

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA

SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ABSORCION Y ASIMILACION DE NITRATO Y AMONIO
EN *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL.
EN CONDICIONES DE HIDROPONIA

POR

CLEMENTE GALLEGOS VAZQUEZ

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS
CON ESPECIALIDAD EN AGUA-SUELO

MARIN, N. L.

JULIO DE 1998

8

TD
SB207
.P8
G366
1998
c.1



1080110334

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA

SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ABSORCION Y ASIMILACION DE NITRATO Y AMONIO

EN *Oryzalis flava-indica* (L.) MILL.

EN CONDICIONES DE HIDROPONIA

POR

CLEMENTE GALLEGOS VAZQUEZ

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS
CON ESPECIALIDAD EN AGUA-SUELO

MARIN, N. L.

JULIO DE 1998



TD
SB2 7
.P8
G36
1998
1



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**Absorción y Asimilación de Nitrato y Amonio en *Opuntia ficus-indica*
(L.) Mill. en Condiciones de Hidroponia**

Por

Clemente Gallegos Vázquez

**Como requisito para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS
Con Especialidad en Agua-Suelo**

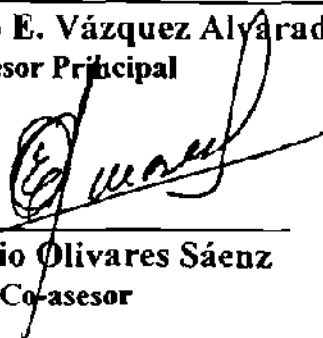
Marín, N. L., México. Julio de 1998

Absorción y Asimilación de Nitrato y Amonio en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Condiciones de Hidroponia

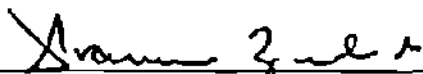
Aprobación de la Tesis



Dr. Rigoberto E. Vázquez Alvarado
Asesor Principal



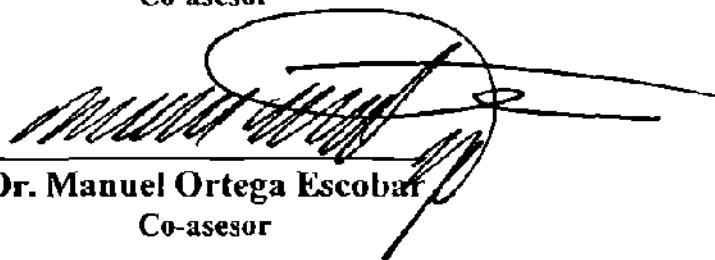
Dr. Emilio Olivares Sáenz
Co-asesor



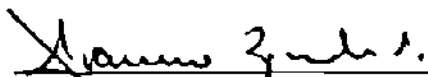
Dr. Francisco Zavala García
Co-asesor



Dr. Juan F. Pissani Zuñiga
Co-asesor



Dr. Manuel Ortega Escobar
Co-asesor



Dr. Francisco Zavala García

Subdirector de Estudios de Postgrado de la Facultad de Agronomía

DEDICATORIA

A mi esposa, Patricia

A mis hijos, Giauhara Patricia, Nicolás Alejandro, Clemente Eduardo y Erick

AGRADECIMIENTOS

Al Pueblo y Gobierno de México, por el financiamiento recibido, a través de la Universidad Autónoma Chapingo y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), para cursar mis estudios de postgrado.

Al Dr. Rigoberto E. Vázquez Alvarado, por la dirección de este trabajo de tesis y haber aceptado el reto de abordar conjuntamente una línea de investigación de la que no existían mayores antecedentes de trabajo en esta Facultad.

Al Dr. Emilio Olivares Sáenz, por su colaboración e interés manifiesto en la asesoría durante las diferentes etapas de la presente investigación, y sobre todo por su amistad.

Al Dr. Francisco Zavala García, por sus acertados cuestionamientos y sugerencias para afinar el presente trabajo.

Al Dr. Juan F. Pissani Zuñiga, por sus consejos y el constante estímulo para la culminación del trabajo que aquí se presenta.

Al Dr. Manuel Ortega Escobar, por su rectitud e integridad profesional, por el apoyo pleno y desinteresado sin el cual no hubiese sido posible concluir el trabajo experimental, pero sobre todo por haberme brindado la oportunidad de incorporarme a su equipo de trabajo, en donde el enriquecimiento conceptual y de valores resulta en una tarea cotidiana.

Al personal del Laboratorio de Manejo de Agua y Suelos Salinos del Programa de Hidrociencias del Colegio de Postgraduados, en especial a los señores Cruz Santos Frutero, Manuel Coronado y Fernando Espejel, por su invaluable apoyo en el trabajo experimental.

Al Drs. Gabriel Alcantar G., Prometeo Sánchez G. y al personal del Laboratorio de Nutrición Vegetal, del Programa de Edafología del Colegio de Postgraduados, en especial a la Sra. Laura Malpica, por ceder parte de su tiempo libre y colaborar en la determinación de las enzimas.

Al Ing. Guillermo Viramontes y Sr. Fernando Torres R., por la donación del material vegetal utilizado en este trabajo y en la puesta en marcha del banco de germoplasma de la FAUANL.

Al Dr. Rigoberto González G., Francisco Rodríguez, Ing. Jorge Landa y Biol. Juana Aranda, por los apoyos logísticos brindados en las diferentes etapas de la investigación.

Al Dr. Ricardo David Valdéz Cepeda, Ing. Fidel Blanco Macías y Dr. Rubén Meléndez González, y sus respectivas familias, por la amistad que nos une y ante quienes me siento comprometido de corresponder a su confianza y solidaridad brindada.

A los Drs. Diodoro Sánchez, Rogelio Aguirre Rivera y Edmundo García Moya, quienes me brindaron su confianza y condujeron con acierto las primeras etapas de mi formación como investigador.

A mis compañeros de generación, Juan M. Huerta, Wilder Carnacho, Luis Carlos Rimoldi y Elias Treviño, por las experiencias vividas durante nuestra permanencia como estudiantes.

A los Ings. José Verastegui, José Luis Lara, Neftalí Gómez, Jesús Cortes, Rafael Zuñiga, Antonia Cruz y a los Drs. Ernesto Ruíz, Dimas López, Enrique Martínez e Isidro Guajardo, por la amistad que logramos cultivar.

Resultaría ingrato de mi parte no mencionar los apoyos que recibí de personas adscritas a diversos departamentos de la institución, de quienes únicamente me refiero a ellos por su nombre: Nancy, Chikis, Julio, Maribel, Lidia, Maru, Yola, Korina, Andrés, Oziel, Chuy, Chemo, Don Arturo, Dña. Tere, Male, Ramiro, Rosy, Rolando, Fidel, Lupito e Ing. Carlos Longoria, a todos gracias.

A mis hermanas(os), cuñadas(os) y sobrinas(os), por que tratémos de mantener y fortalecer la unión familiar, dentro de la que habrémos de buscar la superación colectiva.

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

Clemente Gallegos Vázquez

- Candidato para el grado de Doctor en Ciencias Agrícolas con Especialidad en Agua-Suelo.

Tesis:

- Absorción y Asimilación de Nitrato y Amonio en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Condiciones de Hidroponia.

Areas de Estudio:

- Agricultura de Zonas Aridas, Nutrición Vegetal y Ecofisiología y Productividad del Nopal.

Biografía

Nacido el 20 de Agosto de 1956 en La Hacienda de Palo Alto, Ags. Hijo de María del Refugio Vázquez Ramírez y Nicolás Gallegos Hernández.

Educación:

- Egresado de la Universidad Autónoma Chapingo como Ingeniero Agrónomo con especialidad en Zonas Aridas, en julio de 1980.
- Egresado del Colegio de Postgraduados como Maestro en Ciencias en Edafología, en noviembre de 1989.

Experiencia Profesional:

- Investigador visitante en el Centro Regional para Estudios de Zonas Aridas y Semiaridas del Colegio de Postgraduados. Salinas de Hidalgo, SLP. Septiembre 1980 a diciembre de 1981.
- Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Zonas Aridas. Bermejillo, Dgo. Enero de 1982 a julio de 1984.
- Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma Chapingo. Centro Regional Universitario Centro Norte. El Orito, Zac. Agosto de 1984 a la fecha.
- Director del Centro Regional Universitario Centro Norte de la Universidad Autónoma Chapingo. El Orito, Zac. Diciembre de 1991 a febrero de 1994.
- Coordinador estatal del Sistema-Producto Nopal Tunero. Zacatecas, Zac. Julio de 1993 a septiembre de 1994.

Otros:

- Cuadro de Honor, años lectivos 1978-79 y 1979-80. Universidad Autónoma Chapingo.
- Miembro del Sistema Nacional de Investigadores como Candidato a Investigador Nacional. 1990-1993.
- Miembro de la FAO International Technical Cooperation Network on Catus Pear.
- Miembro de la Professional Association for Cactus Development.
- Miembro de la Mesa Directiva de la Sociedad Mexicana del Nopal.

INDICE

	Pág.
INDICE DE CUADROS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
1 INTRODUCCION.....	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivos.....	3
2 REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Estado nutrimental mineral en plantas.....	4
2.1.1 Niveles críticos de concentración de nutrientes en plantas nativas y cultivadas.....	5
2.2 Relaciones nutrimentales en <i>Opuntia</i> spp.....	8
2.2.1 Edad del tejido.....	8
2.2.2 Tipo de tejido.....	9
2.2.3 Interacciones iónicas.....	11
2.3 Respuesta del nopal a la fertilización nitrogenada.....	12
2.3.1 Estudios de campo.....	13
2.3.2 Estudios en hidroponía.....	15
2.4 Metabolismo del nitrógeno.....	16
2.4.1 Formas de absorción de nitrógeno.....	17
2.4.2 Reducción asimilatoria del nitrógeno.....	18
2.4.2.1 Proceso de la reducción de nitrato.....	18
2.4.2.2 Reducción de nitrito a iones amonio.....	20
2.4.3 Localización de la asimilación de nitratos.....	21
2.4.4 Asimilación del amonio.....	22
2.4.5 Empleo de relaciones nitrato:amonio.....	24
2.5 El metabolismo fotosintético en plantas del género <i>Opuntia</i>	25
2.5.1 Las sendas fotosintéticas.....	25
2.5.2 El proceso de absorción de CO ₂ por las plantas del género <i>Opuntia</i>	27

	Pág.
2.5.3 Acumulación Nocturna de Acido.....	31
2.5.4 Productividad de las plantas CAM.....	32
3. MATERIALES Y METODOS.....	34
3.1 Experimento 1.....	34
3.1.1 Tratamientos.....	34
3.1.2 Material vegetal empleado.....	34
3.1.3 Transplante a los recipientes hidropónicos.....	36
3.1.4 Acondicionamiento del material vegetal.....	36
3.1.5 Preparación de las soluciones nutritivas.....	36
3.1.6 Diseño experimental.....	38
3.1.7 Muestras.....	38
3.1.8 Análisis estadístico.....	39
3.2 Experimento 2.....	39
3.2.1 Tratamientos.....	39
3.2.2 Material genético empleado.....	39
3.2.3 Sistema de cultivo.....	40
3.2.4 Diseño experimental.....	41
3.2.5 Variables medidas.....	42
3.2.5.1 Medición de la actividad nitrato reductasa (ANR).....	42
3.2.5.2 Actividad de la enzima Glutamina sintetasa (AGS).....	43
3.2.5.3 Nitratos.....	44
3.2.5.4 Proteínas solubles (Lowry, 1951).....	45
3.2.5.5 Análisis químico nutrimental de cladodios y raíz.....	46
3.2.5.6 Acidez titulable, pH y características físicas.....	46
3.2.5.7 Variables microclimáticas y conductancia estomática.....	47
3.6 Análisis estadístico.....	48
4 RESULTADOS Y DISCUSION.....	49
4.1 Experimento 1.....	49
4.1.1 Efecto de la forma nitrogenada sobre la dinámica de la absorción de nitrógeno.....	49

	Pág.
4.1.2 Cambios en el pH del medio.....	51
4.2 Experimento 2.....	53
4.2.1 Actividad de la nitrato reductasa.....	54
4.2.2 Actividad de la glutamina sintetasa (AGS).....	59
4.2.3 Contenido de proteínas solubles.....	60
4.2.4 Concentración de nitratos.....	61
4.2.5 Estatus nutrimental.....	63
4.2.5.1 Nitrógeno.....	68
4.2.5.2 Fósforo.....	69
4.2.5.3 Potasio.....	70
4.2.5.4 Calcio.....	71
4.2.5.5 Magnesio.....	72
4.2.6 Variables ecofisiológicas.....	73
4.2.6.1 Correlaciones.....	74
4.2.6.2 Variables microclimáticas.....	75
4.2.6.3 Efecto de tratamientos sobre las variables fisicoquímicas de la planta.....	75
4.2.6.4 Fluctuaciones diurnas de las variables fisicoquímicas de cladodios en crecimiento.....	78
4.2.6.4.1 Temperatura y densidad	79
4.2.6.4.2 Conductancia estomática.....	81
4.2.6.4.3 Acidez titulable (% ácido málico).....	81
4.2.6.4.4 pH.....	83
5 CONCLUSIONES.....	86
6 LITERATURA CITADA.....	89
7 APENDICE.....	98

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Elementos esenciales para la mayoría de las plantas superiores y concentraciones internas que se consideran adecuadas (Salisbury y Ross, 1994).	5
2	Concentraciones adecuadas de los principales nutrientes en diferentes plantas cultivadas y contenido mineral foliar de especies nativas.	7
3	Niveles de elementos en el clorénquima para tres especies de <i>Opuntia</i> spp en ambientes diversos.	11
4	Toma de CO ₂ por las plantas, características de las tres sendas fotosintéticas (preparado con base en los reportes de Nobel, 1988; Nobel, 1994 y Nobel, 1995).	33
5	Algunas características físicas y químicas del sustrato utilizado en este estudio.	36
6	Composición de las dos soluciones nutritivas de acuerdo a las fuentes nitrogenadas utilizadas en el experimento 1.	38
7	Composición de las cinco soluciones nutritivas de acuerdo a las relaciones N-NO ₃ : N-NH ₄ utilizadas en el experimento 2.	41
8	Diseño de tratamientos (Experimento 2).	42
9	Reactivos y concentración para la determinación de la actividad de la glutamina sintetasa (AGS).	45
10	Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para nitrógeno absorbido en diferentes fechas de medición y materia seca producida por plantas de <i>O. ficus-indica</i> en condiciones de hidroponia.	50
11	Efecto de diferentes proporciones N-NO ₃ :N-NH ₄ sobre la actividad de las enzimas NR, y GS, en el contenido de proteínas solubles y nitratos, en raíces y tallos de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill., en condiciones de invernadero.	55
12	Efecto de diferentes relaciones N-NO ₃ :N-NH ₄ sobre la actividad de la enzima nitrato reductasa ($\eta\text{M NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$) en raíces y tallos de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill., en condiciones de invernadero.	57
13	Efecto de diferentes proporciones N-NO ₃ :N-NH ₄ sobre la concentración de N, P, K, Ca y Mg en el tejido vegetal de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill., creciendo en condiciones de invernadero.	65

Cuadro		Página
14	Niveles promedio de elementos en diferentes órganos de plantas de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill., creciendo en soluciones nutritivas aireadas.	66
15	Coefficientes de correlación y p-valores entre algunas variables microclimáticas y de plantas de nopal creciendo en soluciones nutritivas en condiciones de invernadero.	75
16	Efecto de diferentes relaciones N-NO ₃ :N-NH ₄ sobre cuatro variables fisicoquímicas de cladodios en crecimiento de plantas de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill. creciendo en condiciones de invernadero.	77
17	Cambios diurnos de las variables microclimáticas y fisicoquímicas de cladodios en crecimiento de plantas de <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill., creciendo en condiciones de invernadero.	79

APENDICE

Cuadro		Página
A-1	Curvas de calibración obtenidas en los procedimientos de análisis químico de algunas variables medidas.	98
A-2	Valores de pH y conductividad eléctrica de las soluciones nutritivas, en las diferentes fechas de reposición durante la conducción del experimento 2.	98
A-3	Resumen de los valores del cuadrado medio del error de los análisis de varianza para la actividad de la nitrato reductasa (ANR), glutamina sintetasa (AGS) y el contenido de proteína soluble y nitratos en el tejido vegetal de diferentes órganos de la planta en el experimento 2.	99
A-4	Resumen de los valores del cuadrado medio del error de los análisis de varianza para la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio en el tejido vegetal de diferentes órganos de la planta en el experimento 2.	99

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Asimilación del NH_4^+ , vía glutamina sintetasa-glutamato sintasa (Maldonado, 1993).	23
2	Resumen de ciertos eventos bioquímicos más probables a ocurrir en agaves y cactus. Los ciclos bioquímicos o procesos son indicados en cajas y las enzimas involucradas son indicadas en cursivas. Adaptado de: Nobel (1988a).	29
3	Representación esquemática de las etapas en el análisis estadístico.	49
4	Dinámica de absorción de N-NO_3 y N-NH_4 en plantas de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill. por período de muestreo en condiciones de hidroponía.	51
5	Cambios en el pH de la solución nutritiva producidos por plantas de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill., sometidas a dos tratamientos de fuentes nitrogenadas.	52
6	Efecto de la relación $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ sobre la actividad de las enzimas nitrato reductasa (A), glutamina sintetasa (B), contenido de proteína soluble (C) y nitratos (D) en plantas de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.) creciendo en soluciones nutritivas aireadas en condiciones de invernadero.	56
7	Actividad de las enzimas nitrato reductasa (A), glutamina sintetasa (B), contenido de proteína soluble (C) y nitratos (D) en raíces y tallos de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill. creciendo en soluciones nutritivas aireadas bajo condiciones de invernadero.	59
8	(A) densidad del tejido de cladodios en crecimiento. (B) conductancia estomática y humedad relativa en función de la temperatura del aire. (C) Fluctuaciones diurnas de la temperatura del aire y del tallo, y. (D) Comportamiento de la acidez titulable (%de ácido málico) y pH del tejido en plantas de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.) desarrollando en soluciones nutritivas aireadas bajo condiciones de invernadero.	76
9	Fluctuaciones diurnas de: densidad del tejido de cladodios en crecimiento (A); conductancia estomática (B); acidez titulable (% de ácido málico) (C), y pH del tejido (D), en plantas de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.) creciendo en soluciones nutritivas aireadas bajo condiciones de invernadero.	81

Figura		Página
10	Relaciones entre temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$) y conductancia estomática ($\text{mM m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de cladodios en crecimiento de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill., desarrollando con el suministro de 150 mg L^{-1} de N en cinco relaciones N- NO_3 :N- NH_4 diferentes, bajo condiciones de invernadero.	82
11	Relación entre: (A) % de ácido málico y el pH; y, (B) ln de % de ácido málico y el pH del tejido de cladodios en crecimiento de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill., desarrollando con el suministro de 150 mg L^{-1} de N en cinco relaciones N- NO_3 :N- NH_4 diferentes, bajo condiciones de invernadero.	86

RESUMEN

Clemente Gallegos Vázquez

Fecha de Graduación: Julio de 1998

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Agronomía

Título del Estudio: Absorción y Asimilación de Nitrato y Amonio en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Condiciones de Hidroponia.

Número de Páginas: 99

**Candidato para el grado de Doctor en Ciencias
Agrícolas con Especialidad en Agua-Suelo.**

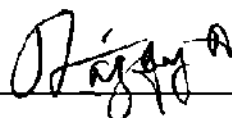
Areas de Estudio: Agricultura de Zonas Aridas, Nutrición Vegetal y Ecofisiología y Productividad del Nopal.

Propósitos y Métodos de Estudio: El nitrógeno (N) es el elemento de mayor influencia en el crecimiento del nopal (*Opuntia* spp). Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron: a) detectar la cinética de la absorción de los iones NO_3^- y NH_4^+ y b) estudiar el efecto de diferentes relaciones N- NO_3 :N- NH_4 en la actividad de las enzimas nitrato reductasa (NR) y Glutamino sintetasa (GS) y evaluar el efecto de la nutrición nítrica y amoniacal sobre el nivel y acumulación de nutrimentos y su relación con algunos procesos fisiológicos de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Para tal efecto, se desarrollaron dos experimentos secuenciados en condiciones de hidroponia. Experimento 1, se usó $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ como fuentes de N a una concentración de 150 mg L^{-1} de N. Se empleó un diseño experimental de bloques al azar, con siete repeticiones. La velocidad de absorción de los iones se estimó por el método de agotamiento. Experimento 2, se emplearon cinco relaciones N- NO_3 :N- NH_4 , [1:0 (150 mg L^{-1} de N- NO_3 :0 mg L^{-1} de N- NH_4), 2:1 (100:50), 1:1 (75:75), 1:2 (50:100) y 0:1 (0 : 150)]. Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y un arreglo factorial de tratamientos. A los 21 días posteriores al establecimiento del experimento se evaluó "in vivo", en los diferentes órganos de la planta, raíz, la actividad de las enzimas la nitrato reductasa (ANR) y la glutamina sintetasa (AGS), además se determinó el contenido de NO_3^- , y proteínas. Se midió el pH y la acidez titulable en tejidos de cladodios en crecimiento (brotes) durante periodos de 4 h durante las 24 h del día. En la etapa final del ensayo se realizó un muestreo destructivo a fin de determinar el contenido de N, P, K, Ca y Mg de cladodios y raíz.

Contribuciones y Conclusiones: En los resultados se observó una mayor absorción de nitrógeno con N- NO_3 como fuente nitrogenada en la solución nutritiva; esta mayor absorción de N- NO_3 se asoció con una mayor producción de materia seca de los brotes y un incremento en el pH de la solución nutritiva comparado con el N- NH_4 . Se registró una mayor actividad de las enzimas nitrato reductasa y glutamino sintetasa cuando el medio nutritivo se suministró con relaciones N- NO_3 :N-

NH₄ altas, corroborándose la dependencia de la ANR de la concentración de N-NO₃ en el medio nutritivo. Ambas enzimas tuvieron un comportamiento similar, registrándose su mayor actividad en la raíz. El contenido promedio de nitratos en el tejido vegetal fue mayor conforme las soluciones nutritivas incluyeron mayor suministro de N-NO₃ en las relaciones N-NO₃:N-NH₄, corroborándose su dependencia de la concentración de N-NO₃ en el medio externo. El mayor contenido de proteínas solubles se asoció a mayores concentraciones de N-NH₄ en la solución nutritiva y sus mayores concentraciones se localizaron en la raíz. La concentración de N, P, K, Ca, y Mg de la planta de nopal no se vio influenciada por el suministro de diferentes relaciones N-NO₃:N-NH₄, detectándose diferencias altamente significativas en función de la edad y tipo de órgano de la planta. Las variables microclimáticas y de plantas de nopal mostraron fluctuaciones diurnas marcadas. La acumulación nocturna de ácido, expresada como % de ácido málico, constituye un indicador apropiado de los niveles de absorción de CO₂ en la planta de nopal.

FIRMA DEL ASESOR PRINCIPAL: _____



SUMMARY

Clemente Gallegos Vázquez

Graduation: July, 1998

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Agronomía

Title of the Research Work: Uptake and Assimilation of Nitrate and Ammonium in *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. in Water Culture Conditions.

Number of pages: 99

Candidate to obtain the Doctor in Agricultural Sciences degree. Water and Soil Sciences

Subjects of the Research Work: Arid Land Agriculture, Plant Nutrition and Cactus Pear Ecofisiology and Productivity

Purposes and Methods of Study: The nitrogen (N) is the element of higher influence in the growth of cactus pear (*Opuntia* spp). The objectives of this research work were: a) to understand the ion kinetics absorption of NO_3^- and NH_4^+ , b) study the effect of several relationships among N- NO_3 and N- NH_4 in the activity of the enzymes nitrate reductase (NR) and Glutamate synthase (GS), and c) evaluate the effect of the nitrate and ammonium nutrition on the level and accumulation of nutriment and their relationship with some physiologic processes of plants of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. For such effect, two consecutive experiments were developed in hydroponics conditions. In the Experiment 1, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ was used and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ like N sources to get a concentration of 150 mg L^{-1} of N. An experimental design of random blocks was used, with seven replications. The ion speed absorption was evaluated by the depletion method. In the Experiment 2, five N- NO_3 :N- NH_4 relationships were studied, [1:0 (150 mg L^{-1} of N- NO_3 : 0 mg L^{-1} of N- NH_4), 2:1 (100:50), 1:1 (75:75), 1:2 (50:100) and 0:1 (0:150)]. An experimental design of random complete blocks was used, with four replications with a factorial arrangement of treatments. Several organs of the plant, root, the activity of the enzymes, nitrate reductase (ANR), glutamate synthase (AGS), NO_3 and protein content were "in vivo" evaluated, at 21 days after establishment of the experiment. It was measured the pH and the titrable acidity in growing buds of cladodes, each 4 h during 24 h of the day. In the final stage of the research work, it was carried out a destructive sampling, in order to determine the content of N, P, K, Ca and Mg of mother cladodes and roots.

Contributions and Conclusions: In the results can be observed a high absorption of nitrogen, when N- NO_3 was used as a nitrogen source in the nutritious solution; this bigger absorption of N- NO_3 can be associated with a higher production of dry matter from buds and a increment in the pH of the nutritious solution compared with the N- NH_4 . It was registered a high activity of the enzymes nitrate reductase and glutamate synthase when the nutritious solution was subministered with a higher relationships of N- NO_3 :N- NH_4 , confirming the dependence of the RNA from the concentration of

N-NO₃ in the nutritious solution. Both enzymes had a similar behavior, registering their higher activity in the root. The average nitrates content in the vegetable tissue was higher according to the supply of N-NO₃ from the relationships N-NO₃:N-NH₄ in the nutritious solutions, corroborating this dependence of the concentration of N-NO₃ in the external media.

The highest content of soluble proteins, it is associated to bigger concentrations of N-NH₄ in the nutritional solution, locating the concentrations of this nitrogen form in the root. The concentration of N, P, K, Ca, and Mg of the of prickly pear plant was not influenced for the supply of several relationships of N-NO₃ and N-NH₄, detecting high significant differences in function of the age and type of organ of the plant. The microclimatic and plant variables showed sharp fluctuations during days. The night accumulation of acid, expressed in % of malic acid, it constitutes an appropriate indicator of the levels of absorption of CO₂ in the cactus pear plant.

MAIN ADVISOR SIGNATURE: _____



1 INTRODUCCION

Acertado es el adjetivo utilizado para hablar de los nopales (*Opuntia spp*), cuando se emplea el termino *Extraordinario*, que significa digno de notar, raro, aún extraordinario describe de manera propia a los nopales. Las especies del género *Opuntia* han sido parte de la dieta humana cuando menos desde hace 9,000 años; los nopales han jugado un papel importante en el desarrollo cultural y la vida diaria de nuestros ancestros. Ha sido bien documentado el desarrollo histórico del aprovechamiento del nopal; originalmente, a través de un sistema de recolección de frutos y segmentos de tallos en nopaleras silvestres, para luego transitar a la creación de plantaciones (de especies deseadas o sobresalientes) próximas a la vivienda de grupos de pobladores sedentarios que condujo a una hibridación entre especies normalmente separadas por la naturaleza y a la creación de nuevos cultivares, y finalmente al cultivo especializado en plantaciones comerciales.

Actualmente, México ocupa el primer lugar en términos de superficie cultivada, producción y consumo de tuna y nopal verdura (Flores y Gallegos, 1993). Sin embargo, su cultivo evolucionó en apenas cuatro décadas, de la condición de producto de recolección a cultivo especializado, de ahí que la experiencia generada, tanto en forma empírica como de las innovaciones tecnológicas producto de la investigación agrícola, sea insuficiente y exista la necesidad de generar nuevos conocimientos sobre aspectos tales como nutrición, podas, control de plagas y enfermedades y otras prácticas culturales que permitan el mejoramiento de los sistemas de producción.

En lo que se refiere a aspectos nutricionales, a la fecha se han realizado diversos ensayos de fertilización con estiércoles y fertilizantes inorgánicos y su efecto sobre rendimiento y calidad de la fruta, es decir ensayos con una orientación práctica, los cuales indudablemente han contribuido a la adopción de esta labor cultural por parte de los productores. No obstante, la gran mayoría de los trabajos realizados se han llevado a cabo mediante tratamientos de prueba y error, sin que existan las bases teóricas técnico-científicas relacionadas con las fuentes, dosis, y épocas de aplicación de los nutrimentos en función de la capacidad de extracción y selectividad de los mismos por la planta del nopal.

Particularmente sobre la nutrición nitrogenada se ha documentado ampliamente que las únicas fuentes importantes para todas las plantas cultivadas, excepto leguminosas, son nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), estableciéndose que ambas formas pueden ser absorbidas y metabolizadas por las plantas, aceptando que el NO_3^- es frecuentemente la fuente preferencial para el crecimiento de los cultivos (Mengel y Kirkby, 1987 y Salisbury y Ross, 1994). De este modo, el efecto de la forma nitrogenada sobre el crecimiento de las plantas ha sido objeto de un gran número de estudios; sin embargo, aun existen fuertes discrepancias en los resultados (Mengel y Kirkby, 1987, Cao y Tibbitts, 1994, Osaki *et al.*, 1995) sobre todo si se considera la especie de planta y otros factores ambientales. En adición a lo anterior, el estado nutrimental mineral de las plantas, el cual afecta de muchas maneras su actividad metabólica, ha sido estudiado en detalle para plantas C_3 y C_4 , en tanto que las plantas CAM, en general y el nopal (*Opuntia* spp.) en particular, han recibido escasa atención, de manera que son pocos los estudios que revelan el efecto de los iones minerales sobre este tipo de plantas.

Por otro lado, existen reportes que indican que es posible obtener mayores producciones cuando ambas fuentes nitrogenadas se suministran en relaciones $\text{N-NO}_3^-:\text{N-NH}_4^+$ adecuadas (Hageman, 1992). Estos incrementos en la producción podrían ser atribuibles a incrementos en la actividad de algunas enzimas relacionadas con el metabolismo del nitrógeno. La nitrato reductasa (NR) es considerada como un factor limitante para el crecimiento, desarrollo y producción de proteínas en la planta (Botella *et al.*, 1993), de ahí que la NR se ha estudiado intensivamente debido a que, con frecuencia, su actividad controla la velocidad de la síntesis de proteínas en plantas que absorben NO_3^- como fuente principal de nitrógeno (Salisbury y Ross, 1994); también existe información que sostiene que al suministrar a la planta con amonio y nitrato la actividad de la glutamino sintetasa (GS) aumenta (Sandoval, 1991). Sin embargo, para el caso de la planta de nopal, se carece de información al respecto, de manera que surge la necesidad de emprender trabajos conducentes a dilucidar algunos aspectos del metabolismo del nitrógeno, en general y la influencia de la fuente nitrogenada en el comportamiento de la planta de nopal. Con base en lo precedente, el presente trabajo de investigación tuvo como finalidad contribuir al conocimiento del metabolismo del nitrógeno en el cultivo del nopal (*Opuntia* spp) postulándose las hipótesis y objetivos específicos siguientes:

Hipótesis

1. Las formas de asimilación de nitrógeno son NO_3^- y NH_4^+ , existiendo diferencias en la cinética de su absorción, asumiéndose que el NO_3^- es la fuente más fácilmente asimilada por la planta de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.).
2. La relación $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ afecta la actividad enzimática de la planta de nopal, por lo tanto la actividad de la nitrato reductasa (NR) y glutamina sintetasa (GS) se ven modificadas con el suministro de una u otra fuente nitrogenada.
3. El contenido de nutrimentos en el material vegetal de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. es mayor al emplear la relación $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ en proporciones óptimas que con el uso exclusivo de ambas fuentes nitrogenadas, por lo tanto se puede afectar algunos procesos fisiológicos de la planta.

