skin tissues are similar to those in cladodes, but the former have better developed mucilaginous ducts and their cells in the crust are organized irregularly (Corrales-García 2003; Pimienta and Engleman 1985).

#### Seed biomass per fruit

The biomass of normal seeds of the five species varied between 0.3 and 8.7 g per fruit. The frequency distribution of the biomass of this type of seeds in fruits of *O. streptacantha* and *O. megacantha* was

symmetrical and uni-modal; *O. ficus-indica* and *O. albicarpa* showed very asymmetrical distributions with very high atypical values (7.5 and 8.7 g per fruit, respectively); *O. hyptiacantha* differed from other species with a flat distribution. In addition to these differences, it was also observed that the mode in the biomass of normal seeds per fruit increased from 2.1 g in *O. streptacantha* to 3.3 g in *O. megacantha* and *O. albicarpa*, and 3.9 g in *O. ficus-indica* (Fig. 4A–E). Ninety percent of the pulp is formed by cells of the parenchyma that originate in the dorsal epidermis of the funicular wrapping; the other 10 % is tissue of the funiculus (Pimienta and Engleman 1985). For this reason, the bigger fruits from species considered more domesticated have higher seed biomass.

Biomass of normal seeds varied ( $p \leq 0.05$ ) within species, and the range increased with domestication. In *O. streptacantha*, the difference between Isbini and Charola with extreme values of normal seeds was 45 %. In *O. hyptiacantha*, the difference between Camueso and Cardón Blanco increased to 56 %, but the greatest differences (between 60 and 68 %) were recorded in *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* in variants such as Cuervo Tuna and Naranjón Helia, Reina and Cristalina, and Copena F1 and Doctor Mora, respectively (Fig. 2C).

The biomass of normal seeds per fruit increased from fruits of *O. streptacantha* which had, on average, 2 g of seeds, most of which were normal, to those of *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* which had on average 3.5 g of normal seeds (3.8 g of total seeds) (Fig. 3B).

The distribution of biomass frequencies of aborted seeds differed between species, but for all five species, it was symmetrical and not modal; the extremes of the complete interval were 0.06 and 1.62 g per fruit (Fig. 4F–J). Asymmetry to the left indicated that the fruits with low biomass of aborted seeds were frequent in the five species, independent of their level of domestication. The intervals increased with domestication degree, as did frequencies. Fruits of *O. streptacantha* showed, on average, between 0.06 and 0.42 g of aborted seeds per fruit. Those of *O. ficus-indica* and *O. albicarpa* showed greater intervals, with a maximum of 1.0 and 1.6 g, respectively (Fig. 4F–J).

Variants within species showed large and significant differences ( $p \leq 0.05$ ) in the content of aborted seeds; with the exception of *O. ficus-indica*, there were some variants with  $<0.05$  g of aborted seeds per fruit, such as Isbini, a variant of

*O. streptacantha*, Pachón of *O. hyptiacantha*, Cuervo Tuna of *O. megacantha* and Blanca Chapeada of *O. albicarpa* (0.04 g on average). In contrast, fruits of *O. ficus-indica* with lower content of aborted seeds, such as Amarilla Milpa Alta, showed 0.21 g on average. A direct relationship was observed between the maximum content of aborted seeds and the level of domestication, only 6 % (0.2 g) in *O. streptacantha* of those present in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (up to 0.83 g) (Figs. 2D, 3B). However, the relative biomass of seeds per fruit decreased significantly ( $p \leq 0.05$ ), from 3.6 % in *O. streptacantha* to 3.1 % in *O. ficus-indica* (Table 2). This decrease indicates that although there is a significant increase in seed number with domestication, the number of aborted seeds also increases, but with a lower biomass per seed, which contributes little to the total seed and fruit biomass. The changes may also be due to the formation of more pulp for each seed in domesticated *O. ficus-indica* than in wild species.

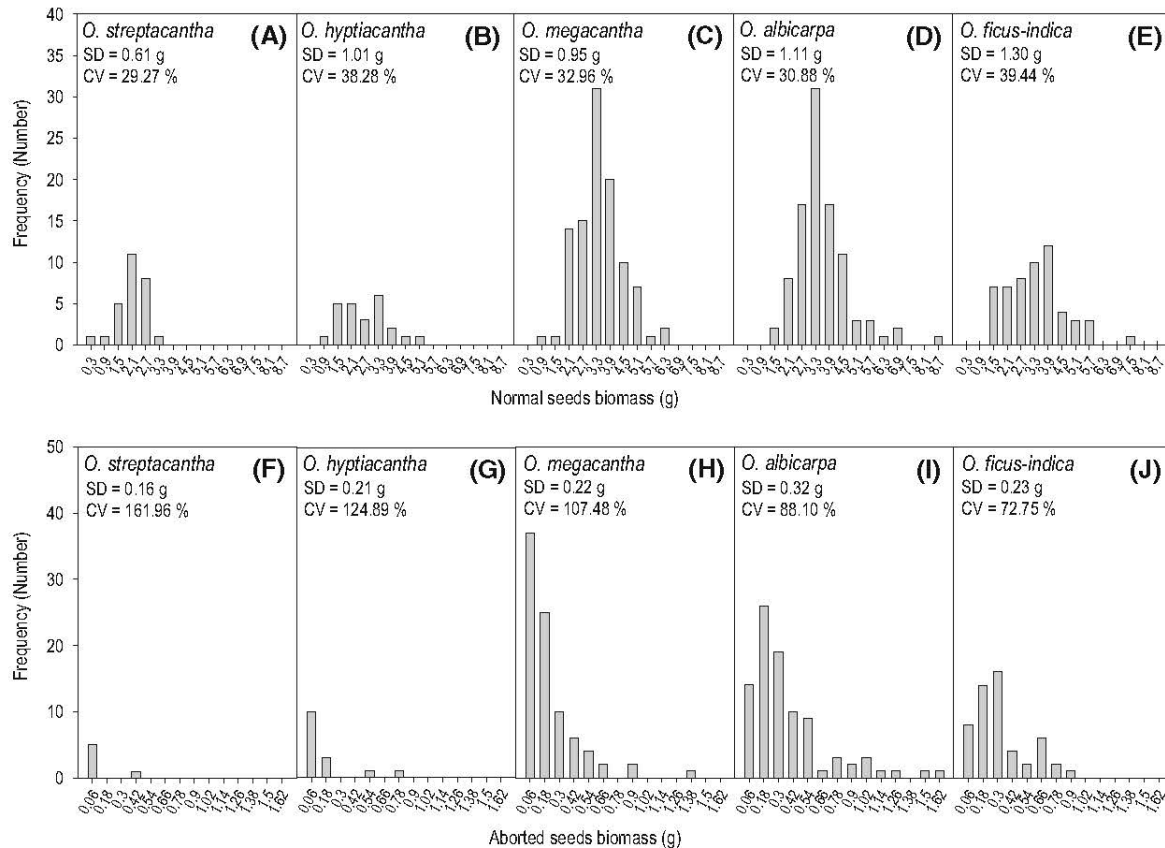
Total seed biomass in some fruits of *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha* was 3.3 g (2.4 %) and 2.9 g (1.8 %), respectively (Parish and Felker 1997). These values are clearly lower than those obtained in the present study (Table 2). In contrast, our data and those of Parish and Felker (1997) referring to *O. megacantha* were similar. Moreover, data from Reyes-Agüero et al. (2009) for *O. streptacantha* (1.2–3.9 g), *O. hyptiacantha* (0.7–6.3 g), *O. megacantha* (0.03–7.9 g) and *O. albicarpa* (0.5–10.8 g) match those of the present study (Fig. 3B).

Seed biomass per fruit in *O. ficus-indica* can vary between 2.2 and 4.3 g (1.8 and 4.9 %) (Barbera et al. 1994; Parish and Felker 1997; Pimienta-Barrios 1994), which coincides with the results of the present study, or between 0.2 and 33.6 g (Reyes-Agüero et al. 2009) and up to 5.9 % (Díaz-Medina et al. 2007), a much wider range than found in the present study (Fig. 4).

