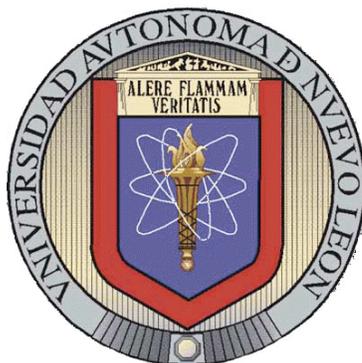


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**IDENTIFICACIÓN DE PECTINAS Y MUCÍLAGO DE CUATRO
VARIEDADES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* L.) MILLER Y
VALIDACIÓN DE SU ACTIVIDAD HIPOGLUCÉMICA**

Por

HERMILA TRINIDAD GARCÍA OSUNA

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS
Con Acentuación en Química de Productos Naturales**

Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

Junio de 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**IDENTIFICACIÓN DE PECTINAS Y MUCÍLAGO DE
CUATRO VARIEDADES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*
L.) MILLAR Y VALIDACIÓN DE SU ACTIVIDAD
HIPOGLUCÉMICA**

TESIS

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS
Con Acentuación en Química de Productos Naturales**

Presenta

HERMILA TRINIDAD GARCÍA OSUNA

Dra. Catalina Rivas Morales

Director Interno

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Director Externo

Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

Junio del 2013

**IDENTIFICACIÓN DE PECTINAS Y MUCÍLAGO DE CUATRO
VARIEDADES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* L.) MILLER Y
VALIDACIÓN DE SU ACTIVIDAD HIPOGLUCÉMICA**



Comité de Tesis

**Dra Catalina Rivas Morales
Presidente**

**Dra. Maria Eufemia Morales Rubio
Secretario**

**Dra. María Julia Verde Star
Vocal**

**Dra Maria Azucena Oranday Cárdenas
Vocal**

**Dra Catalina Leos Rivas
Vocal**

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada número CVU 177155.

A las Instituciones y Departamentos que me recibieron y apoyaron para la realización en la parte experimental del proyecto de tesis:

Universidad Autónoma de Nuevo León al Proyecto PAICYT SA330-10
Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorios de Fitoquímica y Química Analítica.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Laboratorio de Fisiología Vegetal,
Laboratorio de Nutrición Animal.

Universidad Autónoma de San Luis Potosí por el apoyo en la parte experimental.

A mis asesores:

Especialmente al Dr Adalberto Benavides Mendoza por ser un ejemplo a seguir en el respeto y dedicación al trabajo, por su apoyo y confianza para el desarrollo de esta investigación.

Dra Catalina Rivas Morales por su aceptación para dirigir mi tesis y por la confianza durante el desarrollo de la investigación.

Dra Eufemia Morales Rubio por su interés y ánimo para que continuará mi desarrollo profesional.

Dra Julia Verde Star por su confianza y apoyo para impulsar esta investigación.

Dra María Azucena Oranday Cárdenas por su amable colaboración y contribución en la culminación de este trabajo.

Dra Catalina Leos Rivas por ser parte de mi comité y su apoyo.

A mis amigos

Dr J. Antonio Díaz García por su gran generosidad al compartir su experiencia y enriquecer mi investigación. A su buen amigo el Dr. Rogelio Ramos Quiroga, del Centro de Investigación en Matemáticas de Guanajuato, Gto. que tan desinteresadamente participó en esta investigación.

Dr. Orlene Guerra Peraza por su amistad y dedicación en la revisión del artículo.

TQL. Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel por su amistad, confianza y apoyo brindado en el Laboratorio de nutrición y alimentos.

T.A. Norma Leticia Portos Gaona por su compañerismo y apoyo en las preparaciones histológicas.

Biól. María Guadalupe Moreno Ezquivel por su apoyo en la realización experimental del proyecto.

Por su siempre atenta y desinteresada colaboración para fortalecer este trabajo: QFB. Julia Medrano Macías, QFB. Erika N. Rivas Martínez y QFB. Saúl B. Reyes Aguilar.

Al personal de Posgrado por todas sus atenciones.

DEDICATORIAS

Gracias, desde lo más profundo de mi ser

A mis padres Beatriz y Cristóbal por permitirme transitar el camino de la vida y por demostrarme que la mayor vivencia es el amor.

A mi hermano Ricardo por el gran amor que te tengo y el gran significado que tienes en mi vida.

A mi cuñada Mónica por ser un pilar en su vida.

Y a mis sobrinos Ricard, Roser con todo mi amor.

A la familia que elegí y me acogió en su vida: “mis hijos”: Ana, Irene, Norma, Eleazar, Luis Fernando, “mis yernos” Mario, Alejandro, Fernando y Alfredo, a mi nuera Lulú y mi gran e inseparable amigo Rubén.

A mis “primas”: Cristy, Yola Tere y Mary.

A mi mayor regalo de vida: mis amigas que me han acompañado en este proyecto de vida apoyándome, cuidándome y expresando siempre su amor.

)		I
(&
~	iv
fi	vi
"	xii
" (.....)	xiv
\$	xvii
'	xix
~	xxi
·	1
°	3
"	4
	3.1 Objetivo General.....	4
	3.2 Objetivos Específicos.....	4
~	5
·	4.1 Origen y Distribución.....	5
	4.2 Taxonomía.....	5
	4.3 Descripción Botánica.....	6
	4.3.1 Características morfológicas de las variedades.....	6
	4.4 Ecofisiología.....	7
	4.5 Composición Química del Nopal.....	8
	4.5.1 Macrocomponentes.....	8

4.5.2	Minerales.....	11
4.5.3	Pectinas y mucílago.....	12
4.5.4	Compuestos bioactivos.....	14
4.6	Usos del Nopal.....	17
4.7	Producción de Nopal	18
4.7.1	Importancia Económica.....	18
4.7.2	Las características de calidad y propiedades funcionales del Nopal.....	19
4.8	Diabetes.....	21
4.8.1	Epidemiología.....	23
4.8.2	Etiología: genómica, estrés oxidativo.....	21
4.9	Mecanismos reguladores del metabolismo de carbohidratos.....	24
4.9.1	Hormonas.....	24
4.9.2	Fibra dietética.....	26
4.9.3	Polifenoles y Flavonoides.....	27
4.9.4	Triterpenos.....	28
5.	MATERIALES Y METODOS.....	30
5.1	Material Biológico	30
5.1.1	Material Vegetal	30
5.1.2	Material para ensayo biológico	30
5.2	Descripción del área de estudio	30
5.3	Características Ambientales del Área de Estudio.....	31
5.3.1	Clima.....	31
5.3.2	Suelo.....	31
5.3.3	Vegetación.....	32
5.4	Establecimiento de la Plantación.....	33
5.4.1	Condiciones a campo abierto.....	33
5.4.2	Condiciones de microtúnel.....	33
5.4.3	Condiciones en aplicación de yodo.....	33
5.5	Evaluación de variables en condiciones a campo abierto y microtúnel.....	35

5.5.1	Variables Agronómicas.....	35
5.5.1.1	Peso fresco y seco	35
5.5.1.2	Longitud, ancho y grosor.....	35
5.5.1.3	Número de brotes.	35
5.5.1.4	Firmeza	35
5.5.1.5	Color.....	35
5.5.2	Pruebas Químicas.....	36
5.5.2.1	Acidez titulable (%).	36
5.5.2.2	Sólidos solubles totales (°Brix).	37
5.5.2.3	Determinación del contenido de Vitamina C.....	37
5.5.3	Fraccionamiento de los cladodios.....	38
5.5.3.1	Métodos de extracción.....	38
5.5.3.2	Extracto metanólico.....	38
5.5.3.3	Extracto con <i>n</i> -butanol y acetato de etilo.....	39
5.5.3.4	Macrocomponentes.....	39
5.5.3.5	Minerales.....	40
5.5.3.6	Composición de azúcares del mucílago.....	40
5.5.3.7	Determinación de pectinas.....	41
5.5.3.8	Polifenoles totales.....	41
5.5.3.9	Flavonoides totales.....	42
5.5.3.10	Determinación de quercetina por HPLC.....	42
5.5.3.11	Ensayo enzimático.....	43
	a) Inhibición de α -glucosidasa.....	43
	b) Inhibición de α -amilasa.....	43
5.5.4	Determinaciones Histológicas.....	44
5.6	Validación de la Actividad Biológica de las fracciones pécticas y mucílago, flavonoides y triterpenos.....	45
5.6.1	Descripción del área de estudio.....	45
5.6.2	Ensayo biológico.....	46
5.6.2.1	Ratas sanas.....	46
5.6.2.2	Ratas inducidas a diabetes.....	46

5.7	Diseño Experimental.....	47
6.	RESULTADOS.....	48
6.1	Variables Agronómicas en condiciones a campo abierto.....	48
6.1.1	Longitud, ancho y grosor.....	48
6.1.2	Coefficiente longitud/ancho.....	49
6.1.3	Peso fresco y seco.....	49
6.1.4	Número de brotes y rendimiento.....	51
6.1.5	Firmeza y color.....	51
6.2	Variables químicas.....	53
6.2.1	Acidez titulable (%), pH y sólidos solubles (°Brix).....	53
6.3	Variables histológicas.....	53
6.3.1	Número de vasos de xilema, área de vaso, grosor de pared de vaso, área de células de mucílago y densidad estomática.....	53
6.4	Variables Agronómicas en condiciones de microtúnel.....	55
6.4.1	Longitud, ancho y grosor.....	55
6.4.2	Coefficiente longitud/ancho.....	55
6.4.3	Peso fresco y seco.....	56
6.4.4	Número de brotes y rendimiento.....	58
6.4.5	Color y firmeza	58
6.5	Variables químicas.....	59
6.5.1	Acidez titulable (%), pH y sólidos solubles (°Brix).....	59
6.6	Variables histológicas.....	59
6.6.1	Número de vasos de xilema, área de vaso, grosor de pared de vaso, área de células de mucílago y densidad estomática	59
6.7	Variables nutrimentales y funcionales.....	63
6.7.1	Variables bromatológicas.....	63
6.7.2	Minerales.....	67
6.7.3	Fenólicos totales, Flavonoides totales, vitamina C.....	73
6.7.4	Extracto de acetato de etilo.....	83
6.8	Pectinas y Mucílago.....	84
6.8.1	Pectinas.....	84

6.8.2	Mucílago.....	87
6.9	Ensayo enzimático.....	91
6.10	Aplicación de yodo.....	92
6.10.1	Variables de crecimiento y rendimiento.....	92
6.10.2	Variables de calidad.....	92
6.10.3	Variables bromatológicas, contenido de vitamina C y quercetina.....	92
6.10.4	Minerales.....	97
6.10.5	Caracterización histológica.....	100
6.10	Validación de la actividad biológica.....	101
7.	DISCUSIÓN.....	106
8.	CONCLUSIONES.....	123
9.	APÉNDICE	125
10.	LITERATURA CITADA	126
11.	RESUMEN BIOGRÁFICO.....	158

LISTA DE TABLAS

TABLAS		PÁGINA
I	Medias aritméticas de las variables morfométricas por cultivar.....	7
II	Composición Química del Nopal.....	9
III	Composición Química de <i>O. ficus-indica</i> en diferentes edades.....	10
IV	Composición Química de <i>O. ficus indica</i> cv Redonda.....	11
V	Componentes Bioactivos en el género <i>Opuntia</i> spp.....	15
VI	Variables agronómicas de Nopal en condiciones a campo abierto...	50
VII	Número de brotes y rendimiento de cuatro variedades de Nopal.....	51
VIII	Variables de color y firmeza en diferentes estadios y variedades de Nopal.....	52
IX	Variables químicas bajo condiciones de campo abierto en diferentes variedades de Nopal.....	54
X	Variables histológicas de cuatro cultivares de Nopal bajo condiciones de campo abierto.....	54
XI	Valores medios de variables agronómicas en cuatro cultivares de Nopal en condiciones de microtúnel.....	57
XII	Valores promedio de número de brotes y rendimiento de Nopal en condiciones de microtúnel.....	58
XIII	Valores promedio de variables de color y firmeza en Nopal bajo condiciones de microtúnel.....	60
XIV	Variables químicas de cuatro variedades de Nopal bajo condiciones de microtúnel.....	61
XV	Variables histológicas de cuatro variedades de Nopal bajo condiciones de microtúnel.....	62

XVI	Extracto de acetato de etilo (mg/g peso seco).....	83
XVII	Efecto inhibitorio de fitoquímicos sobre la α -amilasa y α -glucosidasa.....	91
XVIII	Variables de rendimiento y crecimiento de <i>Opuntia ficus indica</i> var Copena VI bajo los tratamientos con KIO ₃ y KI.....	94
XIX	Variables de calidad en <i>O. ficus-indica</i> var Copena VI con aplicaciones de KIO ₃ y KI.....	95
XX	Variables bromatológicas y contenido de Vitamina C en cladodios de <i>O. ficus indica</i> var. Copena VI, bajo tratamiento con KIO ₃ y KI.....	96
XXI	Contenido de quercetina bajo tratamiento de yodo.....	97
XXII	Contenido de minerales en 3 muestreos de cladodios de <i>Opuntia ficus-indica</i> var. Copena VI con aplicaciones de yodo por fertirriego.....	99
XXIII	Variables histológicas de <i>Opuntia ficus-indica</i> var. Copena VI de cuatro semanas de desarrollo.....	100

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		PÁGINA
1	Esquema de los principales dominios descritos en la molécula de pectina(Contreras-Ezquivel, 2003).....	13
2	Incidencia de nuevos casos de diabetes por entidad federativa primer bimestre de 2012 (SINAVE, semana 23 de 2012).....	20
3	Localización de secreción de incretinas en el intestino delgado y grueso en las células K y L, respectivamente (Tomado de Diakogiannaki <i>et al.</i> , 2012).....	23
4	Establecimiento de la plantación	26
5	Plantación en túnel en aplicación con yodo.....	28
6	Variables bromatológicas en dos condiciones ambientales A1-2 en diferentes variedades de nopal.....	64
7	Variables bromatológicas en tres estadios de desarrollo (B1, B2, B3) en diferentes condiciones ambientales(A1-A2) de nopal.....	65
8	Variables bromatológicas de cuatro cultivares (C) de Nopal.....	66
9	Relación entre estadios (B) y cultivares (C) en <i>O. ficus indica</i>	67
10	Minerales en condiciones de campo abierto (A1) y en microtúnel (A2) en <i>O. ficus indica</i>	68
11	Minerales en <i>O. ficus indica</i> bajo diferentes etapas de desarrollo (B).....	69
12	Interacción de los minerales (Y5-Y13) en los diferentes cultivares	

	de <i>O. ficus indica</i>	71
13	Interacción en el contenido de minerales entre estadios (B) y Cultivares (C) de <i>O. ficus indica</i>	73
14	Compuestos antioxidantes (fenólicos totales (Y14), flavonoides totales (Y15) y vitamina C (Y16)) bajo diferentes condiciones ambientales en <i>O. ficus indica</i>	75
15	Contenido de compuestos antioxidantes en tres estadios de desarrollo (B1-3) para <i>O. ficus indica</i>	76
16	Contenido de compuestos anioxidantes en tres estadios de desarrollo (B1-3) bajo dos condiciones ambientales (A1-2) para <i>O. ficus indica</i>	77
17	Contenido de compuestos anioxidantes (Y14-16) en 4 variedades (C1-4) de Nopal.....	79
18	Interacción en el contenido de compuestos antioxidantes entre ambientes (A1-2) y variedades (C1-4) para <i>O. ficus indica</i>	80
19	Interacción entre estadios (B1-3) y Variedades de <i>O. ficus indica</i>	82
20	Contenido en % de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio I.....	85
21	Contenido de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio II.....	86
22	Contenido en % de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio III.....	87
23	Cromatograma representativo del contenido de azúcares del mucílago de la variedad Villanueva.....	88
24	Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Copena VI.....	89
25	Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Jalpa....	90

26	Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Milpa Alta.....	90
27	Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Villanueva.....	91
28	Contenido de vitamina C bajo los tratamientos con yodo en Nopal..	97
29	Observación de vasos del xilema en cladodios de <i>Opuntia ficus-indica</i> bajo los tratamientos A= Testigo, B= Iodato, C=Ioduro con objetivo de 40X. La barra equivale a 100µM.....	100
30	Cortes transversales de <i>Opuntia ficus- indica</i> tomados con objetivo de 10X, mostrando la matriz mucilaginosa (flecha) en los diferentes tratamientos: A= Testigo, B= Iodato, C=Ioduro. La barra representa 1000 µM.....	101
31	CTG de ratas sanas en el día 1 posteriores a la administración de compuestos de nopal.....	102
32	CTG glucemia en ratas sanas en el tercer día de administración de compuestos de Nopal.....	102
33	3era lglucemia de ratas sanas en el quinto día de administarción de compuestos de Nopal.....	103
34	1era CTG de ratas diabéticas en el séptiimo dia de administración de compuestos de Nopal.....	103
35	2da CTG de ratas diabéticas en el noveno día de administración de compuestos de Nopal.....	106
36	3er CTG de ratas diabéticas en el oceavo día de administración de compuestos de Nopal.....	106

NOMENCLATURAS

cm	Centímetros
g fruto ⁻¹	Gramos por fruto
Kg planta ⁻¹	Kilogramos por planta
µm	Micrómetro o micra
mg/100g	Miligramos por 100 gramos
mm	Milímetros
t ha ⁻¹	Toneladas por hectárea
AV	Área de vaso
ACM	Área de células de mucílago
CA	Campo abierto
CLA	Coefficiente longitud/ancho
CAM	Metabolismo Ácido Crasuláceo
CTG	Curva de tolerancia a la glucosa
DE	Densidad estomática
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2
E1	Estadio 1
E2	Estadio 2

E3	Estadio 3
EE	Extracto étereo
FC	Fibra cruda
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
FOS	Fructooligosacárido
GPV	Grosor de pared de vaso
GOS	Galactooligosacé
IMC	Índice de Masa Corporal
MO	Materia Orgánica
NVX	Número de vasos de xilema
PC	Proteína cruda
PSA	Pectinas solubles al agua
PSO	Pectinas solubles al oxalato
PFK2	Fosfofructocinasa 2
PT	Pectinas totales
ROS	Especies reactivas de Oxígeno
T	Túnel
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad

RESUMEN

El nopal (*Opuntia ficus indica* L. Miller) es una planta que pertenece a la familia Cactaceae. El tallo de esta planta ha demostrado una correlación entre los usos etnobotánicos y los resultados experimentales, en el tratamiento de la diabetes, úlcera gástrica, enfermedades antiinflamatorias y quemaduras entre otras. Dada la importancia de sus propiedades funcionales se planteo evaluar el contenido de pectinas, mucílago, y compuestos fotoquímicos con validación biológica de su efecto hipoglucemiante en ratas sanas y ratas diabéticas. De igual importancia, se evaluaron las variables agronómicas, bromatológicas y antioxidantes de cuatro variedades de nopal (Copena VI, Jalpa Milpa Alta y Villanueva) en dos condiciones ambientales (campo abierto y microtúnel) y tres estadios de desarrollo (4, 6 y 8 semanas de desarrollo). Además, se aplicó yodo en forma de yodato y yoduro (10^{-6} M) bajo condiciones de túnel, para conocer las modificaciones a algunas variables previamente definidas y se realizó un análisis histológico con el propósito de observar morfogénesis en el cladodio. En lo que respecta a la variable pectinas solubles al agua (PSA) se observaron que todos los cultivares fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.001$). La variedad Copena presentó el mayor valor de PSA seguido por Villanueva, Jalpa y Milpa Alta. El contenido de pectinas solubles al oxalato (PSO) presenta un comportamiento sobresaliente en la variedad Villanueva ($p < 0.001$) mientras la variedad Copena, Milpa Alta y Jalpa observaron los menores valores y fueron estadísticamente iguales entre sí. En relación a las pectinas totales los resultados observados presentaron diferencia significativas en todos materiales ($p < 0.001$) y entre estadios. El contenido de mucílago presentó un contenido de ácidos urónicos en un rango de 45 a 61.5%, galactosa (5.3-9.1%), arabinosa (3.5-5%), xilosa (2-3%), mientras ramnosa (2%) y glucosa (1%). La MANOVA de variables bromatológicas, minerales y antioxidantes presentó diferencias significativas entre variedades y estadios. Copena observó mayor contenido de extracto etéreo y potasio, mientras el Cultivar Jalpa y Milpa Alta fueron significativos en fibra detergente neutra, Villanueva presentó significancia en contenido de minerales (Ca, Mg, Mn, Fe), fenólicos totales y flavonoides en el segundo estadio de desarrollo y mayor contenido de vitamina C. La aplicación de yodo en la variedad Copena VI presentó un incremento en el contenido de ácido ascórbico $> 51\%$ en ambos tratamientos con yodo, asimismo se observó un incremento en P, Fe K y Mg en el tratamiento con yodato. El tratamiento con yoduro incrementó el contenido de Cu y Mn en el primer muestreo. Las variables morfológicas presentaron modificaciones en el número de vasos del xilema con el tratamiento de yodato y un aumento en área de mucílago y contenido de drusas en ambos tratamientos. La validación de la actividad biológica no mostró significancia estadística entre fitoquímicos en ratas sanas. En ratas diabéticas los resultados sugieren que la pectina y mucílago, flavonoides y extracto de acetato de etilo tienen un efecto sobre la concentración de glucosa en la sangre cuando el consumo es mantenido un mínimo de 7 días, si el consumo se interrumpe la hiperglucemia se restablece.

ABSTRACT

The nopal (*Opuntia ficus indica* L. Miller) is a plant belonging to the family Cactaceae. The stem of this plant has shown a correlation between the ethnobotanical uses and the experimental results, in the treatment of diabetes, gastric ulcer, anti-inflammatory diseases and burns among others. Given the importance of its functional properties is raise to evaluate the content of pectin, mucilage, and phytochemical compounds with biological validation of their hypoglycemic effects in healthy rats and diabetic rats. Equally important, were evaluated the variables agronomics, bromatological and antioxidants of four varieties of nopal (Copena-VI, Jalpa Milpa high and Villanueva) in two environmental conditions (open field and microtunnel) and three stages of development (4, 6, and 8 weeks of development). In addition, applied iodine in the form of iodate and iodide (10^{-6} M) under conditions of tunnel, to know the changes to some of the variables previously defined and performed a histological analysis with the purpose of observing morphogenesis in the cladode. In regards to the variable water-soluble pectin (WSP) were observed that all cultivars were statistically different ($P < 0.001$). The variety Copena had the highest value of WSP followed by Villanueva, Jalpa and Milpa Alta. The content of oxalate soluble pectin (OSP) presents an outstanding features in Villanueva variety ($p < 0.001$) while the varieties Copena, Milpa Alta and Jalpa observed the lowest values and were statistically equal to each other. In relation to total pectin the results observed showed highly significant differences in all materials ($P < 0.001$) and between stages. The mucilage content showed content of uronic acids in a range of 45 to 61.5%, galactose (5.3 - 9.1%), arabinose (3.5 - 5%), xylose (2-3%), while rhamnose (2%) and glucose (1%). The MANOVA of variables antioxidants, minerals and bromatological presented significant differences among varieties and stages. Copena noted higher content of fat and potassium, while cultivating Jalpa and Milpa Alta were significant in neutral detergent fiber, Villanueva presented significance in content of minerals (Ca, Mg, Mn, Fe), total phenolic and flavonoids in the second stage of development and higher content of vitamin C. Application of iodine in the variety Copena VI showed an increase in the content of acid Ascorbic $> 51\%$ in both treatments with iodine, also was observed an increase in P, Fe, K, and Mg in treatment with iodate. Iodide treatment increased the content of Cu and Mn in the first sampling. The morphological variables presented changes in the number of vessels in xylem with iodide treatment and an increase in area of mucilage and content of druse in both treatments. The validation of the biological activity showed no statistical significance between phytochemicals in healthy rats. In diabetic rats, the results suggest that pectin and mucilage, flavonoids and ethyl acetate extract has an effect on the concentration of glucose in the blood when consumption is maintained a minimum of 7 days, if consumption is interrupted hyperglycemia is restored.

1. INTRODUCCIÓN

El nopal (*Opuntia ficus-indica* L) Miller pertenece a la familia Cactaceae. El tallo de esta planta ha demostrado una correlación entre los usos etnomédicos y los resultados experimentales, como en el tratamiento de la diabetes, úlcera gástrica, enfermedades antiinflamatorias y quemaduras.

Actualmente existe un interés creciente por la industria farmacéutica para la obtención de muestras que permitan el análisis estructural de los componentes activos de la planta. Mientras tanto, la fibra dietética sigue impulsado a la industria alimenticia para la obtención de productos que la incluyan a la dieta común de las personas.

La fibra dietética consiste en una serie de carbohidratos complejos, diferentes al almidón, más lignina. Todos ellos derivan de las plantas y comparten la característica de que no los digieren las enzimas del aparato digestivo de los humanos.

Las fibras viscosas (guar, pectina, etc.) se han empleado con resultados favorables para reducir el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), aunque esta disminución no sea tan marcada. Si esta medida va unida a la utilización de fórmulas de alimentos con almidón, la disminución del colesterol LDL, se acompaña también de un descenso de los triglicéridos, unidos a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLP).

Los cladodios del nopal presentan tanto pectinas como mucílago y ambos polisacáridos son empleados tanto en la industria farmacéutica como en la alimenticia.

Es por ello la importancia de identificar los mucílagos y las pectinas del nopal, ya que permitirá ampliar los usos a nivel industrial, farmacéutico y alimenticio.

Durante el proceso de maduración del nopalito, los componentes de la pared celular y de la lámina media de la célula vegetal experimentan notables variaciones estructurales

que modifican la textura del cladodio.

El conocimiento de las modificaciones de las diferentes fracciones de sustancias pécticas, pectina soluble al agua (PSA), pectina soluble al oxalato(PSO) y pectina soluble al ácido (PSA) a lo largo de la maduración del cladodio, presentan un gran interés. Por un lado, los grupos no metilados del ácido galacturónico poseen capacidad de retener ciertos minerales de importancia clínica reduciendo su disponibilidad confiriéndole propiedades antinutritivas; y por el otro, grupos metilados proporcionan un sustrato favorable para la acción de los probióticos.

2. HIPÓTESIS

Las fracciones pectínicas y el mucílago del nopal son responsables de su actividad hipoglucémica y las propiedades funcionales y nutricionales del nopal se pueden incrementar seleccionando el momento óptimo de cosecha.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo General

Identificar los componentes principales del mucílago y las fracciones de pectinas en diversos estadios de desarrollo de cuatro variedades de nopal y evaluar su actividad hipoglucémica.

3.2. Objetivos específicos

a).-Evaluar cuatro variedades de nopal en base a un criterio integral de variables agronómicas, histológicas y fitoquímicas.

b).-Seleccionar el momento óptimo de cosecha en función a un criterio de calidad basado en el contenido de sus metabolitos.

c).-Seleccionar la variedad de nopal de mayor calidad basado en factor de selección de propiedades fitoquímicas.

d).-Evaluar la actividad biológica de las fracciones péctnicas y mucílago para la disminución de la glucemia por medio de ensayos biológicos en ratones con hiperglucemia y diabéticos inducidos con estreptozotocina.

4. ANTECEDENTES

4.1. Origen y Distribución

El nopal o Chumbera (*Opuntia* spp., Cactaceae) es una planta originaria del continente Americano. Se distribuye desde Canadá hasta Argentina. Son plantas xerófitas, suculentas, espinosas y arborescentes, cuyos tallos son llamados cladodios o artículos.

La planta fue llevada a Europa por los primeros colonos españoles y se ha cultivado a lo largo de la costa mediterránea desde el siglo XVII (Retamal *et al.*, 1987)

4.2. Taxonomía

Reino: Plantae

Subreino: Embryophyta

División: Angiospermae

Clase: Dicotiledónea

Subclase: Dialipétalas

Orden: puntiales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Opuntioideae

Tribu: Opuntiae

Género: *Opuntia*

Especie: *ficus indica* L., Miller.

4.3 Descripción Botánica

El tallo está formado por cladodios aplanados y articulados de 30 a 60 cm de largo por 20-40 cm de ancho. Su superficie es de color verde opaca con hojas convertidas en espinas, en cladodios juveniles se observan hojas verdaderas de vida corta. Las flores son hermafroditas hemicilíca con el eje floral frecuentemente largo, de color variable. El gineceo es ínfero sincárpico, tiene de tres a ocho carpelos, con numerosos óvulos sobre placentas parietales (Weniger, 1979). Fruto formado por una baya polisperma, carnosa más o menos ovoide, desnuda o espinosa (Bravo, 1978).

4.3.1 Características morfológicas de las variedades

Existe una amplia riqueza de variedades en nuestro país, producto de un largo proceso de domesticación. Ésta es el resultado de cruza interespecíficas por selección artificial de generaciones cosechadas y propagadas sucesivamente de los fenotipos deseables (Casas y Barbera, 2002). Un buen ejemplo es la variedad Copena desarrolladas por el Dr. Facundo Barrientos de Chapingo (Flores y Corral, 2003).

Gallegos *et al.*, (2006) evaluaron las características morfológicas de cuarenta cultivares utilizados en plantaciones en la República, encontrando a la variedad Jalpa dentro de un grupo compacto con una superficie extremadamente cerosa y una relación largo/ancho muy grande. Los cultivares restantes entre los que se encuentran Villanueva, Copena VI y Milpa Alta forman un grupo compacto cuyas características presentan una combinación compleja de atributos morfológicos.

Valdéz-Cepeda y Blanco-Macías (1999) definen aspectos morfológicos de cuatro cultivares de nopal mediante análisis fractal. Por otra parte Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007) mencionan las características físicas y bioquímicas de 21 variedades de nopal de interés comercial en base a un análisis de componentes principales. Dentro de estas variedades se encuentran Milpa Alta, Villanueva y Jalpa (Tabla I).

Tabla I
Medias aritméticas de las variables morfométricas por cultivar

Cultivar	Peso fresco (gr)	Largo (cm)	Ancho (cm)	Relación largo/ancho (cm)
Copena V1(*)		19.45	9	2.16
Jalpa	114.05	18.58	10.19	1.82
Milpa Alta	101.49	22.44	10.42	1.88
Villanueva	91.33	20.49	10.92	2.16

Valdéz-Cepeda y Blanco-Macías, 1999.

4.4 Ecofisiología

Opuntia ficus indica presenta características fisiológicas y anatómicas que le permite adaptarse al medio árido. Presenta un Metabolismo Acido Crasuláceo (CAM por sus siglas en inglés). Esta senda metabólica fue descrita por primera vez en 1960 por Wolf y fue descrita para la familia Crasulaceae. La senda CAM es utilizada por el 6% de especies vegetales. En esta vía las plantas aperturan sus estomas por la noche con la consiguiente toma de CO₂ (Lüttge, 2004).

En opuntias, el género más grande de opuntioideae, donde las hojas tienden a ser efímeras, la captación máxima ocurre en la noche en los tallos (fase I). Bajo condiciones de alta humedad relativa y temperatura moderada, la captación de CO₂ puede ocurrir al amanecer. El CO₂ adquirido durante el día lo fija la rubisco, al igual que se fija el CO₂ que toman las plantas C₃ durante el día. La toma de CO₂ para *O. ficus-indica* es de aproximadamente 18 μmol m⁻² s⁻¹, y en condiciones óptimas es de 698 μmol m⁻² s⁻¹.

Para plantas terrestres, el mayor beneficio del metabolismo CAM es un aumento en el uso eficiente del agua, porque la pérdida de agua por transpiración se acompaña de

manera forzosa con la toma de CO₂. En las especies nativas CAM la apertura de estomas y por lo tanto la transpiración tienden a presentarse de noche, lo cual en gran medida reduce la pérdida de agua.

En *O. ficus-indica* bajo condiciones de sequía, la presión osmótica del parénquima es más bajo que el clorénquima por la polimerización de azúcares que llevan a la formación de granos de almidón favoreciendo el almacenamiento de agua en el parénquima. El parénquima presenta en sus espacios intercelulares una mayor cantidad de mucílago que el clorénquima (Goldstein *et al.*, 1991).

Otras características estructurales que participan en la conservación de agua es la densidad estomática. En promedio se observan entre 20 a 80 estomas por mm², en comparación con el rango de 100-300 por mm² para las hojas C3 y C4 (Nobel, 1998). La cutícula también representa un papel en la disminución de la pérdida de agua su grosor es de 5 a 30 mm de espesor mientras en plantas C₃ y C₄ su espesor es de 0.4 a 2 mm (Pimienta-Barrios and Nobel, 1998).

Una de las características adaptativas más notables en la morfología es la superficialidad de su sistema radicular. Se sabe que tanto la distribución como la extensión de las raíces están correlacionadas con la toma de agua. Un sistema radical superficial favorece la toma de agua en un entorno ecológico donde las lluvias son escasas y se presentan en períodos cortos (Nobel, 1998).

4.5 Composición Química del Nopal

4.5.1 Macrocomponentes

La composición química del cladodio determina su uso como material en la industria alimenticia.

El extracto libre de nitrógeno es alto e incluye la fibra tanto soluble como insoluble y algunos azúcares. Las cenizas depende de la composición del suelo pero sus mayores elementos corresponden a calcio y potasio; el sodio y fósforo están presentes en menor

cantidad. La fibra cruda aumenta con la edad del cladodio (Rodríguez-García *et al.*, 2007; Contreras-Padilla *et al.*, 2012).

Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) analizaron la composición química del nopal de tres especies de *Opuntia* en función de la edad del cladodio, encontrando diferencias significativas en el contenido entre éstas, principalmente en proteína, acidez titulable y carbohidratos. Los componentes con mayor variación durante el desarrollo fueron carotenos, acidez titulable y carbohidratos, la proteína y la fibra cruda disminuyen con la edad. Para *O. ficus indica* se reporta un sumario en la Tabla II.

Tabla II
Composición Química de *Opuntia ficus indica*

	Longitud 11-26 cm
Agua (%)	91.5
Carbohidratos (%)	58.1
EE (% MS)	2.7
PC(% MS)	12.0
FC(% MS)	12.9
Cenizas (%)	14.3
ÁAsc (mg/100g)	9.8
Caroteno(g/100g)	29.8

Rodríguez-Félix y Cantwell, 1988 (Extracto etéreo:EE; Proteína cruda :PC;Fibra cruda: FC; Materia seca:MS; Ácido ascórbico: Aasc.)

Otros reportes en diferentes estadios de desarrollo en el contenido de macrocomponentes con *O. ficus indica* fueron los realizados por Pinos-Rodríguez *et al.*, 2010 bajo condiciones de túnel (Tabla III) y Hernández-Urbiola *et al.*, 2010 (Tabla IV) en primavera.

Tabla III
Composición Química de *O. ficus-indica* en diferentes edades

	Edad en días					
	30	37	45	60	75	90
MS (g/kg)	53	56	57	58	61	63
PC(g MS)	180	156	153	123	106	104
FDN (g/kg MS)	288	296	300	306	311	319
FDA(g/kg MS)	154	163	166	193	207	217
CENIZAS(g/kg MS)	193	203	211	213	216	228

Pinos-Rodríguez *et al.*, 2010.(MS: Materia seca; PC: proteína cruda; FDN: Fibra Detergente Neutra; FDA: Fibra Detergente Ácida)

Ambos autores coinciden en que la fibra presenta una relación positiva con la edad con beneficios para la salud tanto humana como animal. El contenido de Proteína Cruda (PC) no es consistente en sus resultados.

Ramiro-Tobías *et al.*, (2007), evaluaron cuatro especies de nopal (*Nopalea cochenillifera*, *O. ficus indica*, *O. robusta*, *O. undulata x O. tomentosa*) y cuatro estadios de desarrollo en sistema hidropónico. *Nopalea cochenillifera* presentó las mejores características nutrimentales. Dentro de las diferencias encontradas comparándola con la producción en suelo, observaron el contenido de materia seca (MS) es más bajo. La PC disminuyó con el crecimiento. La FDN y FDA fue mayor en *O. ficus indica*.

Tabla IV
Composición Química de *O. ficus indica* cv Redonda

	Edad en días									
	40	50	60	70	80	90	100	115	125	135
Grasa (g)	2.16	2.37	2.38	1.62	1.53	1.50	1.42	1.72	1.70	1.87
PC(g)	7.07	8.99	8.39	8.92	7.25	7.78	8.29	8.48	5.85	7.07
Cenizas(g)	17.65	19.59	20.64	21.09	21.64	21.92	22.80	22.91	20.91	24.30

Hernández-Urbiola *et al.*, 2010 (Proteína Cruda: PC)

4.5.2 Minerales

La principal fuente de minerales esenciales solo se adquieren por medio del consumo de plantas comestibles (Karley and White, 2009). El nopal es una rica fuente de minerales esenciales como Ca, K y Mg. El contenido de minerales ha sido estudiado con propósito de evaluación de germoplasma silvestre (Nieto-Garibay, *et al.*, 2011) en diferentes estadios de desarrollo (Rodríguez-García *et al.*, 2007; Hernández-Urbiola *et al.*, 2010) y para la evaluación de diagnóstico de nutrientes en *O. ficus indica* (Magallanes-Quintanar *et al.*, 2004; Blanco-Macías *et al.*, 2006).

Nieto-Garibay *et al.*, 2011 evaluaron el contenido de 10 macronutrientes de *O. taponia* en 14 sitios de Baja California. En el contenido de los diferentes elementos Ca (5.4-20.4mg/g MS), Mg (4.9-18.84mg/g MS), K (16.6-44.44mg/g MS) Na (2.9-15.44mg/g MS), Fe (1.5-8.34mg/g MS) Mn (0.04-0.734mg/gMS), Cu (0.29-0.354mg/g MS), Cl (3.31-16.384mg/g MS), N (3.17-8.314mg/g MS), P (0.41-2.544mg/g MS) B (0.012-0.354mg/g MS), Zn (0.016-0.074mg/g MS) encontraron gran variabilidad. Al comparar el contenido de estos minerales en tallo y raíz se encontraron diferencia significativa ($p=0.05$) en tallo y raíz con excepción de Zn que fue no significativa (NS).

Hernández-Urbiola *et al.*, (2010) evaluaron 10 macronutrientes y 8 micronutrientes en 10 estadios de desarrollo, encontrando para Ca y P una correlación positiva con la edad; para los micronutrientes hubo cambios mínimos. Además, Abrajan *et al.*, (2008)

analizó el contenido de mucílago bajo diferentes condiciones el manejo de la muestra, observando diferencias significativas.

4.5.3 Pectinas y mucílago

La pectina es estructural y funcionalmente el más complejo polisacárido de la pared celular. La pectina participa en el crecimiento, morfología, desarrollo y defensa de la planta, además es un gelificante y estabilizador de diversos alimentos y presenta efectos positivos en la salud humana (Mohnen, 2008).

El contenido de mucílago y pectinas de una amplia variedad de especies del género *Opuntia* ha sido estudiado.

Nobel (1986) considera que el mucílago de *O. ficus-indica* es un heteropolisacárido de alto peso molecular compuesto de 30,000 subunidades de arabinosa (35 a 45%), galactosa (20 a 25%), ramnosa (7 a 8%), xilosa (7 a 8%) y ácido galacturónico (19 a 31%) y las moléculas de mucílago tienen numerosas cargas negativas enlazadas con Ca^{2+} parecida a la pectina. Mientras Cárdenas *et al.*, (1999) define el mucílago como una cadena ramificada de arabinogalactano compuesta de arabinosa (42.5%), galactosa (29%), glucosa (2.5%) y xilosa (26%).

Peña y Sánchez (2006) analizaron 13 variedades de nopal en cuanto a su contenido en pectinas y mucílago encontrando un amplio rango de variación.

Rodríguez-García *et al.*, (2007) presentaron la caracterización físico-química y nutricional de nopal fresco producido en diferentes estadios de desarrollo, encontrando cambios en el contenido de minerales y de fibra soluble e insoluble.

Cárdenas *et al.*, (2007) mencionan que el mucílago del nopal contiene pectinas como el componente mayoritario de sus carbohidratos.

Abraján (2008) menciona que los componentes de azúcares en el hidrolizado de mucílago fueron: 44.54% arabinosa, 18.16% de galactosa, 23.98% de xilosa, 6.58% de ramnosa y 6.8% de ácido galacturónico. Además observó diferencias en la cantidad y tipo de pectinas extraídas según la metodología utilizada.

Majdoub *et al.*, (2010) encontraron diferencias en el contenido de azúcares de la pectina entre la pulpa y la corteza de *O. ficus indica*. Dentro de los azúcares identificados con mayor presencia se encuentran galactosa (15.4, 27.8) arabinosa (10.80, 25) y ramnosa (3.2, 10.2). Mientras el contenido de ácido galacturónico se evaluó con 10.2 (p/p) para pulpa y 46.3 (p/p) para la corteza.

El contenido de pectinas y mucílago afecta la aceptabilidad del consumidor y su comercialización. Especies con bajo contenido de mucílago son preferidas por los consumidores. En cambio aquellas que contienen una concentración alta de pectinas son canalizadas a las industrias farmacéuticas, cosmética y alimenticia (Cárdenas *et al.*, 1999; Razo and Sánchez, 2002; Huerta and Montes, 2003).

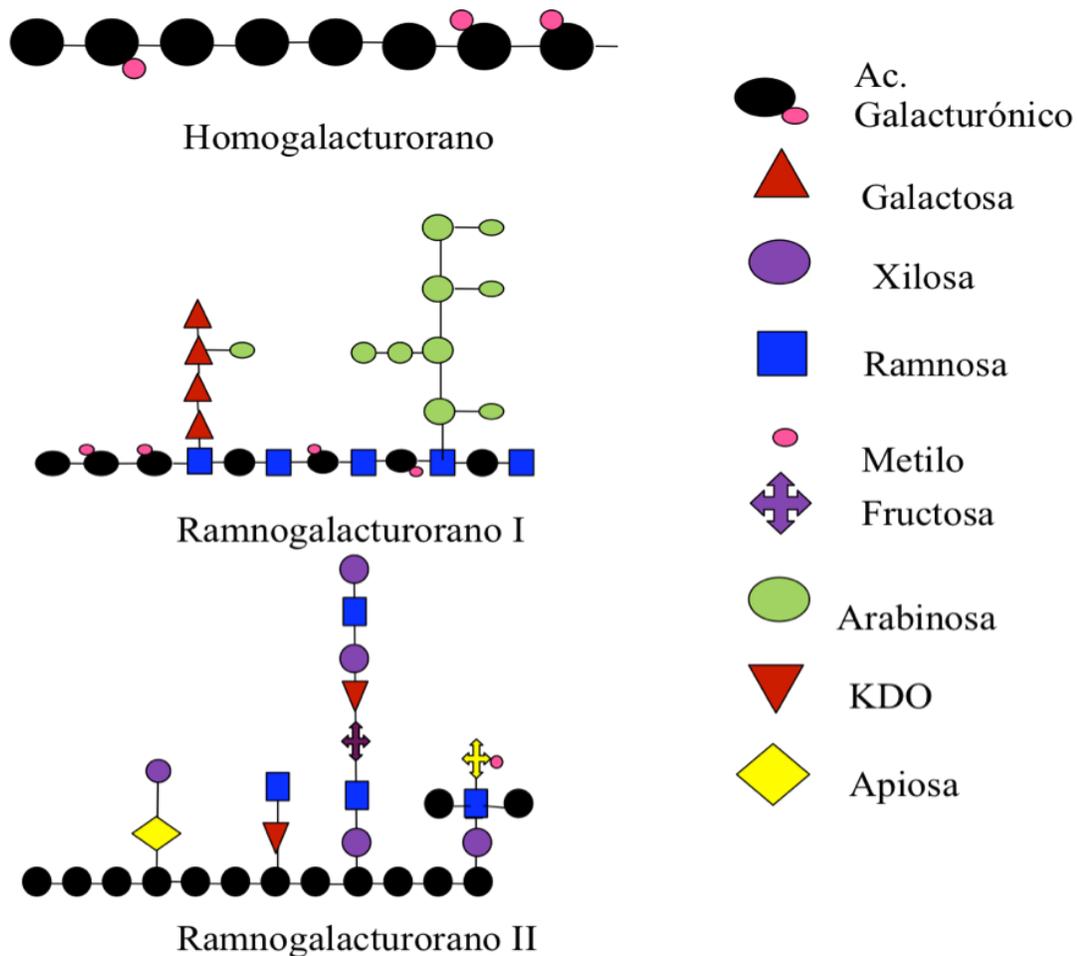


Figura 1. Esquema de los principales dominios descritos en la molécula de pectina (Contreras-Ezquivel, 2003)

4.5.4 Compuestos bioactivos

Se denominan compuestos bioactivos a los componentes alimenticios que una vez ingeridos presentan propiedades antioxidantes y promueven la salud (Seeram *et al.*, 2006). La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos en nopal ha sido ampliamente confirmada (Lee *et al.*, 2002; Bensadón *et al.*, 2010; Santos-Zea *et al.*, 2011).

El tallo del nopal presenta un gran variedad de compuestos antioxidantes no

enzimáticos entre los cuales se incluyen: fenólicos, flavonoides carotenos vitamina C. (Tabla V).

Tabla V
Componentes Bioactivos en el género *Opuntia* spp.

Especie	Fenólicos y flavonoides	Referencia
<i>O. dillenii</i>	Opuntiol	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Opuntioside	Qui <i>et al.</i> , 2002
	4-etoxy-6-hidroximetil- α -pirona	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Kaemferol 7- <i>O</i> - β -D-glucopiranosil-(1-4)- β -D-glucopiranoside	Qui <i>et al.</i> , 2002
	3- <i>O</i> -metil quercetina 7- <i>O</i> - β -D glucopiranoside	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Kaemferol 7- <i>O</i> - β -D glucopiranoside	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Rutina	Qui <i>et al.</i> , 2002
	3- <i>O</i> -metil quercetina	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Quercetina	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Mangaslin	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Etil 3,4-dihidroxybenzoato	Qui <i>et al.</i> , 2002
	Acido vanílico	Qui <i>et al.</i> , 2002
	<i>Opuntia</i> spp	Ácido 3,4-Dihidroxibenzoico
4-hidroxibenzoico		Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
Ácido gálico		Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010

	Ácido cumárico	Guevara-Figueroa et al., 2010
	Ácido ferúlico	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
	Ácido salicílico	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
<i>O. ficus indica</i> (Raíz)	Aromadendrina	Jeon <i>et al.</i> , 2011
<i>O. ficus indica</i>	Ácido Piscídico	Ginestra <i>et al.</i> , 2009
	Ácido Eucómico	Ginestra <i>et al.</i> , 2009:
	Quercetina	Ginestra <i>et al.</i> , 2009: Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
	Kaemferol	Ginestra <i>et al.</i> , 2009: Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
	Isoramnetina	Ginestra <i>et al.</i> , 2009; Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
<i>O. ficus indica</i> var.Saboten	Glicoproteína	Oh y Lim, 2006
<i>Opuntia</i> spp	Isoquercitrina	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
	Nicotinflorin	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
	Narcisina	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010

β -caroteno	Bensadón <i>et al.</i> , 2010
Luteína	Bensadón <i>et al.</i> , 2010
β -criptoxantina	Bensadón <i>et al.</i> , 2010

Santos-Zea *et al.*, (2011) evaluaron el contenido de fenólicos y sus glucósidos en diferentes especies del género *Opuntia*, encontrando gran variación en el contenido de compuestos fenólicos. Para *O. ficus indica* el contenido de fenólicos totales fue mayor para la variedad Villanueva y menor para Jalpa, 593 y 318 μg Equivalentes de Ácido Gálico(GAE)/g respectivamente.