Objetivos

1. Estudiar la cinética de la absorción de los iones NO_3^- y NH_4^+ en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en función de la fuente nitrogenada de una solución nutritiva .
2. Estudiar el efecto de diferentes relaciones $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ en la actividad de las enzimas nitrato reductasa (NR) y glutamina sintetasa (GS).
3. Evaluar el efecto de la nutrición nítrica y amoniacal sobre el nivel y acumulación de nutrimentos y su relación con algunos procesos fisiológicos de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

2 REVISION DE LITERATURA

2.1 Estado nutrimental mineral en plantas

Los nutrientes esenciales requeridos por las plantas superiores son exclusivamente de naturaleza inorgánica. Este requerimiento exclusivo de las plantas superiores es una característica distintiva con otros organismos tales como el hombre, animales y un número de microorganismos con requerimientos adicionales de comestibles orgánicos (Mengel y Kirkby, 1987). Los nutrientes minerales se han dividido convencionalmente, con base en el contenido del elemento en el tejido vegetal, en: macronutrientes (C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg) y micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, Cl) (Epstein, 1972, Marschener, 1986, Mengel y Kirkby, 1987 y Salisbury y Ross, 1994); el Na, Si y Co no han sido establecidos como esenciales, aunque al menos para algunas plantas son, en efecto, elementos esenciales, como el sodio en algunas *Chenopodiaceae* o algunas otras plantas que utilizan la fotosíntesis C₄ (Brownell, 1994).

Con base en las cantidades relativas de los constituyentes de la planta, los minerales representan comparativamente la porción más pequeña (3 %) de la materia seca. Sin embargo, el contenido mineral de la planta o de órganos de la planta es de extrema importancia desde el punto de vista de su significancia fisiológica y práctica.

Sin duda alguna, el uso de los análisis minerales de plantas y suelos, como herramienta de diagnóstico, han jugado un papel de gran importancia en la decisión de los agricultores sobre la producción de plantas. Tales procedimientos constituyen una forma de evaluar el estatus de los nutrientes minerales en el ambiente suelo-planta y ayudan a diagnosticar deficiencias, son útiles para estudiar las relaciones entre el estatus nutrimental de la planta y el rendimiento de la cosecha, y por tanto sirven como un auxiliar en la determinación de los requerimientos de fertilizante, para evaluar la productividad del suelo, y para determinar las condiciones específicas del suelo que se pueden corregir con la adición de un mejorador de suelos o con prácticas culturales (Jones, 1985 y Smith, 1986).

En general, se acepta que los elementos considerados como esenciales, lo son para todas las angiospermas y gimnospermas, aunque de hecho sólo se han investigado bien los requerimientos nutritivos de unas 100 especies (en su mayor parte cultivadas). Salisbury y Ross (1994) consignaron la relación de elementos (Cuadro 1) que en la actualidad se consideran esenciales para todas las plantas superiores, así como la forma molecular o iónica que las plantas absorben con mayor facilidad del suelo y aire y la concentración óptima aproximada en el vegetal.

Cuadro 1. Elementos esenciales para la mayoría de las plantas superiores y concentraciones internas que se consideran adecuadas (Salisbury y Ross, 1994).

Elemento	Símbolo químico	Forma disponible al vegetal ^a	Peso atómico	Concentración en tejido seco		Número relativo de átomos comparado con el de Molibdeno
				(mg kg ⁻¹)	(%)	
Molibdeno	Mo	MoO ₄ ²⁻	95.95	0.1	0.00001	1
Níquel	Ni	Ni ⁺⁺	58.71	?	?	?
Cobre	Cu	Cu ⁺ , Cu ⁺⁺	63.54	6	0.0006	100
Zinc	Zn	Zn ⁺⁺	65.38	20	0.0020	300
Manganeso	Mn	Mn ⁺⁺	54.94	50	0.0050	1 000
Boro	B	H ₃ BO ₃	10.82	20	0.002	2 000
Hierro	Fe	Fe ⁺⁺ , Fe ⁺⁺⁺	55.85	100	0.010	2 000
Cloro	Cl	Cl ⁻	35.46	100	0.010	3 000
Azufre	S	SO ₄ ²⁻	32.07	1 000	0.1	30 000
Fósforo	P	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻	30.98	2 000	0.2	60 000
Magnesio	Mg	Mg ⁺⁺	24.32	2 000	0.2	80 000
Calcio	Ca	Ca ⁺⁺	40.08	5 000	0.5	125 000
Potasio	K	K ⁺	39.10	10 000	1.0	250 000
Nitrógeno	N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	14.01	15 000	1.5	1 000 000
Oxígeno	O	O ₂ , H ₂ O	16.00	450 000	45	30 000 000
Carbono	C	CO ₂	12.01	450 000	45	35 000 000
Hidrógeno	H	H ₂ O	1.01	60 000	6	60 000 000

^a En negritas se indica la más común de las dos formas.

2.1.1 Niveles críticos de concentración de nutrientes en plantas nativas y cultivadas

El principal factor que controla el contenido mineral de las plantas es genético, aceptándose la existencia de un patrón general para todas las especies de plantas superiores, que indica que el contenido de N y K es 10 veces mayor que P y Mg, los cuales muestran a su vez concentraciones de

100-1000 veces más que los micronutrientes (Mengel y Kirkby, 1987). Este patrón ocurre en todas las plantas, sin embargo, existen diferencias considerables entre especies, y aun dentro de especies.

El segundo factor que controla el contenido mineral en el tejido vegetal es la concentración de nutrientes en la solución del suelo. En la naturaleza, las plantas se encuentran en suelos que varían ampliamente en fertilidad debido a la baja disponibilidad de todos los nutrientes, desequilibrio entre nutrientes y presencia de elementos a niveles tóxicos (Wentworth y Davidson, 1987 y Nobel, 1994); por ejemplo, el boro que es requerido por bajas cantidades por las plantas, en el Desierto Sonorense existe boro suficiente en forma de borato para el crecimiento de magueyes y cactus (nopales); sin embargo, los niveles extremadamente bajos en el Desierto Chihuahuense del centro norte de México pueden limitar el crecimiento de los nopales (Nobel, 1994). Consecuentemente, la concentración mineral en los tejidos de las plantas tanto nativas como cultivadas también varía ampliamente.

En el Cuadro 2 se presentan las concentraciones adecuadas de los principales nutrientes para especies de cuatro grupos de plantas cultivadas (un cereal, una leguminosa forrajera, una hortaliza y un frutal), así como los promedios del contenido mineral foliar de plantas nativas características de zonas desérticas. De dicha información se desprende que, en general el contenido de N, K y P en el follaje de las plantas cultivadas es mayor que en la vegetación nativa, en tanto que el contenido de Ca es mayor en general en las plantas nativas que en las cultivadas, y hasta en cinco veces en cactus que en maíz, por ejemplo. Dentro de las especies cultivadas, se registran también diferencias notables en la concentración de algunos elementos, particularmente en el contenido de K, Ca y Mg en la especie hortícola (*Capsicum annuum*) comparado con los niveles de tales elementos en los cultivos básicos. Adicionalmente, el contenido mineral difiere considerablemente entre órganos de la planta; generalmente, las partes vegetativas tales como hojas, tallos y raíces varían hasta cierto punto de manera más marcada que frutos, tubérculos y semillas (Mengel y Kirkby, 1987). Asimismo, el contenido mineral varía con la edad de la planta, reportándose que tejidos de plantas jóvenes tienen un contenido mayor de N, K y P, mientras en plantas adultas es frecuente observar contenidos más altos de Ca, Mn, Fe y B (Mengel y Kirkby, 1987).

Cuadro 2. Concentraciones adecuadas de los principales nutrientes en diferentes plantas cultivadas y contenido mineral foliar de especies nativas.

Nutriente	Especies cultivadas				Especies nativas			
	<i>Zea mays</i> ^{1/}	<i>Medicago sativa</i> ^{2/}	<i>Capsicum annum</i> ^{3/}	<i>Prunus persica</i> ^{4/}	Vegetación perenne ^{5/}	<i>Simmondsia chinensis</i> ^{6/}	<i>Agave spp</i> ^{7/}	cactus ^{8/}
N (%)	3.4-5.0	4.5-5.0*	2.9-4.6	3.0-3.5	2.0	2.20	1.15	1.67
P (%)	0.4-0.8	0.362	0.30-0.50	0.14-0.25	0.2	0.10	0.21	0.16
K (%)	2.5-4.0	2.5-3.8*	5	2.0-3.0	3.73	1.40	1.81	1.63
Ca (%)	0.3-0.7	1.682	1.3-3.7	1.8-2.7	2.8	0.80	3.7	4.44
Mg (%)	0.3-0.8	0.273	0.25-1.2	0.3-0.86	0.3	0.12	0.66	1.14
Cu (ppm)	7-20	13.3	10-20	5-16	6	3	4	7
Zn (ppm)	20-50	59.07	35-260	20-50	30	30	26	28
Mn (ppm)	50-160	47.22	26-300	40-160	87	30	26	179
Fe (ppm)	50-300	90.62		100-250	336	60	77	136
B (ppm)	7-25	34.7	30-100	20-60			24	39
Referencia	Reuter (1986)	Olivares (1987) y Smith (1986)*	Piggott (1986)	Robinson (1986)	El-Ghonyemy <i>et al.</i> (1978)	Lengyel (1988)	Nobel y Berry (1985)	Nobel (1983)

^{1/} 30-45 días después de la emergencia.

^{2/} Concentración promedio de tejido de dos poblaciones de alfalfa para forraje, creciendo en diferentes pH de la rizósfera y proveniente de tres tiempos de corte. Los datos para nitrógeno (N) y potasio (K), marcados con asteriscos, son de Smith (1986) y corresponden a plantas en estado vegetativo de crecimiento (15 cm de altura).

^{3/} Concentraciones obtenidas durante la primera fructificación.

^{4/} Promedio de cuatro hojas completas, tomadas de la parte media de ramas nuevas, en el cultivar "Spread", durante enero y febrero.

^{5/} Promedio del contenido mineral foliar de 20 especies de plantas perennes del Desierto de Mohave.

^{6/} Concentración mineral foliar óptima de jojoba en condiciones de campo.

^{7/} Nivel mineral en el clorénquima, en base a peso seco para seis o nueve muestras de plantas maduras de ocho especies de agaves.

^{8/} Nivel mineral en el clorénquima, en base a peso seco de once especies de cactus.

2.2 Relaciones nutrimentales en *Opuntia* spp

Los requerimientos y el contenido de nutrientes de la planta de nopal son prácticamente semejantes a los de otras plantas. En relación a los macronutrientes, los nopales contiene niveles más bajos de N y P y una concentración mayor de Ca, respecto a las plantas provistas de hojas bajo cultivo. Sin embargo, para entender las relaciones nutrimentales en plantas del género *Opuntia*, es necesario partir de algunas consideraciones de su anatomía y fisiología, las cuales tienen una gran significancia funcional de este tipo de plantas y de su adaptación al ambiente árido en el que se desarrollan.

Las cactáceas difieren de muchas otras plantas por poseer el Metabolismo Acido Crasuláceo (CAM, por sus siglas en inglés) y por su succulencia, lo cual puede afectar sus relaciones minerales. Al respecto Berry y Nobel (1985) indicaron que las cactáceas retienen una fracción relativamente grande del agua extraída del suelo, lo cual puede afectar su concentración interna de minerales y su reciclaje.

Nobel (1983) sostuvo que el estado nutrimental mineral de las plantas, el cual afecta de muchas maneras su actividad metabólica, ha sido estudiado en detalle para plantas C₃ y C₄, en tanto que las plantas CAM han recibido una atención muy pequeña, de manera que son pocos los estudios que revelan el efecto de los iones minerales sobre este tipo de plantas, dentro de los que se pueden ubicar los realizados por Nobel (1983), Nobel y Berry (1985), Nobel y Hartsock (1986), Gibson y Nobel (1986), Nobel *et al.* (1987), López (1988) y Calderón (1995).

2.2.1 Edad del tejido

Dentro de los factores que afectan la composición nutrimental en plantas, destaca la edad del tejido. López (1988) indicó que la composición nutrimental de órganos y tejidos varía durante su desarrollo y cada elemento muestra un patrón característico. Por ejemplo el nivel del N cambia con edad del tejido, de manera que el contenido de N tiende a ser más alto en cladodios jóvenes que en cladodios maduros, 95% más altos en *O. cantabrigiensis*, 25% más altos para *O. phaeacantha*, 45%

en *Opuntia ficus-indica* (Nobel, 1983) y 59% en *O. amyclaea* (López, 1988); como se puede apreciar, la magnitud de las diferencias en el contenido de N en cladodios jóvenes y cladodios adultos varía con la especie.

Al evaluar el contenido nutrimental en tallos y raíces en *O. amyclaea*, López *et al.* (1990) encontraron que las diferencias más contrastantes en los contenidos estuvieron dados por la edad y el tipo de tejido evaluados en tallos. Los mayores contenidos de N, P, K, Mn, Zn y Na se registraron en tallos de un año de edad, contrariamente a lo que ocurrió para Mg, mientras que los contenidos de Fe no mostraron diferencia. Al comparar los niveles de N, P, K y Mg en raíces y tallos, los contenidos fueron superiores en estos últimos, lo cual puede obedecer a la gran movilidad de estos nutrimentos, así como su traslocación hacia las partes de mayor demanda de la planta. Por el contrario, los contenidos de Fe, Mn y Na fueron sensiblemente superiores en raíces. Los contenidos de Na y Fe fueron 5 y 20 veces más altos en raíces, respectivamente (López *et al.*, 1990).

Al analizar los niveles de sodio en *Opuntia ficus-indica* Nobel (1983) encontró que estos fueron más altos en la raíz que en los tallos y dentro de estos últimos, el contenido fue mayor en el parénquima que en el clorénquima. Resultados similares fueron reportados por López *et al.* (1990) para *Opuntia amyclaea*, encontrándose que en promedio el Na alcanzó valores de 206, 88.6 y 40.3 ppm en la raíz, parénquima y clorénquima, respectivamente.

López *et al.* (1990) arguyeron que la mayor concentración de Na en la raíz sugiere la existencia de mecanismos de retención y acumulación de éstos y con ello de su traslocación hacia la parte aérea. Por otra parte Berry y Nobel (1985) observaron una mayor acumulación de Na en la raíz, arguyendo que existe una limitada traslocación hacia tallos como consecuencia de su posible exclusión del xilema en raíces.

2.2.2 Tipo de tejido

Debido a la gran cantidad de agua almacenada en el parénquima y a los 2 o 3 mm de espesor del clorénquima de los órganos fotosintéticos de agaves y cactáceas, ambos tejidos pueden ser

separados fácilmente de manera que la determinación de los contenidos nutrimentales en dichos tejidos se puede realizar por separado.

Sobre la base de materia seca, el nivel promedio de N en el parénquima es únicamente 5% menor que en el clorénquima (Nobel, 1983 y Nobel *et al.*, 1987). El parénquima de reserva contiene grandes células con o sin relativamente pocos organelos por lo que su peso seco por unidad de peso fresco es más bajo que el del clorénquima. Por ejemplo, en cladodios hidratados de *O. phaeacantha*, el peso seco corresponde al 11% del peso fresco del clorénquima por solo el 6% del parénquima de reserva (Nobel, 1988a).

En un trabajo sobre 11 especies de cactáceas, se determinó la relación entre la concentración de 10 nutrientes minerales en el clorénquima y la máxima cantidad de acumulación nocturna de ácido málico (como indicador de extracción de CO₂) encontrándose una correlación positiva y la mayor significancia entre el nivel más alto de N en el tejido y el valor más alto de la acumulación nocturna de ácido málico para las 11 especies examinadas; asimismo, el estudio reveló que el nivel del N en soluciones hidropónicas incrementó substancialmente la tasa de crecimiento de plantulas de cactáceas (Nobel, 1983). Cuatro de las 11 especies consideradas tuvieron un 2% o más de N en el clorénquima, porcentaje que resulta similar a valores registrados en otras plantas de interés agronómico (Nobel, 1988a).

En el caso de los nopales y cactáceas, en general, el contenido de Ca es mayor respecto al encontrado en otras plantas cultivadas, tanto que pueden disuadir a algunos animales a consumir los tallos o cladodios (Bravo-Hollis, 1978 y Nobel, 1994). El nivel del Ca puede rebasar el 6% del peso del clorénquima en agaves y cactáceas; el nivel de este elemento puede elevarse de un 2% presente en un cladodio de dos semanas de edad al 6% en un cladodio de un año (Nobel, 1983). En opinión de Gibson y Nobel (1986) tales niveles de calcio están estrechamente asociados con la acumulación de oxalatos de calcio en agaves y cactáceas, los cuales pueden formar cristales.

Promediando los valores de algunos elementos presentes en el clorénquima y en el parénquima de tallos de 11 especies de cactáceas, el Na es tres veces más bajo, el Ca mayor en un

50% y el Mn tres veces más alto en el primer tipo de tejido (Nobel, 1983). El autor agregó que los niveles más altos de Mn en el clorénquima puede relacionarse con la presencia de ciertas enzimas y reacciones fotoquímicas que lo requieren. En el Cuadro 3 se sintetizan los valores alcanzados por el contenido de elementos en el clorénquima de plantas de tres especies de *Opuntia* en diferentes condiciones ambientales y culturales.

Cuadro 3. Niveles de elementos en el clorénquima para tres especies de *Opuntia* spp en ambientes diversos.

Elemento	<i>Opuntia ficus-indica</i> ¹	<i>Opuntia engelmannii</i> ²		<i>O. amyclaea</i> ³
	Fillmore, California	Kingsville, Texas	Coahuila, Méx.	Edo. de México
N (%)	2.61	2.11	0.90	0.87
P (%)	0.33	0.19	0.03	0.14
K (%)	1.18	3.69	1.48	2.42
Ca (%)	6.33	3.81	9.66	----
Mg (%)	1.43	1.84	1.05	1.03
Na (ppm)	31	179	78	46
Mn (ppm)	54	92	28	22
Cu (ppm)	15	4	4	----
Zn (ppm)	52	31	11	16
Fe (ppm)	88	73	61	58
Bo (ppm)	109	23	4	----
A.N.A. ^a	0.81	----	----	----

^a Máxima acumulación nocturna de ácido málico (mol m⁻²)

¹ Nobel (1988)

² Nobel *et al.* (1987)

³ López (1988)

2.2.3 Interacciones iónicas

Los elementos minerales son extraídos del suelo y su transporte ocurre en forma de iones con carga negativa (anión) o positiva (catión). Ciertos elementos como el N, ocurren con múltiples formas, tales como el amonio (NH₄⁺) y el nitrato (NO₃⁻) (Nobel, 1988a). Las variaciones en las concentraciones nutrimentales de tejidos vegetales ocurren frecuentemente de manera definida en términos de afinidad entre sí, dentro de la planta y en el suelo, modificando con ello procesos de distribución y acumulación dentro de la planta (Bould, 1966), reconociéndose dos tipos de interacciones de efectos recíprocos: positivas (sinergismo) y negativas (antagonismo).

Para mantener el balance de la carga o electroneutralidad de las células de las plantas, la carga total de cationes debe ser estrechamente pareja o igual a la carga de aniones (Nobel, 1983); ésto es, cuando un catión es absorbido del suelo por la raíz, generalmente un anión también es absorbido o un catión es liberado. Por ejemplo, la extracción de K^+ puede ser acompañada por la extracción de Cl^- o la liberación de H^+ , lo cual puede afectar el pH de la vecindad inmediata de la superficie de la raíz, condición que puede a su vez influenciar la extracción de otros iones. Gibson y Nobel (1986) sostuvieron que para *Opuntia ficus-indica*, así como para otras cactáceas, los altos niveles de Ca se pueden asociar con células que almacenan y secretan mucilago, que es un polisacárido fibroso adhesivo, compuesto de cerca de 30,000 subunidades de azúcar (principalmente arabinosa, galactosa, ramnosa, y gilosa, junto con ácido galacturónico). Debido a que el H^+ puede disociarse de la unidad galacturónica del mucilago, un catión Ca^{++} puede ser atraído al mucilago electrostáticamente.

De acuerdo con Nobel (1988a), la electroneutralidad también afecta las relaciones iónicas de células individuales del clorénquima de agaves y cactáceas. Así, la acumulación de Ca^{++} , concentración que puede exceder marcadamente el nivel de K en el clorénquima, presumiblemente ocurre en concierto con la acumulación del ion oxalato ($^{\sim}OOC\text{COO}^-$).

2.3 Respuesta del Nopal a la Fertilización Nitrogenada

A partir de resultados de diversos trabajos sobre fertilización, es posible establecer que el nopal, a pesar que se le ubica como una planta rústica, éste responde favorablemente a la aplicación de abonos, tanto orgánicos o químicos (Nobel *et al.*, 1987, Pimienta, 1990; Mondragón y Pimienta, 1990a; Mondragón y Pimienta 1990b; Méndez y Martínez, 1990; López y Cruz, 1990; Nerd *et al.*, 1991; Nerd y Mizrahi, 1992 y 1993; Barbera e Inglese, 1993 y Mondragón, 1994, entre otros).

En relación al nitrógeno, Nobel (1994) estableció que con frecuencia es el elemento del suelo más limitativo para el crecimiento, tanto en áreas agrícolas como en ambientes naturales, de manera que el suministro de productos inorgánicos que contienen nitratos o de estiércol casi siempre aumentan el crecimiento de nopales cultivados.

2.3.1 Estudios de campo

Para el caso particular de fertilización nitrogenada en especies del género *Opuntia*, la información de la que se dispone no es tan extensa. Sin embargo, Nobel *et al.* (1987) examinaron bajo condiciones de campo, en Kingsville, Texas y Coahuila, México, la relación del nivel de nutrimentos minerales en el suelo y la productividad de *O. engelmannii* y *O. rastrera*; reportan que el crecimiento de tales especies se correlacionaron positivamente con el nivel del N del suelo, de manera que al incrementar el N de 0 a 160 kg ha⁻¹ se incrementó el número de cladodios nuevos en un 55% en *O. engelmannii*; asimismo, encontraron que el incremento de materia seca de plantas de *Opuntia phaeacantha* y *O. rastrera* se correlacionó positivamente con los niveles de nitrógeno, así conforme se incrementó el nivel del nitrógeno de 0.05% a 0.3%, la productividad anual de materia seca de ambas especies se incrementó en 20 veces.

Méndez y Martínez (1990) al evaluar el efecto de diferentes dosis, fuentes y época de aplicación de fertilización química y orgánica sobre el rendimiento de tres formas de nopal, reportaron que el análisis estadístico no detectó un efecto significativo para la época de aplicación de N. Sin embargo, cuando éste se fraccionó, se obtuvieron rendimientos ligeramente más altos. El N interaccionó con los cultivares, encontrándose significancia en el rendimiento de éstos. Por otra parte, en este estudio se detectó un ligero aumento en el rendimiento cuando se utilizó sulfato de amonio como fuente de N con respecto a la Urea. No hubo diferencia entre el uso de estiércol de bovino y caprino, ni tampoco un efecto positivo por la aplicación de potasio.

Mondragón y Pimienta (1990a) evaluaron el efecto de la aplicación de gallinaza (3 y 6 t ha⁻¹) y N (20 y 40 kg ha⁻¹), estableciendo un testigo absoluto, sobre la recuperación de plantas afectadas por un “amarillamiento”, en un intento de generar prácticas de manejo que permitan recobrar huertas semiabandonadas. Los tratamientos los aplicaron en plantas de seis y siete años de edad de la variedad “Esmeralda”, establecidas en curvas a nivel y a una densidad de plantación de 550 plantas ha⁻¹ con mantenimiento irregular y sin antecedente de uso de estiércol ni poda. En sus conclusiones los autores establecieron que la sintomatología visual (“amarillamiento”) sugiere una deficiencia de N. El nopal tunero respondió favorablemente a la aplicación de la gallinaza y N, hubo un mayor

número de cladodios nuevos, por lo tanto mayor puntos de fructificación, con un efecto significativo en el rendimiento de fruta por planta.

En un trabajo realizado en Israel para probar el efecto de la fertilización y períodos cortos de sequía sobre *Opuntia ficus-indica*, Nerd *et al.* (1991) encontraron que el suministro continuo en el agua de riego (fertigación) de N, P y K incrementó la producción de yemas florales tanto en cosechas obtenidas en verano como las obtenidas en invierno, destacando que la producción de yemas florales se asoció con el incremento del nivel de NO_3^- en los cladodios. Estos resultados coinciden con los obtenidos por López y Cruz (1990), quienes observaron que el número total de brotes florales fue mayor al aumentar la concentración del N, siendo esto más claro en tallos de un año de edad de plantas adultas.

Nerd y Mizrahi (1992) desarrollaron otro estudio sobre tratamientos de fertilización en una plantación de ocho años de edad, con un distanciamiento de 1x4 m, sin riego y fertilizada esporádicamente; los tratamientos de fertilización fueron 0, 30, 60 y 120 kg N ha⁻¹ (N aplicado como NH_4NO_3) y una combinación de N-P-K, de 60, 20 y 35 kg, respectivamente. Los fertilizantes fueron aplicados mediante goteros vía fertigación durante varias semanas después de la cosecha de frutos del verano. Las plantas fertilizadas y no fertilizadas se regaron por igual. La brotación del otoño consistió exclusivamente en yemas florales sobre cladodios desarrollados en ese mismo año. Las yemas florales iniciaron su aparición o emergencia dos semanas después de aplicados los tratamientos y continuó por cuatro semanas. La emisión de yemas florales se incrementó marcadamente por los fertilizantes nitrogenados, mientras que el P y K no tuvieron efecto en la iniciación de yemas.

Con base en los resultados obtenidos en una serie de experimentos Nerd y Mizrahi (1993) sostuvieron que el contenido de N en los tejidos del cladodio de *O. ficus-indica* puede servir como un criterio para la aplicación de fertilizantes en el ciclo de cultivo de invierno, y agregaron que aunque en sus experimentos el P y K no afectaron la producción de yemas florales esto se pudo deber a que la brotación fue afectada por la disponibilidad de éstos y otros nutrimentos. Finalmente, los autores concluyeron que los datos obtenidos no son suficientemente concluyentes acerca de las

relaciones entre la producción de fruta y el contenido de nutrimentos en los cladodios de *O. ficus-indica*, por lo que indican que en el rango de 0.75-0.97% de N en los cladodios la productividad de la cosecha de verano es alta y que concentraciones más altas de N podrían incrementar la brotación de otoño.

González y Everitt (1990), ofrecieron información que muestra que de 1979-1981 el promedio de proteína cruda del nopal fertilizado con N fue significativamente más alto que en aquellas plantas no fertilizadas. En relación a la producción de biomasa (producción de materia seca total), cuando se comparó el testigo en tratamientos de fertilización de 224-00-00 y 224-112-00 de N, P y K se registró un incremento en la producción de materia seca del 270 y 340 %, respectivamente. Indicaron además, que la aplicación de N y P no cambiaron la composición mineral del nopal durante un período de siete años. Por su parte Gathaara *et al.* (1989) correlacionaron la producción de fruta con el contenido de N y P en los cladodios de *O. engelmannii*, reportando que las concentraciones óptimas fueron 1.16% de N y 0.115% de P, mientras que con concentraciones más altas de N el crecimiento vegetativo se incrementó y la producción de fruta decreció. Vázquez y Gallegos (1995) evaluaron la adaptación y productividad de dos cv. de nopal verdura (*O. ficus-indica* (L.) Mill.) en relación con altas dosis de estiércol, en el ambiente de Marín N. L., reportando que de los niveles de estiércol probados, la dosis de 400 t ha⁻¹ produjo un incremento significativo en la producción de nopalitos, alcanzando 200 t ha⁻¹ año⁻¹.

2.3.2 Estudios en hidroponia

El uso de la hidroponia facilita los estudios sobre nutrimentos ya que el nivel de los elementos se puede variar fácilmente, es decir se trata de soluciones balanceadas conteniendo una relación propia de todos los elementos para un óptimo crecimiento, así cualquier desviación en el crecimiento normal que sea atribuible a deficiencias o toxicidad son fácilmente detectadas.

En este contexto, en un estudio llevado a cabo bajo condiciones hidropónicas usando cladodios de siete meses de *Opuntia amyclaea*, se tenía como objetivo de conocer los síntomas visuales que presentan los tallos de nopal cuando son deficientes en uno o varios elementos

nutritivos (Cruz *et al.*, 1990). Ellos encontraron que el N es el elemento que más limitó el crecimiento y la producción de materia expresada en peso fresco. Su ausencia en la solución nutritiva fue similar al tratamiento que involucró solo agua destilada. Los tratamientos sin Mg, Fe, B, Mn, Zn, Cu, y Mo no causaron ningún efecto. Esto podría ser indicativo de que los requerimientos de estos elementos por la planta son bajos o bien que las cantidades acumuladas en los tallos pueden cubrir las necesidades por un período largo.

Nobel (1988a) concluyó que a pesar de que se requieren más investigaciones sobre la influencia del N sobre el crecimiento, se pueden hacer ciertas generalizaciones concernientes a este importante nutrimento. La primera es que la actividad metabólica es promovida cuando el contenido de N en el clorénquima es cerca del 2% en base a peso seco, lo cual coincide con otras plantas de interés agronómico. La segunda es que de todos los elementos probados en 20 especies, la absorción nocturna de CO₂ y la acumulación nocturna de ácido málico se correlaciona positivamente con el contenido de N en los tejidos. La tercera es que el crecimiento de la planta se incrementa con contenidos de alrededor de 0.1 % de N en base a peso seco del suelo.

2.4 Metabolismo del Nitrógeno

Aunque el N₂ comprende el 78% de la atmósfera, en esta forma química no es asimilable por las plantas, excepto aquellas que tienen la capacidad de llevar a cabo la fijación biológica de este elemento; a diferencia de otros nutrientes, el N no se encuentra en las rocas, de ahí que las fuentes primarias de este elemento para los ecosistemas terrestres son los iones NH₄⁺ y NO₃⁻ que están disueltos en el agua de lluvia y la fijación biológica de N que realizan los microorganismos (Binkley, 1993 y Salisbury y Ross, 1994).

Debido a que el N es constituyente de los componentes estructurales de la célula (pared celular), así como no estructurales (enzimas, clorofila y ácidos nucleicos), los requerimientos de N existen a través del desarrollo de una planta para mantener el crecimiento (Schrader, 1992). El N es

requerido para la síntesis de proteínas (16% N en base a peso seco), clorofila (6%), ácidos nucleicos (15%) y otras categorías de moléculas vitales para el funcionamiento de las plantas (Nobel, 1988a).

2.4.1 Formas de absorción de nitrógeno

El N inorgánico en general es absorbido por las plantas en forma de NO_3^- aunque en algunas circunstancias pueden asimilar iones de NH_4^+ (Mengel y Kirkby, 1987, Reporter, 1988 y Schrader, 1992). Mengel y Kirkby (1987) sostuvieron que ambas formas, NO_3^- NH_4^+ , pueden ser absorbidas y metabolizadas por las plantas, aceptando que el NO_3^- es frecuentemente la fuente preferencial para el crecimiento de la cosecha, aunque esto depende sobre la especie de la planta y otros factores ambientales. En este contexto, Salisbury y Ross (1994) indicaron que en general, las plantas cultivadas y muchas especies nativas absorben la mayor parte del N en forma de NO_3^- , debido a que el NH_4^+ es oxidado a NO_3^- con mucha rapidez por bacterias nitrificantes, reconociendo, sin embargo, que comunidades climax de coníferas y pastos absorben casi todo el N en forma de NH_4^+ debido a que la nitrificación es inhibida por un pH bajo del suelo o por taninos y compuestos fenólicos.

Hageman (1992) después de realizar un análisis del efecto de las formas del N sobre al crecimiento de las plantas, indicó que la nutrición con NH_4^+ requiere de menos energía (162 000 cal mol^{-1}) en tejidos u órganos no clorofílicos. En órganos verdes (principalmente hojas), la asimilación de NO_3^- no es más costosa en términos de carbohidratos de reserva. Además, la nutrición con NO_3^- presenta cuatro ventajas en relación al NH_4^+ : a) el nitrato no es tóxico y puede ser almacenado para su uso posterior en varios órganos sin daño aparente; b) la asimilación de NO_3^- es coordinada y regulada por el metabolismo del carbono, en la medida que la reducción del NO_3^- requiere de NADH; c) la iniciación de la asimilación del nitrato es catalizada por la enzima nitrato reductasa, la cual es más sensitiva que muchas enzimas de la planta, incluyendo aquellas de aparatos fotosintéticos; d) en las hojas, el NO_3^- es asimilado mas lentamente en la obscuridad que en la luz, y en algunas especies el nitrato no es asimilado en la obscuridad bajo ciertas condiciones; y e) hay un mejor balance ionico (cationes vs aniones) debido a que no tienen que intervenir aniones orgánicos.