#### Number of seeds per fruit

Normal seeds per fruit for the five species varied between 78 and 438; except for *O. hyptiacantha*, the distribution was symmetrical with the mode between 150 and 222, and the number of normal seeds increased from *O. streptacantha* to *O. ficus-indica*. The greatest variation in the number of normal seeds was for *O. hyptiacantha* (CV = 33.17 %), and the





**Fig. 4** Frequency distribution of normal seed biomass (A–E) and aborted seeds (F–J) in fruits of five species of *Opuntia*. *SD* standard deviation, *CV* coefficient of variation

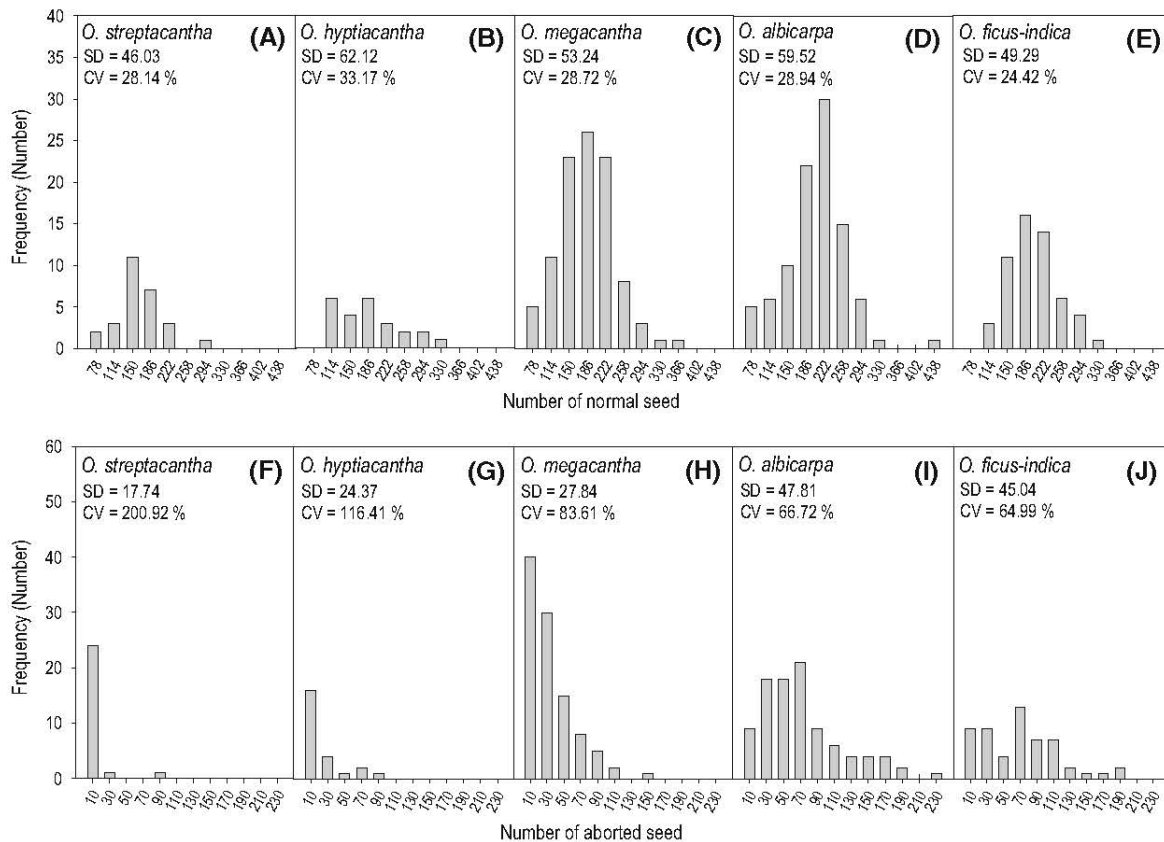
smallest was for *O. ficus-indica* ( $CV = 24.42\%$ ). The distribution of the number of normal seeds was asymmetrical and skewed towards the left, with two peaks (Fig. 5A–E).

The intra-specific comparison of the number of normal seeds per fruit indicated differences ( $p \leq 0.05$ ) in the five species studied; comparison indicated that variants with fewer and similar ( $p > 0.05$ ) normal seeds were Isbini, Camuezo, Jarrilla, Octubreña and Copena F1, with a mean number of 114 seeds. Among the variants with more normal seeds were Charola, a variant of *O. streptacantha* with 197 seeds per fruit, which was surpassed by other species such as Cardón Blanco, a variant of *O. hyptiacantha*, Naranjona Helia of *O. megacantha*, Cristalina of *O. albicarpa* and Amarillo Milpa Alta of *O. ficus-indica*. These variants did not exhibit significant differences ( $p > 0.05$ ) and had an average of 284 seeds per fruit (Fig. 2E).

Among the species, the number of normal seeds per fruit of *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* surpassed by up to 21% that of *O. streptacantha* (Table 3).

The frequency distribution of the number of aborted seeds per fruit differed slightly among the five species because for all of them, it was asymmetrical and truncated. The general bias to the left indicates that fruits with a low proportion of aborted seeds are the most common in the five species; the range for the five species was between 10 and 230 seeds per fruit (Fig. 5F–J). Moreover, most fruits from *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* showed 10 aborted seeds, and a lower proportion of fruits with 30–150 aborted seeds was more frequent in *O. hyptiacantha* and *O. megacantha*. In contrast, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* fruits with 30–70 and 10–110 aborted seeds, respectively, were the most frequent (Fig. 5F–J).





**Fig. 5** Frequency distribution of number of normal seeds (A–E) and number of aborted seeds (F–J) in fruits of five species of *Opuntia*. *SD* standard deviation, *CV* coefficient of variation

The differences in the number of aborted seeds per fruit within species were large and significant ( $p \leq 0.05$ ); in *O. streptacantha*, some variants, such as Jocoquillo, had only (two aborted seeds) one-third of Isbini. These values differed substantially from those of *O. albicarpa* variants, such as Blanca Chapeada and Burróna. They also differed from those of *O. ficus-indica*, as its cultivars with fewer aborted seeds per fruit, such as Liso Forrajero, had 50 aborted seeds, and others, such as Telokajä Rojo, had up to 115 (Fig. 2F).

Fruits of *O. streptacantha* had the lowest number ( $p \leq 0.05$ ) of all species, and *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*, on average, had nine times more. The same trend was observed between species for the total number of seeds (normal plus aborted) per fruit, as fruits of *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* had on average 50 % more seeds ( $p > 0.05$ ) than those of *O. streptacantha* (Table 3).

The number of total seeds (Table 3) seems to be similar to other values in *O. streptacantha* and in *O. hyptiacantha* (201 and 191 seeds per fruit) (Parish and Felker 1997). In fruits of *O. megacantha* a higher range (from 248 up to 304 seeds) than that found in the present study (Table 3) was observed (Parish and Felker 1997). The average number of total seeds recorded for *O. ficus-indica* fruits in our study is within the known range (144–342 seeds per fruit) (Barbera et al. 1994; Parish and Felker 1997). In contrast, the ranges from zero to 107, 135 or 306 aborted seeds per fruit of *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* and *O. ficus-indica*, respectively, and from 2 to 238 or 272 in *O. megacantha* and *O. albicarpa* reported by Reyes-Agüero et al. (2009) were wider than those recorded in the present study; but ranges of 70–319 normal seeds in *O. streptacantha*, from 36 to 559 in *O. hyptiacantha*, from 13 to 404 in *O. megacantha*, from 55 to 402

in *O. albicarpa* and from 10 to 566 in *O. ficus-indica* (Reyes-Agüero et al. 2009) were similar (Table 3).