4.6 Usos del Nopal

Esta planta presenta múltiples usos y aplicaciones en diferentes sectores económicos.

Representa un valor como hortaliza (Pimienta–Barrios, 1994; Flores, 1995; Rodríguez–Salazar y Nava–Cedillo, 1999) como frutal, como forraje (Russell and Felker, 1987), como sustrato para la obtención de la grana cochinilla (Tovar *et al.*, 2005), como elemento para la reforestación (Stintzing and Carle, 2005) como biocombustible (Varnero *et al.*, 1992), industria alimenticia, farmacológica, de suplementos alimenticios (Saéñz *et al.*, 2006).

Algunos de los usos medicinales han sido descritos ampliamente por Feugang *et al.*, (2006). Las propiedades de los compuestos activos del género *Opuntia* ejercen efectos apoptóticos en células del Glioblastoma (Hahm *et al.*, 2010), como cicatrizante (Galati *et al.*, 2003), antiinflamatorio y condroprotector (Panico *et al.*, 2007), neuroprotector (Huang *et al.*, 2009; Dok-Go *et al.*, 2003), antígenotóxicos (Zorgui *et al.*, 2009), antiulceroso (Alimi *et al.*, 2010) hipolipemiente (Oh y Lim, 2006), hipoglucemiante

(Frati-Munari *et al.*, 1989; Frati-Munari *et al.*, 1998).

Luo *et al.*, (2010) trabajaron con la variedad Milpa Alta en diferentes extractos, el más efectivo efecto hipoglucemiante fue con éter de petróleo. En cambio Butterweck *et al.*, (2011) realizaron extractos acuosos de tallo y fruta de *O. ficus indica* obteniendo efecto hipoglucemiante en ratas normales, además encontraron un incremento en insulina basal lo que indica efecto directo en células beta del páncreas.

Zhao *et al.*, 2011 mencionan un efecto antihiper glucémico con polisacáridos de *O. dinellii*, en ratas diabéticas por efecto protector contra la peroxidación en hígado.

En un estudio realizado (Van Proeven *et al.*, 2012) en individuos saludables se evaluó la ingestión de cápsulas conteniendo 1000 mg de *Opuntia ficus indica* (OFI) y dosis altas de carbohidratos antes y después del ejercicio, se encontró una disminución de la curva de tolerancia a la glucosa hasta en un 26%.

4.7 Producción de Nopal

4.7.1 Importancia Económica

México es el productor de nopal más importante del mundo con 90% de la producción mundial. La producción nacional de nopal se estima en alrededor de 741 mil toneladas y el rendimiento varía en 1 t ha⁻¹ hasta 86.67 t ha⁻¹, con una media de 64.84 t/ha (SIA-SAGARPA 2012).

La producción de nopal verdura en México se desarrolló en base a tres sistemas de aprovechamiento: nopaleras silvestres, huertos familiares y plantaciones comerciales (Flores-Valdéz, 2001).

En la producción de nopalito en México participan 26 entidades federativas con 12,391 ha sembradas, 11,436 cosechadas en total. Sin embargo, solo el Distrito Federal aporta el 34.95% de la superficie sembrada y casi el 43.2% de la producción total. Milpa Alta en el Distrito Federal, es la mayor y más antigua zona productora de nopal verdura en México (SIAP-SAGARPA, 2012).

Las plantaciones silvestres comprenden tres millones de hectáreas, en ellas existe una gran diversidad de especies. Por lo general en la época de brotación (primavera) se cosechan para autoconsumo. Los huertos familiares revisten importancia por la gran diversidad genética presente, pues han experimentado procesos de cruzamiento y selección durante mucho tiempo, de esta manera han surgido los materiales genéticos para las plantaciones comerciales.

Las plantaciones comerciales surgieron alrededor de 1950 entre los productores de Milpa Alta, Distrito Federal, al seleccionar las mejores variedades de sus huertos para plantarlas en sus parcelas agrícolas (Blanco-Macías *et al.*, 2008). Estos sistemas siguen vigentes en la actualidad.

Las condiciones óptimas para el cultivo con respecto a la temperatura media oscila entre 18 -26°C, con una máxima de 36°C y una mínima de 6°C, la altitud varía entre 800-1500 m snm, con una precipitación media anual entre 116-1805 mm .

4.7.2 Las características de calidad y propiedades funcionales del Nopal

La calidad es considerada por los consumidores como el atributo más importante de aceptabilidad (Traill, 1999).

La normatividad en México (NMX-FF-068-SCFI-2006; DGN-SECOFI) define los criterios de calidad del nopalito en base a atributos organolépticos. Las características deseables de apariencia en el cladodio juvenil son: apariencia: frescos, delgados, turgentes y de un color verde brillante. La categorías de clasificación por calidad en la Norma Mexicana son: “México Extra”, “México 1” y “México 2”.

Los grados de calidad a nivel internacional están incluidos en la Norma Codex Alimentarius-FAO (CODEX STAN 185-1993) y están también basados en la apariencia. Así quedan incluidas las siguientes características: deben presentar las características de la especie (forma y color), estar enteros, firmes, sanos, limpios y libre de espinas y daños. Los grados de calidad incluidos en la norma son: Clase Extra, Clase I y Clase II. La clasificación se basa en el tamaño (longitud) del nopalito con cinco categorías. Estas

incluyen cladodios desde 9cm hasta 30 cm de longitud (FAO-WHO, 1993). El engrosamiento de la cutícula y del cladodio en la madurez son características indeseables de la calidad.

La actual tendencia de la producción en base a propiedades funcionales de los alimentos han renovado áreas de desarrollo en las ciencias agrícolas y de los alimentos.

El término de alimento funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80' y se define como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. El calificativo de “funcional” se refiere al concepto bromatológico de propiedad funcional” o sea la característica de un alimento en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo (Alvídrez-Morales *et al.*, 2002).

Dentro de este mismo sistema nuevo de definiciones se encuentra el término prebiótico que se refiere a un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de un número limitado de bacterias del colon. Los prebióticos aplicados en nutrición son básicamente inulina, fructooligosacáridos (FOS) y galactooligosacáridos (GOS) (Vitoria, 2007).

Existe controversia respecto a incluir dentro de esta última definición a los componentes de la fibra soluble (pectinas, gomas y mucílago) cuyas fuentes dietéticas incluyen a la avena, las legumbres, los cítricos y la manzana. Aún se desconoce el grado de participación en la estimulación en el crecimiento de las cepas benéficas.

Dentro de las cualidades funcionales del nopal se encuentra su contenido de fibra soluble e insoluble con conocidos efectos sobre la salud: previene la diabetes, aterosclerosis, hipercolesterolemia, enfermedad coronaria, obesidad (Peña and Sánchez, 2006, Santos *et al.*, 2006).

Oh *et al.*, (2004) aislaron una glicoproteína con capacidad antioxidante en *Opuntia*

ficus-indica var saboten. Además se ha encontrado que disminuye los niveles de lípidos en plasma en ratones (Oh y Lim, 2006).

Otros componentes funcionales comprenden la vitamina C, carotenos minerales como Ca, Mg, Fe.

4.8 Diabetes

4.8.1 Epidemiología

La prevalencia de la diabetes ha aumentado de manera considerable en los últimos años. Hay 246 millones de enfermos de diabetes en el mundo. México ocupa el noveno lugar y está representado con 7.5 millones de personas enfermas que se saben enfermos y un 35% está enfermo y no lo sabe. Cada año se registran 400 000 casos nuevos.

Los siete estados con mayor incidencia de nuevos casos para el 2012 fueron: México, Jalisco, Distrito Federal, Veracruz, Chihuahua, Baja California y Coahuila (Figura 2).

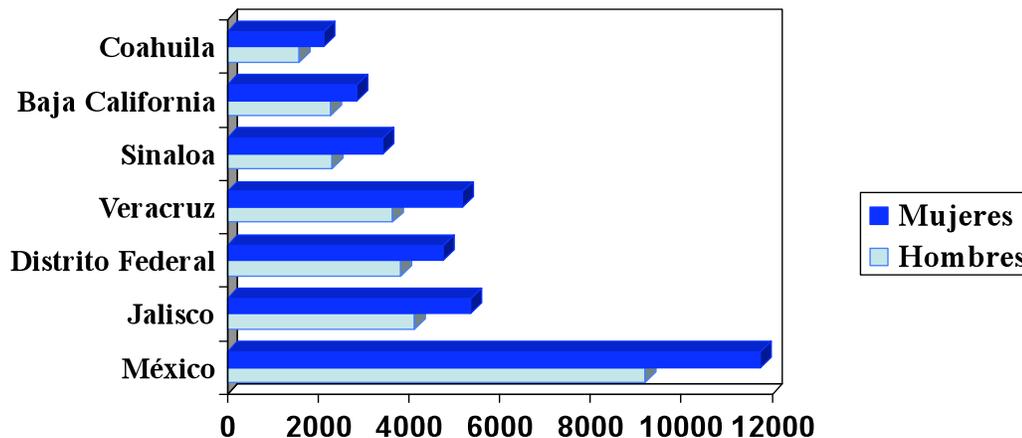


Figura 2. Incidencia de nuevos casos de diabetes por entidad federativa primer bimestre de 2013 (SINAVE, semana 18 de 2013).

Los datos epidemiológicos en México:

- El 90% de las personas que padecen diabetes presentan el tipo 2 de la enfermedad.
- Dos de cada tres mexicanos tienen sobrepeso u obesidad.
- 13 de cada 100 muertes son provocadas por diabetes.
- El grupo de edad con más muertes por diabetes está entre los 40 y los 55 años.
- En personas de 40 a 59 años, 1 de cada 4 muertes se debe a complicaciones de la enfermedad.
- En México la diabetes es la primera causa de ceguera adquirida en edad productiva.
- También es la primera causa de amputación no traumática de miembros inferiores y el 60% de todas las amputaciones por cualquier causa.
- La diabetes es la primera causa de insuficiencia renal crónica.
- Un paciente diabético tiene entre 4 y 6 veces más probabilidad de tener embolia o hemorragia cerebral.
- Un paciente diabético tiene 4 veces más probabilidad de tener infarto al miocardio.
- Las mujeres son más afectadas que el sexo masculino, sin embargo los hombres mueren a una edad más temprana que las mujeres (67 versus 70 años respectivamente) (Flores and Aguilar 2006).

La prevención de las complicaciones requiere un control estricto de la glucemia por medio de una dieta rica en fibra, ejercicio y control de peso.

El 98% de los casos identificados reciben tratamiento con hipoglucemiantes. La glibenclamida es el hipoglucemiante más utilizado (67.7%), la metformina se emplea en un 18.3%, seguido de la combinación de glibenclamida mas metformina en un 7.2%. En el 60% de los pacientes diabéticos tratados con glibenclamina fracasan en el control de la glucemia y serán referidos a una terapia con insulina (Camacho-

Saavedra and Soberón-Requena, 2001).

El tratamiento con insulina o hipoglucemiantes tiene como efecto adverso la hipoglucemia. El nopal favorece el control de la glucemia sin alcanzar una etapa hipoglucémica resultando en una alternativa como alimento funcional cuyo consumo redundará en beneficio de la salud del consumidor.

4.8.2 Etiología: genómica, estrés oxidativo

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad multifactorial y poligénica condicionada por factores como la alimentación y el ambiente.

Una pieza clave en la comprensión de esta enfermedad es la carga genética. Estudios epidemiológicos avalan las diferencias entre grupos poblacionales sobre los mecanismos predominantes que conducen a la DMT2. Así asiáticos e hispanos comparten las bases genéticas de la resistencia a la insulina, en cambio las poblaciones afro-americanas presentan disfunción de las células β -pancreáticas (Abate and Chandalia, 2003).

La nutrición es otro factor predisponente que ejerce un efecto sobre los genes. Así las variaciones del estatus nutricional conducen a adaptaciones metabólicas que actúan en el perfil genético individual (Bauer *et al.*, 2004). Los productos químicos presentes en una dieta común inciden sobre el genoma humano de manera directa e indirecta alterando la expresión génica o su estructura (Kaput, 2006).

El índice de masa corporal (IMC) es un indicador que relaciona nutrición con la cultura nutricional. Los europeos presentan un IMC mayor a 25, indicando un perfil diabético y metabólico, mientras los asiáticos tienen un IMC menor a 23 (Kim *et al.*, 2004). La obesidad es un factor de riesgo presente en enfermedades crónicas.

Los macrocomponentes presentes en la alimentación sirven como fuente de energía por fosforilación oxidativa del metabolismo intermediario y ejercen un efecto en el balance redox. La utilización de oxígeno dentro de los sistemas biológicos incluye la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Bajos niveles de ROS actúan como

señalizadores en diferentes vías; altos niveles generan estrés oxidativo. Un aumento de estrés oxidativo está asociado a enfermedades como la diabetes, fibrosis quística, cataratas o infecciones (Willcox *et al.*, 2004)

4.9 Mecanismos reguladores del metabolismo de carbohidratos

4.9.1 Hormonas

Las principales hormonas que regulan el metabolismo de carbohidratos son: insulina, glucagón e incretinas.

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células β de los islotes de Langerhans en páncreas. Cuando la glucemia es elevada, ésta se une a su receptor y desencadena una serie de vías de señalización que median acciones biológicas como entrada y almacenamiento de glucosa en músculo y tejido adiposo, en hígado favorece la captación de glucosa e inhibe su liberación (Olivares and Arellano, 2008). Sus efectos en la glucólisis incluyen la activación de cinasa PFK-2 lo que incrementa la concentración de la fructosa 2,6 difosfato en la célula; esto a su vez aumenta el flujo glucolítico. En células que contienen transportadores de glucosa (GLUT-4) sensibles a la insulina (músculo y tejido adiposo) promueve su traslocación a la superficie celular (McKee and McKee, 2009). La incapacidad de responder por parte de las células blanco a la insulina conduce a lo denominado resistencia a la insulina y es uno de los mecanismos asociados a la DMT2 (Olivares and Arellano, 2008).

El glucagon es liberado por las células α del páncreas cuando la glucemia es baja, activa la función de fosfatas de la PFK-2 con lo que reduce la concentración de la 2-6-difosfato de la célula, disminuyendo como consecuencia el flujo a través de la glucólisis, una disminución de esta hormona produce lipólisis y un aumento de VLDL (McKee y McKee, 2009), su depósito en el endotelio vascular trae como consecuencia un aumento en el riesgo de arterioesclerosis y enfermedades relacionadas (Tsai *et al.*, 2004).

Las incretinas son hormonas responsables del 70% de la secreción de insulina,

suprimen la secreción de glucagon (Nathan *et al.*, 1999; Nauck *et al.*, 1993; Host *et al.*, 2009), disminuyen el vaciamiento gástrico, reducen el consumo de alimentos, aumentan el tamaño y funcionamiento de las células β del páncreas y aumentan la sensibilidad a la insulina lo cual contribuye a un aumento a la tolerancia a la glucosa. El Polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa (GIP) es secretado en el duodeno y yeyuno proximal en las llamadas células K; el GLP1 (Péptido 1 unido al glucagon) es secretado por las células L en el íleon y colon (Figura 3). Estas hormonas están disminuídas o ausentes en pacientes con DMT2 (Holst *et al.*, 2009).

Los factores que estimulan la secreción de GIP es la glucosa y para GLP1 cualquier alimento estimula su liberación.

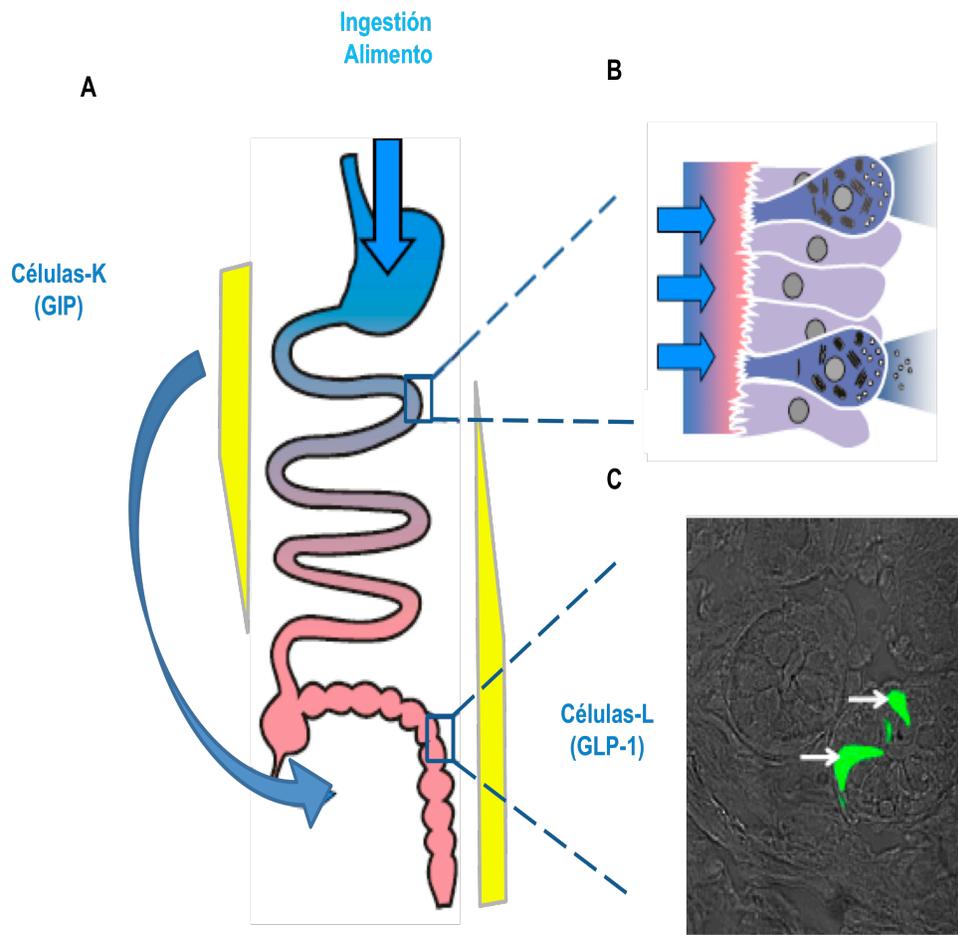


Figura 3. Localización de secreción de incretinas en el intestino delgado y grueso en las células K y L, respectivamente (Tomado de Diakogiannaki *et al.*, 2012)

4.9.2 Fibra dietética

La fibra dietética se define como partes comestibles de las plantas que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con completa o parcial fermentación en intestino grueso Comprende polisacáridos, oligosacáridos y ligninas. Un criterio divide las fibras en tres categorías: dietética, funcional total. Otra clasificación incluye a la fibras viscosas y a partículas. Una característica importante es que esta asociada a efectos fisiológicos benéficos en la salud (Dhingra *et al.*, 2011).

Las fibras viscosas bajan el movimiento intestinal, previniendo la absorción de los alimentos, disminuyendo así la glucosa posprandial y la liberación de insulina (Kendall *et al.*, 2010). Además se ha confirmado la disminución de colesterol por el efecto de la fibra viscosa al unirse a los ácidos biliares. Aún con ciertas controversias, el consumo de fibra se ha asociado a la disminución del índice masa corporal (IMC). En el manejo de DMT2 existe una asociación entre una dieta con índice glucémico bajo y fibra alta y la disminución de hemoglobina glucosilada (Kendall *et al.*, 2006).

4.9.3 Polifenoles y Flavonoides

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, presentan un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos y derivan de la vía del ácido shikímico.

Los polifenoles incluyen ácido benzoico, cinamínico, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizables y condensados. Su consumo ha sido asociados a la disminución de riesgo enfermedades crónicas (Arts and Hollman 2003; Scalbert *et al.*, 2005).

Se ha comprobado que los polifenoles están asociados a la fibra dietética (Ginestra *et al.*, 2010; Pérez-Jiménez *et al.*, 2009). Ésta favorece la disponibilidad de los flavonoides especialmente la quercetina a partir de la rutina, alterando la actividad metabólica de la flora intestinal o la fisiología gástrica (D'Archivo *et al.*, 2010).

Otra función ampliamente estudiada es su participación activa en el metabolismo de los carbohidratos. Dentro de los mecanismos que influyen en el metabolismo de glucosa se encuentran la inhibición de la degradación de los carbohidratos por inhibición de la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa en las células del lumen intestinal (Tadera *et al.*, 2006), inhibición de la absorción de glucosa (Song *et al.*, 2002), estimulación de la secreción de insulina por las células β del páncreas (Coskun *et al.*, 2005), modulación de la liberación de glucosa por el hígado (Waltner-Law *et al.*, 2002).

Un grupo de interés derivado de los fenólicos son los flavonoides. Estudios

epidemiológicos han demostrado la capacidad anti-inflamatoria, antibacterial, antitumoral, antialérgica, antivirales, al prevenir el daño oxidativo por secuestro de radicales libres (Abdelmoaty *et al.*, 2010).

Se ha reconocido el efecto de la quercetina, rutina y kaemferol en el metabolismo de los carbohidratos, disminuyendo la glucosa posprandial a través de diferentes mecanismos (Tadera *et al.*, 2006).

La quercetina y el kaempferol 3-*O*- α -ramnoside son inhibidores competitivos de los transportadores de glucosa (SGLT1) en el lumen intestinal (Song *et al.*, 2002; Wolfram *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2010) impidiendo la absorción de glucosa, son también agonistas del receptor gama activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ) (Xian-Kang and Dan-Ni, 2008). Además el kaemferol (Lee *et al.*, 2010) y la rutina actúan protegiendo las células β del daño oxidativo.

Existe controversia en los glucósidos que acompañan a ciertos flavonoides. Por un lado la microflora o enzimas intestinales rompe las uniones y la absorción se realiza sin él (Sensik *et al.*, 2003) y por otra parte se menciona la actividad mimética de la insulina presente en el glucósido 3-*O*-neoesperidoside que acompaña a el kaempferol (Yamasaki *et al.*, 2011).

4.9.4 Triterpenos

Los terpenos comprenden una clase muy diversa de metabolitos secundarios, aproximadamente 55,000 compuestos han sido identificados (Maimone y Baran, 2007).

Los terpenos son isoprenoides. Tienen como función principal la defensa de la planta (Isman, 2006), sin embargo otros son hormonas como el ácido abscisico y giberelinas. Algunos son citotóxicos y se emplean como fuentes de agentes terapéuticos (Dzubak *et al.*, 2006). Otros intervienen en el metabolismo de los carbohidratos actuando como inhibidores de la fosforilasa del glucógeno, disminuyendo la glucosa posprandial (Zhongjie *et al.*, 2012). Algunas saponinas

presentan efecto hipocolesteromiante (Güclü-Ustündag y Mazza, 2007).

5. MATERIAL Y METODOS

5.1.1 Material vegetal

Pencas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) de cuatro variedades Copena V1, Jalpa, Villanueva y Milpa Alta.

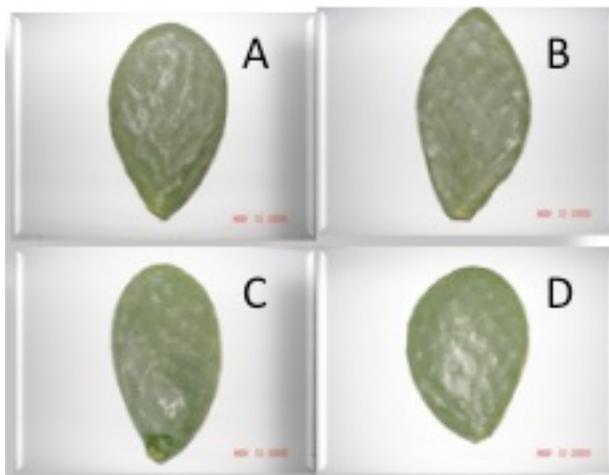


Figura 4. Variedades de *Opuntia ficus indica*. A) Copena V1; B) Jalpa; C) Villanueva y D) Milpa Alta.

5.1.2 Material para ensayo biológico

Ratas macho wistar de 300-350 g.

5.2 Descripción del área de estudio

El presente proyecto se llevó al cabo en el Departamento de Nutrición y Alimentos y

en el Departamento de Fitomejoramiento (laboratorio de Citogenética) en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El trabajo de campo para la evaluación de yodo se realizó en el municipio de General Cepeda, Coahuila 25° 23' 02'' LN; 101° 27' 10'' LO a 1480 msnm y en el ejido Agua de la Mula del municipio de General Cepeda, Coahuila. Situado entre los 25° 29' 802" LN y 101° 25' 312" LO, a 1277 msnm. El municipio de General Cepeda, se localiza al sureste del estado de Coahuila, entre las coordenadas de 101° 16' y 101° 47' longitud oeste del meridiano de Greenwich. y entre 25° 00' y 26° 17' latitud norte, a una altura de 1,470 msnm. Limita al norte con el municipio de Ramos Arizpe, al sur con los de Parras de la Fuente y Saltillo, al este con Saltillo y al oeste con el municipio de Parras de la Fuente.

5.3 Características Ambientales del Área de Estudio

5.3.1 Clima

El clima es del tipo Bw hw (x') (e) que corresponde a seco y templado a semicálido, con algunas heladas en los meses de invierno. La temperatura media anual fluctúa entre los 19.8 °C, con una oscilación de 10.4 °C, siendo junio, julio y agosto los meses en los que se registran las temperaturas más altas de 37° C. Durante los meses de diciembre y enero se registran las temperaturas más bajas alcanzando hasta los 12° C bajo cero, siendo enero el mes más frío. La precipitación media anual se encuentra en el rango de los 300 a 400 mm, aunque en la última década ha sido más cercana a los 200 mm, con régimen de lluvias en los meses de julio, agosto y septiembre, siendo el mes de julio en el que se registra la mayor cantidad de lluvias, mientras que marzo es el mes más seco.

5.3.2 Suelo

En el ejido Agua de la Mula se presenta un suelo aluvial. Estos depósitos aluviales y

fluviales están constituidos por gravas, arenas, arcillas no consolidadas, su espesor es posible que sea de varios cientos de metros. Constituye planicies con clásticos finos o abanicos al pie de las sierras, donde los clastos se presentan gruesos, son frecuentemente clastos de caliza arenisca y pedernal.

5.3.3 Vegetación

El tipo de vegetación es matorral xerófito de variada composición florística. Las familias más representativas son: Compositae, Leguminosae, Gramineae y Cactaceae.

5.4 Establecimiento de la plantación

5.4.1 Condiciones a campo abierto

El terreno fue barbechado y rastreado por un tractor. Las camas de siembra fueron preparadas con una capa de estiércol y se integró con el suelo. La cama tuvo de ancho 1.5 m y de largo 5 m. con bordes de 30 cm. Se sembraron con penca madre en 4 hileras con una distancia de 30 cm entre cada penca. La orientación del cladodio fue con caras de oriente a poniente. La parcela útil fue de 10 plantas (Figura 5).



Figura 5. Establecimiento de la Plantación.

5.4.2 Condiciones de microtúnel

Para la época invernal Octubre- Marzo se colocó un microtúnel de 1.8 m de alto con cubierta plástica transparente calibre 600.

El riego fue por inundación cada 15 d en verano y en invierno cada 4 semanas.

5.4.3 Condiciones en aplicación de yodo

Se plantaron cladodios de *Opuntia ficus-indica* var. Copena V1 en tres túneles con cubierta plástica calibre 600. Las dimensiones para cada uno fueron de 50 m de longitud

por 3 m de ancho, el total de pencas por túnel fue de 1300. Cada unidad experimental consistió en dos camas con cinco columnas y 130 hileras.

Los tratamientos de yodo fueron yodato de potasio (KIO_3 , 10^{-4}M), yoduro de potasio (KI , 10^{-4}M) y un testigo con agua.

El sistema de riego fue totalmente independiente para evitar la posibilidad de contaminación entre los diferentes tratamientos de aplicación de yodo. Se aplicó solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1961) y KIO_3 (10^{-4}M) y KI (10^{-4}M) en el agua de riego y un control sin la aplicación de sales de yodo.



Figura 6. Plantación en Túnel en aplicación con yodo.

5.5 Evaluación de variables en condiciones a campo abierto y microtúnel

5.5.1 Variables agronómicas

5.5.1.1 Peso fresco y peso seco

Esta medición se realizó con balanza granataria marca (OHAUS) registrando el peso en gramos.

5.5.1.2 Longitud, ancho y grosor

Para realizar estas mediciones se empleó una regla de 30 cm, registrando el resultado en centímetros, el ancho se midió por la parte media del cladodio. Con estos datos se calculó la relación longitud/ancho. Si el valor de esta relación es igual a 1 la forma del cladodio es redonda, si es menor de 1 la forma del cladodio es comprimida en su longitud y si es mayor de uno la forma es alargada en su longitud. Se tomó el grosor a partir de la parte ecuatorial del cladodio con un vernier.

5.5.1.3 Número de brotes

Se cuantificó el número de brotes generados mensualmente de 10 cladodios por variedad durante un año. Bajo condiciones de túnel (T) y a campo abierto (CA).

5.5.1.4 Firmeza

La resistencia a la penetración se registró con un penetrómetro digital (FT01 fuerza 500 g y puntilla de 2.5mm de diámetro). La medición se realizó en la parte media central del mismo y se registró en Newtons (Nw).

5.5.1.5 Color

Se utilizó el colorímetro (Colorímetro Minolta CR-300). La medición se hizo en 10 cladodios. Se utilizó la colorimetría triestímulo o sistema L^* , a^* y b^* . Los resultados se

expresaron como los tres atributos de color que son: ángulo de tono (hue = arco tan b/a) que es el tono de color ya sea rojo, verde amarillo o azul; croma (saturación de color) $c^*=(a^2+b^2)^{1/2}$ y valor L*(luminosidad o brillantez) (McGuire 1992; Kónica Minolta, 2003).

5.5.2 Pruebas Químicas

5.5.2.1 Acidez titulable (%)

La acidez titulable se determinó utilizando el método de la AOAC (2000), el cual consiste en licuar 10 g de la muestra en 50 ml de agua destilada, posteriormente se midió el volumen total y se filtró con ayuda de una gasa para eliminar los sólidos; de la muestra obtenida se tomo una alícuota de 10 ml la cual se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N usando fenofltaeína como indicador. El cálculo de la acidez se realizó en base al ácido que se encuentra en mayor porción de acuerdo a la siguiente fórmula:

Porcentaje de ácido (%) = $[(\text{ml de NaOH} \times N \times \text{meq del ácido} \times \text{volumen}) / (\text{peso de muestra} \times \text{alícuota})] \times 100$

donde:

N= normalidad de NaOH

Volumen = volumen total (ml de extracto después de moler en licuadora)

meq del ácido = miliequivalentes del ácido que se encuentra en mayor proporción.

Para obtener los miliequivalentes se consideró la siguiente fórmula:

meq = peso molecular del ácido orgánico/valencia x 100

donde:

Peso molecular del ácido cítrico es de 192.1

Valencia es 3

Esta técnica tiene su fundamento en la neutralización de los jugos o extractos de frutas con una base fuerte. La acidez titulable se calculó a partir de la cantidad de base necesaria bajo estas condiciones, los ácidos orgánicos y solo una parte del ácido

fosfórico y fenoles están involucrados en el resultado final.

5.5.2.2 Sólidos solubles totales (° Brix)

Para la evaluación de esta variable se uso un refractómetro Brix 0-32 Bx series utilizando una escala de 0-53° Brix.

5.5.2.3 Determinación del contenido de vitamina C

La vitamina C se determinó de acuerdo a la metodología oficial de la AOAC (2000), método de titulación con 2,6 Dicloroindofenol (reactivo de Thielman).

Se pesaron 20 g de muestra de cladodios de cada variedad de nopal y se le agregó 10 ml de ácido clorhídrico al 2%, la mezcla se homogenizó por 15 min. A la muestra homogenizada se le agregó 100 ml de agua destilada y se mezcló bien. El contenido se filtro a través de tela de gasa, el filtrado se recibió en una probeta y se anotó el volumen total. Se colocaron 10 ml de este filtrado en un matraz Erlenmeyer.

En una bureta se puso una cantidad de reactivo de Thielman, se procedió a titular hasta obtener el vire a rosa permanente, registrando la cantidad de reactivo gastado.

Se utilizó la siguiente ecuación:

$$X = \frac{A(0.088)(100)(100)}{(V)(C)}$$

Donde:

X = contenido de vitamina C en mg/100 g de muestra,

0.088 = miligramos de ácido ascórbico equivalente a 1 ml de reactivo de Thielman,

A = ml de reactivo de Thielman gastados en la valoración del filtrado

V = volumen de la alícuota valorada

100 = volumen en ml del filtrado de vitamina C en HCl.

C = peso de la muestra,

100 = valor dado para la determinación del contenido de vitamina C para 100g de fruto (%).

Todas las variables fueron tomadas en 5 cladodios por variedad en los tres estadios de desarrollo y se seleccionaron al azar.

5.5.3 Fraccionamiento de los cladodios

5.5.3.1 Métodos de extracción

Las condiciones de cada una de las etapas del proceso fueron las siguientes:

- Las pencas se cosecharon por la mañana.
- El material vegetativo cosechado se lavó, desespinoó y se dividió en dos partes: una se llevó a la estufa de secado a 60° C por 3 d y la otra parte se empleó para la extracción de mucílago y fue refrigerada en un ultracongelador (Sanyo VIP series) hasta su análisis.
- Para la extracción de mucílago se mezclaron partes iguales de nopal y agua destilada se facilitó la molienda en un extractor de jugos industrial de acero inoxidable Marca Turmix.
- La separación del mucílago se realizó por filtración.
- El mucílago filtrado se liofilizó en un liofilizador Labconco (Free Zone 2.5 plus).

Al nopal deshidratado en la estufa se molió en un molino (Thomas Scientific modelo) el material obtenido de las cuatro variedades en los tres estadios de desarrollo, se les determinó el contenido de macrocomponentes, el contenido de minerales, el contenido de pectinas y sus fracciones.

5.5.3.2 Extracto metanólico

Se pesaron 3 g cladodios deshidratados y se colocaron en 47 ml de metanol al 80% se colocaron en un shaker por 48 h. Posteriormente se filtraron y centrifugaron a 6500 g por 10 min. El supernadante fue recuperado y el solvente evaporado en un rotavapor marca Buchi R110. Los residuos se reconstituyeron en 1 ml dimetilsulfóxido para la

determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y quercetina.

5.5.3.2 Extracto con *n*-butanol y acetato de etilo

Se utilizó la técnica de Wrolstad (2004), con modificaciones. Se realizó la extracción con Fase sólida de extracción (SPE) Phenomenex y cartuchos de C18 para la primera. Los cartuchos fueron precondicionados secuencialmente con 10 ml de acetato de etilo, 10 ml de metanol (70%) acidulado con 10 ml de HCl 0.01N. Posteriormente se eluyeron 3 ml del extracto metanólico en los cartuchos. Enseguida los cartuchos se lavaron con 6 ml de HCl 0.01 N para remover azúcares, ácidos orgánicos y otros compuestos solubles [fracción 1 (F1)]. Después de la elución de compuestos solubles, los cartuchos fueron secados por aplicación de vacío por 5 min. Los compuestos fenólicos fueron eluidos con 20 ml de *n*-butanol [fracción 2 (F2)] y enseguida con 20 ml de acetato de etilo [fracción 3 (F3)]. El revelado con agentes específicos para metabolitos secundarios demostró que los triterpenos se encuentran en el extracto con acetato de etilo

La fracción 3 (F3) se volvió a pasar por SPE en un cartucho Strata X-33 Polymeric. Se eluyó con 6 ml de acetonitrilo, posteriormente se agregó 6 ml de agua y se lavó con 6 ml de metanol:agua (40:60); se secaron los cartuchos con 10 m de aplicación al vacío y finalmente se eluyó con 6 ml de acetonitrilo.

Todas las fracciones se colectaron en viales y se liofilizaron en un equipo Labconco (Free Zone 2.5 plus). Éstos fueron resuspendidos en dimetilsulfóxido y agua desionizada (1:1) para las pruebas enzimáticas.

5.5.3.4 Macrocomponentes

Las determinaciones se hicieron por triplicado en cada una de las variedades en los tres estadios de desarrollo. La humedad se determinó por el método de secado en la estufa a 80° C (Estufa de secado Thelco Mod 27) hasta peso constante.

Las cenizas se obtuvieron al calcinar a 600° C hasta peso constante (4-6 h). La grasa se extrajo por el método de Soxhlet, utilizando éter de petróleo como solvente de

extracción. Para la fibra se aplicó el método de Kennedy que consiste en un tratamiento ácido y otro alcalino, en cada etapa se separó los compuestos solubles de los insolubles. La proteína se cuantificó por el método de Kjeldhal. Todos estos métodos son elegidos del A.O.A.C. (2000).

5.5.3.5 Minerales

Los análisis químicos de minerales se realizaron con base en peso seco. Los minerales Fe, Mn, Mg, K y Ca fueron analizados por digestión húmeda mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Varian 1275. La determinación de azufre se realizó por turbidimetría con cloruro de bario (BaCl_2) al 10% y glicerina directamente del filtrado obtenido por digestión húmeda; se leyó por colorimetría en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 800 nm. El contenido de fósforo se determinó por el método de colorimetría a una longitud de onda de 640 nm (Espectrofotómetro Marca Helios).

5.5.3.6 Composición de azúcares del mucílago

La composición de azúcares del mucílago se determinó con un equipo LC Agilent 1120 Compact con un detector de índice de Refracción de la misma marca (serie 1200). Con el LC se utilizó el software fue Ezchrom Elite. La columna utilizada fue RPM Monosacharyde Pb (Phenomenex, 300 x 7.8 mm)) con una precolumna Carbo Pb (Phenomenex) 4 x 3.0 mm. La fase móvil fue con agua grado HPLC con un flujo de 1.0 ml/min y a una temperatura de 60°C. El tiempo de corrida fue de 30 min.

Una muestra de 10 ml de mucílago fresco se hidrolizó con HCl 0.01 N (10 ml) durante 72 h y se enfrió a temperatura ambiente para su análisis. Los resultados se compararon con los siguientes estándares: Fructosa, Ribosa, Glucosa, L-arabinosa, L (+)-ramosa monohidratada, D-galactosa, D-xilosa todos ellos en grado reactivo (Sigma Aldrich). Se realizó una curva estándar de 20 a 100 ppm.

5.5.3.7 Determinación de pectinas

El contenido de pectinas se determinó por el método descrito por Yu *et al.*, (1996), a través de la separación de las diferentes fracciones por solubilidad y cuantificación en cada una del contenido de ácido galacturónico.

Para pectinas solubles al agua (**PSA**): se adicionarán 20 ml de agua destilada a 80 mg de muestra seca para obtener PSA, agitando por un min y centrifugando a 4000 rpm durante 10 min, el sobrenadante se recolectó y aforó en un matraz de 100 ml. El proceso de extracción se repitió tres veces.

Para pectinas solubles al oxalato (**PSO**): el residuo anterior se dispersó con 20 ml de solución acuosa que contenía 0.25% de oxalato de amonio y 0.25% de ácido oxálico. Se mantuvo a reflujo durante 1 h en ebullición. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó en las mismas condiciones anteriores. El sobrenadante se recolectó y aforó en 100ml. El proceso se repitió tres veces.

Para pectinas solubles al ácido (**PSAc**) Se añadieron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado a 5 mg de muestra seca con agitación suave se adicionó 0.5 ml de agua destilada. Se agitó durante 10 min, se filtró y el filtrado se aforó con agua destilada en un matraz de aforación de 25 ml. Se dejó reposar durante 24 h para su determinación.

Para pectinas no extraíbles (**PNE**): Se obtuvieron por diferencia de PT-PSA-PSO.

El ácido galacturónico (**AGU**) en las diferentes fracciones pécticas se evaluó mediante el método espectrofotométrico de determinación cuantitativa de ácidos urónicos propuesta por Kintner y Van Buren (1982) y Thibault (1979) por incubación con ácido sulfúrico y el consiguiente desarrollo de color mediante el reactivo cromóforo *m*-hidroxidifenil en medio alcalino, para dar un compuesto coloreado, que tiene máxima absorbancia en la longitud de onda correspondiente a 520 nm, el espectrofotómetro utilizado fue marca Helios.

5.5.3.8 Polifenoles totales

La extracción de polifenoles de los mucílagos se realizaron con metanol al 80% en

HCL 6N, en una relación de 1g con 10 ml de solución. Se hicieron las diluciones con agua desionizada. Las reacciones se determinaron colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu y ácido gálico como estándar (Re *et al.*, 1999), la absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro marca Helios. El contenido de polifenoles totales se expresó en equivalentes de ácido gálico en mg/g en muestra seca.

5.5.3.9 Flavonoides totales

Se utilizó un patrón de quercetina grado reactivo (Sigma Aldrich) para realizar una curva de calibración en las siguientes concentraciones: 20, 40, 60, 80 y 100µg/ml, se disolvieron con metanol al 80%. Las disoluciones de los estándares 0.5 ml fueron mezclados con 1.5 ml de etanol al 95%, 0.1 ml de cloruro de aluminio al 10%, 0.1 ml de acetato de potasio 1M y 2.8 ml de agua destilada. Después fueron incubadas a temperatura ambiente por 30 min, la absorbancia de la mezcla de reacción fue medida a 415 n en un espectrofotómetro Uv-vis marca Genesys 10S.

Para el blanco el cloruro de aluminio fue sustituido por agua destilada. Análogamente, extracto de cladodio en 100 ppm -disueltos en metanol al 80% de cada variedad y estadío se hicieron reaccionar con cloruro de aluminio para la determinación del contenido de flavonoides.

5.5.3.10 Determinación de Quercetina por HPLC.

Para preparar la muestra se pesaron 50 mg de nopal deshidratado, Se colocó en un tubo eppendorf y se le agregó metanol al 80% grado HPLC. Se llevó a un vortex por 3 min y posteriormente se ultrasonificó por 10 min. Se continuó con centrifugación por 10 min a 12000 rpm en una centrífuga marca Labnet (Spectrafuge 16M). El procedimiento de extracción repitió por tres ocasiones.

Las condiciones del equipo fueron un flujo isocrático con ACN:agua acidulada (1:1;con ácido acético 1%); flujo de 1.0 ml/m, a 250 nm de longitud de onda a 30°C, el tiempo de retención fue 9.5 min y la corrida de 15 min. el equipo fue LC Agilent 1120

Compact Con el LC se utilizó el software fue Ezchrom Elite. La columna utilizada fue una C18 250x 4mm (5 μ m).

5.5.3.11 Ensayo enzimático

a) Inhibición de la α -glucosidasa (Kim *et al.*, 2000).

- En 100 μ M de buffer de fosfato de pH 7.0 se disolvieron 2000mg /ml de albúmina de suero bovina. Posteriormente se disolvió la α -glucosidasa en una concentración de 0.1 U/ml junto con azida de sodio (200mg/ml). El extracto (20% v/v) se reconstituyó con dimetilsulfóxido y agua (1:1). Se realizaron diluciones de 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9 y 1.95 mg/ml, se le agregó 50 μ l del sustrato paranitrofenil- α -d-glucopiranosido. La absorbancia se leyó antes y después de agregar el sustrato a una longitud de onda de 405 nm en un lector de microplacas para absorbancia Biotek. ELx 808 IU con software GEN 5.
- Se utilizó acarbosa como control positivo, el cual se diluyó en agua destilada y se realizaron diluciones seriales 10, 5, 2.5 y 1.25 mg/ml.
- 10 μ l de cada dilución del extracto (Acarbosa, F2 y F3) se incuban por 5 min con 50 μ l de la fuente enzimática.
- Después de la incubación se le adicionó 50 μ l del sustrato.

El porcentaje de inhibición de la α -glucosidasa fue calculado como sigue:

$$\% \text{ de inhibición} = (1 - B/A) \cdot 100$$

Donde:

A = es el control de la absorbancia

B = es la absorbancia de las muestras.

La concentración mínima inhibitoria del extracto que se requiere para inhibir la actividad de la enzima al 50% (IC₅₀) se calcula por análisis de regresión.

b) Inhibición de la α -amilasa (Apostodilis *et al.*, 2007)

La enzima se diluyó en 20µM buffer de fosfato a pH 6.9 a una concentración de 0.5 mg/ml. El extracto se disolvió en dimetilsulfóxido y agua destilada al 20% v/v. Se realizaron diluciones seriadas: 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9 y 1.95 mg/ml . Enseguida se preparó como sustrato almidón (0.5%) en solución de buffer de fosfato de pH 6.9.

El extracto (acarbosa, F2 y F3) se disolvió en dimetilsulfóxido y agua destilada al 20% v/v. Se realizaron diluciones seriadas: 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9 y 1.95 mg/ml . Se midió la absorbancia a 540 nm con espectrofotómetro UV-Vis (GENESYS 10S).

Se utilizó como control 25µl de dimetilsulfóxido y agua destilada (1:1).

Para la determinación de la muestra se realizó lo siguiente:

- 25µl del extracto se adicionaron a 25µl de la enzima y se incubó a 25° por 10 min.
- Se adicionó 25µl de almidón.
- La mezcla se incubó a 25°C por 10 min.
- Enseguida la mezcla se suspendió con la adición de 50µl de 96 mM 3,5-dinitrosalicílico.
- La placa se incubó en baño María por 5 min. y se enfrió a temperatura ambiente.

El porcentaje de inhibición se calculó considerando el 100% de la actividad enzimática con el control. El IC₅₀ se calculó por regresión lineal.

5.5.4 Determinaciones Histológicas

Se tomaron muestras de 3 cladodios de la variedad Copena, se fijaron con una modificación del reactivo formaldehído: acetona: alcohol butílico terciario (F.A.A.) y se deshidrató con alcohol al 50, 60, 70, 85 y 98% por dos h. Se continuó con alcohol butílico terciario, alcohol butílico terciario más xilol en proporciones 3:1, alcohol etílico más xilol en proporción 1:1, alcohol etílico más xilol en proporción 1:3 y por último xilol. Las muestras permanecieron por 2 h en cada solución. La inclusión se realizó en parafina en la estufa de 30° C hasta 55° C. Los cortes se realizaron en un microtomo de mano a 18 µde espesor, pegados con adhesivo de Haup y calor. La coloración de las

muestras se de tinción para polisacáridos con 0.2% azul salciano en solución acuosa y se sellaron con bálsamo de Canadá.