Por otra parte, los iones del NH_4^+ en el suelo pueden verse involucrados en cinco procesos posibles: la inmovilización en la biomasa microbiana, la absorción por las plantas, la adsorción en las partículas del suelo con carga negativa, la lixiviación del suelo, o bien la oxidación hasta nitrato (Binkley, 1993). Mengel y Kirkby (1987) sugirieron que el NH_4^+ es fuertemente absorbido por arcillas minerales, cargadas negativamente debido a sus propiedades catiónicas, tales como illita, vermiculita y montmorillonita (2:1), contra el NO_3^- , el cual es más bien móvil en el suelo y difícilmente adsorbido por las partículas del suelo. A este proceso se le denomina fijación del NH_4^+ .

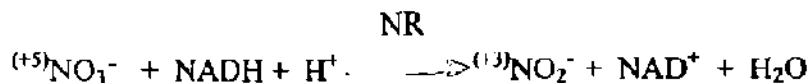
Del análisis anterior, Hageman (1992) concluyó que, dados los resultados obtenidos a la fecha, parecería que “no existe nada nuevo bajo el sol” y que las conclusiones logradas por Arnon en 1937 hoy día parecen ser igualmente válidas, en el sentido que cualquiera de los dos, NO_3^- o NH_4^+ , pueden servir como una fuente adecuada de nitrógeno para el crecimiento y productividad de la planta, pero que las sales de NO_3^- son consideradas como la “caja de caudales” para la producción de plantas. Sin embargo, existen excepciones para este enunciado, ya que la fuente preferencial para el crecimiento de la cosecha depende de la especie de la planta y otros factores ambientales como temperatura y humedad. En este contexto, Griffith y Streeter (1994) reportaron que bajo temperaturas frías y condiciones de suelo húmedo (con frecuencia inundados), el NH_4^+ es la forma nitrogenada más importante para el crecimiento y desarrollo del ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam. cv. Surrey).

2.4.2 Reducción asimilatoria del nitrógeno

El NO_3^- , antes de combinarse con compuestos de carbono para formar los diversos componentes nitrogenados de la célula, debe ser convertido en NH_3 . El proceso es conocido como *reducción asimilatoria del nitrato* y consiste básicamente en dos pasos, la reducción de NO_3^- a NO_2^- y la otra reducción de NO_2^- a NH_3 . La asimilación de N- NO_3^- dentro de los aminoácidos incluyen tres procesos reductivos y un proceso no reductivo, en convertir el N- NO_3^- a N-amino. Las cuatro enzimas involucradas son Nitrato Reductasa (NR), Nitrito Reductasa (NiR), Glutamina Sintetasa (GS) y la Glutamato Sintasa (GOGAT) (Epstein, 1972, Mengel y Kirkby, 1987; Lea, 1988, Hageman, 1992, Schrader, 1992 y Salisbury y Ross, 1994).

2.4.2.1 Proceso de la reducción de nitrato

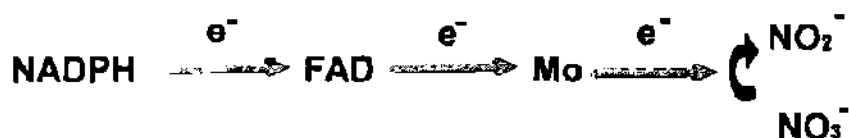
La reducción del NO_3^- se efectúa en dos reacciones distintas catalizadas por enzimas diferentes. La primera reacción es catalizada por la nitrato reductasa (NR), una enzima que transfiere dos electrones procedentes de la nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), aunque algunas especies como soya, maíz, cebada y arroz, poseen además una NR que opera tanto con NADH como con la nicotinamida adenina dinucleotido fosfato reducida (NADPH) (Maldonado, 1993). Los productos de dicha reacción son nitrito (NO_2^-), nicotinamida adenina dinucleótido oxidada (NAD^+) y H_2O , y el número de oxidación del N cambia de +5 a +3, tal y como se muestra en la ecuación siguiente (Salisbury y Ross, 1994):



Esta reacción se efectúa en el citosol, fuera de cualquier organelo. La NR es una proteína de masa molecular entre 200 y 400 kDa, constituida por dos subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene una molécula de FAD (flavín adenín-dinucleótido), hierro en un grupo prostético hemo (citocromo *b₅₅₇*) y un átomo de molibdeno integrado al denominado cofactor de molibdeno (MoCo) (Maldonado, 1993), todo lo cual se oxida y se reduce de manera consecutiva a medida que se transportan los electrones del NADH al átomo del N- NO_3^- (Salisbury y Ross, 1994).

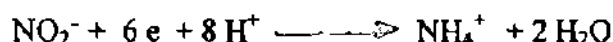
Algunos estudios han mostrado que la actividad de la nitrato reductasa (ANR) es inducida por la concentración del ion NO_3^- en el suelo o en la solución nutritiva (Nerd y Nobel, 1995). Oaks y Hirel (1985) reportaron que con el suministro de NO_3^- se promueve un incremento tanto en la ANR, como en la cantidad de la proteína (enzima) nitrato reductasa. La luz, a través del fotoreceptor fitocromo, tiene también un marcado efecto positivo sobre la inducción de las enzimas NR y NiR; la luz estimula la acumulación de transcritos de NR y NiR únicamente cuando el NO_3^- se halla presente, por lo cual se ha sugerido que el es el verdadero inductor, mientras que la luz, a través del fitocromo activo (Pfr), actúa modulando positivamente la transcripción génica inducida por el NO_3^- (Maldonado, 1993).

La reducción de NO_3^- por las plantas está influenciado por la nutrición mineral y en particular por Mo. Cuando Mo es deficiente, la acumulación de nitratos toma lugar y el contenido de compuestos amino N soluble son deprimidos a causa de la carencia de NH_3 disponible para la síntesis de aminoácidos. Mn puede también afectar directamente la asimilación del NO_3^- , el cual es esencial en el fotosistema II (Mengel y Kirkby, 1987). Lehninger (1977) presentó la ecuación siguiente:

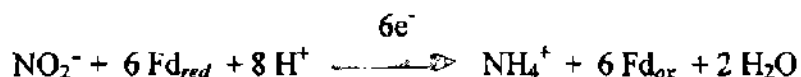


2.4.2.2 Reducción de nitrito a iones amonio

La segunda reacción del proceso global de la reducción del NO_3^- implica la reducción de NO_2^- a NH_4^+ . Debido a que a niveles altos es tóxico, el NO_2^- que se origina en el citosol por la acción de la NR es rápidamente transportado a cloroplastos en las hojas o a los proplastidios en tejidos no verdes de las raíces (Bidwell, 1979, Emes y Fowler, 1979, Taiz y Zeiger, 1991 y Salisbury y Ross, 1994). Cada tipo de plastidio tiene su propia Nitrito Reductasa asimilatoria; los cloroplastos contienen una ferredoxin-nitrito reductasa, mientras que los proplastidios contienen una actividad NAD(P)H-nitrito reductasa, ambas enzimas catalizan los seis electrones en la reducción de nitrito a amonio con la reacción total (Taiz y Zeiger, 1991)



La ferredoxina (Fd) es el donador de electrones, o fuente de poder reductor, en tejidos fotosintéticos, tal como se muestra en la reacción siguiente:



donde los sufijos *red* y *ox* indican el estado de reducción y oxidación, respectivamente.

Si bien es cierto que la ferredoxina reducida es el donador normal de electrones para la nitrato reductasa en hojas, en opinión de Salisbury y Ross (1994), la sustancia reductora en raíces aún no se conoce con certeza. Sin embargo, la idea más generalizada al respecto, establece que en los tejidos no verdes utilizan el NADH o NADPH suministrados por la respiración como donadores de electrones en la reducción del NO_2^- (Mengel y Kirkby, 1987 y Taiz y Zeiger, 1991):



En este caso, la ferredoxina reducida proporcionará electrones para las nitrato reductasas aisladas en las raíces, pero ni los proplastidios ni otras partes de las células radicales contienen cantidades detectables de ferredoxina. Aunque aún no se tiene seguridad sobre la manera en que las raíces reducen NO_2^- a NH_4^+ , resulta claro que se necesita un aporte de carbohidratos de las hojas y que la mayoría de las reducciones se efectúan en los proplastidios (Salisbury y Ross, 1994). Además, hay evidencia indirecta de que el NADPH derivado de la ruta respiratoria de los fosfatos de pentosa es la sustancia reductora activa.

Un aspecto sorprendente es que la nitrato reductasa (NiR) también es inducible por la concentración de NO_3^- ; un trabajo de Aslam y Huffaker (citado por Salisbury y Ross, 1994) demostró que al agregar NO_3^- y NO_2^- a la solución nutritiva se indujo tanto la NR como la NiR en hojas de plantas de cebada, concluyendo, no obstante, que los experimentos indicaron que el ion activo es el NO_3^- y que, para ser funcional, el NO_2^- primero tiene que oxidarse a NO_3^- .

2.4.3 Localización de la asimilación de nitratos

El N absorbido por las raíces es removilizado en el xilema a las partes superiores de la planta. La forma en el cual el N es removilizado depende de la fuente de N absorbida y del metabolismo de la raíz. De acuerdo a Novoa y Loomis (1981) casi todo el N- NH_4 absorbido es asimilado en el tejido de la raíz y redistribuido como aminoácidos, en tanto el N- NO_3 puede ser removilizado en forma inalterada a la parte aérea (tallos, hojas) pero esto depende del potencial de reducción del NO_3^- de la raíz, lo cual difiere entre especies.

Los sitios de reducción del NO_3^- difieren entre especies de plantas. A diferencia del NH_4^+ , el NO_3^- no es tóxico para las plantas e incluso puede ser transportado hasta las hojas antes de su reducción (Novoa y Loomis, 1981, Hageman, 1992 y Binkley, 1993). Muchas especies de plantas son capaces de reducir NO_3^- tanto en la raíz como en la parte superior de la planta. Pate (1973) indicó que en cereales se reduce el NO_3^- , tanto en la raíz como en las hojas, mientras especies de los géneros *Vicia*, *Pisum*, *Phaseolus* y *Lupinus* muestran una mayor actividad de la nitrato reductasa en la raíz. En plantas de tomate, por ejemplo, entre el 80-90% del N en la savia del xilema esta presente en forma de N- NO_3 (Lorenz, 1976), así que la reducción podría tener lugar en las porciones verdes de las plantas.

De acuerdo con Peña (1989), el sitio de reducción de los nitratos es de gran importancia para el adecuado balance iónico en el proceso asimilatorio. Cuando la asimilación del nitrato ocurre en la parte aérea, la translación de cationes desde la raíz hacia arriba es cuantitativamente más importante, porque cada NO_3^- reducido debe ser acompañado por un catión inorgánico, para unirse al anión orgánico producido después de la reducción del NO_3^- (Kirkby y Knight, 1977). De esta manera, los iones NO_3^- y K^+ son tomados en grandes cantidades por la raíz y luego translocados vía xilema hacia la parte aérea, en donde el nitrato es reducido por los sistemas enzimáticos de la nitrato reductasa y nitrito reductasa. Cuando el NO_3^- es asimilado en la raíz, los tejidos meristemáticos de las partes altas de la planta son suministrados con nitrógeno principalmente en forma de compuestos; el exceso de OH^- generado por la reducción de NO_3^- en la raíz, puede ser parcialmente excretado a la solución del suelo o parcialmente neutralizado por algún regulador bioquímico del pH amino (Kirkby y Knight, 1977).

2.4.4 Asimilación del amonio

Una vez efectuada la reducción del NO_2^- , el amonio es asimilado en el cloroplasto de las hojas, en el cual el ATP y la ferredoxina reducida son generados a partir de la energía radiante, por lo que puede decirse que la asimilación del amoniaco es un verdadero proceso fotosintético (Lea, 1988).

Efectivamente, el ión NH_4^+ es la forma final en que el N es asimilado por las plantas. El NH_4^+ se genera no sólo en la reducción del NO_3^- sino también en otros procesos metabólicos como la fotorespiración, el catabolismo de las proteínas o la fijación del nitrógeno molecular; dicho NH_4^+ es asimilado inicialmente en forma de glutamina, misma que es utilizada para la síntesis de otros aminoácidos o bien como metabolito transportador de N a larga distancia (Maldonado, 1993). Por su parte Lea (1988) señaló que el NH_4^+ es tóxico para todos los organismos vivos, por lo que Salisbury y Ross (1994) indicaron que independientemente del origen, el NH_4^+ no se acumula en ningún sitio del vegetal.

La incorporación del NH_4^+ dentro de los aminoácidos ocurre por dos vías: una catalizada por la enzima glutamato dehidrogenasa (GDH), y otra asociada con la actividad de la glutamina sintetasa (GS) y glutamato sintasa (GOGAT); evidencias experimentales recientes han demostrado que la vía GS-GOGAT es la principal senda de asimilación del (Amâncio y Santos, 1992), y ocurre mediante dos reacciones consecutivas (Figura 1):

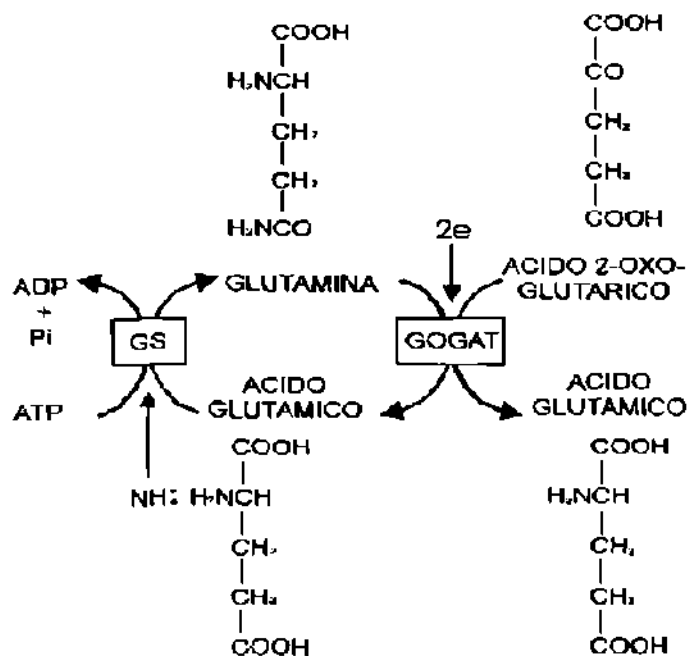
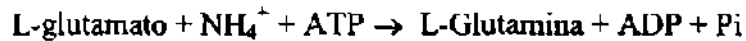


Figura 1. Asimilación del NH_4^+ , vía glutamina sintetasa-glutamato sintasa (Maldonado, 1993).

1. En primer lugar, el NH_4^+ es incorporado en una molécula de glutamato formándose glutamina. Dicha reacción que consume una molécula de ATP, es catalizada por la enzima glutamina sintetasa (GS):



2. A continuación la enzima glutamato sintasa (GOGAT: glutamina: 2-oxoglutarato amido-transferasa) cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina del C-2 del 2-oxoglutarato, produciéndose dos moléculas de glutamato:



En la figura anterior se aprecia que, de las dos moléculas de glutamato formadas en la segunda reacción, una de ellas es reciclada para incorporar una nueva molécula de NH_4^+ . La síntesis neta de una molécula de glutamato mediante la vía GS-GOGAT consume un ATP y dos electrones (Maldonado, 1993).

La glutamina sintetasa (GS) de plantas superiores tienen una masa molecular entre 320 y 360 kDa, y está constituida por ocho subunidades de 38 a 45 kDa. La enzima se presenta bajo diferentes isoformas que difieren entre sí en el tipo o tipos de subunidades que las integran (Maldonado, 1993). De acuerdo con el mismo autor, en las hojas existen dos isoformas, denominadas GS_1 y GS_2 , que se localizan en el citosol y en los cloroplastos, respectivamente. La función de la isoforma GS_2 es la asimilación de NH_4^+ producido en la reducción del NO_2^- , así como la reasimilación del NH_4^+ liberado durante la fotorrespiración, en tanto que la GS_1 parece que está especialmente involucrada en la síntesis de glutamina en tejidos no fotosintéticos y en hojas senescentes para su posterior transporte a otros órganos de la planta (Maldonado, 1993).

2.4.5 Empleo de relaciones nitrato:amonio

Existen reportes que indican que es posible obtener mayores producciones cuando ambas fuentes nitrogenadas se suministran en relaciones $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ adecuadas (Hageman, 1992). Osaki

et al. (1995), al evaluar el efecto de N-NO₃, N-NH₄ y N-NH₄NO₃ en papa (*Solanum tuberosum* L.), reportaron que el total de materia seca (g) de plantas a los 57 días después de la plantación fue en el orden N-NH₄NO₃ (36.7) > N-NH₄ (32.8) > N-NO₃ (30.9). De acuerdo con Sandoval (1991), en el cultivo del trigo, es posible obtener una mayor producción de grano y de materia seca cuando se emplea NH₄⁺ en relaciones menores o iguales a 50% de la cantidad de N que cuando la planta es suministrada exclusivamente con NO₃⁻. Una respuesta similar ha sido reportada por Jingquan y Dewei (1988) en plantas de tomate.

También existen reportes sobre los efectos de N-NO₃ y N-NH₄, solos o en combinación, y ha sido bien documentado que una proporción óptima de NH₄:NO₃ favorece el crecimiento de la planta de tomate, mientras que una absorción y acumulación excesivas de NH₄⁺ puede causar toxicidad, evidenciada por una concentración baja de Ca y Mg en el tejido de la planta (Jingquan y Dewei, 1988).

Otros resultados obtenidos de un trabajo en plántulas de maíz, indicaron (Botella *et al.*, 1993) que el crecimiento de la planta fue poco afectado por las relaciones NH₄:NO₃, aunque se observó un crecimiento ligeramente mayor cuando ambas formas nitrogenadas estuvieron presentes en la solución nutritiva, que cuando el NH₄⁺ o el NO₃⁻ estuvieron como fuentes de N individuales; asimismo, los autores reportaron que el contenido de proteína en el tallo se redujo fuertemente cuando el NO₃⁻ estuvo presente en una alta proporción como fuente de N, registrándose los valores más bajos cuando el N se suministró totalmente como NO₃⁻, en tanto que la actividad de la nitrato reductasa, localizada principalmente en la parte aérea, tuvo un comportamiento inverso puesto que se incrementó conforme la concentración de NO₃⁻ en la solución fue mayor.

2.5 El Metabolismo Fotosintético en Plantas del Género *Opuntia*

2.5.1 Las sendas fotosintéticas

La vida de la planta en una forma u otra se le puede localizar en todos los ambientes naturales que existen en la tierra. Considerando las restricciones impuestas por diferentes habitats como la tundra ártica, el extremoso desierto y la sombreada y húmeda selva tropical, en todos ellos

existe una gran diversidad de plantas con la habilidad de sobrevivir y reproducirse, debido a que ellas son en si mismas funcionalmente diferentes y genéticamente adaptadas a las condiciones que prevalecen en sus respectivos hábitats. Según Björkman y Berry (1973) muchas de sus adaptaciones evolutivas están sutilmente relacionadas a las interacciones de las plantas con varios componentes del ambiente biológico, agregando que otras adaptaciones evolutivas están relacionadas a aspectos del ambiente físico, tales como temperatura, suministro de agua e intensidad de luz.

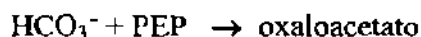
Estas adaptaciones involucran varios procesos del crecimiento de la planta, considerándose la fotosíntesis como el proceso fundamental. La tasa de algunas reacciones fotosintéticas dependen de la intensidad y calidad de luz, las tasas de otras reacciones son principalmente influenciadas por temperatura, y las razones de otras se relacionan a la cantidad de CO₂ en el aire. Como un resultado del proceso total de la fotosíntesis, éste es fuertemente afectado por el ambiente físico, quizá más que cualquier otro proceso del crecimiento, por lo que la productividad de una planta bajo estrés ambiental depende de su eficiencia fotosintética.

En general, en el reino vegetal se han identificado tres sendas principales del metabolismo fotosintético (fijación del CO₂): C₃, C₄ y CAM. De acuerdo con Nobel (1988a), las plantas que presentan estos mecanismos abren y cierran sus estomas a diferentes tiempos, usan dos diferentes enzimas para la fijación inicial del CO₂ y tienen diferentes patrones en la absorción neta de CO₂.

C₃. Alrededor del 93% de las 300,000 especies de plantas son C₃, y usan la senda fotosintética C₃ para fijar carbono. Esta senda es denominada con frecuencia Ciclo de Calvin. En las plantas C₃, las moléculas de CO₂ reaccionan con la ribulosa 1, 5 difosfato; esta reacción es catalizada por la enzima Ribulosa 1, 5 difosfato carboxilasa - oxigenasa (Rubisco) formando el primer producto estable de 3 carbonos llamado ácido fosfoglicérico (Mengel y Kirkby, 1987 y Nobel, 1988a).

C₄. Datos experimentales para algunas plantas no se ajustan a las predicciones del ciclo de Calvin. Específicamente, algunas veces los compuestos de cuatro carbonos, malato y aspartato fueron entre los primeros compuestos radiactivos producidos en la luz. Estos productos se forman

en las plantas C₄ con el uso de la senda denominada de esa forma, C₄. Sólo alrededor del 1% de todas las plantas usan la senda C₄, aunque se incluyen especies de importancia agronómica como el maíz, sorgo y la caña de azúcar. La enzima responsable de la fijación inicial de CO₂ en la senda C₄ es la PEPCasa (fosfoenolpiruvato carboxilasa), que cataliza la siguiente reacción:



Donde PEP es el fosfoenolpiruvato, un compuesto de tres carbonos y el oxaloacetato contiene cuatro átomos de carbono. El oxaloacetato se convierte en unos segundos a malato o a aspartato.

CAM. La tercer senda involucrada en la fijación del CO₂ en plantas, es la senda CAM (el metabolismo de los ácidos dicarboxílicos de las crasuláceas), la cual se presenta en alrededor de 6% de las especies vegetales. Según Salisbury y Ross (1994) el metabolismo CAM se ha encontrado en cientos de especies en 26 familias (incluyendo las bien conocidas Cactaceae, Orchidaceae, Bromilaceae, Liliaceae y Euphorbiaceae). Por su parte Nobel (1994) indicó que las plantas CAM incluyen a la agronómicamente importante piña, suculentas de las áreas áridas y semiáridas y las epífitas tropicales, que viven sin parasitar sobre otras plantas, como lo hacen la mayoría de las orquídeas. Esta senda, que incluye aspectos de las dos sendas C₃ y C₄, mencionadas, ocurre en magueyes y en alrededor del 98% de los cactus (todos excepto las especies con hoja en el género *Pereskia* y en otros pocos géneros).

En cuanto al proceso evolutivo, algunos estudios, utilizando ¹³C, han brindado evidencias (estudio de fósiles) que sugieren que en tiempos primitivos las plantas asimilaban el CO₂ casi exclusivamente por fotosíntesis C₃, revelando además que las plantas CAM fueron relativamente inexistentes y aun en la actualidad tienen solo una contribución significativa en la flora de regiones áridas (Osmond, 1978). De hecho los datos taxonómicos y paleobotánicos actuales siguen ofreciendo pocas revelaciones dentro de los orígenes y significancia funcional del CAM, por lo que puede considerarse que la distribución geográfica actual es mucho más útil para ayudar a entender tales cuestiones. Sobre estas bases se sabe que las plantas CAM son relativamente más abundantes en los ambientes más áridos; ellas comprenden el 25 % de la cubierta vegetal en el desierto de Chile

y Baja California, ocupando los sitios más áridos capaces de sostener plantas superiores (Osmond, 1978).

2.5.2 El proceso de absorción de CO₂ por las plantas del género *Opuntia*

La toma de CO₂ por las plantas CAM se da principalmente durante la noche, y el CO₂ tomado se fija inicialmente por la PEPCase en el citosol de las células del clorénquima (Figura 2). El malato resultante u otro ácido orgánico de cuatro carbonos, es transportado a una *vacuola* central grande. Las vacuolas son cavidades que ocupan, algunas veces, cuando menos 90% del volúmen celular y generalmente contienen agua y pequeñas cantidades de solutos. El transporte de malato a la vacuola durante la noche, es un proceso que requiere energía, que conduce progresivamente a un nivel más ácido durante la noche en las plantas CAM (Ting, 1985 y Nobel, 1988a y 1994).

Al iniciarse el alba del día siguiente, la luz estimula la senda fotosintética C₃ (Figura 2) en los cloroplastos de las plantas CAM, al igual que ocurre en las plantas C₃ y C₄. Cerca del mediodía los estomas de los tallos de los cactus se cierran y el intercambio gaseoso con el ambiente se suspende o es muy bajo, debido solo al intercambio a través de la cutícula, así el intercambio es comúnmente negativo (hacia afuera) indicando que el nivel de CO₂ es entonces más alto en el clorénquima que en la atmósfera (Nobel, 1988a); Este nivel alto de CO₂ en el clorénquima refleja la descarboxilación continua de malato (Ting, 1985). De esta manera, la fuente sustantiva de CO₂ para las plantas CAM durante el día proviene de la descarboxilación del malato y de otros ácidos orgánicos que se acumulan en las vacuolas durante la noche previa.

Este malato acumulado se difunde hacia afuera de la vacuola durante el día, y el CO₂ liberado internamente por descarboxilación, es fijado por la enzima Rubisco en los cloroplastos, lo que conduce a los productos fotosintéticos. A medida que continúa la fotosíntesis, se difunde más malato de las vacuolas que se descarboxila, y provee CO₂ adicional a la Rubisco. En un período de horas, la acidez del clorénquima disminuye y los productos fotosintéticos se acumulan. Debido a que estos procesos no requieren de CO₂ adicional de la atmósfera, los estomas de plantas CAM pueden permanecer cerrados durante el día (Nobel, 1988a).

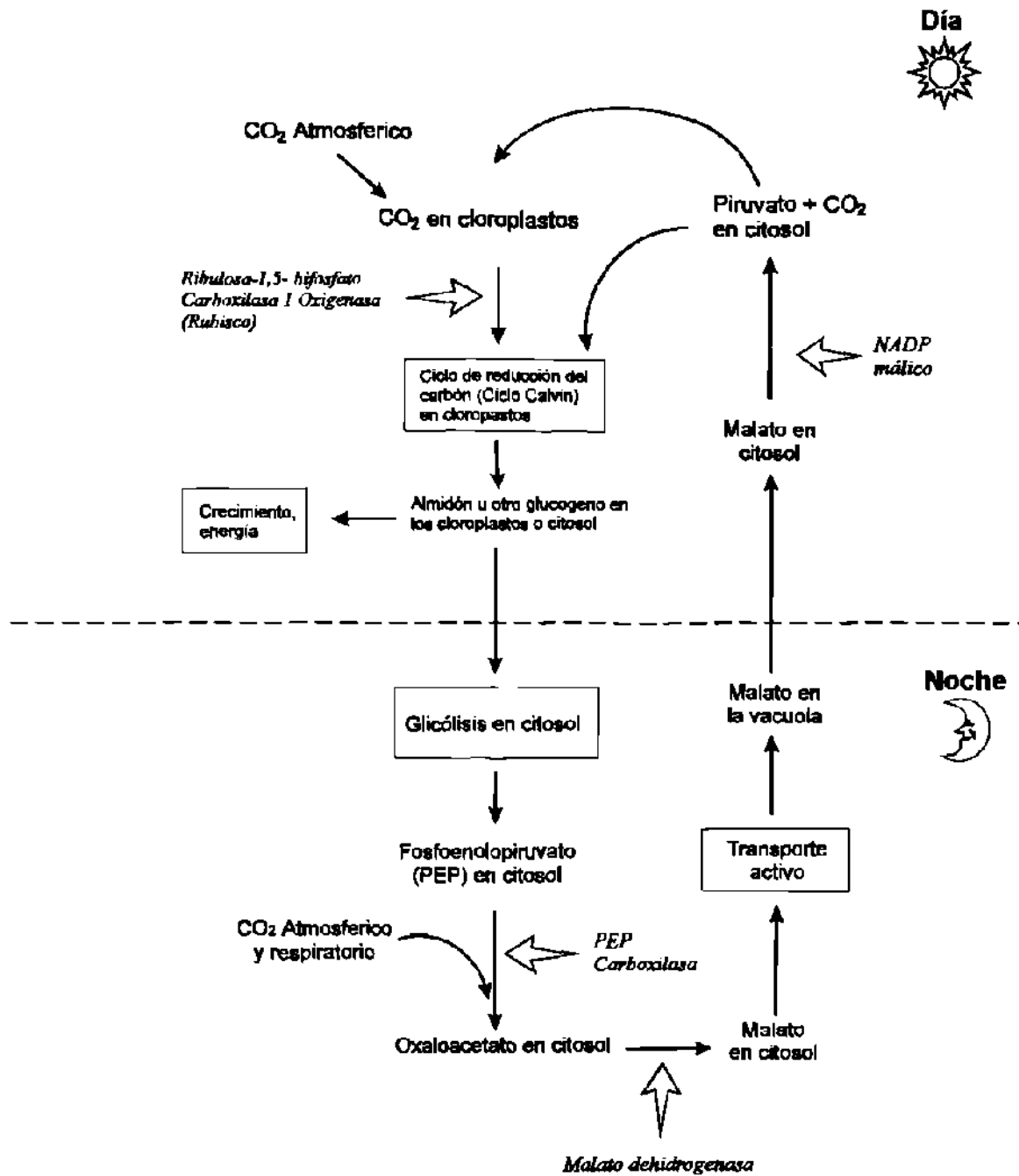


Figura. 2 Resumen de ciertos eventos bioquímicos más probables a ocurrir en agaves y cactus. Los ciclos bioquímicos o procesos son indicados en cajas y las enzimas involucradas son indicadas en cursivas. Adaptado de: Nobel (1988 a).

Las temperaturas diurnas más altas conducirían a una mayor pérdida de agua a través de los estomas abiertos, respecto a la que se da en la noche. Así, la apertura estomática nocturna y su cierre durante el día es crucial para la conservación de agua por las plantas CAM, por lo que de acuerdo con Ting (1985) es incuestionable que la senda CAM es una secuencia metabólica relacionada con la adaptación al ambiente árido.

Salisbury y Ross (1994) indicaron que aun cuando la capacidad de una planta de realizar el metabolismo CAM está genéticamente determinada, su control también es ambiental. Ortiz (1995) hizo referencia de los reportes de varios autores, indicando que existen evidencias actuales respecto a las plantas CAM que sugieren que éstas tienen un sistema metabólico flexible, cuya operación es muy sensible a parámetros ambientales como fotoperíodo, termoperíodo, concentración de CO₂ y O₂, humedad del suelo, salinidad y humedad relativa. Dentro de estos factores físicos, Nobel (1988b) señaló que el estatus del agua del suelo, temperatura y radiación fotosintéticamente activa son los de mayor influencia en la absorción neta de CO₂.

Ting (1985), identifica dos modalidades principales para el metabolismo CAM: “CAM cíclica” (“CAM-cycling”) y “CAM reducida” (“CAM-idling”).

La primera, “CAM cíclica”, es caracterizada por cambiar parcial o totalmente su patrón o modelo de absorción de CO₂ durante el día, este mecanismo se presenta cuando las plantas CAM tienen un buen suministro de agua; casi siempre las plantas CAM son plantas C₃ facultativas, cambian hacia una mayor tasa de fijación de CO₂, mediante una senda fotosintética tipo C₃ después de una lluvia con luz diurna o cuando las temperaturas son elevadas, en tal caso los estomas permanecen abiertos por un tiempo mayor durante la horas con luz (Salisbury y Ross, 1994), considerando que este proceso de cambio de metabolismo sugiere que la evolución hacia el CAM es inducido sólo por estrés hídrico.