Seed abundance, size and hardness affect the quality of fresh fruit in *Opuntia* (Inglese et al. 1995; Nobel 2011; Parish and Felker 1997). Thus, in the Canary Islands the fruits of *O. dillenii* (Ker Gawl.) Haw. are not consumed due to the abundance of seeds (Díaz-Medina et al. 2007). However, the seed abundance tends to compensate for small seed size, increasing fruit acceptance (Colunga-García et al. 1986). This trend was observed in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (Table 3) and coincided with results obtained by Reyes-Agüero et al. (2005), who pointed out that the more domesticated species had fruits with a lower proportion of normal seeds. The fruits of *Opuntia* preferred and selected during domestication likely contained seeds that are easier to ingest, such as aborted seeds (Barbera et al. 1994; Reyes-Agüero et al. 2005). This hypothesis partially agrees with results from the present study because the relative number of aborted seeds was higher in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (25 %) fruits in comparison with *O. streptacantha* (5 %); however, in these bigger fruits the total number of seeds was also higher (Fig. 5; Table 2). The increase to up to one-third aborted seeds in species with a higher level of domestication compared to wild species was documented by Reyes-Agüero et al. (2005).

The inter-specific relationship between fruit or pulp biomass and the number of seeds, aborted and normal was different in *Opuntia* (Table 4). In *O. streptacantha*, the correlation between pulp and fruit biomass and number of aborted seeds was not significant. Pulp

and fruit biomass in *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* correlated positively ( $p \leq 0.001$ ) with the number of aborted and normal seeds, as well as with the total seed number; in contrast, in *O. albicarpa* the correlation between pulp or fruit biomass was significant ( $p \leq 0.001$ ) only with aborted seeds. In the species with the highest level of domestication known today, *O. ficus-indica*, none of the correlations mentioned above were significant (Table 4).

The funicular wrap of seeds originates the edible tissue of the fruit (Pimienta and Engleman 1985), and therefore, a better relationship would be expected between seed and pulp content in *O. ficus-indica*. However, the correlation between pulp or fruit biomass with the number of seeds was not significant in *O. ficus-indica* (Table 4). This trend was opposite of that observed by Barbera et al. (1994), who did detect a significant correlation between seeds and fruit pulp, although the correlation was not significant when considering only aborted or normal seeds, as in the present study. Colunga-García et al. (1986) observed a significant correlation between wild fruit biomass and the number of normal seeds ( $r = 0.747$ ); moreover, they noted that with increased fruit size, this correlation is lost ( $r = 0.410$ ) due to the increase in the number of aborted seeds, which coincides with results from the present study (Table 3).

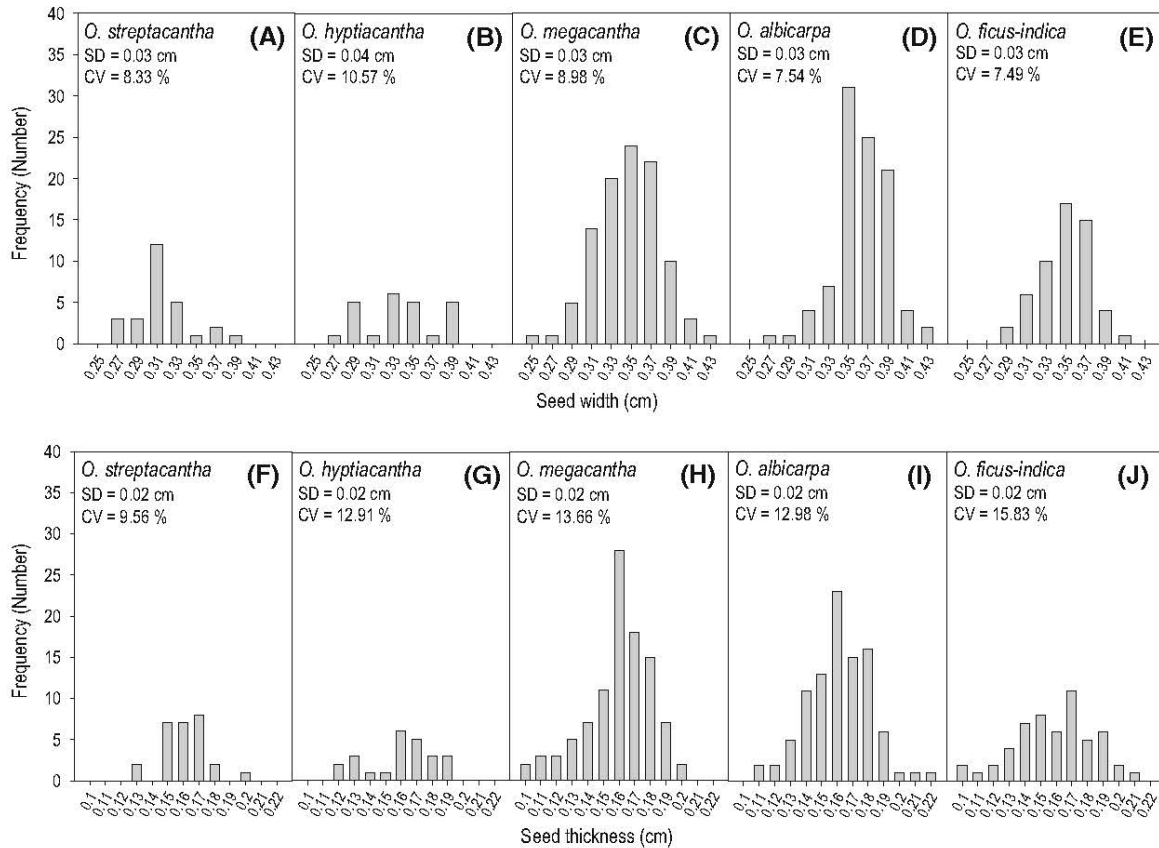
#### Dimensions of normal seeds

The width of normal seeds of the five species analyzed varied between 0.25 and 0.43 cm; its frequency distribution was symmetrical with respect to the mode

**Table 3** Seed content per fruit, and normal seed size and hardness of *Opuntia* spp.

Seed characteristic	<i>O. streptacantha</i> Lem.	<i>O. hyptiacantha</i> F.A.C. Weber	<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck	<i>O. albicarpa</i> Scheinvar	<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.
Normal (number)	167.576c	187.285b	185.353b	205.663a	201.790a
Aborted (number)	8.368c	20.931b	33.296b	71.656c	69.309c
Total (number)	175.944c	208.215b	218.649b	277.319a	271.100a
Width (cm)	0.320d	0.341c	0.352b	0.369a	0.353b
Thickness (cm)	0.160a	0.158a	0.159a	0.160a	0.158a
Length (cm)	0.373d	0.397c	0.421b	0.443a	0.434a
Hardness (kN)	1.525b	1.705c	1.818c	1.754c	1.810c

Values followed by different letters within a line are statistically different ( $p \leq 0.05$ )



**Fig. 6** Frequency distribution of seed width (A–E) and normal seed thickness (F–J) in fruits of five species of *Opuntia*. SD standard deviation, CV coefficient of variation

in *O. megacantha*, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*. In *O. streptacantha*, the mode of seed width was 0.31 cm, with another much smaller peak at 0.37 cm; in *O. hyptiacantha*, the distribution of this trait alternated between high and low values (jagged or comb-like distribution) between 0.27 and 0.39 cm (Fig. 6A–E).

