



UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPTO. DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

M. EN C. EN PROTECCIÓN VEGETAL

"Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre."



EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN EL ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO
DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.)

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA:

ALEJANDRA SOFÍA SÁNCHEZ ÁVILA



DIRECCION GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

Chapingo, México, 2017



**EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN EL ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO DE
NOPAL (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.)**

Tesis realizada por **Alejandra Sofía Sánchez Ávila** bajo la dirección del Comité
Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTORA:



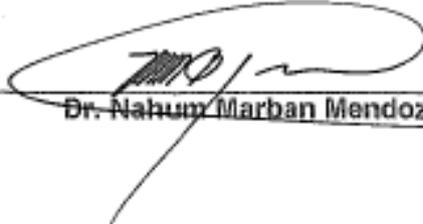
Dra. Ernestina Valadez Moctezuma

ASESOR:



Dr. Mateo Vargas Hernández

ASESOR:



Dr. Nahum Marban Mendoza

Chapingo, Edo. de México mayo de 2017

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me otorgó para realizar mis estudios de Maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme formar parte de su comunidad estudiantil.

A mis profesores y compañeros por compartirme su tiempo, experiencia y conocimientos.

A mi familia por todo el ánimo brindado.

A la Dra. Ernestina Moctezuma Valadez por su dirección y apoyo durante toda esta investigación.

Al Dr. Mateo Vargas por su ayuda en toda la parte estadística.

A los Dr. Anselmo Cabrera y Nahúm Marbán por su colaboración y comentarios en la realización de ésta investigación.

Al Dr. Joel Corrales por permitirme utilizar el liofilizador.

Al Dr. Marcos Soto y al M.C. Rubén por su asesoría y por facilitarme el equipo para HPLC.

A Dolores Luna y Diana Becerra por su paciencia y amabilidad.

DATOS BIOGRÁFICOS

La autora de la presente tesis, nació en la ciudad de Aguascalientes, Ags., el 01 de julio de 1989. En la misma ciudad realizó sus estudios de nivel básico, medio y superior.

Trabajó en el Herbario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) en un proyecto auspiciado por la CONABIO. En 2014 obtuvo el título de Bióloga por parte de la UAA. Trabajó para el Sistema Producto Guayaba como extensionista.

En 2015 ingresó a la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal del Departamento de parasitología agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN GENERAL	1
GENERAL ABSTRACT	1
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	2
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVO GENERAL	3
3.1 Objetivos específicos	3
IV. LITERATURA CITADA	4

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Clasificación Taxonómica	5
1.2 Descripción, origen y distribución	5
1.2.1 Cactaceae	5
1.2.2 Opuntia	6
1.2.3 <i>Opuntia ficus-indica</i>	7
1.3 Importancia	7
1.4 Problemas fitosanitarios	9
1.5 Engrosamiento del cladodio	15
1.6 Literatura citada	18

CAPITULO II. METODOLOGÍA GENERAL

2.1 Preparación del sustrato	22
2.2 Nutrición	23
2.3 Instalación del experimento	24
2.4 Diseño de tratamientos	25
2.5 Análisis estadístico	26
2.6 Literatura citada	27

CAPÍTULO III. EFECTO DE LA NUTRICIÓN EN EL DESARROLLO DE SINTOMAS DE ENGROSAMIENTO DEL CALDODIO EN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

3.1 Introducción	29
3.1.1 Nutrición y requerimientos agroecológicos	29
3.2 Objetivos	31
3.3 Hipótesis	31
3.4 Materiales y métodos	31
3.5 Resultados y Discusión	32
3.6 Conclusiones	38
3.7 Literatura citada	39

CAPÍTULO IV. EFECTO DE LA NUTRICIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE FITOHORMONAS EN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. CON ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO

4.1 Introducción	42
4.1.1 Hormonas vegetales	42
4.1.2 Reguladores de crecimiento vegetal y el calcio	45
4.2 Objetivos	45
4.3 Materiales y métodos	46
4.4 Resultados y Discusión	47
4.5 Conclusión	55
4.6 Literatura citada	56

ANEXO I	57
----------------------	----

ANEXO II	58
-----------------------	----

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO I.

Cuadro 1. Enfermedades fungosas reportadas para el género <i>Opuntia</i>	10
Cuadro 2. Enfermedades bacterianas y virales reportadas para el género <i>Opuntia</i>	11
Cuadro 3.1 Principales insectos plaga reportados para el género <i>Opuntia</i>	12
Cuadro 3.2 Principales insectos plaga reportados para el género <i>Opuntia</i>	13
Cuadro 3.3 Principales insectos plaga reportados para el género <i>Opuntia</i>	14
Cuadro 4. Nematodos que afectan el cultivo de nopal	15
Cuadro 5. Fitoplasmas reportados en especies del género <i>Opuntia</i>	17

CAPÍTULO II.

Cuadro 6. Análisis de suelo de la UACH	22
Cuadro 7. Solución nutritiva general aplicada para la fertilización de las plantas experimentales	23
Cuadro 8. Tratamientos aplicados	23
Cuadro 9. Factores y niveles utilizados para el diseño del experimento	25

CAPÍTULO III.

Cuadro 10. Micronutrientes sugeridos y síntomas de deficiencia	30
Cuadro 11. Escala de severidad del engrosamiento de cladodios de nopal	32
Cuadro 12. Resumen de tratamientos aplicados, incidencia e hipótesis	32
Cuadro 13. Efecto de la Sintomatología de la planta madre sobre la morfología de <i>O. ficus-indica</i>	35
Cuadro 14. Efecto del Sustrato sobre la morfología de <i>O. ficus-indica</i>	36
Cuadro 15. Efecto del Sustrato sobre la morfología de <i>O. ficus-indica</i>	36

CAPÍTULO IV.

Cuadro 16. Funciones de fitohormonas	43
Cuadro 17. Síntesis, almacenamiento, transporte y señalización de hormonas vegetales	44
Cuadro 18. Efecto de la Sintomatología de la planta madre sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de <i>O. ficus-indica</i>	48
Cuadro 19. Efecto del Sustrato sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de <i>O. ficus-indica</i>	48
Cuadro 20. Efecto del Calcio sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de <i>O. ficus-indica</i>	50
Cuadro 21. Efecto de la Fertilización sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de <i>O. ficus-indica</i>	51
Cuadro 22. Acumulación de fitohormonas en cladodios de <i>O. ficus-indica</i> con síntomas (S) y sin síntomas (AS) de engrosamiento	52
Cuadro 23. Coeficientes de correlación de Pearson (r) y nivel de significancia (P) entre diferentes variables de respuesta por efecto de la severidad	54
Cuadro 24. Parámetros de gradiente CLAR	57
Cuadro 25. Tiempos de retención de estándares internos	58

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I.

Figura 1. Producción Nacional sembrada de Nopal (*Opuntia spp.*) 8

CAPÍTULO II.

Figura 2. Ejemplo de esquejes sembrados en bolsas de plástico 22

CAPÍTULO III.

Figura 3. Gráfica de barras del de la nutrición sobre la severidad e incidencia del engrosamiento del cladodio 33

Figura 4. Diagrama lineal del efecto de la nutrición sobre la morfología de *O. ficus-indica* 37

Figura 5. Gráfica de barras del efecto de la nutrición sobre la morfología de *O. ficus-indica* 37

CAPÍTULO IV.

Figura 6. Diagrama de caja de la cantidad de hormonas en plantas de *O. ficus-indica* con diferentes niveles de severidad 52

Figura 7. Gráfica de barras de la producción de hormonas en plantas asintomáticas vs sintomáticas de *O. ficus-indica* 53

**EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN EL ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO DE NOPAL
(*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.)
NUTRITIONAL EFFECT ON CLADODE THICKENING IN CACTUS PEAR (*Opuntia ficus-
indica* (L.) Mill.)**

Sánchez Ávila S. A.¹ y Valadez Moctezuma E.²

RESUMEN GENERAL

El nopal es una planta de importancia, económica, ecológica y cultural en México, sin embargo, el rendimiento promedio del cultivo es bajo debido a los problemas fitosanitarios y al manejo deficiente que se le da. Uno de los principales problemas que merman la producción es el engrosamiento del cladodio. Estudios recientes han reportado una acumulación de AIA en las plantas afectadas. Se sabe que el Ca²⁺ afecta directamente en la actividad de las fitohormonas por ser transductor de señales y regulador de crecimiento. Se aplicaron 11 tratamientos para ver el efecto de la nutrición sobre la producción de hormonas, severidad, incidencia y morfología en plantas con y sin engrosamiento. Los tratamientos con la aplicación más alta de Ca²⁺ tuvieron la incidencia más baja de síntomas (0-10%) mientras que en los tratamientos con bajos niveles de nutrición la incidencia fue de hasta el 100%. Las medias de los diferentes niveles de fertilización fueron significativamente diferentes para todas las variables morfológicas evaluadas a un nivel de confianza del 95%, agrupándose con un orden generalmente lógico en el que los tratamientos con una nutrición más completa presentaron medias más altas. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.0001$) en la acumulación de hormonas (AIA, AIB, ABA, Zea y AG3) en plantas con suelo UACH con respecto al sustrato experimental, y en plantas sintomáticas respecto a las asintomáticas (excepto AIA). Se observó una fuerte correlación entre varios reguladores de crecimiento ($P \leq 0.002$), entre ellos el AIA que al parecer ejerce un efecto indirecto en el desarrollo de los síntomas. La severidad de la enfermedad está fuertemente ligada al sustrato y al desbalance de AIB + Zea, aunque también es afectada por otros factores como la salud de la planta madre.

Palabras clave: *O. ficus-indica*, engrosamiento del cladodio, nutrición, fitohormonas.

GENERAL ABSTRACT

The cactus pear is a plant of economic, ecological, social and cultural importance in Mexico, however, the average yield of the crop is low due to phytosanitary and handling issues. One of the main problems that diminish the production is the cladode thickening. Recent studies have reported an accumulation of AIA in the affected plants. It is known that calcium directly affects phytohormone activity by being a signal transducer and growth regulator. We apply 11 treatments to evaluate the nutritional effects on the development of thickening symptoms in *Opuntia ficus-indica*. We found that the health of the mother plant has a strong impact on the development of later symptoms, and growth regulators quantity, however, the effect of nutrition was even more important in the morphological issues. The treatments with the highest application of Ca had the lowest incidence of symptoms (0-10%), whereas those with poor nutrition had an incidence of up to 100%. The means of the different levels of fertilization were significantly different for all the morphological variables evaluated at a 95% confidence level, grouping with a generally logical order in which the richest treatments presented higher means. The means of the growth regulators evaluated (AIA, AIB, ABA, AG3 and Zea) were significantly different ($P < 0.0001$) in treatments with UACH soil vs experimental substrate. The means comparison of the symptomatic and asymptomatic plants shows the same results except in AIA. A strong correlation was observed between several growth regulators ($P < 0.002$), including AIA that seems to exert an indirect effect on the development of symptoms. The severity of the disease is strongly linked to the substrate and the imbalance of AIB + Zea, although it is also affected by other factors such as the health of the mother plant.

Keywords: *O. ficus-indica*, cladode thickening, nutrition, phytohormones.

¹ Tesista: M. en C. en Protección Vegetal, Dpto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

² Directora de tesis: Profesora Investigadora de tiempo completo, Dpto. de Fitotecnia, UACH.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El nopal (*Opuntia spp.*) es una planta de la familia de las cactáceas cuyo centro de origen y dispersión es México. Se conocen más de 200 especies distribuidas en América, aunque por su propagación sexual y asexual (vegetativa) genera una gran diversidad y ecotipos, su clasificación permanece incierta (Flores *et al.*, 2016). Además de ser un emblema nacional, el nopal es típico del paisaje mexicano con alrededor de 3 millones de hectáreas de especies silvestres en todo el país (Anaya y Bautista, 2008).

México es el principal productor de nopal en el mundo, su cultivo y domesticación datan de tiempos prehispánicos, principalmente en el centro y norte del país (Mondragón, 2002). Sin embargo, el rendimiento promedio reportado del cultivo es bajo (SIAP, 2015), en gran medida por la poca inversión y cuidado que se acostumbra para este cultivo por ser de baja rentabilidad, y por otra parte por las plagas y enfermedades que lo afectan como la mancha negra del nopal provocada por *Pseudocercospora opuntiae*, la pudrición negra (*Fusarium spp.*), el picudo del nopal (*Metamasius spinolae*), la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*) y el engrosamiento del cladodio de nopal (Hernández *et al.*, 2014).

La enfermedad más importante reportada para el cultivo de nopal es el engrosamiento del cladodio, también conocido como amachamiento, a la que se le han atribuido varios agentes causales, siendo el más reciente un fitoplasma, sin embargo, hasta la fecha no es claro (Márquez *et al.*, 2012).

Los estudios de engrosamiento se han enfocado principalmente en el agente causal; pero también es importante considerar la presencia o acumulación de fitohormonas y su relación con la nutrición. Hasta la fecha no hay literatura que muestre los efectos de la nutrición sobre el desarrollo de la enfermedad, factor clave para el manejo de la misma.