La evaluación histológica se basó en las observaciones de secciones transversales de las 5 mejores preparaciones realizadas con 10 cortes transversales de la parte media de la planta. Se llevaron a cabo 5 mediciones para cada uno de los elementos anatómicos a evaluar: número de células idioblásticas por mm^2 , área de células idioblástica, número de haces vasculares, diámetro de vasos de xilema, area de vasos de xilema.

El método para obtener las impresiones de estomas consistió en colocar una capa delgada y homogénea de adhesivo para PVC sobre la superficie del cladodio tanto para la exposición oriente como para la exposición poniente. Una vez que el adhesivo se seca, la película adherente se desprende con pinzas y aguja de disección y se coloca en un portaobjetos.

Las caracteres evaluados son densidad (DE; número de estomas/ mm^2) y tamaño del estoma (longitud de células oclusivas).

$$DE = \frac{\# \text{estomas}}{0.02479 \text{mm}^2}$$

Para cada carácter se realizaron cinco mediciones. Las observaciones se realizaron con el microscopio óptico Vista Visión y las imágenes fueron tomadas con una cámara digital Pixera modelo PVC 100C. Se utilizó un analizador de imágenes (Axion Visión 4®).

5.6 Validación de la actividad biológica de las fracciones pécticas y mucílago, flavonoides y extracto F3

5.6.1 Descripción del área de estudio

Esta etapa se llevó al cabo en el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad

Autónoma de Coahuila (Apéndice I).

El diseño experimental se realizó con ratas sanas y ratas inducidos con diabetes experimental con estreptozotocina bajo condiciones controladas acorde con la Norma Oficial Mexicana (NOM 0062 Z00-1999). Las ratas fueron alimentadas con pellets de acorde con los requerimientos nutricionales y agua *ad libitum*.

Se aplicó para la inducción de diabetes 1 dosis única intraperitoneal de estreptozotocina (150 mg/kg). 7d después de la inyección de determinaron los niveles de glucosa por 2 días consecutivos. Los ratas con valores de 160-180mg/dl de glucosa (Masiello, 2006) fueron considerados para el experimento.

5.6.2 Ensayo biológico

.

5.6.2.1 Ratas sanas

Se formaron 5 grupos con 6 ratas cada uno. Los niveles de glucemia se determinaron en 5 grupos de ratones con 18 h de ayuno. Se les indujo hiperglucemia con la administración gástrica de solución de glucosa al 50% (4 ml/kg).

- Grupo 1. Control positivo. Se le administró solución salina isotónica
- Grupo 2. Control positivo. Se administrará Acarbosa (500mg/kg de peso).
- Grupo 3. Se les administró mucílago (500mg/kg peso)
- Grupo 4. Se les administró flavonoides (100mg/kg de peso)
- Grupo 5. Se administró extracto F3 (100mg/kg de peso).

En cada grupo se evaluó los niveles de glucemia cada 60 min por 3 h.

5.6.2.2 Ratas inducidas a diabetes

Efecto hipoglucémico en ratas diabéticas. Se administraron los compuestos durante 7 d, posteriormente se determinaron los niveles de glucemia en ratas con 18 h de ayuno cada tercer día. En cada grupos se determinó los niveles de glucemia cada 60 m por 3 h.

- Grupo 1. Control positivo. Se le administró solución salina isotónica

- Grupo 2. Control positivo. Se administró Acarbosa (500mg/kg de peso).
- Grupo 3. Se administró mucílago (500mg/kg peso)
- Grupo 4. Se administró flavonoides (100mg/kg de peso)
- Grupo 5. Se administró extracto F3 (100mg/kg de peso).
- En cada grupo se evaluará los niveles de glucemia cada 60 min por 3 h

Las muestras se obtuvieron por punción de la vena caudal y se cuantificó con un glucómetro comercial de tiras reactivas.

5.7 Diseño experimental

En el análisis de resultados se empleó la herramienta estadística de análisis de varianza y comparación de medias de Tukey al 5 % de probabilidad. Utilizando un diseño experimental completamente al azar, donde los tratamientos fueron las cuatro variedades, la unidad experimental estará constituida por un cladodio como planta madre para la siembra, teniendo así 10 repeticiones para cada tratamiento para las pruebas físicas, en tanto que para las pruebas químicas, una unidad experimental (nopal tierno) estará constituida por dos cladodios, teniendo cinco repeticiones. Para su análisis se empleará un ANOVA con $P \leq 0.05$ de significancia con el paquete estadístico de R® versión 2.8.1. (2008).

Los datos de las variables del ensayo biológico fueron procesados a través de un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ con el paquete estadístico de R® versión 2.8.1. (2008).

Para la evaluación nutricional y funcional se empleó un MANOVA (Apéndice I)

6. RESULTADOS

6.1 Variables Agronómicas en condiciones a campo abierto

6.1.1 Longitud, ancho y grosor

El análisis de varianza exhibió diferencias significativas entre cultivares (Tabla VI), para esta variable. Durante el estadio uno los valores más altos se presentaron en la variedad Copena y Villanueva, mientras las variedades Jalpa y Milpa Alta presentaron la longitud menor ($F=8.35$, $p=0.0014$). Para el segundo estadio este comportamiento se repitió para Copena y Villanueva pero la longitud menor fue del cultivar Jalpa ($F=13.35$, $P<0.01$). En el último estadio evaluado se observó que la variedad Villanueva y Copena presentaron la mayor longitud mientras Jalpa y Milpa Alta presentaron el menor valor, lo que demuestra diferencias en la tasa de crecimiento.

De acuerdo a la determinación de la variable ancho de cladodio, la prueba de media de Tukey ($p=0.05$) mostró dos grupos estadísticamente diferentes. Nuevamente la Variedad Copena y Villanueva presentaron el mayor valor en la etapa uno mientras Jalpa y Milpa alta el menor valor ($F=19.61$, $p=0.0001$). En la segunda etapa de desarrollo se encontró un comportamiento similar entre cultivares ($F=58.11$, $p<0.001$) al igual que en el tercer estadio ($F=16.97$, $p=0.001$).

Para la variable de grosor los resultados muestran diferencia significativa entre variedades. Para el primer estadio de desarrollo la variedad Copena mostró el mayor grosor, en cambio la variedad Jalpa presentó el menor grosor ($F=13.74$, $p=0.0001$). En la segunda etapa se observaron nuevamente diferencias significativas ($F=6.11$, $p=0.005$) entre cultivares. En el tercer estadio se observaron dos grupos con significancia

estadística por un lado Copena y Villanueva y por el otro Jalpa y Milpa Alta ($F=10.32$, $p< 0.001$).

6.1.2 Coeficiente longitud/ancho

En lo que respecta a esta variable se encontraron diferencias significativas entre cultivares. La comparación de medias mostró que el coeficiente fue mayor para la variedad Jalpa, en el primer y segundo estadio mientras los demás cultivares fueron iguales ($p<0.01$). En el tercer estadio se observó una modificación en el comportamiento de la variedad Milpa Alta siendo junto con Jalpa significativamente mayor a los otros cultivares.

6.1.3 Peso fresco y seco

Al realizar la comparación de medias para la variable peso seco, las variedades Copena y Villanueva presentaron el mayor valor en peso fresco, en cambio Jalpa y Milpa Alta presentaron el menor valor en los dos primeros estadios. En el tercer estadio la variedad Copena presenta el mayor valor y Milpa Alta el menor peso fresco.

El análisis de la variable peso seco mostró en la prueba de Tukey ($P= 0.05$) que el mayor valor se presentó en las variedades Copena y Villanueva y el menor valor lo presentaron los materiales Jalpa y Milpa Alta, en el estadio uno. En la segunda etapa la variedad Copena presentó el mayor peso seco y Milpa Alta presentó el menor. Se observó el mismo comportamiento en el tercer estadio ($F= 15.85$, $p=0.001$).

Tabla VI.
Variables agronómicas de Nopal bajo condiciones a campo abierto.

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
Longitud (cm)	12.56 ^a	22.97 ^a	34.82 ^{ab}	10.48 ^b	19.47 ^c	31.63 ^{bc}	10.74 ^b	20.42 ^{bc}	31.58 ^c	13.06 ^a	22.06 ^{ab}	35.28 ^a
Ancho (cm)	7.93 ^a	13.93 ^a	15.33 ^a	5.62 ^b	9.62 ^b	12.96 ^b	6.44 ^b	9.41 ^b	12.37 ^b	7.93 ^a	13.20 ^a	16.24 ^a
CLA	1.58 ^b	1.64 ^b	2.27 ^b	1.84 ^a	2.02 ^a	2.44 ^a	1.66 ^b	2.17 ^a	2.55 ^a	1.64 ^b	1.67 ^b	2.17 ^b
Grosor (mm)	0.63 ^a	2.27 ^a	2.51 ^a	0.49 ^c	1.92 ^b	2.07 ^b	0.52 ^{bc}	1.82 ^b	2.19 ^b	0.57 ^{ab}	2.04 ^{ab}	2.50 ^a
Peso fresco (g)	25.24 ^a	349.18 ^a	448.39 ^a	19.30 ^b	305.37 ^b	404.92 ^{ab}	19.71 ^b	307.50 ^b	364.39 ^b	25.37 ^a	346.86 ^a	444.57 ^a
Peso seco(g)	2.48 ^a	37.19 ^a	51.79 ^a	1.90 ^b	33.29 ^{bc}	44.86 ^b	1.57 ^b	31.48 ^c	38.11 ^c	2.46 ^a	35.66 ^{ab}	46.44 ^{ab}

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3, CLA= Coeficiente longitud/ancho.* Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n =5)

6.1.4 Número de brotes y rendimiento.

Para estas variables los datos presentaron dos grupos estadísticamente diferentes los cultivares Copena y Villanueva con valores mayores en cuanto a número de brotes y rendimiento, por otra parte las variedades Milpa Alta y Jalpa observaron menor cantidad de brotes y por lo tanto menor rendimiento (Tabla VII).

Tabla VII
Número de brotes y rendimiento de cuatro variedades de Nopal

Variedad	No Brotes	Rendimiento t/ha
Copena	6.53 ^a	41.4 ^a
Jalpa	3.80 ^b	32.8 ^b
Milpa Alta	3.73 ^b	31.6 ^b
Villanueva	6.46 ^a	38.10 ^a

* Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (Prueba de Tukey $\alpha \leq 0.05$; n=5)

6.1.5. Firmeza y color

En la Tabla VIII se observó que los valores más altos de firmeza del cladodio lo presentó el cultivar Milpa Alta y fueron diferentes estadísticamente a los demás cultivares en el estadio uno ($F=7.67$, $p=0.002$). En la segunda etapa se observó que la variedad Milpa Alta presentó el mayor valor y fue significativamente diferente a Villanueva, que presentó el menor valor ($F=8.66$, $p=0.001$). Para el tercer estadio se encontró diferencia significativa entre la variedad Milpa Alta y los demás cultivares ($F=8.21$, $p=0.001$).

Las variables relacionadas con el color no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre estadios y cultivares.

Tabla VIII
 Variables de color y firmeza en diferentes estadios y variedades de Nopal

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva	
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2
L	43.56	42.03	41.13	43.77	42.13	42.14	42.17	43.12	43.57	43.35	43.45
-a	15.53	15.64	14.76	15.97	15.07	15.63	15.86	15.64	15.14	15.47	15.47
+b	24.93	20.87	20.19	23.99	23.47	21.69	25.65	25.86	22.87	24.36	25.54
Firmeza(kg)	2.26 ^b	2.51 ^{ab}	2.28 ^b	2.28 ^b	2.39 ^{bc}	2.33 ^b	2.50 ^a	2.66 ^a	3.52 ^a	2.25 ^b	2.25 ^c

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3,* Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.2 Variables químicas

6.2.1 Acidez titulable (%), pH y sólidos solubles (°Brix).

De acuerdo con el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas para estas variables (Tabla IX).

6.3 Variables Histológicas

6.3.1 Número de vasos de xilema, área de vaso, grosor de pared de vaso, área de células de mucílago y densidad estomática

La Tabla X muestra los valores de las variables histológicas. Se observó diferencias significativas solo en la variable de área de células de mucílago (ACM). El cultivar Copena presentó el área mayor, mientras los demás cultivares presentaron menor área.

Tabla IX
Variables químicas bajo condiciones de campo abierto en diferentes variedades de Nopal

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
%Acidez	0.60	0.54	0.68	0.55	0.59	0.66	0.58	0.58	0.69	0.53	0.60	0.68
pH	4.26	4.18	4.26	4.28	4.22	4.36	4.12	4.12	4.23	4.03	4.34	4.31
°Brix	3.12	2.64	2.72	2.76	2.64	2.64	3.16	2.56	2.56	2.84	2.28	3.12

(n = 5)

Tabla X
Variables histológicas de cuatro cultivares de Nopal bajo condiciones de campo abierto

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
NVX /mm ²	11	13.2	15.4	11.2	12.8	14.6	11.4	12.6	16.8	10.8	13.4	15.6
ÁV(µm)	160.43	181.34	191.28	171.64	176.80	189.98	159.39	182.21	185.46	166.54	179.10	193.12
GPV (µm)	2.28	2.23	2.13	2.16	2.16	2.17	2.12	2.18	2.20	2.17	2.15	2.15
ACM(µm ²)	327.59	3587 ^a	6900 ^a	333.45	1746 ^b	4890 ^b	329.67	1746 ^b	4790 ^b	332.89	1664 ^b	4420 ^b
DE	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3;* NVX= número de vasos de xilema, AV= área de vaso, GPV= grosor de vaso, ACM= área de células de mucilago, DE= densidad estomática. Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.4 Variables agronómicas en condiciones de microtúnel

6.4.1 Longitud, ancho y grosor

La tabla XI muestra las diferencias estadísticas para estas variables. De acuerdo con la comparación de medias para la variable longitud (Tabla XI), los materiales se ubican en tres grupos estadísticamente diferentes ($P < 0.01$); para el primer estadio la variedad Jalpa presentó la mayor longitud, mientras Milpa Alta fue la variedad con menor valor ($F = 13.27$, $p = 0.001$). Durante el segundo estadio se siguen observando los mismos patrones de crecimiento donde la variedad Jalpa presentó la mayor longitud y Milpa Alta alcanzó el menor valor ($F = 9.54$, $p = 0.001$). En el tercer estadio, Jalpa nuevamente presentó la mayor longitud y Milpa Alta el menor valor de esta variable ($F = 19.23$, $p < 0.001$).

Se encontraron diferencia significativas entre cultivares para la variable ancho, la comparación de medias mostró tres grupos estadísticamente diferentes en la primera etapa de desarrollo presente mayor valor los materiales Copena y Villanueva, mientras la variedad Jalpa presentó el menor valor. Para la segunda etapa de desarrollo se observaron dos grupos estadísticamente diferentes: los cultivares Copena y Villanueva con valores mayores y Jalpa y Milpa Alta con los menores valores ($F = 13.19$, $p < 0.01$). Mientras para el tercer estadio de desarrollo se observó el mismo comportamiento estadístico, los cultivares Copena y Villanueva observaron los mayores valores y las variedades Jalpa y Milpa Alta presentaron menor ancho ($F = 8.69$, $p < 0.01$).

Por otra parte, el material que alcanzó el mayor grosor fue Copena, mientras Jalpa presentó el valor más bajo durante la primera etapa de desarrollo. En la segunda etapa y tercera etapa todas las variedades fueron iguales.

6.4.2 Coeficiente longitud/ancho

En relación con esta variable relacionada con la morfología propia de cada variedad

se puede observar que bajo condiciones de microtúnel la forma se acentúa sobre todo en la variedad Jalpa la cual expresó un valor mayor en todos los estadios siendo estadísticamente diferente (Tabla XI). El análisis de varianza presentó diferencias significativas en el segundo estadio para el cultivar Copena y Villanueva que observaron los menores valores. En el tercer estadio Copena, Milpa Alta y Villanueva fueron estadísticamente iguales.

6.4.3 Peso fresco y seco

Las variables de peso fresco y peso seco definen la capacidad de la planta para la absorción de nutrientes y transformación en estructuras. Los datos muestran para estas variables diferencias significativas entre cultivares. La variedad Jalpa junto con Copena y Villanueva mostraron la mayor ganancia en estas variables en los tres estadios de desarrollo bajo condiciones de cubierta en período invernal. Mientras la variedad Milpa Alta presentó un menor valor.

Tabla XI

Valores medios de variables agronómicas en cuatro cultivares de Nopal en condiciones de microtúnel

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
Longitud (cm)	9.84 ^{bc}	18.87 ^b	31.65 ^b	11.65 ^a	21.54 ^a	35.28 ^a	8.61 ^c	16.45 ^c	28.67 ^c	10.12 ^b	19.65 ^b	31.30 ^b
Ancho (cm)	7.93 ^a	12.28 ^a	14.81 ^a	5.01 ^c	9.61 ^b	12.86 ^b	6.26 ^b	9.03 ^b	12.24 ^b	8.04 ^a	12.73 ^a	15.11 ^a
Grosor (cm)	0.57 ^a	1.98	2.39	0.53 ^{ab}	1.86	2.41	0.51 ^{ab}	1.80	2.36	0.52 ^b	1.89	2.57
CLA	1.24 ^b	1.53 ^c	2.13 ^b	2.32 ^a	2.24 ^a	2.74 ^a	1.37 ^b	1.82 ^b	2.24 ^b	1.25 ^a	1.54 ^c	2.07 ^b
Peso fresco (g)	20.39 ^{ab}	334.70 ^a	434.46 ^a	23.62 ^a	344.14 ^a	432.07 ^a	18.88 ^b	293.51 ^b	369.64 ^b	20.17 ^{ab}	349.54 ^a	431.07 ^a
Peso seco(g)	2.01 ^{ab}	36.80 ^a	51.79 ^a	2.41 ^a	37.06 ^a	46.74 ^b	1.81 ^b	28.65 ^b	37.24 ^c	2.13 ^{ab}	37.06 ^a	47.65 ^b

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3, *Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.4.4 Número de brotes y rendimiento

La tabla XII manifiesta la prueba de medias realizada, señala que existe diferencias significativas en estas dos variables al producir en estas condiciones el mayor valor promedio de número de brotes para los cultivares Copena, Jalpa y Villanueva, mientras Milpa Alta presentó menor número de brotes. En cuanto al rendimiento para la variedad Jalpa no se vio reflejado el número de brotes en este carácter, ya que presentó un menor rendimiento con respecto a los otros materiales. El rendimiento presentó significancia estadística nuevamente formando dos grupos. Por un lado, las variedades Copena y Villanueva con un promedio mayor y por el otro lado Jalpa y Milpa Alta con una media menor, indicando la capacidad de aclimatación entre variedades bajo estas condiciones.

Tabla XII

Valores promedio de número de brotes y rendimiento de Nopal en condiciones de microtúnel

Variedad	No Brotes	Rendimiento t/ha
Copena	5.46 ^a	35.4 ^a
Jalpa	4.60 ^a	25.6 ^b
Milpa Alta	3.80 ^b	20.2 ^b
Villanueva	4.66 ^a	24.8 ^b

* Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.4.5 Color y firmeza

La tabla XIII muestra diferencia significativa ($p < 0.05$) en la variable firmeza para el cultivar Jalpa en el tercer estadio y Milpa Alta en los tres estadios.

6.5 Variables químicas

6.5.1 Acidez titulable (%), pH y sólidos solubles (°Brix)

La tabla XIV no muestra diferencia significativa entre cultivares para estas variables.

6.6 Variables Histológicas

6.6.1 Número de vasos de xilema, área de vaso, grosor de pared de vaso, área de células de mucílago y densidad estomática

La tabla XV refleja que diferencias significativas para el segundo y tercer estadio, en relación a el ACM observando para Copena en un rango entre 53 y 35 % de diferencia entre estadios.

Tabla XIII

Valores promedio de variables de color y firmeza en Nopal bajo condiciones de microtúne

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3									
L	42.46	43.06	42.24	42.87	42.26	42.18	43.18	43.35	43.68	43.68	45.68	43.45
-a	15.62	15.64	15.76	15.94	15.27	15.66	15.64	15.86	15.96	15.68	15.72	15.86
+b	23.22	21.53	21.21	23.12	21.90	22.34	23.66	24.35	24.87	21.18	20.24	20.45
Firmeza (kg)	2.22 ^b	2.26 ^b	2.28 ^b	2.30 ^b	2.30 ^b	2.40 ^a	2.46 ^a	2.44 ^a	2.44 ^a	2.31 ^b	2.36 ^b	2.26 ^b

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3, *Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

Tabla XIV

VARIABLES QUÍMICAS DE CUATRO VARIEDADES DE NOPAL BAJO CONDICIONES DE MICROTÚNEL

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
%Acidez	0.62	0.56	0.62	0.56	0.54	0.58	0.56	0.58	0.58	0.60	0.58	0.62
pH	4.05	4.12	4.10	4.19	4.23	4.18	4.07	4.15	4.16	4.20	4.22	4.18
°Brix	3.26	2.56	2.64	3.16	3.12	3.16	2.78	2.56	2.68	2.86	2.66	2.26

(n=5).

Tabla XV
Variables histológicas de cuatro variedades de Nopal bajo condiciones de microtúnel

Variable	Copena			Jalpa			Milpa Alta			Villanueva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
NVX /mm ²	11.6	12.90	16.2	12.1	12.4	13.8	12.1	12.4	15.9	11.2	13.8	15.2
AV(μm)	154.37	178.79	188.71	183.55	178.67	180.64	167.44	179.31	187.36	149.21	186.21	188.5
GPV (μm)	2.16	2.19	2.21	2.14	2.15	2.18	2.13	2.16	2.22	2.16	2.18	2.1
ACM(μm ²)	321.62	3733 ^a	6730 ^a	326.71	1636.7 ^b	4769 ^b	363.52	1884.1 ^b	4592.5 ^b	327.64	1671.5 ^b	4592.2
DE	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3,* Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.7 Variables nutrimentales y funcionales

El análisis de varianza multivariado (MANOVA) reflejó diferencias estadísticas significativas ($P < 0.001$) en contenidos medios de las variables: bromatológicas, minerales, fenólicos totales (Y14), flavonoides totales (Y15) y vitamina C (Y16) entre estadios y cultivares (Apéndice I).

6.7.1 Variables bromatológicas

Los resultados bromatológicos reflejan diferencias entre condiciones (Figura 6) entre condiciones y estadios (Figura 7) y entre condiciones y cultivares (Figura 8). Para las variables proteína (Y1) y fibra detergente neutra (Y4) se observaron los valores mayores en condiciones a campo abierto (A1) y menores en microtúnel (A2). En los tres estadios (B1-3) las cuatro variables bromatológicas (Y1-4) fueron estadísticamente diferentes. Además se observó que la variable Y1 y la variable Y3 tienden a disminuir durante el desarrollo, mientras Y2 y Y4 tienden a incrementarse significativamente (Figura 7).

En la Figura 6 se señala la relación entre el ambiente y los materiales. El contenido de Y1 en donde se establecen dos grupos con significancia estadística para ambos ambientes. Por un lado, los cultivares C1 y C4 con valores mayores para Y1 y menores para Y4 y por el otro los cultivares C2 y C3 con respuestas opuestas en estas variables tanto en A1 como en A2. Destaca la variable Y2 con un comportamiento altamente significativo entre variedades en A1. Donde las variedades C1, C3 y C4 observaron los valores mayores y C2 el menor contenido. Por el contrario en A2 se observó igualdad estadística entre C1, C2 y C3 con el menor contenido y con diferencia significativa para C4 con la mayor concentración promedio. La variable Y3 es estadísticamente igual en A1 y A2 pero muestra significancia entre variedades, el mayor contenido se observó en C1, C4 y el menor valor lo presentaron C2 y C3.

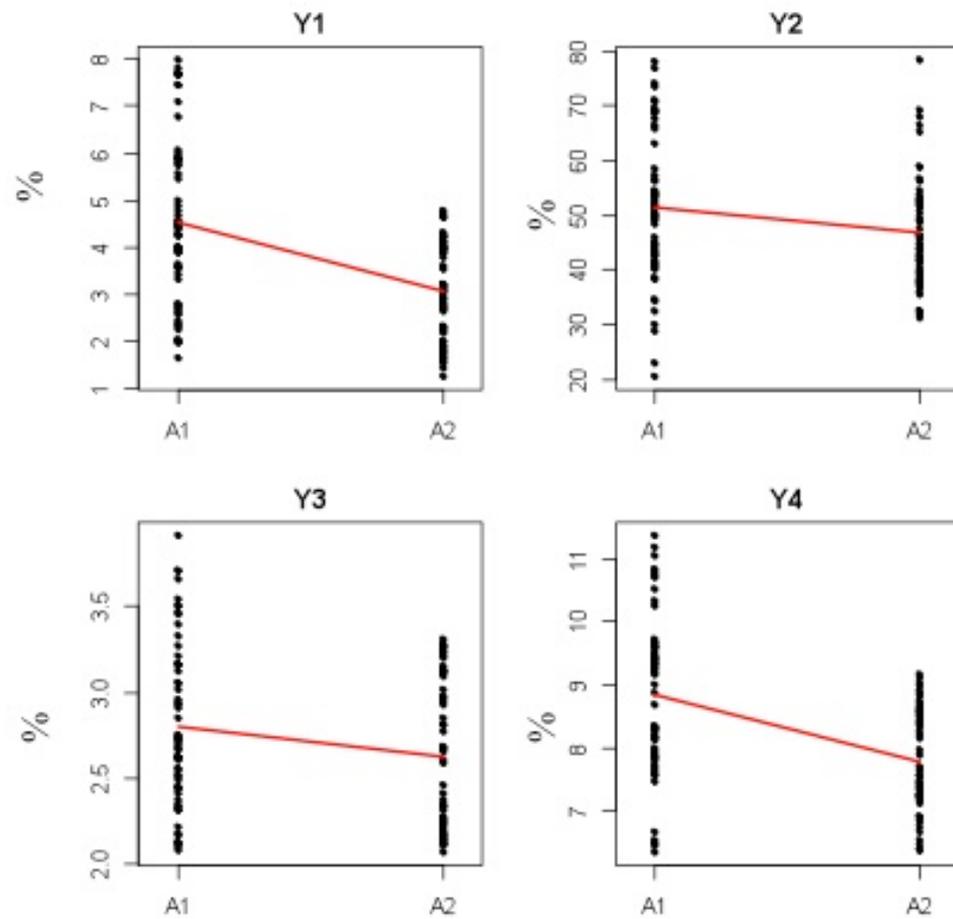


Figura 6. Variables bromatológicas en dos condiciones ambientales A1-2 en diferentes variedades de nopal.

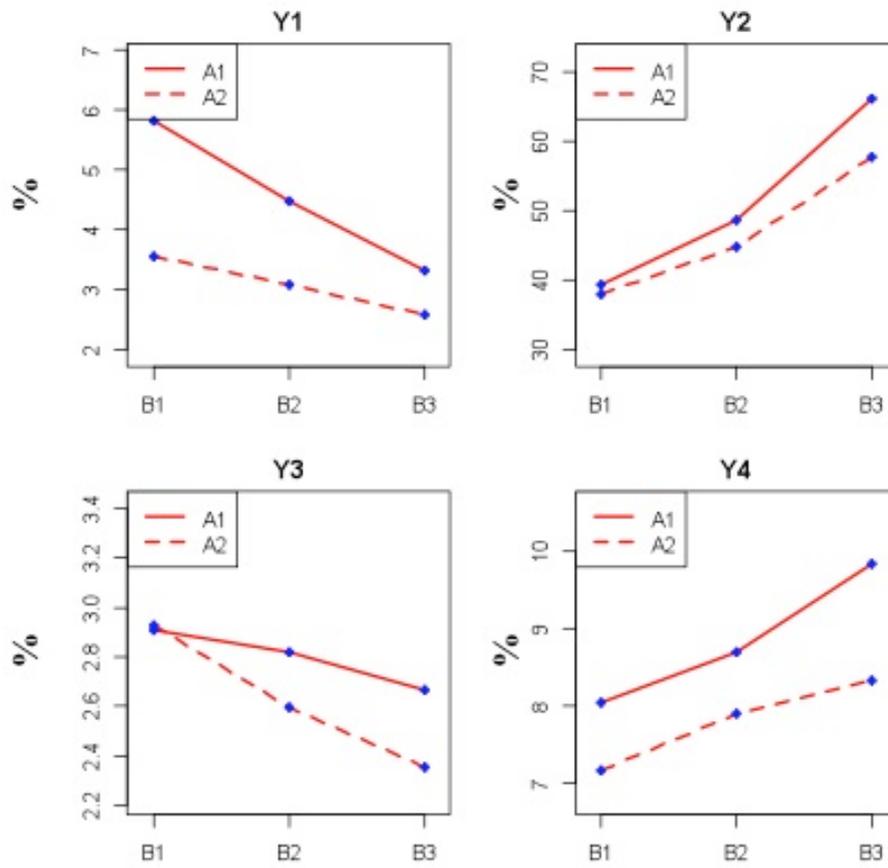


Figura 7. Variables bromatológicas en tres estadios de desarrollo (B1, B2, B3) en diferentes condiciones ambientales (A1-A2) de nopal.

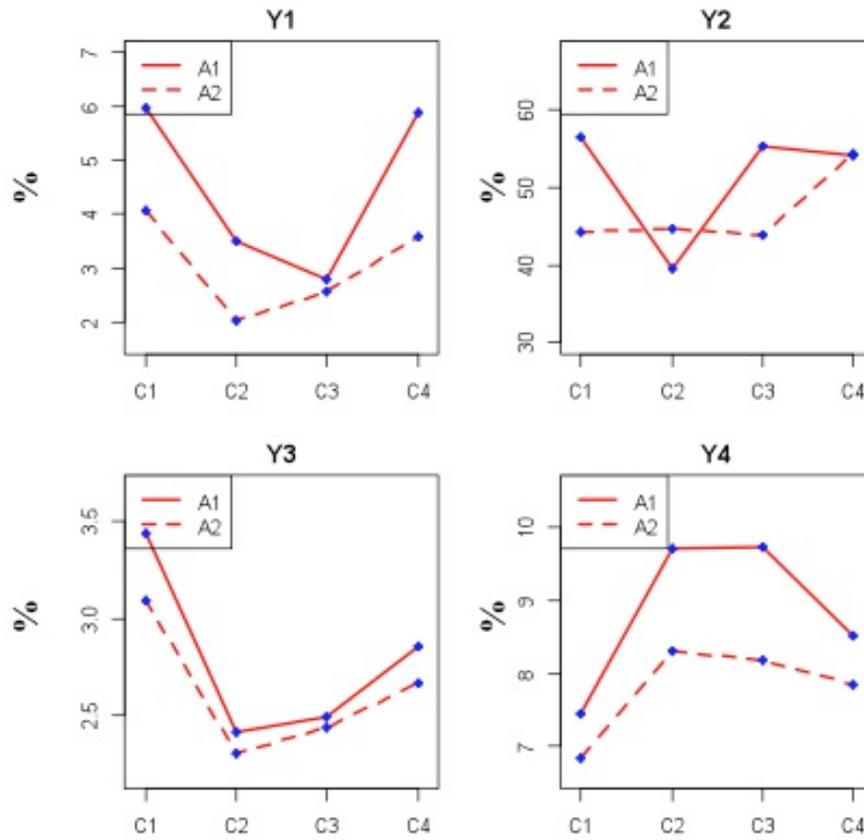


Figura 8. Variables bromatológicas de cuatro cultivares (C) de Nopal.

La Figura 9 manifiesta el comportamiento general de las cuatro variables (Y1-4) en los tres estadios (B1-3) de los cuatro cultivares (C1-4).

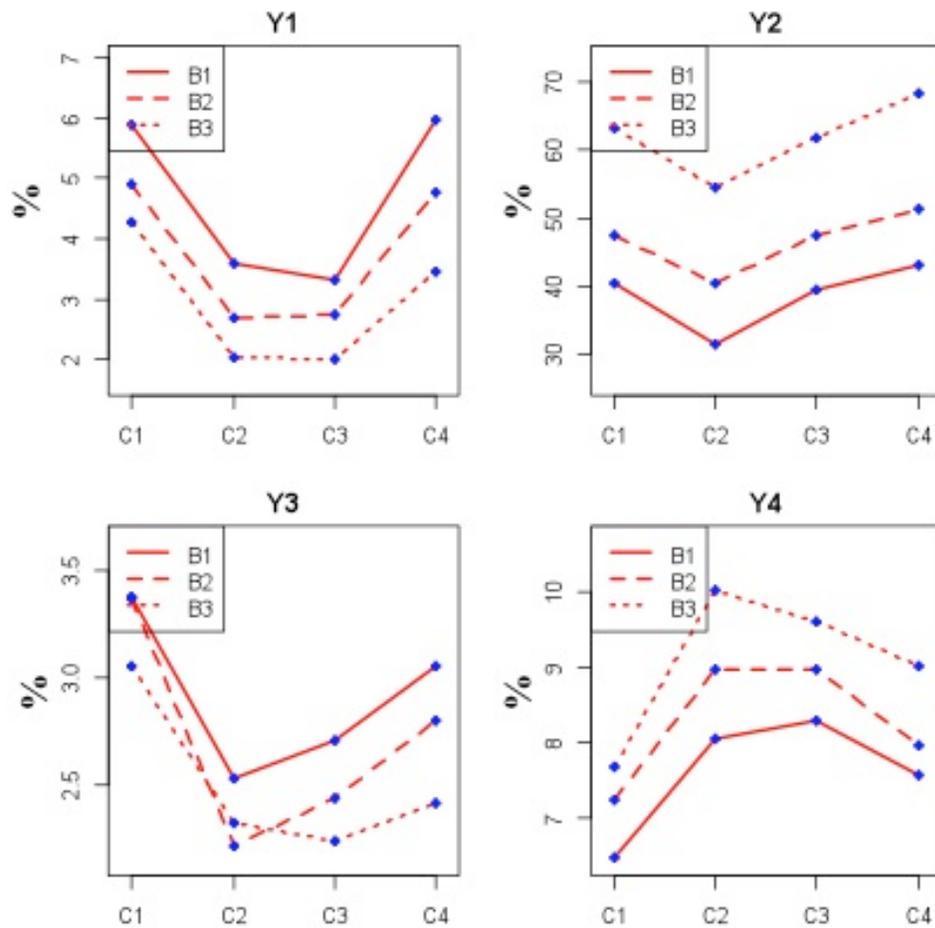


Figura 9. Relación entre estadios (B) y cultivares (C) en *O. ficus indica*.

6.7.2 Minerales

En la Figura 10 se señala el contenido mineral bajo diferentes condiciones ambientales. Donde el fósforo (Y5), azufre (Y6), potasio (Y8), hierro (Y9), magnesio (Y10), manganeso (Y11), cobre (Y12), zinc (Y13) fueron estadísticamente iguales en condiciones de campo abierto y microtúnel, y el calcio (Y7) presentó un valor mayor en A1.

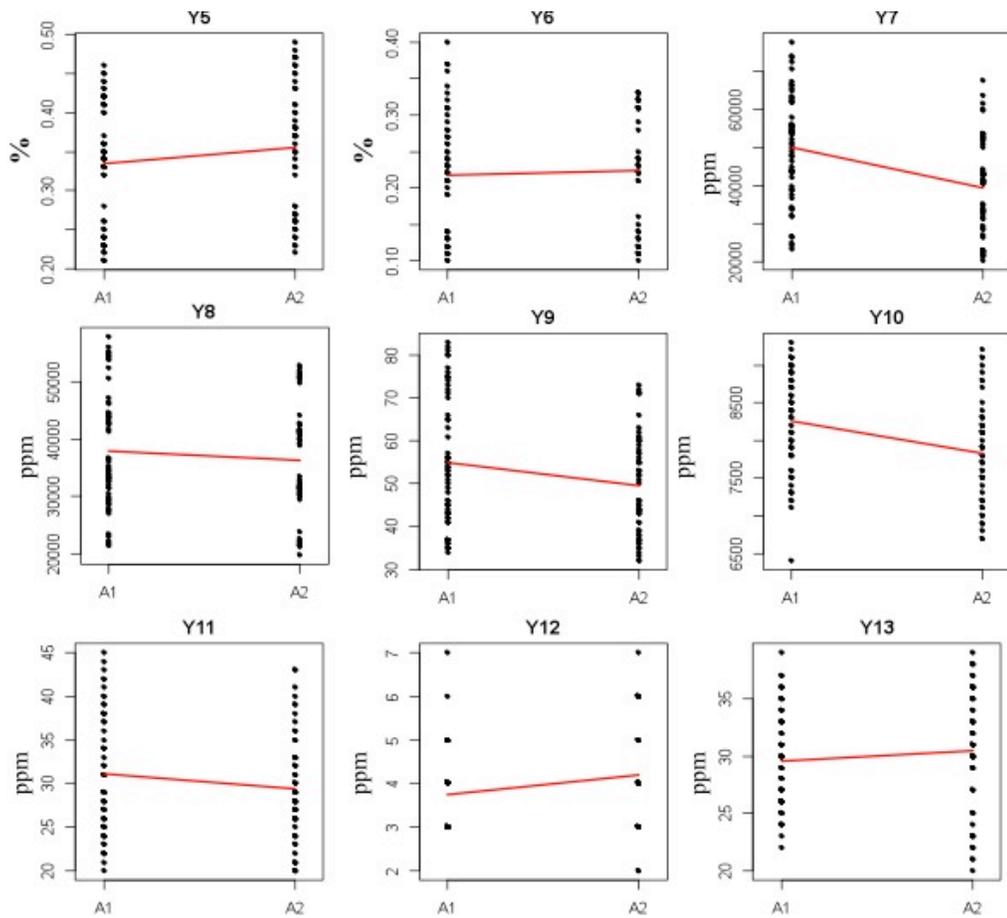


Figura 10. Minerales en condiciones a campo abierto (A1) y en microtúnel (A2) en *O. ficus indica*.

En las diferentes etapas de desarrollo se incrementó significativamente las variables fósforo (Y5), azufre (Y6), calcio (Y7), potasio (Y8), hierro (Y9), magnesio (Y10), manganeso (Y11), por el contrario, el cobre (Y12) no presentó diferencia significativa y el zinc (Y13) se incrementa significativamente en la última etapa de desarrollo (Figura 11).

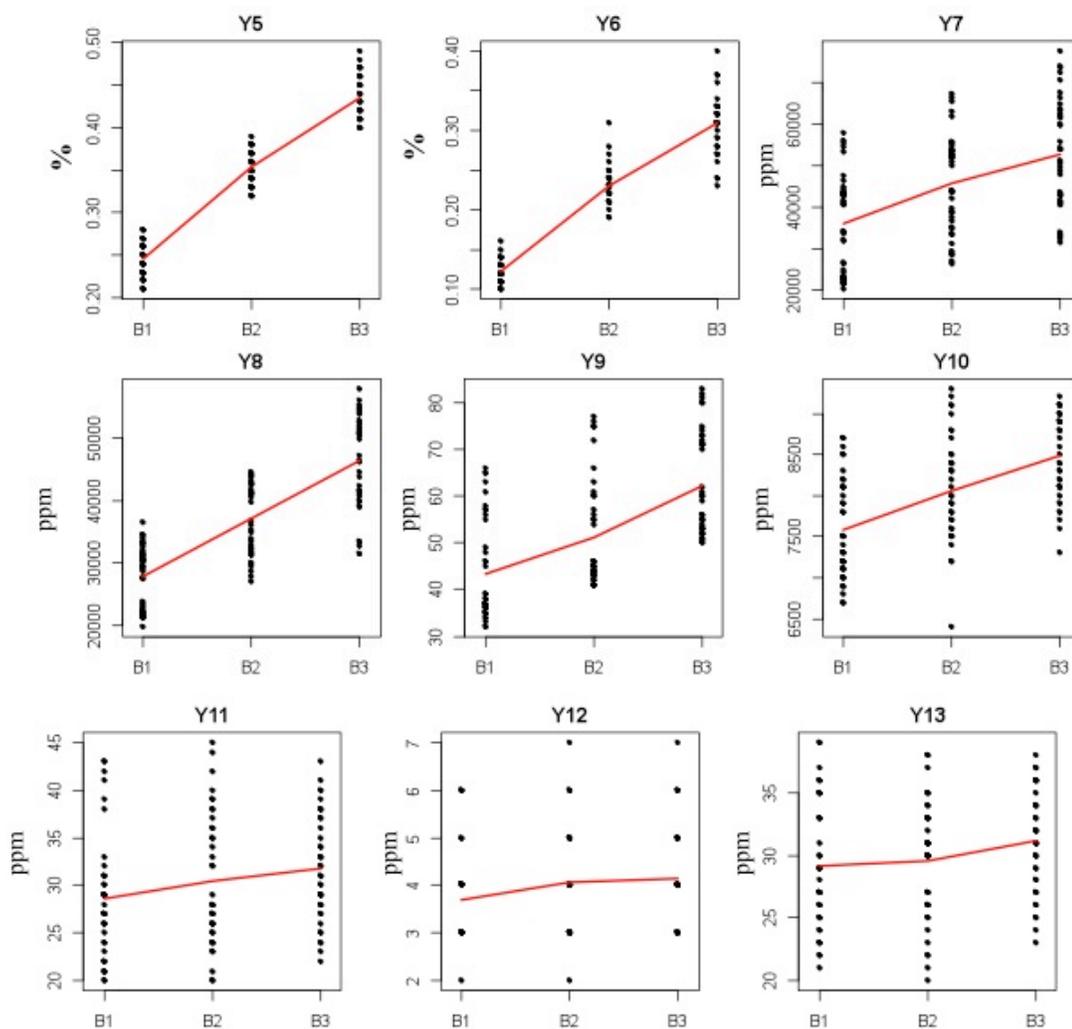


Figura 11. Minerales de *O. ficus indica*. bajo diferentes etapas de desarrollo(B).

En la Figura 12 se observa la interacción de los minerales y las variedades. La variable fósforo (Y5) es estadísticamente igual en todos los materiales. Para la variable azufre (Y6) se apreció que los cultivares C1, C2 y C3 son estadísticamente diferentes a C4, al presentar este último el mayor contenido. En la variable potasio (Y8) se observó un comportamiento significativo presentando el mayor contenido las variedades C1 y C4 seguido por C3 y con el menor valor C2. En esta misma Figura se muestra el comportamiento de la variable hierro (Y9) encontrando diferencia significativa entre C1 y C4 y para C2 y C3 se reportó que la concentración es estadísticamente igual. Además se destaca para la variable magnesio (Y10) significancia estadística representando el menor valor C1 y el mayor contenido C4 y para C2 y C3 una concentración media y estadísticamente igual. Para la variable manganeso (Y11) el comportamiento es estadísticamente significativo el menor contenido lo representó C1 y el mayor valor C4, además C2 y C3 presentaron valores promedio diferentes significativamente. La variable cobre (Y12) no observó diferencias significativas. Y para la variable zinc (Y13) resaltan dos grupos estadísticos significativos C1 y C4 con las mayores concentraciones y C2 y C3 con los menores valores.

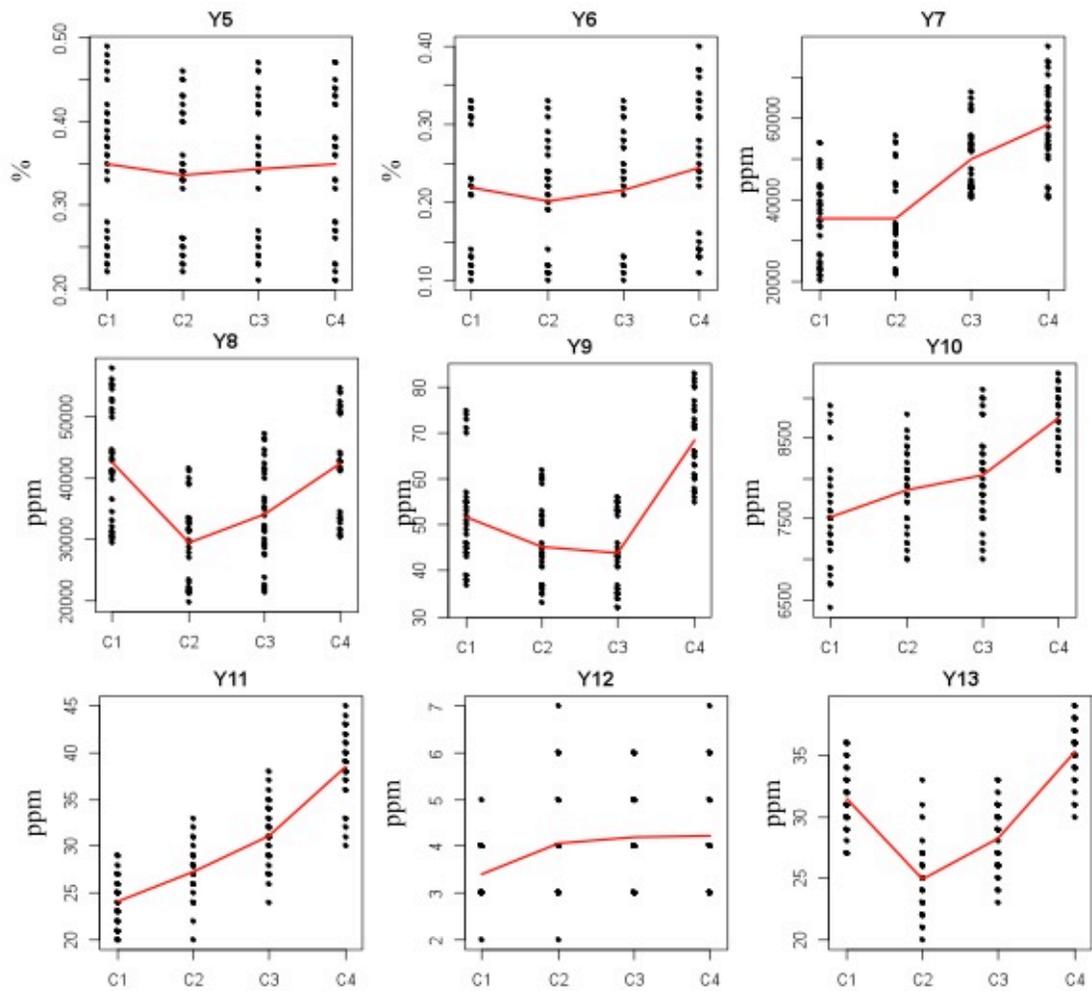


Figura 12. Interacción de los minerales (Y5-Y13) en los diferentes cultivares (C) de *O. ficus indica*.