In *O. megacantha*, *O. albicarpa*, and *O. ficus-indica* the most frequent seeds with normal characteristics were those with a width of 0.35 cm (Fig. 6A–E). The mean width of normal seeds was a relatively homogeneous trait among variants of each species, because the differences between variants with narrower and wider seeds ( $p \leq 0.05$ ) were very small; the *O. streptacantha* variety Cardón Potosino exhibited narrower seeds and differed from Sandía, one of the variants with the widest seeds. *Opuntia megacantha* variants had the most dispersed values and the widest seeds of this species, such as the variety from Pico

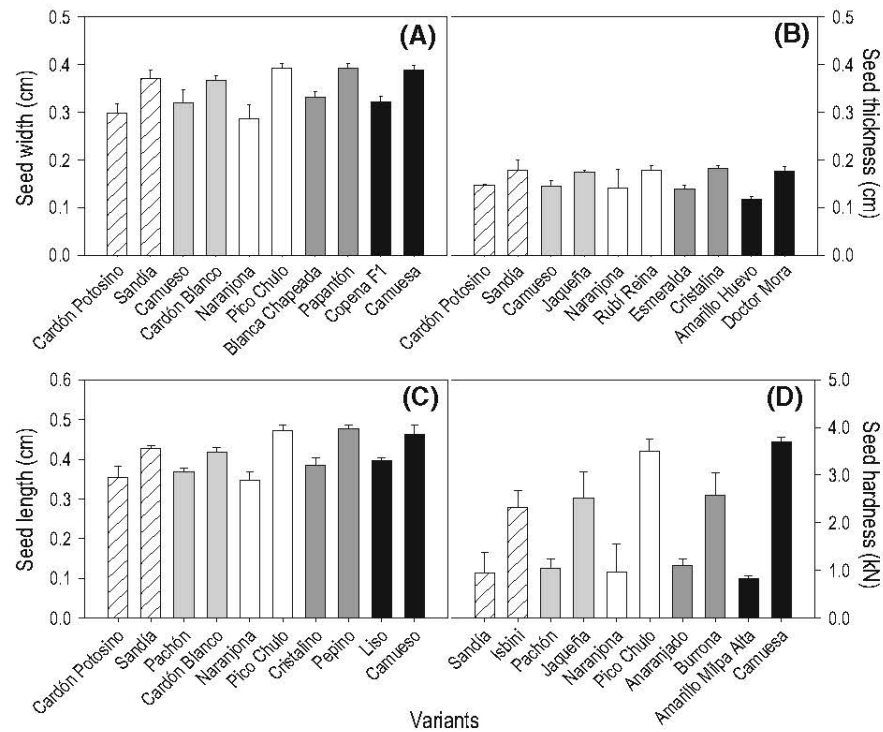
Chulo (Fig. 7A). On average, the width of the normal seeds was lower in *O. streptacantha* ( $p \leq 0.05$ ) than in *O. megacantha*, and *O. ficus-indica* but the highest values corresponded to *O. albicarpa* seeds (Table 3).

The mean thickness of normal seeds was not significantly different ( $p > 0.05$ ) between species, ranging from 0.10 to 0.22 cm. The frequency distribution of the thickness of normal seeds differed among species; in *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha*, it was truncated; in *O. megacantha* and *O. albicarpa*, it was biased; and in *O. ficus-indica*, it was jagged (Fig. 6F–J).

Among variants of *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha* no significant differences were found ( $p > 0.05$ ) in the thickness of normal seeds (Table 3). In contrast, seed thickness of Esmeralda and Cristalina in *O. albicarpa* and Amarillo Huevo and Doctor Mora in *O. ficus-indica* was significantly different ( $p \leq 0.05$ ) (Fig. 7B).



**Fig. 7** Two variants with the lowest and highest seed width (A), seed thickness (B), seed length (C), and seed hardness (D) (+SE) of five species of *Opuntia*. *Opuntia streptacantha* Lem. (hatch pattern), *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber (light grey), *O. megacantha* Salm-Dyck (white bars), *O. albicarpa* Scheinvar (dark grey bars), and *O. ficus-indica* (L.) Mill. (black bars)



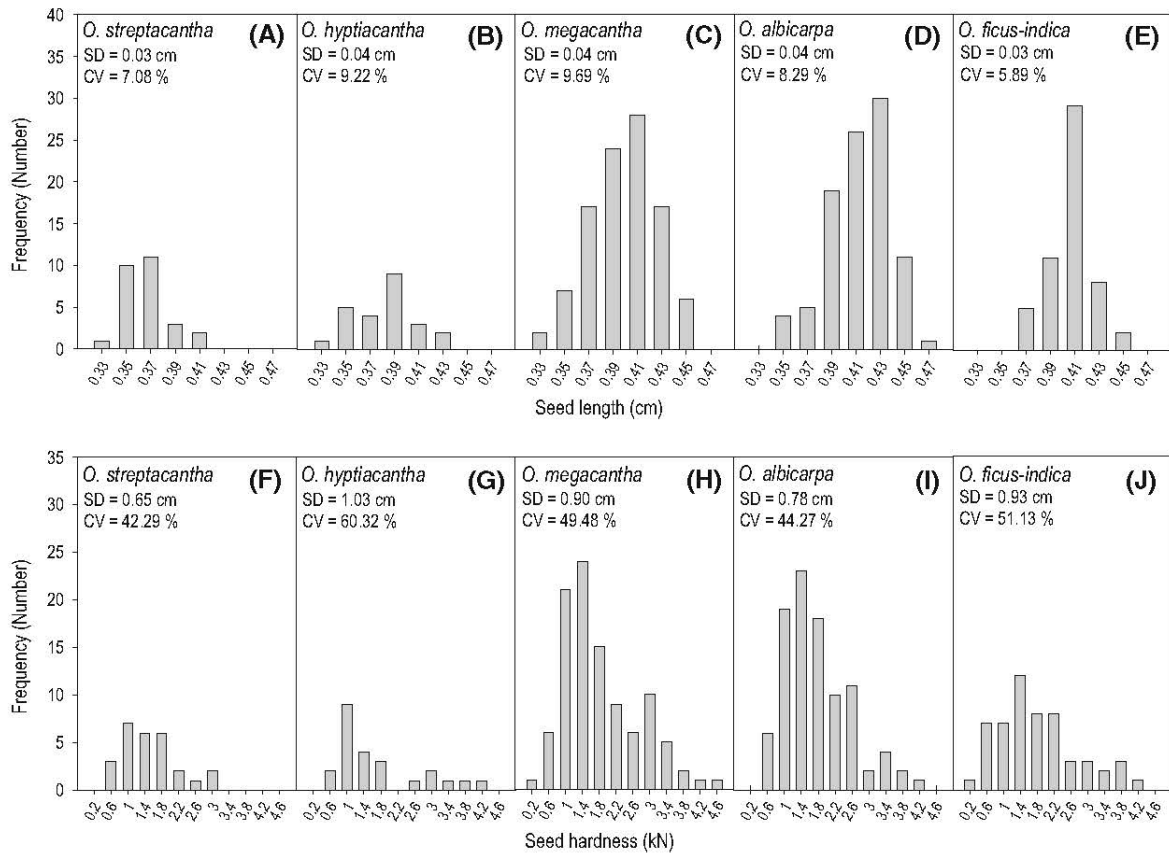
**Table 4** Pearson correlation coefficient between pulps biomass and fruit biomass with number of aborted, normal and total seeds of fruits of five *Opuntia* species

	Seed content		
	Aborted	Normal	Total
<i>O. streptacantha</i> Lem.			
Pulp biomass	0.12 <sup>ns</sup>	0.68***	0.72***
Fruit biomass	0.17 <sup>ns</sup>	0.43*	0.49***
<i>O. hyptiacantha</i> F.A.C. Weber			
Pulpa biomass	0.53***	0.78***	0.82***
Fruit biomass	0.55**	0.69***	0.74***
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck			
Pulp biomass	0.38***	0.53***	0.38***
Fruit biomass	0.45***	0.45***	0.45***
<i>O. albicarpa</i> Scheinvar			
Pulp biomass	0.35***	-0.004 <sup>ns</sup>	0.22*
Fruit biomass	0.39***	-0.007 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill			
Pulp biomass	-0.06 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>
Fruit biomass	0.07 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>

\*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*  $p \leq 0.001$ ; <sup>ns</sup>  $p > 0.05$

The length of normal seeds in the five species varied between 0.33 and 0.47 cm, and with the exception of *O. hyptiacantha*, the distribution of this variable was modal. The greatest frequency for length varied from 0.37 cm in *O. streptacantha* to 0.43 cm in *O. albicarpa* (Fig. 8A–E). Seed length varied significantly ( $p \leq 0.05$ ) within species, thus in *O. streptacantha*, seeds of Cardón Potosino were among the shortest and those of Sandía were among the longest. In *O. hyptiacantha*, the difference between extreme values (Pachón and Cardón Blanco), although significant, was the smallest among the five species. In contrast, *O. megacantha* variants exhibited the shortest (Naranjona) and longest (Pico Chulo) seeds. Differences in *O. albicarpa* were intermediate (15–26 %) with respect to differences in other species (Fig. 7C).