II. HIPÓTESIS

La nutrición de *O. ficus-indica* desempeña un papel fundamental en la presencia y severidad del engrosamiento del cladodio de nopal.

III. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la nutrición en el desarrollo de síntomas de engrosamiento del cladodio y en la acumulación de fitohormonas en nopal.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer en condiciones de invernadero diferentes tratamientos de nutrición con plantas provenientes de cladodios engrosados y normales.
- Realizar una escala de severidad de la sintomatología.
- Determinar la incidencia del engrosamiento en los distintos tratamientos.
- Generar una base de datos con medidas morfológicas de las plantas.
- Obtener muestras de tejido de las plantas desarrolladas en los diferentes tratamientos para extraer fitohormonas.
- Realizar Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) con los extractos obtenidos para detección y cuantificación de 5 fitohormonas: Ácido Giberélico (AG3), Ácido Indolacético (AIA), Ácido Abscísico (ABA), Ácido Indolbutírico (AIB) y Zeatina (Zea).

IV. LITERATURA CITADA

- Anaya, P. M. Bautista, Z. R. (2008). El nopal forrajero en México: del siglo XVI al siglo XX. *Rev. Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 5(2) [en línea: 2016]. <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=360533080001>
- Flores, H. A. Peña, V. C. Hernández, M. L. Ramirez, S. R. Trejo, C. R. Meza, H. C. Preciado, R. P. y Murillo, A. B. (2016). Caracterización isoenzimática de cultivares de nopal (*Opuntia spp.*). *Ecosistemas y recur. Agropecuarios*. Vol. 3. N.7 pp. [en línea: 2016] http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-9028201600010000875-89. ISSN 2007-901X.
- Flores, G. J. y Velazco, C. G. (2008). Importancia de las cactáceas.
- Hernández, S. E. Mora, A. G. Tlapal, B. B. Rodríguez, L. E. y Alvarado, R. E. (2014). Efecto de intensidad inicial de enfermedad en la caracterización temporal y espacial de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 32. No. 2: 132-146 p.
- Lerner, S. L. (2010). Cactaceae. En: *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Calderón, R. G. y Rzedowsky J. INECOL. México. 431-469 pp.
- Márquez, B. S. Torcuato, C. C. Almaguer, V. G. Colinas, L. M. Khalil, G. A. (2012). El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* y *O. megacantha*) en Axapusco, Estado de México. *Problemática y alternativas*. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. Vol. 18 (1): 81-93 pp.
- Mondragón, J. c. (2002). Caracterización genética de una colección de nopal (*Opuntia spp.*) de la región centro de México. *Agricultura Técnica en México*. Vol. 28 (1). 3-14 pp.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México. (2015). [en línea: 2016] http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp

CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El origen de *O. ficus-indica* ha sido ampliamente discutido, se sabe que fue domesticada en la época prehispánica, sin embargo, se desconoce la especie silvestre que la originó. A pesar de los problemas de clasificación que padecen los taxones desde familia (Cactaceae) hasta género (Opuntia), la clasificación de *O. ficus-indica* ha sido más o menos constante y es la que se presenta a continuación (Britton y Rose, 1919; Stevens, 2001; Reyes y Hernández, 2005).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Opuntioideae

Tribu: Opuntieae

Género: Opuntia Mill.

Especie: *O. ficus-indica* (L.) Mill

1.2 DESCRIPCIÓN, ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

1.2.1 Cactaceae

Las cactáceas se caracterizan por ser árboles o arbustos suculentos con hojas efímeras o ausentes y espinas en aréolas. Es una familia polipétala, de ovario casi siempre ínfero con numerosos estambres (Lerner, 2010). Monoicas con flores generalmente bisexuales. Tallos erectos a decumbentes. Algunas son articuladas o tuberculadas (Arias *et al.*, 2012).

Familia originaria de América, aunque varias especies del género *Opuntia* fueron llevadas a Europa, Asia y Australia. Otros géneros como *Rhipsalis* se distribuyen por África, Madagascar y Sri Lanka (Arias *et al.*, 2012). Está integrada por (96) 124-139 (235) géneros y 1,438 – 1,866 (2,900) especies, dependiendo del sistema de clasificación (Stevens, 2001; Lerner, 2010; Arias *et al.*, 2012). Se calcula que en México hay 60 géneros y 670 especies de las cuales casi el 80% son endémicas (Arias *et al.*, 2012).

1.2.2 *Opuntia*

Opuntia al igual que todos los géneros de la subfamilia Opuntioideae presenta glóquidas en las aréolas y se caracteriza por presentar tallos en forma de cladodios o pencas. Crecen generalmente como arbustos o árboles erectos o decumbentes, rara vez rastreras. Hojas generalmente cónicas, pequeñas, efímeras, a veces vestigiales. Flores diurnas, solitarias, laterales o subterminales con tépalos de coloración notoria. Estilo engrosado en la base, más largo que los estambres. Frutos redondos, ovalados a claviformes, con una cubierta amarilla, verde, roja-púrpura, paredes externas cubiertas de glóquidas y lana, a veces además con espinas y/o cerdas. Pulpa generalmente jugosa, blanca a púrpura con semillas planas a esféricas con arilo anular desarrollado (Lerner, 2010; Arias *et al.* 2012).

Género Americano, distribuido desde Canadá hasta Argentina y Chile incluyendo las Antillas, con varias especies naturalizadas en Europa, Asia, África y Australia (Lerner, 2010; Arias *et al.* 2012).

Definir la cantidad de especies de *Opuntia* es complicado, por un lado, se discute la monofilia del género. Algunos autores como Hunt (2006) apoyan la parafilia del grupo, aunque la evidencia más reciente indica que es un grupo monofilético y por tanto deben reconocerse *Nopalea* y *Consolea* dentro del género *Opuntia* (Stevens, 2001; Hernández *et al.*, 2011; Majure *et al.*, 2012). Otra complicación para la clasificación es el hecho de que Opuntioideae aún no ha sido definida, se propone que ésta subfamilia sea conformada por 8 (Hunt, 2002) a 16 (Dickie y Pritchard, 2002) géneros. Dependiendo del sistema de clasificación que se use, se calcula que hay alrededor de 75 y 300 (Hunt, 2006; Lerner, 2010) especies en el mundo y aproximadamente 100 en nuestro país (Arias, 2012).

1.2.3 *Opuntia ficus-indica*

Se diferencia de las demás especies del género *Opuntia* por la ausencia total o casi total de espinas en los cladodios. Calidad que fue adquirida probablemente en el proceso de domesticación, pues hasta la fecha no se conoce ninguna población silvestre de ésta especie (León, 2000; Reyes y Hernández, 2005). Las articulaciones pueden llegar a medir hasta 63 cm, tienen una coloración glauca más o menos opaca y son de forma obovada a elíptica, comparativamente más anchas que *O. lanceolata* y *O. maxima*. Perianto amarillo-verde; ovario ínfero de 5 cm aproximadamente. Fruto amarillo a rojo, turbinado, elíptico o globoso, no umbilicado a profundamente umbilicado (Britton y Rose, 1919; Reyes y Hernández, 2005).

Especie cultivada de origen y domesticación mexicana, donde se encuentran la mayoría de los cultivares de la especie, aunque en la actualidad se siembra también en Europa, Oceanía, África y Asia (León, 2000; Reyes y Hernández, 2005). La especie silvestre de la cual fue derivada ha sido discutida, se han propuesto varias especies como *O. megacantha*, *O. amyclae*, *O. streptacantha*, aunque no existe evidencia suficiente para comprobarlo (Britton y Rose, 1919; Stevens, 2001; Reyes y Hernández, 2005).

1.3 IMPORTANCIA

El nopal está fuertemente arraigado en la cultura mexicana, es parte del símbolo y leyenda que ostenta la bandera nacional. El águila parada sobre un nopal, es la señal del dios Huitzilopochtli para que los mexicas fundaran Tenochtitlán, punto ubicado en el lago de Texcoco (Pérez, 2004). Actualmente se sabe que el nopal quizá no por orden divina, sino como fuente de alimento, tuvo una gran influencia en la integración de núcleos de poblaciones humanas, pues las tribus nómadas concurrían en la época de fructificación de las zonas nopaleras y terminaron por establecerse ahí (Flores y Velazco, 2008). Existe evidencia de que algunos grupos étnicos ya usaban *Opuntia spp.* hace 8,000 años y algunos autores creen que los Otomís fueron los protagonistas de su domesticación (Reyes y Hernández, 2005).

Opuntia es un género de importancia ecológica, el sinfín de poblaciones presentes en el país lo convierten en un rasgo típico del paisaje mexicano. Su éxito se debe a varios factores, entre ellos su gran adaptabilidad a condiciones adversas, especialmente en zonas áridas y en parte a su alta capacidad competitiva. Se ha descrito el reemplazo de espacio de especies como *Acacia schaffneri*, *Larrea tridentata* y *Prosopis laevigata* por nopales silvestres que terminan siendo especies predominantes de las comunidades vegetales xerófilas (Flores y Yeaton, 2000).

México es el principal productor de nopal en el mundo, su cultivo y domesticación datan de tiempos prehispánicos, principalmente en el centro y norte del país (Mondragón, 2002). Es utilizado como forraje, verdura, fruta, planta medicinal y ornamental, se obtiene principalmente de cinco cultivares y especies silvestres (Mondragón, 2002). SIAP (2015) reportó una superficie cultivada de más de 16 mil y 12 mil hectáreas de nopal forrajero y nopalitos respectivamente sumando un total de 28 mil hectáreas sembradas en 26 entidades federativas del país. Los estados con mayor producción son Morelos, D. F., Coahuila, Edo. De México, Aguascalientes, Zacatecas y Puebla, que aportan un 92 % de la superficie nacional sembrada de nopal (Fig. 1).

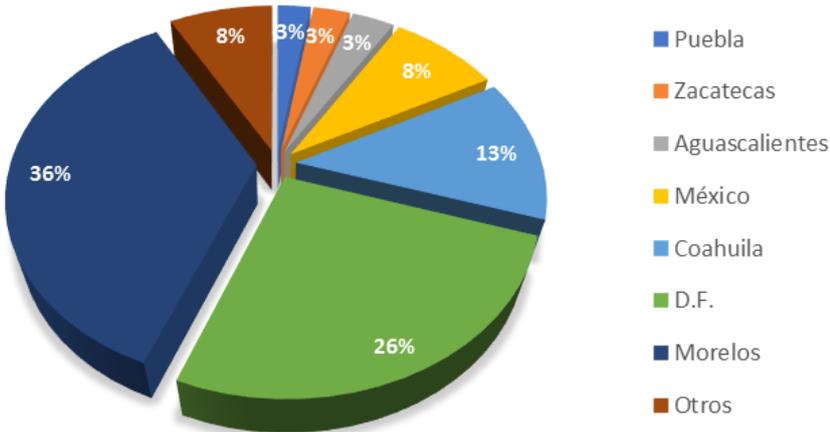


Figura 1. Producción Nacional de Nopal (*Opuntia spp.*). Datos tomados de SIAP, 2015.

1.4 PROBLEMAS FITOSANITARIOS

En 2015 el rendimiento promedio reportado para el cultivo de nopalito fue de 67.5 Ton/ha mientras que el forrajero de 10.7 Ton/ha (SIAP, 2015); ambos rendimientos son bajos en gran medida por la poca inversión y cuidado que se acostumbra para este cultivo por ser de baja rentabilidad, y por otra parte por las plagas y enfermedades que lo afectan.

Como la mayoría de los cultivos, puede ser afectado por una gran cantidad de plagas y enfermedades (Cuadro 1 y 2), sin embargo, las principales son la mancha negra del nopal provocada por *Pseudocercospora opuntiae*, la pudrición negra (*Fusarium spp.*), el picudo del nopal (*Metamasius spinolae*), la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*) y el engrosamiento del cladodio de nopal (Méndez, 2009; Hernández *et al.* 2014).

México no solo es el centro de origen del nopal, sino que es el país con más enfermedades y plagas reportadas para el cultivo (Zimmerman y Granata, 2002). Reconocer los agentes causales de las enfermedades en nopal es complicado pues existe una gran variedad de microorganismos endofíticos, por lo que al aislar es difícil saber si el organismo es o no patógeno. Bezerra *et al.*, 2012 encontró 45 especies de hongos endofíticos analizando tan sólo 44 fragmentos de *O. ficus-indica* en Brasil.

Las bacterias y levaduras no poseen mecanismos de penetración, así que actúan como oportunistas, haciendo ruido en la identificación de agentes causales. Estos oportunistas en conjunto con los hongos causan una gran variedad de enfermedades. Un ejemplo es *Candida boidmi*, que ha sido asociada con la pudrición negra. Aunque no ataca plantas sanas y necesita alguna condición especial para infectar, es potencialmente destructiva por dañar los tejidos durante la fermentación (Zimmerman y Granata, 2002). A pesar de todo, se ha logrado asociar el o los agentes causales de muchas enfermedades como se muestra en los Cuadros 1, 2 y 3.