La MANOVA destaca la interacción entre estadios y variedades en la Figura 13 en particular la variable Y7 y Y11 porque su concentración no se incrementó entre B2 y B3 en la variedad Milpa Alta. Este mismo comportamiento se observó para Jalpa entre B1 y B2. Por otra parte la variable Y12 es 28% más en B1 que B3, el Cu es un elemento que participa en el crecimiento de la planta y un exceso lleva a presentar un efecto negativo en él.

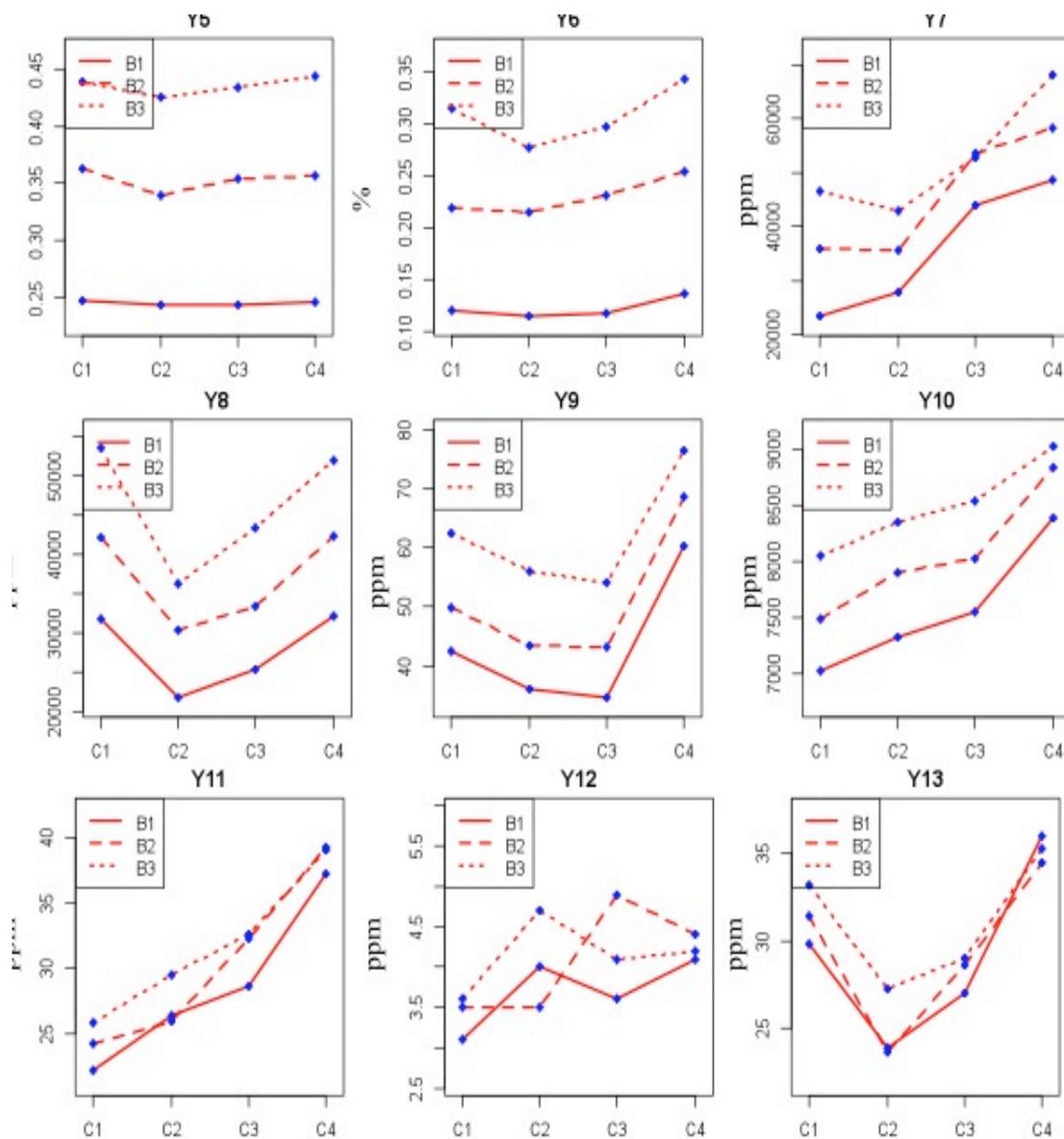


Figura 13. Interacción en el contenido de minerales entre estadios (B) y Cultivares (C) de *O. ficus indica*.

6.7.3 Fenólicos totales, Flavonoides totales y vitamina C.

En la Figura 14 se observa en general diferencias significativas en la concentración

de Y14, Y15 y Y16 entre ambientes, con un valor menor de la concentración en A2 y Y16 es estadísticamente igual. Se observa en la Figura 15 el contenido promedio de las tres variables en general en los tres estadios de desarrollo, y se observa significancia estadística en B1 y B2 para Y14 y Y15, para Y16 no mostró significancia estadística en ningún estadio. En la Figura 16 se señala que la concentración promedio de Y14 y Y15 es significativamente mayor en B2 y se conserva estadísticamente igual en B3 en A1, también se observó que bajo condiciones de A2 estas dos variables son estadísticamente iguales. Con respecto al contenido de Y16 se reporta que es estadísticamente igual entre ambientes y estadios de desarrollo.

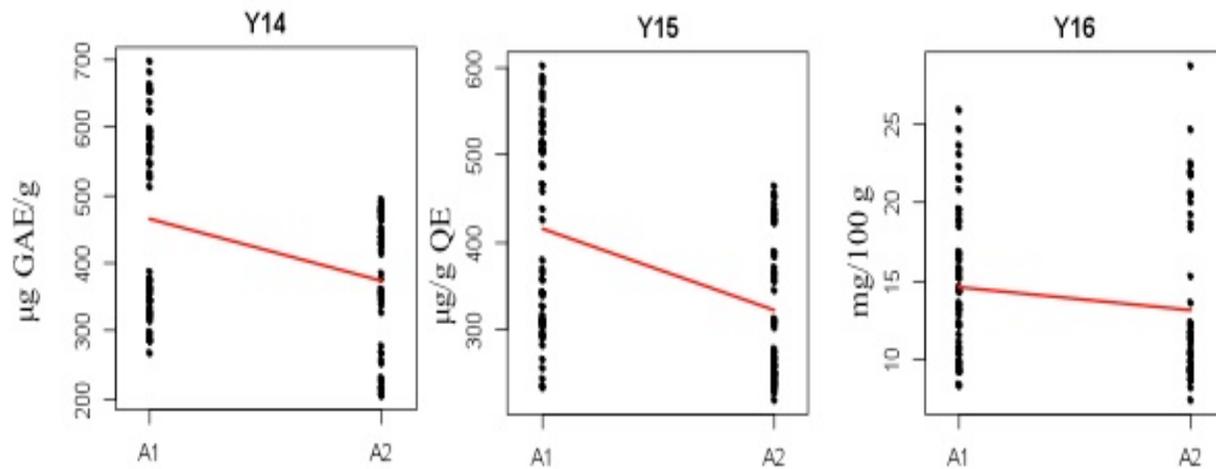


Figura 14. Compuestos antioxidantes (fenólicos totales (Y14), flavonoides totales (Y15) y vitamina C (Y16)) bajo diferentes condiciones ambientales en *O. ficus indica*.

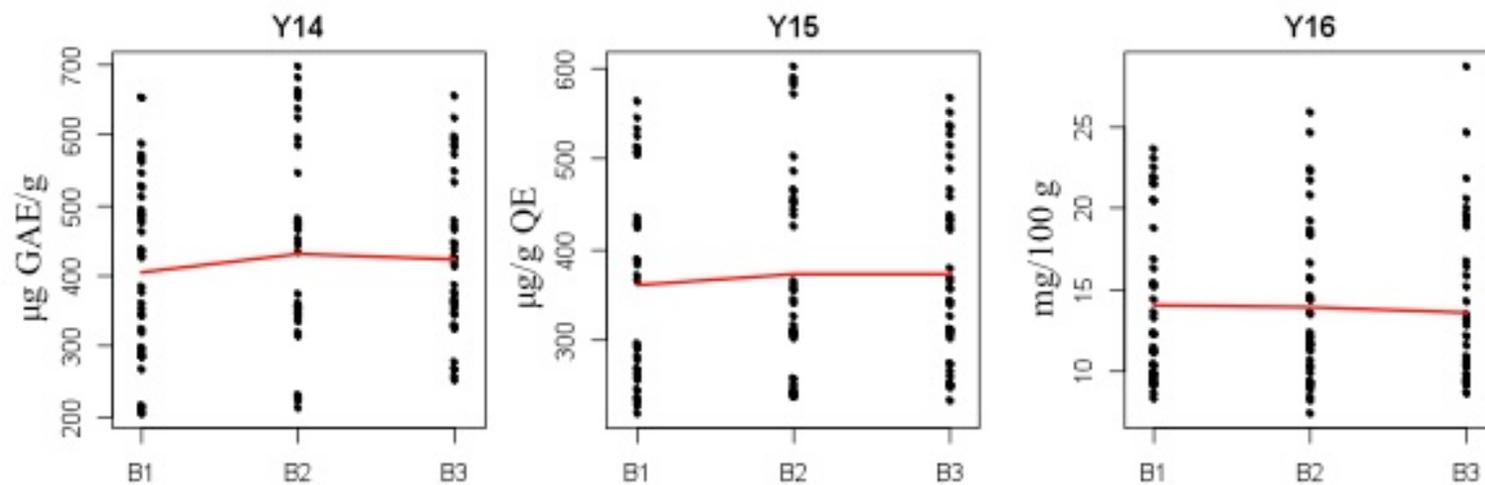


Figura 15. Contenido de compuestos antioxidantes en tres estadios de desarrollo (B1-3) para *O. ficus indica*.

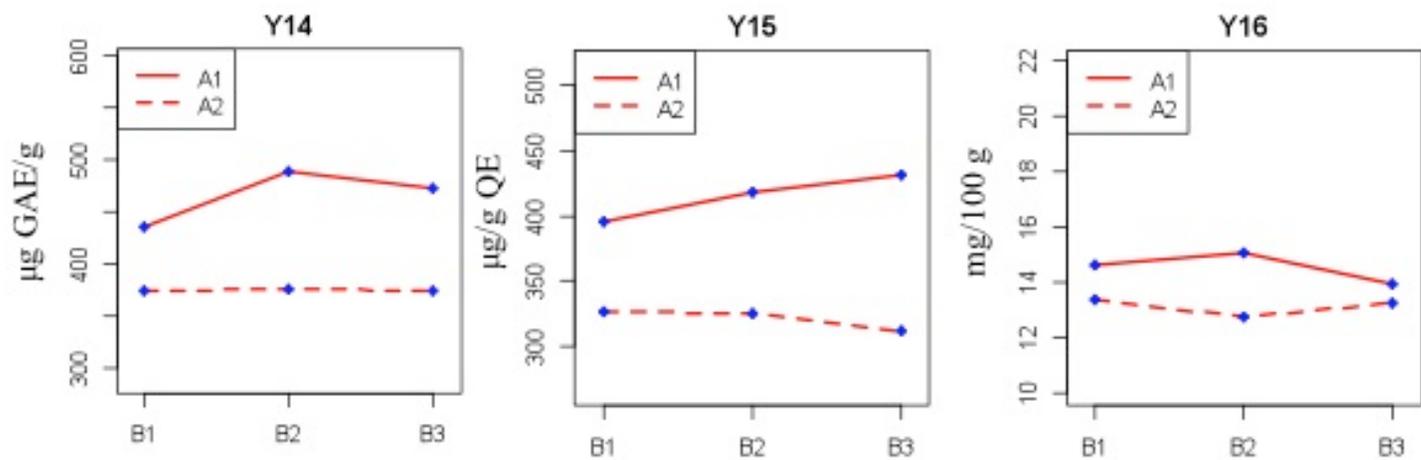


Figura 16. Contenido de compuestos antioxidantes en tres estadios de desarrollo (B1-3) bajo dos condiciones ambientales (A1-2) para *O. ficus indica*.

En la Figura 17, la MANOVA manifiesta diferencias significativas entre cultivares. Para la variable fenólicos totales (Y14) todos los cultivares fueron significativamente diferentes. La variable flavonoides totales (Y15) observó diferencias significativas entre C1 y C4 y fueron estadísticamente iguales los cultivares C2 y C3. En esta misma figura también se puede observar dos grupos estadísticamente diferentes C4 y C1, C2 C3.

Además en esta misma figura se puede observar que el dato más alto promedio lo presentan las variedades C1 y C4 en las variables Y14 y Y15 y el valor medio lo presentó C2 y fue igual en ambos ambientes, mientras el menor contenido lo presentó C3 en ambos ambientes. Esta misma figura destaca para la variable Y16 el material C4 con el mayor valor y C1, C2 y C3 con los menores valores promedios y estadísticamente iguales.

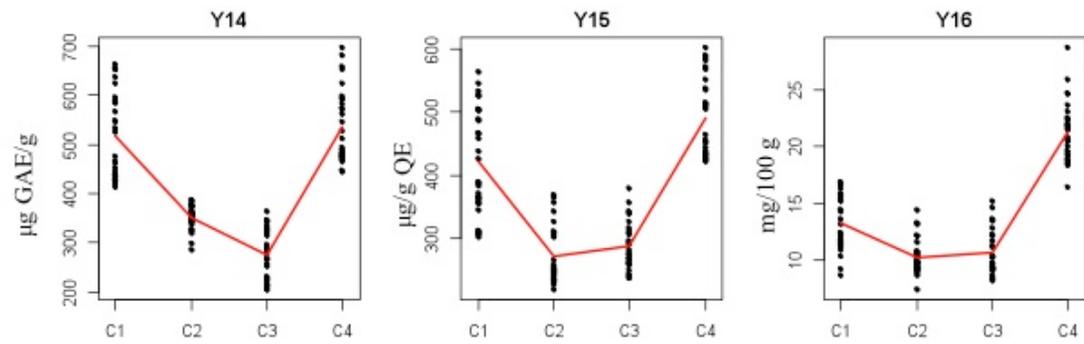


Figura 17 . Contenido de compuestos antioxidantes (Y14-16) en 4 variedades (C1-4) de Nopal.

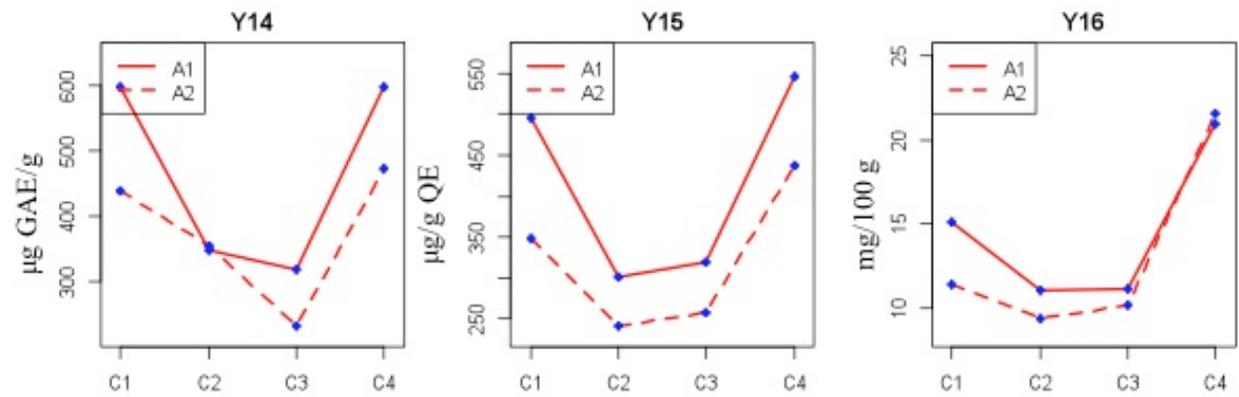


Figura 18. Interacción en el contenido de compuestos antioxidantes entre ambientes (A1-2) y variedades (C1-4) para *O. ficus indica*.

En la Figura 18, el A2 se observa diferencias significativas para la variable fenólicos totales (Y14) entre tres grupos, el primer grupo C1 y C4 presentaron los valores mayores, mientras C2 manifestó el valor medio y C3 el menor valor. El contenido de flavonoides totales (Y15) fue igual entre C2 y C3 y estadísticamente diferente entre C1 y C2, C3, C4. También se reporta diferencias estadísticas para la concentración de vitamina C (Y16) entre materiales, C4 destaca con la mayor concentración, mientras C1, C2 y C3 son estadísticamente iguales.

La interacción entre estadios y materiales se observa en la Figura 19. Para la variable fenólicos totales (Y14) los cultivares C1 y C4 se comportaron estadísticamente iguales en los tres estadios y reportaron los valores más altos, mientras C2 y C3 observaron los valores menores, para el primer estadio se reportó diferencia entre estos cultivares, mientras el segundo y tercer estadio fueron iguales.

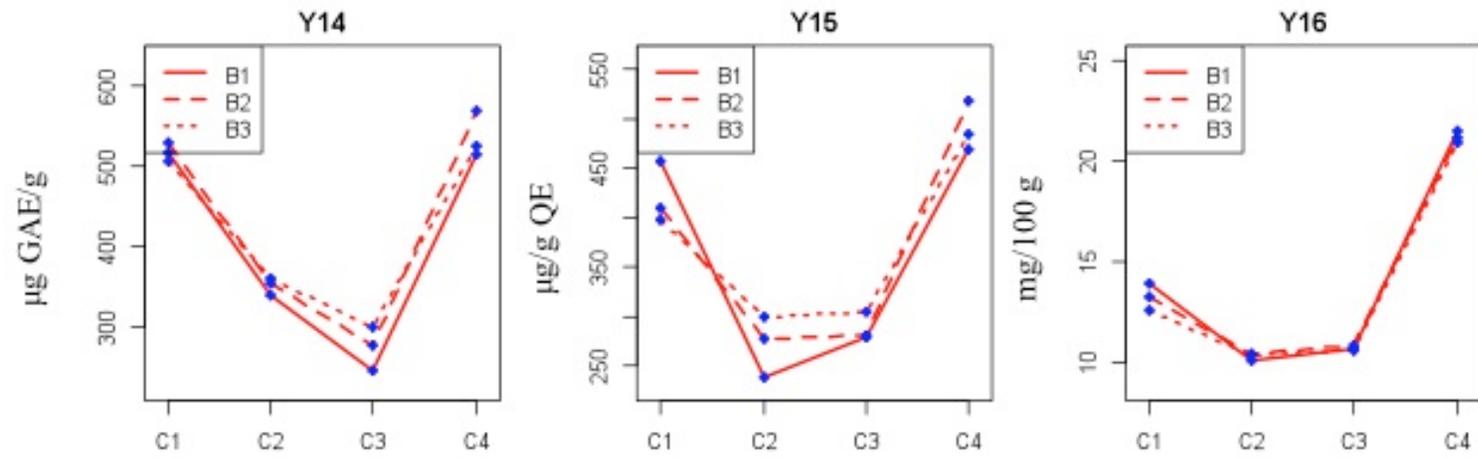


Figura 19. Interacción entre estadios (B1-3) y Variedades de *O. ficus indica*.

La variable flavonoides totales (Y15) observa un comportamiento estadísticamente significativo entre diferentes etapas de desarrollo y cultivares. Las variedades C1 y C4 son iguales entre sí en B1 y manifestaron el mayor valor mientras, C2 y C3 observaron el menor contenido y ausencia de significancia entre sí. En B2 y B3 se señala diferencia significativa entre C1 y C4 con el valor mayor para C4 seguido de C1, mientras C2 y C3 presentaron el menor contenido.

Esta misma Figura explica la interacción de la variable vitamina C (Y16) con marcada diferencia estadística entre dos grupos. El cultivar C4 presentó el mayor valor promedio y C1, C2 y C3 observaron el menor valor y fueron estadísticamente iguales en las tres etapas de desarrollo.

6.7.4 Extracto de acetato de etilo

El contenido de acetato de etilo fue significativamente mayor en el cultivar Copena en los tres estadios de desarrollo (Tabla XVI). Los cultivares Jalpa y Milpa Alta presentaron significancia ($p \leq 0.05$) en el tercer estadio de desarrollo.

Tabla XVI
Extracto de acetato de etilo (mg/g peso seco)

Variedad	Estadios		
	E1	E2	E3
Copena	29.24 ^a	33.45 ^a	25.32 ^a
Jalpa	22.67 ^b	25.35 ^b	24.21 ^a
Milpa Alta	23.10 ^b	26.67 ^b	24.22 ^a
Villanueva	24.43 ^b	22.34 ^b	17.23 ^b

E1= Estadio 1, E2=Estadio 2, E3= Estadio 3,* Letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey, $\alpha \leq 0.05$; n=5).

6.8 Pectinas y Mucilago

6.8.1 Pectinas

Para las variables pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre cultivares.

La Figura 20 refleja la diferencia significativa en el contenido de pectinas entre variedades de nopal en el primer estadio de desarrollo. En lo que respecta a la variable PSA se observaron que todos los cultivares fueron estadísticamente diferentes ($F = 46.53$, $p < 0.001$). La variedad Copena presentó el mayor valor de PSA seguido por Villanueva, Jalpa y Milpa Alta. El contenido de PSO presenta un comportamiento sobresaliente en la variedad Villanueva ($F = 26.5$, $p < 0.001$) mientras la variedad Copena Milpa Alta y Jalpa observaron los menores valores y fueron estadísticamente iguales entre sí. En relación a las pectinas totales los resultados observados presentaron diferencia significativas en todos materiales ($F = 82.97$, $p < 0.001$).

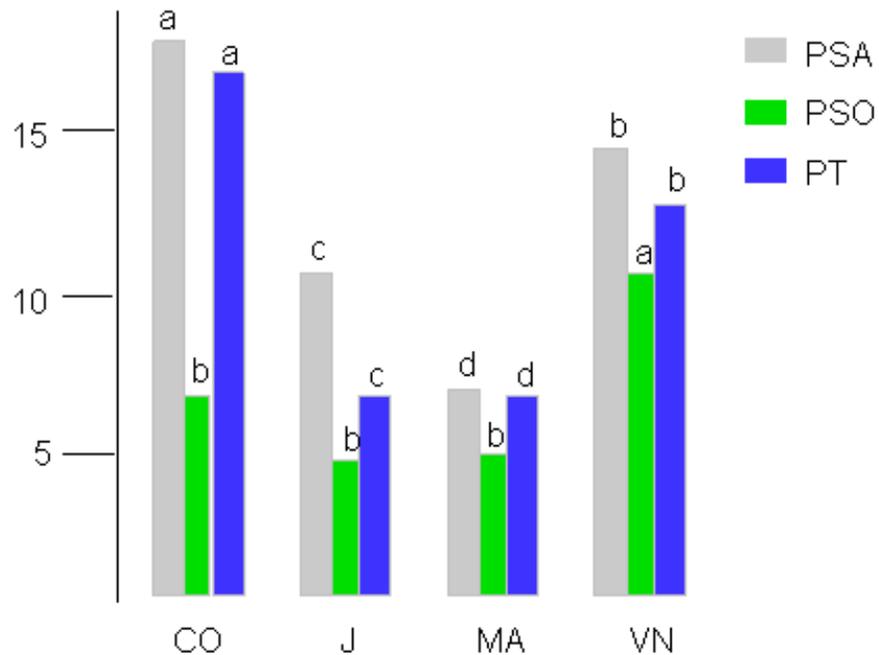


Figura 20. Contenido en % de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio I.

Durante el segundo estadio en el análisis de varianza y prueba de medias (Tukey= 0.05) se observaron diferencias significativas entre variedades para PSA y PT no así para PSO donde todos los cultivares fueron iguales (Figura 21). El valor mayor de PSA fue para la variedad Copena, mientras Jalpa, Villanueva y Milpa Alta fueron estadísticamente iguales. La variable PT fue mayor en Copena, seguida de Villanueva y en otro grupo estadístico se encontró Jalpa y Milpa Alta ($F= 66.35$, $p<0.001$).

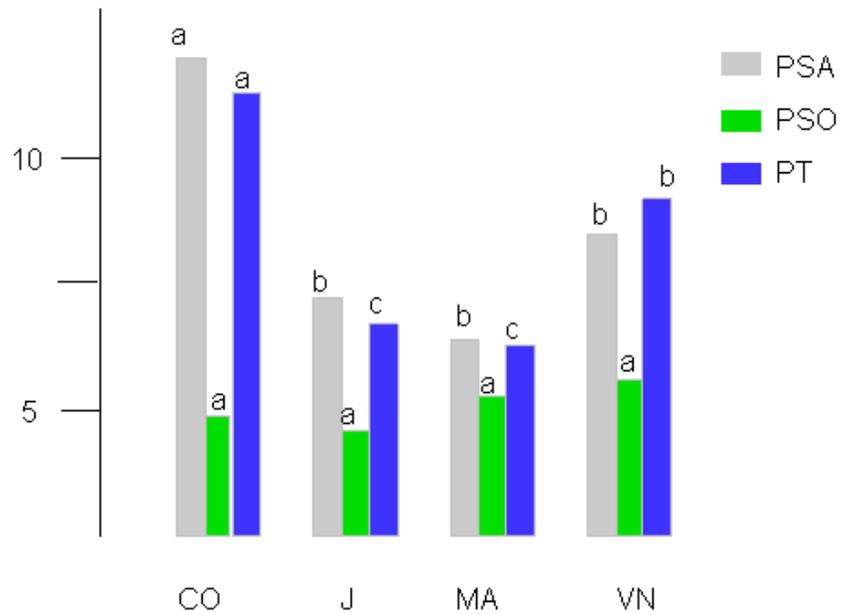


Figura 21. Contenido de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio II.

Para el tercer estadio se observó un mayor contenido de PSA y PT en la variedad Copena VI (Figura 22). La variable PSO presentó un mayor valor en la variedad Villanueva, seguida por Copena Milpa Alta y Jalpa presentando diferencias significativas ($F= 5.97, p<0.01$). El valor de PT fue mayor en tres materiales: Copena, Villanueva y Milpa Alta, mientras que Jalpa observó el menor contenido ($F= 21.96, p<0.01$).

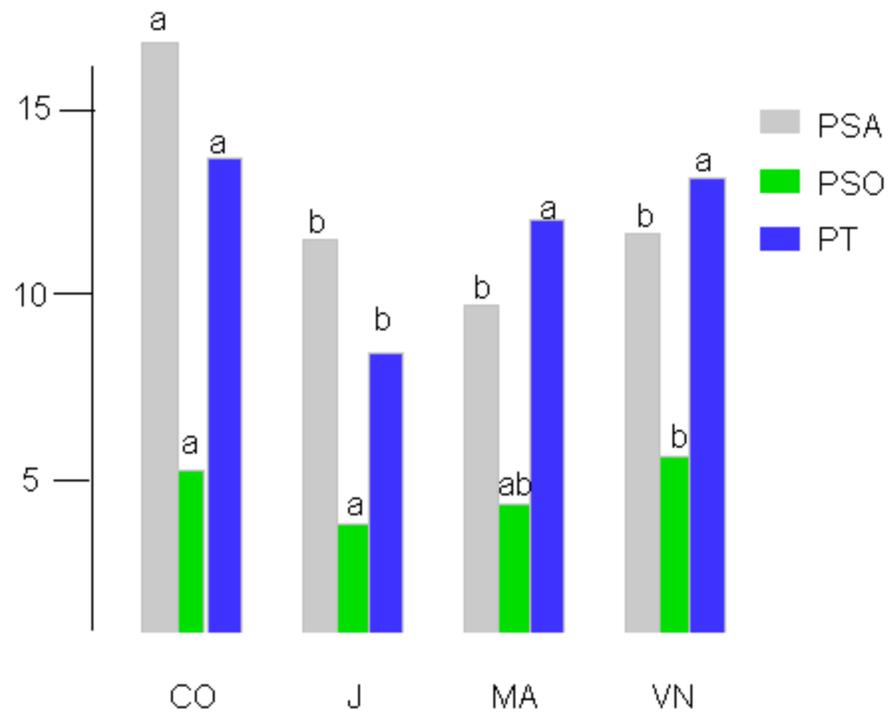


Figura 22. Contenido en % de pectinas solubles al agua (PSA), pectinas solubles al oxalato (PSO) y pectinas totales (PT) de 4 variedades de Nopal en el Estadio III.

6.8.2 Mucílago

El análisis de varianza no mostró diferencias significativas en el contenido de azúcares neutros entre estadios, sin embargo se observó diferencia significativa ($P < 0.01$) entre variedades. El contenido de azúcares se muestra en la Figura 23 y está representado por: glucosa, ramnosa, xilosa, arabinosa galactosa y en menor cantidad manosa. La fructuosa se observó en Milpa Alta.

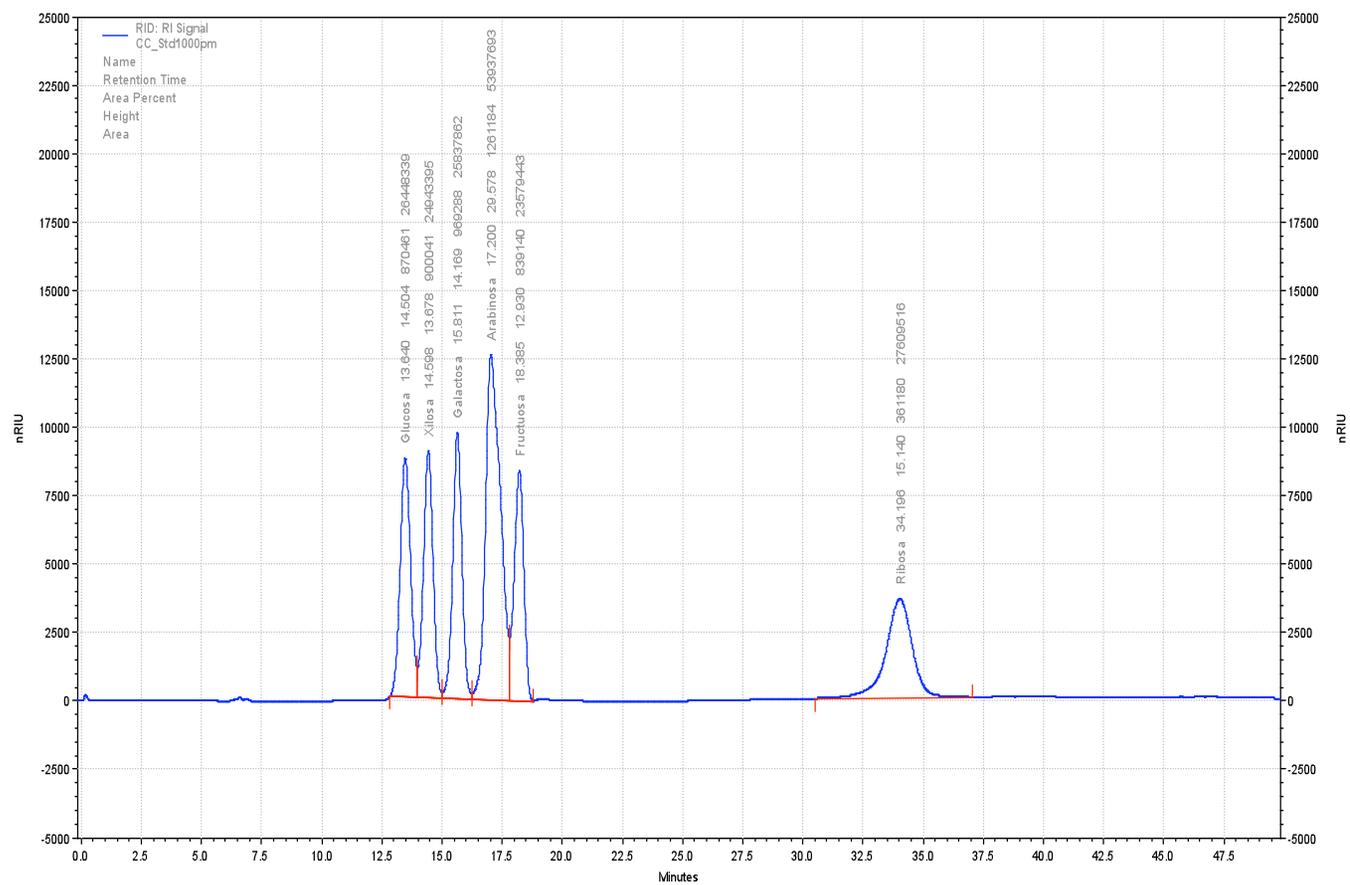


Figura 23 Cromatograma representativo del contenido de azúcares del mucílago de la variedad Villanueva.

La Figura 24 muestra el contenido de ácidos urónicos y azúcares presente en la variedad Copena con un contenido de ácidos urónicos (Ac.Uron) de 61.5%, 2% ramnosa (Rmn), 5% de arabinosa (Ara), 7.5% de galactosa (Gal), 2.4% de glucosa (Glu) y 3% de xilosa(Xil).

Para la variedad Jalpa los resultados muestran (Figura 25) el contenido en ácido galacturónico (Ac. Uron) fue de 50%, con respecto a los azúcares se encontró 2% de ramnosa (Rmn), 4.2% de arabinosa (Ara), 8.5% de galactosa (Gal), 1% de glucosa (Glu) y 2.5% de xilosa (Xil).

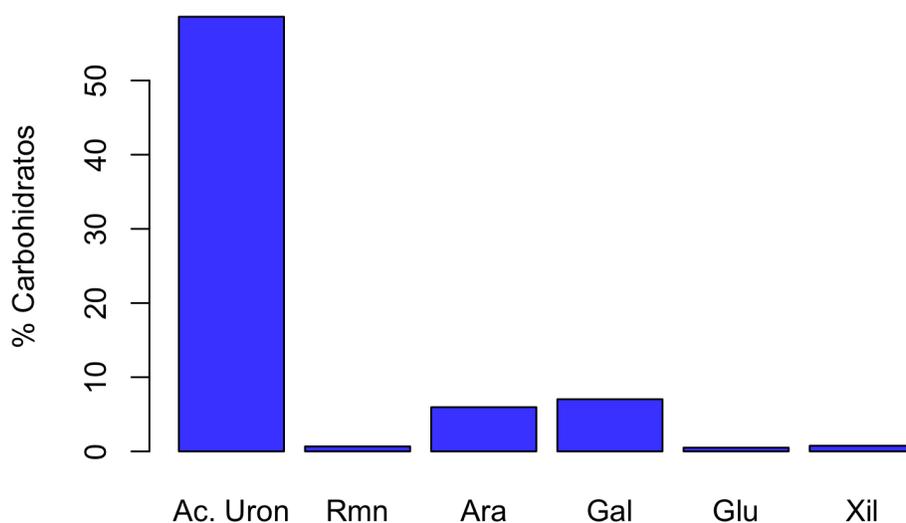


Figura 24. Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Copena VI.

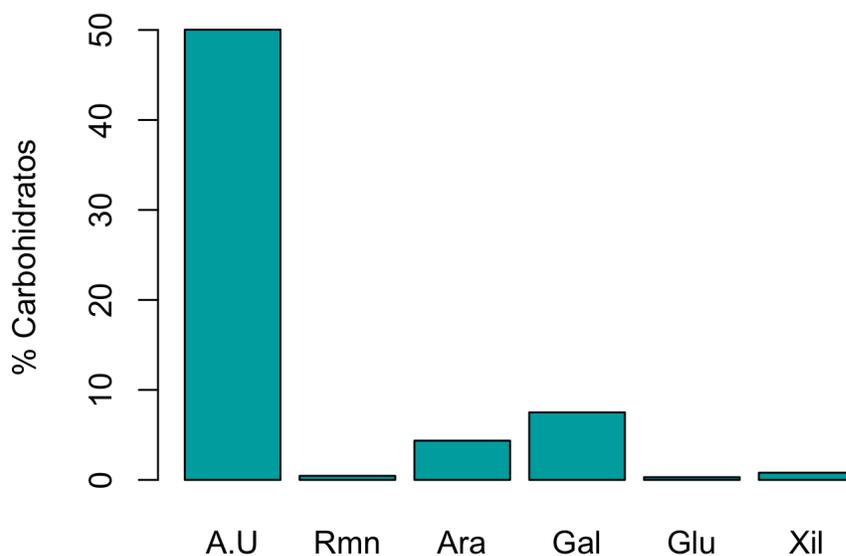


Figura 25. Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Jalpa .

La variedad Milpa Alta presentó un 58% de ácidos urónicos, 2% de ramnosa, 3.5% de arabinosa, 5.3% de galactosa 1% de glucosa y 2.8% de xilosa (Figura 26).

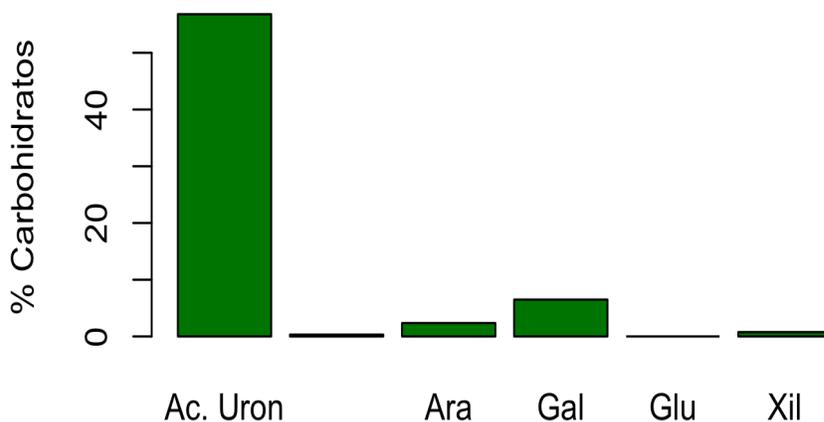


Figura 26. Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Milpa Alta.

En la variedad Villanueva (Figura 27) se observó el menor contenido de ácido galacturónico con un 45%, mientras sobresale en el contenido de galactosa con 9.1%, seguido de arabinosa,, ramnosa y xilosa con 5, 2 y 2% respectivamente. Por otro lado

solo se observaron rastras de glucosa asociada al mucílago.

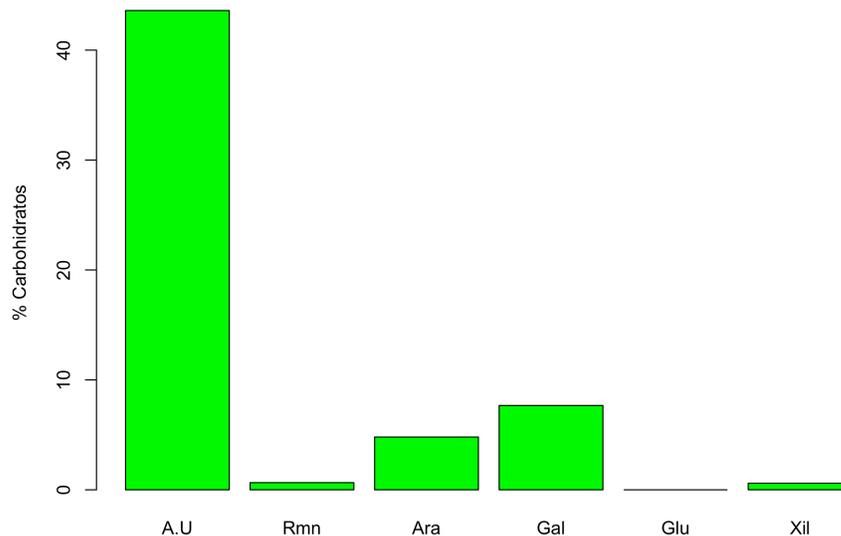


Figura 27. Contenido de carbohidratos en el mucílago de la variedad Villanueva

6.9 Ensayo enzimático

La tabla XVII muestra el efecto de inhibición de la α -amilasa de los extractos flavonóicos y triterpénicos.

Tabla XVII
Efecto inhibitorio de fitoquímicos sobre la α -amilasa y α -glucosidasa

Muestra	Concentración inhibitoria (IC ₅₀)	
	α -amilasa	α -glucosidasa
Acarbosa	13.9±0.43	7.18±0.15
Flavonoides	13.2±0.43	5.65±0.53
Extracto F3	2.85±0.66	2.68±0.45

El valor IC₅₀ representa el 50 % de inhibición de la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa

Se evaluó el efecto inhibitorio *in Vitro* en tres concentraciones por fitoquímicos. La acarbosa presenta un efecto inhibitorio mayor que los flavonoides y estos a su vez muestran un gran efecto inhibitorio comparado con los triterpenos.

6.10 Aplicación de yodo.

6.10.1 Variables de rendimiento y crecimiento

La Tabla XVIII contiene los datos de las variables número de brotes, rendimiento, longitud, ancho, grosor, peso fresco y peso seco.

Para las variables número de brotes y rendimiento no se observó respuesta a los tratamiento en ninguno de los tres muestreos.

El análisis de varianza para las variables de crecimiento como longitud, ancho y grosor indicó la inexistencia del efecto de aplicación de yodo.

En cuanto al peso fresco y seco de los cladodios se registró una disminución en el tercer muestreo en los todos los tratamientos.

6.10.2 Variables de Calidad

La Tabla XIX muestra las variables relacionadas con la calidad del cladodio: color, pH, sólidos solubles totales (°Brix), firmeza.

El análisis de varianza para observar el efecto de yodo en la calidad del cladodio no detectó diferencia significativa en el color de los cladodios entre los tratamientos. Sin embargo para la variable de pH si mostró diferencia significativa en el primer muestreo, en los dos siguientes muestreos no se observó diferencia. Para la variables sólidos solubles totales se observaron valores desde 1.62 a 1.70 no se encontró diferencia significativa. Para firmeza de cladodio los valores reportan igualdad estadística ($P \geq 0.05$) el testigo presentó el menor promedio (2.37), mientras el tratamiento de yodato generó el mayor valor (2.60).

6.10.3 Variables bromatológicas, contenido de vitamina C y quercetina.

El análisis de las variables bromatológicas (Tabla XX) señala el % de nitrógeno en

dos muestras con valores medios significativos ($P < 0.05$), sin embargo en el tercer muestreo no alcanzó significancia. Para las demás variables se observó que los tratamientos fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

El contenido de vitamina C fue altamente significativo ($P < 0.001$) en los tratamientos con yodo (Figura 28). El incremento fue de hasta un 45% con los tratamientos a una concentración de $1.29 \cdot 10^{-2}$ mg.

Con respecto al contenido de quercetina se observó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en el tratamiento de yodato (Tabla XXI).

Tabla XVIII

VARIABLES DE RENDIMIENTO Y CRECIMIENTO *Opuntia ficus indica* var Copena VI BAJO LOS TRATAMIENTOS CON KIO₃ Y KI

Variable	Muestra 1			Muestra 2			Muestra 3		
	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI
# Brotes	3.60	3.60	3.80	4.20	4.40	4.00	4.40	4.20	3.80
Rendimiento (kg,m ²)	7.70	7.61	9.09	7.47	7.46	8.46	7.47	7.33	8.10
Longitud(cm)	18.24	19.20	17.80	21.02	20.60	20.02	22.96	19.10	19.7
Ancho(cm)	12.70	13.20	12.02	11.56	11.48	11.27	10.70	9.54	9.74
Grosor (mm)	2.07	1.93	1.83	1.14	1.18	1.11	1.06	1.00	1.02
Peso Fresco(g)	316.38	333.48	275.98	177.36	163.12	151.46	173.02 ^a	106.06 ^b	115.88 ^b
Peso seco (g)	7.04	7.16	7.46	7.52	7.78	7.16	7.88 ^a	5.09 ^b	5.38 ^b

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n=5).

Tabla XIX

VARIABLES DE CALIDAD EN *O. ficus-indica* VAR COPENA V1 CON APLICACIONES DE KIO₃ Y KI.

Variable	Muestra 1			Muestra 2			Muestra 3		
	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI
L	45.62	44.68	43.71	45.04	45.11	43.81	44.15	44.44	44.29
-a	15.64	15.86	15.46	15.44	15.31	15.09	14.89	15.62	15.47
+b	23.06	23.62	22.45	23.65	23.08	23.29	27.78	21.87	22.02
pH	4.28 ^b	4.43 ^a	4.33 ^{ab}	4.35	4.46	4.38	4.49	4.47	4.35
°Brix	1.62	1.66	1.70	1.68	1.68	1.66	1.72	1.64	1.68
Firmeza(kg)	2.39	2.77	2.44	2.33	2.52	2.47	2.40	2.52	2.49

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n=5). (-a, +b coordenadas de color).

Tabla XX

VARIABLES bromatológicas y contenido de Vitamina C en cladodios de *O. ficus indica* var. Copena VI, bajo tratamiento con KIO₃ y KI.

Variable	Muestra 1			Muestra 2			Muestra 3		
	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI
%Materia orgánica	63.16	68.93	66.87	71.60	70.30	69.10	68.20	81.00	77.70
%Extracto etéreo	2.40	2.38	1.94	1.61	1.40	1.50	2.10	2.87	2.04
%Fibra cruda	11.88	11.56	11.36	11.59	10.62	10.69	12.87	15.40	11.61
% Nitrógeno	1.79 ^b	2.15 ^a	1.94 ^{ab}	2.14 ^a	1.72 ^b	2.03 ^{ab}	1.88	1.97	2.21
%Cenizas	28.58	25.00	27.20	25.20	22.61	20.91	23.9	20.68	24.12
Vitamina C (mg/100g)	19.70 ^b	35.90 ^a	35.90 ^a	17.50 ^b	37.60 ^a	37.60 ^a	20.80 ^b	37.40 ^a	39.10 ^a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n= 5);* significativa

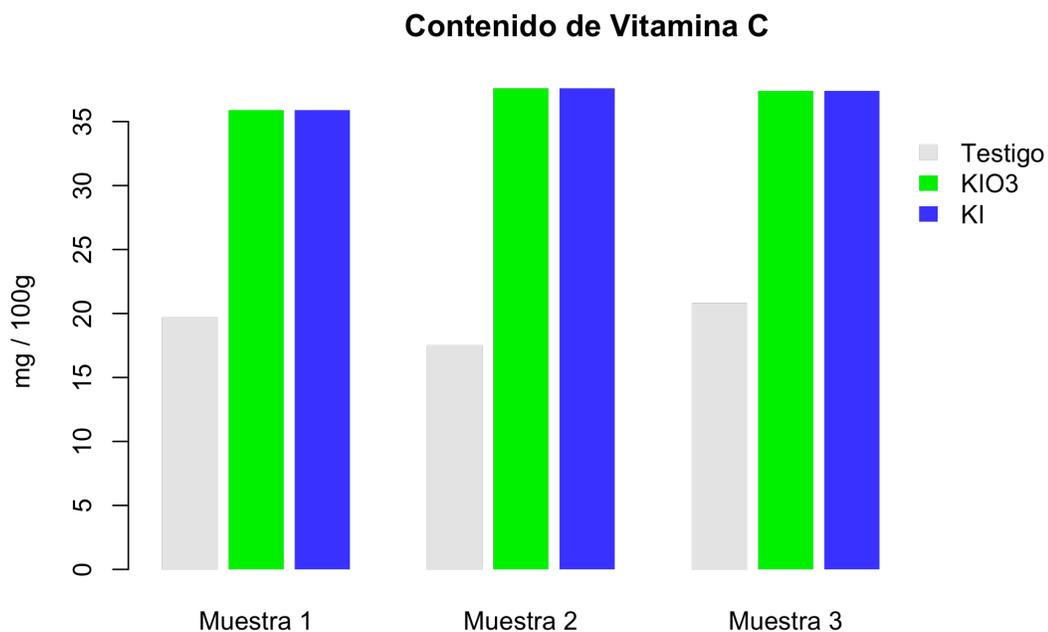


Figura 28. Contenido de vitamina C bajo los tratamientos con yodo en *O. ficus indica* var. Copena VI.