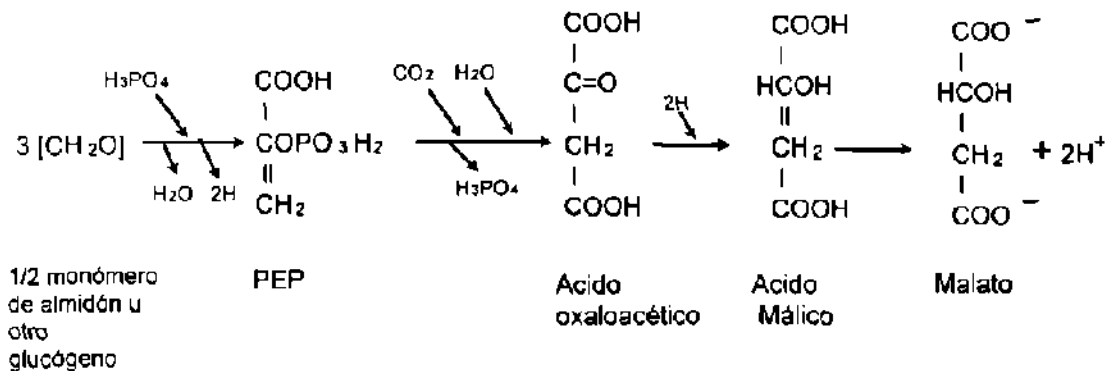
Las “CAM reducida” a su vez, se caracterizan por el cierre completo de estomas durante el día y noche, con reciclamiento interno de CO₂ obtenido de la respiración, para evitar la pérdida de agua por transpiración, siendo un mecanismo registrado cuando existe un estrés hídrico severo

(Ting, 1985). En relación a este tipo de plantas, Salisbury y Ross (1994) sostuvieron que algunas especies (en especial cactus) pueden permanecer en condiciones de sequía, con los estomas cerrados por semanas, sin ganar ni perder mucho CO₂, aunque aun haciendo uso de cierta energía luminosa para fotofosforilar durante las horas luz. Osmond (1978) ubicó las especies del género *Opuntia* como plantas CAM obligadas o típicas, lo cual se fundamenta en que este tipo de plantas no cambian su metabolismo fotosintético en respuesta a la aplicación de agua de lluvia o de riego.

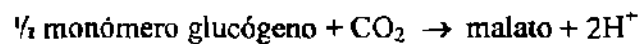
2.5.3 Acumulación Nocturna de Acido

Para ayudar a entender porque la absorción nocturna de CO₂ y los cambios de acidez del tejido están estrechamente relacionados, se puede requerir a la consideración de la estructura química del malato y su estequiometría de su participación en las reacciones químicas de las plantas CAM.

Tales reacciones se pueden resumir como sigue (Nobel, 1988a):



o en forma simplificada:



Esta ecuación indica claramente que por cada molécula de CO₂ fijada por una planta CAM se produce una molécula de malato y se liberan dos iones de hidrógeno. El incremento masivo de malato y otros ácidos orgánicos durante la noche es acompañado por incrementos de H⁺ y por tanto una reducción del pH del tejido (Nobel, 1988a).

Más útil que la medición de la reducción del pH que ocurre en la noche es la información que se puede obtener igualando el pH a un valor específico por titulación con una base, tales como el KOH o el NaOH. La utilidad de conocer la acumulación nocturna de ácido, es que su medición al amanecer y al atardecer pueden indicar el incremento nocturno de malato y por tanto el CO₂ fijado durante la noche, lo cual ha sido estudiado en tallos jóvenes de *Opuntia ficus-indica* por Nobel (1988a), Rodríguez y Cantwell (1988), Cantwell *et al.* (1991), Cantwell (1991) y Cantwell (1994).

En un trabajo sobre 11 especies de cactáceas, se determinó la relación entre la concentración de 10 nutrientes minerales en el clorénquima y la máxima cantidad de acumulación nocturna de ácido (como indicador de extracción de CO₂) encontrándose una correlación positiva y la mayor significancia entre el nivel más alto de N en el tejido y el valor más alto de la acumulación nocturna de ácido para las 11 especies examinadas (Nobel, 1983).

Los resultados de estos trabajos sugieren que un adecuado suministro y contenido de N en los tejidos fotosintéticos de tales especies conducen a incrementar la absorción de CO₂. Sin embargo, es claro que los trabajos antes referidos (Nobel, 1983, Nobel y Berry, 1985, Nobel y Hartsock, 1986 y Nobel *et al.*, 1987) tuvieron un enfoque tendiente a determinar la concentración mineral para su uso como indicador de deficiencia o concentración óptima para la productividad de biomasa y fruta, de ahí la conclusión de que existe un conocimiento pequeño sobre el papel de los minerales, sobre todo en los procesos fisiológicos del nopal (*Opuntia spp*).

2.5.4 Productividad de las plantas CAM

Además de la diferencia en la enzima que fija inicialmente el CO₂, las tres sendas fotosintéticas presentan otras características distintivas; en el Cuadro 4 se resume la información

disponible sobre algunas características sobresalientes, tales como la ubicación celular en que se da la fijación del CO₂, el patrón de intercambio de CO₂ para cultivos bajo condiciones óptimas, así como las productividades máximas anuales de materia seca de varios grupos de plantas.

Cuadro 4. Toma de CO₂ por las plantas, características de las tres sendas fotosintéticas (preparado con base en los reportes de Nobel, 1988a; 1994 y 1995).

Senda	Enzima involucrada	Ubicación celular en que se efectúa la fijación.	Tasa máxima de toma neta de CO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Productividad anual (peso seco) (t ha ⁻¹ año ⁻¹)
C ₃	Rubisco	Cloroplastos de células del clorénquima.	40	35 (anuales) y 39 (arboles)
C ₄	PEPCasa	Inicia con la PEPCasa en el citosol de las células del clorénquima, para entregar CO ₂ a los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular.	50	49 (Cultivos: maíz, sorgo, caña de azúcar, y varios pastos).
CAM	PEPCasa (Noche)	Citosol de las células del clorénquima.	34 (<i>A. mapisaga</i>)	45-50 (<i>O. ficus-indica</i> <i>O. amyntelea</i>)
		El malato resultante es transportado a una gran vacuola central.	20 (<i>O. ficus-ndica</i>)	35 (Otras CAM)
	Rubisco (día)	Cloroplastos de células del clorénquima.		

Cuando se pone atención al espaciamiento adecuado y otras prácticas de manejo (disponibilidad de humedad, índice térmico, etc), la productividad anual de alguna plantas CAM puede ser extraordinariamente alta. La productividad anual de *O. ficus-indica*, en Coahuila, México, puede promediar hasta 40 t de materia seca ha⁻¹ año⁻¹ y cerca de Santiago de Chile y en Milpa Alta, México pueden aún producir 50 t de materia seca ha⁻¹ año⁻¹. Estas productividades se obtuvieron cuando el espaciamiento y la disponibilidad de agua estuvieron cerca del óptimo, encontrándose

entonces que el peso seco fue únicamente el 7% del peso fresco para *O. ficus-indica*, por lo que su productividad en peso fresco fue de cerca de 700 t ha⁻¹ año⁻¹ (Nobel, 1994 y 1995).

Las productividades anteriores pueden explicarse si se parte del reconocimiento que estas plantas tienen una eficiencia de uso del agua de alrededor de seis y tres veces mayor que la correspondiente a las plantas C₃ y C₄, respectivamente (Nobel, 1994), de ahí que este concepto de eficiencia de uso de agua también juega un papel importante en la evaluación de la productividad para regiones donde la disponibilidad de humedad en el suelo limita el crecimiento.

3 MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se desarrolló en las instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, sita en Marín, N. L., y en las Áreas de Manejo de Agua y Suelos Salinos y de Nutrición Vegetal, de los Programas de Hidrociencias y Edafología, respectivamente, del Colegio de Postgraduados.

El estudio comprendió dos experimentos secuenciados. A continuación se describen por separado los materiales y métodos específicos empleados en cada uno de ellos

3.1 Experimento 1

El objetivo de este experimento fue estudiar la cinética de absorción del nitrógeno en función de la fuente nitrogenada al medio nutritivo. Adicionalmente, se determinó la producción de materia seca de raíces y tallos y se midieron los cambios registrados del pH de las soluciones nutritivas.

3.1.1 Tratamientos

Con base en el objetivo postulado, los tratamientos evaluados fueron: $\tau_1 = \text{N-NO}_3$ y $\tau_2 = \text{N-NH}_4$, como fuentes de nitrógeno. Por consiguiente el experimento se diseñó para evaluar dos fuentes de nitrógeno. Se empleó un diseño experimental de bloques al azar, con siete repeticiones. La unidad experimental estuvo representada por una planta.

3.1.2 Material vegetal empleado

El material vegetal empleado corresponde a la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, la cual puede ser considerada como una forma inerte de la serie *Streptacanthae*, reportándose que pueden ser hexaploides (n=66), heptaploides (n=77) u octaploides (n=88) (Scheinvar, 1995).

Bravo-Hollis (1978) describió a esta especie como plantas *arborescentes*, de 3 a 5 m de alto o más. Tronco leñoso bien definido de 60 cm a 1.5 m de altura y 20 a 30 cm de diámetro. *Artículos* oblongos hasta largamente abovados, de 30 a 60 cm de largo y 20 a 40 cm de ancho y 1.9 a 2.8 cm de grueso, color verde opaco; integran ramas de varios artículos que forman una copa muy ramosa. *Areolas* distantes separadas entre sí entre 2 a 5 cm, pequeñas, angostamente elípticas de 2 a 4.5 cm de largo, 3 mm de ancho. *Espinas* casi siempre ausentes, cuando existen son escasas y pequeñas; glóquidas más o menos numerosas, amarillas caducas. *Flores* de 7 a 10 cm de diámetro y como de 6 a 8 cm de largo; segmentos exteriores del perianto ovados hasta ampliamente cuneados, abovados, agudos hasta truncados, enteros mucronados o denticulados, amarillos con la porción media rojiza o verdosa; segmentos interiores del perianto angostamente abovados hasta angostamente cuneados, truncados hasta redondeados, enteros, mucronados o denticulados, amarillos hasta anaranjados; pericarpelo con algunas espinas pequeñas, caducas. Fruto oval, de 5 a 10 cm de largo y de 4 a 8 cm de diámetro, amarillo, anaranjado, rojo o púrpureo, con abundante pulpa carnososa, algo umbilicado.

Se utilizaron plantas de un año de edad, las cuales se habían puesto a enraizar previamente en macetas de 25 cm de diámetro por 25 cm de altura, con drenaje en el fondo, usando arena de río como medio de soporte (Cuadro 5); para su utilización, la arena de río se pasó por una malla de 2 mm y se lavó usando una solución ácida, a base de ácido sulfúrico al 0.2%. Las plantas se establecieron en el mes de junio de 1995 y se mantuvieron por un periodo de ocho meses, suministrándoles dos riegos por semana con una solución nutritiva estándar.

Cuadro 5. Algunas características físicas y químicas del sustrato utilizado en este estudio.

Textura (%)			CC	PMP	I.A.	pH	CE	N	K	Ca	Mg
Arcilla	Lino	Arena	(%)	(%)	(%)		(dSm ⁻¹)	(%)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(meq L ⁻¹)
4.0	6.0	90.0	5.84	3.5	2.27	7.6	0.081	0.07	6.4	38.2	10.5

3.1.3 Transplante a los recipientes hidropónicos

Las plantas enraizadas, se extrajeron mediante lavado con agua corriente de manera de no lastimar la raíz, la cual se lavó además con agua destilada, y finalmente fueron transferidas el 12 de

marzo de 1996 a contenedores de plástico con soluciones nutritivas aireadas, cuyo pH se ajustó a 5.8. Las cubiertas de los contenedores se acondicionaron a fin de dar cabida a las plantas, los cortes se ajustaron con hule espuma para una mejor posición de los cladodios y evitar en lo posible pérdidas de solución por evaporación; la aireación de estos recipientes, fue asegurada por medio de aire a baja presión (bomba de pecera), utilizando para su distribución mangueras de 5 mm de diámetro, en cuyo extremo se les añadió una reducción (filtro o capilar), con el objeto de lograr una distribución más uniforme del aire. Asimismo a cada tapa se le hicieron dos orificios, uno para la toma de muestras y reposición de solución y otro para el acceso de las mangueras conductoras.

3.1.4 Acondicionamiento del material vegetal

Las plantas se mantuvieron por un período de diez días con una solución nutritiva al 50 % de la concentración definida (tal y como se describe en el apartado 3.1.5). Posteriormente, la solución nutritiva se volvió a cambiar por otra con un 50 % de la concentración pero sin N, manteniéndolas en esta condición durante otro período de 10 días con el propósito de incrementar la tasa de absorción de N. Después de este tiempo, se suministró la solución nutritiva completa, cuya composición estuvo en función del compuesto químico utilizado como fuente de nitrógeno.

3.1.5 Preparación de las soluciones nutritivas

La composición química completa de la solución nutritiva utilizada fue: N (150 mg L^{-1}), P (40 mg L^{-1}), K (225 mg L^{-1}), Ca (210 mg L^{-1}), Mg (40 mg L^{-1}), Fe (12 mg L^{-1}), Mn (2 mg L^{-1}), Cu (0.01 mg L^{-1}), Zn (0.25 mg L^{-1}), Mo (0.05 mg L^{-1}) y B (0.6 mg L^{-1}), la cual ha sido utilizada en trabajos anteriores con resultados favorables en plantas de nopal creciendo en condiciones de hidropónia (Calderón, 1995). Se prepararon dos soluciones nutritivas a partir del suministro de los dos diferentes compuestos como fuentes de nitrógeno: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$.

Para la preparación de las soluciones nutritivas se utilizaron sales grado reactivo y agua bidestilada, en la forma siguiente: en recipientes de plástico, con capacidad para 100 L, se

adicionaron aproximadamente 80 L de agua, y luego las sales previamente diluidas a un litro, agregándose en el orden siguiente KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , los micronutrientes (a partir de una solución patrón) y el Fe. Por último se completó el volumen de 100 L y se ajustó el pH de las soluciones a 5.8. La composición y concentración de las soluciones se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Composición de las dos soluciones nutritivas de acuerdo a las fuentes nitrogenadas utilizadas en el experimento 1.

ELEM.	CONC. (ppm)	Fuente (Comp. químico)	Cantidad Requerida (g. 100 L ⁻¹)	
			Tratamiento	
			N-NO ₃	N-NH ₄
N	150	KNO ₃	2.163	-----
		Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	123.9	-----
		(NH ₄) ₂ SO ₄	-----	70.809
P	40	KH ₂ PO ₄	17.56	17.56
K	225	K ₂ SO ₄	37.056	38.923
Ca	210	CaCl ₂ ·2H ₂ O	-----	58.153
Mg	40	MgSO ₄ ·7H ₂ O	41.078	41.078
g para preparar 1000 L de solución patrón				
B	0.6	H ₃ BO ₃	3.4320	3.4320
Mn	2.0	MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.6091	0.6091
Zn	0.2	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.8794	0.8794
Cu	0.1	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.3929	0.3929
Mo	0.05	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.0920	0.0920
Fe	5.0	Maxiquel Fe 930*	71.42	71.42

* El Fe se aplicó en forma de EDTA con 7% de Fe

Cuando un experimento diseñado para comparar la nutrición con NH_4^+ y NO_3^- , se realiza bajo condiciones no estériles de suelo; con seguridad el NH_4^+ , es convertido a NO_3^- . Atendiendo este problema se consideró pertinente prevenir su ocurrencia en las soluciones empleadas, de manera que aun cuando se usó agua deionizada, antes de diluirse el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ se aplicó el inhibidor de la nitrificación N-SERVE 24 a razón de 2 % peso/peso con base en N-NH₄ suministrado.

3.1.6 Diseño experimental

Los datos obtenidos en el trabajo de campo se analizaron bajo las siguientes hipótesis estadísticas:

H₀: $\tau_1 = \tau_2$ vs. **H_a:** $\tau_1 \neq \tau_2$.

El modelo matemático del diseño experimental empleado es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + E_{ij} \quad (1)$$

$$i=1,2$$

$$j=1,2,\dots,7$$

Dónde: y_{ij} = Respuesta en la j-ésima unidad experimental con el tratamiento i-ésimo.

μ = efecto verdadero de la media general.

τ_i = efecto del i-ésimo tratamiento

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental.

3.1.7 Muestreos

La solución nutritiva de cada contenedor se muestreó (25 ml) a intervalos de cinco días, es decir a los 5, 10, 15, y 20 días después del establecimiento (DDDE); así mismo se determinó diariamente los cambios en el pH, así como la temperatura de la solución, utilizando para ello un potenciómetro modelo 230A y un sistema de termopares, respectivamente. La determinación de N-NO₃ se hizo mediante el método para el análisis de agua y aguas residuales propuesto por Clesceri *et al.* (1989), utilizando un espectrofotómetro modelo 690, para lo cual se obtuvo previamente una curva de calibración con una R² de 0.9935 (Cuadro A-1). Para el N-NH₄ se determinó mediante el método Kjeldahl. La velocidad de absorción de los iones se estimó por el método de agotamiento empleado por Olivares (1987), a partir del cual se construyeron las curvas de absorción para cada ion respectivo.

En la etapa final del ensayo se realizó un muestreo destructivo a fin de determinar la cantidad de materia seca en y por planta, tanto de los brotes producidos (MSB) como de raíz (MSR).

3.1.8 Análisis estadístico

En todas las variables se realizó análisis de varianza (ANVA). En todos los casos la probabilidad de error tipo I se estableció en 1 y 5% para la prueba de F y de Tukey, respectivamente. El análisis estadístico se realizó empleando el software del Statistical Analysis System (SAS).

3.2 Experimento 2

Los objetivos de este experimento fue estudiar el efecto de diferentes relaciones N-NO₃:N-NH₄ en la actividad de las enzimas nitrato reductasa (NR) y Glutamino sintetasa (GS) y evaluar el efecto de la nutrición nítrica y amoniacal sobre el nivel y acumulación de nutrimentos y su relación con algunos procesos fisiológicos de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

3.2 Tratamientos y diseño experimental

Con base en los objetivos postulados, el experimento se diseñó para evaluar dos factores: Factor A, relaciones N-NO₃:N-NH₄, presentes en las soluciones nutritivas [1:0 (150 mg L⁻¹ de N-NO₃:0 mg L⁻¹ de N-NH₄), 2:1 (100:50), 1:1 (75:75), 1:2 (50:100) y 0:1 (0 : 150)], y Factor B, órgano de la planta [(raíz, cladodio basal y Cladodio en crecimiento (brotes)].

3.2.2 Material genético empleado

Se utilizaron plantas del clon de nopal para verdura (*O. ficus-indica* L.), obtenidas de una explotación comercial en el municipio de San Juan Teotihuacan, Edo. de México después de dos meses de su establecimiento en el campo. Las plantas se extrajeron de manera de no mutilar las raíces;

las plantas se lavaron con agua corriente y agua destilada, y fueron transferidas a contenedores de plástico con soluciones nutritivas aireadas, según los tratamientos definidos, cuyo pH se ajustó a 5.8. Las cubiertas de los contenedores se acondicionaron tal como se describió en el experimento 1.

3.2.3 Sistema de cultivo

El sistema de cultivo, el acondicionamiento de las plantas, los niveles y fuentes de microelementos y la concentración de las soluciones nutritivas también fueron similares a las descritas en el caso del experimento 1, difiriendo la composición de las mismas debido a la utilización de diferentes fuentes nitrogenadas, y a su suministro en diferentes proporciones de acuerdo con los tratamientos evaluados. Las características de las soluciones nutritivas empleadas se presentan en el Cuadro 7, excepto las cantidades de los microelementos, las cuales fueron las mismas que se utilizaron en el experimento 1 (Cuadro 6).

Cuadro 7. Composición de las cinco soluciones nutritivas de acuerdo a las relaciones N-NO₃ : N-NH₄ utilizadas en el experimento 2.

ELEM.	CONC. (ppm)	Fuente (Comp. químico)	Cantidad Requerida (g L ⁻¹)				
			Tratamiento (Relación N-NO ₃ : N-NH ₄)				
			1 : 0	2 : 1	1 : 1	1 : 2	0 : 1
N	150	KNO ₃	0.5413	0.1804	-----	-----	-----
		Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0.6214	0.6214	0.6214	0.4143	-----
		(NH ₄) ₂ SO ₄	-----	0.2358	0.3537	0.4716	0.7075
P	40	NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	0.1782	0.1782	0.1782	0.1782	0.1782
K	225	K ₂ SO ₄	0.0348	0.3458	0.5014	0.5014	0.5014
		Ca	210	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.3767	0.3767	0.3767
		CaSO ₄ .2H ₂ O		-----	-----	-----	0.1536
Mg	40	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4055	0.4055	0.4055	0.4055	0.4055
pH			5.89	5.84	5.84	5.87	5.85
Conductividad Eléctrica (dSm ⁻²)			2.130	2.440	2.632	2.830	3.160

Una vez realizada la mezcla de los reactivos se ajustó el pH a 5.8 y se midió la conductividad eléctrica (CE) de cada solución, la cual mostró una CE (Cuadro A-2) cercana a los valores de CE-

umbral reportados por Mass y Hoffman (1977) para cultivos moderadamente sensibles a la salinidad. Durante la conducción del experimento se llevó un registro diario de los cambios del pH, ajustándolo a 5.8 con el uso de KOH o H₂SO₄, según fue el caso. Las soluciones nutritivas se renovaron semanalmente.

3.2.4 Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y un arreglo factorial de tratamientos (Cuadro 8). La unidad experimental estuvo representada por una planta.

Cuadro 8. Diseño de tratamientos (Experimento 2).

Tratamiento	Relación N-NO ₃ : N-NH ₄ (mg de N L ⁻¹)	Organo de la planta
1	1:0 (150:0)	Raíz
2	2:1 (100:50)	Raíz
3	1:1 (75:75)	Raíz
4	1:2 (50:100)	Raíz
5	0:1 (0:150)	Raíz
6	1:0 (150:0)	Cladodio basal
7	2:1 (100:50)	Cladodio basal
8	1:1 (75:75)	Cladodio basal
9	1:2 (50:100)	Cladodio basal
10	0:1 (0:150)	Cladodio basal
11	1:0 (150:0)	Brotes
12	2:1 (100:50)	Brotes
13	1:1 (75:75)	Brotes
14	1:2 (50:100)	Brotes
15	0:1 (0:150)	Brotes

El modelo matemático del diseño experimental empleado es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + O_j + \tau O_{ij} + \beta_k + E_{ijk} \quad (2)$$

Dónde: y_{ijk} = Respuesta en la j-esima unidad experimental con el tratamiento i-esimo.

μ = efecto verdadero de la media general.

τ_i = efecto de la i-ésima proporción N-NO₃ : N-NH₄.

O_j = Efecto del j-ésimo órgano.

τO_{ij} = Efecto de la interacción entre el τ_i con el O_j .

β_k = Efecto del k-ésimo bloque

E_{ijk} = Error experimental.

3.2.5 Variables medidas

A los 21 días posteriores al establecimiento del experimento se evaluó "in vivo", en los diferentes órganos de la planta, raíz, cladodio basal y cladodios jóvenes (nopalitos), la actividad de dos de las enzimas involucradas en la reducción asimilatoria del nitrógeno, la nitrato reductasa (ANR) y la glutamina sintetasa (AGS), además se determinó el contenido de NO₃⁻ y proteínas. Para ello se tomaron muestras de tejido vegetal de dichos órganos y se dispusieron en hielo, para inmediatamente trasladarlas al laboratorio para el análisis respectivo, de acuerdo a los procedimientos siguientes:

3.2.5.1 Medición de la actividad nitrato reductasa (ANR)

La medición de la actividad nitrato reductasa se llevó a cabo utilizando el método "in vivo" empleado y descrito por Peña (1989). Este método consiste en pesar 1.0 g de material vegetal fresco, el cual es cortado en fracciones de aproximadamente 5 mm² y colocado en pequeños frascos de 50 ml que contienen el medio de reacción, consistente en 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos (0.1 M de fosfato de potasio a pH 7.5, 1 % v/v de isopropanol y 0.1 M de KNO₃). Los frascos son colocados enseguida sobre hielo molido dentro de un desecador de vacío, con la finalidad de extraer el oxígeno del medio, para lo cual se aplica un vacío equivalente a 40 centibars durante 4 min., al cabo de los cuales se introduce nitrógeno al desecador. Esta operación de generación de vacío se efectúa (1 min. de vacío por un 1 min. de aplicación de nitrógeno) tres veces a fin de asegurar condiciones de anaerobiosis. Posteriormente se retira la tapa del desecador tapando los frascos inmediatamente con tapones de látex y luego son transferidos a un recipiente incubador (baño maría)

donde se permite transcurrir la reacción durante 20 minutos a 30 °C y 40 oscilaciones por minuto. Al concluir el tiempo establecido, los frascos se cambian a otro baño en ebullición en donde se mantienen aproximadamente a 92 °C durante 4 min., para detener la reacción, se sacan y se dejan enfriar a temperatura ambiente, para enseguida realizar el desarrollo del color de los nitritos formados. Para esto se toma 1 ml de alícuota de la muestra, se le agrega 1 ml de N-Naftil-etilendiamina-dicloro (0.2% en agua) y 1 ml de sulfanilamida (1% en HCl 1.5 M), la solución resultante se mezcla uniformemente para llevar a cabo la determinación colorimétrica de NO₂⁻ en un espectrofotómetro a 540 nm.

$$\mu \text{ mol NO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ de materia fresca} = (A / m)(V / g)(60 / 20) \quad (3)$$

donde: A= Absorbancia

V= Volumen de extracción (10 ml)

m = Pendiente curva de calibración

g = Peso fresco de la muestra (1.0 g)

20 = Minutos de incubación (min)

60 = minutos de una hora

3.2.5.2 Actividad de la enzima Glutamina sintetasa (AGS)

El método se basa en la descripción original realizada por O'Neal y Joy (1973) y modificaciones realizadas por Tirado (citado por Sandoval, 1991).

Extracción. Se muele en mortero 1.0 g de material vegetal en 5 ml de regulador TRIS-HCl 100 mM y se filtra con gasa o tela "magitel", todo lo anterior a temperatura menor o igual a 4 °C.

Medio de reacción. Se preparan dos tubos para cada ensayo (muestra y testigo). El orden en el que se adicionan así como el volumen y concentración de cada reactivo se enumeran en el Cuadro 8.

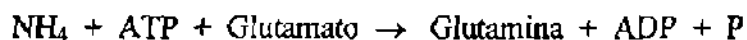
Procedimiento. Los tubos con el extracto vegetal y el medio de reacción se transfieren a un baño maría a 30 °C, ahí permanecen por un lapso de 20 a 30 minutos. La reacción se detiene con 1.5 ml de una mezcla de reactivos (FeCl₃ 0.37 M, ácido tricloroacético 0.2 M y HCl, 0.67 M), los tubos son

retirados del baño maría, después que alcanzan la temperatura ambiente se centrifugan a 2730 g por diez minutos. El sobrenadante es empleado para realizar lecturas de absorbancia a 540 nm.

Cuadro 9. Reactivos y concentración para la determinación de la actividad de la glutamina sintetasa (AGS).

REACTIVO	CONCENTRACION	MUESTRA	TESTIGO
	mM	μ L	μ L
L-glutamato	600	200	200
Clorhidrato de hidroxilamina	45	200	200
MgSO ₄	450	200	200
Adenin trifosfato	60	200	---
Extracto vegetal		100	100
Regulador TRIS-HCl, pH 7.8	100	600	800

Cálculos. La medición de la actividad de esta enzima se basa en la aparición del γ -glutamil hidroxamato, el ATP sirve como fuente de energía en la reacción siguiente (Oaks y Hirel, 1985):



$$\mu \text{ mol } \gamma\text{-glutamil hidroxamato } \text{h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ de materia fresca} = (A \cdot V \cdot 60) / (m \cdot v \cdot g \cdot t) \quad (4)$$

donde: A= Absorbancia

V= Volumen de extracción (5 ml)

v = Alicuota de extracto (0.1 ml)

m = 4.05 (constante que representa el valor de la pendiente)

g = Peso fresco de la muestra (1.0 g)

t = Tiempo de incubación (min)

60 = min. de una hora

3.2.5.3 Nitratos

El contenido de nitratos se determinó mediante el método del ácido salicílico (Cataldo *et al.*, 1975), cuyo procedimiento incluye los pasos siguientes:

Preparación del extracto. Consiste en pesar 1 g de tejido vegetal fresco, el cual se muele en un mortero y se homogeniza en 10 ml de solución buffer. Se filtra y los filtrados se centrifugan a 30,000 g por 15 minutos. El sobrenadante se guarda para análisis.

Desarrollo de color. Alicuotas de 0.2 ml del extracto se pipetea en matraces erlemeyer de 50 ml y se mezclan con 8 ml del reactivo ácido salicílico-H₂SO₄. Después de 20 minutos a la temperatura ambiente, usando una pipeta automática se agregan lentamente 19 ml de NaOH 2 N para elevar el pH a 12. Las muestras se enfrían a temperatura ambiente y se determina su absorbancia a 510 nm.

Cálculos. Empleando la curva de calibración, que debe ajustarse a partir de una solución patrón, se obtienen los cálculos y se pueden expresar en ppm o $\mu\text{g} / 0.2 \text{ ml}$.

$$\text{N-NO}_3 = (A / m) (V / g) \quad (5)$$

donde: N-NO₃ = concentración de nitratos (ppm)

A = Absorbancia

V = Volumen de extracción (10 ml)

m = Valor de la pendiente de la curva de calibración

g = Peso fresco de la muestra (1.0 g)

o bien

$$\mu\text{g N-NO}_3 \cdot \text{g}^{-1} \text{ de materia fresca} = (A / m)(5) (V / g) \quad (6)$$

donde: $\mu\text{g N-NO}_3$ = concentración de nitratos

A = Absorbancia.

V = Volumen de extracción (10 ml)

m = Pendiente (se requiere transformar los valores de la curva de calibración de ppm a μg).

g = Peso fresco de la muestra (1.0 g).

5 = Valor de dilución.

3.2.5.4 Proteínas solubles (Lowry, 1951)

La determinación de proteínas se realizó usando el método "Lowry", empleado y descrito por Sandoval (1991), cuyo procedimiento incluye los pasos siguientes: a) se muele en mortero 1.0 g de

materia fresca en 10 ml de buffer (fosfato de potasio, 0.1 M a pH de 7.4), o cualquier otro medio que no contenga proteínas; b) se toma 1 ml de extracto vegetal + 1 ml de ácido tricloroacético 20% (o 10%) para precipitar las proteínas; c) se agita; d) se deja reposar durante 24 h a 4 °C o menos; e) se centrifuga durante 5 - 10 minutos a 5000 a 10000 g (el sobrenadante puede ser utilizado para el análisis de NO₃⁻, NO₂⁻, ureidos, aminoácidos, etc., o puede ser desechado), y; finalmente el sedimento se disuelve en 2 ml de NaOH 1 N (o 0.5 N), se deja reposar dos horas y se toma la absorbancia a 540 nm.

$$\mu\text{g de Prot.} = (A / m)(2 / v) (V_e / g)(3.2) \quad (7)$$

donde: $\mu\text{g de Prot.}$ = $\mu\text{g de Proteínas solubles por gramo de materia fresca.}$

A = Absorbancia.

m = Valor de la pendiente de la curva de calibración

2 = ml de NaOH agregados

v = Volumen de alicuota (0.1 ml)

V_e = Volumen de extracción (10 ml)

g = Peso fresco de la muestra (1.0 g).

3.2 = Volumen final (0.2 ml de Folin + 2.5 ml mezcla de reactivos + 0.1 muestra + 0.4 de agua)

3.2.5.5 Análisis químico nutrimental de cladodios y raíz

En la etapa final del ensayo se realizó un muestreo destructivo a fin de determinar el contenido nutrimental de cladodios (basal y brotes) y raíz; se tomó una muestra de la porción media del cladodio basal. Las muestras se secaron en una estufa con aire forzado a una temperatura de 65 °C durante 72 horas, se molieron y se analizaron para determinar el contenido de (elemento/método de análisis) nitrógeno total (NT/Kjeldahl), fósforo (P/Vanadato-molibdato), potasio (K/Flamometría), calcio (Ca/Absorción atómica) y magnesio (Mg/Absorción atómica).