Cuadro 1. Enfermedades fungosas reportadas para el género Opuntia.

		Enfermedad	Agentes causales asociados	Daño	Distribución *
Enfermedades fungosas	Roya	Roya	<i>Aecidium opuntiae</i> , <i>Aecidium sp.</i>	Pústulas naranjas que afectan el tejido y coloración al secar.	México (D.F.), Perú
		Pudrición de la penca	<i>Diplodia sp.</i>	Pudrición en los cladodios	México (Ags.Tlax.)
		Pudrición radical	<i>P. cactorum</i> y <i>P. nicotianae</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Verticilium</i> , <i>Pythium</i> <i>Armillaria mellea</i> y <i>Candida boidimi</i>	Disminución de crecimiento. Reblandecimiento de raíz y tallo basal. Pérdida de rigidez y muerte.	México (Ags., D.F., Gto., Gro., Qro. Tlax.)
		Pudrición de la epidermis	<i>Phoma sp.</i> y <i>Cercospora sp.</i> ,	Lesión limitada sobre sí misma sobre la hoja	México (Ags. y Jal., Gto), Bolivia.
		Chamusco	<i>Mycrosphaerella sp.</i>	Apariencia carbonizada, marchita.	México
		Pudrición negra	<i>Macrophomina</i> , <i>Colletotrichum gloesporoides</i> , <i>Alternaria alernata</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Pythium ultimum</i>	Reblandecimiento, lesiones profundas y necrosis.	México (Ags., Edo. Méx., Hgo y S.L.P)
		Gomosis	<i>Gnomonia sp.</i>	Producción de "goma" en la planta.	México (Tlax.)
		Moho gris	<i>Botrytis cinérea</i> (ocasionalmente con <i>Penicillium sp.</i>)	Pubescencia gris que se extiende en cladodio y frutos generando pudrición.	
		Otros	<i>Sclerotinia</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Xantomonas</i>	Pudrición pubescente como algodonosa.	Chile y Argentina
		Mancha radial de las pencas	<i>Coniothyrium concentricum</i>	Mancha redondeada.	México (Gto.)
	Antracnosis	<i>Colletotrichum sp.</i>	Manchas café-rojizas oscuras que se extienden desde la orilla al interior del cladodio o fruto.	México (Gto.)	
	Mal de oro o mancha de oro	<i>Alternaria sp.</i> , <i>Acochyta sp.</i> , <i>Phoma sp.</i> , y <i>Hansfordia sp.</i>	Penca verde oscuro a dorado. Disminución de fotosíntesis.	México (Hgo., S.L.P., Gto., Qro. y Zac.), Sudáfrica e Italia.	
	Fumagina	<i>Capnodium sp.</i>	Mancha negra pegajosa.	México (Mich., Hgo)	
	Mancha del cladodio del nopal	<i>Pseudocercospora opuntiae</i>	Lesiones redondas de color café a negro, de 2-4 cm de diámetro.	México (CDMX, Edo. De México)	
	Roña	<i>Phyllosticta opuntia</i> y <i>P. cóncava</i>	Afecta las pencas en cualquier etapa de su desarrollo.	México (Hgo.), Argentina y área Mediterránea.	
	Otros	<i>Cytospora sp.</i> , <i>Gloesporium sp.</i> , <i>Pleospora sp.</i> , <i>P. herbarum</i> .	Manchas.		

*La distribución corresponde a la enfermedad, no a todos los posibles agentes causales.

Las bacterias por lo general no pueden penetrar las gruesas cutículas de las cactáceas, por lo que normalmente se introducen mediante heridas o por algún otro daño mecánico. *Erwinia sp.* afecta más en regiones donde hay heladas que dañan los tejidos de las plantas, además de que puede actuar en bajas temperaturas. Las bacterias comúnmente generan hiperplasia, hipertrofia y necrosis, que se traducen en síntomas como manchas, reblandecimiento, agallas y tumores (Zimmerman y Granata, 2002).

Cuadro 2. Enfermedades bacterianas y virales reportadas para el género *Opuntia*.

		Enfermedad	Agentes causales asociados	Daño	Distribución de la enfermedad*
Bacterianas	Pudriciones	Pudrición negra	<i>Erwinia caratovora</i> , <i>E. cacticida</i> ,	Reblandecimiento, lesiones profundas y necrosis. Empieza como manchas hialinas que se unen y se oscurecen.	México (Camp.), India, Italia, Argentina y Chile.
		Pudrición blanda	<i>Erwinia spp.</i> <i>E. caratovora</i> , <i>E. atroseptica</i> , <i>E. chrysanthemi</i> , <i>E. betavascularum</i> , <i>E. cacticida</i> y <i>Pseudomonas viridiflaba</i>	Manchas circulares blandas y acuosas que se tornan café con un margen húmedo y negro, exudados amarillo-rojizos. Olor desagradable.	México
	Cáncer	Agallas	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tumores que al crecer se oscurecen y rompen el tejido.	México, cosmopolita.
Viales	Mosaicos y malformaciones	Otras	<i>Corynebacterium</i> y <i>Xanthomonas</i>		México
		Engrosamiento del cladodio	Fitoplasmas?	Engrosamiento del cladodio, malformaciones, atrofia del crecimiento.	México
		El Pinto	Probablemente Tobamovirus	Clorosis	México
		Mosaicos	Virus	Mosaicos que merman la calidad del producto.	

El agente causal del engrosamiento sigue sin confirmarse.

*La distribución corresponde a la enfermedad, no a todos los posibles agentes causales.

Se estima que existen alrededor de 150 especies de insectos nativos que se alimentan de nopal. Algunos de éstas especies como *Dactylopius opuntiae* se han utilizado para el control biológico de nopal en países donde es una planta invasora o crece como maleza (Zimmerman y Granata, 2002). Tan sólo en Norteamérica existen alrededor de 92 especies de insectos dañinos para el cultivo, aunque no todos alcanzan la categoría de insectos plaga (Mena, 2011).

Cuadro 3.1 Principales insectos plaga reportados para el género *Opuntia*.

	Nombre común	Nombre científico	Daños	Distribución de la plaga	Estatus de la plaga
Coleoptera	Picudo barrenador	<i>Cactophagus spinolae</i>	Se alimentan principalmente del tronco y pencas, ocasionalmente de los frutos	México, USA	Severa
		(<i>Metamasius spinolae</i>)	de plantaciones en producción y desarrollo.		
		<i>C. fahraei</i> (<i>M. fahrei</i>)	Barrenador del tallo	México	Esporádica
	Picudo de las espinas	<i>Cylindrocopturus</i>	Afectan las pencas, a veces los frutos de plantaciones en producción, rara vez en desarrollo. Solitario.		Esporádica
		<i>biradiatus</i>		México	Común
		<i>C. ganglbauberi</i>			Esporádica
	Barrenador del nopal o torito (<i>Opuntia logicorns</i>)	<i>Moneilema spp., M. variolare</i>	Plantaciones de cualquier etapa, principalmente tallo, a veces pencas y fruto. Solitario.	México, USA	Esporádica Común
		<i>Gerstaeckeria porosa</i> ,	Decoloración y/o destrucción de las pencas al alimentarse de forma interna.	México, USA	Común
	Picudo de la penca	<i>G. nobilis</i>	Destrucción de las pencas al alimentarse de forma interna. Se forman exudados oscuros que afectan el desarrollo de nuevo tejido.	México, USA	Común
	Gallina ciega (escarabajos de mayo)	<i>Phyllophaga spp.</i>	Debilita a la planta al alimentarse de la raíz	México	Común
Gusano de alambre	<i>Melanotus spp.</i>	Daña a la raíz al alimentarse de ella.	México	Común	
Thysanoptera	Trips del nopal	<i>Neohyadatothrips opuntiae</i> (<i>Sericotrips opuntiae</i>)	Plantaciones en época productiva, a veces en desarrollo, atacan penca y fruto.	México, USA	Común

Cuadro 3.2 Principales insectos plaga reportados para el género Opuntia.

	Nombre común	Nombre científico	Daños	Distribución de la plaga	Estatus de la plaga
Lepidoptera	Gusano blanco del nopal	<i>Laniifera ciclades</i> (<i>Megaster ciclades</i>)	Tallo de plantaciones en producción.	México y USA	Severa
		<i>Olycella nephelepsa</i>	Principalmente afectan las pencas, de plantaciones en desarrollo, ocasionalmente frutos y plantaciones en producción.	México	Esporádica- Común
	Gusano cebra	<i>O. subumbrella</i> <i>O. juncolineella</i> ²			Esporádica Esporádica
	Palomilla del nopal (Cactus moth)	<i>Cactoblastis cactorum</i>	Se alimenta internamente de los tejidos	Origen Sudamericano, reportado en USA (Florida), Argentina y quizá México	Desconocida
	Minador del nopal	<i>Marmara opuntiiella</i>	Se alimenta de pencas y frutos en temporada productiva.	México, USA	Común
	Barrenador de la unión de las pencas	<i>Metapleura potosi</i>	Plantaciones de cualquier etapa, principalmente penca, a veces fruto.	México	Común
	Barrenador de la penca	<i>Aerotypia pleurotella</i>	Principalmente los troncos de plantas en producción, rara vez en desarrollo.	México	Común
	Gusano barrenador del fruto	<i>Ozamia spp.</i> <i>O. lucidalis</i>	Daño al fruto.	México USA	Esporádico Esporádico
	Mosca del nopal	<i>Anastrepha sp.</i>		México	Esporádica
	Diptera	Barrenador de la fruta	<i>Asphondylia opuntiae</i>	Daña los frutos al alimentarse de ellos	México, USA
Mosca del nopal		<i>Dasiops bennetti</i>	Daña el cladodio al alimentarse de ellos desde la parte interna.	México	Rara
Mosca mediterránea de la fruta		<i>Ceratitits capitata</i>	Daña al fruto al alimentarse de él y al ovopositar dentro de él.	México	
Acari	Ácaro del nopal	<i>Terranychus opuntiae</i>	Se alimenta de la savia de manera externa, provoca una decoloración de los cladodios.	México, USA	Común

Cuadro 3.3 Principales insectos plaga reportados para el género Opuntia.

	Nombre común	Nombre científico	Daños	Distribución de la plaga	Estatus de la plaga
Hemiptera	Chinche gris	<i>Chelinidea tabualata</i>	Cualquier etapa de la plantación, principalmente penca, en ocasiones fruto y tallo.	México, USA	Severa
		<i>C. vittiger</i>		México, USA	Esporádica
	Chinche roja	<i>Hesperolabops gelastops</i>	Principalmente penca de etapa productiva, a veces fruto, rara vez en la etapa de desarrollo.	México	Común
	Chinche del fruto	<i>Narnia femorata</i>	Se alimenta de los frutos principalmente, aunque también puede succionar savia de las pencas de forma externa.	México, USA	Esporádica
Homoptera (Hemiptera)	Grana cochinilla	<i>Dactylopius coccus</i>		México	Cultivada ⁴
	Cochinillas	<i>D. opuntiae</i>	Plantaciones de cualquier etapa, principalmente pencas y frutos, a veces el tallo.	México, USA	Severa
		<i>D. celyonicus</i>		Argentina	Poco común
		<i>D. indicus</i>		México	Severa
	Escama del cactus	<i>Opuntiaspis philococcus</i>	Pencas y tallos	México	Poco común
Homoptera (Homoptera)	Escama blindada	<i>Diaspis echinocacti</i>	Principalmente los troncos de plantas en producción, rara vez en desarrollo.	Norte América	Esporádica
	Escamas	<i>Diplacaspis echinocacti</i>	Principalmente los troncos y pencas de plantas en producción, rara vez en desarrollo.	Cosmopolita	Esporádica
		<i>Lepidosaphes sp.</i>	Principalmente los troncos y pencas de plantas en producción, rara vez en desarrollo.	México	Esporádica
Acari	Ácaro del nopal	<i>Terranychus opuntiae</i>	Se alimenta de la savia de manera externa, provoca una decoloración de los cladodios.	México, USA	Común

Las investigaciones de nematodos en *Opuntia* son escasas (eg. Cuadro 4), sin embargo, se cree que podrían ser de importancia porque los daños generados en raíz permiten la entrada de otros patógenos, generando infecciones secundarias por hongos y/o bacterias como el caso de *Phytophthora cactorum* (Doucet *et al.*, 2001; Palomares *et al.*, 2015). Por otro lado, se sabe que el nopal produce una gran cantidad de metabolitos inhibidores de nematodos, incluso se han probado extractos para ver el efecto contra *Meloidogyne incognita* (Ameen y Youseff, 2006).

Cuadro 4. Nematodos que afectan el cultivo de nopal.