Tabla XXI
Contenido de quercetina bajo tratamiento con yodo

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Testigo	22.32 ^b	23.25 ^b	26.30 ^b
KIO ₃	42.00 ^a	47.33 ^a	39.00 ^a
KI	23.17 ^b	24.21 ^b	27.07 ^b

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n=5).

6.10.4 Minerales

En el análisis de varianza de la Tabla XXII correspondiente al contenido de minerales se aprecia que los tratamientos representados por la aplicación de yodo ejercieron efecto

muy selectivo en ciertos minerales.

El yodato ejerció efecto significativo en el contenido de P y Fe en la primera muestra, K en la segunda muestra, y en la tercera se acompañó del testigo con una mejor asimilación de este elemento. El magnesio fue significativo en el primer y segundo muestreo ($P < 0.05$).

El yoduro ejerció un efecto significativo ($P < 0.05$) en el contenido de Cu y Mn en el primer muestreo.

Tabla XXII

Contenido de minerales en 3 muestreos de cladodios de *Opuntia ficus-indica* var. Copena VI con aplicaciones de yodo por fertirriego

Variable	Muestra 1			Muestra 2			Muestra 3		
	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI	Testigo	KIO ₃	KI
S(%)	0.30	0.19	0.16	0.14	0.17	0.30	0.16	0.16	0.12
P(%)	0.16 ^b	0.26 ^a	0.20 ^b	0.25	0.15	0.19	0.26	0.27	0.12
Zn(ppm)	47.00	39.40	38.20	28.80	34.20	38.60	37.80	41.80	34.00
Cu(ppm)	0.86 ^b	0.84 ^b	1.02 ^a	1.10	1.10	1.20	1.00	1.54	0.96
Fe(ppm)	36.20 ^b	50.00 ^a	45.20 ^{ab}	48.40	54.60	44.00	38.80	37.20	29.80
Mn(ppm)	22.60 ^b	30.60 ^b	32.80 ^a	17.8	14.6	13.8	17.60	13.60	13.80
Mg(ppm)	890 ^b	1402 ^a	760 ^b	862 ^b	1760 ^a	630 ^b	728	592	468
K(ppm)	22.80	24.20	19.60	23.20 ^b	46.8 ^a	17.00 ^b	27.80 ^a	25.80 ^a	19.60 ^b
Ca(ppm)	1456	1208	908	1616	1142	816	2270	1784	1370

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n= 5);* significativa ;

6.10.5 Caracterización histológica

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la variable número de vasos de xilema (Figura 29), para el tratamiento con yodato, además de un incremento en el área de idioblastos (Figura 30), y densidad de drusas en ambos tratamientos con yodo, no así para las demás variables (Tabla XXIII).

Tabla XXIII

VARIABLES HISTOLÓGICAS DE *Opuntia ficus-indica* var. Copena VI DE CUATRO SEMANAS DE DESARROLLO.

Variable	Testigo	KIO ₃	KI
DE (mm ²)	10	10	10
LE (μm)	29.18	37.34	36.4
ND (mm ⁻²)	40.60 ^b	68.00 ^a	72.60 ^a
NV/HV	10.00 ^b	17.60 ^a	11.40 ^b
ÁV(μm ²)	306.92	466.45	230.60
GPV(μm)	2.40	2.81	2.54
ÁCM(μm ²)	946.35 ^b	1222.32 ^a	1512.76 ^a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n= 5);* significativa ; DE= diámetro de estoma; LE= longitud de estoma; ND= número de drusas; NV/HV= número de vasos/haces vasculares; AV= área de vaso; GPV= grosor de la pared de vaso; ACM= área de células del mucílago.

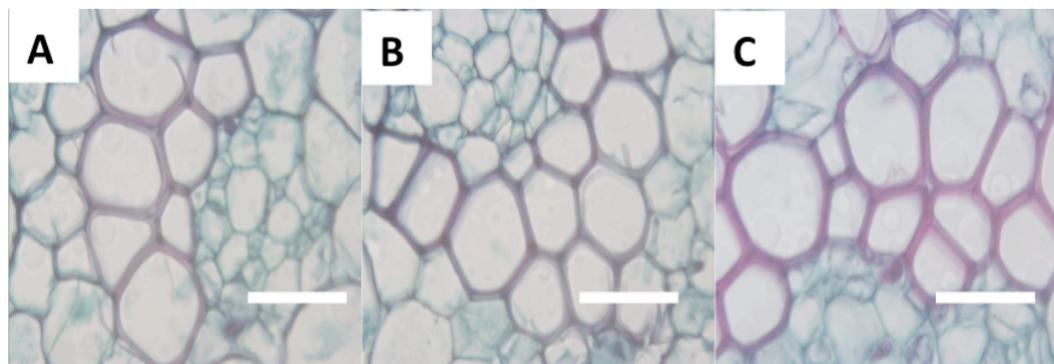


Figura 29. Observación de vasos del xilema en cladodios de *Opuntia ficus-indica* bajo los tratamientos A= Testigo, B= Iodato, C=Ioduro con objetivo de 40X. La barra equivale a 100μM.

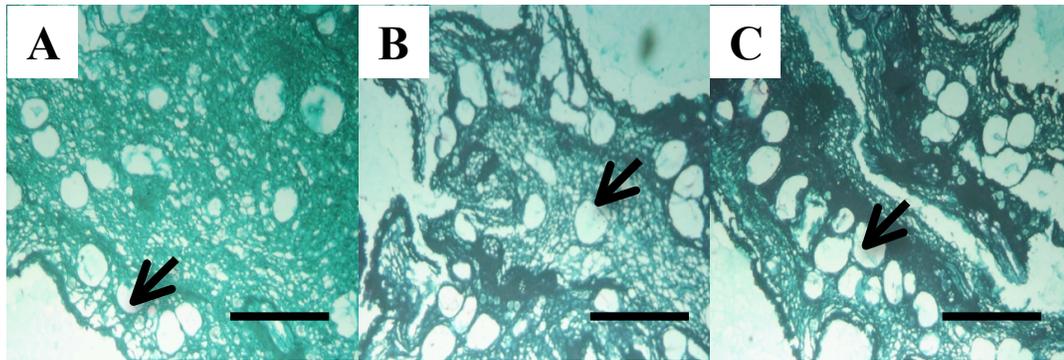


Figura 30. Cortes transversales de *Opuntia ficus- indica* tomados con objetivo de 10X, mostrando la matriz mucilaginosa (flecha) en los diferentes tratamientos: A=Testigo, B= Iodato, C=Ioduro. La barra representa 1000 μ M.

6.10 Validación de la actividad biológica

En las primeras tres gráficas (Figuras 31-33) se observa que no hubo efecto de los compuestos en las ratas sanas.

La curva de tolerancia a la glucosa (CTG) presenta un comportamiento significativo con el control negativo ($p < 0.05$), donde solo se administró una solución salina fisiológica, los demás tratamientos no presentan significancia estadística.

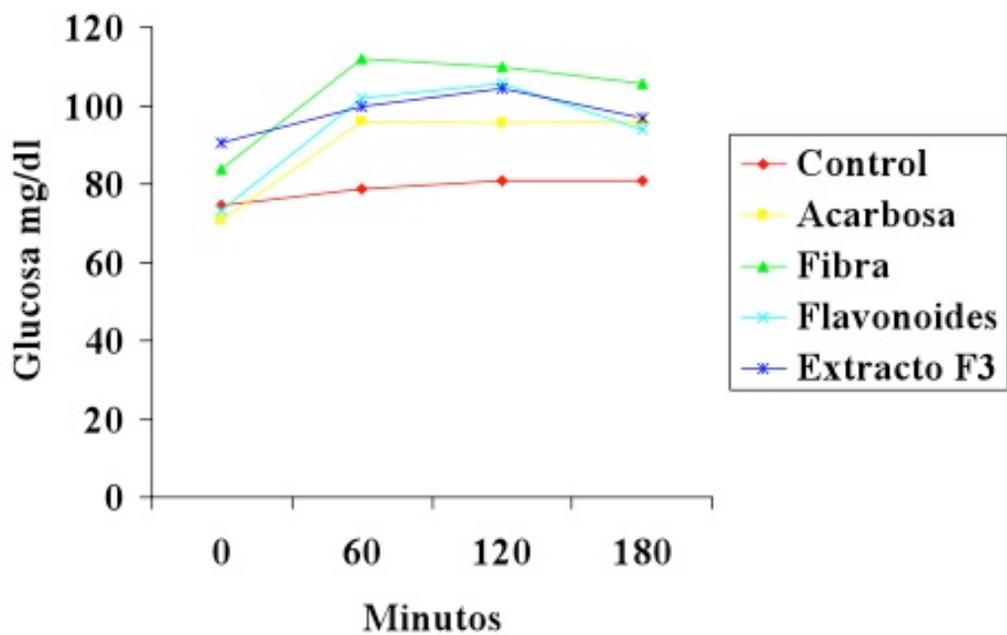


Figura 31. CTG de ratas sanas en el día 1 posteriores a la administración de compuestos de nopal.

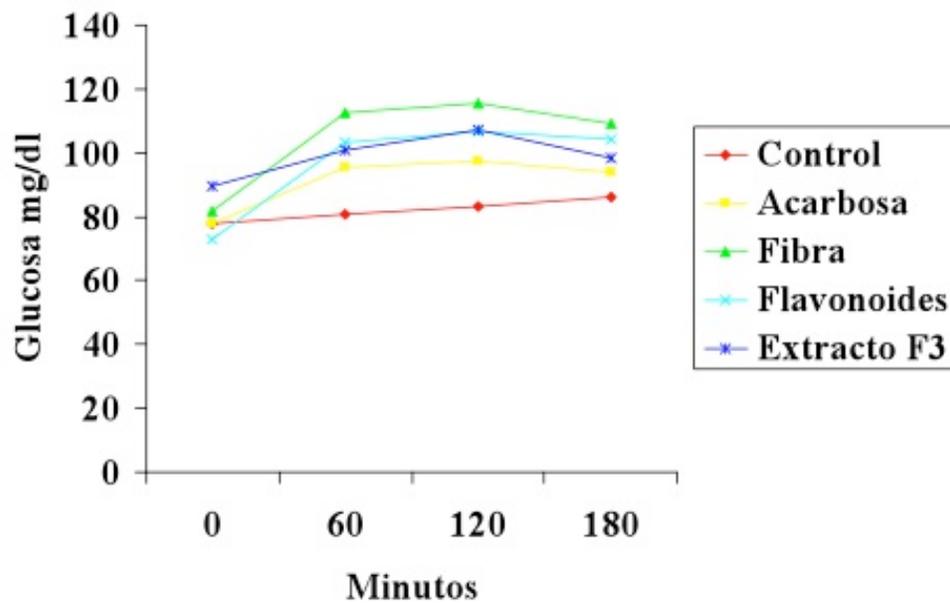


Figura 32. CTG de ratas sanas en el tercer día de administración de compuestos de Nopal

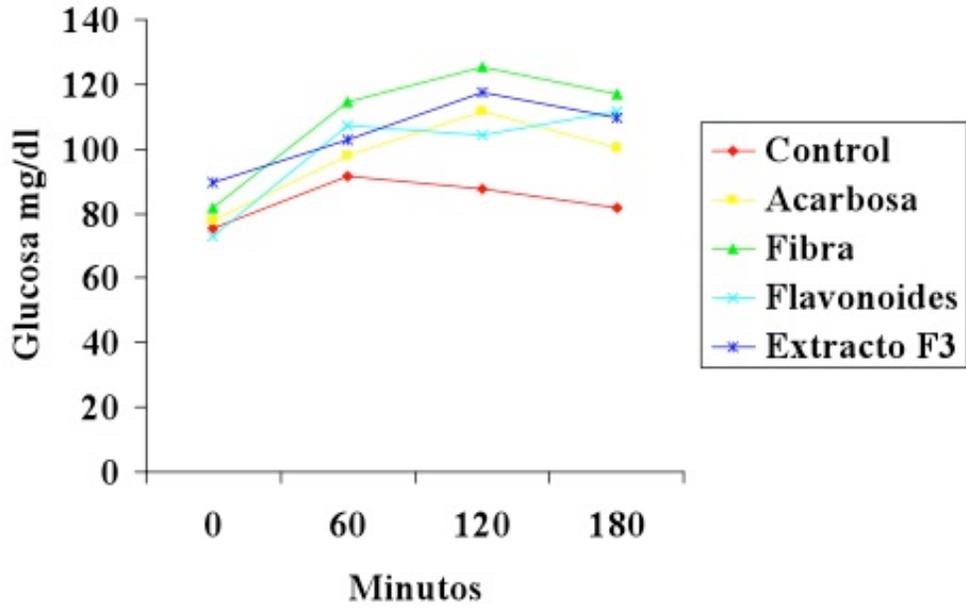


Figura 33. 3era glucemia de ratas sanas en el quinto día de administración de compuestos de Nopal

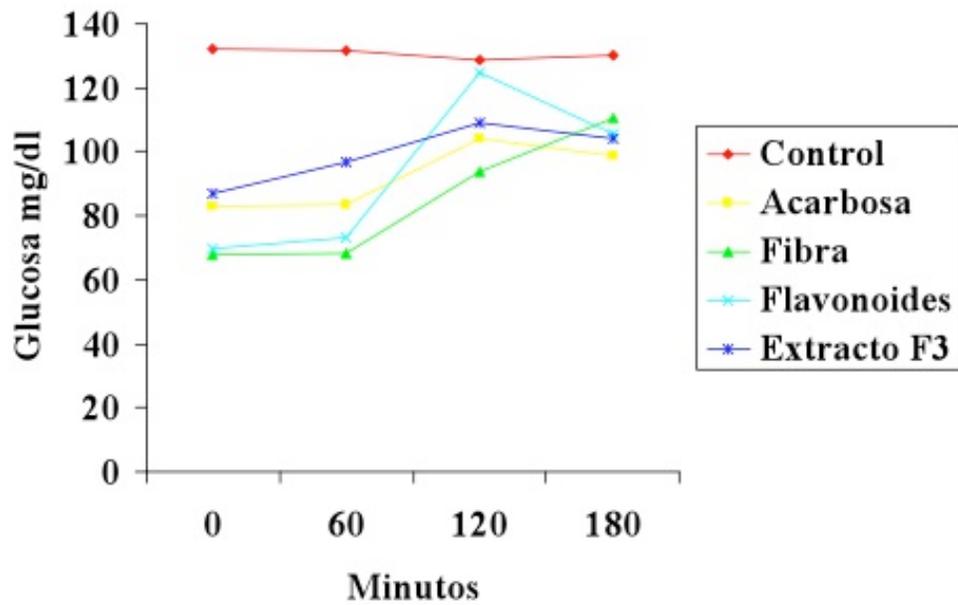


Figura 34. 1era CTG de ratas diabéticas en el séptimo día de administración de compuestos de Nopal.

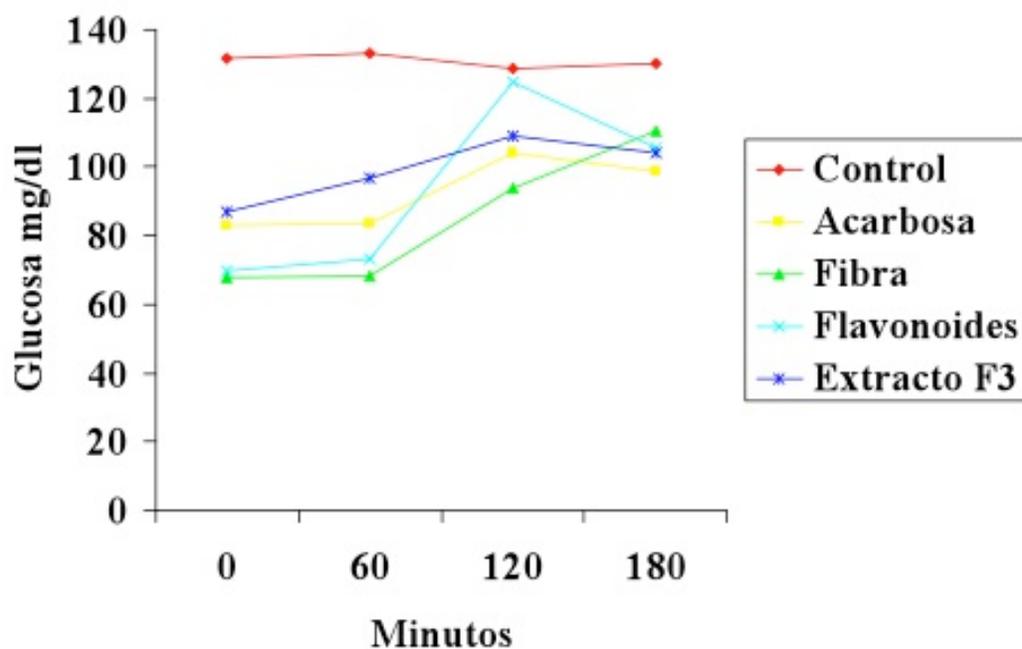


Figura 35 2da CTG de ratas diabéticas en el noveno día de administración de compuestos de Nopal

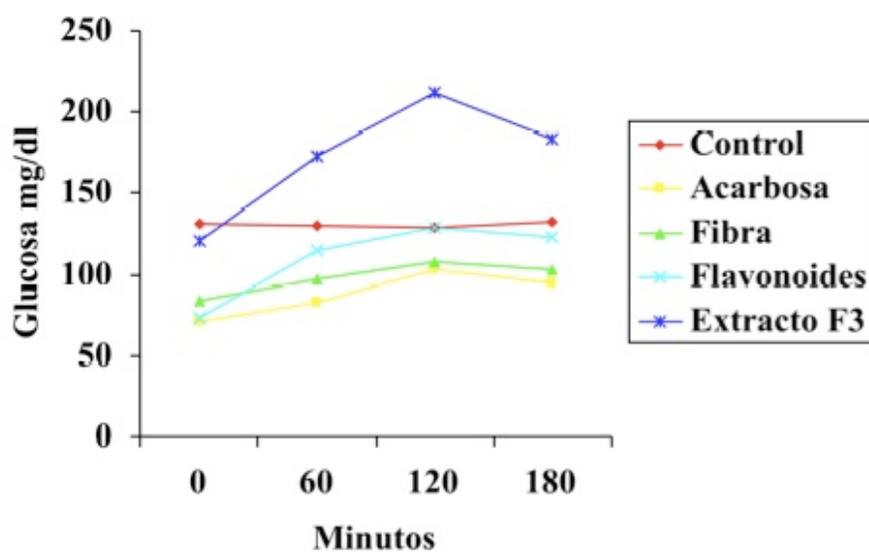


Figura 36. 3er CTG de ratas diabéticas en el onceavo día de administración de compuestos de Nopal

En la Figura 34, se observa el efecto de los compuestos de nopal en la Curva de tolerancia a la glucosa donde fue significativa en relación al control diabético con administración de solución salina isotónica. Los 4 tratamientos no muestran significancia estadística.

Al quinto día la CTG muestra diferencias estadísticas en relación con el tratamiento de triterpenos, este no controla ya la hiperglucemia en ratas diabéticas (Figura 35).

La Figura 36 muestra al onceavo día posteriores a la administración de los compuestos. Se observa un incremento significativo ($p < 0.05$) en la glucemia de la fracción de acetato de etilo.

7. DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos para las variables relacionadas con el crecimiento las variedades Copena y Villanueva presentaron los mayores valores promedio seguidos por Jalpa y con los valores promedio mas bajos Milpa Alta en cielo abierto. De acuerdo con Valdez *et al.*, (2003) las variedades Copena y Villanueva presentan mejor capacidad de respuesta a las condiciones ambientales. Se deduce que la disminución en el crecimiento y engrosamiento del cultivar Milpa Alta puede ser el resultado del efecto de un potencial hídrico menor en el área de estudio, contrario a las condiciones de alta humedad y precipitación media anual del lugar de origen (Rodríguez and López, 2006, Camacho *et al.*, 2007). Aguilar (1991) menciona la disminución del crecimiento y el engrosamiento del cladodio bajo condiciones de sequía. Por otro lado, se confirma lo observado por Zuñiga-Tarango, *et al.*, (2009) para la variedad Jalpa en el desarrollo favorable en condiciones de cubierta.

Una característica que es importante resaltar es el coeficiente longitud/ancho (CLA) entre los cultivares. Este carácter está relacionado con los criterios para la clasificación y separación taxonómica entre especies del género *Opuntia*, que hasta el momento se definen como morfoespecies (Del Castillo, 1999) y coincide parcialmente con la evaluación realizada por Valdéz y Blanco (1999) en las variedades Copena, Villanueva y Jalpa formando grupos diferentes. En este trabajo la elongación de tallo y por lo tanto la variable CLA se acentúa para Jalpa en condiciones de microtúnel posiblemente en respuesta a las condiciones de luz (Valladares *et al.*, 2007).

El incremento de biomasa en tres variedades: Copena, Jalpa y Villanueva fue consistente durante el desarrollo, no así para Milpa Alta que observó una menor acumulación. Al respecto el peso fresco y seco en todas las variedades fue menor al reportado por Murillo-Amador *et al.*, (1999) bajo diferentes dosis de estiércol.

Con respecto al rendimiento los resultados fueron mayores a los reportados obtenidos por Valdez, *et al.*, (2003), al evaluar tres variedades de nopal (Copena VI, Jalpa y Villanueva) y menor a lo reportado por Zuñiga-Tarango *et al.*, (2009) para Jalpa. Flores-Mendiola *et al.*, (2012) señala valores menores para Villanueva. Mientras Camarillo y Grajeda (1979) y Blanco *et al.*, (1999) confirman una disminución en la producción en la época invernal y bajo condiciones de cubierta en diferentes variedades. Nobel (1988) menciona una disminución de la toma de CO₂ hasta en un 40% a temperatura de 5° C, lo que explica un menor rendimiento para todos los cultivares.

La variación de estos parámetros están relacionados con la capacidad de respuesta por parte de la planta a los factores abióticos presentes, modificando en cierta medida, los patrones de crecimiento característicos de cada cultivar en sus zonas de origen.

Al respecto se ha documentado que el potencial hídrico, características del suelo, temperatura y radiación son los factores que determinan la respuesta (Nobel and Hartsock 1984; Camacho *et al.*, 2007), además, en los sistemas de cultivo intensivos la edad de la planta madre, la densidad de plantación, la estación, el tipo y calidad de la fertilización influyen en el crecimiento (Ruiz-Espinoza *et al.*, 2008; Ríos and Quintana, 2004; Zuñiga-Tarango *et al.*, 2009; Flores-Mendiola *et al.*, 2012).

Los datos experimentales relacionados con la calidad y preferencia del consumidor muestran en general datos homogéneos en los tres estadios de desarrollo y en las cuatro variedades y condiciones, por lo cual se difiere a lo señalado por López-Palacios *et al.*, (2010) quienes reportaron cambios con la edad y la especie. Para George *et al.*, (2004) los parámetros relacionados con alta calidad presentan valores para luminosidad de 43, un croma de 30 y un ángulo de 114°, al comparar los resultados aquí presentados, solo la variable luminosidad se encuentra cerca de este valor. Por otro lado, Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007) mencionan valores promedio menores para Jalpa y Villanueva y mayores para Milpa Alta. Por otro lado, Robles-Ozuna *et al.*, (2007) reportaron valores menores para este parámetro para Copena VI.

Para la variable color se encontró una diferencia menor para el croma y luminosidad en Milpa Alta lo cual puede estar relacionado con una disminución de fotosíntesis El color está relacionado con el contenido de clorofila y tasa fotosintética y a decir de

algunos autores se modifica con la edad del cladodio (Ladygin *et al.*, 2004; Gibson and Nobel 1986; López-Palacios *et al.*, 2010).

Los datos obtenidos para la variable firmeza definió diferencias entre cultivares, no así para estadios y condiciones. El cultivar Jalpa, Milpa Alta y Villanueva presentaron valores promedio mayores a los reportados por Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007). Para Milpa Alta permite corroborar lo mencionado por Betancourt-Domínguez *et al.*, (2006) al documentar que la firmeza es un atributo relacionado con la lignificación de la pared celular y el contenido de drusas, además la presencia de un déficit hídrico aumenta el valor de este atributo (Gibson y Nobel, 1986; Rodríguez-Félix and Villegas-Ochoa 1997), por el contrario otros autores lo asocian con un bajo contenido de fibra cruda, no observado en esta variedad (García and Peña , 1995; Guevara *et al.*, 2003).

Se encontró para los cultivares Jalpa, Milpa Alta y Villanueva, valores promedios mayores de acidez titulable a los reportados por Aguilar-Sánchez (2007) en cambio para Milpa Alta se observaron valores menores a lo reportado por estos autores. Copena observó un valor promedio menor a lo reportado por Robles-Ozuna (2007). La acidez titulable es un parámetro que mide el contenido de ácidos orgánicos y esta relacionado con el patrón de asimilación de CO₂ y reacciones fotosintéticas en plantas con metabolismo CAM (Franco-Salazar and Véliz, 2008) y presenta valores entre 0.7 a 0.94% además es un atributo que define la preferencia del consumidor (Cantwell *et al.*, 1992; Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007). Algunos autores señalan que este parámetro presenta un patrón de acidez fluctuante durante el día al presentar un Metabolismo Acido Crasuláceo (CAM) en pencas de tamaño comercial (Rodríguez-Félix and Cantwell, 1988) además es afectado por la densidad de plantación (Nobel and Bobich, 2002; Flores-Mendiola *et al.*, 2012) por la especie (Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007) por la edad del cladodio (Betancourt-Domínguez *et al.*, 2006), en cambio Franco-Salazar y Véliz (2008) mencionan un valor no significativo entre los cladodios apicales y significativo para cladodios basales sometidos a salinidad, lo que lo relaciona más bien con el estatus hídrico de la planta.

Para la variable pH no se observaron diferencias significativas entre edades y cultivares y condiciones; en contraste con lo reportado por Betancourt-Domínguez *et al.*,

(2006) quienes encontraron diferencias entre cultivares y edades. Además se observaron valores mayores de pH en tanto que para Jalpa y Villanueva, en cambio para Milpa Alta los valores coinciden a los reportados por Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007). Para Copena, Robles-Ozuna (2007) reportó valores menores de pH. En tanto que López-Palacios *et al.*, (2010) observaron diferencias en tres especies y valores constantes en las diferentes edades evaluadas en *Opuntia robusta*. Como se puede observar la edad del cladodio, la especie y el cultivar expresan comportamientos únicos ante las variaciones ambientales (Camarillo and Grajeda, 1979; Robles-Contreras, 1986). Ante esta amplia diversidad de respuesta es necesario enfocar la atención en la capacidad de aclimatación en plantas con metabolismo Metabolismo Acido Crasuláceo (CAM). Dentro de esta marco, el estatus hídrico es decisivo para una respuesta que permita la aclimatación bajo condiciones cambiantes. Pimienta-Barrios *et al.*, (2005) mencionan que bajo condiciones de riego, los cladodios juveniles de plantas CAM observan un incremento de pH por presentar un metabolismo C₃, a su vez el estado hídrico modifica los patrones hormonales (Nieddu *et al.*, 1997).

Los sólidos solubles totales (° Brix) fueron más altos a los reportados por Robles-Ozuna (2007) para el cultivar Copena y menores a los reportados por Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007) para Jalpa, Milpa Alta y Villanueva. Según Flores-Mendiola *et al.*, (2012), un cociente entre °Brix/acidez titulable mayor a 1 es sensorialmente mejor aceptado, este es un criterio que se cumple en el presente análisis. El conjunto de atributos acidez titulable, sólidos solubles y pH relacionados a la calidad y preferencia del consumidor varía regionalmente y depende de los factores culturales.

Para las características histológicas evaluadas en relación con los haces vasculares se confirma lo expresado por Pimienta-Barrios, *et al.*, (2003) y Arnold y Mauseth (1999) quienes señalan la estabilidad de los patrones morfológicos en el nopal.

En cambio la variable área de célula del mucílago esta fuertemente relacionada con la cantidad de mucílago obtenido para la variedad Copena. Es interesante observar que a medida que se desarrolla el idioblasto se incrementa la distancia entre éstas células. Existe más abundancia cerca del meristemo apical. El crecimiento de los idioblastos esta relacionada con el grado de actividad de los cuerpos de Golgi ya que dilatan la cisterna y

las vesículas de almacenamiento-actividad de los cuerpos de éstos (Trachtenberg and Fhan, 1981).

La densidad estomática se encuentra dentro de los valores encontrados para el género *Opuntia* spp. por Pimienta-Barrios *et al.*, (1993) con rangos muy amplios. Estos autores mencionan diferencias entre plantas de campo y cultivares comerciales, observando menor tamaño de estomas para éstos últimos.

De las variables bromatológicas, el contenido de proteína fue bajo y tiende a disminuir con la edad, varía entre cultivares, y se acumula en mayor cantidad bajo condiciones de cielo abierto. Los porcentajes más bajos de contenido observados en los cultivares Jalpa y Milpa Alta son el resultado de la capacidad de respuesta a los cambios ambientales. El contenido de proteína está relacionado con factores abióticos como disponibilidad de agua el cual al presentar un déficit hídrico limita el transporte de N hacia los cladodios hijos con una consecuente baja de la actividad metabólica, de la misma forma la temperatura produce un déficit hídrico en los cladodios jóvenes al mantener los estomas abiertos por presentar metabolismo C₃ en esta etapa; los períodos de luz son mayores en las estaciones primavera-verano aumentando la Radiación Fotosintética Activa (PAR) y por lo tanto aumenta la tasa fotosintética y metabólica, la salinidad o acidez en el suelo afecta también la toma de nutrientes (Nobel, 1983; Nobel and Hartsock, 1983; Pimienta-Barrios *et al.*, 2005; Franco-Salazar and Véliz, 2008).

El contenido de materia orgánica se incrementa con la edad, cultivares y condiciones. Se reporta igual para las variedades Copena, Milpa Alta y Villanueva, mientras para Jalpa se observó una disminución en condiciones de campo abierto. Por otro lado hay una acumulación menor de esta variable en condiciones de microtúnel para Copena, Jalpa y Milpa Alta, no para Villanueva que conserva el mismo valor. La técnica de evaluación del contenido de materia orgánica comprende la oxidación a 500° C de proteína, lípidos y carbohidratos. La disminución de esta variable en Jalpa esta relacionada con una disminución de lípidos, porque el contenido de fibra y proteína se conserva dentro de los límites observados para otras variedades.

El contenido de extracto etéreo fue bajo y disminuyó con la edad, concordando con lo mencionado con Hernández-Urbiola *et al.*, (2011) mientras que contrasta con lo

mencionado por Rodríguez-Félix y Catwell, (1988) quienes no observaron cambios con la edad entre cultivares. En cambio Bensadón *et al.*, (2010) mencionan un valor menor para Milpa Alta al igual que Hernández-Urdiola *et al.*, (2011) para *O. ficus-indica*; la variedad Copena presenta valores cercanos a los reportados para *O. ficus indica* var Redonda por Rodríguez-García *et al.*, (2007). Aunque Contreras-Padilla *et al.*, (2011) encontraron diferencias entre edades y señalaron un mayor contenido en muestras liofilizadas aunque los valores reportados fueron menores a los reportados en el presente estudio.

Uno de los atributos con mayor importancia por los beneficios que aporta a la salud es el contenido de fibra. En este trabajo se observó un incremento con la edad, una diferencia con el ambiente y con las variedades. Se observaron dos grupos bien definidos Copena y Villanueva y Jalpa y Milpa Alta, estos últimos con el mayor contenido de fibra. El incremento de fibra con la edad del cladodio ha sido documentado por Rodríguez-García *et al.*, (2007), Hernández-Urdiola *et al.*, (2011) y Contreras-Padilla *et al.*, (2011). Rodríguez-Félix y Cantwell, (1988) relacionan este incremento con un aumento de parénquima en cladodios maduros, también se le ha relacionado a los procesos de lignificación en la madurez. La diferencia entre variedades obedece al grado de domesticación del sitio de origen.

Como se observa la composición química varía dependiendo de los factores edáficos, localidad de cultivo, edad del cladodio hijo y del cladodio madre, especie y cultivar (Ratamal *et al.*, 1987; Rodríguez-Félix and Cantwell, 1988; Batista *et al.*, 2003; Ramírez-Tobías *et al.*, 2007; Pinos-Rodríguez *et al.*, 2010; Hernández-Urdiola *et al.*, 2011; Flores-Mendiola *et al.*, 2012).

Con respecto al contenido mineral se observaron incrementos con la edad del cladodio en fósforo (P), azufre (S), Calcio (Ca), potasio (K), hierro (Fe), Magnesio (Mg), manganeso (Mn), y zinc (Zn), en cambio el contenido de Cu se mantuvo constante, hubo diferencia entre cultivares y en general las condiciones ejercieron un buen aprovechamiento de los nutrientes.

El contenido de P fue bajo, se incrementa con la edad como lo reporta Hernández-Urdiola *et al.*, (2011) y no presentó diferencias entre cultivares, ni condiciones

ambientales. Se presentó dentro del rango reportado por Valdez *et al.*, (2003) en *O. ficus indica*, además es mas alto a lo reportado por Claessens y Wessels (1997) para nopal tunero. El contenido de S se observó bajo, sin diferencia entre cultivares y condiciones ambientales, es un constituyente de aminoácidos y proteínas y está asociado con la formación de clorofila, no se observaron síntomas de deficiencia en los cladodios. El contenido de Ca se encuentra dentro de los niveles propuestos por Valdéz *et al.*, (2003), se incrementa con la edad y fue significativo entre cultivares y condiciones. Se observó disminuido en condiciones de microtúnel y en la variedad Jalpa. Mientras Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) señalaron niveles menores para Milpa Alta. Este nivel se debió probablemente a la respuesta de la planta a condiciones de temperatura por abajo de 0° C presentes en el 2010. Además Spears (1994) menciona que un pH alto en el suelo condiciona niveles altos de Ca en *Opuntia* como se observa en los suelos de Coahuila. El nivel de K se incrementa con la edad, Hernández-Urbiola *et al.*, (2010) reportan el mismo efecto en el rango presentado en este trabajo. Además se observaron diferencias en el contenido entre cultivares, donde la variedad Jalpa y Milpa Alta presentaron los menores niveles mientras que Copena y Villanueva los mayores en ambos ambientes. También se observó significancia entre ambientes, debido a la helada del 2010. Por otro lado, los valores reportados se encontraron dentro de los límites propuestos por Valdéz *et al.*, (2003) y menores a los observados por Hernández-Urbiola *et al.*, 2011 y Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) para Milpa Alta. El nivel de Fe se incrementa con la edad concordando con los datos presentados por Hernández-Urbiola *et al.*, (2011) para *O. ficus indica*. Pero se difirió en el contenido, estos autores junto con Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) para Milpa Alta y Nieto-Garibay *et al.*, (2011) para *O. taponia* señalaron niveles mas bajos que los obtenidos en este trabajo. Estos últimos autores señalan rangos para este elemento desde 1.5 hasta 8.3 mg g⁻¹, según la localidad. El mayor contenido de la variedad Villanueva se debió a mayor capacidad de absorción a través de la epidermis, ya que este elemento se asperja directamente sobre la penca. Para el contenido de Mg se señala un incremento con la edad, dato coincidente con Hernández-Urbiola *et al.*, (2010) durante ese período. Sin embargo este aumento no es sostenido a los 135 días de su cultivo. Aunque los valores promedio concuerdan con lo señalado a los 40 días, para los

60 días se observaron valores menores a los documentados por estos autores. Por otro lado, la variedad Villanueva obtuvo el valor mayor, mientras Jalpa y Milpa Alta observaron valores iguales, y Copena asimiló una menor cantidad en ambos ambientes. Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) reportaron valores con un contenido menor para Milpa Alta. Y por debajo de lo señalado por Nieto-Garibay *et al.*, (2011) para este elemento en un rango de 4.9-15.8 mg g⁻¹ según los componentes de suelo. Ramírez-Orduña *et al.*, (2005) reportaron niveles elevados de este elemento en *O. cholla*. El contenido de Mn presentó diferencia entre cultivares, repitiendo el comportamiento del elemento anterior. Los valores son en general superiores a los reportados por Hernández-Urbiola *et al.*, (2011), pero están dentro del rango observado por Nieto-Garibay *et al.*, (2011) quienes indican desde 0.11 hasta 0.73 mg g⁻¹. Para Milpa Alta Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) encontraron niveles menores a los obtenidos en el presente trabajo. El contenido de Cu observó valores iguales y mayores a los mencionados en la literatura (Nieto-Garibay *et al.*, 2011). La variedad Villanueva presentó los valores más altos en condiciones de microtúnel. El cultivar Milpa Alta presentó valores mayores a los reportados por Ramírez-Moreno *et al.*, (2011). El contenido de Zn se incrementó en el último estadio y presentaron diferencias entre cultivares se observaron dos grupos, con los niveles más altos fueron Copena y Villanueva y los menores niveles se observaron en Jalpa y Milpa Alta. En cuanto a esta última variedad se observó un menor contenido a lo reportado por Ramírez-Moreno *et al.*, (2011).

Los minerales cuantificados se presentaron en niveles adecuados y dentro de los rangos establecidos por algunos investigadores, en algunos momentos del desarrollo superaron estos rangos. En plantas con metabolismo CAM los niveles de Ca, Mg y Mn tienden a ser más elevados que en la mayoría de las plantas agronómicas (Lüttge, 2004). Cabe establecer que la mayor variación se presentó en condiciones de microtúnel donde los cultivares reflejaron su capacidad de aclimatación. El mayor factor en esta condición fue la temperatura por la presencia de una helada debajo de -10 °C. Bajo esta situación la variedad Villanueva presentó la mayor respuesta al estrés por temperatura al observar los valores más altos de Fe y Cu, elementos que catalizan reacciones redox por medio de diferentes estados de valencia (Barceló *et al.*, 2003). Mientras Copena presentó los

menores valores reflejando una menor respuesta, a las condiciones de estrés por temperatura baja.

El contenido de Ca se presenta en niveles altos en cactáceas, es importante porque se une a grupos con cargas negativas como proteínas y lípidos y disminuye la fluidez y permeabilidad de la membrana (Behzadipour, 1999). Es un elemento que se une a ácidos orgánicos y puede participar en la acumulación neta o movilización de éstos (Kluge and Schomburg, 1996). El Ca, K, Mg, Mn y Zn son activadores enzimáticos específicos y los niveles adecuados en los diferentes cultivares reflejan una actividad metabólica adecuada. Mientras el K, Na y Mg sirven como reserva para la formación de carboxilatos que ayudan a la estabilización osmótica (Smith *et al.*, 1996), necesarios para sostener un estatus hídrico adecuado.

El contenido de minerales depende del pH del suelo, disponibilidad de agua, textura y composición del suelo y la especie cultivada (Spears, 1994; Ramírez-Orduña *et al.*, 2005) Zuñiga-Tarango *et al.*, 2009; Hernández-Urdiola *et al.*, 2011). La succulencia es otro factor que controla el contenido de minerales en el tejido vegetal, al retener una fracción relativamente grande de agua afecta la concentración interna de minerales y su reciclaje (Berry and Nobel 1985).

Desde el punto de vista funcional los elementos Ca , Mg y K son esenciales en la dieta humana y son adquiridos a través de los vegetales en su mayor parte (Karley and White, 2009). Un consumo adecuado de Mg y Ca previene la osteoporosis (Rude and Gruber, 2004). Mientras el K se consume en forma adecuada, el Ca y Mg son deficientes dentro de la dieta. El nopal representa una excelente fuente de estos elementos, sin embargo, la biodisponibilidad del Ca en nopal ha generado mucha controversia porque el Ca se presenta en su mayoría como oxalato lo que lo hace no biodisponible. En años recientes Ramírez-Moreno *et al.*, (2011) evaluaron la disponibilidad en dos variedades: Milpa Alta y Atlixco y observaron diferencias entre cultivares con una biodisponibilidad de 14 y 3 % respectivamente, según las recomendaciones diarias 100g de Milpa Alta contribuye con un 2% a esta recomendación.

En relación al contenido de compuestos fenólicos se observó diferencia entre cultivares y condiciones. Copena y Villanueva presentaron los mayores valores, mientras

Jalpa y Milpa Alta los menores, además bajo condiciones a campo abierto hubo un incremento del estadio B1 al B2. Los valores promedio observados por otros autores se estiman entre 3.7 µg de GAE/g en base fresca hasta 180.3 mg de GAE/g en muestra seca (Lee *et al.*, 2002; Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Santos-Zea *et al.*, 2011),

Los resultados presentados en este estudio son comparables a los presentados por Santos-Zea *et al.*, (2011) quienes realizaron comparaciones con 5 especies y 6 variedades de *Opuntia* reportando un valor desde 318.11 µg de GAE/g para la variedad Jalpa, para Villanueva reportó 593.1 µg de GAE/g ambos valores fueron cercanos a los datos reportados en el presente trabajo para ambos materiales; además la mayor concentración fue de 905.08 µg de GAE/g en *Opuntia undulada*,. Aguayo-López *et al.*, 2008 señaló 209.1 mg GAE/g en *O. ficus indica* cv Reina. Otro estudio interesante fue reportado por Guevara-Figueroa *et al.*, (2010) al evaluar plantas silvestres y cultivadas, los cuales encontraron mayor contenido de fenólicos totales en los nopales silvestres. En cuanto al contenido de flavonoides totales la concentración máxima nuevamente se observa en dos grupos de cultivares formado por Copena y Villanueva y con la menor concentración Jalpa y Milpa Alta. Los valores máximos son cercanos a los obtenidos por Cai *et al.*, (2010) para Milpa Alta, contrario a lo observado en los cultivares silvestres el mayor contenido de flavonoides totales se obtuvieron en cultivares comerciales por Guevara-Figueroa *et al.*, (2010) y Cai *et al.*, (2010). Este último autor obtuvo niveles altos mediante una técnica de optimización para Milpa Alta, lo que permite deducir que es un atributo manejable y puede enriquecer las propiedades funcionales del nopal. El contenido de fenólicos totales y flavonoides totales observados depende de la especie, las condiciones ambientales y la metodología utilizada para la extracción de la muestra porque estos compuestos son sensibles a la temperatura (Runha *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002; Reyes-Agüero *et al.*, 2005; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Cai *et al.*, 2010). En cuanto al contenido de vitamina C observó mayor concentración el cultivar Villanueva en ambas condiciones ambientales seguida por Copena y nuevamente formando un grupo con características de respuesta similares Jalpa y Milpa Alta. Los valores varían entre especies, condiciones de cultivo y características ambientales se han registrado valores desde 9.9 a 17.9 mg/100g en base a peso fresco (Rodríguez-Félix and Cantwell,

1988).

En cactáceas, el contenido de fenólicos esta asociado a protección contra UV-B y se observa el mayor contenido en las espinas (Burret *et al.*, 1982; Gerhardt *et al.*, 2008). Los flavonoides regulan el movimiento de auxinas, y éstas a su vez su acumulación (Lewis *et al.*, 2011). Además se ha establecido la presencia de flavonoides metilados y glucosilados y su significancia ecológica y sistémica en las espinas de Opuntiodeae como señal de adaptación bioquímica a clima semi desértico (Burret *et al.*, 1982).

Esta respuesta podría estar relacionada con la capacidad de respuesta de cada variedad a las señales ambientales (Benavides *et al.*, 2002).

El contenido de pectina presentó diferencias entre edades y cultivares. Estudios realizados en el género *Opuntia* spp. observan grandes diferencias en el contenido de pectinas entre 1 a 24% en base a peso seco, bajo diferentes condiciones de cultivo (Goycoolea and Cárdenas, 2003). Así de acuerdo con Peña y Sánchez (2006) quienes analizaron la composición de 13 variedades comerciales de nopal y demostraron la alta variabilidad y fluctuación del contenido en esos cultivares. En un estudio más reciente y enfocado al análisis del grado de domesticación del género *Opuntia* spp. López-Palacios *et al.*, (2012) señalaron un mayor contenido de pectinas en especies silvestres y con intermedio grado de domesticación que en cultivares con mayor grado de domesticación, coincidiendo además con lo reportado por Camacho *et al.*, (2007) para *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. Además señalaron que el incremento en el contenido de pectinas esta fuertemente relacionado con el potencial de agua del suelo.

En relación a los componentes de las pectinas tanto las solubles en agua (PSA) como las solubles al oxalato (PSO) se observaron diferencias entre estadios y cultivares. Las PSA y PSO se diferencian en el grado de metilación, las primeras son de alto metoxilo mientras las segundas se ubican con bajo metoxilo.

Durante el transcurso del desarrollo, los componentes de la pared celular experimentan notables variaciones estructurales que ocasionan un aumento en la hidrofobicidad característica del nopal. Esta característica esta relacionada con el grado de metilación, así una mayor metilación incrementa la hidrofobicidad y favorece la protección a la pérdida de agua por evaporación.

Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta (2006) observaron diferencias de PSA y PSO entre cultivares y especies, además de una modificación química de los componentes de las pectinas al agregar temperatura. En la variedad Milpa Alta se modificó PSA y PT mientras Copena VI y Solferino aumentaron el contenido de PSO. Esta propiedad esta relacionada con características funcionales (Cárdenas *et al.*, 1998).

El contenido de carbohidratos en el mucílago comprendió tanto hexosas como pentosa, aunque en menor cantidad esta última. Dentro de los azúcares detectados además de los bien documentados por otros autores, se encontró manosa y otros azúcares no identificados en este trabajo. La manosa ha sido reportada por Majdoub *et al.*, (2010) y Ginestra *et al.*, (2009). Este último autor menciona su presencia en el 70% de los extractos por lo cual podría estar relacionado con la técnica de extracción. Algunos otros autores describen la ausencia de ramnosa en sus análisis, explicando que al ser un azúcar insertado en el esqueleto del ácido galacturónico la hidrólisis no logra liberarlo y por lo tanto no es detectado (McGarvie and Parolis, 1981; Riveiro *et al.*, 2010). Otro azúcar de importancia y que presenta variación es la glucosa, este azúcar observa amplias variaciones durante el día pues es un osmoregulador. (Santarius, 1982).