Seed length in the five species (Table 3) was within the known interval (between 0.21 and 0.57 cm), as well as seed width (between 0.23 and 0.44 cm) (Aguilar-Estrada et al. 2003; Reyes-Agüero et al. 2009; Rodríguez and Nava-Cedillo 1998). Moreover,



**Fig. 8** Frequency distribution of seed length (A–E) and normal seed hardness (F–J) of five species of *Opuntia*. SD standard deviation, CV coefficient of variation

**Table 5** Pearson correlation coefficient between seed hardness with seed size of five *Opuntia* species

	Seed size		
	Length	Width	Thickness
<i>O. streptacantha</i> Lem.			
Hardness	-0.25 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>
<i>O. hyptiacantha</i> F.A.C. Weber			
Hardness	0.52**	0.52**	0.46*
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck			
Hardness	0.44***	0.46***	0.28**
<i>O. albicarpa</i> Scheinvar			
Hardness	0.20*	0.28**	0.28**
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill			
Hardness	0.31*	0.53***	0.34*

\*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*  $p \leq 0.001$ ; <sup>ns</sup>  $p > 0.05$

seed thickness coincided with the average 0.16 cm documented by Aguilar-Estrada et al. (2003) and Reyes-Agüero et al. (2004). That *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* had the longer and wider seeds should be associated with their greater domestication, and coincides with the results obtained by Aguilar-Estrada et al. (2003) and Reyes-Agüero et al. (2005). Similarly, Colunga-García et al. (1986) attributed the greater length of domesticated (0.43 cm) than wild (0.39 cm) seeds to fruit gigantism.

Hardness of normal seeds

Hardness of normal seeds of the five species included in this study varied between 0.2 and 4.6 kN. The frequency distribution of hardness in this type of seeds was similar among species. The least variable species

**Table 6** Eigenvalues and proportion of the variance explained for the first three principal components, generated from characteristics of fruits and seeds of 89 variants of five *Opuntia* species in a domestication gradient

	Principal component		
	1	2	3
Biomass of aborted seeds	0.0016	0.0043	-0.0033
Biomass of normal seeds	0.0148	-0.0001	0.0072
Biomass of pulp	0.2965	0.1333	0.3065
Hardness of normal seeds	0.0002	0.0039	0.0004
Number of normal seeds	<b>0.7702</b>	<b>-0.5297</b>	-0.3506
Number of aborted seeds	0.2720	<b>0.7745</b>	<b>-0.5710</b>
Seed length	0.0002	0.0005	0.0007
Seed width	0.0002	0.0003	0.0005
Total fruit biomass	0.4946	0.3190	<b>0.6760</b>
Variance	0.7188	0.9322	0.9953

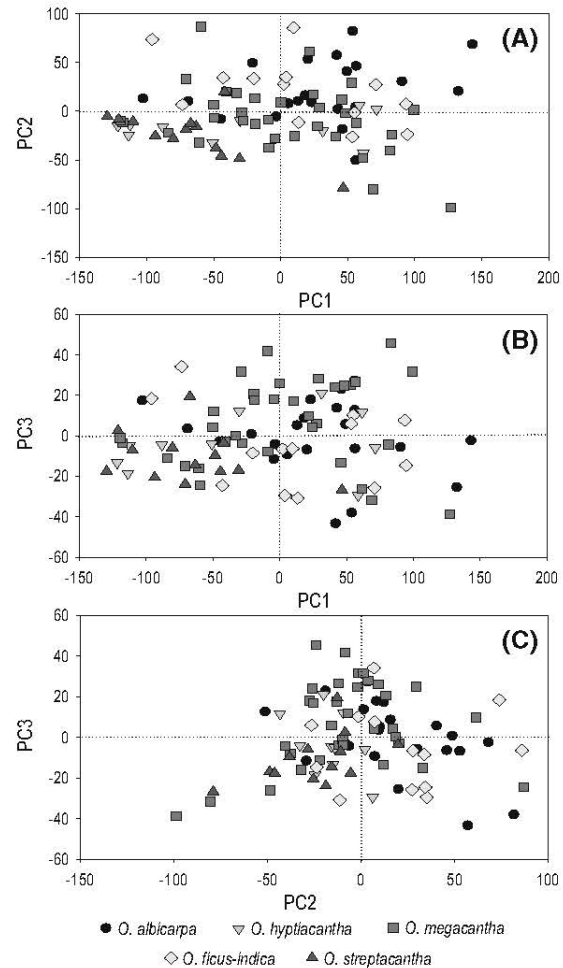
Variables in bold had higher relative effect in each principal component

in seed hardness were *O. streptacantha* (CV = 42.29 %) and *O. albicarpa* (CV = 44.27 %), and the most variable was *O. hyptiacantha* (CV = 60.32 %) (Fig. 8F–J).

Intraspecific hardness of normal seeds was heterogeneous. Seed hardness variation in *O. streptacantha* was equivalent to the mean difference between variants (43 %). In *O. hyptiacantha*, *O. megacantha* and *O. albicarpa*, some seeds were twice as hard as others, and in *O. ficus-indica*, cultivars such as Camuesa had seeds that were four times harder (3.71 kN) than Amarillo Milpa Alta (0.82 kN) (Fig. 7D). In contrast, no significant variability within species was found ( $p > 0.05$ ) in this trait (Table 3).

Seed hardness of the five species analyzed in this work coincided with the range already known, 1.59–1.68 kN (Aguilar-Estrada et al. 2003; Reyes-Agüero et al. 2005, 2009). Seed hardness can be undesirable in *Opuntia* fruits (Inglese et al. 1995). Aguilar-Estrada et al. (2003) noted an inverse relationship between seed hardness and total seed number in *Opuntia* fruits. Moreover, Reyes-Agüero et al. (2005) mentioned the possibility that the cultural selection that favored fruits with abundant pulp led to an increase in the number of normal seeds with reduced hardness; the results of the present study are not consistent in this respect.

With the exception of *O. streptacantha*, hardness of normal seeds correlated positively and significantly

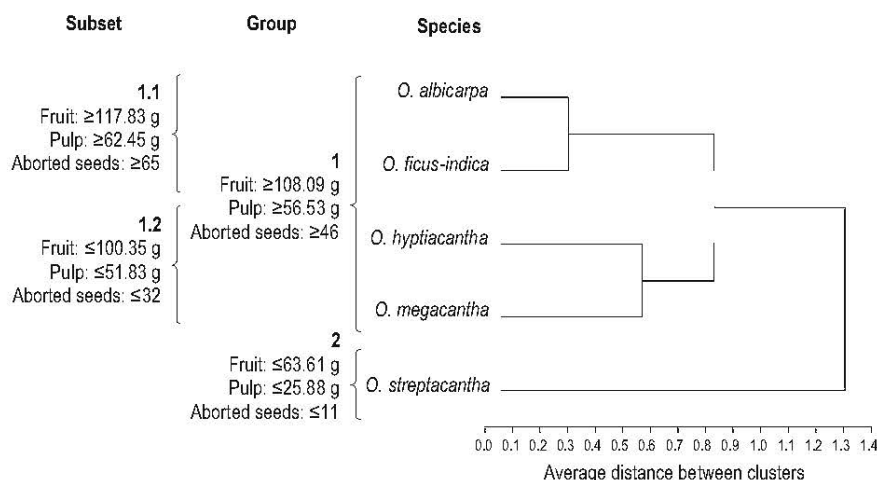


**Fig. 9** Ordination of the three principal components (PC) of 89 variants of five Mexican *Opuntia* species, based on fruit and seed characteristics ( $n = 89$ )

( $p \leq 0.001$ ) with seed dimensions (Table 5); that is, with the increase in the size of normal seeds during domestication, hardness has also increased. These changes appear to concomitant to the increase of fruits size. These characteristics in more domesticated species seem to compensate for one another, at least partially, with an increase in aborted seeds, which are ingested more easily than normal seeds by humans (Nobel 2011). For this reason, the current search for varieties has focused on lower content of normal seeds, although this goal has not been separated from an increase in aborted seeds (Barbera et al. 1994), which also contribute to pulp production (Pimienta and Engleman 1985). However, in the present study, the correlation between aborted seeds and pulp



**Fig. 10** Classification of 89 variants of five species of *Opuntia* with different degree of domestication, based in fruit and seed characteristics



biomass in the species with the highest level of domestication was not significant (Table 4), which shows that normal seeds have a greater effect on the proportion of pulp. In fact, Pimienta and Engleman (1985) found more prominent funicular wrappings in normal seeds than in aborted ones.