Especie	Daño	Reportes	Referencia
<i>Heterodera cacti</i>	Debilitamiento de la planta.	México	Borrego y Burgos, 1986.
<i>Xiphidorus yepesara</i>	Reportado sólo en rizósfera.	Argentina	Luc y Doucet, 1990.
<i>Aphelenchus sp.</i> , <i>A. avenae</i> <i>Longidorus sp.</i>	Pudrición y ruptura de tallos.	México, Argentina	Doucet <i>et al.</i> , 2001; Palomares <i>et al.</i> , 2015
<i>Cactodera cacti</i>	Debilitamiento, clorosis y muerte.		
<i>Criconemella sp.</i> <i>Dorylaimida sp.</i> <i>Helicotylenchus sp.</i> <i>Hoploaimus sp.</i> <i>Nacobbus sp.</i> <i>Paratylenchus sp.</i> <i>Tylenchorhynchus sp.</i> <i>Tylenchus sp.</i>	Reportado sólo en rizósfera.	México	Palomares <i>et al.</i> , 2015

1.5 ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO

La enfermedad más importante reportada para el cultivo de nopal es el engrosamiento del cladodio, también conocido como amachamiento, a la que se le han atribuido varios agentes causales, siendo el más reciente un fitoplasma; sin embargo, hasta la fecha no es claro (Márquez *et al.* 2012). El principal síntoma es el engrosamiento del cladodio, aunque también han reportado malformaciones en frutos y pencas (ej.

acorazonamientos), atrofia de crecimiento en brotes y toda la planta, amarillamiento, proliferación de yemas y poca o nula producción de frutos (Cuadro 5)

El primer reporte de hinchamiento excesivo de las pencas fue realizado en 1967 por García (citado por Méndez, 2009). Posteriormente en 1970, Casper (citado por Dewir, 2016) mediante microscopia electrónica observó algo similar a micoplasmas en tejido de *O. tuna* con síntomas de “escoba de bruja”, asociando por primera vez a un agente causal.

Acosta *et al.* (1989) realizaron una descripción sintomatológica del engrosamiento de nopal y mediante injertos y técnicas moleculares concluyeron que no se trata de un viroide. Hernández y *et al.* (2009) mediante PCR anidado demostraron la presencia de un fitoplasma no identificado en cladodios con síntomas. Suaste *et al.* (2011) mediante coinfección de cultivos de solanáceas con cladodios infectados encontraron presencia de un virus no identificado y un fitoplasma. Cano (2012) intentó coinfección con solanáceas, sin obtener síntomas. Mendoza (2016) encontró la presencia de fitoplasmas en plantas con y sin “acorazonamiento de cladodios”, síntoma relacionado con el engrosamiento, dejando en duda al agente causal.

Los fitoplasmas no pueden ser aislados ni cultivados, por éstos motivos los postulados de Koch en *Opuntia spp.* no han sido realizados. La infección con injertos en nopal tardaría mucho por la velocidad del crecimiento de la planta y las pruebas de coinfección no han arrojado evidencia clara. Por éstos motivos, las técnicas de detección para éstos patógenos han sido principalmente moleculares y se han encontrado varios fitoplasmas asociados a diferentes sintomatologías (Cuadro 5) lo que genera confusión acerca del agente (o agentes) causales del engrosamiento.

Estudios recientes demostraron una acumulación de ácido indol acético (AIA) en cladodios engrosados (Cano, 2012). En la investigación de Márquez *et al.*, (2012), se demostró que las prácticas de manejo pobres afectan la incidencia de la enfermedad. Ramírez (2013), también encontró que, con un manejo pobre del cultivo, se presenta un desbalance nutricional de elementos como el calcio, que son factores de suma importancia para el desarrollo del engrosamiento de nopal. Además, mediante cortes histológicos observaron una acumulación de almidón en plantas sintomáticas.

Cuadro 5. Fitoplasmas reportados en especies del género *Opuntia*.

Hospedero	Sintomatología	Tejido	Técnica	Fitoplasma (Acrónimo)	Sub/grupo ribosomal	País	Referencia
<i>O. caracasana</i>	Cladodio casi rectangular, proliferación de areolas.	Cladodio	PCR: primers fU5/rU3	<i>O. caracasana</i> proliferation (OcFP)	16SrlI	Egipto	Dewir <i>et al.</i> , 2015
<i>O. cylindrica</i>	Fasciación con formas irregulares, proliferación de espinas pequeñas.	Cladodio	PCR: primers R162n/R16R2	<i>O. cylindrica</i> fasciation (OcFP)	16SrlI	México	Omar <i>et al.</i> , 2014
	Amarillamiento, cladodios atrofiados. Sin maduración de frutos.	Cladodio	PCR anidado: primers P1/P7, F1/B6, R162n/R16R2	<i>Opuntia</i> malformation and stunting Transmission by grafting	16SrlI-C	México	Granata <i>et al.</i> , 2006
	Proliferación severa de cladodios. Falta de flores, frutos y espinas.	Cladodio	PCR anidado: primers P1/P7 con R16F2n/R16R2 o fU5/rU3	No reportado	16SrlI-C	Egipto	Tessitori <i>et al.</i> , 2006
	Atrofia severa y proliferación del cladodio. Cladodios de plantas "recuperadas" de tamaños anormales.	Cladodio	PCR anidado: primers P1/P7 con F1/B6 y R16F2/R2. Análisis RFLP con enzimas TaqI, RsaI, BfaI y TruI.	Related to <i>Candidatus</i> Phytiplasma ulmi y <i>Ca. P. asteris</i> . Elm Yellows phytoplasma	16Srl-B 16SrV-A	y Estados Unidos	Bertaccini, <i>et al.</i> , 2007
<i>O. ficus-indica</i>	Amarillamiento, cladodios atrofiados. Sin maduración de frutos.	Cladodio	PCR anidado: primers R16mF2/R1, R16F2n/R16R2	No reportado	16SrlI	México	Hernández-Pérez <i>et al.</i> , 2009.
	<u>Engrosamiento del cladodio</u> y atrofia de crecimiento. Amarillamiento. Ausencia de frutos.	Cladodio	PCR: primers R16F2n/R16R2	Cactus male plant Phytoplasma	16Srl	Egipto	Zak <i>et al.</i> , 2011
	Deformación y <u>engrosamiento</u> del cladodio, mosaico, amarillamiento, proliferación y deformación de frutos en toda la planta o parte de ella.	Raíz y cladodio	PCR anidada: primers P1/P7 y P1/Tint con R162F2/R16R2. Patrones de restricción: endonucleasas HaeIII, KpnI y MseI (TrU91)	Mexican periwinkle virescence	16SrXIII	México	Suaste <i>et al.</i> , 2012
	Atrofia de crecimiento. Proliferación de yemas axilares.	Cladodio	PCR: primers R16F2n/R16R2	Cactus witches' broom phytoplasma strain Yangling (CaWB-YL)	16SrlI-C	China	Li <i>et al.</i> , 2012
<i>O. linguiformis</i>	Proliferación de cladodios jóvenes, aplanados en forma de hoja a modo de yemas axilares.	Cladodio	PCR anidado: primers R16Mf2/R16Mr1 con R16F2n/R16R2	No reportado	16SrlI	Italia	Cai <i>et al.</i> , 2002
<i>O. monacantha</i>	Proliferación de meristemos.	Meristemo	PCR anidado: primers R16mF2/R1 con R162n/R16R2 o fU5/rU3	No reportado	16SrlI	Italia	Choueiri <i>et al.</i> , 2005
<i>Opuntia spp.</i>	Proliferación de yemas axilares (escoba de bruja). Atrofia de crecimiento.	No reportado	PCR anidada: primers P1/P7 y P1/Tint con R162F2/R16R2. Clonación de amplicones y secuenciación.	Relacionado con CaWB-YL	16SrlI-C	China	Li, <i>et al.</i> , 2012b

1.6 LITERATURA CITADA

- Acosta O. F. (1989). Estudio sobre el engrosamiento de cladodios en nopal (*Opuntia spp.*) Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- Ameen, H. H. Youssef, M. M. (2006). Effect of different management practices n Meloidogyne incognita root-knot nematode infecting cowpea. Pakistan Journal of nematology. Vol. 24 (2).
- Arias, S. Gama, L. S. Guzmán, C. L. y Vázquez, B. B. (2012). Cactaceae Juss. Flora de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 95. 1-235 pp.
- Bezerra, J. D. Santos, M, G. Svedese, V. M. Lima, D. M. Fernandes, M. J. Paiva, L. M. y Souza-Motta, C. M. (2012). Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. World J. Microbiol Biotechnol. 28 (5): 1989-1995 pp.
- Britton, N. y Rose, J. (1919). The Cactaceae: Descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Carnegie Institution of Washington. No. 248. Vol. I. 235 pp.
- Cano, H. R. (2012). Estudios de aspectos bióticos y fisiológicos relacionados al engrosamiento de cladodios del nopal (*Opuntia ficus-indica*). Teis para obtener el título de M.C. en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
- Dickie, J. D. y Pritchard, H. W. (2002). Systematics and evolutionary aspects of dessiccation tolerance in plants. Pp. 239-259, in Black, M., & Pritchard, H. W. (eds), *Dessiccation and Survival in Plants*. CABI Publishing, Wallingford.
- Doucet, M. E. Whet, S. Felker, P. (2001). Nematodes as possible cause of damage to *Opuntia ficus-indica* in the province of Santiago del Estero, Argentina. J. PACD. 85-90 pp.
- Flores, G. J. y Velazco, C. G. (2008). Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noreste de México. CIENCIA-UANL, Vol. 11 (1): 1-11 pp.
- Flores, J. L. y Yeaton, R. I. (2000). La importancia de la competencia en la organización de las comunidades vegetales en el Altiplano mexicano. Interciencia. Vol. 25 (8): 365-371 pp.
- Hernández, P. R. Noa, C. C. Gaspar, R. Mata, P. y Flores, E. N. (2009). Detection of Phytoplasma on Indian Fig (*Opuntia ficus-indica* Mill) in Mexico Central Region. OnLine Journal of Biological Sciences. 9 (3): 62-66 pp. ISSN 1608-4217.
- Hernández, H. Hernández, H. T. de Nova, J. Puente, R. Eguiarte, L. y Magallón, S. (2011). Phylogenetic relationships and evolution growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotledoneae). American Journal of Botany 98: 44-61 pp.
- Hernández, S. E. Mora, A. G. Tlapal, B. B. Rodríguez, L. E. y Alvarado, R. E. (2014). Efecto de intensidad inicial de enfermedad en la caracterización temporal y espacial de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*). Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 32. No. 2: 132-146 p.
- Hunt, D. R. (2002). That's *Opuntia*, that was! *Succus. Plant Res.* 6: 245-249.
- Hunt, D. R., Taylor, N. y Charles, G. (2006). The new Cactus Lexicon. 2 vols. DH Press. Milborne Port.
- León, J. (2000). Botánica de los cultivos tropicales. Ed. Agroamérica. IICA. 79-80 pp.
- Lerner, S. L. (2010). Cactaceae. En: Flora Fanerogámica del Valle de México. Calderón, R. G. y Rzedowsky J. INECOL. México. 431-469 pp.
- Majure, L. Puente, R. Griffith, P. Jud, W. Soltis, P. and Soltis, D. (2012). Phylogeny of *Opuntia sp.* (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. American Journal of Botany 99 (5): 847-864 pp.
- Márquez, B. S. Torcuato, C. C. Almaguer, V. G. Colinas, L. M. Khalil, G. A. (2012). El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* y *O. megacantha*) en

- Axapusco, Estado de México. Problemática y alternativas. Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 18 (1): 81-93 pp.
- Mena, C. J. (2011). Insectos plagas del Nopal: Como tomar decisiones con un enfoque de manejo integrado. IX Simposium-Taller nacional y II Internacional de producción de Nopal y Maguey. RESPYN "Revista Salud Pública y Nutrición". Ed. Especial No. 5. 65-74 pp. ISSN 187770-0160.
- Méndez, G. S. Talavera, M. D. y García, H. J. (2009). VII Simposium- Producción y aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México. Revista Salud Pública y Nutrición. Ed. Especial No. 2. 55-56.
- Mendoza, O. M. (2016). Acorazonamiento de cladodios en sistemas productivos de nopal *Opuntia sp.* Tesis para obtener el título de M.C. en Innovación y Manejo de Recurso Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus San Luis Potosí.
- Mondragón, J. c. (2002). Caracterización genética de una colección de nopal (*Opuntia spp.*) de la región centro de México. Agricultura Técnica en México. Vol. 28 (1). 3-14 pp.
- Palomares, P. M. Rodríguez, V: B. y Ayala, Z: M. (2015). Nematodos asociados al nopal *Opuntia ficus-indica* L. (Miller) en Milpa Alta, Ciudad de México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas No. 11: 2205-2209 pp.
- Pérez, O. S. (2004) La flora del escudo nacional mexicano. Polibotánica. No. 18: 53-73 pp. ISSN 1405-2768.
- Reyes, A. J. Aguirre, R. R. y Hernández, H. (2005). Notas sistemáticas y una descripción detallada de *Opuntia fics-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). Agrociencia 39: 395-408 pp.
- Ramírez, A. N. (2013). Factores bióticos y abióticos relacionados al engrosamiento del cladodio de nopal (*Opuntia ficu sindica* (L.) Mill.). Tesis para obtener el título de M.C. en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México. (2015). [en línea: 2016] http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp
- Stevens, P. F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Versión 12, Julio 2012 [mantenimiento continuo después de eso].
- Suaste, D. Rojas, M. y Zavaleta, M. (2012). Detección Molecular de Fitoplasmas en Nopal Tunero (*Opuntia ficus-indica*) con síntomas de engrosamiento del cladodio. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 30 (1): 72-80 pp.
- Valdez, C. R. Blanco, M. F. Magallanes, Q. R. Vázquez, A. R. y Revelez, H. M. Avances en la nutrición del Nopal en México. (2010). VIII Simposium- Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal". RESPYN. Ed. Especial No. 5: 1-14 pp.
- Zimmerman, H. G. y Granata, G. (2002). Insect pest and diseases. En: Cacti: Biology and Uses. Capítulo 14. University of California. Press. p. 248

Referencias Cuadro 1 y 2

- Alvarez, M. G. (1976). Primer catálogo de enfermedades de plantas mexicanas. Fitofilo, 71, 1-169.
- Ayala, E. V. Yáñez, M. M. Braun, U. Groenewald, J. Z. y Crous, P. W. (2006). *Pseudocercospora opuntiae* sp. nov., the causal organism of cactus leaf spot in Mexico. Fungal Diversity. 1-9 pp.
- CESAVE. (2004). Las principales plagas y enfermedades en la región de Milpa alta, Distrito Federal. Caracterización y manejo fitosanitario del cultivo de nopal. 25-27 pp.