Algunos autores asocian los bajos porcentajes de glucosa y ramnosa en el mucílago con bajos niveles de glucósidos flavonoides (Ginestra *et al.*, 2009). Otros compuestos de importancia presentes en el mucílago son esteroides, saponinas y taninos (Gebresamuel and Gebre-Mariam, 2012). Además el mucílago de *Opuntia* presenta interacción entre elementos como Ca y Mg lo que explica su alto contenido en estos cultivares (Majdoub *et al.*, 2001).

Los carbohidratos comprenden cerca del 36% del volumen del cladodio (Ginestra *et al.*, 2009) y gracias a su alta capacidad de hidratación pueden almacenar cerca del 50% de peso (Stintzing and Reynold, 2005). La amplia variación en el contenido entre especies y cultivares comprende tanto factores ambientales y agronómicos como especie y edad del cladodio (Goldstein *et al.*, 1991; Rectamal *et al.*, 1987; Camacho *et al.*, 2007; López-Palacios *et al.*, 2012).

Desde el punto de vista ecológico tanto las pectinas como el mucílago representan un mecanismo para resistir el estrés por sequía (Goldstein *et al.*, 1991; Goldstein and

Nobel, 1991).

Tras aplicar los tratamientos con yodo y examinar los datos, se encontró una diferencia en varias variables. En relación al número de brotes Vázquez-Alvarado *et al.*, (2009) reportaron un mayor número de brotes para esta variedad bajo condiciones hidropónicas.

Con respecto al rendimiento, es menor al reportado por Ruiz-Espinoza *et al.*, (2008) en el cultivar CEN-1 y al reportado por Vázquez-Alvarado *et al.*, 2009, en condiciones hidropónicas y salinidad para esta variedad (69 ton ha⁻¹).

En cuanto al peso seco de los cladodios se observó una disminución de biomasa en el tercer muestreo en los tratamientos con yodo con respecto al control. La disminución de la biomasa en plantas tratadas con yodo ha sido documentada en diferentes cultivos (Huang *et al.*, 2003) bajo diferentes condiciones como en cultivo hidropónico (Hageman *et al.*, 1942; Weng *et al.*, 2008a; Blasco *et al.*, 2008) y en suelo (Hong *et al.*, 2008). De acuerdo a Muramatsu *et al.*, (1989) la respuesta está relacionada con la concentración de yodo aplicada. Por su parte, Blasco *et al.*, (2008) relacionaron la disminución de la biomasa en plantas de lechuga bajo crecimiento hidropónico con una disminución de la tasa fotosintética de la planta.

La biomasa es un parámetro relacionado con la fotosíntesis. *Opuntia ficus-indica* es una planta con metabolismo CAM constitutiva (Borland, 1996), sin embargo los cladodios hijos presentan un metabolismo C₃ durante su desarrollo, con una exigencia de agua mayor a la de cladodios basales (Wang, *et al.*, 1997). En los cladodios hijos ocurre apertura estomática durante el día (Osmond, 1978) y, además, bajo condiciones de riego los estomas permanecen abiertos durante más tiempo (Hanscom and Ting, 1978) lo que conlleva a un mayor aumento de la demanda hídrica. Esto da lugar a lo que se denomina sequía fisiológica que puede originar una reducción en la asimilación de CO₂, sobre todo cuando ocurre sombreado y pérdida de clorofila (Pimienta-Barrios *et al.*, 2007).

La pérdida de biomasa en el último muestreo posiblemente esté relacionada a una mayor absorción como consecuencia de un efecto residual en suelo al formar complejos con la materia orgánica (Yamaguchi *et al.*, 2010). Dai *et al.*, (2004) mencionan este efecto en la aplicación de yodato en suelo y la pérdida de biomasa en aplicación de yodo

a una concentración de 5 mg /kg de suelo, además sugiere la importancia de controlar la aplicación de yodo a través de fertilizantes, dada la diversidad de suelos y condiciones ambientales.

En relación con el color, los valores $-a$ y $+b$ no coinciden con los reportados por Rodríguez-Félix y Villegas-Ochoa (1988) para esta planta. Estas variables están relacionadas con el contenido de clorofila y se modifican por degradación de ésta (Heaton and Marangoni, 1996). Para la variable L, los valores presentados son cercanos a los obtenidos por Rodríguez-Félix, *et al.* (2007).

Los sólidos solubles junto con el pH y acidez titulable están relacionados con el sabor y preferencias del consumidor (Bosquez, 1992; Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007). Los valores aquí reportados de sólidos solubles totales son menores a los observados por Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007). Esta variable también está relacionada con la actividad de la polifenoloxidasas, enzima relacionada con la pérdida de calidad por la oxidación de los compuestos fenólicos, la cual, a un pH de 4.5 presenta poca actividad y a valores menores de 3 es totalmente inactiva (Whitaker, 1994; Whitaker and Lee, 1995). Esta enzima está relacionada con el oscurecimiento de los productos frescos y con el deterioro de los cladodios jóvenes (Rodríguez-Félix, 1999)

En cuanto a la firmeza de los cladodios se observó un valor mayor al reportado por Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007) . Esta variable está relacionada con la calidad.

Los resultados obtenidos de las variables bromatológicas muestran diferencia significativa para el % de nitrógeno en dos muestras, sin embargo los resultados no presentan un comportamiento consistente. Para el resto de las variables no se encontró diferencia significativa.

El contenido de cenizas, es mayor al reportado por Rodríguez-Félix y Catwell (1988), y menor en extracto etéreo (2.7) y contenido de nitrógeno (10.3%) para esta especie y etapa de desarrollo.

El incremento en el contenido de vitamina C coincide con Weng *et al.*, (2008a), quienes mencionan un incremento entre un 22-40% en la concentración de vitamina C en lechuga, al aplicar yodo (I^-) en una concentración de 0.05-0.1 mg L⁻¹, sin embargo con IO_3^- y CH_2ICOO^- en esas concentraciones el contenido de vitamina C fue más bajo

que el control. Por su parte Blasco *et al.*, (2011) mencionan la capacidad del iodato para inducir la acumulación de antioxidantes en las plantas.

El ácido ascórbico además de cumplir su rol como antioxidante participa en procesos de desarrollo, como la lignificación del xilema, y su concentración se ve afectada por condiciones ambientales propias para cada especie (Antonova *et al.*, 2005; Zhang, 2007). En plantas CAM los carboxilatos funcionan como reservorios energéticos. Algunas plantas CAM cíclicas acumulan con mayor preferencia el ácido ascórbico en lugar del málico ya que el costo energético es menor (Borland, *et al.*, 1994).

La quercetina es un metabolito que previene el daño oxidativo por diferentes mecanismos como la captura de los radicales libres, interactúa con la doble capa lipídica y evita la peroxidación lipídica además, juega un papel importante en la formación de complejos con metales al aumentar su disponibilidad (Barceló *et al.*, 2003). Su incremento con el tratamiento con yodato podría estar relacionado con el aumento de Fe.

Los resultados obtenidos en el contenido de minerales observaron diferencias en ciertos elementos como P, Fe, Mg, K, para el yodato y Cu y Mn para el yoduro entre los tratamientos y diferentes muestreos.

Con respecto al P Fraps y Fudge (1939), mencionan una correlación positiva entre el P y yodo, presente en los suelos de Texas. En el estudio de Hageman *et al.*, (1942) se reporta un incremento en la concentración de magnesio (hasta 1.36 %) en hojas y tallos de tomate en presencia de yoduro en la solución nutritiva en concentración de 100 mg/kg (7.8×10^{-4} molar). El magnesio está relacionado con la estructura molecular de la clorofila, Weng *et al.*, (2008b), mencionan que el yodo se deposita en los cloroplastos en el tallo de la planta de col.

Por otro lado el yoduro estimula la absorción de Cu y Mn (Hageman *et al.*, 1942).

Hasta el momento no se han dilucidado los mecanismos que facilitan la toma de yodo en la planta. En algas el yodo es oxidado y entra en la célula por difusión facilitada. (Küpper *et al.*, 2008). En plantas terrestres algunos autores mencionan la posibilidad de que el yodato es reducido a I^- para su transporte al interior de la planta (Umaly and Poel, 1971; Whitehead, 1975; Blasco *et al.*, 2008) sin embargo, la absorción diferencial de estos elementos con los tratamientos de yodo sugiere la posibilidad de ser trasladado

a través de los transportadores específicos de éstos elementos, como sucede con el elemento traza de Selenio. Este es movilizado al interior de la planta por medio de transportadores de fosfatos (Broadley *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2010), sulfatos (Terry *et al.*, 2000) y de silicio (Zhao *et al.*, 2010) y se mueve como ion selenito o como selenio en compuesto orgánico (Zayed *et al.*, 1998).

Con relación a las variables histológicas difieren de los estudios a nivel morfológico de Pimienta-Barrios, *et al.*, (2003) Arnold y Mauseth (1999), quienes mencionan estabilidad de los mecanismos morfogenéticos presentes en el desarrollo del xilema.

La agrupación y un mayor número de vasos de xilema mejora la conductividad y la seguridad en el transporte de agua, así cuando se obstruye algún vaso se establece la conducción al vaso adyacente (Clarquist, 1984; Gibson, 1996; Hacke *et al.*, 2006), además la presencia de mayor número de vasos de diámetro estrecho constituye una respuesta ante un déficit hídrico (Laskowski, 2000).

El aumento en el área de idioblastos está relacionada a un incremento en el contenido de mucílago. El contenido y composición del mucílago varía con la edad y la especie (Trachtenberg, and Fahn, 1981; Terrazas and Mauseth, 2002).

Es interesante hacer notar que es sustrato para la formación de ácido ascórbico es el ácido galacturónico y los ácidos urónicos participan en el desarrollo del xilema, compuestos que integran el mucílago.

La densidad de drusas supera lo reportado por Tovar-Puente *et al.*, (2007) para esta variedad.

La función de los cristales de oxalato de calcio no ha sido bien dilucidada. En investigaciones recientes se ha propuesto como función el secuestro y mantenimiento de los niveles de calcio dentro de la planta. Actúan también como disuasorios contra la herbivoría (Jáuregui-Zuñiga and Moreno, 2004).

Los datos presentados sugieren que la aplicación de yodo pone de manifiesto la capacidad de ajuste de la planta ante estímulos a su metabolismo oxidativo.

Para evaluar la actividad biológica se utilizaron 5 grupos de ratas a los cuales se les administró una dosis de acarbosa como control positivo, pectinas y mucílago, flavonoides y extracto F3 y se midió el nivel de glucosa a 0, 60, 120 y 180 min.

Los resultados sugieren que la pectina y mucílago, flavonoides y la Fracción 3 tiene un efecto sobre la concentración de glucosa en la sangre en ratas diabéticas cuando el consumo es mantenido un mínimo de 7 días, si el consumo se interrumpe la hiperglucemia se restablece.

Los resultados corroboran trabajos previos con fibras solubles como la pectina y goma guar al ejercer un efecto hipoglucémico (Butt *et al.*, 2007) al lentificar la digestión y disminuir su absorción. Por otro lado, mejoran la biodisponibilidad de quercetina por modificación de la actividad de la flora intestinal y/o función fisiológica del intestino (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009; Tamura *et al.*, 2007) por lo que favorecen la absorción y actividad de los flavonoides (Lesser *et al.*, 2004).

Los flavonoides como la quercetina participan en la disminución de la glucemia por diferentes mecanismos, inicialmente en el borde del lumen intestinal, inhiben la α -amilasa y α -glucosidasa, (Tadera *et al.*, 2006; Lo Piparo *et al.*, 2008), además es inhibidor competitivo de los transportadores de glucosa SGLT1 en el enterocito impidiendo la absorción de glucosa, también inhiben los transportadores GLUT 2 (Song *et al.*, 2003. Por otro lado, los flavonoides se unen a la grasa y con ello se observa un retraso en la liberación de estos compuestos. Una posible explicación del efecto sostenido de los flavonoides es el reporte que menciona que los metabolitos de la quercetina se unen a albúmina sérica (Manach *et al.*, 2004) retardando la eliminación del cuerpo, prolongando la vida media en sangre. Otros autores mencionan que el efecto hipoglucémico es secundario a la actividad antioxidante, al inhibir la peroxidación lipídica (Abdelmoaty *et al.*, 2010) y proteger a las células β pancreáticas de los radicales libres (Coskun *et al.*, 2005).

Por otro parte, el extracto F3 (triterpenos) ejerce un efecto hipoglucémico sobre la acción enzimática en el lumen intestinal al inhibir la α -amilasa , α -glucosidasa y glucógeno fosforilasa (Liang *et al.*, 2011).

8. CONCLUSIONES

En esta investigación se observó diferencia significativa entre los cultivares estudiados. Se diferenciaron en crecimiento y rendimiento, además en el contenido de pectinas, mucílago, extracto etéreo, minerales, fenólicos totales, flavonoides, vitamina C tanto en condiciones de campo abierto como de microtúnel y en los tres estadios de desarrollo.

El crecimiento y rendimiento fue mayor en condiciones de campo abierto, al igual que el contenido de minerales, no así para las variables de calidad que no mostraron diferencia entre ambientes y estadios.

De las variables bromatológicas se observó una disminución de la proteína con la edad, y se presentó mayor acumulación en cielo abierto; por otro lado, hubo un incremento de la materia orgánica, extracto etéreo y fibra detergente neutra con la edad.

Las variables histológicas analizadas son consistentes en los cuatro cultivares, en las dos condiciones ambientales y los tres estadios de desarrollo.

En cuanto a la evaluación de los cultivares, Copena mostró mayor contenido de pectinas solubles al agua (PSA), mucílago, extracto etéreo y potasio.

El cultivar Jalpa presentó un mayor contenido de fibra detergente neutra en el tercer estadio de desarrollo, lo que manifiesta una respuesta a las condiciones ambientales estresantes.

Los resultados observados para Milpa Alta en crecimiento, rendimiento, contenido de minerales, fibra detergente neutra, croma, luminosidad y firmeza reflejan pobre aclimatación para las condiciones en el área de experimentación.

Villanueva fue el cultivar con mejores características de aclimatación al mostrar el mayor crecimiento, rendimiento, fenólicos totales y flavonoides por lo que se considera que es la mejor opción para propósitos funcionales.

El momento óptimo de cosecha con propósito nutricional por presentar mayor

contenido de minerales, fibra soluble e insoluble, es en el tercer estadio de desarrollo. Pen cambio, si el proósito es funcional el mejor estadio para cosechar es el segundo.

La aplicación de yodo incrementa el contenido de minerales (P, Mg, Fe, K, Cu, Mn) mucílago y antioxidantes como vitamina C y quercetina. También se presentó modificaciones a nivel morfológico con un aumento de vasos de xilema, un incremento en el área de células de mucílago y de drusas.

Los componentes fitoquímicos evaluados en la actividad biológica en ratas diabéticas presentaron un efecto hipoglucémico cuando su consumo es continuo.

Es importante resaltar la necesidad de purificar los extractos para una identificación de los componente.

APENDICE



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE COAHUILA

FACULTAD DE MEDICINA UNIDAD SALTILLO

Acreditada en el 2009 por los CIEES y por el COMAEM



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dra. Hermila García Osuna

A través del presente, se hace constar que el Proyecto de Investigación titulado **“Identificación de pectinas y mucílago de cuatro variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* L., Millar) y validación de su actividad hipoglucémica”**, el cual será llevado a cabo durante su fase experimental en biomodelos animales, en nuestra Unidad de Bioterio y Experimentación Animal (UBYEA), ha sido aprobado por el Comité Institucional de Cuidado de Animales de Experimentación y Didáctica (CICUAED), de acuerdo a los aspectos éticos necesarios para su realización.

Sin mas por mencionar, quedo de Ud.

Atentamente

Alma Rosa Paredes Ramírez
Coordinador UBYEA.

c.c.p Dirección FMUS



**Identificación de pectinas y mucílago de cuatro variedades de nopal
(Opuntia ficus-indica L., Millar) y validación de su actividad
hipoglucémica.**

1. **Fecha de inicio:** 16 de abril 2013.
2. **Fecha de término:** 27 de mayo 2013.
3. **Especímenes:** 30 Ratas Wistar Macho NOM-062-ZOO-1999 punto 5.1 (Referencia SAGARPA No. B2367633 Transportación aérea de acuerdo al punto 7.3 NOM-062-ZOO-1999).
4. **Especificaciones Técnicas:** De acuerdo a F1-SPI de las indicaciones del Investigador.
5. **Identificación:** Tatuaje en cola de acuerdo al punto 4.6 NOM-062-ZOO-1999.
6. **Salud Animal:** De acuerdo al punto 4.5.3 NOM-062-ZOO-1999.
7. **Alimentación:** De acuerdo a Especificaciones F1-SPI y al punto 4.7 y 5.1.3 NOM-062-ZOO-1999.
8. **Confinamientos primarios:** De acuerdo al punto 5.1.1.1 y 5.1.4 NOM-062-ZOO-1999.
9. **Control de Medio Ambiente:** De acuerdo al punto 6.1.4 NOM-062-ZOO-1999.
10. **Clasificación de actividades experimentales de acuerdo al grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de laboratorio:** Categoría C de acuerdo al Apéndice A de la NOM-062-ZOO-1999.
11. **Técnicas Experimentales:**
 - **Anestesia y Analgesia:** Anestesia con Pentobarbital IP de acuerdo al punto 8.1 y Cuadro 9 NOM-062-ZOO-1999.
 - **Administración de Fluidos y Sustancias:** Gástrico a través de SNG (Muestras) e IP (Anestésicos).
 - **Método de toma de muestras:** Punción de vena caudal de acuerdo al punto 8.2.1 y de sangre capilar caudal Cuadro 10 NOM-062-ZOO-1999.
12. **Eutanasia:** Sobredosis de Pentobarbital de acuerdo al punto 9.1 NOM-062-ZOO-1999.

1 Diseño de parcelas sub-divididas

1.1 Diseño de parcelas sub-divididas univariado

El diseño de parcelas sub-divididas es especialmente adecuado para estudiar experimentos en los que existen tres factores (digamos A, B y C) y se requiere que estos factores sean estudiados a diferentes niveles de precisión.

Este diseño se caracteriza por:

1. Los tres tamaños de las parcelas corresponden a los tres factores, a saber: la parcela más grande para el factor principal (A), la parcela intermedia para el factor de subparcela (B) y la parcela pequeña para el factor de sub-sub-parcela (C).
2. Existen tres niveles de precisión, la parcela grande recibe la precisión más baja, una precisión intermedia para la sub-parcela y la mayor precisión es para la sub-sub-parcela.

El croquis del experimento se construye de la siguiente forma:

1. Se asignan al azar los niveles del factor A dentro de las parcelas grandes.
2. Se asignan al azar los niveles del factor B, dentro de cada subparcela.
3. Se asignan al azar los niveles del factor C a cada sub-sub parcela.

El experimento se lleva a cabo como cualquier experimento con un diseño completamente al azar.

El modelo es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_j + \delta(\alpha)_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varrho(\beta)_{ijk} + \gamma_l + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \epsilon(\gamma)_{ijkl},$$
$$\begin{aligned} i &= 1, 2, \dots, r, \\ j &= 1, 2, \dots, a, \\ k &= 1, 2, \dots, b, \\ l &= 1, 2, \dots, c, \end{aligned}$$

donde,

Y_{ijkl} , es el valor de la variable respuesta en el nivel j de la parcela grande, nivel k de la sub-parcela, nivel l de la sub-sub-parcela de la repetición i .

μ , es un parámetro de posición.

α_j , es un parámetro asociado al efecto nivel j de la parcela grande (factor A).

$\delta(\alpha)_{ij}$, es el error experimental de las parcelas grandes.

β_k , es un parámetro asociado al efecto del nivel k de la sub-parcela (factor B).

$(\alpha\beta)_{jk}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande y el nivel k de la sub-parcela.

$\varrho(\beta)_{ijk}$, es el error experimental de las sub-parcelas.

γ_l , es un parámetro asociado al efecto del nivel l de la sub-sub-parcela (factor C).

$(\alpha\gamma)_{jl}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande y el nivel l de la sub-sub-parcela.

$(\beta\gamma)_{kl}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel k de la sub-parcela y el nivel l de la sub-sub-parcela.

$(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande, nivel k de la sub-parcela y el nivel l de la sub-sub-parcela.

$\epsilon(\gamma)_{ijkl}$, es el error experimental de las sub-sub-parcelas.

Bajo este modelo de diseño se está interesado en probar las hipótesis siguientes,

$$H_{0A} :$$

$$H_{0B} :$$

$$H_{0AB} :$$

$$H_{0C} :$$

$$H_{0AC} :$$

$$H_{0BC} :$$

$$H_{0ABC} :$$

con tal propósito se procede a probar dichas hipótesis a través del siguiente cuadro del análisis de la varianza (ANOVA):

ANOVA				
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Estadístico F
A	a-1	SCA	SCA/(a-1)	CMA/CME(A)
Error(A)	a(r-1)	SCE(A)	SCE(A)/[a(r-1)]	
B	b-1	SCB	SCB/(b-1)	CMB/CME(B)
AB	(a-1)(b-1)	SCAB	SCAB/[(a-1)(b-1)]	CMAB/CME(B)
Error(B)	a(r-1)(b-1)	SCE(B)	SCE(B)/[a(r-1)(b-1)]	
C	c-1	SCC	SCC/(c-1)	CMC/CME(C)
AC	(a-1)(c-1)	SCAC	SCAC/[(a-1)(c-1)]	CMAC/CME(C)
BC	(b-1)(c-1)	SCBC	SCBC/[(b-1)(c-1)]	CMBC/CME(C)
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	SCABC	SCABC/[(a-1)(b-1)(c-1)]	CMABC/CME(C)
Error(C)	ab(r-1)(c-1)	SCE(C)	SCE(C)/[ab(r-1)(c-1)]	
Total	rab-1	SCT		

donde, si

$$FC = \frac{Y_{\dots}^2}{abc}$$

entonces,

$$SCT = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{ijkl}^2 - FC$$

$$SCA = \frac{1}{abc} \sum_{j=1}^a Y_{j..}^2 - FC,$$

$$SCE(A) = \frac{1}{bc} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a Y_{ij..}^2 - FC - SCA,$$

$$SCB = \frac{1}{rac} \sum_{k=1}^b Y_{..k.}^2 - FC,$$

$$\begin{aligned}
SCAB &= \frac{1}{rc} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b Y_{.jk.}^2 - FC - SCA - SCB, \\
SCE(B) &= \frac{1}{c} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b Y_{ijk.}^2 - FC - SCAB - SCB - SCE(A) - SCA, \\
SCC &= \frac{1}{rab} \sum_{l=1}^c Y_{...l}^2 - FC, \\
SCAC &= \frac{1}{rb} \sum_{j=1}^a \sum_{l=1}^c Y_{.jl.}^2 - FC - SCA - SCC, \\
SCBC &= \frac{1}{ra} \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{..kl}^2 - FC - SCB - SCC, \\
SCABC &= \frac{1}{r} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{.jkl}^2 - FC - SCA - SCB - SCC - SCAB - SCAC - SCBC, \\
SCE(C) &= SCT - SCA - SCB - SCC - SCAB - SCAC - SCBC - SCABC \\
&\quad - SCE(A) - SCE(B),
\end{aligned}$$

En este diseño los factores A, B y C son considerados factores fijos y $\delta(\alpha)_{ij}$, $\varrho(\beta)_{ijk}$, $\epsilon(\gamma)_{ijkl}$ aleatorios. Así, para establecer los correspondientes estadísticos de pruebas para cada una de las hipótesis, es necesario conocer las esperanzas de los cuadrados medios, $E(CM)$, obteniéndose, vea Anderson and McLean (1974),

Fuente de variación	Grados de libertad	Esperanza de los cuadrados medios
A	a-1	$\sigma^2 + c\sigma_p^2 + r\sigma_\delta^2 + r\sigma_{ABC}^2 + rb\sigma_{AC}^2 + rc\sigma_{AB}^2 + rbc\sigma_A^2$
Error(A)	a(r-1)	$\sigma^2 + c\sigma_p^2 + r\sigma_\delta^2$
B	b-1	$\sigma^2 + c\sigma_p^2 + r\sigma_{ABC}^2 + ra\sigma_{BC}^2 + rc\sigma_{AB}^2 + rac\sigma_B^2$
AB	(a-1)(b-1)	$\sigma^2 + c\sigma_p^2 + r\sigma_{ABC}^2 + rc\sigma_{AB}^2$
Error(B)	a(r-1)(b-1)	$\sigma^2 + c\sigma_p^2$
C	c-1	$\sigma^2 + r\sigma_{ABC}^2 + ra\sigma_{BC}^2 + rb\sigma_{AC}^2 + rab\sigma_C^2$
AC	(a-1)(c-1)	$\sigma^2 + r\sigma_{ABC}^2 + rb\sigma_{AC}^2$
BC	(b-1)(c-1)	$\sigma^2 + r\sigma_{ABC}^2 + ra\sigma_{BC}^2$
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	$\sigma^2 + r\sigma_{ABC}^2$
Error(C)	ab(r-1)(c-1)	σ^2
Total	rabc-1	

1.2 Diseño de parcelas sub-divididas multivariado

En esta sección es generalizado el diseño de parcelas sub-divididas al caso multivariado. Como es de esperar las consideraciones básicas del modelo se mantienen en cuanto al uso del mismo, ahora simplemente observe que en lugar de observar una variable a cada unidad experimental, se considera un vector de observaciones para cada unidad experimental, correspondiente a las p variables dependientes diferentes .

En este caso (multivariado) el modelo es el siguiente:

$$Y_{ijkl}^{(t)} = \mu^{(t)} + \alpha_j^{(t)} + \delta(\alpha)_{ij}^{(t)} + \beta_k^{(t)} + (\alpha\beta)_{jk}^{(t)} + \varrho(\beta)_{ijk}^{(t)} + \gamma_l^{(t)} + (\alpha\gamma)_{jl}^{(t)} + (\beta\gamma)_{kl}^{(t)} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl}^{(t)} + \epsilon(\gamma)_{ijkl}^{(t)},$$

$$\begin{aligned}
i &= 1, 2, \dots, r, \\
j &= 1, 2, \dots, a, \\
k &= 1, 2, \dots, b, \\
l &= 1, 2, \dots, c, \\
t &= 1, 2, \dots, p,
\end{aligned}$$

donde,

$Y_{ijkl}^{(t)}$, es el valor de la variable respuesta t , en el nivel j de la parcela grande, nivel k de la sub-parcela, nivel l de la sub-sub-parcela de la repetición i .

$\mu^{(t)}$, es un parámetro de posición de la variable respuesta t .

$\alpha_j^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto nivel j de la parcela grande (factor A) de la variable respuesta t .

$\delta(\alpha)_{ij}^{(t)}$, es el error experimental de las parcelas grandes de la variable respuesta t .

$\beta_k^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto del nivel k de la sub-parcela (factor B) de la variable respuesta t .

$(\alpha\beta)_{jk}^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande y el nivel k de la sub-parcela de la variable respuesta t .

$\varrho(\beta)_{ijk}^{(t)}$, es el error experimental de las sub-parcelas de la variable respuesta t .

$\gamma_l^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto del nivel l de la sub-sub-parcela (factor C) de la variable respuesta t .

$(\alpha\gamma)_{jl}^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande y el nivel l de la sub-sub-parcela de la variable respuesta t .

$(\beta\gamma)_{kl}^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel k de la sub-parcela y el nivel l de la sub-sub-parcela de la variable respuesta t .

$(\alpha\beta\gamma)_{jkl}^{(t)}$, es un parámetro asociado al efecto de la interacción del nivel j de la parcela grande, nivel k de la sub-parcela y el nivel l de la sub-sub-parcela de la variable respuesta t .

$\epsilon(\gamma)_{ijkl}^{(t)}$, es el error experimental de las sub-sub-parcelas de la variable respuesta t .

Observe que dicho modelo se puede escribir matricialmente como:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X} \mathbf{\mathfrak{B}} + \mathbf{U},$$

$(n \times p) \quad (n \times q)(q \times p) \quad (n \times p)$

donde $n = abc$, $q = 1 + a(1 + b + c + bc) + b(1 + c) + c =$ número de parámetros de los factores fijos; la matriz de diseño \mathbf{X} es de rango incompleto y la matriz de parámetros de $\mathbf{\mathfrak{B}}$ es tal que

$$\mathbf{\mathfrak{B}} = \begin{bmatrix}
\mu^{(1)} & \mu^{(2)} & \dots & \mu^{(p)} \\
\alpha^{(1)} & \alpha^{(2)} & \dots & \alpha^{(p)} \\
\beta^{(1)} & \beta^{(2)} & \dots & \beta^{(p)} \\
\alpha\beta^{(1)} & \alpha\beta^{(2)} & \dots & \alpha\beta^{(p)} \\
\gamma^{(1)} & \gamma^{(2)} & \dots & \gamma^{(p)} \\
\alpha\gamma^{(1)} & \alpha\gamma^{(2)} & \dots & \alpha\gamma^{(p)} \\
\beta\gamma^{(1)} & \beta\gamma^{(2)} & \dots & \beta\gamma^{(p)} \\
\alpha\beta\gamma^{(1)} & \alpha\beta\gamma^{(2)} & \dots & \alpha\beta\gamma^{(p)}
\end{bmatrix}$$

con

$$\boldsymbol{\alpha}^{(t)} = \begin{bmatrix} \alpha_1^{(t)} \\ \alpha_2^{(t)} \\ \vdots \\ \alpha_a^{(t)} \end{bmatrix}, \quad \boldsymbol{\beta}^{(t)} = \begin{bmatrix} \beta_1^{(t)} \\ \beta_2^{(t)} \\ \vdots \\ \beta_b^{(t)} \end{bmatrix}, \quad \boldsymbol{\alpha\beta}^{(t)} = \begin{bmatrix} \alpha\beta_{11}^{(t)} \\ \alpha\beta_{12}^{(t)} \\ \vdots \\ \alpha\beta_{ab}^{(t)} \end{bmatrix}, \quad \boldsymbol{\gamma}^{(t)} = \begin{bmatrix} \gamma_1^{(t)} \\ \gamma_2^{(t)} \\ \vdots \\ \gamma_c^{(t)} \end{bmatrix},$$

$$\boldsymbol{\alpha\gamma}^{(t)} = \begin{bmatrix} \alpha\gamma_{11}^{(t)} \\ \alpha\gamma_{12}^{(t)} \\ \vdots \\ \alpha\gamma_{ac}^{(t)} \end{bmatrix}, \quad \boldsymbol{\beta\gamma}^{(t)} = \begin{bmatrix} \beta\gamma_{11}^{(t)} \\ \beta\gamma_{12}^{(t)} \\ \vdots \\ \beta\gamma_{bc}^{(t)} \end{bmatrix}, \quad \boldsymbol{\alpha\beta\gamma}^{(t)} = \begin{bmatrix} \alpha\beta\gamma_{11}^{(t)} \\ \alpha\beta\gamma_{12}^{(t)} \\ \vdots \\ \alpha\beta\gamma_{abc}^{(t)} \end{bmatrix}.$$

Ahora, dado que \mathbf{X} es una matrix de rango incompleto, dichos los parámetros descritos individualmente no son estimables, pero si algunas funciones de ellos, más aún para dichas funciones estimables su estimador no depende del valor particular que puedan tomar cada uno de los estimadores de los parámetros individuales. Así, un posible valor para la matrix de parámetros no estimables $\boldsymbol{\mathfrak{B}}$ se puede obtener como:

$$\tilde{\boldsymbol{\mathfrak{B}}} = (\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-}\mathbf{X}'\mathbf{Y},$$

donde \mathbf{A}^{-} es cualquier inverso generalizado de \mathbf{A} , tal que $\mathbf{A}\mathbf{A}^{-}\mathbf{A} = \mathbf{A}$.

Bajo este modelo de diseño se está interesado en probar hipótesis generales de la forma:

$$H_0 : \mathbf{C}\boldsymbol{\mathfrak{B}} = \mathbf{0}$$

donde \mathbf{C} es una matrix de orden $u \times q$ de rango u , $r(\mathbf{C}) = u$.

En particular si \mathbf{C} es de la forma

$$\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha}} = \left(\begin{array}{c|c|c} \mathbf{0} & \mathbf{C}_1 & \mathbf{0} \\ \hline (a-1 \times q) & (a-1 \times 1) & (a-1 \times a) & (a-1 \times q - a - 1) \end{array} \right),$$

donde

$$\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha}} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & -1 \end{pmatrix}$$

entonces

$$\mathbf{C}\boldsymbol{\mathfrak{B}} = \begin{pmatrix} \alpha_1^{(1)} - \alpha_2^{(1)} & \alpha_1^{(2)} - \alpha_2^{(2)} & \cdots & \alpha_1^{(p)} - \alpha_2^{(p)} \\ \alpha_2^{(1)} - \alpha_3^{(1)} & \alpha_2^{(2)} - \alpha_3^{(2)} & \cdots & \alpha_2^{(p)} - \alpha_3^{(p)} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \alpha_{a-1}^{(1)} - \alpha_a^{(1)} & \alpha_{a-1}^{(2)} - \alpha_a^{(2)} & \cdots & \alpha_{a-1}^{(p)} - \alpha_a^{(p)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \end{pmatrix},$$

Definiendo análogamente a $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha}}$ las matrices $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\beta}}$, $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha\beta}}$, $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\gamma}}$, $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha\gamma}}$, $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\beta\gamma}}$ y a $\mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha\beta\gamma}}$, en el modelo de diseño de parcelas sub-divididas las hipótesis de interés son las siguientes,

$$(H_A) \quad H_{01} : \mathbf{C}_{\boldsymbol{\alpha}}\boldsymbol{\mathfrak{B}} = \mathbf{0},$$

$$(H_B) \quad H_{02} : \mathbf{C}_{\boldsymbol{\beta}}\boldsymbol{\mathfrak{B}} = \mathbf{0},$$

$$\begin{aligned}
(H_{AB}) \quad H_{03} : \mathbf{C}_{\alpha\beta}\mathbf{Y} &= \mathbf{0}, \\
(H_C) \quad H_{04} : \mathbf{C}_\gamma\mathbf{Y} &= \mathbf{0}, \\
(H_{AC}) \quad H_{05} : \mathbf{C}_{\alpha\gamma}\mathbf{Y} &= \mathbf{0}, \\
(H_{BC}) \quad H_{06} : \mathbf{C}_{\beta\gamma}\mathbf{Y} &= \mathbf{0}, \\
(H_{ABC}) \quad H_{07} : \mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}\mathbf{Y} &= \mathbf{0}.
\end{aligned}$$

Con tal propósito se procede a probar dichas hipótesis a través del siguiente cuadro del análisis de la varianza multivariado (MANOVA), para lo cual es adoptada la notación clásica del MANOVA, vea Seber (1984) y Rencher (2002); en cuyo caso las matrices de sumas de cuadrados y productos asociada a una hipótesis es denotadas genéricamente por la letra \mathbf{H} y sus correspondientes grados de libertad por $\nu_{\mathbf{H}}$, de manera similar con la letra \mathbf{E} son denotadas genéricamente las matrices de sumas de cuadrados y productos de los errores y sus correspondientes grados de libertad por $\nu_{\mathbf{E}}$, emperlando sub-índices para las matrices \mathbf{H} y \mathbf{E} , de ser el caso, luego:

MANOVA

Fuente de variación	Grados de libertad	Matrices de suma de cuadrados y productos
A	a-1	\mathbf{H}_1
Error(A)	a(r-1)	\mathbf{E}_1
B	b-1	\mathbf{H}_2
AB	(a-1)(b-1)	\mathbf{H}_3
Error(B)	a(r-1)(b-1)	\mathbf{E}_2
C	c-1	\mathbf{H}_4
AC	(a-1)(c-1)	\mathbf{H}_5
BC	(b-1)(c-1)	\mathbf{H}_6
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	\mathbf{H}_7
Error(C)	ab(r-1)(c-1)	\mathbf{E}_3
Total	rabc-1	\mathbf{T}

Ahora observe que las **las sumas de cuadrados y productos**, son matrices simétricas de ordenes $p \times p$. Más aún, si

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1p} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{p1} & a_{p2} & \cdots & a_{pp} \end{pmatrix} = (a_{fg}), f, g = 1, 2, \dots, p$$

los fg -ésimos elementos de las correspondientes matrices de sumas de cuadrados y productos se denotarán por a^{ij} para no confundir los sub-índices, de esta manera:

$$\mathbf{FC} = (fc^{fg}) = \left(\frac{Y_{\dots}^{(f)} Y_{\dots}^{(g)}}{rabc} \right)$$

entonces,

$$\mathbf{T} = (t^{fg}) = \left(\sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{ijkl}^{(f)} Y_{ijkl}^{(g)} - fc^{fg} \right)$$

$$\begin{aligned}
\mathbf{H}_1 &= (h_1^{fg}) = \left(\frac{1}{rbc} \sum_{j=1}^a Y_{.j..}^{(f)} Y_{.j..}^{(g)} - fc^{fg} \right), \\
\mathbf{E}_1 &= (e_1^{fg}) = \left(\frac{1}{bc} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a Y_{ij..}^{(f)} Y_{ij..}^{(g)} - fc^{fg} - h_1^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_2 &= (h_2^{fg}) = \left(\frac{1}{rac} \sum_{k=1}^b Y_{..k.}^{(f)} Y_{..k.}^{(g)} - fc^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_3 &= (h_3^{fg}) = \left(\frac{1}{rc} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b Y_{.jk.}^{(f)} Y_{.jk.}^{(g)} - fc^{fg} - h_1^{fg} - h_2^{fg} \right), \\
\mathbf{E}_2 &= (e_2^{fg}) = \left(\frac{1}{c} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b Y_{ijk.}^{(f)} Y_{ijk.}^{(g)} - fc^{fg} - h_3^{fg} - h_2^{fg} - e_1^{fg} - h_1^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_4 &= (h_4^{fg}) = \left(\frac{1}{rab} \sum_{l=1}^c Y_{...l}^{(f)} Y_{...l}^{(g)} - fc^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_5 &= (h_5^{fg}) = \left(\frac{1}{rb} \sum_{j=1}^a \sum_{l=1}^c Y_{.j.l}^{(f)} Y_{.j.l}^{(g)} - fc^{fg} - h_1^{fg} - h_4^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_6 &= (h_6^{fg}) = \left(\frac{1}{ra} \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{..kl}^{(f)} Y_{..kl}^{(g)} - fc^{fg} - h_2^{fg} - h_4^{fg} \right), \\
\mathbf{H}_7 &= (h_7^{fg}) = \left(\frac{1}{r} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c Y_{.jkl}^{(f)} Y_{.jkl}^{(g)} - fc^{fg} - h_1^{fg} - h_2^{fg} - h_4^{fg} - h_3^{fg} \right. \\
&\quad \left. - h_5^{fg} - h_6^{fg} \right), \\
\mathbf{E}_3 &= (e_3^{fg}) = \left(t_1^{fg} - h_1^{fg} - h_2^{fg} - h_4^{fg} - h_3^{fg} - h_5^{fg} - h_6^{fg} \right. \\
&\quad \left. - h_7^{fg} - e_1^{fg} - e_2^{fg} \right).
\end{aligned}$$

En análisis multivariado para probar las diferentes hipótesis en el MANOVA se pueden emplear cualesquiera de los más de 13 estadísticos de prueba que existen en la literatura (vea, Díaz-García and Caro-Lopera, 2008), los cuales son definidos en términos de los eigenvalores de $|\mathbf{H} - \theta(\mathbf{E} + \mathbf{H})| = 0$ o los eigenvalores de $|\mathbf{H} - \lambda\mathbf{E}| = 0$, cuyos correspondientes eigenvalores están relacionados por

$$\theta_v = \frac{\lambda_v}{1 + \lambda_v}, \quad v = 1, 2, \dots, s,$$

donde $s = \min(p, \nu_{\mathbf{H}})$ y $|\mathbf{A}|$ denota el determinante de \mathbf{A} . En la práctica -y en particular en los paquetes estadísticos comerciales- son empleados los siguientes cuatro estadísticos de prueba:

$$\begin{aligned}
\text{Pillai:} &= \sum_{v=1}^s \theta_v &= \sum_{v=1}^s \frac{\lambda_v}{1 + \lambda_v} &= \text{tr}(\mathbf{H}(\mathbf{H} + \mathbf{E})^{-1}) \\
\text{Lawley-Hotelling:} &= \sum_{v=1}^s \frac{\theta_v}{1 - \theta_v} &= \sum_{v=1}^s \lambda_v &= \text{tr}(\mathbf{H}\mathbf{E}^{-1}) \\
\text{Lambda de Wilks:} &= \prod_{v=1}^s \theta_v &= \prod_{v=1}^s \frac{\lambda_v}{1 + \lambda_v} &= \frac{|\mathbf{E}|}{|\mathbf{E} + \mathbf{H}|} \\
\text{Máximo eigenvalor de Roy:} &= \theta_1 &= \frac{\lambda_1}{1 + \lambda_1} &= \max_{\theta} (\mathbf{H}(\mathbf{H} + \mathbf{E})^{-1})
\end{aligned}$$

donde $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_s > 0$ son los eigenvalores de $\mathbf{H}\mathbf{E}^{-1}$, $\theta_1 > \theta_2 > \dots > \theta_s > 0$ son los eigenvalores de $\mathbf{H}(\mathbf{E} + \mathbf{H})^{-1}$ y $\text{tr } \mathbf{A}$ denota la traza de \mathbf{A} . Los valores críticos para estos (y otros) estadísticos de prueba se pueden encontrar en Kres (1983). Sin embargo los paquetes computacionales calculan el p -value empleando las diferentes aproximaciones F y beta de los cuatro estadísticos de prueba, vea Kres (1983), Seber (1984) y Rencher (2002).

Adicionalmente, observe que para que estos estadísticos de prueba se puedan aplicar se requiere que:

1. $p \leq \nu_{\mathbf{H}}$ and $p \leq \nu_{\mathbf{E}}$ ó
2. $p > \nu_{\mathbf{H}}$ and $p \leq \nu_{\mathbf{E}}$, en cuyo caso es necesario hacer la siguiente transformación en los parámetros

$$(p, \nu_{\mathbf{H}}, \nu_{\mathbf{E}}) \rightarrow (\nu_{\mathbf{H}}, p, \nu_{\mathbf{H}} + \nu_{\mathbf{E}} - p).$$

1.3 Intervalos de confianza simultáneos

Asociados con el estadístico de Roy para la hipótesis $H_0 : \mathbf{C}\mathfrak{B} = 0$ se tiene un conjunto de intervalos con nivel de confianza simultáneo $100(1 - \alpha)\%$ para todas las combinaciones lineales de la forma $\mathbf{a}'\mathbf{C}\mathfrak{B}\mathbf{b}$, para todo \mathbf{a}, \mathbf{b} . Así, el conjunto de intervalos de confianza múltiples para todas las combinaciones lineales esta dado por

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}\mathbf{b}\}^{1/2}$$

donde λ_{α} es el valor tabular del estadístico de Roy empleado (o asumido) en el MANOVA para cada correspondiente hipótesis nula (H_{01}, \dots, H_{07}).

Para comparar dos medias en cada una de las hipótesis los intervalos de confianza simultáneos están definidos como:

1. Para comparar dos medias de la parcela grande se tiene (e.g. a_0 versus a_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_1\mathbf{b}\}^{1/2}$$

2. Para comparar dos medias de la sub-parcela se tiene (e.g. b_0 versus b_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\beta}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\beta}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\beta}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_2\mathbf{b}\}^{1/2}$$

3. Para comparar dos medias de la sub-sub-parcela grande se tiene (e.g. c_0 versus c_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_3\mathbf{b}\}^{1/2}$$

4. Para comparar dos medias de la sub-parcela bajo un mismo nivel de la parcela grande se tiene (e.g. a_0b_0 versus a_0b_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\beta}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\beta}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\beta}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_2\mathbf{b}\}^{1/2}$$

5. Para comparar dos medias de la parcela grande bajo el mismo o diferente nivel de la sub-parcela se tiene (e.g. a_0b_0 versus a_1b_0 ó a_0b_0 versus a_2b_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\beta}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}^*\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\beta}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\beta}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (b-1)\mathbf{E}_2)\mathbf{b}\}^{1/2}$$

con

$$\lambda_{\alpha}^* = \frac{\mathbf{b}'(\lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_1}}\mathbf{E}_1 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_2}}(b-1)\mathbf{E}_2)\mathbf{b}}{\mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (b-1)\mathbf{E}_2)\mathbf{b}}.$$

6. Para comparar dos medias de la sub-sub-parcela el mismo nivel de la parcela grande se tiene (e.g. a_0c_0 versus a_0c_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_3\mathbf{b}\}^{1/2}$$

7. Para comparar dos medias de la parcela grande bajo el mismo o diferente nivel de la sub-sub-parcela se tiene (e.g. a_0c_0 versus a_1c_0 ó a_0c_0 versus a_2c_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}^*\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}\}^{1/2}$$

con

$$\lambda_{\alpha}^* = \frac{\mathbf{b}'(\lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_1}}\mathbf{E}_1 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_3}}(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}{\mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}.$$

8. Para comparar dos medias de la sub-sub-parcela el mismo nivel de la sub-parcela se tiene (e.g. b_0c_0 versus b_0c_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\beta\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\beta\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\beta\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_3\mathbf{b}\}^{1/2}$$

9. Para comparar dos medias de la sub-parcela bajo el mismo o diferente nivel de la sub-sub-parcela se tiene (e.g. b_0c_0 versus b_1c_0 ó b_0c_0 versus b_2c_1),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\beta\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}^*\mathbf{a}\mathbf{C}_{\beta\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\beta\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'(\mathbf{E}_2 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}\}^{1/2}$$

con

$$\lambda_{\alpha}^* = \frac{\mathbf{b}'(\lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_2}}\mathbf{E}_2 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_3}}(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}{\mathbf{b}'(\mathbf{E}_2 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}.$$

10. Para comparar dos medias de la sub-sub-parcela el mismo nivel de la sub-parcela y la parcel grande se tiene (e.g. $a_0b_0c_0$ versus $a_0b_0c_2$),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\beta\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'\mathbf{E}_3\mathbf{b}\}^{1/2}$$

11. Para comparar dos medias de la sub-parcela bajo el mismo nivel de la sub-sub-parcela y de la prcela grande se tiene (e.g. $a_0b_0c_0$ versus $a_0b_1c_0$),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}^*\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\beta\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'(\mathbf{E}_2 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}\}^{1/2}$$

con

$$\lambda_{\alpha}^* = \frac{\mathbf{b}'(\lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_2}}\mathbf{E}_2 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_3}}(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}{\mathbf{b}'(\mathbf{E}_2 + (c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}.$$

12. Para comparar dos medias de la sub-parcela bajo el mismo nivel de la sub-sub-parcela y de la prcela grande se tiene ($a_0b_0c_0$ versus $a_1b_0c_0$),

$$\mathbf{a}'\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}\tilde{\mathfrak{B}}\mathbf{b} \pm \{\lambda_{\alpha}^*\mathbf{a}\mathbf{C}_{\alpha\beta\gamma}(\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{C}'_{\alpha\beta\gamma}\mathbf{a} \cdot \mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (b-1)\mathbf{E}_2 + b(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}\}^{1/2}$$

con

$$\lambda_{\alpha}^* = \frac{\mathbf{b}'(\lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_1}}\mathbf{E}_1 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_2}}(b-1)\mathbf{E}_2 + \lambda_{\alpha,\nu_{\mathbf{E}_3}}b(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}{\mathbf{b}'(\mathbf{E}_1 + (b-1)\mathbf{E}_2 + b(c-1)\mathbf{E}_3)\mathbf{b}}.$$

References

- Díaz-García, J. A., and Caro-Lopera, F. J. (2008). About test criteria in multivariate analysis. *Brazilian J. Prob. Statist.*, 22 (1), 35-59.
- Anderson, V. L. and McLean, R. A. (1974). *Design of Experiments: A Realistic Approach*. Marcel Dekker, New York.
- Graybill, F. A. (1974). *Theory and Application of the Linear Model*. Wadsworth & Brooks/Cole, Advances Books and Software, Pacific Grove, California.
- Kress, H., (1983). *Statistical tables for multivariate analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Rencher, A. C. (2002). *Methods of Multivariate Analysis*. Wiley-Interscience, New York.
- Seber, G. A. F. (1984). *Multivariate Observations*. John Wiley & Sons, New York.