3.2.5.6 Acidez titulable, pH y características físicas

Con la finalidad de registrar la acumulación nocturna de ácido málico (ANA) se midió el pH y la acidez titulable en tejidos de cladodios jóvenes (brotes) durante períodos de 4 h durante las 24 h

del día, es decir se tomaron siete lecturas, iniciando a las 12:00 h del 12 de junio de 1997 y finalizando a las 12:00 h del día siguiente. Siguiendo el procedimiento propuesto por Woods y Araund (1976), se maceraron discos, obtenidos con un sacabocados, de tejido de cladodios en 50 ml de agua destilada; en el jugo colectado se midió el pH con un potenciómetro. Después se tomó una alícuota de 10 ml y se tituló con NaOH 0.01 N y se calculó el % de ácido málico de la manera siguiente:

$$\% \text{Ac. málico} = \{(G) (N) (\text{meq Ac. málico}) (\text{Vol. total}) (100)\} / \{P. v\} \quad (8)$$

donde: G = ml de NaOH 0.01 N gastados

N = Normalidad del NaOH (0.01)

meq Ac. málico = miliequivalentes de ácido málico (P.M./cargas + del ión = 0.067)

Vol. total = volumen total de la muestra (50 ml)

P = peso de la muestra (10 g)

v = volumen de la alícuota titulada (10 ml)

Adicionalmente a la determinación de la acidez titulable y pH, se midió la densidad del tejido de cladodios jóvenes, para lo cual se obtuvo el peso fresco y el volumen (por desplazamiento del agua en una probeta) y se calculó la densidad de la manera siguiente:

$$D = p / v \quad (9)$$

donde: D = Densidad (g. cm⁻³)

p = peso de la muestra (g)

v = volumen de la muestra (cm³)

3.2.5.7 Variables microclimáticas y conductancia estomática

Con la finalidad de conocer la influencia de algunos factores microclimáticos en el patrón de acumulación nocturna de ácido málico, como indicador del proceso de intercambio y asimilación del CO₂ del nopal, se midieron colateralmente a la determinación de la acidez titulable, la temperatura y humedad relativa del interior del invernadero en donde se condujo el experimento, además se tomaron lecturas de la temperatura y la conductancia estomática de los cladodios en crecimiento, objetos de este muestreo. Todas estas determinaciones se realizaron usando un sistema portátil de fotosíntesis (modelo LI-COR, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) utilizándolo como sistema cerrado. Sus

componentes principales son: a) una cámara de asimilación, b) un analizador de gases en infrarrojo LI-6250, que mide la concentración de CO_2 , y c) una consola de control. La temperatura del aire y del tallo (cladodios), la humedad relativa y la conductancia estomática se midieron con los sensores de la cámara de asimilación, la cual cubre de una pulgada cuadrada de superficie foliar, que en el presente trabajo correspondió a la superficie de los segmentos del tallo o brotes. Las mediciones se realizaron durante períodos de 4 h durante las 24 h del día, es decir se tomaron siete lecturas, iniciando a las 12:00 h del 12 de junio de 1997 y finalizando a las 12:00 h del día siguiente.

3.2.6 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se verificaron de acuerdo a las etapas agrupadas en la Figura 3. Para la realización de tales análisis se empleó el software siguiente: STATITICA, el Statistical Analysis System (SAS) y el Paquete de diseños experimentales FAUANL (Olivares, 1994).

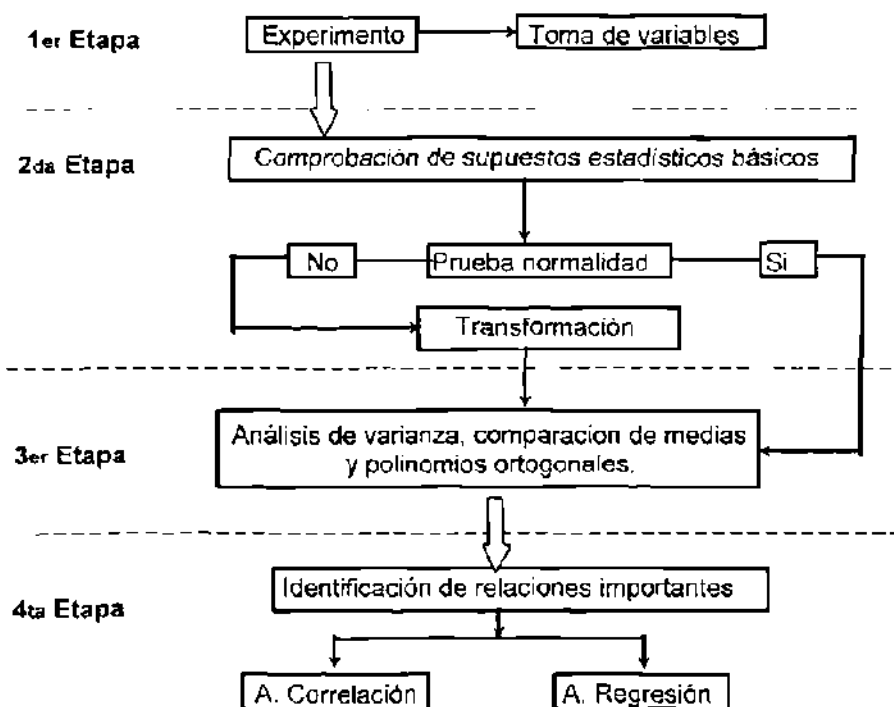


Figura 3. Representación esquemática de las etapas en el análisis estadístico.

4 RESULTADOS Y DISCUSION

La presentación de los resultados y la discusión de los mismos, se hace en orden cronológico considerando individualmente cada uno de los experimentos realizados.

4.1 Experimento 1

El propósito de este experimento fue estudiar la dinámica de absorción de nitrógeno en función de la fuente nitrogenada suministrada en el medio nutritivo. Adicionalmente, se determinó la producción de materia seca de raíces y tallos y se midieron los cambios registrados del pH de las soluciones nutritivas.

4.1.1 Efecto de la forma nitrogenada sobre la dinámica de la absorción de nitrógeno

Los resultados del experimento (Cuadro 10) brindan evidencias ($\alpha = 0.05$) de que existió diferencia significativa en los niveles de absorción de nitrógeno en función de la fuente nitrogenada en la solución nutritiva. Estas diferencias se mostraron en cada fecha de observación (Figura 4) y en la absorción acumulada, registrándose una mayor absorción de nitrógeno en el tratamiento que incluyó N-NO₃ comparado con el que se suministró N-NH₄.

Cuadro 10. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para nitrógeno absorbido en diferentes fechas de medición y materia seca producida por plantas de *O. ficus-indica* en condiciones de hidroponia.

Fuente Nitrogenada	Absorción acumulada de nitrógeno (mg L ⁻¹)				MSB (g)	MSR (g)
	5 DDDE	10 DDDE	15 DDDE	20 DDDE		
N-NO ₃	38.457 a	83.07 a	130.80 a	137.35 a	51.759 a	25.177 a
N-NH ₄	29.800 b	68.86 b	111.68 b	131.54 a	41.782 b	20.833 a

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha=0.05$.

DDDE - Dias después del establecimiento.

Aunque el efecto de la forma nitrogenada sobre el crecimiento de las plantas ha sido objeto de un gran número de estudios (Jingquan y Dewei, 1988, Amâncio y Santos, 1992, Cao y Tibbitts,

1994, Griffith y Streeter, 1994 y Osaki *et al.*, 1995) aun existen fuertes discrepancias en los resultados, aceptándose que la fuente preferencial depende de la especie de la planta y otros factores ambientales. Para el caso particular de la planta de nopal, creciendo sobre soluciones nutritivas aireadas, la mayor absorción de nitrógeno en forma de $N-NO_3$, se asoció también con una mayor cantidad de materia seca de los brotes producidos (MSB), siendo en promedio un 20 % mayor que cuando se suministró $N-NH_4$ (Cuadro 10), observándose una tendencia similar en materia seca de la raíz, aunque no se registraron diferencias significativas.

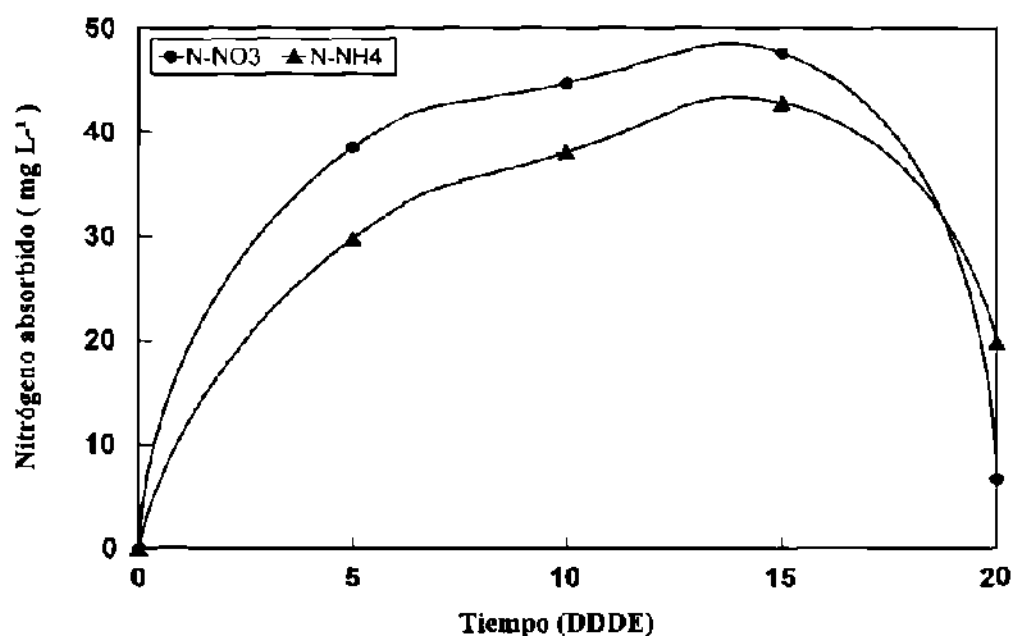


Figura 4. Dinámica de absorción de $N-NO_3$ y $N-NH_4$ en plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. por periodo de muestreo en condiciones de hidroponía

En la Figura 4 se aprecia una tendencia clara de la mayor absorción de nitrógeno en forma de $N-NO_3$; sin embargo, se registró una deflección en la absorción de ambos tipos de iones en la última fecha de observación (20 DDDE), siendo de mayor magnitud en el caso del $N-NO_3$. Esta tendencia podría ser, en cierto modo, debido a que para la última fecha se había consumido aproximadamente el 96 % del $N-NO_3$ suministrado en la solución nutritiva, lo cual guarda correspondencia con lo reportado por Siddiqi *et al.* (1990), Santos *et al.* (1992), Sood *et al.* (1995) y Lainé y Boucard (1995) quienes

encontraron que la cinética de la absorción del nitrógeno es dependiente de la concentración del mismo. Con los resultados anteriores se puede sostener que las plantas de nopal, al igual que muchas especies de plantas (Mengel y Kirkby, 1987 y Hageman, 1992), presentan tasas de absorción mas altas y crecen mejor cuando son suministradas con NO_3^- que con sales de NH_4^+ .

4.1.2 Cambios en el pH del medio

En la Figura 5 se presentan las modificaciones del pH de la solución nutritiva producidas por las plantas de nopal al ser sometidas a los dos tratamientos de fuentes nitrogenadas; los cambios registrados revelan un ligero incremento del pH de la solución nutritiva suministrada con NO_3^- , en tanto que en el caso del tratamiento a base de NH_4^+ la modificación del pH fue mas marcada tendiendo a la baja. El monitoreo del pH se realizó diariamente durante los 20 días que se mantuvo el experimento; sin embargo, únicamente se grafican los valores de los primeros cinco DDDE en virtud de que a partir de esa fecha, el pH de la solución suministrada con NH_4^+ se ajustó diariamente mediante la adición de KOH 5 N.

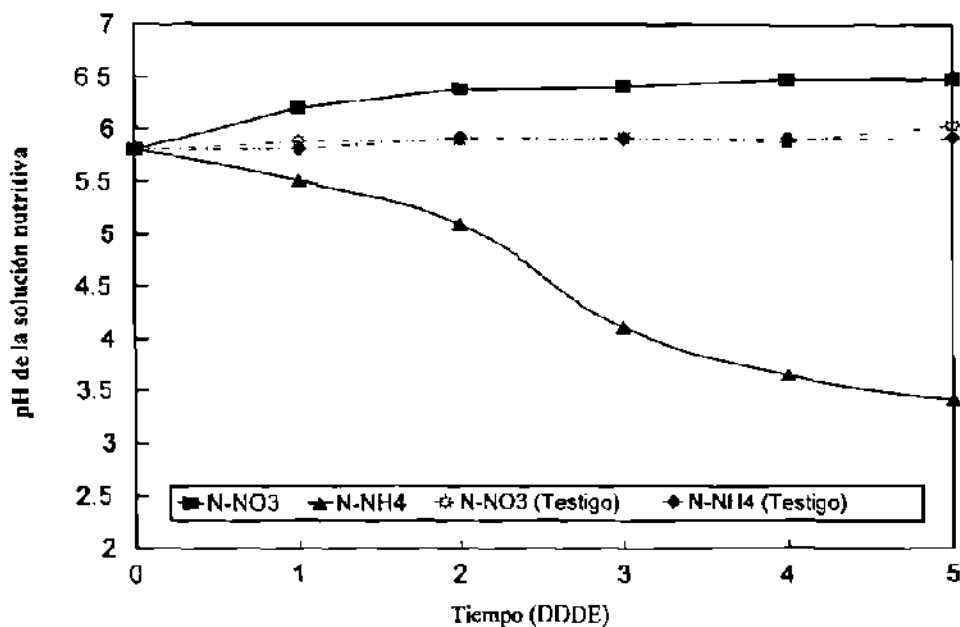


Figura 5. Cambios en el pH de la solución nutritiva producidas por plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. sometidas a dos tratamientos de fuentes nitrogenadas

Los cambios del pH de la solución nutritiva, pueden explicarse a partir del reconocimiento de que para mantener la electroneutralidad de las células de la planta, la carga total de cationes es nivelada o igualada a la carga de aniones; esto es, cuando un catión es absorbido por la raíz, un anión también es absorbido o un catión es liberado; así, la absorción de NH_4^+ puede ser acompañada de la liberación de H^+ , afectando con ello el pH de la vecindad de la raíz. La absorción del NO_3^- es de tipo activo ya que su transporte al interior de la célula se reduce considerablemente cuando se inhibe la síntesis de ATP, aceptándose que el NO_3^- es cotransportado con H^+ , con una estequiometría de $2\text{H}^+:\text{NO}_3^-$, lo cual explica la alcalinización del medio externo cuando las plantas absorben NO_3^- (Maldonado, 1993). Al mismo respecto, Salisbury y Ross (1994) establecieron que los incrementos en el pH de la solución nutritiva se deben a que la absorción de NO_3^- se acompaña de absorción de H^+ o excreción de OH^- para mantener el balance de cargas.

Este tipo de comportamiento a sido documentado con anterioridad por diversos autores (Marschener, 1986, Nobel, 1988, Peña, 1989, Hageman, 1992, Cao y Tibbitts, 1994 y Salisbury y Ross, 1994), con lo que se confirma que con el suministro y absorción de NO_3^- se incrementa el nivel del pH del medio, mientras que con el suministro de NH_4^+ los valores del pH se reducen.

Es importante reportar que se monitoreó de igual forma el pH de ambas soluciones nutritivas, mantenidas en contenedores y en condiciones similares pero sin plantas, encontrándose al final del período de evaluación que los valores del pH se mantuvieron prácticamente sin cambios respecto a sus niveles iniciales (Figura 5), siendo del orden de 5.85 en la solución suministrada con NO_3^- y 5.90 en el caso del NH_4^+ , lo cual evidencia que los cambios en el pH de las soluciones mencionadas se deben a la actividad de la planta.

La magnitud de la reducción del pH de la solución suministrada con N- NH_4 puede explicar en cierta medida la menor producción de materia seca de tallos y raíces de las plantas que crecieron en dicho tratamiento, puesto que se registraron reducciones de pH por debajo de valores de 4.0, lo cual guarda correspondencia con lo reportado por Dirr (1975) para plantas de *Viburnum plicatum* creciendo en un medio con pH de 3.0 - 4.0 y suministradas con N- NH_4 , condiciones que generaron pesos de

materia fresca de tallos y raíces significativamente más bajos que cuando se mantuvo el pH bajo pero el N se suministró en forma de N-NO₃ o N-NO₃ más N-NH₄, o bien que cuando se utilizó cualquiera de las mismas combinaciones pero a valores de pH de 7.0 - 8.0.

4.2 Experimento 2

El propósito de este experimento fue estudiar el efecto de diferentes relaciones N-NO₃:N-NH₄ en la actividad de las enzimas nitrato reductasa (NR) y Glutamino sintetasa (GS) y evaluar el efecto de la nutrición nítrica y amoniacal sobre el nivel y acumulación de nutrimentos y su relación con algunos procesos fisiológicos de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Los análisis de varianza realizados brindaron evidencias ($p < 0.05$) de que existió diferencia significativa por efecto tratamientos y por órgano de la planta en ANR, AGS, contenido de proteína soluble y N-NO₃ (Cuadro 11). La interacción tratamientos y órgano de la planta fue significativa sólo para ANR.

4.2.1 Actividad de la nitrato reductasa

Cuando se analizó el efecto de tratamientos, los resultados del experimento (Cuadro 11) brindan evidencias de que existió diferencia altamente significativa ($P=0.0001$) en la ANR en función de la relación N-NO₃:N-NH₄ suministrada en la solución nutritiva, registrándose los valores más altos en la ANR en los tratamientos que incluyeron una mayor proporción de nitrógeno en forma de NO₃⁻.

Con la finalidad de conocer la tendencia en la respuesta de la ANR a las diferentes proporciones N-NO₃:N-NH₄, se realizó un análisis por polinomios ortogonales. El análisis de varianza correspondiente, mostró que únicamente el efecto lineal fue altamente significativo ($P=0.0001$), registrándose una tendencia al incremento de la ANR conforme el contenido de N-NO₃ se incrementó en las proporciones N-NO₃:N-NH₄. Del Cuadro 11 se desprende que la ANR fue tres veces más alta ($328.850 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$) cuando el total de nitrógeno se aplicó en forma de

NO_3^- , que cuando el nitrógeno se suministró en forma de NH_4^+ ($111.012 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$); los tratamientos intermedios mostraron una tendencia acorde a lo anterior (Figura 6-A), es decir, en la medida que la cantidad de N-NO_3 disminuyó en la solución nutritiva la ANR fue menor.

Cuadro 11. Efecto de diferentes proporciones $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ sobre la actividad de las enzimas NR y GS y contenido de proteína soluble y nitratos, en raíces y tallos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., en condiciones de invernadero.

TRATAMIENTO ($\text{N-NO}_3 : \text{N-NH}_4$)	ANR ($\eta\text{M NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$)	AGS ($\mu\text{M } \gamma\text{-GH g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$)	PROTEINA ($\text{g g}^{-1} \text{ MF}$)	N-NO_3 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ MF}$)
1 (150/0)	328.85	5.92	6.31	179.04
2 (100/50)	293.51	4.45	7.33	187.92
3 (75/75)	269.04	4.81	6.19	194.58
4 (50/100)	191.56	4.55	8.22	134.60
5 (0/150)	111.01	3.90	8.31	38.54
Efecto lineal	**	**	**	**
Efecto cuadrático	NS	NS	NS	**
ORGANO				
Raíz	516.08 a	5.56 a	10.79 a	118.96 b
Cladodio basal	93.51 b	4.74 a b	3.33 c	162.19 a
Brote	116.15 b	3.88 b	5.01 b	159.66 a

** Diferencia altamente significativa.

NS=No significativo.

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha = 0.05$.

Estos resultados corroboran lo reportado por Nerd y Nobel (1995) quienes encontraron que la ANR en cladodios de *Opuntia ficus-indica* de seis semanas de edad, se incrementó seis veces cuando la concentración del N-NO_3 en la solución nutritiva se aumentó de 0.8 a 4.0 mM ($p < 0.01$) y más del doble cuando el nivel del N-NO_3 fue de 16 mM ($p < 0.05$). Otros autores han reportado resultados similares pero en otro tipo de plantas, es el caso de Ayala (1989), quien concluyó que la ANR en plantas de sorgo aumentó en la medida que se incrementó la concentración de NO_3^- en la solución nutritiva, en tanto que Oaks y Hirel (1985) habían reportado que con el suministro de NO_3^- se promueve un incremento tanto en la ANR, como en la cantidad de la proteína (enzima) NR.

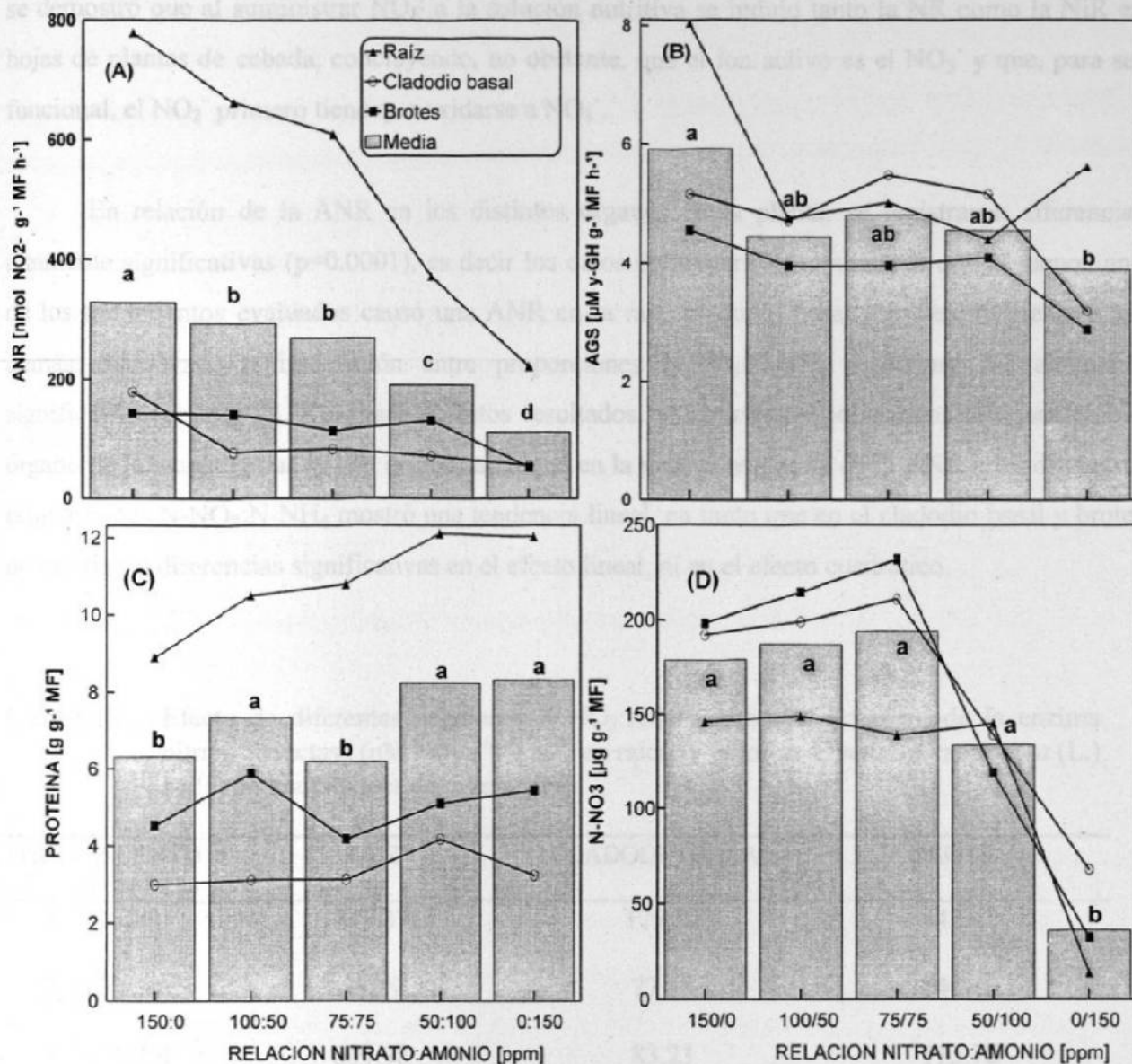


Figura 6 Efecto de la relación $N-NO_3:N-NH_4$ sobre la actividad de las enzimas nitrato reductasa (A), glutamino sintetasa (B), y el contenido de proteína soluble (C) y nitratos (D) en plantas de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) creciendo en soluciones nutritivas aireadas en condiciones de invernadero.

Un aspecto sobresaliente relacionado con lo anterior, es que la nitrito reductasa (NiR) también es inducible por la concentración de NO_3^- ; un trabajo reportado por Salisbury y Ross (1994) se demostró que al suministrar NO_3^- a la solución nutritiva se indujo tanto la NR como la NiR en hojas de plantas de cebada, concluyendo, no obstante, que el ion activo es el NO_3^- y que, para ser funcional, el NO_2^- primero tiene que oxidarse a NO_3^- .

En relación de la ANR en los distintos órganos de la planta, se registraron diferencias altamente significativas ($p=0.0001$), es decir los datos del experimento sugieren que al menos uno de los tratamientos evaluados causó una ANR en la raíz, cladodio basal y brotes, diferente a los demás; asimismo, la interacción entre proporciones N- NO_3 :N- NH_4 y órgano fue altamente significativa ($p=0.0001$). Con base en estos resultados, se obtuvieron polinomios ortogonales por órgano de la planta (Cuadro 12), encontrando que en la raíz, la respuesta de la ANR a las diferentes proporciones N- NO_3 :N- NH_4 mostró una tendencia lineal, en tanto que en el cladodio basal y brotes no existieron diferencias significativas en el efecto lineal, ni en el efecto cuadrático.

Cuadro 12. Efecto de diferentes relaciones N- NO_3 :N- NH_4 sobre la actividad de la enzima nitrato reductasa ($\eta\text{M NO}_2 \text{ g}^{-1}\text{MF h}^{-1}$) en raíces y tallos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., en condiciones de invernadero.

TRATAMIENTO (N- NO_3 : N- NH_4)	RAIZ	CLADODIO BASAL	BROTOS
1 (150/0)	778.37	178.12	142.42
2 (100/50)	662.9	77.48	140.10
3 (75/75)	609.98	83.23	113.70
4 (50/100)	372.23	71.75	130.70
5 (0/150)	222.47	56.98	53.58
Efecto lineal	**	NS	NS
Efecto cuadrático	NS	NS	NS

** Diferencia altamente significativa.

NS=No significativo.

En la Figura 7-A se aprecia claramente que la mayor ANR se registró en la raíz, observándose asimismo que ésta disminuyó de manera muy marcada conforme la concentración del N-NO₃ fue menor, mientras que en cladodios basales y cladodios en crecimiento, la ANR fue aproximadamente cinco veces menor que en la raíz, siendo ligeramente mayor en los brotes que en el cladodio basal.

Los resultados anteriores contrastan con los encontrados por Nerd y Nobel (1995) quienes reportaron que los sitios de asimilación del NO₃⁻ se localizan en los cladodios jóvenes en virtud de que la mayor actividad de la nitrato reductasa se registra en este tipo de órganos. Estas diferencias pudieran deberse posiblemente a las características de las plantas empleadas y al medio y tiempo de establecimiento de las mismas; es decir, la edad de las plantas y por tanto el grado de desarrollo de sus órganos están relacionados con la absorción y asimilación del nitrógeno. De acuerdo con Pan *et al.* (1985) la cantidad de tejido de raíz que es activo en la adquisición de nitrógeno y la tasa de absorción por unidad de masa contribuyen a la tasa total de absorción de nitrógeno por la planta, aunque ambos componentes son distintivos genéticos de las especies.

Estos autores, al estudiar la absorción y distribución (acumulación, reducción y traslocación) del nitrato en plantulas de maíz, reportaron que la tasa de absorción de N-NO₃ fue significativamente afectada por el genotipo, determinando que del N-NO₃ total absorbido, el 23-59 % fue reducido, el 28-73 % fue acumulado y el 4-25 % fue translocado a la parte aérea, diferencias atribuidas a la diferenciación morfológica y edad o estado de crecimiento de la raíz, relacionando un incremento de la traslocación con una edad mayor de la raíz (Pan *et al.*, 1985). Otra evidencia la presentaron Dias *et al.* (1995), quienes midieron la ANR en plantulas de caucho (*Hevea brasiliensis* (Muell) Arg.), concluyeron que la ANR más alta se registró en la raíz cuando las hojas estuvieron completamente extendidas pero fisiológicamente inmaduras, mientras que la ANR más alta se localizó en las hojas cuando éstas estuvieron totalmente extendidas y fisiológicamente maduras.

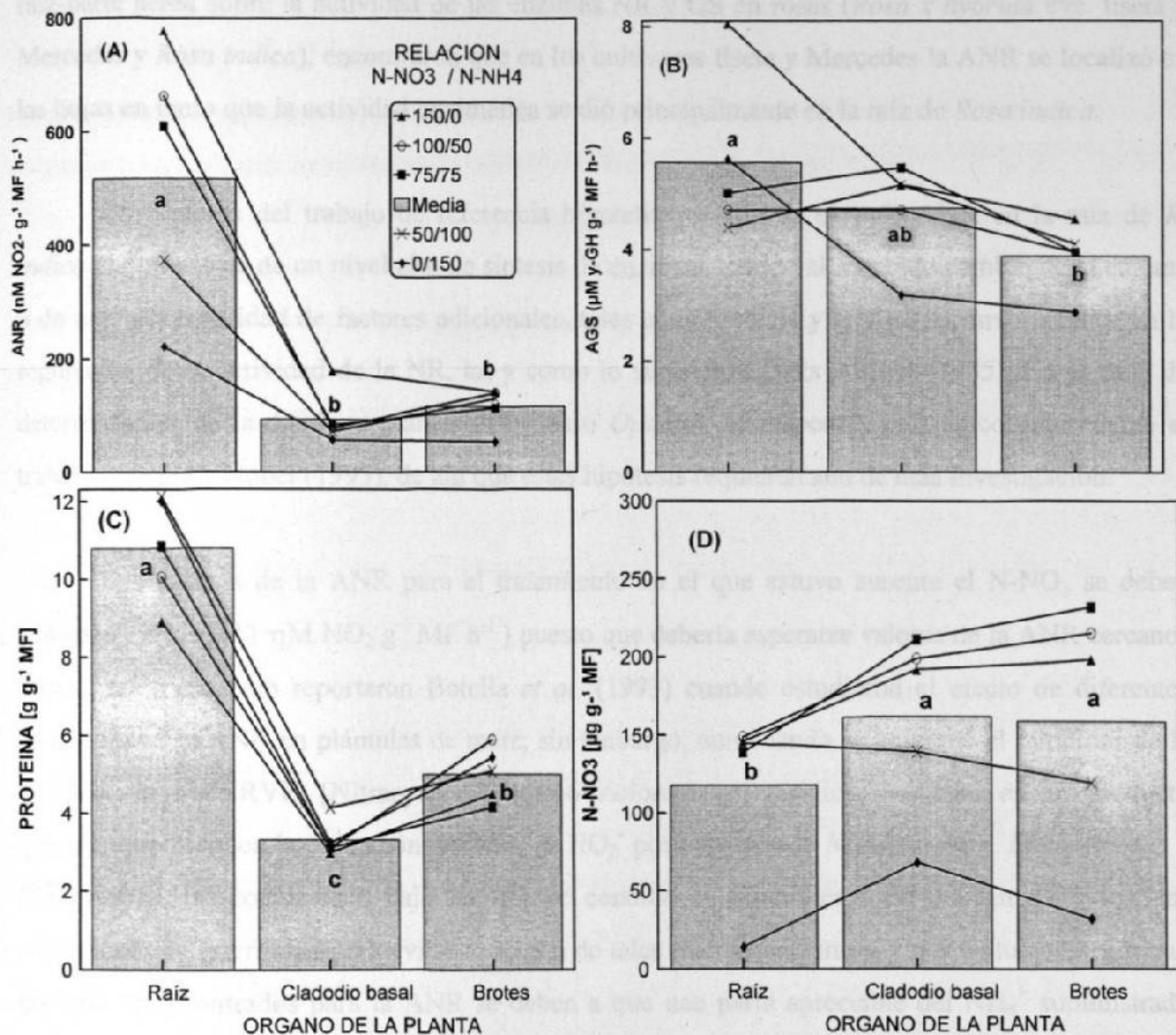


Figura 7 Actividad de las enzimas nitrato reductasa (A), glutamino sintetasa (B), y el contenido de proteína soluble (C) y nitratos (D) en raíces y tallos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. creciendo en soluciones nutritivas aireadas en condiciones de invernadero.