- De la Torre, A. R. (2001). Inventario fitopatológico de las especies vegetales dominantes en la región de Zapotitlán de las Salinas, Pue. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R013. México, D.F.
- Flores, F. R. (2012). Identificación de hongos asociados a la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) y su sensibilidad al quitosano. Tesis para obtener el título de M.C. en Manejo Agroecológico de plagas y enfermedades. Instituto Politécnico Nacional.
- Méndez GS de J, Talavera MD, García HEJ. (2007). Revista Salud Pública y Nutrición. Identificación y Control De Las Enfermedades Más Comunes En El Nopal. 06 – 110
- Méndez, G. S. Talavera, M. D. y García, H. J. (2009). VII Simposium- Producción y aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México. Revista Salud Pública y Nutrición. Ed. Especial No. 2. 55-56.
- Mendoza, O. M. (2016). Acorazonamiento de cladodios en sistemas productivos de nopal *Opuntia sp.* Tesis para obtener el título de M.C. en Innovación y Manejo de Recurso Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus San Luis Potosí.
- Schwendener, S. (1898). 20. W. Zaleski: Zur Keimung der Zwiebel von *Allium Cepa* und Eiweissbildung.
- Vargas, M. A. Flores, H. A. y Basaldua, S. J. (2008). Dinámica poblacional de las principales plagas de nopal *Opuntia spp.* en la zona semiárida de Querétaro. Revista Chapingo. Serie Zonas Áridas. 7: 21-27.
- Zimmerman, H. G. y Granata, G. (2002). Insect pest and diseases. En: *Cacti: Biology and Uses*. Capítulo 14. University of California. Press. p. 248

Referencias Cuadro 3

- Hernández, S. E. Mora, A. G. Tlapal, B. B. Rodríguez, L. E. y Alvarado, R. E. (2014). Efecto de intensidad inicial de enfermedad en la caracterización temporal y espacial de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*). Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 32. No. 2: 132-146 p.
- Hunter, W. D. Prat, F. C. y Mitchell, J. D. (1912). The principal cactus insects of the United States. Bureau of Entomologist. Boletín No. 113. U. S. Department of Agriculture. 1-71 pp.
- Lozano, G: J. Epaña, L. M. y González, G. E. (2014). Entomofauna asociada al nopal tunero (*Opuntia sp.*) en Zacatecas. Revista Entomología Mexicana. Sociedad Mexicana de entomología. 596-600 pp.
- Mena, C. J. (2011). Insectos plagas del Nopal: Como tomar decisiones con un enfoque de manejo integrado. IX Simposium-Taller nacional y II Internacional de producción de Nopal y Maguey. 2010. RESPYN "Revista Salud Pública y Nutrición". Ed. Especial No. 5. 65-74 pp. ISSN 187770-0160.
- Zimmerman, H. G. y Granata, G. (2002). Insect pest and diseases. En: *Cacti: Biology and Uses*. Capítulo 14. University of California. Press. p. 248
- Zimmermann, H. G. Moran, V. C. y Hoffman, J. H. (2000). The renowned cactus moth, *Cactoblastis cactorum*: its natural history and threat to native *Opuntias* floras in México and the United States of America. Diversity and distributions. Vol. 6 (5): 259-269 pp.

Referencias Cuadro 4

- Borrego, E. F. y Burgos, V. N. (1986). El Nopal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Press. Coahuila. México: 202 pp.
- Doucet, M. E. Whet, S. Felker, P. (2001). Nematodes as possible cause of damage to *Opuntia ficus-indica* in the province of Santiago del Estero, Argentina. J. PACD. 85-90 pp.
- Luc, M. y Doucet, M. E. (1990). La familia Longidoridae Thorne, 1935 (Nemata) en Argentina. Revta Cienc. Agropec., Córdoba, Argentina. No. 7:19-25 pp.
- Palomares, P. M. Rodríguez, V: B. y Ayala, Z: M. (2015). Nematodos asociados al nopal *Opuntia ficus-indica* L. (Miller) en Milpa Alta, Ciudad de México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas No. 11: 2205-2209 pp.

Referencias Cuadro 5

- Bertaccini, A. Calari, A. y Felker, P. (2007). Developing a method for phytoplasma identification in cactus pear samples from California. Bulletin of Insectology 60 (20): 257-258 pp. ISSN 1721-8861.
- Choueiri E, Massad R, Jreijiri F, Danet JL, Salar P, Bové JM and Foissac X (2005). First report of a 16SrII group phytoplasma associated with shoot proliferation of a cactus (*Opuntia monacantha*) in Lebanon. Plant Disease, 89: 1129.
- Dewir YH, El-Mahrouk ME and Omar AF (2015). Molecular characterization of 16SrII phytoplasma group and associated down-regulation of ABA and IAA in *Opuntia caracasana*. Phytopathogenic Mollicutes, 5: 100-106.
- Dewir, Y. (2016). Cacti and succulent plant species as phytoplasma hosts: A review. Phytopathogenic Mollicutes. Vol 6 (1): 1-9 pp.
- Granata G, Paltrinieri S, Botti S and Bertaccini A (2006). Aetiology of *Opuntia ficus-indica* malformations and stunting disease. Annals of Applied Biology. 149: 317-325.
- Hernández-Pérez R, Noa-Carranza JC, Gaspar R, Mata P and Flores-Estévez N (2009). First report of symptoms associated to a phytoplasma affecting Nopal (*Opuntia ficus indica* Mill) in the "Pyramids" Indian, State of Mexico. Journal of General and Molecular Virology, 1: 46-47.
- Li Z-N, Zhang L, Bai Y-B, Liu Pand Wu Y-F. (2012a). Detection and identification of the elm yellows group phytoplasma associated with Puna chicory flat stem in China. Canadian Journal of Plant Pathology, 34: 34-41.
- Li, Z. Lei, Z. Liu, P. Bai, Y. Yang, X. y Wu, Y. (2012b). Detection and molecular characterization of cactus witches´- broom disease associated with a group 16SrII phytoplasma in nithern areas of china.
- Omar AF, Dewir YH and El-Mahrouk ME (2014). Molecular identification of phytoplasmas in fasciated cacti and succulent species and associated hormonal perturbation. Journal of Plant Interactions, 9: 632-639.
- Suaste, D. Rojas, M. y Zavaleta, M. (2012). Detección Molecular de Fitoplasmas en Nopal Tunero (*Opuntia ficus-indica*) con síntomas de engrosamiento del cladodio. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 30 (1): 72-80 pp.
- Tessitori M, Masenga V and Marzachi C (2006). pear (*Opuntia ficus-indica*) in Italy. Plant Pathology, 55: 292.
- Zak LF, Yáñez-Morales MJ, Alanis-Martínez I and González-Pérez E (2011). New hosts of 16Srl phytoplasma group associated with edible *Opuntia ficus-indica* crop and its pests in Mexico. African Journal of Microbiology Research, 5: 910-918.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA GENERAL

2.1 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO



Figura 2. Ejemplo de esquejes sembrados en bolsas de plástico. El sustrato rojizo del lado izquierdo corresponde al Sustrato Experimental (SE) y del lado derecho se observa el suelo de la nopalera de Chapingo (UACH).

En junio-julio 2014 se llenaron bolsas negras de plástico de 1 kg de capacidad (Figura 2.) con suelo de la nopalera de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y Sustrato Experimental (SE) compuesto por Perlita, Vermiculita y Tezontle (1:1:2). El suelo se pasó por una malla de 2 mm y ambos sustratos fueron lavados y desinfectados con una solución de ácido sulfúrico de grado técnico al 0.2% antes de vaciarse en las bolsas.

El suelo fue tomado de la zona productora de nopal en la UACH, Texcoco, Edo. De México (N 19°29.714' y W 098°52.403'). Fue seleccionado como suelo problema ya que Ramírez (2013) reportó un desbalance nutricional asociado a una alta incidencia de la enfermedad en plantas desarrolladas en este suelo. El análisis químico de suelo mostró los valores reportados en el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de suelo de la UACH.

Variables	Valores	Diagnóstico
pH	7.07	Neutro
Calcio (Ca ²⁺)	4,701 ppm	Alto
Magnesio (Mg)	1,174 ppm	Alto
Fósforo (P)	474 ppm	Muy Alto
Hierro (Fe)	72.4 ppm	Muy Alto
Potasio (K)	645 ppm	Alto
Mg/K*	5.8	Muy Alto

Fuente: Ramírez, 2013. El análisis completo puede verse en el Anexo I.

* Aunque el nivel de K sea alto, la relación de cationes Mg/K es muy alta, lo que impide la absorción de K.

2.2 NUTRICIÓN

Se preparó una solución nutritiva base (Cuadro 7) que se agregó en distintas proporciones según el tratamiento aplicado (Cuadro 8).

Cuadro 7. Solución nutritiva general aplicada para la fertilización de las plantas experimentales.

Fuente	mg⁻¹ L de agua^{*,**}	Nutrimento	20 L	100 L	200 L
Nitrato de K	150-250 (150)	N	3 g	15 g	30 g
Ácido fosfórico	40 mL	P	800 mL	4 L	8 L
Nitrato de K	289-350 (225)	K	4.50 g	22.5 g	45 g
Nitrato de Ca	210	Ca	4.2 g	21 g	42 g
Sulfato de Mg	40	Mg	800 mg	4 g	8 g
Sulfato ferroso	12	Fe	240 mg	1.2 g	2.4 g
Sulfato de Cu	0.1	Cu	2 mg	10 mg	20 mg
Sulfato de Zn	0.2	Zn	4 mg	20 mg	40 mg
Ácido bórico	0.6	B	12 mg	60 mg	120 mg
Sulfato de manganeso	2	Mn	40 mg	200 mg	400 mg
Molibdeno	0.05	Mo	1 mg	5 mg	10 mg

Fuente: Vázquez *et al.*, (2010). Producción hidropónica de nopal verdura.

*Solución nutritiva estándar utilizada por Mondragón y Pérez (2003).

** Rangos de concentración de elementos minerales esenciales (ppm) de diversos autores (Carrasco e Izquierdo, 1996).

El pH de la solución nutritiva se mantuvo entre 5.8-6.5 y CE de 2 mS⁻¹ o 35 dS M⁻¹. El pH se ajustó usando ácido fosfórico o nítrico, de acuerdo a los valores registrados. La solución nutritiva fue reemplazada cada 15-30 días. Los fertilizantes de baja solubilidad se disolvieron antes de ser agregados a la solución, después se agregaron los productos de reacción ácida y enseguida los micronutrientes.

Los experimentos fueron establecidos el 10 de dic del 2014 en un invernadero dentro de las instalaciones de la Universidad. La solución nutritiva fue preparada como se muestra en el Cuadro 7, la única variable fue que en algunos tratamientos se adicionaron 1,000 ppm (tratamiento 4 y 9) y 3,000 ppm (tratamiento (5 y 8) de Ca.

2.3 INSTALACIÓN DEL EXPERIMENTO

Después de 5-6 días de la preparación del sustrato, fueron trasplantados esquejes de cladodios sintomáticos y asintomáticos de *O. ficus-indica* provenientes de la zona nopalera de Teotihuacán, Edo. de México. Las plantas fueron colocadas en uno de los invernaderos de fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo. El establecimiento de los tratamientos (Cuadro 8) inició el 10 de diciembre de 2014. La toma de datos morfológicos se realizó en mayo de 2016; la evaluación de severidad y colecta de muestras para el análisis hormonal fue durante febrero de 2017, es decir 18 y 26 meses respectivamente después de la primera aplicación de los tratamientos, aunque las diferencias morfológicas ya se observaban desde el primer año.

Cuadro 8. Tratamientos aplicados.