12-694

Para ver mensajes relacionados con este, [agrupar mensajes por conversación](#).



Pakistan Journal of Botany 27/02/2013

Para: Hermila García

Dear Dr. Hermila

Your paper MS 12-694 has been accepted for its publication after minor correction suggested by the referee.

Improve presentation of the paper.

Check English language and spellings carefully, there is some typographical errors.

Results need more clarification.

References are not according to PJB format, follow the style of PJB and rewrite all references

Check all ref. cited in the text and in ref. list vice versa many references are missing or not cited.

Add 3 recent ref. (2011-2012) of PJB

send me back corrected copy by email.

—

Rehan Saleem

Pakistan Journal of Botany

Department of Botany,

University of Karachi,

Karachi, Pakistan.

092-021-36073119

IODINE APPLICATION INCREASED ASCORBIC ACID CONTENT AND MODIFY THE VASCULAR TISSUE IN *OPUNTIA FICUS-INDICA* L

HERMILA TRINIDAD GARCÍA OSUNA¹, ADALBERTO BENAVIDES MENDOZA^{2*}, CATALINA RIVAS MORALES¹, EUFEMIA MORALES RUBIO¹, JULIA VERDE STAR¹ AND RENÉ MIRANDA RUVALCABA³

¹, Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura. 25315 Saltillo, Coahuila, México.

³ Universidad Autónoma de México, Departamento de Química, Facultad de Estudios Superiores, 54740, Cautitlán Izcalli, Estado de México, México,

*Corresponding author's e-mail: abenmen@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to discern the effect of applying both iodide and iodate to *Opuntia ficus indica* irrigation. The effect of iodate (KIO₃, 10⁻⁴ M) and iodide (KI, 10⁻⁴ M) on plant growth, yield and morphology was studied. Experiments were carried in three samples under tunnel conditions. In the last sampling, iodine species (KIO₃, KI) caused a negative effect in biomass. The amount of ascorbic acid, however, was increased over 51% in both iodine treatments. Phosphorus (0.26%), iron (50 ppm), and magnesium (1402 ppm) increases were also observed with iodate treatment in the first sampling, and increases in potassium (46.8 ppm) were apparent in the second. Iodide treatment increased the amounts of copper (1.02 ppm) and manganese (32.80 ppm) in the first sampling. Iodate treatment modified the number of xylem vessels and increased both the mucilage area and amount of druses. In general this study shows that iodate increases the amount of ascorbic acid and the morphology of the vascular tissue.

Introduction.

Nopal is a native plant of Mexico's semiarid regions. Its cropping surpasses 777, 413 t nationally and 7% is exported (SAGARPA, 2011). Interest in nopal production has increased in the last decades due to its diverse value as a vegetable (Pimienta-Barrios, 1994; Flores-Valdés *et al.*, 1995; Rodríguez-Salazar & Nava-Cedillo, 1999), fodder (Russell & Felker, 1987), substratum for exploiting cochineal (Tovar *et al.*, 2005), element of reforestation (Stintzing & Carle, 2005), biofuel (Varnero *et al.*, 1992), and as a medicinal resource (Feugang *et al.*, 2006; Sher *et al.*, 2011). Moreover, it has multiple applications in agroindustry, pharmaceuticals, biotechnology (Shedbalkar *et al.*, 2010), and industrial production. The consumers' demand for improving the nutritional, functional, organoleptic, and health related properties of nopal generates the requirement for better understanding of its physiology, agronomical handling, and postharvest technology (Flores-Hernández *et al.*, 2004; Valdéz-Cepeda *et al.*, 2006; Robles-Ozuna *et al.*, 2007).

The functional properties of nopal refer to the amount of fiber, hydrocolloids, pigments, Ca, K, and ascorbic acid (Sáenz *et al.*, 2004). In this context, to achieve a higher nutritional and functional value, key environmental factors and necessary handling practices must be identified. Particularly, mineral nutrition provides great benefits for this crop. For *Opuntia ficus-indica*, existing work indicates the optimal concentrations, and critical and sufficient levels of essential mineral nutrients that improve biomass production (Magallanes *et al.*, 2005; Blanco-Macías *et al.*, 2006; Blanco-Macías *et al.*, 2011), but little is known about how other elements, such as iodine, affect its application. Iodine is a non-metallic element found in small amounts in vegetable tissues. Research conducted in the early 20th century claimed that iodine was not essential for plants (Brady & Weil, 1996); it was even found to be phytotoxic in sensitive species like corn, peas, chinese cabbage, and rice at doses higher than 10⁻³ M (Loué, 1988; Mackowiak & Grossl, 1999; Dai *et al.*, 2004). The metabolic function of iodine in plants has not been elucidated (Benton-Jones, 1998), but it is known to be important in fertilization programs for biofortification (Dai *et al.*, 2004). Additionally, iodine is an inductor of pathogen and stress tolerance (Blasco *et al.*, 2011).

To our knowledge, there is no literature on nopal addressing the effect of iodine application. The objective of this study was to determine the effect of iodine in the form of iodate and iodide in nopal nutrient solutions for cladode production using tunnel cultivation system. We additionally assess the chemical composition quality and amount of vitamin C.

Materials and Methods

This work was conducted in Municipio of General Cepeda Coahuila (25° 22' 58" North, 101° 27' 08" West and 1440 msnm), 50 km Southeast of Saltillo, Coahuila. Cladodes of *Opuntia ficus-indica* var. Copena VI were planted in three tunnels with plastic cover caliber 600. The dimension for each tunnel was 50 m length x 3 m width. We incorporated 1300 cactus leaves per tunnel: each unit consisted of two beds with five columns and 130 rows. Iodine treatments were potassium iodate (KIO_3 , 10^{-4} M), potassium iodide (KI, 10^{-4} M), and a water control.

Irrigation. Each treatment consisting of Steiner nutritional solution (Steiner, 1961) containing KIO_3 (10^{-4} M), KI (10^{-4} M) or water control was irrigated independently.

Plant sampling. Nopal cladodes *Opuntia ficus-indica* var Copena V were used. When transplanted, all nopal plants had one stratum (1 mother cladode) and were allowed to grow to the second stratum. Data for determining productivity were obtained by harvesting and weighting the cladodes of the second stratum. We carried out chemical analysis of extracts from cladodes over 16cm long on twenty randomly chosen plants. The iodine effect on growth was calculated by counting the sprouting amount in the second stratum.

Quality of cladodes

Length, width and thickness of cladodes. Measurements were performed using a 30 cm ruler at the base of the cladode apex and middle of the cladode for length and width, respectively. Thickness was measured in millimeters from the middle section of the cladode with a vernier.

Weight. Fresh weight of each cladode was determined in grams with a mechanical balance (OHAUS). Dry weight was measure after drying samples placed in aluminum platters on an oven at 60°C.

Color. Color and brightness parameters were analyzed with a colorimeter (Minolta CR-300) using ten cladodes per sample. Three independent measurements were obtained per cladode.

pH. The pH was measured in cladode parenchyma by inserting a potentiometer (Hanna) (Flores-Hernández, *et al.*, 2004) into a manually produced incision.

Total soluble solids (°Brix). 30 g of sample was homogenized and placed in a refractometer (Atago) at a 0-30° range. Results were expressed as a percentage of soluble solids (AOAC, 2000).

Firmness. Resistance to penetration was determined with a compact digital penetrometer Gauge (MECMESIN® EUA). The measurement was taken in the central section of the cladode and registered in kilograms (kg).

Cladode chemical composition. Samplings were performed in cladodes of the second stratum on August 20, September 24, and October 23 of 2009. Five cladodes were collected per treatment in each sample. Harvested cladodes were placed in aluminum platters inside an oven at 80°C until constant weight was obtained. The dried material was finely ground in a porcelain mortar and stored in glass containers. Organic matter, raw protein (Kjeldahl), ether extract, raw fiber, and ashes were analyzed (AOAC, 2000).

Ascorbic acid quantification. The amount of ascorbic acid was determined through titration. 10 g of fresh sample was weighted and grounded in a mortar with 10 ml of 2% HCl. Sample was then filtered and brought to 100 ml with deionized water. A 10 ml aliquot was labeled as 2,6-dichlorophenolindophenol (0.001 N) solution.

Mineral content of cladodes. Minerals were determined based on dry weight. Sample was subjected to a mineralization process with perchloric and nitric acids (3:1) in a heating plate at 100°C, after which the solutions were filtered and diluted to 100 ml with deionized water. Minerals Zn, Cu, Fe, Mn, Mg, K, and Ca were analyzed through humid digestion using an atomic absorption spectrophotometer (Varian 1275). Sulfur content was determined by turbidimetry with 10% barium chloride (BaCl_2) and glycerin by colorimetry at an 800 nm wavelength. Phosphorus content was determined through colorimetry at 640 nm.

Histological characterization. For each treatment, second stratum cladode samples were taken at four weeks of growth. Cross sections of 0.5 cm thickness were made in the middle, apical and basal sections. Tissue samples were fixed with FAA (alcohol: acetic acid: formalin; 85:5:10). Histological analysis was performed by techniques described by Sass (1958) on both cladode sides. Epidermal tissue was prepared by placing a thin, homogeneous layer of adhesive PVC plastic on the cladode surface. The adhesive film was removed with pincers, and the samples were finally placed on slides.

Observations and measurements: To generate anatomical descriptions, features of vascular tissues were observed and recorded. Idioblasts and crystals were also described. The number of xylem vessels, thickness of walls, and area of vessel lumen were determined from preparations of cross cut sections. Mucilage cells and druse distribution were also assessed. All measurements were performed with an optical image analyzer Axion Vision 4, and pictures were taken with a Pixera PVC 100 C model digital camera.

Data analysis. Groups were compared using analysis of variance, and a Tukey means comparison test was performed with a significance level of ($P \leq 0.05$) via R® version 2.8.1. (2008).

Results and Discussion

Iodide and iodate at 10^{-4} M application was studied in nopal (*O. ficus-indica* L.) to determine their effect on yield and physiological related traits.

Yield. Table 1 represents data for cladode sprout number, yield, length wide, thickness, fresh and dry weight. Sprout number was less than reported by Vázquez-Alvarado *et al.*, (2009) under hydroponic conditions. Our yield was not significant between treatments and control, but was higher than the value reported by both Ruiz-Espinoza *et al.*, (2008) in cultivating CEN-1 and by Vázquez-Alvarado *et al.*, (2009) under hydroponic and salinity conditions.

Quality of cladodes. Only the third sampling of the treatment group showed a decrease in dry sampling weight compared to control. A decrease in biomass of iodine treated plants has been documented in crops (Huang *et al.*, 2003; Ozyigit, 2012) under hydroponic growth (Hageman *et al.*, 1942; Weng *et al.*, 2008a; Blasco *et al.*, 2008) or soil cultivation (Hong *et al.*, 2008; Weng *et al.*, 2008b). According to Muramatsu *et al.*, (1989) this is due to the iodine concentration used. Meanwhile, Blasco *et al.*, (2008) connected decreasing biomass in lettuce plants under hydroponic growth with a decrease in photosynthetic rate. Biomass is a parameter related to photosynthesis. *Opuntia ficus-indica* is a plant with constitutive CAM metabolism (Borland, 1996), but young cladodes upregulate a C_3 metabolism during their development, requiring more water from basal cladodes (Wang *et al.*, 1997). During daytime, a stomatal opening occurs in young cladodes (Osmond, 1978). Additionally, under conditions of irrigation, stomata remain open more frequently (Hanscom & Ting, 1978), causing a higher demand for water. This causes a physiological drought, resulting in an assimilation of CO_2 in shade and a loss of chlorophyll (Pimienta-Barrios *et al.*, 2007). Biomass loss in the last sample can be related to a residual effect of iodine on soil when iodine-organic material complexes forms (Yamaguchi *et al.*, 2010). Dai *et al.*, (2004) mentions such an effect by applying iodate on soil at a concentration of 5mg/kg. This suggests the importance of controlling application of iodine through fertilizers, given the soil diversity and the environmental conditions.

Color. No significant difference was detected in the color of cladodes between treatments (Table 2). However, the values $-a$ and b did not match those reported by Rodríguez-Félix and Villegas-Ochoa (1998) for this plant. These variables are related to the amount of chlorophyll and can be modified by degrading it (Heaton & Marangoni, 1996). For variable L , the values shown in Chart 2 are similar to those of Rodríguez-Félix *et al.*, (2007).

pH and total soluble solids. A minor difference in the cladode pH was found when the first sample was treated with potassium iodate. No differences were observed in the last two samples or in total soluble solids (Table 3). Soluble solids, pH, and titrable acidity are related to taste and consumer preferences (Bosquez, 1992; Aguilar-Sánchez *et al.*, 2007). Total soluble solid variables hereby reported are lower than those reported by Aguilar-Sánchez *et al.*, (2007). Additionally, these variables are related to polyphenoloxidase activity. Polyphenoloxidase oxidizes phenolic compounds showing little activity at pH 4.5 and this enzyme is inactive at any pH lower than 3 (Whitaker, 1994; Whitaker & Lee, 1995). Polyphenoloxidases are responsible for darkening fresh products and for deteriorating young cladodes (Whitaker & Lee, 1995).

Firmness. No difference in cladode firmness between treatments was detected.

Chemical composition analysis. Results from bromatological variables show a significant difference in nitrogen composition in two samples. However, these results do not exhibit consistency (Table 4). No significant differences were found in remaining variables such as organic matter, lipids, fiber and ashes.

The amount of ashes is greater than the number found by Rodríguez-Félix and Catwell (1988). However, the lipids (2.7%) and nitrogen content (10.3%) is less than the reported for this specie at this development stage (Rodríguez-García *et al.*, 2007; Ramírez-Tobías *et al.*, 2007).

Vitamin C. The amount of vitamin C increased more than 45% with I^- and IO_3^- treatments at 10^{-4} M. Weng *et al.*, (2008a) mentioned a 22-40% increase in vitamin C concentration in lettuce when iodine (I^-) was applied at 0.05-0.1 $mg L^{-1}$, whereas uptake of IO_3^- and CH_2ICOO^- , however, vitamin C concentrations were below the control level. Blasco *et al.*, (2011) mentioned iodate capacity to induce plant antioxidant accumulation. Ascorbic acid, participates in H_2O_2 detoxification, the growth process regulation and xylem lignification (Antonova *et al.*, 2005). Ascorbic acid concentration is affected by environmental conditions (Antonova *et al.*, 2005; Zhang, 2007). In CAM plants, carboxylates function as energetic reservoirs. Some cyclic CAM plants tend to accumulate more ascorbic acid than malate due to lower energetic costs (Borland *et al.*, 1994).

Mineral amount in the cladodes. Mineral amount results obtained (Table 5) showed a significant difference in certain elements such as P, Fe, Mg, and K for iodate, and Cu and Mn for iodide. Fraps and Fudge (1939) mention a positive correlation between phosphorus and iodine found in Texas soil. Hageman *et al.*, (1942) studied an increase in magnesium concentration (until 1.36 %) in tomato

leaves and stems when they are treated with an iodide solution at 100 mg/kg (7.8×10^{-4} Molar). Iodide also stimulates absorption of Cu and Mn (Hageman *et al.*, 1942). Higher amount of Cu is related to oxidative stress (Azmat & Khan, 2011) and this could be correlated with a higher amount of ascorbic acid found in this study.

Mechanisms that facilitate iodine absorption by plants have not yet been elucidated. In algae, iodine is oxidized and enters the cell through facilitated diffusion (Küpper *et al.*, 2008), and in land plants, authors suggest iodate is reduced to I⁻ for internal plant localization (Umaly & Poel, 1971; Whitehead, 1975; Blasco *et al.*, 2008). Differential absorption of minerals under iodate and iodide treatment suggests a transport mechanism mediated by transporters, as it occurs with selenium, that are moved as selenite ions or selenium in organic compounds (Zayed *et al.*, 1998; Broadley *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2010), sulfates (Terry *et al.*, 2000) and silicon (Zhao *et al.*, 2010).

Histological characterization. The analysis of variance showed significant differences for the number of xylem vessels, the increase in idioblasts, and density of druses in both iodine treatments. This was not the case for all other variables (Table 6). Our results differ from those at the morphological level performed by Pimienta-Barrios, *et al.*, (2003). Arnold and Mauseth (1999) mention stability in the morphogenetic mechanisms present in the xylem development. (Figure 1) Grouping and increasing the number of xylem vessels improves conductivity and security in transporting water so that when a vessel is obstructed, conduction through an adjacent vessel is established (Clarquist, 1984; Gibson, 1996; Hacke *et al.*, 2006). Also the presence of more narrow diameter vessels constitutes a response to a water deficit (Laskowski, 2000). Increase in idioblast area (Figure 2) relates to the increase in mucilage, and the amount and composition of mucilage varies with age and species (Trachtenberg & Fahn, 1981; Terrazas & Mauseth, 2002). It is interesting to point out that, in xylem development, the substrates for ascorbic acid formation are galacturonic and uronic acids, two compounds that form the mucilage. The density of druses we report surpasses the value reported by Tovar-Puente *et al.*, (2007). The function of calcium oxalate crystals has not yet been elucidated, but these crystals have been proposed to function in sequestration and maintenance of calcium levels within plants and as deterrents against herbivory (Jáuregui-Zuñiga & Moreno, 2004). Our data suggests that applying iodine highlights the adaptive capacity of plants when facing oxidative metabolic stimuli.

Conclusions

Both iodate and iodide application at 10^{-4} M through irrigation resulted in an increase in the amount of P, Mg, Fe, K, Cu, and Mn (62.5%, 57.5%, 38.12, 101.7, 18.6, 45.13%, respectively) as well as increasing ascorbic acid above 5%. Both fresh weight and dry weight were negatively affected by treatment in the last sample. Lastly, the xylem vessel number increased with iodide treatment and an increase in mucilage cell area and druse amount in both iodate and iodide applications were observed.

References

- AOAC. 2000. *Official Methods of analysis of AOAC International*. (17th Ed.) AOAC International, Gaithersburg, MD USA.
- Aguilar-Sánchez, L., M.T. Martínez-Damián, A.F. Barrientos-Priego, N. Aguilar-Gallegos and C. Gallegos-Vásquez. 2007. Potencial de Oscurecimiento Enzimático de Variedades de Nopalitos. *J.P.A.C.D.*, 165-184.
- Antonova, G.F., I.A. Chaplygina, T.N. Varaksina and V.V. Stasova .2005. Ascorbic Acid and Xylem Development in Trunks of the Siberian Larch Trees. *Russ. J. Plant Physiol.*, 52(1): 83-92.
- Arnold, D.H. and J.D. Mauseth. 1999. Effects of environmental factors on development of wood. *Am J. Bot.*, 86:367-371.
- Azmat, R. and N. Khan. 2011. Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*. *Pak. J. Bot.*, 43(1): 515-520.
- Benton-Jones J. 1998. *Plant Nutrition Manual*. (1st Ed) CRC Pres UK.
- Blanco-Macías, F., A. Lara-Herrera, R.D. Valdéz-Cepeda, J.O. Cortés-Bañuelos, M. Luna-Flores and M.A. Salas-Luévano. 2006. Interacciones nutrimentales y normas de la técnica de nutrimento compuesto en nopal (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2): 165-175.
- Blanco-Macías, F., R. Magallanes-Quintanar, R.E. Vázquez-Alvarado, S. de J. Méndez-Gallegos, E. Troyo-Diéguez, C. Gallegos-Vázquez and R.D. Valdez-Cepeda. 2011. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. yield depends on nutrients and nutrient ratios. *J.P.A.C.D.*, 13:1-9
- Blasco, B., J.J. Ríos, L.M. Cervilla, E. Sánchez-Rodríguez, J.M. Ruiz, L. Romero. 2008. Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. *Ann. Appl. Biol.*, 152: 289-299.
- Blasco, B., J.J. Ríos, R. Leyva, L.M. Cervilla, E. Sánchez-Rodríguez, M.M. Rubio-Wilhelmi, M.A. Rosales, J.M. Ruiz and L. Romero. 2011. Does Iodine Biofortification Affect Oxidative Metabolism in Lettuce Plants? *Bio.l Trace Elem. Res.*, 142:831-842.
- Borland, A. M., H. Griffiths, M.S.J. Broadmeadow, M.C. Fordham, and C. Maxwell. 1994. Carbon-isotope composition of biochemical fractions and the regulation of carbon balance in leaves of the C₃-crassulacean acid metabolism intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Plant Physiol.*, 106: 493-501.
- Borland, A.M. 1996. A model for the partitioning of photosynthetically fixed carbon during C₃-CAM the transition in *Sedum telephium*. *New Phytol.*, 134: 433-444.
- Bosquez, M.E. 1992. *Manual de prácticas de Fisiología poscosecha de frutas y hortalizas*. (1st Ed) Universidad Autónoma de México. Unidad Iztapalapa. México, D.F.
- Brady, N.C., and R.R. Weil. 1996. *The Nature and Properties of Soils*. (11th Ed). Prentice Hall. U.S. A.
- Broadley, M. R., P. J. White, R. J. Bryson, M. C. Meacham, H. C. Bowen, S. E. Johnson, M. J. Hawkesford, S. P. Mc Grath, F. J. Zhao, N. Breward, M. Harriman and M. Tucker. 2006. Biofortification of UK food crops with selenium. *Proc. Nutr. Soc.*, 65: 169-181.
- Carlquist, S. 1984. Vessel grouping in dicotyledon wood: significance and relationship to imperforate tracheary elements. *Aliso*, 10: 505-525.
- Dai, J L., Y.G Zhu, M. Zhang, and. Y. Z. Huang. 2004. Selecting Iodine-Enriched Vegetables and the residual Effect of Iodate Application to soil. *Bio.l Trace Elem. Res.*, 101: 265-276.
- Gibson, A. C. 1996. *Structure-function relations of warm desert plants*.(1st Ed) Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
- Feugang, J. M., P. Konarski, D. Zou, F. C. Stintzing and C. Zou. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci.*, 11:2574-2589.
- Flores-Hernández, A., I. Orona-Castillo, B. Murillo-Amador, R.D. Valdez-Cepeda and J.L. García-Hernández. 2004. Producción y calidad de nopalito en la región de la co-marca lagunera de México y su relación con el precio en el mercado nacional. *J.P.A.C.D.*, 6: 23.
- Flores-Valdés, C., J.M. de Luna, and P.P. Ramírez. 1995. Mercado Mundial del Nopalito. *ASERCA-UACH-CIESTAAM.*, 16-75.
- Fraps, G.S. and J.F. Fudge. 1939. Iodine in Texas soils. Bulletin 579. *Tex. Agric. Exp. Stn. Bull.*
- Hacke, U. G., J. S. Sperry, J.K. Wheeler, and L. Castro. 2006. Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiol.*, 26: 689-701.
- Hageman, R. H., E.S. Hodge, and J.S. McHargue. 1942. Effect of potassium iodide on the ascorbic acid and growth of tomato plants. *Plant Physiol.*, 17: 465-472.
- Hanscom, Z.III., and I.P. Ting.1978. Irrigation Magnifies CAM-Photosynthesis in *Opuntia basilaris* (Cactaceae).*Oecologia.*, 33:1-5
- Heaton J.W. and A.G. Marangoni. 1996. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent

- plant tissues. *Trends Food Sci. Technol.*, 7:8-15.
- Hong, C. L., H.X. Weng, Y.C. Qin, A.L. Yan and L. L. Xie. 2008. Transfer of iodine from soil to vegetables by applying exogenous iodine. *Agron. Sustain Dev.*, 28:575-583.
- Huang, Y-Z., Y-G. Zhu, Y. Hu, Y-X. Liu and J.L. Dai. 2003. Iodine in soil-plant systems and prevention of iodine deficiency disorders. *Ecol. Environ.*, 12: 28-231.
- Jauregui-Zuñiga, D. and A. Moreno. 2004. La biomineralización del oxalato de calcio en plantas: retos y potencial. *REB*, 23(1): 18-23.
- Küpper, F.C. L.J. Carpenter, G.B. McFiggans, C.J. Palmer, T.J. Waite, E.M. Boneberg, S. Woitsch, M. Weiller, R. Abela, D. Grolimund, P. Potin, A. Butler, G.W. Luther III, P.M. Kroneck, W. Meyer-Klaucke, and M.C. Feiters. 2008. Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. *Proc Natl Acad Sci.*, 105:6954-6958.
- Laskowski, E.L. 2000. Características anatómicas de la hoja y el tallo del semeruco (*Malpighia emarginata* DC) cultivado en dos localidades del estado Lara. *Bioagro*, 12(2):33-40.
- Loué, A. 1988. *Los microelementos en la agricultura*. (1st Ed) Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Magallanes-Quintanar, R., R. D. Valdéz-Cepeda, F. Blanco-Macías, M. Marquez-Madrid, R.R. Ruiz-Garduño, O. Pérez-Veyna, J.L. García-Hernández, B. Murillo-Amador, J.D. López-Martínez and de Celis. E. Martínez-Rubín. 2005. Compositional Nutrient diagnosis in Nopal (*Opuntia ficus-indica*). *J.P.A.C.D.*, 6:78-8.
- Mackowiak, C. L. and P.R. Grossl. 1999. Iodate and iodide effects on iodine uptake and partitioning in rice (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture. *Plant Soil.*, 212 (2): 133-141.
- Muramatsu, Y., S. Uchida, Y. Sumiya, Y. Ohmomo and H. Obata. 1989. Trace experiments on transfer of radioiodine in the soil-rice plant system. *Water Air Soil Poll.*, 45, 157-171.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29:379-414.
- Ozyigit, I.I. 2012. Influence of levothyroxine sodium on growth and uptake of some mineral elements in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Pak. J. Bot.*, 44: 101-104.
- Pimienta-Barrios, E. 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semiarid lands of México. *J. Arid Environ.*, 28: 1-11.
- Pimienta-Barrios, E., S. Loza-Cornejo and M.E. González del Castillo-Aranda. 2003. Caracterización anatómica y conductividad hidráulica teórica de los elementos de vaso de variedades silvestres y cultivadas de nopal tunero (*Opuntia*). *Acta Bot. Mex.*, 62: 21-30.
- Pimienta-Barrios, E., I. Castillo-Cruz, J. Zañudo-Hernández, L. Méndez-Morán and P.S. Nobel. 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Ann. Appl. Biol.*, 1-8.
- Ramírez-Tobías H.M., J.A. Reyes-Aguaro, J.M. Pinos-Rodríguez, and J.R. Aguirre-Rivera. 2010. Efecto de la especie y madurez sobre el contenido de nutrientes de cladodio de nopal. *Agrociencia*, 41: 619-626.
- Robles-Ozuna, L.E., F.M. Goycoolea, M.I. Silveira, and L.C. Montoya-B. 2007. Uso del Quitosán durante el escaldado de nopal (*Opuntia ficus indica*) y efecto sobre su calidad. *R.M.I.Q.*, 6(2): 193-201.
- Rodríguez-Félix, A. and M. Cantwell. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods Hum. Nutr.*, 38: 83-93.
- Rodríguez-Félix, A and M.A. Villegas-Ochoa. 1998. Postharvest handling of cactus (*Opuntia* spp.) Stems. In: Inglese P. and C. Sáenz Hernández (Eds.) *Cactusnet Newsletter* Universidad de Chile. Santiago, Chile, pp. 10-13.
- Rodríguez-Félix, A., M.Villegas-Ochoa, and J. Fortiz-Hernández. 2007. Efecto de Cubiertas Comestibles en la Calidad de Nopal Verdura (*Opuntia* sp) Durante el Almacenamiento Refrigerado. *J.P.A.C.D.*, 9: 22-42.
- Rodríguez-García, M.E., C. De Lira, E. Hernández-Becerra, M.A. Cornejo-Villegas, A.J. Palacios-Fonseca, I. Rojas-Molina, R. Reynoso, L.C. Quintero, A. Del Real, T.A. Zepeda and C. Muñoz-Torres. 2007. Physicochemical characterization of nopal (*Opuntia ficus indica*) and dry vacuum powders as a function of the maturation. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 62(3): 107-112.
- Rodríguez-Salazar, E., and A. Nava-Cedillo. 1999. *Nopal: Riqueza agroecológica de México*. (1st Ed) SEP. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológicas. México, D.F.
- Ruiz-Espinoza, F.G., J.F. Alvarado-Mendoza, B. Murillo-Amador, J.L. García-Hernández, R. Pargas-Lara, J de D. Duarte-Osuna, A. Beltrán-Morales and L. Fenech-Larios. 2008. Rendimiento y Crecimiento de Nopalitos de Cultivares de Nopal (*Opuntia ficus-indica*) bajo Diferentes Densidades de Plantación. *J.P.A.C.D.*, 22-35.
- Rusell, Ch. E., and P. Felker. 1987. The Prickly-pears (*Opuntia* spp., Cactaceae): A Source of Human

- and Animal Food in Semiarid Regions. *Econ. Bot.*, 41(3): 433-445.
- Sáenz, C., E. Sepúlveda and B. Matsuhiro. 2004. *Opuntia* spp. mucilage's: a functional component with perspectives. *J. Arid Environ.*, 57 (3): 275-290.
- SAGARPA. 2011. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Cierre de la producción agrícola por cultivo.
- Sass J.E .1958. *Botanical microtechnique*. (1st Ed) The Iowa State College Press.
- Shedbalkar, U.U., V. S. Adki, J.P. Jadhav and V.A. Bapa. 2010. *Opuntia* and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. *Tropical Plant Biol.*, 3:136-150.
- Sher, Z. Z. U D.Khan and F. Hussain. 2011 Ethnobotanical studies of some plants of Chagharzai Valley district Buner, Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43(3): 1445-1452.
- Steiner, A. A.1961. A universal method for preparing nutrient solutions of certain desired composition. *Plant Soil*, 15:134-154.
- Stintzing, F.C. and R. Carle. 2005. Cactus steams (*Opuntia* spp.) a review on their chemistry technology and uses. *Mol. Nut. Food Res.*, 49(2): 175-194.
- Terrazas S, T. and J.D. Mauseth. 2002. Shoot anatomy and morphology. In Nobel, S. Park. (Ed) *Cacti biology and uses*. University of California Press, Los Angeles California, U.S. A. pp 23-40.
- Terry, N., Zayed, A. M., De Souza, M. P and A. S Tarun. 2000. Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 51: 401-432.
- Tovar, A., M. Pando-Moreno and C. Garza. 2005. Evaluation of Three Varieties of *Opuntia ficus-Indica* (L.) Miller as Hosts of the Cochineal Insect *Dactylopius Coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) in a Semiarid Area of Northeastern Mexico. *Econ Bot.*, 59(1):3-7.
- Tovar-Puente, A., M. Pando-Moreno, H. Gonzalez-Rodríguez, L. Scott-Morales and S. de J. Méndez-Gallegos. 2007. Density of Calcium Oxalate Crystals in 15 Prickly Pear Cultivated Species. *J.P.A.C.D.*, 9: 91-98.
- Trachtenberg, S. and A. Fahn. 1981. The mucilage cells of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill development, ultrastructure and mucilage secretion. *Bot. Gaz.*, 142(2): 206-213.
- Umaly, R. C. and L. W. Poel. 1971. Effects of iodine in various formulations in growth of barley and pea plants in nutrient solution culture. *Ann. Bot.*, 35: 127-131.
- Valdéz-Cepeda, R.D., F. Blanco-Macías, R.E. Vázquez-Alvarado and R. Magallanes-Quintanar. 2006. Producción y usos del nopal verdura. *RESPYN.*, 14.
- Varnero, M. T., J. M Uribe and X. López. 1992. Factibilidad de una biodigestión anaeróbica con mezclas de guano caprino y cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*. L. Mill). *Terra Aridae* , 11: 166 - 172.
- Vázquez-Alvarado, R.E., E. Salazar-Sosa, J.L. García-Hernández, E. Olivares-Saenz, C. Vázquez-Vázquez, J.D. López-Martínez and I. Orona-Castillo. 2009. Producción de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) en hidroponía empleando agua con alto contenido de sales *J.P.A.C.D.*, 11: 13-17.
- Wang, N., H. Zhang and P.S Nobel. 1997. Phloem-xylem water flow in developing cladodes of *Opuntia ficus-indica* during sink-to-source transition. *J. Exp. Bot.*, 48: 675-682.
- Weng, H. J., A.L Yan, Ch. L. Hong, L.L Xie, Y.Ch. Qin and Ch. Q. Cheng. 2008a. Uptake of Different Species of Iodine by Water Spinach and Its Effect to Growth. *Biol. Trace Elem. Res.*, 124: 184-194.
- Weng, H. J., Hong, Ch.L., Yan. A:L: Pan, L.H., Qin, Y.Ch., Bao, L.T. and L.L. Xie. 2008b. Mechanism of Iodine Uptake by Cabbage: Effects of Iodine Species and Where It is Stored. *Biol. Trace Elem Res.*, 125: 59-71.
- Whitehead, D.C. 1975. Uptake by perennial ryegrass of iodide, elemental iodine and iodate added to soil as influenced by various amendments. *J. Sci. Food Agric.*, 24: 361-367.
- Whitaker, J. R. 1994. *Principles of enzymology for the food sciences*.(2^{en} Ed) Marcel Dekker, New York, U.S.A.
- Whitaker, J. R. and C. Y. Lee. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning and overview, pp. 1-7. In: Lee, C. Y. and J. R. Whitaker (Eds.) *Enzymatic browning and its prevention*.ACS Symposium Series 600; American Chemical Society. Washington, D. C., U.S.A.
- Yamaguchi, N., M. Nakano, R. Takamatsu and H. Tanida. 2010. Inorganic iodine incorporation into soil organic matter: evidence from iodine K-edge X-ray absorption near-edge structure. *J. Environ. Radioact.*, 101:451-457.
- Zhang, L., Z. N. Wang, Y. Xia, G. Y Kai, W. Chen, and K. X. Tang. 2007. Metabolic Engineering of Plant L-Ascorbic Acid Biosynthesis: Recent Trends and Applications. *Cr. Rev. Biotechn.*, 27:173-182.
- Zayed, A., C.M. Lytle, and N. Terry. 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, 206: 284-292.
- Zhao, X.Q., N. Mitani, R.F. Yamaji, and J.F. Ma Shen. 2010. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiol.*, 153: 1871-1877.

Table 1. Effect of iodate and iodide on physiological parameters of *Opuntia ficus indica* var Copena V1.

	Sample 1			Sample 2			Sample 3		
	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI
Cladode sprouts	3.60	3.60	3.80	4.20	4.40	4.00	4.40	4.20	3.80
Yield (kg,m ²)	7.70	7.61	9.09	7.47	7.46	8.46	7.47	7.33	8.10
Length (cm)	18.24	19.20	17.80	21.02	20.60	20.02	22.96	19.10	19.7
Width (cm)	12.70	13.20	12.02	11.56	11.48	11.27	10.70	9.54	9.74
Thickness (mm)	2.07	1.93	1.83	1.14	1.18	1.11	1.06	1.00	1.02
Fresh weight (g)	316.38	333.48	275.98	177.36	163.12	151.46	173.02 a	106.06b	115.88b
Dry weight (g)	7.04	7.16	7.46	7.52	7.78	7.16	7.88 a	5.09 b	5.38 b

Measurements with same letters are not statistically different (Tukey, 0.05);* significative;

Table 2. Effect of iodate and iodide on color parameters of *O. ficus-indica* var Copena V1 at harvest time.

	Sample 1			Sample 2			Sample 3		
	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI
L	45.62	44.68	43.71	45.04	45.11	43.81	44.15	44.44	44.29
-a	15.64	15.86	15.46	15.44	15.31	15.09	14.89	15.62	15.47
B	23.06	23.62	22.45	23.65	23.08	23.29	27.78	21.87	22.02

n= 5

Table 3. Effect of iodate and iodide on postharvest parameters of *O. ficus-indica* var Copena V1.

	Sample 1			Sample 2			Sample 3		
	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI
pH	4.28 b	4.43 a	4.33 ab	4.35	4.46	4.38	4.49	4.47	4.35
°Brix	1.62	1.66	1.70	1.68	1.68	1.66	1.72	1.64	1.68
Firmness(kg)	2.39	2.77	2.44	2.33	2.52	2.47	2.40	2.52	2.49

Measurements with same letters are not statistically different (Tukey, 0.05);* significative ; n= 5

Table 4. Bromatological parameters and amount of vitamin C in *Opuntia ficus-indica* var. Copena V1 cladodes under KIO₃ and KI treatment.

	Sample 1			Sample 2			Sample 3		
	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI
%Organic Material	63.16	68.93	66.87	71.60	70.30	69.10	68.20	81.00	77.70
%Ether extract	2.40	2.38	1.94	1.61	1.40	1.50	2.10	2.87	2.04
%Raw Fiber	11.88	11.56	11.36	11.59	10.62	10.69	12.87	15.40	11.61
% Nitrogen	1.79 b	2.15 a	1.94 ab	2.14 a	1.72 b	2.03 ab	1.88	1.97	2.21
%Ashes	28.58	25.00	27.20	25.20	22.61	20.91	23.9	20.68	24.12
Vitamin C (mg/100g)	19.70b	35.90a	35.90a	17.50b	37.60a	37.60a	20.80b	37.40a	39.10a

Measurements with same letters are not statistically different (Tukey, 0.05);* significative; n= 5.

Table 5. Mineral content in *Opuntia ficus-indica* var. Copena V1 samples after iodine applications through fertilizing irrigation.

Minerals	Sample 1			Sample 2			Sample 3		
	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI	Control	KIO ₃	KI
S(%)	0.30	0.19	0.16	0.14	0.17	0.30	0.16	0.16	0.12
P(%)	0.16 b	0.26 a	0.20 b	0.25	0.15	0.19	0.26	0.27	0.12
Zn(ppm)	47.00	39.40	38.20	28.80	34.20	38.60	37.80	41.80	34.00
Cu(ppm)	0.86 b	0.84 b	1.02 a	1.10	1.10	1.20	1.00	1.54	0.96
Fe(ppm)	36.20 b	50.00 a	45.20 ab	48.40	54.60	44.00	38.80	37.20	29.80
Mn(ppm)	22.60 b	30.60 b	32.80 a	17.8	14.6	13.8	17.60	13.60	13.80
Mg(ppm)	890 b	1402 a	760 b	862 b	1760 a	630 b	728	592	468
K(ppm)	22.80	24.20	19.60	23.20 b	46.8 a	17.00 b	27.80 a	25.80 a	19.60 b
Ca(ppm)	1456	1208	908	1616	1142	816	2270	1784	1370

Measurements with same letters are not statistically different (Tukey, 0.05);* significative; n= 5

Table 6. Histological variables at four weeks post iodine treatment on *Opuntia ficus-indica* var. Copena V1.

Morphological character	Control	KIO ₃	KI
Density of stomata (mm ²)	10	10	10
Length of stomata (μm)	29.18	37.34	36.4
# Druses.mm ⁻²	40.60 b	68.00a	72.60a
# vessels/vascular bundle	10.00 b	17.60 a	11.40 b
Area of vessels (μm ²)	306.92	466.45	230.60
Vessel wall thickness (μm)	2.40	2.81	2.54
Idioblasts area (μm ²)	946.35 b	1222.32 a	1512.76 a

Measurements with same letters are not statistically different(Tukey, 0.05);* significative;n=5

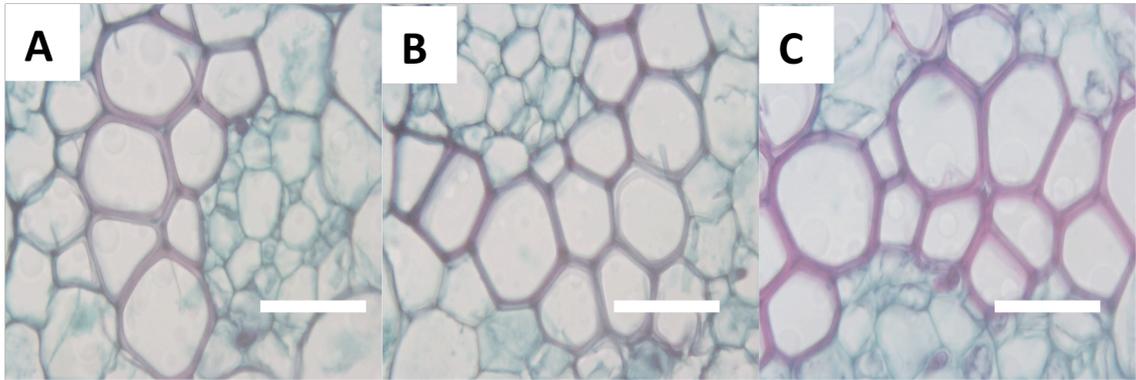


Figure 1. Xylem vessels in cladodes of *Opuntia ficus- indica* under treatments A= Control, B= Iodate, C=Iodide with objective of 40X. Bar is equal to 100 μ m.

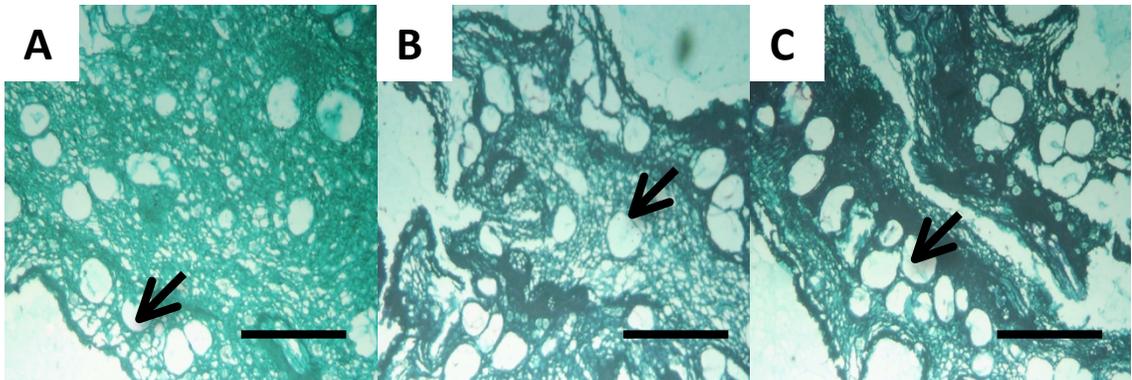


Figure 2. Cross cuts in *Opuntia ficus- indica* taken with a 10x objective, showing the mucilaginous matrix (arrow) in the different treatments: A= Control, B= Iodate, C=Iodide. Bar represents 1000 μ m.

LITERATURA CITADA

Abate N, Chandalia M. 2002. The impact of ethnicity on type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Complications* 17: 39-58.

Abdelmoaty MA, Ibrahim M, Ahmed NS, Abdelaziz M. 2010. Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 25(2) 188-192.

Abraján VMA. 2008. Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*). Y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.

Aguilar BG. 1991. Experiencias en la producción de nopal (*Opuntia* spp.) en el área de Chapingo, México. *Sociedad Mexicana de Fitogenética*. Germen 10:8-9.

Aguilar-Sánchez L, Martínez-Damián MA, Barrientos-Priego AF, Aguilar-Gallegos N, Gallegos Vásquez C. 2007. Potencial de oscurecimiento enzimático de variedades de nopalitos. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 165-184.

Alimi H, Hfaiedh N, Bouoni Z, Hfaiedh M, Sakly M, Zourgui L, Rhouma KB. 2010. Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis*. *Phytomedicine* 17(14):1120-1126.

Alvídrez-Morales A, González-Martínez BE, Jiménez-Salas Z. 2002. Tendencias en

la Producción de Alimentos: Alimentos Funcionales. Revista Salud Pública y Nutrición 3(3) [Online]. Disponible en <http://www.uanl.mx/publicaciones/respyn/respyn/iii/3/ensayos/alimentos-funcionales.html> [Revisado el 2 de agosto de 2009]

Antonova GF, Chaplygina IA, Varaksina TN, Stasova VV. 2005. Ascorbic Acid and Xylem Development in Trunks of the Siberian Larch Trees. Russian Journal of Plant Physiology 52(1): 83-92.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis 17th Edition. Washington, D.C. Association of Analytical Chemists International.

Apostolidis E, Kwon YII, Shetty K. 2007. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. Innovative Food Science & Emerging Technologies 8: 46–54.

Arnold, DH, J.D. Mauseth. 1999. Effects of environmental factors on development of wood. American Journal of Botany 86:367-371.

Arts IC, Hollman PC. 2003. Polyphenols and disease risk in studies epidemiological. The American Journal of Clinical Nutrition 81: 317S 325S.

Barceló, CJ., Nicolás, RG., Sabater, GB, Sánchez RT. 2003. Fisiología Vegetal. Ediciones Pirámide. Madrid. España. 566 pp.