#### Multivariate analysis

A PCA was performed to identify which fruit and seed attributes could be related to domestication in *Opuntia*. In this analysis, seed thickness was excluded because its correlation with most other variables was not significant. With the other variables, the first three principal components (PCs) explained 99.53 % of the total variance (Table 6).

In PC1, number of seeds was the most important variable and was directly related to fruit biomass; PC2 revealed that the number of aborted seeds was inversely proportional to the number of normal seeds; PC3 showed that fruit biomass was inversely proportional to the number of aborted seeds. Ordination by the first three PCs confirmed that fruit biomass and the number of normal and aborted seeds may be used as markers to differentiate *Opuntia* variants according to the level of domestication. Moreover, the relative importance of these three traits is relatively high, with respect to others, because the PC analysis emphasizes their relative weight in the first three PC (Table 6).

In the graphic representation of PC1 against PC2, *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* variants, with higher fruit biomass and number of seeds, were differentiated

from *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha*. The absence of a trend in the ordination of *O. megacantha* variants was also noted. Graphic representation of PC1 against PC3 also showed a greater affinity in the ordination of *O. streptacantha* and *O. hyptiacantha* variants, as well as of *O. ficus-indica* and *O. albicarpa*. It showed great dispersion of *O. megacantha* variants. Graphic representation of PC2 against PC3 also separated *O. streptacantha* variants, with lower fruit biomass and seed content, from *O. albicarpa* and *O. ficus-indica*; it also showed the dispersion of *O. megacantha* variants (Fig. 9).

The first two main groups generated by cluster analysis clearly separated *O. streptacantha* from the other species. The cluster including *O. albicarpa*, *O. ficus-indica*, *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* is characterized by their large fruits ( $\geq 56.53$  g) with numerous aborted seeds ( $\geq 46$ ). In contrast, the other cluster is characterized by its small fruits ( $\leq 64.61$  g), reduced pulp ( $\leq 26$  g) and few aborted seeds ( $\leq 11$ ) (Fig. 10).

The first cluster was subdivided into two subsets, one of domesticated species (*O. albicarpa* and *O. ficus-indica*) with large fruits, with their biomass equal to or greater than 118 g and a higher number of aborted seeds. The other subset included *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* (species with intermediate levels of domestication), with fruits of approximately 100 g and intermediate numbers of aborted seeds (32, on average; Fig. 10).

The results confirm the presence of greater fruit biomass and pulp in species and variants with more

intense levels of domestication (Figs. 9, 10). Pimienta-Barrios (1994) attributes this to ploidy, but this factor would explain only a minimum part of the variability in wild populations (Harlan 1992). Luna-Páez et al. (2007) used molecular markers to characterize *Opuntia* species and noted the difficulties of delimiting *Opuntia* species, as observed in the PCA (Fig. 10). This difficulty might be a result of including variants with different levels of domestication within species.

Variation in seed content and proportion of normal/aborted seeds appears to be concomitant to selection for bigger fruits the increase in aborted seeds observed in species such as *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (Figs. 9, 10). The increasing trend observed for the relationship between normal/aborted seeds and domestication agrees with results by Aguilar-Estrada et al. (2003) and Reyes-Agüero et al. (2005) and their suggestion that the increase in aborted seeds is directly related to selective pressures under domestication. In turn, this selective pressure is opposed to the reduction in the number of normal seeds, fruit biomass and seed thickness. Zohary (2004) noted that in perennial domesticated species, such as fruit trees, part of the domestication syndrome is the ease of asexual reproduction in wild species. Therefore, reproduction of an exceptional individual can be achieved by vegetative propagation in what Harlan (1992) calls instantaneous domestication. In this process, the high number of aborted seeds in *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (Figs. 9, 10) favors acceptance of the fruit and is not important for reproduction because these fruits are easily cloned.

Proximity between *O. albicarpa* and *O. ficus-indica* (Fig. 10) has been highlighted based on molecular data (Luna-Páez et al. 2007) and on plant morphological characteristics (Reyes-Agüero et al. 2005). Moreover, the cited authors found certain proximity of *O. hyptiacantha* and *O. megacantha* to *O. ficus-indica*, as the more domesticated species, as was observed in the present study (Fig. 10). This proximity seems to respond to the fact that these species present variants with fruits and seeds that are similar to those of species with higher levels of domestication (Fig. 10).

The high intra-specific morphological (Reyes-Agüero et al. 2005), chemical and physiological variability (García-Nava et al. 2014; López-Palacios et al. 2012; Peña-Valdivia et al. 2012) in present *Opuntia* variants may be originated from the presence

of outstanding attributes of human interest and tolerance to environments created by humans in field crops or back yards (Casas et al. 1999; Figueroa et al. 1980) for diverse uses (e.g. production of nopalitos, mature cladodes, fruit and flowers, and host of carmine dye-producing insects *Dactylopius coccus*).

## Conclusions

The domestication of *Opuntia* resulted in significant differences in fruit size and in the proportions of fruit components. The fruit and pulp biomasses in highly domesticated species were higher and less variable. Moreover, these species showed a greater number and biomass of normal and aborted seeds, as well as longer and wider normal seeds. Domestication was not significantly related to seed thickness or hardness. The least domesticated species, *O. streptacantha*, has a higher proportion of skin and less pulp than species with a higher level of domestication. Greater fruit biomass results from a higher proportion of pulp and a lower proportion of seeds and skin.

**Acknowledgments** The first author was awarded Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología scholarships for undertaking his Ph.D. program.

## References

- Aguilar-Estrada A, Reyes-Agüero JA, Aguirre RJR (2003) Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). In: Esparza FG, Salas LMA, Mena CJ, Valdez ZRD (eds) Memoria del IX Congreso Nacional y VII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Gobierno del Estado de Zacatecas, México, pp 117–120
- Anderson EF (2001) The cactus family. Timber, Portland
- Bachmann K (1978) Biología para médicos. Reverté, Barcelona
- Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di-Rienzo JA, Robledo CW (2008) Infostat. Manual del Usuario. Editorial Brujas, Córdoba
- Barbera G, Carimi F, Inglese P, Panno M (1992) Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. J Hort Sci 67:307–312
- Barbera G, Inglese P, La-Mantia T (1994) Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). Sci Hort 58:161–165
- Casas A, Caballero J, Valiente BA, Soriano A, Dávila P (1999) Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. Am J Bot 86:522–533