TRAT	MS/MAS *	Sustrato **	Fertilización %	Calcio	Hipótesis***
1	S	SE	0	0	S
2	S	UACH	0	0	S
3	AS	UACH	0	0	S
4	AS	UACH	100	1000	¿AS?
5	AS	SE	100	3000	AS
6	AS	SE	100	0	¿AS?
7	S	SE	100	0	¿AS?
8	S	SE	100	3000	AS
9	S	SE	100	1000	¿AS?
10	S	SE	20	0	S
11	AS	SE	20	0	S

*MS= Planta Madre Sintomática; MAS = Plantas Madre Asintomáticas

**SE = Sustrato experimental; UACH = Suelo UACH

*** S= Plantas Sintomáticas; AS = Plantas Asintomáticas

2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Las variables evaluadas fueron la incidencia de la enfermedad y la morfología (Capítulo III) y la producción de hormonas (Capítulo IV) en análisis distintos utilizando el mismo modelo. Cada planta se consideró como una unidad experimental. El diseño de los tratamientos se obtuvo como un factorial $5 \times 2 \times 2$ que corresponden a nutrición, sustrato y sintomatología respectivamente (Cuadro 9). Se seleccionaron únicamente 11 tratamientos (Cuadro 8), con un arreglo de bloques completos al azar con 9-15 repeticiones. De éstas repeticiones se utilizaron todas las disponibles para las mediciones morfológicas (Capítulo III) y sólo 4 repeticiones para la extracción de reguladores de crecimiento (Capítulo IV).

Cuadro 9. Factores y niveles utilizados para el diseño del experimento.

Factores	Niveles
Sintomatología *	Sintomáticas (S), asintomáticas (AS)
Sustrato	UACH, SE
Fertilización	0%, 20%, 100% 100% + Ca 1000 ppm, 100% + Ca 3000 ppm

* Es importante destacar que el factor Sintomatología se refiere al estado de la planta madre de donde se obtuvieron los esquejes que fueron sembrados en el experimento.

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si se satisfacían los supuestos fundamentales del modelo lineal general de la estadística paramétrica, reflejados en el supuesto de que los residuales se distribuyen normal e independientemente con media cero y varianza sigma cuadrada, homoscedástica. Se realizó primero una prueba de bondad de ajuste usando software SAS versión 9.4 (SAS Institute, Inc, Cary, NC), el cual también se utilizó para el análisis estadístico. Los datos se analizaron con el procedimiento PROC GLIMMIX, mediante un Modelo Lineal Generalizado usando como función de probabilidad base la distribución Poisson y como función de enlace (Link) al Log. Se utilizaron los factores (Sintomatología, Sustrato y Fertilización) como efectos fijos mientras que las repeticiones se usaron como efectos aleatorios. La media μ_{ijkl} se expresa como una función de los efectos principales y las interacciones dobles con base en el siguiente modelo estadístico:

$$\mu_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + e_{ijkl}$$

$$i = 1, 2, \dots, a; j = 1, 2, \dots, b; k = 1, 2, \dots, c; l = 1, 2, \dots, r$$

Donde $\bar{\mu} = \mu$ es la media general, α , β y γ son los efectos principales: Fertilización, sintomatología y sustrato, respectivamente, en cada uno de sus a, b o c niveles en r repeticiones, los efectos de las interacciones dobles son $(\alpha\beta)_{ij}$, $(\alpha\gamma)_{ik}$ y $(\beta\gamma)_{jk}$ y, por último, e_{ijkl} es el error experimental aleatorio.

2.5 LITERATURA CITADA

- Carrasco, G. e Izquierdo, J. (1996). Anual técnico. La empresa hidropónica de mediana escala: La técnica de solución nutritiva recirculante (“NFT”). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Universidad de Talca.
- Mondragón, J. C. y Pérez, G. S. (2003). El nopal (*Opuntia spp.*) como forraje. Estudio FAO de Producción y Protección vegetal No. 169. 124-126 pp. IIN 1014-1227.
- Vázquez, A. R. Valdez, C. R. Blanco, M. F. Ojeda, Z. M. y Martínez, L. J., (2010). Producción hidropónica de nopal verdura. VIII Simposium- Taller Nacional y 1er Internacional “Producción y Aprovechamiento del Nopal”. RESPYN. Ed. Especial No. 5: 15-36 pp. ISSN 1870-0160

CAPÍTULO III.

EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN EL DESARROLLO DE SINTOMAS DE ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO EN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

NUTRITIONAL EFFECTS ON THE DEVELOPMENT OF CLADODE THICKENING SYMPTOMS IN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Sánchez Ávila S. A.¹ y Valadez Moctezuma E.²

Resumen: El engrosamiento del cladodio es uno de los principales problemas que merman la producción de nopal en México. Se han asociado varios agentes causales, aunque sigue sin definirse. La incidencia del amachamiento del nopal aumenta en plantaciones con manejo y nutrición pobre. En éste trabajo se aplicaron 11 diferentes tratamientos de fertilización para ver el efecto de la nutrición en el desarrollo de síntomas de engrosamiento en *Opuntia ficus-indica*. Se encontró que el engrosamiento no se transmite a las clonas mediante la planta madre. Los tratamientos con la aplicación más alta de Ca tuvieron la incidencia más baja de síntomas (0-10%) mientras que en los tratamientos con peor nutrición hubo incidencia de hasta el 100%. Las medias de los diferentes niveles de fertilización fueron significativamente diferentes para todas las variables evaluadas a un nivel de confianza del 95%, agrupándose con un orden generalmente lógico en el que los tratamientos con una nutrición más completa presentaron medias más altas.

Palabras clave: Engrosamiento del cladodio, fertilización, nutrición, *Opuntia*, fitohormonas.

Abstract: The cladode thickening is one of the main problems that diminish cactus pear production in Mexico. Several causal agents have been associated with this problem, but they remain undefined. In this study, we applied 11 treatments to evaluate the nutritional effects on the development of thickening symptoms in *Opuntia ficus-indica*. We found that thickening is not transmitted to the clones by the parent plant. The treatments with the highest application of Ca had the lowest incidence of symptoms (0-10%), whereas those with poor nutrition had an incidence of up to 100%. The means of the different levels of fertilization were significantly different for all the variables evaluated at a 95% confidence level, grouping with a generally logical order in which the richest treatments presented higher means.

Keywords: Cladode thickening, fertilization, nutrition, *Opuntia*, phytohormones.

¹ Tesista: M. en C. en Protección Vegetal, Dpto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

² Directora de tesis: Profesora Investigadora de tiempo completo, Dpto. de Fitotecnia, UACH.

3.1 INTRODUCCIÓN

3.1.1 Nutrición y requerimientos agroecológicos

El nopal se distribuye desde Canadá hasta Argentina y Chile, con varias especies naturalizadas en Europa, Asia, África y Australia (Lerner, 2010; Arias *et al.* 2012). Crece principalmente en zonas áridas o semiáridas, con humedad seca a semiseca, con una precipitación pluvial de 117 y 1805 mm, siendo alrededor de 400 mm el nivel óptimo para la producción (Medina *et al.*, 2007). También puede desarrollarse en regiones templadas, subhúmedas y tropicales. Son plantas perennes de fotoperiodo corto, realizan la fotosíntesis tipo CAM y reducen la asimilación de CO² en períodos de sequía de 45 días en adelante. Soporta temperaturas de entre 6 y 36 °C, la asimilación de CO² es cero a temperaturas fuera del rango, por lo que la planta no puede sobrevivir durante mucho tiempo. El desarrollo óptimo se encuentra entre 18 y 20 °C (Medina *et al.*, 2007).

El cultivo prospera en suelos poco profundos con textura arenosa, arenoso-arcillosa, calcáreos y alcalinos, aunque puede habitar en una amplia gama de suelos siempre y cuando tengan un buen drenaje (Medina *et al.*, 2007), y no excedan del 20% de arcilla, con un pH de 5-7.5 (Pimienta, 1988).

Márquez *et al.* (2012) y Ramírez (2013), encontraron un manejo pobre de los cultivos de nopal en diferentes regiones del país, esto incluye una fertilización escasa, nula o poco balanceada en general, reduciendo el rendimiento del cultivo y haciéndolo más propenso a enfermedades. Ramírez (2013) encontró una correlación entre el engrosamiento de cladodios del nopal y el desbalance de Ca²⁺ en suelos. El nopal se considera una planta rústica, es decir se acostumbra un manejo y fertilización escasos; sin embargo, se ha observado que responde positivamente ante la fertilización adecuada (Valdez *et al.*, 2010). Se han sugerido diferentes fertilizaciones para el nopal y se han estudiado los efectos de la aplicación y deficiencia de los micronutrientes como se muestra en la Cuadro 10.

Cuadro 10. Micronutrientes sugeridos y síntomas de deficiencia.

Micronutriente	Fertilización suelo (ppm)	Solución mg ⁻¹ L de agua	Fertilización óptima (g/kg)	Absorción planta *	Efectos positivos de aplicación	Síntoma de deficiencia
Nitrógeno (% de N)	0.5 a 1 (%)	150-250	13.07	23.7	Proliferación de brotes y yemas florales. Aumento materia seca.	Poco crecimiento, sin hojas subuladas, coloración clorótica o amarillenta. Falta de brotación.
Fósforo (P ₂ O ₅)	80 a 250	40 (mL)	1.16	7.06	Mayor materia seca (kg) y yemas florales	Hojas subuladas moradas. Sin brotación. Enanismo e inmadurez.
Potasio (K ₂ O)	150 a 250	289-350	44.39	112.5	Mayor materia seca, yemas florales y calidad del fruto.	Cladodios con deshidratación basal, sin hojas. Sin brotes.
Calcio (Ca ₂ ⁺)	2000-3000	210	38.09	95.36	Mayor rendimiento de tuna y cladodios.	Adelgazamiento y deformación de cladodios.
Magnesio (Mg ₂ ⁺)	200 a 300	40	17.29	41.7		Clorosis en las hojas subuladas
Hierro (Fe ₂ ⁺)	5 a 10	12				
Referencias	Fanzone, 1991	Mondragón y Pérez, 2003		Valdez <i>et al.</i> , 2010; Blanco, 2010.		Fernández <i>et al.</i> , 2015; Moreno, 2007; Blanco, 2010.

*Absorción por planta por ciclo para obtener un rendimiento del 95%.

3.2 OBJETIVOS

- Determinar el efecto de la nutrición en el desarrollo de síntomas de engrosamiento en *Opuntia ficus-indica*.

3.3 MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

El diseño de los tratamientos se obtuvo como un factorial 5×2×2 (Fertilización, sintomatología y sustrato, respectivamente), en el que se seleccionaron únicamente 11 tratamientos (Cuadro 12), considerando cada planta como una unidad experimental con 9-15 repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron la incidencia de la enfermedad y la morfología. Los datos morfológicos se analizaron en SAS con el procedimiento PROC GLIMMIX, mediante un Modelo Lineal Generalizado con distribución Poisson y utilizando como función de enlace al Log. Los factores Sintomatología, Sustrato y Fertilización fueron usados como efectos fijos y las repeticiones como efectos aleatorios. En base a esto se plantearon las siguientes hipótesis:

H₀: Los efectos de los tratamientos aplicados sobre las variables morfológicas analizadas serán iguales para todos los tratamientos.

H_a: Por lo menos habrá un tratamiento con un efecto diferente sobre las variables morfológicas.

Severidad e incidencia

Se realizó una escala de severidad (Cuadro 11) que se utilizó posteriormente para determinar la severidad, moda e incidencia por tratamiento, además de ser la referencia para seleccionar las plantas para la medición de hormonas (Cap. III), ya que se seleccionaron las que presentaban un valor de severidad representativo del tratamiento (moda). Para cada tratamiento se planteó una hipótesis de presencia/ausencia de la enfermedad (Cuadro 12).

Cuadro 11. Escala de severidad del engrosamiento de cladodios de nopal.

Valor *	Características **
0	Alto crecimiento (3 o más pencas) sin engrosamiento
1	Bajo crecimiento (1-2 pencas) sin engrosamiento
2	Alto crecimiento con engrosamiento y/o malformación (3 o más pencas)
3	Bajo crecimiento con engrosamiento y/o malformación (1-2)
4	Sin crecimiento (0-1 penca) apariencia marchita o rugosa

* Se consideró que los valores 0 y 1 representaban plantas sanas para obtener la incidencia.

** No se consideró el esqueje de origen para el conteo de pencas.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de severidad e incidencia

Cuadro 12. Resumen de tratamientos aplicados, incidencia e hipótesis.

Trat	MS/ MAS*	Sust **	Fertilización %	Ca	Hipótesis ***	Severidad Moda	Incidencia %	Resultado ***
2	MS	UCh	0	0	S	4	100	S
3	MAS	UCh	0	0	S	4	100	S
1	MS	SE	0	0	S	2	100	S
10	MS	SE	20	0	S	3	73.33	S
11	MAS	SE	20	0	S	0	46.66	S
6	MAS	SE	100	0	¿AS?	0	33.33	S
7	MS	SE	100	0	¿AS?	0	40	S
4	MAS	UCh	100	1000	¿AS?	4	93.33	S
9	MS	SE	100	1000	¿AS?	0	40	S
8	MS	SE	100	3000	AS	0	0	AS
5	MAS	SE	100	3000	AS	0	10	AS

Tratamientos ordenados por riqueza nutricional de menor a mayor.