La elevada ANR en la raíz detectada en el presente estudio pudiera encontrar explicación en los resultados reportados por Agbaria *et al.* (1996), quienes al estudiar el efecto de la interacción raíz-parte aérea sobre la actividad de las enzimas NR y GS en rosas (*Rosa x hybrida* cvs. Ilseta y Mercedes y *Rosa indica*), encontraron que en los cultivares Ilseta y Mercedes la ANR se localizó en las hojas en tanto que la actividad enzimática se dió principalmente en la raíz de *Rosa indica*.

Los autores del trabajo de referencia hipotetizaron que la elevada ANR en la raíz de *R. indica* pudo resultar de un nivel alto de síntesis de enzimas, debido al reducido cambio de la enzima o de una alta habilidad de factores adicionales, tales como NADH y NAD(P)H, involucrados en la regulación de la actividad de la NR, tal y como lo sugirieron Oaks y Hirel (1985). En el caso de determinación de la ANR en plantas del genero *Opuntia*, se dispone como único antecedente el trabajo de Nerd y Nobel (1995), de ahí que estas hipótesis requieren aún de más investigación.

Los valores de la ANR para el tratamiento en el que estuvo ausente el N-NO₃ se deben considerar altos (111 η M NO₂ g⁻¹ MF h⁻¹) puesto que debería esperarse valores de la ANR cercanos a cero, tal y como lo reportaron Botella *et al.* (1993) cuando estudiaron el efecto de diferentes relaciones en la ANR en plántulas de maíz; sin embargo, aun cuando se adicionó el inhibidor de la nitrificación N-SERVE {Nitrapyrin (2-cloro-6-triclorometil) piridina}, el cual es un producto químico que bloquea la oxidación del NH₄⁺ a NO₂⁻ por especies de *Nitrosomonas*, *Nitrosocystus* y *Nitrospira*, las condiciones bajo las que se condujo el experimento no pueden garantizar las condiciones de esterilidad para evitar la acción de tales microorganismos, y por tanto con seguridad los valores encontrados para la ANR se deben a que una parte apreciable del NH₄⁺ suministrado debió de oxidarse hasta NO₃⁻. Este problema lo corroboraron Engels y Marschner (1993) en plantas de maíz abastecidas con NH₄⁺ como fuente única de N, sin embargo detectaron cantidades de NO₃⁻ en el xilema, atribuyéndolo a que la solución nutritiva fue contaminada por microorganismos nitrificantes, aunque los valores del NO₃⁻ fueron más bajos que los registrados en el presente estudio.

4.2.2 Actividad de la glutamina sintetasa (AGS)

Cuando se analizó el efecto de tratamientos, los resultados del experimento brindan evidencias a una $p = 0.04$ de que existió diferencia significativa en la AGS en función de la relación $N-NO_3:N-NH_4$ suministrada en la solución nutritiva. El análisis de varianza de los polinomios ortogonales confirmó una tendencia lineal ($p=0.009$) de la respuesta de AGS a las diferentes proporciones $N-NO_3:N-NH_4$ (Cuadro 11), registrándose los valores más altos en la AGS en los tratamientos que incluyeron una mayor proporción de N en forma de NO_3^- (Figura 6-B), disminuyendo conforme se incrementó la proporción de NH_4^+ en la solución nutritiva.

Al analizar el comportamiento de esta misma variable en diferentes órganos de la planta (raíces y cladodio basal y brotes) se registraron diferencias significativas ($p= 0.006$), detectándose una mayor actividad de la GS en la raíz que en cladodios en crecimiento (brotes), detectándose que el cladodio basal presentó una AGS estadísticamente igual a los valores encontrados para raíz y cladodio en crecimiento (Figura 7-B).

Toda vez que la asimilación de amonio es considerado como un verdadero proceso fotosintético (Lea, 1988), la mayor actividad de la GS en las raíces, debe estar asociada a una alta degradación de carbohidratos para generar NADH, indispensable para la enzima NR y ATP para la enzima GS (Maldonado, 1993). Al respecto Sandoval (1991) estudiando el efecto de cinco relaciones $N-NO_3:N-NH_4$ en la actividad de la GS en plántulas de trigo, argumentó que los tratamientos con mayor proporción de $N-NH_4$ deben degradar carbohidratos para abastecer de esqueletos carbonados para la asimilación del amonio, de manera que es posible entonces un descenso en la actividad de la GS por indisponibilidad de energía (ATP), reportando que este fenómeno se acentuó conforme la planta maduró.

Por otra parte es obvio que en los cladodios en crecimiento la actividad de la GS depende de la actividad de la enzima NR, toda vez que el amonio no se transporta por el xilema a las partes superiores de la planta, lo cual fue corroborado por Wang *et al.* (1993) con el uso del isótopo $^{13}NH_4^+$, de manera que los valores más bajos de la actividad de la NR, y por tanto a la menor

disponibilidad de N reducido, registrados en los cladodios se asocia también a los menores niveles de la actividad de la GS.

4.2.3 Contenido de proteínas solubles

De los valores promedio registrados para el contenido de proteínas solubles (Cuadro 11 y Figura 6-C), se desprende que existieron diferencias significativas ($p=0.05$) por efecto de tratamientos. El análisis por polinomios ortogonales mostró que únicamente el efecto lineal fue altamente significativo ($P=0.006$), registrándose en un nivel de proteínas 25% más alto en el tratamiento en que el N se suministró exclusivamente como N-NH₄, que cuando se abasteció como N-NO₃.

En relación a esta misma variable se encontraron diferencias altamente significativas ($p=0.0001$) para el tipo de órgano de la planta, registrándose los valores mas altos en la raíz (Figura 7-C). Este comportamiento puede explicarse a partir del reconocimiento de que el NH₄⁺ que es absorbido por las micorrizas o por las raíces de las plantas, puede entrar directamente a la síntesis de aminoácidos, uniéndose rápidamente dentro de las proteínas (Novoa y Loomis, 1981; Lea, 1988 y Binkley, 1993). La glutamina y el glutamato son los primeros dos aminoácidos sintetizados durante el proceso de asimilación del NH₄⁺; sin embargo, los primeros productos orgánicos son sus amidas, las cuales en opinión de Givan (1979) juegan un papel clave en el proceso de desintoxicación por NH₄⁺ en plantas.

Osaki *et al.* (1995) al estudiar el papel del NO₃⁻ y el NH₄⁺ en el metabolismo de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) encontraron que la construcción de amidas se dió preferencialmente en el tratamiento con N-NH₄. En el mismo sentido, Amâncio y Santos (1992) utilizando ¹⁵N corroboraron los resultados de trabajos previos que habían sugerido que el primer producto orgánico en la asimilación del amonio es el grupo amida de la glutamina, confiriendole a tales compuestos un caracter de reserva o translocación de formas orgánicas de N.

Los resultados anteriores guardan correspondencia con los reportados por Sandoval (1991) para el contenido de proteínas solubles en raíces de trigo; dicho autor encontró que el contenido más elevado de éstos compuestos se registró en los tratamientos abastecidos exclusivamente con N-NH_4 , señalando además la ocurrencia de un efecto de dilución de la concentración de las proteínas con el tiempo. En el mismo sentido indicaron los resultados de Botella *et al.* (1993), quienes encontraron que el contenido de proteína en las hojas de plantulas de trigo fue fuertemente reducido a altos porcentajes de NO_3^- como fuente de nitrógeno, teniéndose los valores de proteína más bajos cuando el NO_3^- se suministró solo.

4.2.4 Concentración de nitrato

El análisis de varianza realizado para concentración de N-NO_3 , brindó evidencias ($p=0.0001$) de que al menos una de las relaciones $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ ocasionó un contenido de N-NO_3 diferente a los demás. La prueba de polinomios ortogonales (Cuadro 11 y Figura 6-D) confirmó que los efectos lineal y cuadrático fueron altamente significativos

Con base en los resultados anteriores, se puede sostener que los mayores valores del contenido de N-NO_3 se registraron cuando el N se suministró en una proporción de 1:1 de $\text{N-NO}_3:\text{N-NH}_4$ (tratamiento 3), lo cual puede explicarse por el hecho de que al suministrar ambas fuentes nitrogenadas la planta reduce la actividad de la NR (Sandoval, 1991) y se metaboliza preferentemente el NH_4^+ (Botella *et al.*, 1993), ya que éste no se acumula como sucede con el nitrato (Givan, 1979, Lea, 1988 y Salisbury y Ross, 1994).

Asimismo, el nivel de N-NO_3 mostró diferencias significativas entre tipo de órgano de la planta (Figura 7-D), independientemente de la forma nitrogenada suministrada en la solución nutritiva, localizándose los valores más altos en los cladodios (Cladodio basal y brotes), siendo en promedio 28% superior que en la raíz; esta tendencia o patrón en la acumulación de N-NO_3 en los cladodios basales de plantas de nopal se le puede asociar con la emisión y crecimiento de nuevos órganos (brotes vegetativos o reproductivos). Estos resultados guardan similitud, al menos de

manera parcial, con los encontrados por Nerd y Nobel (1995) en un trabajo donde probaron el efecto de 0.8, 4.0 y 16 mM de N-NO₃ sobre el contenido de N-NO₃ en diferentes órganos de *Opuntia ficus-indica*, reportando que la concentración de N-NO₃ en los cladodios fue mayor conforme se incrementó la concentración de NO₃⁻ en el medio nutritivo.

Los contenidos más altos de N-NO₃, en base a peso fresco, se localizaron en los tallos en donde se registraron también los valores más bajos de la ANR. Estos resultados concuerdan con lo establecido por Agbaria *et al.* (1996), quienes reportaron que el nivel más alto de N-NO₃ en las raíces de plantas de rosa (*Rosa x hybrida*) sugirió que la mayor actividad enzimática sucedió en las hojas; en el presente trabajo se corrobora esta misma tendencia, pero en el sentido inverso en cuanto al tipo de órgano, es decir, los valores más altos de N-NO₃ en los cladodios se asociaron a una mayor ANR en la raíz.

Resulta de gran importancia considerar que las cactáceas difieren morfológicamente y fisiológicamente de muchas otras plantas, lo cual puede afectar sus relaciones nutrimentales; específicamente, debido a que su naturaleza CAM le confiere una alta eficiencia del uso del agua (masa de CO₂ fijado / masa de agua transpirada) y a su succulencia, los cactus retienen una fracción relativamente grande del agua extraída del suelo, lo cual puede afectar su concentración interna de minerales y finalmente el reciclaje de éstos (Berry y Nobel, 1985 y Nobel, 1988a). Así, la mayor acumulación de N-NO₃ en el tallo, tanto en cladodio basal como en los cladodios en crecimiento, sugiere que tales concentraciones elevadas pudieran deberse a la presencia de N-NO₃ que fue absorbido con anterioridad y a la baja actividad de la NR ocurrida en la parte aérea de las plantas ya que las altas concentraciones al momento del muestreo no son explicadas por las cantidades suministradas, absorbidas y acumuladas en los tallos durante el experimento, pues de otra manera las concentraciones deberían ser acordes a las cantidades de NO₃⁻ suministrado en los tratamientos.

En el caso de la raíz, se encontró una correlación significativa y positiva ($r=0.543$, $P=0.016$) entre la concentración de N-NO₃ y la actividad de la NR, lo que resulta lógico toda vez que ambos son dependientes de la concentración de N-NO₃ en el medio externo. Por otra parte resulta también

importante anotar que la mayoría de las raíces se generaron y desarrollaron durante el tiempo que duró el experimento, de manera que aún cuando la raíz puede servir también como órgano de almacenamiento, se puede establecer que el contenido de N-NO₃ se explica principalmente por la absorción debida a cada uno de los tratamientos (ver Figura 7-D), de manera tal que la concentración de N-NO₃ fue superior en 90, 90.2, 89.44 y 89.9 % en los tratamientos que involucraron diferentes concentraciones de N-NO₃ en su formulación (tratamientos 1, 2, 3 y 4, respectivamente) con respecto al tratamiento (5) abastecido exclusivamente con N-NH₄.

4.2.5 Condición nutrimental

Los análisis de varianza realizados indicaron que las diferentes proporciones N-NO₃:N-NH₄ causaron un efecto similar ($p=0.05$) sobre la concentración de N, P, K, Ca y Mg en el tejido, lo que quiere decir que la condición nutrimental de la planta de nopal no se vió influenciada por el suministro de diferentes proporciones de las fuentes nitrogenadas probadas (Cuadro 13); sin embargo, al analizar el contenido de los mismos en diferentes órganos de la planta, se detectaron diferencias altamente significativas ($p=0.0001$). La interacción entre proporciones N-NO₃:N-NH₄ y órganos de la planta fue significativa ($p=0.03$) únicamente para K.

Cuadro 13. Efecto de diferentes proporciones N-NO₃:N-NH₄ sobre la concentración de N, P, K, Ca y Mg en el tejido vegetal de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., creciendo en condiciones de invernadero.

TRATAMIENTO (N-NO ₃ :N-NH ₄)	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
1 (150/0)	2.15 a	0.38 a	1.31 a	0.34 a	0.27 a
2 (100/50)	2.02 a	0.46 a	1.51 a	0.41 a	0.33 a
3 (75/75)	2.01 a	0.46 a	1.44 a	0.34 a	0.36 a
4 (50/100)	1.81 a	0.55 a	1.54 a	0.36 a	0.37 a
5 (0/150)	2.08 a	0.53 a	1.64 a	0.35 a	0.30 a

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha = 0.05$.

En virtud de los resultados obtenidos, el no rechazo de la hipótesis nula de igualdad de efecto de tratamientos, y en un intento de aportar información sobre uno de los temas sobre los que se dispone de escasa información, se creyó pertinente realizar una caracterización nutrimental, es decir, describir los patrones característicos de cada uno de los macronutrientes evaluados.

Para tal propósito, se partió de considerar los resultados de la prueba de medias (Cuadro 14), a partir de los cuales se obtuvieron valores promedio de los contenidos de los macroelementos en los cladodios (cladodio basal y brotes); el hecho de haber procedido de esta manera fue con el fin de estar en la posibilidad de comparar los valores reportados en trabajos de investigación antecedentes, en los que las concentraciones se han determinado en este tipo de órganos.

Cuadro 14. Niveles promedio de elementos en diferentes órganos de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. creciendo en soluciones nutritivas aireadas.

ELEMENTO	RAIZ	CLADODIO BASAL	BROTOS	PROMEDIO EN CLADODIOS
N (%)	1.91 b	1.37 c	2.76 a	2.06
P (%)	0.53 a	0.25 b	0.65 a	0.45
K (%)	1.11 b	1.25 b	2.11 a	1.68
Ca (%)	0.16 c	0.63 a	0.29 b	0.46
Mg (%)	0.42 a	0.32 ab	0.23 b	0.27

Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha = 0.05$.

Los resultados del análisis nutrimental de diferentes órganos de la planta de nopal indicaron que independientemente del tipo y proporción de la fuente nitrogenada, la concentración de N, P y K fue alrededor del doble en brotes que en cladodios de más de un año de edad y raíz, aunque el nivel de K en los brotes y raíces fue muy similar (Cuadro 14), mientras que el Ca y el Mg tuvieron un patrón de distribución opuesto, es decir las concentraciones más bajas se registraron en los cladodios jóvenes.

En general, el comportamiento del N, P, K reflejan diferencias de movilidad con respecto al Ca y con ello de translocación dentro de la planta, en respuesta a la demanda de órganos jóvenes en desarrollo (Mengel y Kirkby, 1987 y Rodríguez, 1996.), aunque la menor concentración observada de N, P y K en los cladodios basales puede atribuirse también a que son cladodios en producción, el nivel de éstos está relacionado con la demanda de nutrientes por parte de los órganos en crecimiento, o bien a que los ritmos observados para estos tres elementos en tallos (cladodios) jóvenes aparentemente están relacionados con una mayor actividad metabólica (López *et al.*, 1988); estos valores concuerdan con los resultados de estudios antecedentes (Nobel, 1983, López, 1988, López *et al.*, 1990, Lara *et al.*, 1990 y Esteban y Gallardo, 1994).

4.2.5.1 Nitrógeno

La mayor concentración de N se localizó en cladodios jóvenes, siendo superior en 50.4 y 28.6 % al promedio del nivel de N en cladodios de un año de edad y raíz, respectivamente (Cuadro 14). La menor concentración observada de N en los cladodios basales puede atribuirse también a que son cladodios en producción y el nivel de N en éstos, está relacionado con la demanda de N por parte de los órganos en crecimiento, ya que durante este período son abastecidos por las reservas de la planta (Coletto, 1989). Estos resultados, también son explicables a partir del reconocimiento que dentro de los factores que afectan la composición nutrimental en las plantas, destaca la edad y tipo de tejido (Nobel, 1983, López, 1988, Lara *et al.*, 1990 y Esteban y Gallardo, 1994)

Además de existir diferencias por el tipo y edad del tejido, existen otros reportes que han demostrado que las diferencias en la concentración de N también se localizan por secciones de los cladodios o bien se deben a la variación en el tiempo (López, 1988 y Lara *et al.*, 1990).

Sobre el primer caso, López (1988) reportó que en particular los contenidos de N evidenciaron una acumulación diferencial en secciones transversales identificándose un gradiente ascendente en las secciones medias y terminal, cuyos contenidos fueron de 0.793 y 0.863 %, respectivamente. En el caso particular del trabajo de referencia, las mayores concentraciones en las

secciones terminales, de acuerdo con el autor, se debieron a que el muestreo coincidió con el desarrollo de yemas, arguyendo una intensa translocación de N hacia las yemas florales. Por su parte Esteban y Gallardo (1994) estudiando dos poblaciones de *Opuntia ficus-indica* en España, encontraron que las mayores concentraciones de N, P y K ocurrieron en los meses de invierno y las más bajas en el verano, atribuyendo lo anterior a una posible migración de estos elementos de los tejidos de reserva (raíz o cladodios viejos) a cladodios jóvenes con mayores requerimientos metabólicos debido al crecimiento de éstos o al desarrollo de frutos. Los mismos autores encontraron que el Ca mostró un comportamiento opuesto al descrito para N, P y K.

En relación al contenido temporal de N, se cuenta con evidencias experimentales que indican que la concentración de N en los tallos no se mantiene constante durante todo el año, así lo sugieren los resultados reportados por Lara *et al.* (1990) quienes encontraron que la concentración de N en los cladodios disminuyó gradualmente hasta el mes de octubre (fin de la estación de crecimiento), a partir de donde se mantuvo constante; la reducción en la concentración de N se encuentra asociado al efecto de dilución, el cual a su vez se debe al crecimiento rápido de los cladodios y a que la velocidad de absorción por la raíz no abastece las cantidades retranslocadas de N hacia los frutos o brotes en crecimiento. En el caso del presente experimento, se puede inferir que el nivel de N tanto en cladodios adultos (1.37%) y cladodios en crecimiento (2.76%) se debió al efecto anteriormente descrito y a un abastecimiento adecuado de N en la solución nutritiva, mas que a la fuente nitrogenada.

En general, se puede establecer que la concentración de N en plantas de nopal (2.06% en promedio) es más baja que la concentración encontrada en otras especies cultivadas como el maíz (3.4-5.0%; Reuter, 1986 y Valdez, 1997), alfalfa (4.5-5.0%; Smith, 1986), Chile (2.9-4.6%; Piggott, 1986) y durazno (3.0-3.5%; Robinson, 1986), similar al promedio del contenido de N foliar de 20 especies de plantas perennes del desierto de Mohave (2.0%; El-Ghonemy *et al.*, 1978), pero superiores en 20 % al promedio del nivel de N en el clorénquima de once especies de cactáceas (1.67%; Nobel, 1983) y en 42% al promedio de plantas maduras de ocho especies de *Agave* spp (Nobel y Berry, 1994). El contenido de N en los brotes (2.76%) corresponde a los valores reportados

para plantas de la misma especie de nopal bajo cultivo (2.61%; Nobel, 1983), en tanto que el promedio obtenido del contenido de N del cladodio basal y de brotes, fue superior en 100% al contenido promedio reportado para *Opuntia engelmannii* creciendo en condiciones silvestres en Coahuila, Méx. (0.90%; Nobel *et al.*, 1987).

Estos niveles de N implica, de acuerdo con Nobel (1994), la necesidad de suplementar este elemento cuando los tallos de nopal se usan como forraje, ya que los niveles de N son generalmente más bajos que los requerimientos del ganado bovino.

4.2.5.2 Fósforo

En relación al mayor contenido P en brotes o segmentos de tallo en crecimiento se asoció, a pesar de no haberse registrado diferencias significativas, a los tratamientos que incluyeron mayores proporciones de N-NH₄ (Cuadros 13 y 14), lo cual puede atribuirse a un posible efecto antagónico aniónico NO₃⁻/H₂PO₄⁻, y puede ser explicable por el hecho de que las cantidades de NO₃⁻ agregadas a las soluciones nutritivas correspondientes a los tratamientos 1:1, 2:1, 1:1 y 1:2 modificaron drásticamente la relación NO₃⁻/H₂PO₄⁻, por lo que se afectó la absorción de P, observándose una tendencia inversa entre el nivel de NO₃⁻ en la solución nutritiva y el contenido de P, siendo del orden del 0.38, 0.46, 0.46, 0.55 y 0.53 %, respectivamente; es decir, existió un 28.3 % menos en el contenido de P en el tratamiento en que todo el N se suministró en forma de N-NO₃, comparado con el nivel de P encontrado cuando se suministro en forma de N-NH₄. Al respecto, Engels y Marschner (1993) reportaron que las concentraciones de PO₄⁻ en el exudados del xilema de plántulas de maíz se incrementaron considerablemente con el suministro de NH₄⁺ como fuente única de nitrógeno que cuando todo el N estuvo presente en forma de NO₃⁻; este mismo comportamiento antagónico ha sido documentado por Calderón (1995) en tres cultivares de nopal.

Con base en tales resultados, en general, se puede establecer que la concentración de P en plantas de nopal (0.47% en promedio) es 29% superior a la reportada por Nobel (1983) para la misma especie de nopal creciendo bajo cultivo en condiciones de campo, y 59.5% mayor que la

encontrada en *Opuntia engelmannii* en Kingsville, Tx. (Nobel *et al.*, 1987). Gathaara *et al.* (1989) observaron para esta última especie niveles de 1.16% de N y 0.115% de P, proponiendo como relación óptima aquella con proporción 10:1 de N:P; sin embargo, los mismos autores reconocieron que esta relación óptima sería aplicable solo para la producción de fruta de *Opuntia engelmannii*, pudiendo no resultar con el mismo carácter para otras especies de nopal comercialmente importantes tales como *Opuntia ficus-indica*, para la cual se ha determinado el contenido de N (2.45%) y P (0.3%) en plantaciones comerciales para la producción de fruta (Nobel, 1983).

4.2.5.3 Potasio

La mayor concentración de K en cladodios jóvenes o brotes se asoció, a pesar de no haberse registrado diferencias significativas, a los tratamientos que incluyeron mayores proporciones de N- NH_4 (Cuadros 13 y 14), lo cual puede resultar contradictorio con el afecto antagónico esperado entre NH_4^+ , ya que es aceptado que el NH_4^+ puede inhibir la absorción de K^+ , aunque el K^+ no inhibe la absorción de NH_4^+ , lo cual se debe probablemente a que parte del N entra como NH_3 (Marschner, 1986). No obstante, esta contradicción aparente entre el contenido ascendente de K, como sucedió en el presente experimento en los tratamientos (2, 3, 4 y 5) que incluyeron una mayor proporción de NH_4^+ en la solución nutritiva, Engels y Marschner (1993), lo atribuyeron a que la acumulación del K es dependiente de la retranslocación del mismo a la raíz, sugiriendo que el antagonismo entre el K^+ y el NH_4^+ se debe evaluar en las cantidades de K^+ absorbidas y translocadas en el xilema hacia la parte aérea, puesto que se encontraron evidencias de que la translocación de K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} en los exudados del xilema se reducen cuando el N se suministra en forma de NH_4^+ , aunque esta menor translocación se compensa con tasas también más bajas de retranslocación de K^+ de los tallos a la raíz; por tanto, los contenidos de K^+ en el tallo pueden ser estadísticamente similares con suministros de ambas forma nitrogenadas (NO_3^- o NH_4^+) en la solución nutritiva, tal como sucedió en el presente estudio.

Con base en los resultados obtenidos, en general, se puede establecer que la concentración de K en las plantas de nopal (1.68% en promedio) fue generalmente más baja comparativamente con la de tejidos de otros cultivos (2.5-5.0%; Reuter, 1986, Smith, 1986, Piggott, 1986, Robinson, 1986,

Salisbury y Ross, 1994 y Valdez, 1997). Los niveles de K observados fueron 30 % más altos que los valores reportados para la misma especie de nopal creciendo bajo cultivo en California, E. U. (1.18%; Nobel, 1983), y apreciablemente menores a la concentración encontrada en cladodios de *Opuntia engelmannii* en Kingsville, Tx. (3.81%; Nobel *et al.*, 1987) y en *Opuntia amyclaea* desarrollándose bajo cultivo con abonado y fertilización en el Estado de México (2.42%; López, 1988). Esteban y Gallardo (1994) reportaron que la concentración de K cambió estacionalmente con una clara disminución de 1.4% en el invierno a 0.19% en el verano y parte del otoño, asociando este cambio a la demanda estacional de la planta de *Opuntia ficus-indica* en las etapas de crecimiento y desarrollo de fruta. Resultados afines encontraron Karim *et al.* (1994) quienes indicaron que los niveles de K se correlacionaron positivamente con el rendimiento de fruta de varias accesiones de *Opuntia*, indicando sin embargo, que en los primeros estados de desarrollo de la fruta los niveles de K en el tejido del cladodio son altos, pero su nivel disminuye de manera marcada conforme grandes cantidades de K se exportan de los cladodios a los frutos cuando ellos llegan a la madurez (verano-otoño). Con base en esta experiencia los autores sostuvieron que los muestreos en esta época (cladodios con frutos) pueden ser no ilustrativos de los requerimientos para la máxima productividad de *Opuntia*.

4.2.5.4 Calcio

En relación a la concentración de Ca, no se detectó significancia estadística por efecto de tratamientos, ni se observó ningún tipo de tendencia en sus valores promedio (Cuadro 13); en cambio, la acumulación de Ca en los diferentes órganos de la planta correspondió al patrón de distribución de este elemento (Marschner, 1986 y Mengel y Kirkby, 1987). El comportamiento del Ca es opuesto el descrito para el N, P y K, y refleja en primer instancia, las diferencias de movilidad y con ello de translocación dentro de la planta, es decir, a diferencia de los primeros tres elementos, el Ca es considerado poco móvil dentro de la planta por lo que las cantidades translocadas en el floema son bajas y por tanto resultan en concentraciones reducidas en los órganos de la parte aérea de la planta, tal y como lo señalaron Engels y Marschner (1993) para plántulas de Maíz. El Ca presentó una mayor acumulación en los cladodios basales, los de más edad, y se puede atribuir a que

este elemento es utilizado principalmente en la síntesis de pectina de la lámina media de la pared celular (Bidwel, 1979). Otro argumento sobre la acumulación del Ca en tejidos de órganos maduros lo proporciona Marschner (1986), quién lo asoció con el movimiento del agua, es decir con la transpiración, indicando que se ha encontrado una correlación positiva entre la distribución de Ca y la transpiración de las partes aéreas de la planta, de manera que se ha llegado a proponer que para incrementar el contenido de Ca en los frutos en crecimiento es más efectivo incrementar la velocidad de transpiración que aumentar los niveles de Ca en el medio externo. Con base en el reconocimiento de la baja movilidad del Ca y a la mayor edad, y por tanto una mayor transpiración acumulada, se puede explicar el mayor contenido de Ca en los cladodios basales.

Con base en los resultados obtenidos, en general, se puede establecer que la concentración de Ca en las plantas de nopal (0.45% en promedio) fueron similares que los reportados para maíz (0.3-0.7%; Reuter, 1986) y comparativamente menores con la de tejidos de otros cultivos forrajeros y hortícolas (1.3-2.7%; Piggott, 1986, Robinson, 1986, Olivares, 1987, y Salisbury y Ross, 1994), menores a los niveles promedio de otras plantas nativas perennes (0.8-4.44%; El-Ghonemy *et al.*, 1978, Nobel, 1983, Lengyel, 1988 y Nobel y Berry, 1994) y marcadamente inferiores a los niveles de Ca registrados en plantas del mismo género *Opuntia*, para el cual se han registrado concentraciones de 6 a 8.67%, en base a peso seco, en el clorénquima de *Opuntia ficus-indica* (Nobel, 1983 y Estaban y Gallardo, 1994), de 9.66% en plantas de *Opuntia engelmannii* (Nobel *et al.*, 1987) y hasta 7.65% en cladodios de *Opuntia amyclaea* T. (Lara *et al.*, 1990). Para *Opuntia ficus-indica* los altos niveles de Ca se pueden asociar con células que almacenan y secretan mucilago, que es un polisacarido fibroso adhesivo, compuesto de cerca de 30, 000 subunidades de azúcar (principalmente, arabinosa, galactosa, ramnosa y gilosa junto con ácido galacturónico, Gibson y Nobel, 1986). Con base en tales datos, los resultados obtenidos en el presente trabajo son difíciles de explicar, pues aún que el patrón de distribución en la planta se cumple, los rangos de su concentración fueron 15 a 20 veces menores a los rangos antes reportados

4.2.5.5 Magnesio

La concentración promedio de Mg en los tejidos de plantas de nopal fue generalmente baja, con valores oscilaron entre 0.27 a 0.37%, en base peso seco, sin que se registraran diferencias significativas por efecto de tratamientos. Las elevadas concentraciones de cationes en material vegetal que recurrentemente se reportan al emplear únicamente NO_3^- (Mengel y Kirkby, 1987 y Engels y Marschner, 1993) es un fenómeno que difícilmente se puede corroborar a partir de la determinación de la concentración de los mismos en el tejido vegetal, ya que la tendencia observada en el presente experimento en relación a la concentración del K fue mayor conforme se incrementó el N-NH_4 en el medio nutritivo, lo cual pudieran contradecir dicha teoría, por lo que resulta prudente considerar otros procesos vinculados directamente con las tasas de acumulación, tales como las tasas de absorción, translocación y particularmente la retranslocación de la parte aérea a otros sitios de demanda como la raíz. Desafortunadamente, el presente estudio adoleció de tales determinaciones por lo que sólo se puede recurrir a los resultados de Engels y Marschner (1993) quienes comprobaron que los flujos de cationes (K^+ , Ca^{++} y Mg^{++}), en el xilema se deprimieron con la nutrición a base de NH_4^+ , sugiriendo con ello el papel específico de la forma nitrogenada en la translocación de cationes, agregando los autores, que a pesar de ello, la concentración de estos cationes en la parte aérea no se redujo y fue similar a la provocada por la nutrición con NO_3^- , indicando la ocurrencia de un reciclaje sobre todo de K y Mg de la parte aérea a la raíz.