- Colunga-García MP, Hernández XE, Castillo MA (1986) Variación morfológica, manejo agrícola tradicional y grado de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío Guanajuatense. *Agrociencia* 65:7–49
- Corrales-García J (2003) Fisiología y tecnología poscosecha de la tuna y el nopalito. In: Corrales-García J, Flores-Valdez CA (eds) Nopalitos y tuna: producción, comercialización, poscosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, pp 117–170
- Díaz-Medina EM, Rodríguez-Rodríguez EM, Díaz-Romero C (2007) Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chem* 103:38–45
- Di-Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW (2011) InfoStat v. 2011. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina
- García-Nava F, Peña-Valdivia CB, Trejo C, García-Nava R, Reyes-Agüero JA, Rivera JRA (2014) Biophysical and physiological characteristics of nopalitos (*Opuntia* spp. Cactaceae) as influenced by domestication. *Genet Resour Crop Evol*. doi:10.1007/s10722-014-0201-7
- Felker P, Rodríguez SC, Casoliba RM, Filippini R, Medina D, Zapata R (2005) Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J Arid Environ* 50:405–422
- Figuerola HF, Aguirre RJR, García ME (1980) Estudio de las nopales cultivadas y silvestres sujetas a recolección para el mercado en el Altiplano Potosino-Zacatecano. *Avances en la Enseñanza de la Investigación, Colegio de Postgraduados*
- Griffith MP (2004) The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *Am J Bot* 91:1915–1921
- Harlan JR (1992) Crops and man. American Society of Agronomy and Crop Sciences Society of America, Madison
- Inglese P, Barbera GG, Carimi F (1994) The effect of different amount of cladodes removal on reflowering of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Miller). *J Hort Sci Biotechnol* 69:61–65
- Inglese P, Barbera G, La-Mantia T (1995) Research strategies for the improvement of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. *J Arid Environ* 29:455–468
- López-Palacios C, Peña-Valdivia CB, Reyes-Agüero JA, Rodríguez-Hernández A (2012) Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalito (*Opuntia* spp.). *Genet Resour Crop Evol* 59:1015–1026
- Luna-Pérez A, Valadez-Moctezuma E, Barriento-Priego AF, Gallegos-Vázquez C (2007) Caracterización de *Opuntia* spp. mediante semilla con marcadores RAPD e ISSR y su posible uso para diferenciación. *J Prof Assoc Cactus* 9:43–59
- McKey D, Elias M, Pujol B, Duputié A (2010) The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytol* 186:318–332
- Mondragón-Jacobo C, Pérez-González S (1994) ‘Reyna’ (syn. ‘Alfajayucan’) is the leading cactus pear cultivar in Central Mexico. *Fruit Var J* 48:134–136
- Nobel PS (2011) Sabiduría del desierto, agaves y cactus: CO<sub>2</sub>, agua, cambio climático. Biblioteca Básica de Agricultura, Texcoco
- Parish J, Felker P (1997) Fruit quality and production of cactus pear (*Opuntia* spp.) fruit clones selected for increased frost hardiness. *J Arid Environ* 37:123–143
- Peña-Valdivia CB, Aguirre RJR, Arroyo-Peña VB (2012) El frijol silvestre. Síndrome de domesticación. Biblioteca Básica de Agricultura, Guadalajara
- Perales RHR, Aguirre RJR (2008) Biodiversidad humanizada. In: Capital natural de México, vol 1. Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México
- Pickersgill B (2007) Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Ann Bot* 100:925–940
- Pimienta E, Engleman EM (1985) Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Agrociencia* 62:51–56
- Pimienta-Barrios E (1994) Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *J Arid Environ* 28:1–11
- Reyes-Agüero JA, Aguirre RJR, Carlin-Castelán F (2004) Análisis de variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. In: Esparza-Frausto G, Valdez-Cepeda RD, Méndez-Gallegos SJ (eds) El nopal, tópicos de actualidad. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, pp 21–47
- 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
- Reyes-Agüero JA, Aguirre RJR, Carlin-Castelán F, González-Durán A (2009) Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT, San Luis Potosí
- Rodríguez SE, Nava-Cedillo A (1998) Nopal, riqueza agroecológica de México. Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológica. México, D.F
- Schirra M, Inglese P, La-Mantia T (1999) Quality of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill.) fruit in relation to ripening time, CaCl<sub>2</sub> pre-harvest sprays and storage conditions. *Sci Hortic* 81:425–436
- Wessels AB, Swart E (1990) Morphogenesis of the reproductive bud and fruit of the prickly pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. Morado). *Acta Hort* 275:245–253
- Zohary D (2004) Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Econ Bot* 58:5–10

## Anexo B

**Anexo B1.** Lista de 115 variantes de *Opuntia* spp. con el número de recolectas depositadas en los herbarios Nacional de México (MEXUS), de la Universidad Autónoma Chapingo (CHAPA) e Isidro Palacios de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (SLPM). El recolector fue J.A. Reyes A.

Clave	Variante	Número de recolecta
<i>O. albicarpa</i> Sheinvar		
A1	Mango	1814, 1841
A2	Burro	1852, 1904, 1950, 2169
A3	Cristalino	2039, 2044, 2055, 2079, 2137
A4	Reina	1860, 2034, 2078, 2117
A5	Blanca	2018, 2040, 2111, 2129
A6	Reinita	1897
A7	Fafayuco	1946, 1956, 2069,
A8	Blanca Chapeada	1803, 2027, 2052
A9	Amarillo Pera	1952, 1955, 1972, 2135, 2155
A10	Anaranjado	2115, 2154
A11	Amarillo Olorosa	1947
A12	Copa de Oro	1811, 1849, 1850, 1872, 1886, 1891, 1899, 1902, 1907, 2062, 2109
A13	Gavia	1863, 1977, 2071, 2134, 2157
A14	Bola de Masa	1687, 1695, 1818,
A15	Octubreña	1697, 1705, 1924
A16	Pepino	1890, 1926
A17	Esmeralda	1737, 1775, 1810, 1870, 1895,
A18	COPENA T12	1692, 1749(b), 1807, 1808, 1856, 1866, 1867, 1868, 1869, 1871
A19	Burrona	1676, 1680, 1685, 1688, 1693
A20	Papantón	1927, 1932, 1943, 1945, 1948, 1954, 2012, 2077
A21	Cristalina	1694, 1782, 1879, 1944, 1966, 1979, 2158
A22	Dadokäjä	1755, 1864, 1882, 1933
<i>O. chavena</i> Griffiths		
C1	Cascarón	1974, 2166
C2	Cimarrón	2068, 2080, 2168
C4	Pachona	1710
C5	Hartón	1845, 2171
C6	Chiquihuitillo	1964, 2074, 2075, 2085, 2101, 2118, 2133, 2142
<i>O. cochineria</i> Griffiths		
D	Cacalote	2019

**Anexo B1. Continuación.**

Clave	Variante	Número de recolecta
<i>O. durangensis</i> Britton & Rose		
E1	Xoconostle Moro	1744, 1778
E2	Iskäjä	1772
<i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.		
F2	COPENA F1	1696, 1780, 1827
F3	Amarillo Huevo	1829, 1876(a)
F4	Liso Blanco	2088
F5	Atlixco	1753
F7	Camuesa	1969, 1971
F8	Amarilla Milpa Alta	1749(a), 1751, 1795, 1844, 2008
F9	Doctor Mora	1822, 1830, 1851, 2127
F10	Liso	1716, 2006, 2093, 2102
F11	Telokäjä	1683, 1706, 1734, 1763, 1823, 1936
F12	Solferino	1721, 1819, 1824, 1828, 1896, 2045
F13	Promotora	1880
F14	Telokäjä Rojo	1682, 1691, 1740, 1825, 1829, 1908
F15	Liso Forrajero	1713, 1714, 1717, 1813, 1843, 1855, 1876(b), 1881, 1894, 1909, 1934, 1935, 2035
<i>O. hyptiacantha</i> A. Web.		
G1	Ladrillo	2072
G2	Jaqueña	1788, 1806, 1965, 2082, 2148
G3	Camueso	2147, 2150
G4	Amarilla 24	1963
G5	Pachón	2065, 2076, 2083, 2084, 2139
G6	Cardón de las Papas	2024
G8	Jokjä	1766
G9	Cardón Blanco	1689, 1840, 1847, 1857, 1905
G10	Blanca Victoria	1686
G11	Nistokäjä	1768, 1833
<i>O. jaliscana</i> Bravo		
H	Chamacuero	1761
<i>O. joconostle</i> A. Web.		
I1	Xoconostle Colorado	1745
I2	Xoconostle de las Pirámides	1750, 1773
I4	Xoconostle Agrio	1738
I5	Huevo de Gato	2136, 2163, 2167, 2170
I6	Coyonostle	1743, 2029, 2049, 2094