*Sintomatología de la planta de origen, MS= Madre Sintomática; MAS = Planta Madre Asintomática.

**SE = Sustrato experimental; UCh = Suelo UCh.

*** Síntomatología de la planta tratada (unidad experimental), S= Sintomática; AS = Asintomática

La moda de severidad más alta (4) se encontró únicamente en los tratamientos con sustrato UCh (Cuadro 12 y Figura 3). Al compararse los tratamientos 1 y 2 que sólo se diferencian por el sustrato, se puede ver una variación en los niveles de severidad, siendo el tratamiento 2 con el sustrato UCh el más afectado. En el tratamiento 4 con suelo UCh la incidencia se disparó notoriamente (93%) en comparación con los tratamientos 9 y 7 (40%) con SE, lo que señala que el sustrato es un elemento importante.

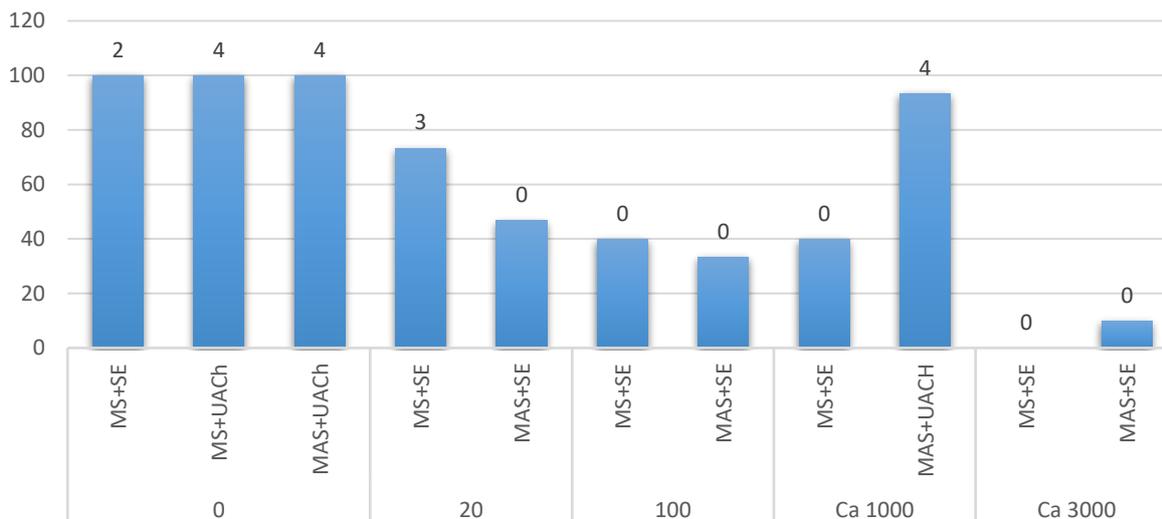


Figura 3. Gráfica de barras del de la nutrición sobre la severidad e incidencia del engrosamiento del cladodio. El número encima de cada barra indica la severidad mientras que la barra indica el porcentaje de incidencia. El eje de las equis muestra el tratamiento y se agrupan de la nutrición más baja a la más alta. Donde: (MS) = Madre Sintomática; (SE) = Sustrato Experimental; (UACH) = Suelo UACH.

Los contrastes de las medias de la incidencia mostraron que los tratamientos con un nivel de Ca adicionado de 3,000 ppm, son estadísticamente diferentes al resto de los niveles con un valor de $P= 0.0031$. Demostrando que el nivel de Ca 3,000 fue el mejor para reducir la incidencia del engrosamiento.

A pesar de que el suelo UACH posee grandes cantidades de Ca^{2+} , según el análisis de suelo (Cuadro 6, ANEXO I) la incidencia de la enfermedad se disparó, estos datos concuerdan con Ramírez (2013) que reportó el suelo UACH como un suelo con alta incidencia de la enfermedad. Por otro lado, los síntomas de marchitez (severidad 4) encontrados únicamente en el suelo UACH se asemejan a los reportados por Fernández *et al.* (2015) al inducir la deficiencia de Potasio en nopal, por lo que los síntomas de marchitez en particular pueden estar asociados con K, mientras que los otros niveles de severidad en el que se encuentran engrosamientos, malformaciones estén asociados a los desbalances de Ca^{2+} . La cantidad de K en análisis de suelo es alta, sin embargo, la relación de iones Mg/K es baja (ANEXO I), lo que indica una deficiencia de K, pues se sabe que los desbalances iónicos pueden impedir la adecuada absorción de diversos nutrientes y considerando además que la textura del suelo es más fina que en el SE, puede explicarse el fenómeno de la deficiencia mediante la absorción diferencial y regulación del potencial hídrico.

Fernández *et al.* 2015 encontraron malformaciones y contrario al presente trabajo, también observaron adelgazamiento de cladodios en tratamientos con deficiencia de Ca, aunque los tejidos de dichas plantas presentaban una absorción de Ca similar a los controles. Las diferencias reportadas pueden explicarse con los mecanismos conocidos de regulación de estrés salino, como detalla Hanin *et al.* (2016).

Fernández *et al.*, (2015) indujo deficiencias a corto plazo partiendo de plantas sanas con buena nutrición, mientras que en este estudio las deficiencias se observaron a largo plazo partiendo de plantas sanas y enfermas con una nutrición pobre desde el inicio. Es decir, en las plantas con deficiencia a corto plazo, se activa un mecanismo de regulación del potencial hídrico, para evitar la pérdida de la concentración de Ca al absorber agua, lo que se traduciría en un adelgazamiento. Esto tendría sentido en plantas con deficiencias a largo plazo, en las que la concentración de Ca en tejidos sea tan baja como la del medio y por tanto la absorción de agua no disminuya la concentración de iones en los tejidos; incluso si la concentración del medio es baja pero más alta que en el tejido, sería necesario absorber una gran cantidad de medio para lograr balancear los niveles y finalmente provocaría un engrosamiento.

Todo esto es coherente con las afirmaciones de Hanin *et al.* (2016) sobre los mecanismos de las plantas para regular el estrés salino. Además, es acorde con el caso de las plantas con sustrato UACH, que presenta altas concentraciones de Ca (4,701 ppm) y desbalances de otros iones (Ca/K), pues el suelo salino genera una pérdida de potencial hídrico y una consecuente pérdida de turgencia que le da la apariencia marchita a las plantas.

La hipótesis de todos los tratamientos fue aceptada (Cuadro 12), salvo en los tratamientos 6, 7, 4 y 9, en los primeros dos mencionados no hubo una aplicación de Ca, lo que indica que una fertilización al 100% no es suficiente para prevenir ni revertir los síntomas del engrosamiento. La aplicación de 1,000 ppm de Ca del tratamiento 9 no mostró ninguna diferencia en la incidencia (40%) con respecto al tratamiento 7 que no presenta Ca adicional. Por otro lado, en los tratamientos con 3,000 ppm de Ca agregado se observó una incidencia de entre 0-10%. Estos resultados indican que la cantidad de 1000 ppm de Ca no es suficiente para prevenir o eliminar por completo el desarrollo de síntomas a diferencia de la de 3,000 pm de Ca donde se mostró una disminución notoria de la incidencia de los síntomas. Los datos concuerdan con el

análisis de Ramírez (2013), quien reportó una baja incidencia en suelos con niveles de calcio de entre 2000 y 3000 ppm.

Análisis estadístico de variables morfológicas para cada uno de los factores

Los datos del análisis morfológico evidenciaron que al menos uno de los tratamientos presentó diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) en las variables morfológicas analizadas (Cuadro 13, 14 y 15). Tanto los efectos principales como las interacciones influyeron de forma estadísticamente significativa ($Pr < 0.0001$) de manera general en las variables morfológicas evaluadas.

El sustrato sólo afectó en la longitud del cladodio y la altura de la planta (Cuadro 14), ya que únicamente se presentó una diferencia estadísticamente significativa ($Pr < 0.0001$) en dichas variables. Por otro lado, la salud de la planta madre, tuvo un efecto todas las variables evaluadas, excepto grosor, ya que se encontró un nivel significativamente diferente ($Pr < 0.0001$), al comparar plantas de origen sintomático y asintomático (Cuadro 13). Los resultados indican que el engrosamiento de las clonas no se trasmite mediante la planta madre, pues las medias de todas las variables fueron menores en plantas de origen asintomático, incluyendo la variable L/G, lo que equivale a un mayor engrosamiento en plantas de origen asintomático. La variable L/G es inversamente proporcional al engrosamiento, es decir, entre menor sea la proporción de la longitud con respecto al grosor, mayor será el engrosamiento.

Cuadro 13. Efecto de la Sintomatología de la planta madre sobre la morfología de *O. ficus-indica*.

Morfología		MS	MAS
Altura de la planta		16.4903 ± 0.6995 a*	11.1436 ± 0.4375 b
Cladodio más joven	Anchura	3.0565 ± 0.2975 a	1.9418 ± 0.1727 b
	Longitud	7.8861 ± 0.4604 a	5.7288 ± 0.2978 b
	Grosor	0.5477 ± 0.1316 a	0.3048 ± 0.06870 b
	Long/grosor	12.0580 ± 0.5555 a	9.8477 ± 0.3788 b
No. Cladodios		1.9669 ± 0.2427 a	1.2612 ± 0.1417 b

Datos morfológicos de *O. ficus-indica* de esquejes obtenidos de plantas madre con síntomas (MS) y sin síntomas (MAS) de engrosamiento, 18 meses después de la siembra.

*Valores por filas con la misma letra indican que no hay diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Fisher con un 5% de probabilidad. Los valores ± indican el error estándar de la media.

Cuadro 14. Efecto del sustrato sobre la morfología de *O. ficus-indica*.

Morfología		UACH	SE
Altura de la planta		10.0884 ± 0.8476 b**	18.2150 ± 0.7261 a
Cladodio más joven	Anchura	2.0217 ± 0.3760 a	2.9357 ± 0.2702 a
	Longitud	5.1530 ± 0.5787 b	8.7674 ± 0.4710 a
	Grosor	0.3784 ± 0.1809 a	0.4412 ± 0.1043 a
	L/G*	11.1216 ± 0.9048 a	10.6768 ± 0.4643 a
No. Cladodios		1.6500 ± 0.3944 a	1.5035 ± 1874 a

*L/G= Longitud/grosor. A mayor L/G menor engrosamiento.

**Valores por filas con la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD), con un nivel de significancia al 5%. Los valores con ± son los errores estándar de la media.

El nivel de significancia en general fue aceptable ($Pr < 0.0001$) para todas las variables excepto para la variable grosor (Cuadro 15), por lo que los datos obtenidos de ésta variable de manera aislada no son relevantes, sin embargo, al conjuntar la variable Grosor con Longitud en L/G, los datos son significativos. Mostrando que el grosor por sí solo no refleja la sintomatología, sólo es importante al observar su proporción con respecto a la longitud.

Cuadro 15. Efecto de la nutrición sobre la morfología de *O. ficus-indica*.

Morfología	0%	20%	100%	100% + Ca 1000	100% + Ca 3000	
Altura de la planta	3.83 ± 0.46 d**	15.26 ± 1.01 c	18.18 ± 1.08 b	13.85 ± 0.71 c	30.99 ± 1.87 a	
Cladodio más joven	Anchura	0.77 ± 0.19 c	2.97 ± 0.45 b	3.06 ± 0.42 b	2.78 ± 0.31 b	4.37 ± 0.62 a
	Longitud	2.73 ± 0.39 c	7.29 ± 0.68 b	7.70 ± 0.64 b	7.60 ± 0.52 b	11.71 ± 1.00 a
	Grosor	0.12 ± 0.07 b	0.55 ± 0.21 ab	0.60 ± 0.20 ab	0.39 ± 0.11 ab	0.71 ± 0.26 a
	L/G*	3.73 ± 0.40 d	10.89 ± 0.84 c	12.71 ± 0.84 b	13.38 ± 0.66 b	22.17 ± 1.48 a
No. Cladodios	0.36 ± 0.12 d	2.05 ± 0.41 c	2.38 ± 0.42 bc	1.49 ± 0.22 b	3.60 ± 0.66 a	

*L/G= Longitud/grosor.

**Valores por filas con la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD), con un nivel de significancia al 5%. Los valores con ± son los errores estándar de la media.

Las medias de los diferentes niveles de fertilización fueron significativamente diferentes ($Pr < 0.0001$) para todas las variables morfológicas evaluadas, agrupándose con un orden generalmente lógico en el que los tratamientos con una nutrición más completa presentaron medias más altas como puede observarse en las figuras 4 y 5.