Batista AMV, Mustafa AF, Santos GRA, de Carvalho FFR, Dubeux JCB, Lira MA, Jr Barbosa SBP. 2003. Chemical Composition and Ruminal Dry Matter and Crude Protein Degradability of Spineless Cactus. Journal Agronomy Crop Science 189: 123-126.

Bauer M, Hamm A, Pankratz MJ. 2004. Linking nutrition to genomics. Biological

Chemistry 385: 593-596.

Behzadipour M. 1999. Lipide und Proteine bei der homeoviskosen thermotropen Anpassung des Tonoplasten von *Kalanchoe daigremontiana* und ihre Bedeutung für den Crassulaceen Säurestoffwechsel. Dr. rer. nat. Thesis, Darmstadt: Fachbereich Biologie, Thechnical University.

Benavides-Mendoza A, Ramírez H, Robledo-Torres V, Fuentes-Lara L.O. 2009. Antioxidantes en las plantas: algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. En: A. Benavides-Mendoza (Compilador). Temas Modernos de Nutrición Vegetal. A.C., pp. 13-26. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México.

Bensadón S, Hervert-Hernández D, Sáyago-Ayerdi SG, Goñi I. 2010. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods Human Nutrition* 65: 210-216.

Benton-Jones J. 1998 . *Plant nutrition manual*, CRC Press UK.

Betancourt-Domínguez MA, Hernández-Pérez T, García-Saucedo P, Cruz-Hernández A, Paredes-López O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant Foods for Human Nutrition* 61(3): 115-9

Berry WL, Nobel PS. 1985. Influence of soil and mineral stresses on cacti. *Journal Plant Nutrition* 8: 679–696.

Blanco-Macías F, Lara-Herrera A, Valdez-Cepeda RD, Cortés-Bañuelos JO, Luna-Flores M, Salas-Luevano MA. 2006. Interacciones Nutrimientales y Normas de la Técnica de Nutrimiento Compuesto en Nopal (*Opuntia ficus indica* L.Miller). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12(2): 165-175.

Blanco-Macías F, Valdez-Cepeda R, Vázquez-Alvarado RE, Almaguer-Sierra P. 2008. Establecimiento y manejo del nopalito para verdura. En: Vázquez-Alvarado RE, Blanco-Macías F, Valdéz-Cepeda R. (eds). Memorias del VII Simposium Nacional: Taller de Producción y Aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México. Facultad de Agronomía Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, Nuevo León, México. Octubre 24-25.

Blanco-Macías F, Magallanes-Quintanar R., Vázquez-Alvarado R.E, Méndez-Gallegos S de J, Troyo-Diéguez E, Gallegos-Vázquez C, Valdez-Cepeda RD. 2011. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. yield depends on nutrients and nutrient ratios. Journal of the Professional Association for Cactus Development 13:1-9

Blanco NF, Valdez CRD, Ruiz GRR, Legaspi GA. 1999. Producción de nopalito bajo microtúnel en Zacatecas. VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre conocimiento y aprovechamiento de el nopal, San Luis Potosí, S.L.P. Memorias

Blasco B, Ríos JJ., Cervilla LM., Sánchez-Rodríguez E, Ruiz JM, Romero L. 2008. Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. Annals of Applied Biology 152:289–299

Blasco B, Ríos JJ, Cervilla LM, Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Rosales, MA, Ruiz JM, Romero L. 2010. Photorespiration Process and Nitrogen Metabolism in Lettuce Plants (*Lactuca sativa* L.): Induced Changes in Response to Iodine Biofortification. Journal Plant Growth Regulation 29: 477-486.

Blasco B, Ríos JJ, Leyva R, Cervilla LM. Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi MM, Rosales MA, Ruiz JM. Romero L. 2011. Does Iodine Biofortification Affect Oxidative Metabolism in Lettuce Plants. Biological Trace Element Research 142:831-842.

Borland AM, Griffiths H, Broadmeadow MSJ, Fordham MC, Maxwell C. 1994. Carbon-isotope composition of biochemical fractions and the regulation of carbon balance in leaves of the C₃-crassulacean acid metabolism intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Plant Physiology* 106: 493-501.

Borland AM. 1996. A model for the partitioning of photosynthetically fixed carbon during C₃-CAM the transition in *Sedum telephium*. *New Phytology* 134: 433-444.

Bosquez ME. 1992. Manual de prácticas de Fisiología poscosecha de frutas y hortalizas. 1st Ed. Universidad Autónoma de México. Unidad Iztapalapa. México, D.F.

Brady NC, Weil RR. 1996. *The Nature and Properties of Soils*. 11th edn. Prentice Hall, Upper Saddle River. N.J. pp. 316-332.

Bravo HH. 1978. *Las Cactáceas de México*. 2da. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 1. México, D.F, pp. 743.

Burret F, Lebreton Ph, Voirin B. 1982. Les Aglycones Flavoniques de Cactees: Distribution, Signification. *Journal Natural Products* 45(6): 687-693.

Butt MS., Ahmad A. Sharif MK. 2007. Influence of pectin and guar gum composite fluor on plasma biochemical profile of streptozotocin-induced diabetic male albino rats. *International Journal of Food Properties* 10: 345–361.

Butterweck V, Semlin L, Feistel B. Pischel I. Bauer K, Verspohl EJ. 2011. Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phytotherapy Research* 25(3):370-375.

Cai W, Gu X, Tang J. 2008. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydrate Polymers* 71:403–410.

Cai W, Gu X, Tang J. 2010. Extraction, purification, and characterization of the Flavonoids from from *Opuntia milpa alta* Skin. Czech Journal Food Science 2: 108-116.

Camacho OC, Peña-Valdivia CB, Sánchez-Urdaneta AB. 2007. Efecto del potencial hídrico del suelo en el crecimiento y contenido de polisacáridos estructurales de nopalito (*Opuntia* spp). Revista de la Facultad de Agronomía. LUZ 24(1): 254-259.

Camacho-Saavedra LA, Soberón-Requena M. 2001. Eficacia de la glibenclamida con metformina en el control de la glicemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna 14: 148-52.

Camarillo B, Grajeda JE. 1979. Estudio comparativo de cinco selecciones de nopal para consumo humano. Proc Trop Reg Amer Soc Hort Science 23:236-238.

Cantwell M. 1992. Post-harvest management of fruits and vegetable stems. In: Agroecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant Production and Protection Paper 120-136.

Cantwell M. 1999. Manejo postcosecha de tunas y nopalitos. pp. 126-143. In: Barbera G., Inglese P. y Pimienta E., eds. Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, Roma. pp.132.

Cárdenas A, Valderrama JR, Hernández G, Goycoolea FM. 1999. Biopolímeros de alto valor de plantas nativas del desierto: riqueza sustentable desaprovechada. En Memorias del Simposio Internacional sobre Utilización y Aprovechamiento de la Flora Silvestre de Zonas Áridas. La Serena, Chile.

Cárdenas A, Goycoolea FM, Rinaudo M. 2007. On the gelling behaviour of nopal (*Opuntia ficus-indica*) low methoxyl pectin. Carbohydrate Polymer 73(2): 212-222.

Cardoso LC, Martins DCL, Figueretdo MDL, Rosenthal D, Vaisman D, Violante AHD, Carvalho DP. 2001 Ca_2 /Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-Dependent H_2O_2 Generation Is Inhibited by Iodide in Human Thyroids. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86(9): 4339–4343

Casas A, Barbera G. 2002. Mesoamerican domestication and difusion. In *Cacti Biology and uses*. Nobel PS. University of California. USA.

Claessens AS, Wessels, AB. 1997. The fertilizar requirements of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) under summer rain fall conditions in South Africa. In Inglese P, Brutsch MO. *Proceedings of the Third International Congress on Cactus Pear and Cochenilla*. Acta Horticulturae. 438: 83-85

Contreras-Ezquivel, JC. 2003. *Purificación y caracterización de poligalacturoranos de Aspergillus kawachii*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata. Argentina.

Contreras-Padilla M, Gutiérrez-Cortez E, Valderrama-Bravo MC, Rojas-Molina I, Espinosa-Arbeláez DG, Suárez-Vargas R, Rodríguez-García ME. 2011. Effects of Drying Process on the Physicochemical Properties of Nopal Cladodes at Different Maturity Stages. *Plant Foods Human Nutrition* 67(1): 44-49.

Corral-Aguayo RD, Yahia EM, Carrillo-López A, González-Aguilar G. 2008. Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *Journal Agricultural Food Chemistry* 56: 10498-10504.

Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S, 2005. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research* 51:117-123.

Dai JL, Zhu YG, Zhang M, Huang YZ. 2004. Selecting Iodine-Enriched Vegetables and the residual Effect of Iodate Application to soil. *Biological Trace Element. Research* 101: 265-276.

D'Archivo M, Filesi C, Vari R, Scazzocchio B, Masella R. 2010. Bioavailability of the Polyphenoles: Status and Controversies. *International Journal of Molecular Sciences* 11: 1321-1342.

Del Castillo RF. 1999. Producción de nopalito bajo microtúnel en Zacatecas. VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre conocimiento y aprovechamiento de el nopal, San Luis Potosí, S.L.P. Memorias. Septiembre, 1999.

Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. 2011. Dietary fibre in food: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49 (3): 255-266.

Diakogiannaki E, Gribble FM, Reimann F. 2012. Nutrient detection by incretin hormone secreting cells. *Physiology & Behavior* 106: 387-393.

Dok-Go H, Lee KH, Kim HJ, Lee EH, Lee J, Song YS, Lee YH, Jin C, Lee YS, Cho J. 2003 Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Research*. 965(1-2): 130-136.

Dzubak P, Hajduch M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, Markova L, Urban M, Sarek J. 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their

therapeutics implications. *Natural Product Reports* 23:394-411.

FAO-WHO.1993. Worldwide Codex Estandar for nopal. Codex Stan 185-1993. CODEX Alimentarius. Volume Five B tropicals fresh fruits and vegetables. Food and Agricultura Organization of United Nations. World Health Organization Rome. 9-23.

Feugang JM, Konarski P, Zou D, Stintzing, FC, Zou C . 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*. 11:2574-2589.

Flores, V.C.A. 1995. Nopalitos: Production, Processing and Marketing. pp. 92–99. *In*: Barbera G., Paolo I. and E. Pimienta, B. (Eds.). *Agro–ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. FAO–CactusNet. Rome, Italy.

Flores-Mendiola GR, Rodas-Gaitán, H. Rodríguez-Fuentes, H, Vidales-Contreras, JA, Sánchez-Alejo, E, Aranda-Ruiz, J. 2012. Producción de biomasa seca y parámetros sensoriales de nopal verdura cultivado en forma hidropónica. *Revista Salud Pública y Nutrición* 4: 175-190.

Flores RJ, Aguilar RF. 2006. Diabetes mellitus y sus complicaciones. La epidemiología, las manifestaciones clínicas de la diabetes tipo 1 y tipo 2. Diabetes gestacional. Parte 1. *Plasticidad y Restauración Neurológica* 5(2): 139-151.

Flores VCA, Corrales GJ. 2003. Nopalitos y tunas. Producción, poscosecha comercialización e industrialización. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo Estado de México. pp. 225.

Flores-Valdéz AC. 2001. Producción, industrialización y comercialización de nopalitos. CIESTAAM. Universidad Autónoma de Chapingo. México. pp. 20-28.

Franceschi BR, Nakata PA. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Annual Review of Plant Biology* 56: 41-71

Franco-Salazar VA, Véliz JA. 2008. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento, acidez titulable y concentración de clorofila en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Saber Universidad de Oriente*. 20:12-17.

Fraps, G.S. and J.F. Fudge. 1939. Iodine in Texas soils. *Bulletin* 579. Texas Agricultural Experiment Station Bulletin.

Frati-Munari AC, Gordillo BE, Altamirano P, Ariza CR. 1998. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care* 11(1):63-66.

Frati-Munari AC, Del Valle-Martinez LM, Ariza-Andraca CR, Islas-Andrade S, Chávez-Negrete A. 1989a. Hypoglycemic action of different doses of nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) in patients with type II diabetes mellitus. *Archivos de Investigación Médica* 20(2):197-201.

Frati-Munari AC, Rios Gil U, Ariza-Andraca CR, Islas Andrade S, Lopez Ledesma R. 1989 b. Duration of the hypoglycemic action of *Opuntia streptacantha* Lem.]. *Archivos de Investigación Médica* 20(4): 297-300.

Galati MG, Mondello MR, Monforte MT, Galluzzo M, Miceli N, Tripodo MM. 2003. Effect of *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. Cladodes in the Wound-Healing Process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 5: 1-5

Gallegos-Vázquez C, Valdés-Cepeda RD, Barrón-Macías M, Barrientos-Priego AF, Andrés-Agustín J. Nieto-Ángel R. 2006. Caracterización morfológica de 40 cultivares de nopal de uso como hortaliza del banco de germoplasma del CRUCEN-UACH. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12 (1): 41-49.

García HE, Peña VC. 1995. La Pared Celular. Componente Fundamental de las Células Vegetales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. México 75pp.

Gebresamuel N, Gebre-Mariam T. 2012 Comparative Physico-Chemical Characterization of the mucialges of two Cactus Pears (*Opuntia* spp.) Obtained from Mekelle, Northern Ethiopia. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 3:79-86.

Gerhardt KE, Lampi MA, Greenberg BM. 2008. The Effects of Far-red Light on Plant Growth and Flavonoid Accumulation in *Brassica napus* in the presence of Ultraviolet B Radiation. *Photochemistry and Photobiology* 84: 1445-1454.

Gibson CA, Nobel PS. 1986. The Cactus Primer. Cambridge. Harvard University Press. Cambridge Massachusetts 286p.

Ginestra G, Parker ML, Bennett RN, Robertson J, Mandalari G, Narbad A, LoCurto RB, Bisignano G, Faulds C, Waldron KW. 2007. Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10323–10330.

Goldstein G, Nobel PS. 1991. Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 97: 54-61.

George R.S., Corrales G.J., Peña V.C. and Rubio H.D. 2004. Cambios en color, sabor y contenido de mucílago en nopalito (*Opuntia ficus-indica*) escaldado con tequezquite. In: C. Flores V. (Ed.). “Memoria del X Congreso Nacional, VIII Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal y otras Cactáceas de Valor Económico y del Fifth International Congress on Cactus Pear and Cochineal”. Universidad Autónoma Chapingo, Fondo de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura and International Society for Horticultural Science. Chapingo, Estado de México.

Goycoolea FM, Cárdenas A. 2003. Pectins from *Opuntia* spp.: a short review. *Journal of the Association for Cactus Development* 5:17-29.

Güclü-Ustündag O, Mazza G. 2007. Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47:231-258.

Guevara JC, Yahia EM, Brito de la Fuente E, Biserka SP. 2003. Effects of elevated concentrations of CO₂ in modified atmosphere packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia* spp.) *Postharvest Biology and Thechnology* 29:167-176.

Guevara-Figueroa T, Jiménez-Islas H, Reyes-Escogido MA, Mortensen AG, Laursen BB, Lin LW, De León-Rodríguez A, Fomsgaard IS, Barba de la Rosa A. 2010. Proximate composition, phenolic acid, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525-532.

Hageman RH, Hodge ES, McHargue JS. 1942. Effect of potassium iodide on the ascorbic acid and growth of tomato plants. *Plant Physiology* 17: 465-472.

Hanscom ZIII, Ting IP 1978. Irrigation Magnifies CAM-Photosynthesis in *Opuntia basilaris* (Cactaceae). *Oecologia* 33:1-5.

Heaton JW, Marangoni AG 1996. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends Food Science Technology* 7:8-15.

Hahm SW, Park J, Son YS. 2010. *Opuntia humifusa* Partitioned Extracts Inhibit the Growth of U87MG Human Glioblastoma Cells. *Plant Foods for Human Nutrition* 65:247–252

Hernández-Urbiola MI, Contreras- Padilla M, Pérez-Torrero E, Hernández-Quevedo

G, Rojas-Molina JI, Cortes ME, Rodríguez-García ME. 2010. Study of Nutritional Composition of Nopal (*Opuntia ficus indica* cv Redonda) at different Maturity Stages. The Open Nutrition Journal 4:11-16.

Hernández-Urbiola MI, Pérez-Torrero E, Rodríguez-García ME. 2011. Chemical Analysis of Nutritional Content of Prickly Pads (*Opuntia ficus indica*) at Varied Ages in an Organic Harvest. International Journal of Environmental and Research Public Health 8: 1287-1295.

Holst JJ, Vilsbøll T, Deacon CF. 2009. The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus. Molecular and Cellular Endocrinology 297: 127-136.

Huang X, Li Q, Li H, Guo L. 2009 Neuroprotective and antioxidative effect of cactus polysaccharides in vivo and in vitro. Cellular and Molecular Neurobiology. 29(8): 1211-21.

Huerta GA, Montes de la RMI. 2003. Contenido de mucílago de 10 variantes de nopalito (*Opuntia* spp) y su efecto en las propiedades físicas y texturales. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. p. 82.

Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.

Jaúregui-Zuñiga D, Moreno A. 2004. La biomineralización del oxalato de calcio en plantas: retos y potencial. Revista de Educación Bioquímica 23(1) : 18-23.

Jeon YE, Yin XF, Choi DB, Kang IJ. 2011 Inhibitory activity of aromadendrin from

prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) root on aldosa reductasa and the Formation of advanced glycation end products. *Food Science Biotechnology* 20(5): 1283-1288.

Johnston K, Sharp P, Clifford M, Morgan L. 2005. Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Letters* 579: 1653–1657.

Kaput J. 2006. An introduction and overview of nutritional genomics: Application to Type 2 Diabetes and International Nutrigenomics. In Kaput J and Rodríguez LR. *Nutritional Genomics Discovering the path to Personalized Nutrition*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Karley JA, White PJ. 2009. Moving cationic minerals to edible tissues: potassium, magnesium, calcium. *Current Opinion Plant Biology* 12: 291-298.

Kendall CWC, Esfahani A, Jenkins DJA. 2010. The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloids* 24: 42-48.

Kendall CW, Augustin LS, Eman A, Josse AR, Saxena N, Jenkins DJ. 2006. The glycemic index: Methodology and use. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series: Clinical & Performance Program*. 11:43-56.

Kim JS, Kwon CS, Son KH. 2000. Inhibition of α -glucosidase and amylase by Luteolin, a flavonoid. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 64: 2458–2461.

Kim Y, Suh YK, Choi H. 2004. BMI and metabolic disorders in South Korean adults: 1998 Korea National Health and Nutrition survey. *Obesity Research* 12: 445-453.

Kinther PK, van Buren JP. 1982. Carbohydrate interface and its correction in pectin

analysis using them-hydroxydiphenyl method. *Journal of Food Science* 47: 756-759.

Kluge M, Schomburg M. 1996. The tonoplast as a target off temperature effects in Crassulacean acid metabolismo. In Winter K, Smith JAC, eds. Crassulacean acid metabolim. Biochemistry, Ecophysilogy and Evolution. Ecological Studies. Vol 114. Berlin, Heidelberg, New York. Spring-Verlag. 72-77.

Konica Minolta. 2003. Comunicación precisa de los colores. Konica Minolta sensing Engineering. 45p. En: <http://www.konicaminolta.eu/pcc/es/index.html>. [Revisado el 15 de agosto de 2009].

Küpper FC, Carpenter LJ, McFiggans GB, Palmer CJ, Waite TJ, Boneberg EM, Woitsch S, Weiller M, Abela R, Grolimund D, Potin P, Butler A, Luther III GW, Kroneck PM, Meyer-Klaucke W, Feiters MC. 2008. Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. *Proceeding of the National Academy of Scince* 105:6954-6958.

Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang, YS. 2002. Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var Saboten. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50: 6490-6496.

Lee YJ, Suh KS, Choi MC, Chon S, Oh S, Woo JT, Kim SW, Kim JW, Kim YS. 2010. Kaempferol protects HIT-T15 pancreatic beta cell from 2-deoxy-D-ribose-induced oxidative damage. *Phytotherapy Research* 24: 419-423.

Lewis RD, Ramirez MV, Miller ND, Vallabhaneni P, Ray WK, Helm RF, Winkel BSJ, Muday GK. 2011. Auxin and Ethylene Induce Flavonol Accumulation through Distinct Transcriptional Networks1[C][W][OA]. *Plant Physiology* 156: 144-164.

Lesser S. Cermak R. Wolfram S. 2004. Bioavailability of quercetin in pigs is

influenced by the dietary fat content. *Journal of Nutrition* 134: 1508–1511.

Liang Z, Zhang L, Li L, Liu J, Li H, Zhang L, Chen L, Cheng K, Zheng M, Wen X, Zhang P, Hao J, Gong Y, Zhang X, Zhu X, Chen J, Liu H, Jiang H, Luo C, Sun H. 2011. Identification of pentacyclic triterpenes derivatives as potent inhibitors against glycogen phosphorylase based on 3D-QSAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46: 2011-2021.

Lo Piparo E, Scheib H, Frei N, Williamson G, Grigorov M, Chou CJ. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: Structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *Journal of Medicinal Chemistry* 51: 3555–3561.

López MG, Urías-Silvas J.E. 2007. Prebiotic Effect of Fructans from Agave, Dasylirion and Nopal. *Acta Horticulturae*. 744:397-404

López-Palacios C, Peña-Valdivia CB, Reyes-Agüero JA, Rodríguez-Hernández AI. 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.) *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(6): 1015-1026.

Loué A. 1988. Los microelementos en la agricultura, Versión española de Alonso Domínguez Vivancos., Ediciones Mundi-Prensa pp 217-218.

Luo C, Zhang W, Sheng C, Zheng C, Yao J, Miao Z. 2010. Chemical composition and antidiabetic activity of *Opuntia Milpa Alta* extracts. *Chemistry & Biodiversity* 7(12): 2869-2879.

Lüttge U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93: 629-652.

Mackowiak CL, Grossl PR. 1999. Iodate and iodide effects on iodine uptake and partitioning in rice (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture. *Plant Soil* 212 (2): 135-

143.

McGarvie, D.; Parolis, H. . 1981 Methylation analysis of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*. Carbohydrate Research 88 (2):. 305-314.

Magallanes-Quintanar R, Valdez-Cepeda RD, Blanco-Macías F, Márquez-Madrid M, Ruiz_Garduño RR, Pérez-Veyna O, García-Hernández JL, Murrillo-Amador B, López-Martínez JD, Martínez-Rubin de Celis E. 2004. Compositional Nutrient Diagnosis in Nopal (*Opuntia ficus indica*). Journal of the Professional Association for Cactus Development.6: 78-89.

Maimone TJ, Bran P. 2007. Modern synthetic efforts toward biologically active terpenes. Nature Chemical Biology. 3: 396-407.

Majdoub H, Picton L, Cerf LeD, Roudseli S. 2010. Water retention capacity Polysaccharides from Prickly Pear Nopals of *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia littoralis* Physical-Chemical Approach Journal of Polymers and the Environment 18:451-458

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition 79: 727–747.

McGuire RG. 1992. Reporting of objective color measurement. HortScience 27(12): 1254-1255.

McKee T, McKee JR.2009. Bioqímica. Las bases moleculares de la vida. 4ta Ed. McGraw Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México, D.F. p. 974.

Mohnnen D. 2007. Pectin structure and biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology 11(3): 266-277.

Morand S, Chaaoui M, Kaniewsky J, de Me D, Ohayon ER, Noel-Hudson MS, Virion, A, Dupuy C. 2003 Effect of Iodide on Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase Activity and Duox2 Protein 1 Expression in Isolated Porcine Thyroid Follicles. *Endocrinology* 144 (4): 1241-1248.

Murrilo-Amador B, Troyo-Diéguez E, Villaseñor-Beltrán A. 1999. Efecto del estiércol de bovino en cultivares de nopal verdulero (*Opuntia* spp.) introducidos a Baja California Sur, México. VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre conocimiento y aprovechamiento de el nopal, San Luis Potosí, S.L.P. Memorias. Septiembre 1999.

Nathan DM, Schreiber E, Fogol H, Mojsov S, Habener JF. 1992. Insulinotropic action of glucagon-like-peptide 1 (7-37) in diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes Care*. 15: 270-276.

Nauck MA, Heimesant MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. 1993. Preserved incretin activity of glucagon-like-peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation* 91: 301-307.

Nieddu G, Chessa I, Deida P, Tekie Z, 1997. Changes in CAM activity ABA, and Pas in *Opuntia ficus-indica* as response in drought. *Acta Horticulturae* 438: 97-104.

Nieto-Garibay A, Troyo-Diéguez E, Valdez-Cepeda R, Rueda-Puente E, García-Hernández JL, Flores-Hernández A, Zamora-Salgado S, Orona-Castillo I, Murrilo-Amador B. 2011. Plant height and mineral content of *Opuntia* tapona growing along the coast of Baja California Sur, México. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 13:77-87

NMX-FF-068-SCFI-2006. Productos Alimenticios no industrializados para consumo humano. Hortaliza fresca nopal verdura con espinas (*Opuntia* spp) Especificaciones.

Nobel PS. 1983. Nutrient levels in cacti-relation to nocturnal acid accumulation and growth. *American Journal of Botany* 70: 1244-1253.

Nobel PS. 1986. Relations between monthly growth of *Ferocactus acanthodes* and an environmental productivity index. *American Journal of Botany* 73: 541-547.

Nobel PS. 1998. Los incomparables agaves y cactus. Trillas. México. pp. 211.

Nobel PS, TL Harstock. 1984. Physiological responses of *Opuntia ficus indica* to growth, *American Journal of Botany*. 70:1244-1253.

Nobel PS, Bobich EG. 2002. Environmental Biology. In: *Cacti, Biology and Uses*, Nobel PS (ed) University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London pp. 57-74

Oh PS, Lee SJ, Lim KT. 2006. Antioxidative activity of 90 glycoprotein isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* Makino. *Food Science and Biotechnology* 13(6): 781-789.

Oh PS, Lim KT. 2006 Glycoprotein (90 kDA) Isolated from *Opuntia ficus-indica* var *saboten* Makino lowers plasma lipid level through scavenging of intracellular radicals in triton WR-1339-induced mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29(7): 1391-1396.

Olivares RJA, Arellano PA. 2008. Bases Moleculares de las Acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica* 7(1): 9-18.

Osmond CB.1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 379–414.

Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle S. 2007. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *Journal of Ethnopharmacology* 111(2): 315-21.

Peña VBC, Sánchez UBA. 2006. Nopalito and cactus pear (*Opuntia* spp) Polysaccharides: Mucilage and Pectin. In: Mondragón-Jacobo C. (eds). Proc. Vth Int 1 Congress on Cactus Pear and Cochineal. ISHS Acta Horticulturae pp. 728.

Pérez-Jiménez J, Serrano J, Taberner M, Arranz S, Díaz-Rubio ME, García-Diz L, Goñi I, Saura-Calixto F. 2009. Bioavailability of Phenolic Antioxidants Associated with Dietary Fiber: Plasma Antioxidant Capacity After Acute and Long-Term intake in Humans. *Plant Food for Human Nutrition*.64: 102-107.

Pimienta-Barrios E, Loera QM, López-Amezcu L. 1993. Estudio Anatómico Comparativo en colectas del subgenero *Opuntia*. *Agrociencia serie Fitociencia* 4(3): 7-21.

Pimienta-Barrios E, Nobel PS. 1998. Vegetative, reproductive and physiological adaptations to aridity of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). *Economic Botany*. 52: 401-411.

Pimienta-Barrios E, Zañudo Hernández J, Rosas-Espinoza VC, Valenzuela-Tapia A, Nobel PS. 2005. Young daughter cladodes affect CO₂ uptake by mother cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annals Botany London* 95 (2): 363-269.

Pimienta-Barrios E, Loza-Cornejo S, González del Castillo-Aranda ME. 2003. Caracterización anatómica y conductividad hidráulica teórica de los elementos de vaso de variedades silvestres y cultivadas de nopal tunero (*Opuntia*). *Acta Botánica Mexicana*

62: 21-30.

Pimienta-Barrios E, Castillo-Cruz I, Zañudo-Hernández J, Méndez-Morán L, Nobel PS. 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annals of Applied Biology* 1-8.

Pinos-Rodríguez JM, Velázquez JC, González SS, Aguirre JR, García JC, Álvarez G, Jasso Y. 2010. Effects of cladode age on biomass yield and nutritional value of intensively produced spineless cactus for ruminants. *South African Journal of Animal Science* 40(3): 245-250.

Qiu Y, Chen Y, Pei Y, Matsuda H, Yoshikawa M. 2002. Constituents with Radical Scavenging Effect from *Opuntia dillenii*: Structures of New α -Pyrones and Flavonol Glycoside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 11:1507-1510.

Ramírez-Moreno E, Díez-Márquez C, Sánchez-Mata MC, Goñi, I 2011. In Vitro calcium bioaccessibility in raw and cooked cladodes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *LWT-Food Science and Technology*. 44: 1611-1615.

Ramírez-Orduña, R, Ramírez, RG., González-Rodríguez, H, Haenlein, GFW. 2003. Mineral content of browse species from Baja California Sur, México. *Small Ruminant Research* 57: 1-10.

Ramírez-Tobías HM, Reyes-Agüero JA, Pinos-Rodríguez JM, Aguirre-Rivera JR. 2007. Efecto de la especie y madurez sobre contenido de nutrientes de cladodio de nopal. *Agrociencia* 41:619-626.

Ramos-Jiménez A, Hernández-Torres RP, Wall-Medrano A, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA. 2009. Efectos del ejercicio sobre los mecanismos celulares para la captación de glucosa en el músculo esquelético. *Revista de Educación Bioquímica*. 28

(4): 115-124.

Razo MY, Sánchez HM. 2002. Acidez de 10 variantes de nopalito (*Opuntia* spp.) y su efecto en las propiedades químicas y sensoriales. Universidad Autónoma de Chapingo. México. pp. 104.

R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0,

<http://www.R-project.org>. [Revisado el 15 de octubre de 2010]

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical Biology and Medicine* 26: 1231-1237.

Retamal N, Durán JM, Fernández J. 1987. Seasonal variations of chemical composition in prickly pear (*Opuntia ficus indica* (L) miller). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 38 (4): 303-311.

Reyes-Agüero JA, Aguirre-Rivera JR, Hernández HM. 2005. Notas Sistemáticas y una descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). *Agrociencia* 39: 395-408.

Riveiro EM de O, Da Silva NH, De Lima FJL, De Brito JZ, Da Silva MPC. 2010. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas* 30 (4): 933-939.

Ríos RJ, Quintana MV. 2004. Manejo general del cultivo del nopal. Manual del

participante. Colegio de Postgraduados. Secretaria de la Reforma Agraria. México 81p.

Robles-Contreras F. 1986. Efecto de la frecuencia de riego sobre las relaciones hídricas producción y calidad de nopal para verdura (*Opuntia ficus-indica*). Tesis profesional. Universidad Autónoma de Sonora. Hermosillo, Sonora. México. 66 pp.

Robles-Ozuna LE, Goycoolea FM, Silveira MI, Montoya BLC. 2007. Uso del Quitosano durante el escaldado del Nopal (*Opuntia ficus indica*) y efecto sobre su calidad. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 6 (2): 193-201.

Rodríguez-Félix A, Cantwell M. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos) Plant Food for Human Nutrition. 38:83-93.

Rodríguez-Félix A, Villegas-Ochoa MA. 1998. Postharvest handling of cactus (*Opuntia* spp.) Stems. Cactus net Newslwttter (Inglese P. and Saézn Hernández C. Eds) Universidad de Chile. Santiago, Chile. pp. 10-13.

Rodríguez-Félix A, Villegas-Ochoa M, Fortiz-Hernández F. 2007. Efecto de Cubiertas Comestibles en la Calidad de Nopal Verdura (*Opuntia* sp) Durante el Almacenamiento Refrigerado. Journal of the Profesional Association for Cactus Development 9: 22-42

Rodríguez-García ME, De Lira C, Hernández-Becerra E, Cornejo-Villegas MA, Palacios-Fonseca AJ, Rojas-Molina I, Reynoso R, Quintero LC, Del Real A, Zepeda TA, Muñoz-Torres C. 2007. Physicochemical characterization of nopal (*Opuntia ficus indica*) and dry vacuum powders as a function of the maturation. Plant Foods Human Nutrition 62 (3):107-112.

Rodríguez-Salazar, E., and A. Nava-Cedillo. 1999. Nopal: Riqueza agroecológica de

México. SEP. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológicas, México pp. 21–37.

Rodríguez P, González-Mujica F, Bermúdez J, Hasegawa M. 2010. Inhibition of glucose intestinal absorption by kaempferol 3-O-rhamnoside purified from *Bauhinia megalandra* leaves. *Fitoterapia* 81(8): 1220-1223.

Rodríguez ML, López BJ. 2006. Caracterización de unidades biofísicas a partir de indicadores ambientales en Milpa Alta, Centro de México, *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM* 60: 46-61.

Ruíz-Espinoza FH, Alvarado-Mendoza JF, Murillo-Amador B, García-Hernández JL, Pargas-Lara R, Duarte-Osuna JD, Beltrán-Morales FA, Fenech-Larios L. 2008. Rendimiento y Crecimiento de Nopalitos de Cultivares de Nopal (*Opuntia ficus-indica*) bajo Diferentes Densidades de Plantación. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 10: 22-35.

Rude RK, Gruber HE. 2004. Magnesium deficiency and osteoporosis: animal and human observations. *Journal Nutrition Biochemistry* 15:710- 716.

Runha, FP, Cordeiro, DS, Pereira CAM, Vilegas J, Oliveria WP. 2001. Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: development of the process and evaluation of thermal degradation during the drying operation. *Food Bioproducts and Processing* 79: 160–168.

Rusell ChE, Felker. 1987. The Prickly-pears (*Opuntia* spp., Cactaceae): A Source of Human and Animal Food in Semiarid Regions. *Economic Botany* 41(3): 433-445.

Saéñz C, Berger H, Corrales GJ, de García CV, Higuera I, Mondragón C, Rodríguez-Félix A, Sepúlveda E, Varnero MT. 2006 Utilización Agroindustrial del Nopal. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO*. pp. 162.168.

Saéñz HC. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. In: Esparza F. G., R. D. Váldez C., y G. Méndez S. (eds). El Nopal. Tópicos de Actualidad. Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma de Chapingo. México. pp: 211-221.

SAGARPA. 2006. Sistema de información de consulta. Sistema Integral de información agroalimentaria y pesquera. Secretaría de Agricultura y ganadería. Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. D.F. México. En:

http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comanvar.html/ [Revisado el 8 de septiembre de 2012]

Santos BP, Lorenzana-Jiménez M, Magos GGA. 2006. Utilidad del nopal para el control de la glicemia en la diabetes mellitus tipo 2. Universidad Nacional Autónoma de México 49(4): 157-162.

Santos-Zea L, Gutiérrez_Uribe JA, Serna-Saldívar S. 2011. Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 7054-7061.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C. 2005. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 45: 287-306.

Sensink ALA, Arts ICW, Faassen-Peters M, Hollman PCH. 2003. Intestinal Uptake of Quercetin-3-Glucoside in rats Involve Hydrolysis By Lactase Phlorizin Hydrolase. The Journal of Nutrition 133(3): 773-776.

Seeram NP, Heber D. 2007. Impact of berry phytochemicals on human health: Effects beyond antioxidation. Accounts of Chemical Research, Symposium Series 956: 326-336.

Silva H, Acevedo E, Silva P. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 72(2).

Smith JAC, Ingram J, Tsiantis MS, Barkla BJ, Bartholomev DM, Bettey M, Pantoja O, Pennington AJ. 1996. Transport across the vacuolar membrane in CAM plants. In Winter K, Smith JAC, eds. *Crassulacean acid metabolism. Biochemistry, ecophysiology and evolution. Ecological Studies. Vol 114.* Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag. 72-77.

Song J, Kwon O, Chen S, Daruwala R, Eck P, Park JB, Levine M. 2002. Flavonoid Inhibition of Sodium-dependent Vitamin C Transporter 1 (SVCT1) and Glucose Transporter Isoform 2 (GLUT2), Intestinal Transporter for Vitamin C and Glucose. *The Journal of Biological Chemistry* 277(18): 16252-16260.

Spears JW. 1994. Minerals in forages. In: Fahey Jr., GC. (Ed.), *Proceedings of the National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization.* University of Nebraska, Lincoln, NE, USA. 281–317.

Stintzing, F.C. and R. Carle. 2005. Cactus steams (*Opuntia* spp.) a review on their chemistry technology and uses. *Mol. Nut. Food Res.*, 49(2): 175-194.

Stintzing FC, Reinhold C. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on the their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research* 49: 175-194.

Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, Matsuoka T. 2006 Inhibition of alfa-glucosidase and alfa-amylase by flavonoide. *Journal of Nutritional Science Vitaminology.* 52:149-153.

Tamura M, Nakagawa H, Tsushida T, Hirayama K, Itoh K. 2007. Effect of pectin

enhancement on plasma quercetin and fecal flora in rutin-supplemented mice. *Journal of Food Science* 72: S648–S651.

Terrazas ST, Mauseth JD. 2002. Shoot anatomy and morphology. *In* Nobel, S. Park. (Ed) *Cacti biology and uses*. University of California Press, Los Angeles California, U.S. A. pp 23-40.

Terry N, Zayed AM, De Souza MP, Tarun AS. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 401-432.

Thibault JF, 1979. Automatization du dosage des substances pectiques par la methode au methahydroxydiphenyl. *Lebensmittel Wissenschaft u Thechnologie* 12: 247-251.

Tovar A, Pando-Moreno M, Garza C. 2005. Evaluation of Three Varieties of *Opuntia ficus-Indica* (L.) Miller as Hosts of the Cochineal Insect *Dactylopius Coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) in a Semiarid Area of Northeastern Mexico. *Economic Botany* 59(1):3-7

Tovar-Puente A, Pando-Moreno M, González-Rodríguez H, Scott-Morales L, Mendez-Gallegos SdeJ. 2007. Density of Calcium Oxalate Crystals in 15 Prickly Pear Cultivated Species. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 9:91-98.

Trachtenberg, S, Fahn A. 1981. The mucilage cells of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill development, ultrastructure and mucilage secretion. *Botanical Gazette* 142(2): 206-213.

Traill WB. 1999. Prospects for the future: Nutritional, environmental and sustainable food production considerations-change in cultural and consumer habits, *FAO/WHO/WTO Conf. on Int. Food Trade Beyond 2000*. Melbourne, Australia. pp. 11-15

Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. 2002. Dietary reference intakes for energy,

carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Journal of the American Dietetic Association. 102(11): 1621-1630.

Tsai WC, Li YH, Lin CC, Chao TH, Chen IH. 2004. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. Clinical Science 106: 315-319.

Umaly RC, Poel LW. 1971. Effects of iodine in various formulations in growth of barley and pea plants in nutrient solution culture. Annals of Botany 35: 127-131.

Valdez CRD, Blanco MF, Murillo AB, García HJL, Ruiz GRR, Márquez MM, López MJD, Ledesma MJC, Macías RFJ. 2003. Fertilización y Nutrición en tres variedades de Nopal (*Opuntia ficus-indica*). Agrofaz. 3(2): 342-346.

Valdéz-Cepeda RD, Blanco-Macías F. 1999. Morfología de cladodios: Análisis fractal y de componentes principales. En: Aguirre RRJ, Reyes AJA (eds). VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. San Luis Potosí, SLP. Septiembre pp. 6-10.

Valverde-Gómez E, Sáenz-Murillo MV. 1985. Análisis del crecimiento del chayote (*Sechium edule* SW). Turrialba 35:395-402.

Valladares F, Gianoli E, Gómez JM. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. New Phytologist. 176:749-763.

Van Proeven K, Ramaekers M, Pischel I, Hespel P. 2012. *Opuntia ficus-indica* ingestion stimulates Peripherals disposal of oral glucose before and after exercise in healthy men. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism 22(4): 284-291.

Varnero MT, Uribe JM, López X. 1992. Factibilidad de una biodigestión anaeróbica con mezclas de guano caprino y cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*. L. Mill). Terra

Aridae 11: 166 - 172.

Vázquez Alvarado RE, Salazar-Sosa E, García-Hernández JL, Olivares-Saenz E, Vázquez-Vázquez C, López-Martínez JD, Orona-Castillo I 2009. Producción de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) en hidroponía empleando agua con alto contenido de sales. Journal of the Professional Association for Cactus Development 11: 13–17.

Vitoria MI. 2007. Prebióticos, probióticos y simbióticos. Pediatría Integral XI (5): 425-433.

Walter-Law ME, Wang XL, Law BK, Hall RK, Nawano M, Granner DK. 2002. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. The Journal of Biological Chemistry 277: 34933-34940.

Wang N, Zhang H, Nobel PS. 1997. Phloem-xylem water flow in developing cladodes of *Opuntia ficus-indica* during sink-to-source transition. Journal of Experimental Botany 48: 675-682.

Weng HJ, Yan AL, Hong ChL, Xie LL, Qin YCh, Cheng ChQ. 2008a. Uptake of Different Species of Iodine by Water Spinach and Its Effect to Growth. Biological Trace Element Research 124: 184-194.

Weng, H.J., Hong, Ch.L., Yan. A:L: Pan, L.H., Qin, Y.Ch., Bao, L.T. and L.L. Xie. 2008b.. Mechanism of Iodine Uptake by Cabbage: Effects of Iodine Species and Where It is Stored. Biological Trace Element Research 125: 59-71

Weniger D. 1979. Cacti of the Southwest. University of Texas Press. Austin. E.U.A.

Whitaker JR. 1994. Principles of enzymology for the food sciences. Marcel Dekker, 2^{en} ed. New York, USA. pp. 648.

Whitaker JR, Lee CY. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning and overview, pp. 1-7. *In*: Lee, C. Y. and J. R. Whitaker (Eds.) Enzymatic browning and its prevention. ACS Symposium Series 600; American Chemical Society. Washington, D. C., U.S.A.

White PJ, Broadley MR. 2005. Biofortifying crops with essential minerals elements. *Trends in Plant Science* 10:586-593.

Whitehead DC. 1973. Uptake and distribution of iodine in grass and clover plants grown in solution culture. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 24: 43–50.

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews and Food Science and Nutrition* 44:275-295.

Wol J. 1960. Der diurnale Säurerhythmus. *In*: Encyclopedia of plant physiology. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 12:809–889.

Wolffram S, Blöck M, Ader P. 2002. Quercetin-3-glucoside is transported by the glucose carrier SGLT1 across the Brush Border Membrane of Rat Small Intestine. *Journal Nutrition* 132: 630-635.

Wrolstad RE. 2004. Anthocyanin Pigments—Bioactivity and Coloring Properties. *Journal of Food Science* 69(5): C419-C425.

Xian-Kang F, Dan-Ni Z. 2008. Kaempferol and quercetin isolated from *Euonymus alatus* improve glucose uptake of 3T3-L1 cells without adipogenesis activity. *Life Sciences* 82 (11-12): 615-622.

Yamaguchi N, Nakano M, Takamatsu R, Tanida H. 2010. Inorganic iodine incorporation into soil organic matter: evidence from iodine K-edge X-ray absorption near-edge structure. *Journal Environmental Radioactivity* 101:451-457.

Yingkun Q, Yingjie C, Yupin P, Hisashi M, Masayuki Y. 2002. Constituents with Radical Scavenging Effect from *Opuntia dillenii*: Structures of New α -Pyrones and Flavonol Glycoside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 11:1507-1510.

Yamasaki K, Ryogo H, Eisuke K, Kawabata K. 2011. Study of Kaempferol Glycoside as an insulin mimic reveals Glycon to Be the Key Active Structure. *Medicinal Chemistry Letters* 2 (1) 17-21.

Zayed A, Lytle CM, Terry N. 1998. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta* 206: 284-292.

Zhang L, Wang ZN, Xia Y, Kai GY, Chen W, Tang KX. 2007. Metabolic Engineering of Plant L-Ascorbic Acid Biosynthesis: Recent Trends and Applications. *Critical Reviews in Biotechnology* 27:173-182.

Zhao XQ, Mitani N, Yamaji N, Shen RF, Ma JF. 2010. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiology* 153: 1871-1877.

Zhao LY, Lan QJ, Huang ZC, Quyang LJ, Zeng FH. 2011. Antidiabetic effect of a newly identified component of *Opuntia dillenii* polysaccharides. *Phytomedicine*. 18(8-9): 661-668

Zhongjie L, Liying Z, Lianchun L, Jun L, Hongling L, Luyong Z, Limin C, Keguang C, Mingyue Z, Xiaoan W, Pu Z, Jia H, Yanchun G. Xia Z, Xiaoyun Z, Jun C, Hong L, Hualiang J, Cheng L, Hongbin S. 2011. Identification of pentacyclic triterpenes derivatives as potent inhibitors against glycogen phosphorylase based on 3D-QSAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46: 2011-2021.

Zorgui L, Ayed-Boussema I, Ayed Y, Bacha H, Hassen W. 2009. The antigenotoxic

activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against the mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food and Chemical Toxicology* 47(3): 662-667.

Zúñiga-Tarango, R., Orona-Castillo, I., Vázquez-Vázquez, C., Murillo-Amador, B., Salazar-Sosa, E., López-Martínez, JD., García-Hernández, JL., Rueda-Puente, E. 2009. Desarrollo radical, rendimiento y concentración mineral en nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en diferentes tratamientos de fertilización. *Journal of the professional Association for Cactus Development* 11:53-68.

RESUMEN BIOGRÁFICO

1. Datos Generales

Nombre Completo: Hermila Trinidad García Osuna

Domicilio Particular: Hidalgo 406 Zona Centro Teléfono: (844) 4 83 04 14.

Correo electrónico: hgosuna@hotmail.com

2. Formación Académica

Licenciatura: Biología, Universidad Autónoma de Nuevo León

Maestría: Ingeniería en Sistemas de Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

3. Participación en Congresos como Ponente

XXXIII Congreso Nacional y III Internacional de Fitogenética los días “Evaluación de cuatro variedades de Nopal (*Opuntia ficus-indica* L., Miller) en tres estadios de desarrollo”. Octubre 2010.

2do Congreso Internacional de Agronomía Tropical y 3er Simposio Nacional Agroalimentario. “Evaluación de cuatro variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) Bajo condiciones de túnel. Agosto 2011.

XXIV Congreso Nacional y IV Internacional de Fitogenética, Aplicación de yodo en Nopal (*Opuntia ficus indica* L., Miller). Septiembre de 2012.

4. Artículos con Arbitraje

Iodine application increased ascorbic acid content and modify the vascular tissue in

Opuntia ficus-indica L. Autores Hermila Trinidad García Osuna, Adalberto Benavides Mendoza, Catalina Rivas Morales, Eufemia Morales Rubio, Julia Verde Star and René Miranda Ruvalcaba . Aceptado para publicarse en **Pakistán Journal of Botany**.