## Anexo B1. Continuación.

Clave	Variante	Número de recolecta
<i>O. lasiakantha</i> Pfeiff		
J1	Sanjuanero	1838, 1873, 1901, 2020
J2	Blanca Cristalina	2066
J3	Nopal del Real	1784
J4	Madokäjä	1759
J5	Tuna Iris	1779
<i>O. leucotricha</i> DC.		
K	Duraznillo	2059, 2143
<i>O. lindheimeri</i> Engelm.		
L1	Oreja de Elefante	1708, 2103
L2	Guilanchi	2056
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck		
M1	Cuervo Tuna	2063, 2105
M2	Jarrilla	2132, 2138
M3	Sgt-INIFAP	1815
M4	Juanita Käjä	1754(b), 1812, 1875, 1898
M5	Chirrióna	1805, 1854, 1893, 1961
M6	Chamacuero Monteza	2120
M7	Naranjona	1703, 1878
M8	Sangre de Toro	2033
M9	Manso Apastillada	1938, 1940, 1941, 1951
M10	Mieluda	1834, 1960, 2146
M11	Ushikäjä	1771
M12	Reventón	1816, 1853, 2046, 2053, 2064, 2092, 2116, 2141, 2145, 2151, 2173(c)
M13	Jagüño	2038, 2041, 2100, 2140
M14	Bola de Masa	1973, 1976, 2054, 2061, 2106
M15	Amarilla Raleña	2150
M16	Apastillada Anaranjada	1842, 1846
M17	Tzbekäjä	1787, 1865, 1968, 2107
M18	Roja Saeta	1942
M19	Pico Chulo	1925, 1967, 1978, 1978, 2010, 2070, 2095, 2149
M20	Torroja	2011
M21	Naranjona Dulce	1859
M22	Amarilla Monteza	2009, 2089, 2114
M23	Sangrita	2153
M24	Amarilla Naranjona	1821, 2037, 2058
M25	Rojo 10	1826, 1835
M26	Naranjona Helia	1836, 1848
M27	Astikäjä	1769

**Anexo B1. Continuación.**

Clave	Variante	Número de recolecta
<i>O. megacantha</i> Salm-Dyck		
M28	Rubí Reyna	1681, 1690, 1702, 1718, 1862
M29	Amarilla Mansa	1677, 1906
M30	Amarilla China	1741
M31	Jarrilla Grande	1699, 1711, 1746, 1754(a), 1757, 1804
M32	Sangre	1719
M33	Tenikájä	1770, 1817, 1837, 1859, 1958
M34	Morada de San Martín	1720, 1727, 1739, 1877, 1887, 1888
 <i>O. phaeacantha</i> Engelm.		
N1	Pintadera	1762, 1786
 <i>O. robusta</i> Wendl.		
Rob	Tapón	1793, 1957, 2016, 2067, 2097, 2164
 <i>O. rzedowskii</i> Sheinvar		
O1	Cenizo	2110
 <i>O. streptacantha</i> Lem.		
P2	Burra	2131
P3	Sandía	1949, 1959
P5	Isbini	1767, 1783
P7	Santo Tomás	2032, 2047, 2060
P8	Cardón Potosino	2042, 2091
P9	Jocoquillo	2030, 2043, 2086, 2130, 2152, 2162
P10	Cardón	2015
P11	Trompa de Cochino	2026
P12	Demshikájä	1747, 1790, 1874, 1979
P13	Aguirrana	2081, 2087, 2159, 2172
 <i>O. velutina</i> Sheinvar		
Q	Ukájä	1760

**Anexo B2.** Número de recolectas por especie y ambientes donde se localizaron.

Especie	Cer	Com	Exp	Sil	Sol	Total
<i>O. albicarpa</i>	2	8	51	1	22	84
<i>O. chavena</i>			4	3	9	16
<i>O. cochineria</i>				1		1
<i>O. durangensis</i>					3	3
<i>O. ficus-indica</i>	11	5	38			54
<i>O. hyptiacantha</i>	3		10	3	8	24
<i>O. jaliscana</i>					1	1
<i>O. joconostle</i>	1	3		3	5	12
<i>O. lasiacantha</i>		1	3		4	8
<i>O. leucotricha</i>					2	2
<i>O. lindheimeri</i>			2		1	3
<i>O. megacantha</i>	2	5	56	5	34	102
<i>O. phaeacantha</i>				1	1	2
<i>O. robusta</i>			1	3	2	6
<i>O. rzedowskii</i>					1	1
<i>O. streptacantha</i>	2		5	5	15	27
<i>O. velutina</i>	1					1
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>170</b>	<b>25</b>	<b>108</b>	<b>347</b>

**Cer:** cerco vivo; **Com:** plantación comercial; **Exp:** plantación experimental;  
**Sil:** silvestre o espontánea; **Sol:** solar o traspatio

**Anexo B3.** Valores medios de las características físicas de los frutos y semillas de 17 especies de *Opuntia* endémicas de México.

Especie	Biomasa (g por fruto)				Número de semillas por fruto		‡SST de la pulpa (°Brix)	Semillas normales		
	Cáscara	Pulpa	Semillas		Abortadas	Normales		Dimensiones (cm)		Dureza (kN)
			Abortadas	Normales				Anchura	Longitud	
<i>O. albicarpa</i>	52.72	64.78	0.32	3.46	64.81	200.97	14.43	0.37	0.44	1.68
<i>O. chavena</i>	32.15	22.82	0.04	1.90	10.09	137.55	13.10	0.32	0.37	1.19
<i>O. cochineria</i>	59.72	49.62	0.02	5.27	25.33	293.50	12.67	0.35	0.43	1.82
<i>O. durangensis</i>	44.29	12.66	0.09	2.69	26.09	187.92	8.59	0.32	0.37	2.27
<i>O. ficus-indica</i>	50.16	58.51	0.30	3.02	64.98	189.59	13.98	0.35	0.43	1.77
<i>O. hyptiacantha</i>	35.08	42.45	0.14	2.53	23.57	176.36	13.32	0.34	0.39	1.78
<i>O. jaliscana</i>	12.30	13.10	0.02	1.27	2.33	57.67	13.27	0.38	0.41	1.95
<i>O. joconostle</i>	37.48	9.45	0.03	1.67	10.64	125.61	8.66	0.30	0.35	1.10
<i>O. lasiacantha</i>	43.64	43.14	0.28	2.57	57.55	188.37	12.62	0.32	0.41	1.34
<i>O. leucotricha</i>	11.84	2.17	0.02	0.87	2.08	75.75	8.53	0.26	0.28	0.56
<i>O. lindheimeri</i>	11.85	1.93	0.05	0.28	12.58	28.11	6.73	0.28	0.32	0.44
<i>O. megacantha</i>	48.54	54.59	0.17	2.99	33.95	192.23	13.45	0.35	0.42	1.84
<i>O. phaeacantha</i>	17.82	42.64	0.08	1.12	24.08	113.25	12.87	0.28	0.32	0.52
<i>O. robusta</i>	36.27	35.68	0.08	3.85	25.22	318.14	12.95	0.33	0.40	1.65
<i>O. rzedowskii</i>	22.20	40.65	0.78	1.88	1.83	155.33	15.42	0.33	0.36	0.48
<i>O. streptacantha</i>	35.55	25.88	0.03	2.14	11.06	163.15	13.04	0.32	0.38	1.43
<i>O. velutina</i>	21.06	16.05	0.02	1.98	16.17	149.83	12.21	0.34	0.39	1.85
Media general	33.69	31.53	0.14	2.32	24.26	161.96	12.11	0.32	0.38	1.39
Desviación estándar	15.26	20.06	0.19	1.21	20.54	73.82	2.42	0.03	0.04	0.58
Coefficiente de variación (%)	45.30	63.62	134.34	51.94	84.66	45.58	20.02	9.60	11.33	41.80

‡SST: sólidos solubles totales