Lo anterior puede ayudar a explicar la significancia estadística resultante de la prueba de Tukey (Cuadro 12), de la cual se desprende que la mayor concentración de Mg se localizó en la raíz, siendo superior en 23.8 y 45.2% que en los cladodios basales y cladodios en crecimiento, respectivamente. En general, se puede establecer que la concentración de Mg en las plantas de nopal (0.27% en promedio) fue similar que la concentración encontrada en otras especies cultivadas como el maíz (0.3%; Reuter, 1986), alfalfa (0.273%; Olivares, 1987), Chile (0.25-1.25%; Piggott, 1986) y durazno (0.3%; Robinson, 1986), y son también similares al promedio del contenido de N foliar de 20 especies de plantas perennes del desierto de Mohave (0.3%; El-Ghonemy *et al.*, 1978), pero resultó cinco veces menor los valores reportados para plantas de la misma especie de nopal bajo

cultivo (1.43%; Nobel, 1983) y creciendo en condiciones silvestres en España (1.31-1.73%; Esteban y Gallardo, 1994).

4.2.6 Variables ecofisiológicas

El propósito de esta fase del ensayo fue determinar la influencia de la fuente nitrogenada sobre la tasa de intercambio de CO₂ (TIC) y algunas otras variables ecofisiológicas en el nopal; sin embargo, se tuvieron limitaciones en cuanto a la adecuación del equipo de medición, por tanto únicamente se obtuvo información de las variables microclimáticas (temperatura del aire y humedad relativa) y fisicoquímicas de planta (temperatura y densidad del tallo, conductancia estomática, pH y % de ácido málico). No obstante las limitaciones anteriores la información lograda puede ser de interés para el entendimiento del proceso metabólico de la especie en estudio.

4.2.6.1 Correlaciones

En el Cuadro 15 se presentan la matriz de correlación para las variables microclimáticas y de plantas de nopal creciendo en soluciones nutritivas bajo invernadero. Los coeficientes de correlación (*r*) de Pearson sugieren que existen correlaciones altamente significativas prácticamente entre todas las variables medidas, excepto entre el pH del tejido y la densidad del cladodio.

4.2.6.2 Variables microclimáticas

En el presente estudio se encontró que la conductancia estomática estuvo asociada en forma inversa con la temperatura ambiental y del tallo ($r=-0.92$, en ambos casos) y con los cambios diurnos de acidez titulable ($r=-0.598$), en tanto que se correlacionó positivamente con la densidad ($r=0.412$) y pH del tejido ($r=0.682$), y por consiguiente, el comportamiento de estas mismas variables describieron una tendencia contraria con la humedad relativa (ver Figuras 8-A, B y C).

Cuadro 15. Coeficientes de correlación y p-valores entre algunas variables microclimáticas y de plantas de nopal creciendo en soluciones nutritivas en condiciones de invernadero.

	pH	Humedad relativa	Temperatura ambiente	Densidad del tejido	Acidez titulable	Temperatura del tallo	Conductancia estomática
pH	1.000 0.0						
Humedad relativa	-0.636 0.0001	1.000 0.0					
Temp. ambiente	0.686 0.0001	-0.972 0.0001	1.000 0.0				
Densidad del tejido	0.094 0.306	-0.437 0.0001	0.412 0.0001	1.000 0.0			
Acidez titulable	-0.920 0.0001	0.538 0.0001	-0.598 0.0001	-0.208 0.022	1.000 0.0		
Temperatura del tallo	0.682 0.0001	-0.979 0.0001	0.998 0.0001	0.419 0.0001	-0.591 0.0001	1.000 0.0	
Conductancia estomática	-0.629 0.0001	0.944 0.0001	-0.921 0.0001	-0.373 0.0001	0.522 0.0001	-0.921 0.0001	1.000 0.0
Hora de muestreo	-0.775 0.0001	0.809 0.0001	-0.552 0.0001	-0.001 0.0001	0.557 0.0001	-0.843 0.0001	0.727 0.0001

Las correlaciones negativas entre la temperatura ambiental y del tallo con la conductancia estomática y con la acidez titulable, destacan por su significado en el funcionamiento de la planta, en la medida que ambas variables están directamente relacionadas con el intercambio y asimilación de CO₂; de ahí que el conocimiento de los cambios de estos factores microclimáticos es de trascendencia debido a que las reacciones metabólicas y en particular la fotosíntesis son afectadas fuertemente por la temperatura (Jones, 1986), hecho corroborado por Ortíz (1995) en plantas de Pitahaya (*Hylocereus undatus*) irrigadas y con estrés hídrico en condiciones de invernadero, reportando la autora que las plantas con riego y bajo estrés hídrico moderado el intervalo para su máxima tasa de intercambio de CO₂ (TIC) fluctuó de los 15.5 a los 10 °C, en tanto que en plantas con mayor estrés hídrico la máxima TIC se incrementó a temperaturas menores de 10 °C.

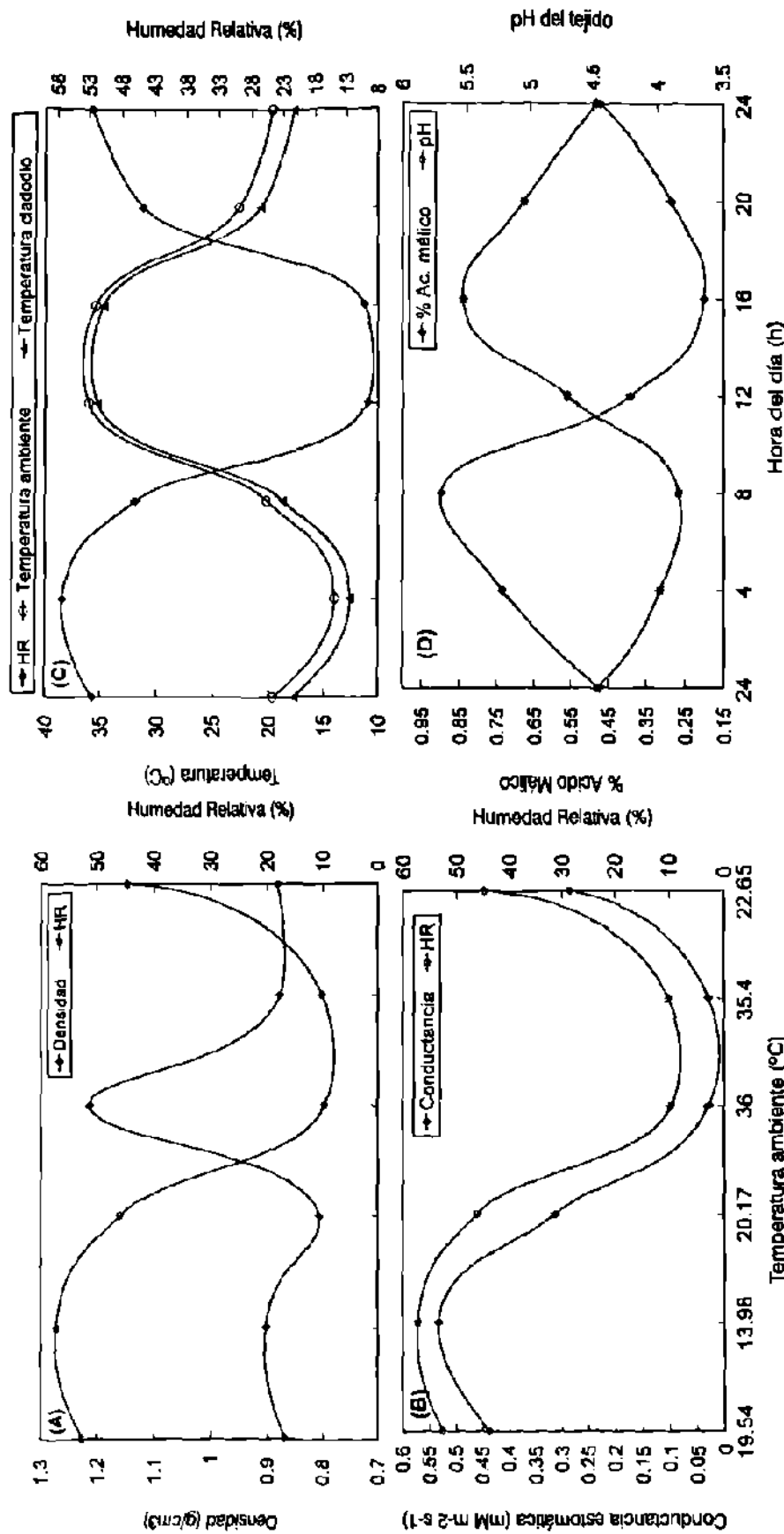


Figura 8. Densidad del tejido de cladodios en crecimiento(A). Conductancia estomática y humedad relativa en función de la temperatura del aire (B). Fluctuaciones diurnas de la temperatura ambiente y del tallo (C), y (D) comportamiento de la acidez titulable (%de ácido málico) y pH del tejido en plantas de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) desarrollando en soluciones nutritivas aireadas bajo condiciones de invernadero.

4.2.6.3 Efecto de tratamientos sobre las variables fisicoquímicas de la planta

Se realizaron análisis de varianza a fin de conocer la influencia de la forma nitrogenada sobre algunas propiedades físicas y químicas del tejido de cladodios en crecimiento asociadas con el tipo metabolismo fotosintético de la planta de nopal (temperatura, densidad, conductancia estomática, pH y acidez titulable, % de ácido málico).

De los datos del Cuadro 16 se desprende que no existieron diferencias significativas para ninguna de las cuatro variables por efecto de tratamientos, lo que sugiere que la densidad, la conductancia estomática, el pH y el % de ácido málico en el tejido de plantas de nopal creciendo en condiciones de hidroponia no fueron influenciados por la forma nitrogenada, independientemente de la relación en que se suministraron en la solución nutritiva.

Cuadro 16. Efecto de diferentes relaciones N-NO₃:N-NH₄ sobre cuatro variables fisicoquímicas de cladodios en crecimiento de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. creciendo en condiciones de invernadero.

TRATAMIENTO (N-NO ₃ / N-NH ₄)	Densidad (g cm ⁻³)	Conductancia estomática (mM m ⁻² s ⁻¹)	pH	Acidez Titulable (% Ac. málico)
1 (150/0)	0.904 a	0.281 a	4.60 a	0.474 a
2 (100/50)	0.938 a	0.264 a	4.56 a	0.521 a
3 (75/75)	0.918 a	0.272 a	4.56 a	0.490 a
4 (50/100)	0.942 a	0.274 a	4.56 a	0.495 a
5 (0/150)	0.930 a	0.274 a	4.55 a	0.526 a

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha = 0.05$.

En relación a estos resultados, Nobel (1988a) indicó que la máxima acumulación nocturna de ácido (% de ácido málico) varía aleatoriamente con los niveles de muchos elementos tanto en agaves

y cactus; no obstante, de todos los elementos probados en 20 especies de estas dos taxas, la absorción nocturna de CO₂ y la acumulación nocturna de ácido se correlacionó positivamente con el contenido de N en los tejidos, hecho no corroborado con los datos disponibles del presente trabajo ($r=-0.268$). Aquí cabría el señalamiento, que en algunos trabajos previos (Nerd y Nobel, 1995) se ha documentado el incremento de nitrógeno total o de alguna otra fracción nitrogenada como el N-NO₃ en el tejido de plantas de nopal; sin embargo, las diferencias encontradas obedecen a las concentraciones extremas (de 0.4 a 16 mM de NO₃⁻) empleadas en las soluciones nutritivas más que por efecto de la absorción y asimilación de cualquiera de las dos formas nitrogenadas.

En el contexto anterior, es donde se ha podido corroborar la correlación entre el contenido de N y la acumulación nocturna de ácido málico. En cuanto a la densidad y al pH del tejido, los resultados sugieren que existe un comportamiento aleatorio de ambas variables con relación a las fuentes y proporciones de N suministrado.

4.2.6.4 Fluctuaciones diurnas de las variables fisicoquímicas de cladodios en crecimiento

El análisis de varianza realizado para las variables fisicoquímicas, para humedad relativa y temperatura del ambiente y del tallo, resultaron en diferencias altamente significativas ($p<0.01$) en función de la hora de realización de muestreo (Cuadro 17), lo cual es un claro indicio de los cambios diurnos de algunos procesos metabólicos de la planta de nopal. No se detectó interacción entre relaciones N-NO₃:N-NH₄ y hora de muestreo.

Tal y como se estableció en el inciso 4.2.6.1, la temperatura y la humedad relativa del ambiente del interior del invernadero presentaron cambios diurnos muy marcados, alcanzando fluctuaciones promedio entre 13.98 y 36.05 °C a las 4:00 y las 12:00 h en la primera variable, y de 57.2 y 9.65 % para la segunda, en las mismas horas de muestreo, describiéndose entre ellas una relación inversa (Figura 8-C). Estas fluctuaciones estuvieron relacionadas con el comportamiento de las variables fisicoquímicas de la planta de nopal, tal y como a continuación se describen.

Cuadro 17. Cambios diurnos de las variables microclimáticas y fisicoquímicas de cladodios en crecimiento de plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., creciendo en condiciones de invernadero.

Hora del día	Humedad Relativa (%)	Densidad (g cm ⁻³)	Conductancia estomática (mM m ⁻² s ⁻¹)	pH	Acidez Titulable (% Ac. málico)	Temperatura (°C)	
						Ambiente	Tallo
0 (24)	52.50 b	0.868 b	0.438 b	4.47 d	0.471 c	19.54 c	17.68 c
4	57.20 a	0.902 b	0.533 a	3.98 e	0.734 b	13.98 d	12.54 d
8	46.00 c	0.826 b	0.312 c	3.84 f	0.898 a	20.17 c	18.7 c
12	9.65 d	1.212 a	0.029 d	4.71 c	0.393 c	36.05 a	35.23 a
16	10.20 d	0.878 b	0.029 d	5.53 a	0.199 d	35.40 a	34.71 a
20	44.85 c	0.882 b	0.286 c	5.05 b	0.285 d	22.65 b	20.73 b

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes a un $\alpha = 0.05$.

4.2.6.4.1 Temperatura y densidad

En relación a la temperatura de los tallos, ésta fue siempre ligeramente menor que la temperatura del ambiente presentando una tendencia casi idéntica (Figura 8-C), con una correlación de 0.998. Sin embargo, se ha documentado que la temperatura del tallo de plantas CAM (*Hylocereus undatus*) puede ser mayor que la temperatura del aire, tanto en el día como en la noche, cuando las plantas se mantuvieron bajo un estrés hídrico (Ortiz, 1995), mientras que la temperatura de tallos de plantas con buen abastecimiento de agua fue menor que la del ambiente, tal y como sucedió en el presente estudio, en el que las plantas se mantuvieron permanentemente en solución, y por consiguiente, es muy probable que hayan ocurrido mayores tasas de transpiración, lo que ayuda a disminuir la temperatura de la planta.

Con respecto a la densidad del tejido, para la que se detectó diferencias altamente significativas, la prueba de Tukey corroboró que ésta fue superior a la hora más caliente (36.05 °C en promedio a las 12:00 h) que el valor de densidad registrado en el resto de las horas de muestreo.

Esta tendencia sugiere que el peso del tejido durante la noche, cuando se registran las temperaturas más bajas, es mayor debido a la apertura estomatal e intercambio gaseoso y la consiguiente pérdida de agua, de manera que al mediodía (Figura 9-A) al encontrarse prácticamente cerrados los estomas (Figura 9-B) la pérdida de agua es menor y por tanto el peso por unidad de volumen de tejido es mayor.

4.2.6.4.2 Conductancia estomática

Las diferencias encontradas en la conductancia estomática (Cuadro 17 y Figura 9-B) fueron muy marcadas en función de la hora de muestreo, registrándose los valores más altos ($0.533 \text{ mM m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a las 04:00 h, cuando la temperatura fue la más baja ($13.9 \text{ }^\circ\text{C}$ en promedio) y la humedad relativa alta (57.2 %). Resultados similares reportó Ortiz (1995) en plantas de *Hylocereus undatus*, y son acordes con lo reportado por Nobel (1988a) en otras cactáceas.

El comportamiento de la conductancia estomática con la temperatura ambiente, se puede explicar a partir del reconocimiento de que las temperaturas diurnas más altas conducen a una mayor pérdida de agua a través de los estomas abiertos, respecto a la que se da en la noche; así, el proceso de apertura estomática nocturna y su cierre durante el día es crucial para la conservación del agua en condiciones de sequía. No obstante, en condiciones en que la conservación del agua no es de importancia, como podría ser después de una lluvia o bien como ocurrió durante la conducción del presente experimento donde la planta de nopal estuvo permanentemente en agua, la mayoría de las plantas CAM, (Nobel, 1994), pueden mantener los estomas abiertos después del amanecer y al caer la tarde, con lo que es posible la toma de CO_2 en horas con sol y entonces fijarlo al igual que en plantas C_3 , sin perder tanta agua como ocurriría a mediodía. Con lo anterior, se logra una tasa máxima diaria de absorción de CO_2 , con respecto a la que se obtiene con la apertura de los estomas solo durante la noche (Osmond, 1978, Nobel, 1988a y 1994). Adicionalmente, Acevedo *et al.* (1983) indicaron que la apertura estomática y la acumulación nocturna de ácido málico disminuyen con la ocurrencia de un estrés hídrico.

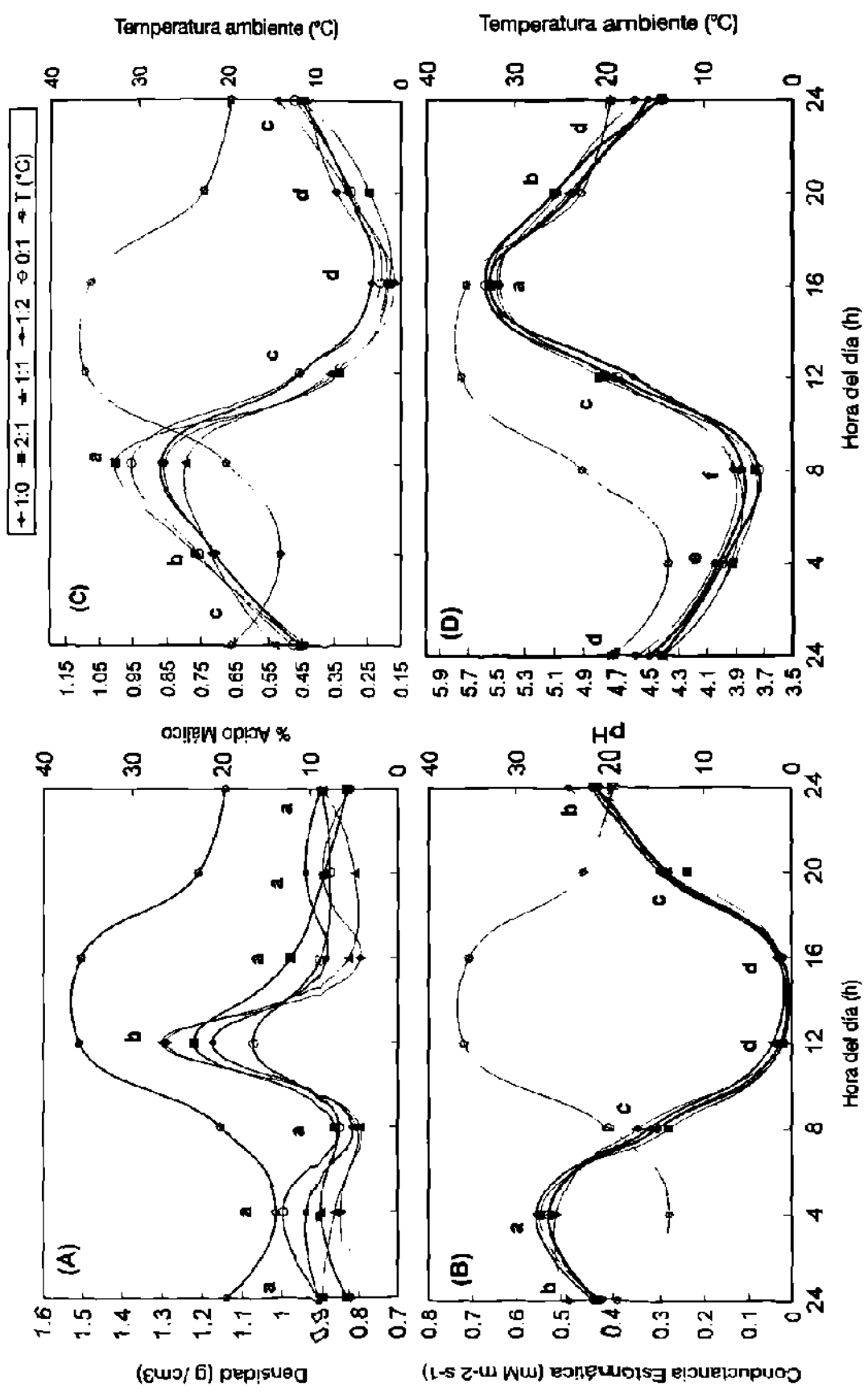


Figura 9 Fluctuaciones diurnas de: la densidad del tejido de cladodios en crecimiento (A); conductancia estomática (B); acidez titulable (%de ácido máfico) (C), y; pH del tejido (D), en plantas de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) creciendo en soluciones nutritivas aireadas bajo condiciones de invernadero.

A partir de los resultados anteriores, se ajustó una relación funcional entre la conductancia estomática y la temperatura del ambiente; sin embargo, la dispersión de las observaciones sugirieron la existencia de pendientes diferentes, debidas al comportamiento diferencial de la conductancia estomática a diferentes amplitudes de temperatura, de ahí que se hayan ajustado tres modelos de regresión (Figura 10).

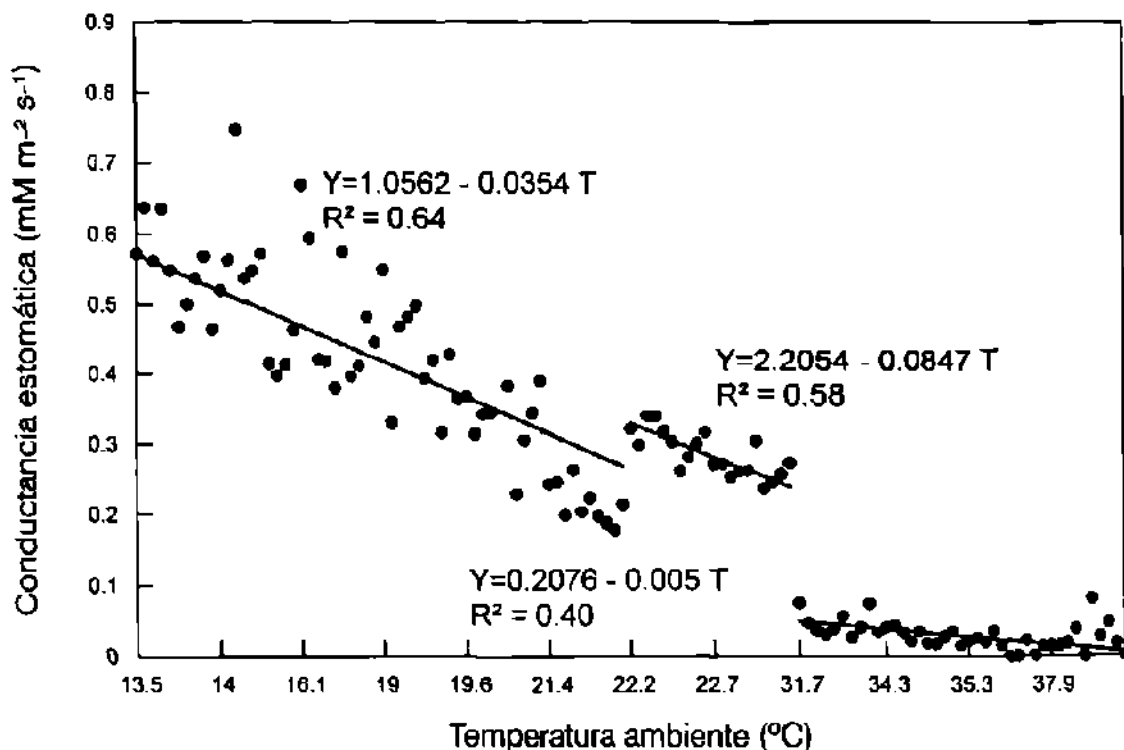


Figura 10. Relaciones entre la temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$) y la conductancia estomática ($\text{mM m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de cladodios en crecimiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. desarrollando con el suministro de 150 mg L^{-1} de nitrógeno en cinco relaciones $\text{N-NO}_3 : \text{N-NH}_4$ diferentes, bajo condiciones de invernadero.

4.2.6.4.3 Acidez titulable

Dada la dificultad de medir la tasa de intercambio de CO_2 (TIC) en el presente trabajo, la determinación de los cambios en la acidez titulable resultan apropiados como indicadores de dicho proceso, toda vez que el proceso fotosintético CAM es considerado como la fluctuación de una masa

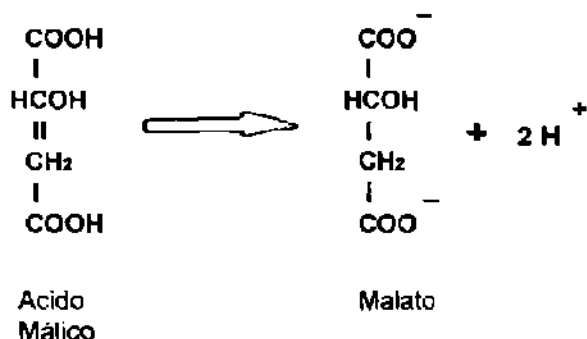
ácida titulable, cuantificada como ácido málico, el cual es producto de la fijación de CO₂ con la participación de fosfoenol-piruvato (PEP) y de la enzima PEP-carboxilasa (Ting, 1985); este patrón resulta en una variación diurna extrema en el contenido de ácido de los cladodios (Rodríguez y Cantwell, 1988).

Los resultados del presente estudio (Cuadro 17 y Figura 9-C) mostraron diferencias altamente significativas para el % de ácido málico entre todas las horas de muestreo, registrándose los valores más altos a las 08:00 h (0.898 % de ácido málico) y los más bajos a las 16:00 h (0.199 % de ácido málico). Estos resultados coinciden con otros reportes sobre los cambios en la acidez de plantas de nopal (Nobel, 1988a, Rodríguez y Cantwell, 1988, Cantwell *et al*, 1991 y Cantwell, 1991) y en otras cactáceas, tales como *Hylocereus undatus* (Ortiz, 1995). Las fluctuaciones diurnas en el contenido de acidez titulable, varía con la edad del cladodio y con la especie, así lo reportaron Rodríguez y Cantwell (1988), quienes determinaron que conforme el tamaño (largo) del nopalito se incrementó con la edad, el % de acidez titulable también se incrementó de manera significativa, en tanto que al comparar los cambios sucedidos en *O. amyclaea*, *O. ficus-indica* y *O. inermis*, encontraron que los cladodios de la tercer especie mostraron significativamente más ácido en todos los estados de desarrollo considerados en su estudio, que en las dos primeras especies. Los valores reportados para *O. ficus-indica* en el trabajo de referencia oscilaron entre 0.28 y 0.52 % de ácido málico, mientras en el presente trabajo se registró hasta 0.89 % en el muestreo de las 08:00 h.

Asimismo, los resultados obtenidos se ajustan a las fases del proceso de intercambio de CO₂ en las plantas CAM, propuestas por Osmond (1978) para plantas con buen abastecimiento de agua (CAM irrigadas). En la Figura 9-C se observa que conforme transcurre la noche, ocurre una acumulación de ácido málico, característica de la carboxilación (Fase I); a partir de la 08:00 h se inicia un descenso en la concentración del ácido málico, lo cual es un indicador de la interrupción de fijación de CO₂ y de una activa descarboxilación del mismo (Fases I y II) acompañada del cierre de los estomas (Figura 9-B); finalmente, la Fase IV se inicia cuando el ácido málico llega al nivel mínimo, los estomas tienden a abrirse e inicia de nueva cuenta la acumulación nocturna de ácido.

4.2.6.4.4 pH

En relación a los cambios diurnos del pH del tejido de cladodios en crecimiento, se registraron diferencias altamente significativas en todas las horas de muestreo, correspondiendo los valores más altos (5.53) al muestreo realizado a las 16:00 h, en el que coincidió también el menor contenido de ácido málico (0.119 %), describiéndose una relación inversa entre ambas variables (Cuadro 17 y Figura 8-D). Este comportamiento se puede explicar en la medida que el pH del tejido proviene de la disociación de los ácidos orgánicos predominantes y de su constante de disociación (K_a), ya que a mayor K_a corresponde también una mayor liberación de H^+ . En el caso de plantas CAM como el nopal, el principal tipo de ácido presente, sobre todo en la fase oscura, es el málico (Ting, 1985), el cual es un ácido diprótico, ésto es, tiene la capacidad de aportar dos H^+ por cada mol de malato, como se muestra en la ecuación siguiente:



sin embargo, la primer disociación es la que determina en mayor magnitud el pH, debido a que su $K_{a(1)} = 4.0 \times 10^{-4}$, en tanto que el protón (H^+) que se obtiene de la segunda disociación, presenta una $K_{a(2)} = 8.9 \times 10^{-6}$ (Skoog y West, 1982). Con base en lo anterior, se establece que la $K_{a(1)}$ y fundamentalmente la concentración de ácido málico determinan el pH en el citosol de plantas CAM.

Lo anterior sugiere que el pH es una propiedad química que reflejan las fluctuaciones diurnas de la concentración de ácido málico y, por tanto, la dinámica del fenómeno de fijación de CO_2 por este tipo de plantas. En consecuencia, se consideró importante obtener una relación funcional entre el pII y la acidez titulable, encontrándose un modelo de tipo exponencial ($R^2 = 0.89$), el cual se

linearizó ($R^2 = 0.90$) a fin de facilitar su interpretación (Figura 11-A y B). La definición del pH como variable independiente en el modelo ajustado, se basó en el hecho de que la determinación del pH mediante el potenciómetro es un método sensible a la detección de los H^+ causantes de la acidez y además es un procedimiento sencillo y barato, por lo que su uso, auxiliado de los modelos ajustados permiten la predicción de la concentración de ácido málico, con una confiabilidad aceptable.

Finalmente, es oportuno señalar que además de la importancia y significado funcional o fisiológico que representa el contenido de ácido en los cladodios, desde un punto de vista de su aprovechamiento en la dieta humana, se convierte en un importante factor de calidad en la medida que la acidez, que dependerá de la hora de cosecha, afecta el sabor y aceptabilidad de los nopalitos por los consumidores.

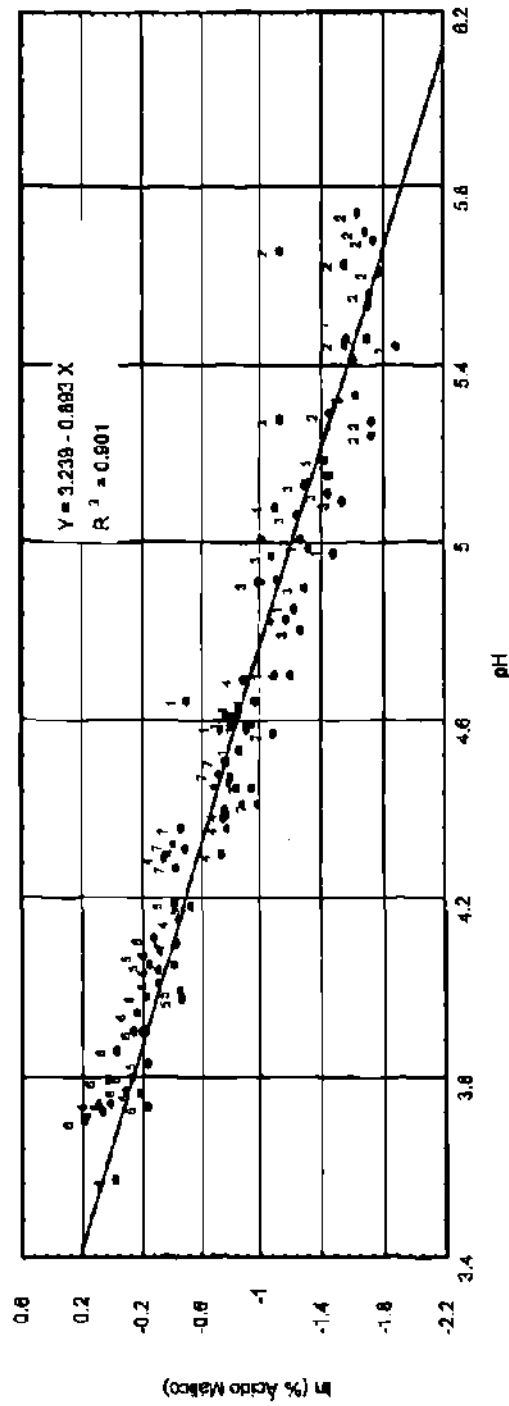
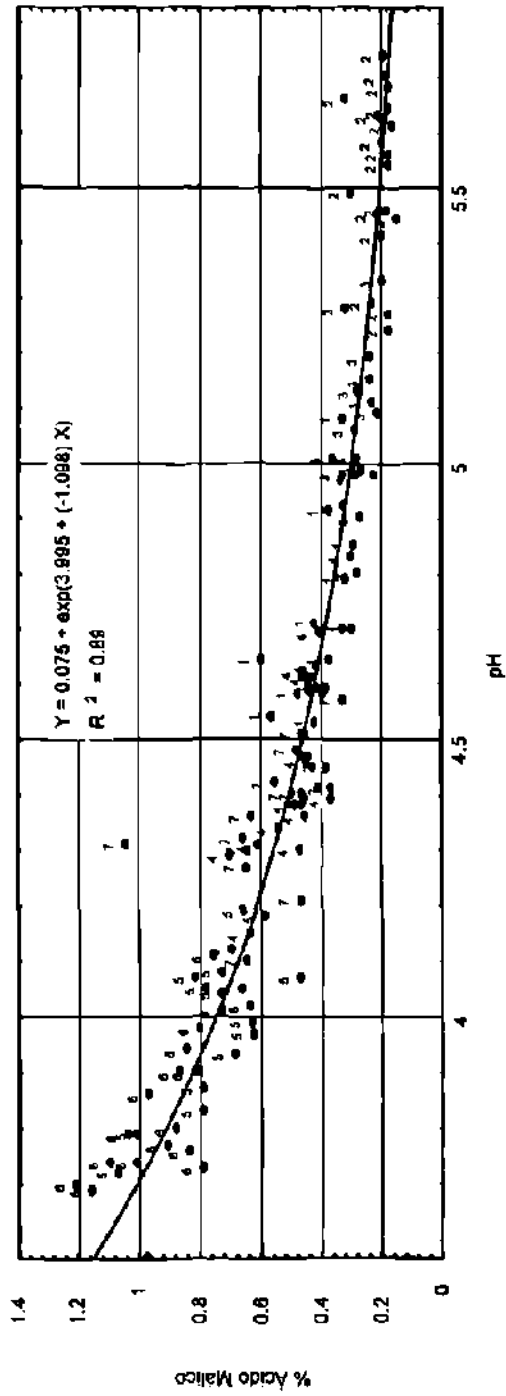


Figura 11. Relación entre: (A) % de ácido málico y el pH; y, (B) ln del % de ácido málico y el pH del tejido de cladodios en crecimiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., desarrollando con el suministro de 150 mg L⁻¹ de nitrógeno en cinco relaciones N-NO₃:N-NH₄ diferentes, bajo condiciones de invernadero.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base en las conclusiones particulares establecidas a partir de los resultados del experimento 1, la hipótesis postulada sobre las diferencias en la cinética de absorción de las formas nitrogenadas no se rechaza.

1. La planta de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., creciendo en condiciones de hidroponia, mostró una tasa de absorción de nitrógeno mayor cuando el medio nutritivo se suministró con $N-NO_3$ que con sales de $N-NH_4$.
2. Los niveles de absorción mas altos de $N-NO_3$ se asociaron a una mayor producción de materia seca, con lo que se confirma que el nopal, así como muchas otras especies de plantas, crece mejor cuando se suministra esta forma nitrogenada.
3. El pH de la solución nutritiva cambió durante el desarrollo del experimento, se elevó en el tratamiento de $N-NO_3$ y disminuyó en el tratamiento $N-NH_4$.

En relación a las dos hipótesis de trabajo presentadas en el contexto del experimento 2 se concluye que:

1. La planta de *Opuntia ficus-indica*, creciendo en condiciones de hidroponia, mostró una mayor actividad de las enzimas nitrato reductasa y glutamino sintetasa cuando el medio nutritivo se suministró con relaciones $N-NO_3:N-NH_4$ altas, corroborándose la dependencia de la ANR de la concentración de $N-NO_3$ en el medio nutritivo, de manera que la segunda hipótesis no se rechaza.
2. La nitrato reductasa y la glutamina sintetasa tuvieron un comportamiento similar, registrándose su mayor actividad en la raíz comparativamente con la actividad que fue observada en los cladodios, lo que sugiere que bajo las condiciones en que se condujo el experimento, el sitio de asimilación del NO_3^- se localizó preferentemente en la raíz.

3. El mayor contenido de proteínas solubles se asoció a mayores concentraciones de $N-NH_4$ en la solución nutritiva y sus mayores concentraciones se localizaron en la raíz.
4. El contenido promedio de nitratos en el tejido vegetal fue mayor conforme las soluciones nutritivas incluyeron mayor suministro de $N-NO_3$ en las relaciones $N-NO_3:N-NH_4$, corroborándose su dependencia de la concentración de $N-NO_3$ en el medio externo. Los niveles altos de $N-NO_3$ en los cladodios en crecimiento resultaron acordes con los valores más bajos de la ANR.
5. La concentración de N, P, K, Ca, y Mg de la planta de nopal no se vio influenciada por el suministro de diferentes relaciones $N-NO_3:N-NH_4$, detectándose diferencias altamente significativas en función de la edad y tipo de órgano de la planta. Esto permitió caracterizar la condición nutrimental y el patrón de distribución de cada uno de los elementos evaluados. Por consiguiente, la hipótesis tres se rechaza, dado que, utilizando los análisis estadísticos (ANVA y Tukey) no fue posible detectar diferencia significativas en la concentración de macronutrientes por efecto de las fuentes nitrogenadas empleadas.
6. La aplicación de diferentes proporciones de $N-NO_3:N-NH_4$ no causaron diferencias significativas en las variables densidad, conductancia estomática, pH y acidez titulable (% de ácido málico) de cladodios en crecimiento. Por tanto, no fue posible comprobar que la composición de la fuente nitrogenada afecta la asimilación de CO_2 , en términos de algunos indicadores colaterales de este proceso fisiológico de la planta de nopal.
7. Las variables microclimáticas y de plantas de nopal mostraron fluctuaciones diurnas marcadas, destacándose los cambios del pH del tejido asociados a la acumulación nocturna de ácido. Considerando que el ácido málico es producto de la fijación de CO_2 , con la participación de la PEPcase, la acumulación nocturna de ácido (acidez titulable expresada como % de ácido málico), constituye un indicador apropiado de los niveles de absorción de CO_2 en la planta de nopal.

Del análisis conjunto de ambos experimentos se recomienda lo siguiente:

En trabajos posteriores sobre cinética de absorción de formas nitrogenadas, es importante considerar el balance total de aniones/cationes y su relación con la absorción N-NO₃ o N-NH₄.

En el estudio de la asimilación del NO₃⁻ debe ampliarse el espectro de muestreo, considerando la edad y tipo de raíces y tallos, la concentración de nitrógeno en el medio externo y el tiempo de contacto con éste, así como la periodicidad de los muestreos a fin de conocer los cambios temporales de la actividad enzimática, ya que los resultados del presente trabajo son puntuales y pueden ser concluyentes únicamente para las condiciones bajo las que se desarrolló la fase experimental. De ser posible, se debe abordar el estudio de factores más específicos que intervienen en la regulación de la actividad de la NR, tales como NADH, NAD(P)H, o bien la influencia genética a través de la determinación de transcritores génicos, etc.

Dado que en nuestro país se carece casi por completo de trabajos, tanto de campo como de invernadero, sobre las tasas fotosintéticas en especies del género *Opuntia*, es conveniente adecuar al menos el equipo de medición disponible para tales propósitos en otro tipo de plantas, y de esta manera sustentar la relación existente entre nutrición nitrogenada y fotosíntesis, y por consiguiente con la productividad de la especie.

Del análisis conjunto de ambos experimentos se recomienda lo siguiente:

En trabajos posteriores sobre cinética de absorción de formas nitrogenadas, es importante considerar el balance total de aniones/cationes y su relación con la absorción N-NO₃ o N-NH₄.

En el estudio de la asimilación del NO₃⁻ debe ampliarse el espectro de muestreo, considerando la edad y tipo de raíces y tallos, la concentración de nitrógeno en el medio externo y el tiempo de contacto con éste, así como la periodicidad de los muestreos a fin de conocer los cambios temporales de la actividad enzimática, ya que los resultados del presente trabajo son puntuales y pueden ser concluyentes únicamente para las condiciones bajo las que se desarrollo la fase experimental. De ser posible, se debe abordar el estudio de factores más específicos que intervienen en la regulación de la actividad de la NR, tales como NADH, NAD(P)H, o bien la influencia genética a través de la determinación de transcritores génicos, etc.

Dado que en nuestro país se carece casi por completo de trabajos, tanto de campo como de invernadero, sobre las tasas fotosintéticas en especies del género *Opuntia*, es conveniente adecuar al menos el equipo de medición disponible para tales propósitos en otro tipo de plantas, y de esta manera sustentar la relación existente entre nutrición nitrogenada y fotosíntesis, y por consiguiente con la productividad de la especie.

6 BIBLIOGRAFIA

- Acevedo, E., I. Badilla and P. S. Nobel. 1983. Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiol.* 72:775-780.
- Agbaria, H., B. Heuer and N. Zieslin. 1996. Shoot-root effects on nitrate reductase and glutamine synthetase in rose (*Rosa x hybrida* cvs. Ilseta and Mercedes) graftlings. *J. Plant Physiol.* 149:559-563.
- Amâncio P., S. H. Santos. 1992. Nitrate and ammonium assimilation of roots of maize (*Zea mays* L.) seedlings as investigated by *In vivo* ^{15}N -NMR. *J. of Experimental Botany* 43:633-639.
- Barbera, G. e P. Ingleses. 1993. La coltura del ficodindia. Frutticoltura. Bologna, Italia. 188 p.
- Berry, W. L. and P. S. Nobel. 1985. Influence of soil and mineral stresses on cacti. *Journal of plant Nutrition* 8(8):679-696.
- Bidwell, R. G. S. 1979. Fisiologia vegetal. AGT Editor. México. 784 p.
- Binkley, D. 1993. Nutrición Forestal: Prácticas de Manejo. UTEHA. México, D.F. 518 p.
- Björkman, O. and J. Berry. 1973. High-efficiency photosynthesis. *Scientific American* 229(4):80-93.
- Botella, M. A., C. Cruz, M. A. Martins-Louçao and A. Cerda. 1993. Nitrate reductase activity in Wheat seedlings as affected by $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio and salinity. *J. Plant Physiol.* 142:531-536.
- Bould, C. 1966. Leaf analysis of deciduous trees. In: N.F. Childers (ed.). *Temperate to Tropical Fruit Nutrition*. Horticulture Publications. New Brunswick, N. J. pp 651-684.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México Vol. 1, 2ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico, D.F.
- Brownell, P. F. 1994. Función del sodio como micronutriente vegetal. En: Salisbury, F. B. and C. W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D.F. pp 133-135.
- Calderón P., N. 1995. Efecto de la salinidad en la producción de materia seca y absorción nutricional de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia* spp). Tesis Profesional, División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 96 p.
- Cantwell, M. 1991. Quality and postharvest physiology of "nopalitos" and "tunas". *Proc. Second Annual Texas Prickly Pear Conference*. Texas Prickly Pear Council, McAllen, Tx. pp 50-66.
- _____, A. Rodríguez F. and F. Robles C. 1991. Postharvest physiology of nopalitos (Prickly pear cactus stems). *Scientia Horticulturae*. pp 1-12.

- _____. 1994. Composition and nutritive value of cactus fruits and stems. In: P. Felker and J. Moss (Eds.) Proceedings Fifth Annual Texas Prickly Pear Council. Texas Prickly Pear Council. Kingsville, Texas. pp 61-74.
- Cao, W. and T. W. Tibbitts. 1994. Responses of potatoes to solution pH levels With different form of nitrogen . *Journal of Plant Nutrition* 17(1):109-126.
- Cataldo, D. A., M. Hardon and L. E. Schrader. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of sallicilic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6:71-80.
- Cleseri, L. S., A. E. Greenberg and R. R. Trussell. 1989. Standar Methods for the Eexamination of Water and Wstewater. 17th Edition. American Public Health Association. Washington, D. C.
- Coletto, J. M. 1989. Crecimiento y Desarrollo de las Especies Frutales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 140 p.
- Cruz H., J. P.; A. López G. y G. Baca C. 1990. Inducción de deficiencias de macronutrientos y de Fe en nopal tunero (*Opuntia* spp). En: J.J. López G. y M.J. Ayala O. (Eds.). El nopal su conocimiento y aprovechamiento, III Reunión Nacional y I Internacional (memorias). UAAAN. Buenavista, Saltillo, Méx. pp 215-224.
- Dirr, M. A. 1975. Effect of nitrogen form and pH on growth, NO₃-N, NH₄-N and total N content of container-grown doublefile viburnum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 100(3):216-218.
- Dias, E. G., de-C. G. Queiroz, and de-J. P. Lemos-Filo. 1995. Nitrate reductasa activity at diferent stages of development of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) seedlings. *Revista Brasileira de Botanica.* 18(2):133-136.
- El-Ghonemy, A. A., A. Wallace and E. M. Romney. 1978. Nutrient concentrations in the natural vegetation of the Mohave desert. *Soil Science.* 126:219-229.
- Emes, M. J. and M. W. Fowler. 1979. The intracellular location of the enzymes of nitrate assimilation in the apices of seedling pea roots. *Planta* 144:249-253.
- Engels, C. and H. Marschner. 1993. Influence of the form of nitrogen supply on root uptake and translocation of cations in the xylem exudate of maize (*Zea mays* L.). *J. of Experimental Botany.* 268(44):1695-1701.
- Epstein, E. 1972. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. John Wiley and Sons, Inc. New York. 412 p.
- Esteban V., E. and F. Gallardo L. 1994. Nutrition and macronutrient metabolism in prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*). *Arid Soil Research and Rehabilitation.* 8(3):235-246.

- Flores V., C. A. y C. Gallegos V. 1993. Situación y perspectivas de la producción de tuna en la Región Centro-Norte de México. CIESTAAM-CRUCEN, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx. 44 p.
- Gallegos V., C. 1993. Informe de la visita a la Universidad de Palermo y recorrido a través de las principales áreas productoras de nopal tunero en el sur de Italia. Centro Regional Universitario Centro Norte, UACH. El Orito, Zac. 23 p. (mecanografiado inédito).
- Gathaara, G. N., P. Felker and M. Land. 1989. Influence of nitrogen and phosphorus application on *Opuntia engelmannii* tissue N concentrations, biomass production and fruit yield. *J. Arid. Envir.* 16:337-347.
- Gibson, A., and P. S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. Cambridge. 286 p.
- Givan, C. V. 1979. Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. *Phytochemistry* 18:375-381.
- Griffith, S. M. and D. Streeter. 1994. Nitrate and ammonium nutrition in ryegrass: changes in growth and chemical composition under hidroponic conditions. *Journal of Plant Nutrition* 17(1):71-81.
- González, C. L. and J. H. Everitt. 1990. Fertilizer effects on the quality and production of prickly pear cactus and its wildlife value. In: *Proceedings first Annual Texas Prickly Pear Council*. TPPC. Kinsville, Texas. pp 3-13.
- Hageman, R. H. 1992. Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants. In: *Nitrogen in Crop Production*. American Society of Agronomy Inc., Crop Science Society of America Inc. and Soil Science Society of America Inc. USA. pp 67-88.
- Jingquan, I. and Ch. Dewei. 1988. Effects of different nitrogen forms on tomato grown in carbonized rice hull. *Soilless Culture* 4(2):51-61.
- Jones, H. G. 1986. *Plants and Microclimate: a Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*. Second reprinted. Cambridge University Press. New York. 323 p.
- Jones, J. B. Jr. 1985. Soil testing and plant analysis: guides to the fertilization of horticultural crops. *Horticultural Reviews* 7:1-68.
- Karim, M. R., P. Felker and R. L. Bingham. 1994. Correlations between cactus pear (*Opuntia* spp) cladode nutrient concentrations and fruit yield and quality. In: P. Felker and J. Moss (Eds.) *Proceedings Fifth Annual Texas Prickly Pear Council*. Texas Prickly Pear Council. Kingsville, Texas. pp 31-50.

- Kirkby, E. A. and A. H. Knight, 1977. The influence of the level of nitrate nutrition on ion uptake and assimilation, organic acids accumulation and cation-anion balance in whole tomato plant. *Plant Physiol.* 60:349-353.
- Lainé P., A. O. and J. Boucaud. 1995. Shoot control of nitrate uptake rates by roots of *Brassica napus* L.: Effects of localized nitrate supply. *Planta* 196:77-83.
- Lara S. R.; J. I. Cortes F.; A. López J. y P. Cruz H. 1990. Dinámica nutrimental en nopal tunero (*Opuntia amyoclaea* T.). Con diferentes fuentes de fertilización. En: IV Reunión Nacional y II encuentro Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas. Zacatecas, Zac. pp 29.
- Lea, P. J. 1988. Asimilación del amoníaco y biosíntesis de los aminoácidos. En: J. Coombs, D.O. Hall, S.P. Long y J.M.O. Scurlock (eds.). Técnicas en Fotosíntesis y Bioproductividad. Colegio de Postgraduados. Editorial FUTURA. Texcoco, Edo. de Méx. pp 143-154.
- Lehninger, A. L. 1977. Biochemistry. Second edition. Worth Publication, Inc.
- Lengyel, A. D. 1988. The use of soil of plant analysis in maximizing growth, production and freeze resistance of jojoba. In 7th International Jojoba Conference. Phoenix, Az.
- López M., J. L. 1988. Contenidos nutrimentales en tallos y raíces de nopal tunero (*Opuntia amyoclaea* Tenore). Tesis Profesional, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx. 68 p.
- López J., A. y J. P. Cruz H. 1990. Efecto de la fertilización con N, P, K y tres fuentes de materia orgánica en nopal tunero (*Opuntia amyoclaea* T.). En: J. J. López G. y M.J. Ayala O. (Eds.). El nopal su Conocimiento y Aprovechamiento, III Reunión Nacional y I Internacional (Memorias). UAAAN. Buenavista, Saltillo, Méx. pp 149-154.
- López M., J. L.; J. P. Cruz H. y A. López J. 1990. Contenidos nutrimentales en tallos y raíces de nopal tunero (*Opuntia amyoclaea* T.). En: J. J. López G. y M.J. Ayala O. (Eds.). El nopal su conocimiento y aprovechamiento, III Reunión Nacional y I Internacional (memorias). UAAAN. Buenavista, Saltillo, Méx. pp 178-186.
- Lorenz, H. 1976. Nitrate ammonium and amino acids in bleeding sap of tomato plants in relation to the form and concentration of nitrogen in the medium. *Plant and Soil* 45:169-176.
- Maldonado, J. M. 1993. Asimilación del nitrógeno y del azufre. En: J. Azcon B. y M. Talon. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Interamericana-Mc Grow-Hill. Madrid, España. pp 215-236.
- Marschner, H. 1986. Mineral Nutritionin of Higer Plants. Academic Press. London. 674 p.

- Mass, E. V. and G. J. Hoffman. 1977. Crop Salt Tolerance - Current Assessment. Journal Irrigation and Drenaje Division, ASCE 103 (IRIZ): 115-134. Proceeding paper 12993.
- Méndez G., S. J. y J. J. Martínez H. 1990. Efecto de la fertilización química y orgánica en tres formas de nopal (*Opuntia* spp) sobre el rendimiento en una plantación comercial de Ojocaliente, Zacatecas. En: J. J. López G. y M.J. Ayala O. (Eds.). El Nopal su Conocimiento y Aprovechamiento, III Reunión Nacional y I Internacional (Memorias). UAAAN. Buenavista, Saltillo, Méx.
- Mengel, K. and E. A. Kirkby. 1987. Principles of Plant Nutrition. 4th ed. International Potash Institute. Bern, Switzerland. 687 p.
- Mondragón J., C. 1994. Fertilización de nopal tunero. En: G. Esparza F. y S. de J. Mendez G. (Eds.). Aportaciones técnicas y experiencias de la producción de tuna en Zacatecas (memorias). CECCAM, Morelos. Zac. pp 41-45.
- Mondragón J., C. y E. Pimienta B. 1990a. Corrección del "amarillamiento" del nopal tunero una posible deficiencia nutrimental. En memorias de resúmenes del IV Congreso Nacional y II Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del nopal. Zacatecas, Zac. pp 26-27.
- _____. 1990b. Fertilización orgánica y química del nopal tunero en Zonas Semiaridas. En memorias de resúmenes del IV Congreso Nacional y II Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del nopal. Zacatecas, Zac. pp 28.
- Nerd, A., A. Karady and Y. Mizrahi. 1991. Out-of-season pricklypear: fruit characteristics and effect of fertilization and short droughts on productivity. Am. Soc. for Horticultural Science, 26(5):527-529.
- _____ and Y. Mizrahi. 1992. Effects of fertilization on prickly pear production in Israel. In: Proceedings 3rd Annual Texas Prickly Pear Council. TPPC. Kingsville Texas. pp 1-4.
- _____ and Y. Mizrahi. 1993. Cultural practices for cactus pear in Israel for year-round production. In: Proceedings 4th annual, Texas Prickly pear Council. TPPC. Kingsville, Texas. pp 77-80.
- _____ and P. S. Nobel. 1995. Accumulation, partitioning, and assimilation of nitrate by *Opuntia ficus-indica*. J. of Plant Nutrition 18(12):2533-2549.
- Nobel, P. S. 1983. Nutrient levels in cacti-relation to nocturnal acid accumulation and growth. Amer. J. Bot. 70(8):1244-1253.
- _____ and T. L. Hartsock. 1984. Physiological responses of *Opuntia ficus-indica* to growth temperature. Physiol. Plant. 60:98-105.

- _____ and W. L. Berry. 1985. Element responses of agaves. *American Journal of Botany* 72:686-694.
- _____ and T. L. Hartsock. 1986. Influence of nitrogen and other nutrients on the growth of *Agave deserti*. *J. of Plant nutrition* 9(10):1273-1288.
- _____ Ch. E. Russell, P. Felker, J. Galo M. and E. Acuña. 1987. Nutrient relations and productivity of prickly pear cacti. *Agron. J.* 79(3):550-555.
- _____. 1988a. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press. USA. 270 p.
- _____ 1988b. Productivity of desert succulents. In: E. E. Whitehead, Ch. F. Hutchinson, B. N. Timmermann and R. G. Varady (Eds). *Arid lands today and tomorrow.. Wetview Press*. Boulder, Colorado. pp 137-147.
- _____ 1994. *Remarkable Agaves and Cacti*. Oxford University Press. New York, USA. 166 p.
- _____. 1995. *Recent ecophysiological advances for Opuntia ficus-indica and other cacti*. 10 p. (mecanografiado inédito).
- Novoa, R. and R. S. Loomis. 1981. Nitrogen and plant production. *Plant and Soil* 58, 177-204.
- Oaks A., P. and B. Hirel. 1985. Nitrogen metabolism in roots. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36:345-365.
- Olivares S., E. 1987. *Physiological differences in alfalfa populations selected for high and low P concentration*. Dissertation for the Degree Doctor of Philosophy. New Mexico State University. Las Cruces, N. M. 120 p.
- Olivares S., E. 1994. *Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5*. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, N. L.
- Ortiz H., Y. D. 1995. *Avances en el conocimiento ecofisiológico de la pitahaya (Hylocereus undatus)*. Tesis de Doctor en Ciencias, Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de Méx. 159 p.
- Osaki, M., J. Shirai, T. Shinano and T. Tadano. 1995. Effects of ammonium and nitrate assimilation on the growth and tuber swelling of potato plants. *Soil Sci. Plant Nutrition* 41(4):709-719.
- Osmond, C. B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29:379-414.

- Pan, W. L., W. A. Jackson and R. H. Moll. 1985. Nitrate uptake and partitioning by corn (*Zea mays* L.) root systems and associated morphological differences among genotypes and stages of root development. *Journal of Experimental Botany*. 170(36):1341-1351.
- Pate, J. S. 1973. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol. Biochem.* 5, 109-119.
- Peña R., R. 1989. Contribución al estudio de algunos mecanismos de adaptación de la soya (*Glicine max* L.) a la clorosis férrica. Tesis Maestría en Ciencias, Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Tex., Méx. 162 p.
- Piggott, T. L. 1986. Vegetable crops. In: Reuter, D.J. and J.B. Robinson (Eds.). *Plant Analysis: An Interpretation Manual*. Inkata Press. Sydney, Australia. pp 147-187.
- Pimienta B., E. 1990. El nopal tunero. Universidad Autónoma de Guadalajara. Jalisco, Méx. 235 p.
- Reporter, M. 1988. Fijación de nitrógeno. En: J. Coombs, D. O. Hall, S. P. Long y J. M. O. Scurlock (eds.). *Técnicas en Fotosíntesis y Bioproductividad*. Colegio de Postgraduados. Editorial FUTURA. Texcoco, Edo. de Méx. pp 131-136.
- Reuter, D. J. 1986. Temperate and sub-tropical crops. In: Reuter, D. J. and J. B. Robinson (Eds.). *Plant analysis: An interpretation manual*. Inkata Press. Sydney, Australia. pp 38-99.
- Robinson, J. B. 1986. Fruits, vines and nuts. In: Reuter, D. J. and J. B. Robinson (Eds.). *Plant Analysis: An Interpretation Manual*. Inkata Press. Sydney, Australia. pp 120-146.
- Rodríguez F., A. and M. Cantwell. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition* 38:83-93.
- Rodríguez, F. 1996. *Fertilizantes - Nutrición Vegetal*. 6ª reimpresión. AGT Editor. México. 157 p.
- Sandoval V., M. 1991. Efecto de diferentes relaciones amonio nitrato sobre el cultivo del trigo (*Triticum aestivum* L. cv *Slamanca S - 75*). Tesis de Maestría en Ciencias, Programa de Edafología, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Tex., Méx. 123 p.
- Santos, Y., J. M. Almeida and R. Salema. 1992. Influence of nitrogen nutrition on growth, nitrate reductase and nitrite reductase of seedlings of maize (*Zea mays* L. cv LG12). *J. of Plant Nutrition*, 15(11):2531-2544.
- Scheinvar, L. 1995. Taxonomy of utilized opuntias. In. *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and Protection Paper 132. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. pp 20-27.

- Salisbury, F. B. and C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D.F. 759 p.
- Schrader, L. E. 1992. Functions and transformations of nitrogen in higher plants. In: *Nitrogen in Crop Production*. American Society of Agronomy Inc., Crop Science Society of America Inc. and Soil Science Society of America Inc. USA. pp 55-66.
- Siddiqi M. Y., A. D. M. Glass, T. J. Ruth and T. w. Ruffy. 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley. I. Kinetics of $^{13}\text{NO}_3^-$ influx. *Plant Physiol.* 93:1426-1432.
- Skoog, D. A. and D. M. West. 1982. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Edit. Saunde College Publishing.
- Smith, F. W. 1986. Interpretation of plant analysis: concepts and principles. In: Reuter, D.J. and J.B. Robinson (Eds.). *Plant Analysis: An Interpretation Manual*. Inkata Press. Sydney, Australia. pp 1-12.
- Sood, Ch. R., S. V. Chanda and Y. D. Singh. 1995. Effect of plant growth regulators on nitrate uptake and its reduction in radish cotyledons. *Journal of Plant Nutrition* 18(12):2595-2607.
- Taiz, L. and E. Seiger. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood city, Ca., USA. 559 p.
- Takano, T. 1987. On an anionic balance in plant inorganic nutrition. *J. Plant. Nutr.* 10:1605-1611.
- Ting, I. P. 1985. Crassulacean acid metabolism. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 36:595-622.
- Valdéz C., R. D. 1997. Análisis estocástico espacial de procesos edáficos y de plantas en *Zea mays* L. Tesis de Doctor en Ciencias, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, N. L., México. 91 p.
- Vázquez A., E. R. and C. Gallegos V. 1995. Organic fertilitation of young tender pads of *Opuntia* spp in Nuevo León, México. In: *Proceedings of Professional Association for Cactus Development, First Annual Conference*. 15-17 Setember 1995. San Antonio, Tx. pp 49-60.
- Wang, M. Y., M. Y. Sddiqi, T. J. Ruth and A. D. M. Glass. 1993. Ammonium uptake by rice roots. I. Fluxes and subcelular distribution of $^{13}\text{NH}_4^+$. *Plant Physiol.* 103:1249:1258.
- Wentworth, T. R. and E. A. Davidson. 1987. Foliar mineral elements in native plants on contrasting rock types: multivariate pattern and nutrient balance regulation. *Soil Sci.* 144:190-202.
- Woods, A. E. and L. W. Aurand. 1976. Calculations used in food aalysis. In: *Laboratory manual in food chemistry*. AVI Publishing Company, Inc. USA. pp 62-63.

7 APENDICE

Cuadro A-1. Curvas de calibración obtenidas en los procedimientos de análisis químico de algunas variables medidas.

VARIABLE	METODO DE ANALISIS	MODELO AJUSTADO	R^2
NO ₃ ⁻ (Solución nutritiva)	Clesceri <i>et al.</i> (1989)	NO ₃ ⁻ = -0.5122 + 95.52 Abs.	0.99
NO ₃ ⁻ (Tejido vegetal)	Cataldo <i>et al.</i> (1975)	NO ₃ ⁻ = -0.9659 + 142.04 Abs.	0.99
ANR	<i>In vivo</i> (Peña, 1989)	NO ₂ ⁻ = -0.0052 + 0.0942 Abs	0.98
Proteína soluble	Lowry (1951)	% proteína = -5.5 + 142.80 Abs	0.98

Abs. = Absorbancia.

Nota: La absorbancia para NO₃⁻ y ANR se determinó a 540 nm y a 510 nm. para proteínas.

Cuadro A-2. Valores de pH y conductividad eléctrica de las soluciones nutritivas, en las diferentes fechas de reposición durante la conducción del experimento 2. .

Tratamiento (N-NO ₃ :N-NH ₄)	Fecha de reposición de solución nutritiva					
	19/05/97		29/05/97		07/06/97	
	pH	CE	pH	CE	pH	CE
1 (150:0)	5.85	2.35	5.78	2.32	5.89	2.13
2 (100:50)	5.78	2.39	5.73	2.62	5.84	2.44
3 (75:75)	5.83	2.65	5.67	2.76	5.84	2.63
4 (50:100)	5.81	2.74	5.74	2.87	5.87	2.83
5 (0:150)	5.82	2.86	5.70	2.23	5.85	3.16

CE=Conductividad Eléctrica (dS m⁻²)

Cuadro A-3. Resumen de los valores del cuadrado medio del error de los análisis de varianza para la actividad de la nitrato reductasa (ANR), glutamina sintetasa (AGS) y el contenido de proteína soluble y nitratos en el tejido vegetal de diferentes órganos de la planta en el experimento 2.

Fuente de Variación	gl	ANR	AGS	Proteína	NO ₃
Tratamiento	4	103725**	6.67*	5.302	50645.5**
Organo	2	1119991**	13.98**	306.078**	11770.8*
T * O	8	49941**	3.34	2.483	2407.4
Error	45	7885	2.47	3.472	4415.1
Total	59	57675	3.26	13.720	7256.5

*Significativo a $\alpha = 0.05$

**Significativo a $\alpha = 0.01$

Cuadro A-4. Resumen de los valores del cuadrado medio del error de los análisis de varianza para la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio en el tejido vegetal de diferentes órganos de la planta en el experimento 2.

Fuente de Variación	gl	N	P	K	Ca	Mg
Tratamiento	4	0.192	0.051	0.183	0.010	0.018
Organo	2	9.801**	0.840**	5.846**	1.159**	0.183**
T * O	8	0.137	0.026	0.359*	0.027	0.006
Error	45	0.145	0.027	0.151	0.028	0.020
Total	59	0.474	0.056	0.375	0.065	0.023

*Significativo a $\alpha = 0.05$

**Significativo a $\alpha = 0.01$