Los datos concuerdan con el análisis de incidencia, por ejemplo, en la variable Longitud/Grosor (L/G) la media más grande fue en los tratamientos con un nivel de Ca 3,000; es decir, que el engrosamiento fue el menor, puesto que la longitud de los cladodios en relación con su grosor es mayor. Además, las medias de los tratamientos de Ca 1000 y fertilización al 100% no presentan diferencias significativas, lo que indica que estadísticamente tienen el mismo efecto sobre casi todas las variables, y a su vez es un efecto distinto al de Ca 3,000 mismo resultado que se observó con la incidencia.

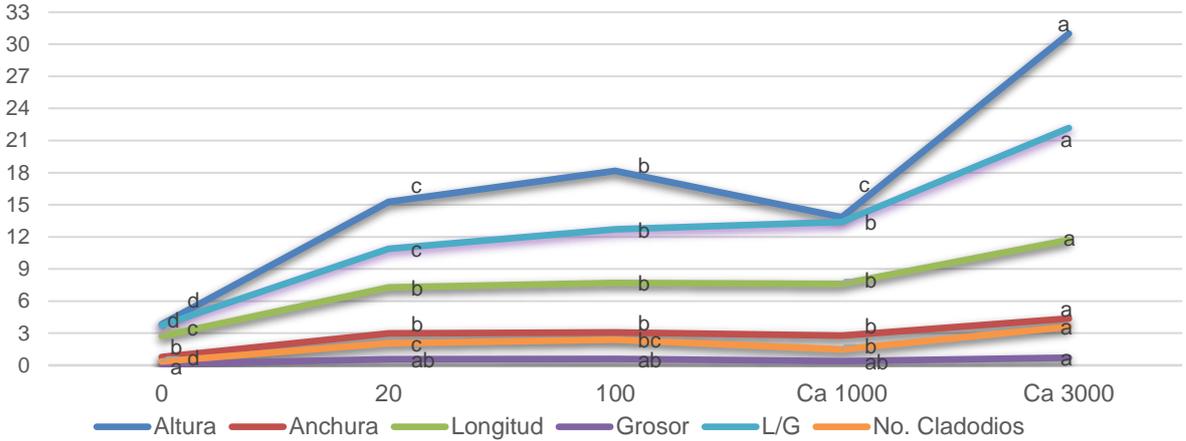


Figura 4. Diagrama lineal del efecto de la nutrición sobre la morfología del *O. ficus-indica*. Puede apreciarse el incremento de todas las variables del tratamiento más pobre al más rico de izquierda a derecha. Letras por columnas diferentes indican una diferencia de medias estadísticamente significativa a un nivel de 95% de confianza.
*L/G= Longitud/grosor.

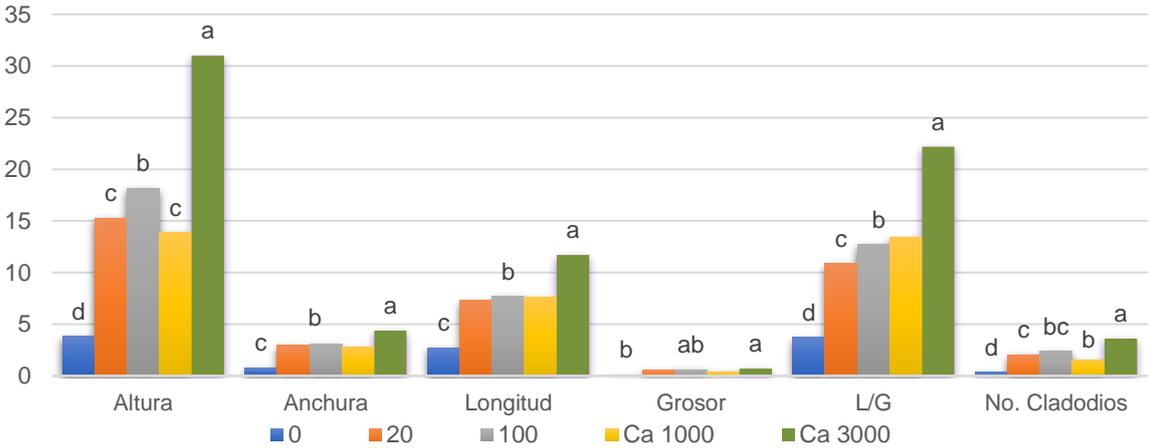


Figura 5. Gráfica de barras del efecto de la nutrición sobre la morfología de *O. ficus-indica*. Puede observarse claramente la comparación de medias, las letras diferentes por variable indican que los valores de las medias son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia del 5%.
*L/G= Longitud/grosor. A mayor L/G menor engrosamiento.

La disminución de los valores en Ca 1000 puede ser explicada por el suelo UACH, ya que uno de los tratamientos aplicados tuvo ese tipo de suelo y como se observó anteriormente, la marchitez y falta de crecimiento fueron características exclusivas de ese tipo de suelo. Por otro lado, el incremento de los valores concuerda con los estudios de Valdez *et al.* (2010) y Blanco (2010) que señalan que uno de los efectos positivos de la aplicación de Ca en nopal es el incremento en el rendimiento de cladodios y la planta (kg) en general.

Es importante señalar que los síntomas observados fueron malformaciones, atrofia del crecimiento y engrosamiento, no se encontró “acorazonamiento” de pencas, amarillamiento ni proliferación de brotes. Esto coincide con lo encontrado por Mendoza (2013), quien reportó “acorazoamiento” sin engrosamiento, por lo que éstos dos síntomas podrían estar provocados por diferente causa.

3.5 CONCLUSIONES

- La nutrición es el factor clave para el desarrollo de síntomas de engrosamiento.
- El sustrato afecta principalmente en la longitud de los cladodios y la altura de la planta en general.
- El engrosamiento de las clonas no se trasmite mediante la planta madre, pues hubo un mayor engrosamiento en plantas de origen asintomático que sintomático.
- Los tratamientos con la aplicación más alta de Ca tuvieron la incidencia más baja de síntomas (0-10%) mientras que en los tratamientos con nutrición deficiente tuvieron una incidencia de hasta el 100%. Además, para todas las variables evaluadas la aplicación de Ca 3,000 pm mostró los mejores resultados, por lo que se recomienda para el manejo de la enfermedad.
- La aplicación de los niveles adecuados de Ca elimina y previene el desarrollo de síntomas sin importar la salud de la planta madre, es decir que el desbalance de Ca es la causa principal de la aparición de los síntomas.
- Los desbalances de calcio probablemente provocan la activación de un mecanismo de regulación de presión hídrica que ocasiona los síntomas.
- El engrosamiento y el acorazonamiento no están forzosamente relacionados.

3.6 LITERATURA CITADA

- Arias, S. Gama, L. S. Guzmán, C. L. y Vázquez, B. B. (2012). Cactaceae Juss. Flora de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 95. 1-235 pp.
- Blanco M. F. 2010. Determinación de Normas nutrimentales en Nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía.
- Fernández, L. Y. García, C. J. López, J. A. y Mora, A. G. 2015. Inducción de deficiencias nutrimentales en nopal verdura *Opuntia ficus indica* (L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 6 (7): 1417-1422 pp.
- Hanin, M. Ebel, C. Ngom, M. Laplaze, L. y Masmoudi, K. 2016. New insights on plant salt tolerances mechanisms and their potential use for breeding. Frontiers in Plant Science. Vol. 7. Art. 1787. 1-17 pp.
- Lerner, S. L. (2010). Cactaceae. En: Flora Fanerogámica del Valle de México. Calderón, R. G. y Rzedowsky J. INECOL. México. 431-469 pp.
- Márquez, B. S. Torcuato, C. C. Almaguer, V. G. Colinas, L. M. Khalil, G. A. (2012). El sistema productivo del nopal tunero (*Opuntia albicarpa* y *O. megacantha*) en Axapusco, Estado de México. Problemática y alternativas. Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 18 (1): 81-93 pp
- Medina, G. G. Zegbe, D. A. Cabañas, C. B. Mena, C. J. Ruiz, C. J. Bravo, L. A. Amador, R. M. Zanda, H. R. Reveles, H. R. Gutiérrez, S- R- Díaz, P. G. Madero, T. J. Rubio, D. S. 2007. Potencial Productivo de especies agrícolas en el distrito de desarrollo rural río grande, Zacatecas. INIFAP. Campo Experimental zacatecas. Libro técnico No. 6. ISBN: 978-970-43-0268-9.
- Pimienta E. 1988. El nopal tunero: Descripción botánica, uso e importancia económica. IN GERMEN, SOMEFI. Nº 7. Texcoco, México. Pp. 10-12.
- Ramírez, A. N. 2013. Factores bióticos y abióticos relacionados al engrosamiento del cladodio de nopal (*Opuntia ficu sindica* (L.) Mill.). Tesis para obtener el título de M.C. en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
- Valdez, C. R. Blanco, M. F. Magallanes, Q. R. Vázquez, A. R. y Revelez, H. M. 2010. Avances en la nutrición del Nopal en México. VIII Simposium- Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal". RESPYN. Ed. Especial No. 5: 1-14 pp.

Referencias Cuadro 10.

- Blanco M. F. 2010. Determinación de Normas nutrimentales en Nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía.
- Fanzone G. 1991. II Ficodindia. Manual Práctico. Ed. REDA. Edición per l'agricoltura. Roma. 86
- Fernández, L. Y. García, C. J. López, J. A. y Mora, A. G. 2015. Inducción de deficiencias nutrimentales en nopal verdura *Opuntia ficus indica* (L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 6 (7): 1417-1422 pp.
- Mondragón, J. C. y Pérez, G. S. 2003. El nopal (*Opuntia spp.*) como forraje. Estudio FAO de Producción y Protección vegetal No. 169. 124-126 pp. IIN 1014-1227.
- Moreno R. A. 2007. Elementos nutritivos. Asimilación, funciones, toxicidad e indisponibilidad en los suelos. Libros en Red. Amertown Internacional S.A.

Valdez, C. R. Blanco, M. F. Magallanes, Q. R. Vázquez, A. R. y Revelez, H. M. 2010. Avances en la nutrición del Nopal en México. VIII Simposium- Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal". RESPYN. Ed. Especial No. 5: 1-14 pp.

CAPÍTULO IV.

EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE FITOHORMONAS EN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. CON ENGROSAMIENTO DEL CLADODIO

NUTRITIONAL EFFECTS ON THE PHYTOHORMONES PRODUCTION IN *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. WITH CLADODE THICKENING SYMPTOMS

Sánchez Ávila S. A.¹ y Valadez Moctezuma E.²

Resumen: El engrosamiento del cladodio de nopal es uno de los principales problemas que merman la producción de éste cultivo en México. Se han asociado varios agentes causales, aunque sigue sin definirse. La incidencia del amachamiento del nopal aumenta en plantaciones con manejo y nutrición pobre. Se ha observado un desbalance hormonal asociado a la enfermedad. En éste trabajo se aplicaron 11 diferentes tratamientos de fertilización en plantas con y sin síntomas de engrosamiento para ver el efecto de la nutrición sobre la producción de hormonas en plantas con y sin engrosamiento. Se encontró que la salud de la planta madre y el suelo tienen un fuerte impacto en la cantidad de reguladores de crecimiento. Hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.0001$) en la acumulación de hormonas (AIA, AIB, ABA, Zea y AG3) en plantas con suelo UACH con respecto al sustrato experimental, y en plantas sintomáticas respecto a las asintomáticas (excepto AIA). Se observó una fuerte correlación entre varios reguladores de crecimiento ($P \leq 0.002$), entre ellos AIA que parece ejercer un efecto indirecto en el desarrollo de los síntomas. La severidad de la enfermedad está fuertemente ligada al sustrato y al desbalance de AIB + Zea, aunque también es afectada por otros factores como la salud de la planta madre.

Palabras clave: Engrosamiento del cladodio, nutrición, *Opuntia*, fitohormonas.

Abstract: Cladode thickening is one of the main problems that diminish cactus pear production in Mexico. Several causal agents have been associated with this problem, but they remain undefined. Recent studies have reported a differential accumulation of growth regulators in symptomatic plants. In this study, we applied 11 treatments to evaluate the nutritional effects on phytohormone production in healthy and those with thickening symptoms. We found that the health of the mother plant and the soil has a strong impact on the quantity of growth regulators. The means of the growth regulators evaluated (AIA, AIB, ABA, AG3 and Zea) were significantly different ($P < 0.0001$) in treatments with UACH soil vs experimental substrate. The means comparison of the symptomatic and asymptomatic plants shown the same results except in AIA. A strong correlation was observed between several growth regulators ($P < 0.002$), including AIA that seems to exert an indirect effect on the development of symptoms. The severity of the disease is strongly linked to the substrate and the imbalance of AIB + Zea, although it is also affected by other factors such as the health of the mother plant.

Keywords: Cladode thickening, nutrition, *Opuntia ficus-indica*, phytohormones.

¹ Tesista: M. en C. en Protección Vegetal, Dpto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

² Directora de tesis: Profesora Investigadora de tiempo completo, Dpto. de Fitotecnia, UACH.

4.1 INTRODUCCIÓN

4.1.2 Hormonas vegetales

Las hormonas vegetales son un grupo de sustancias orgánicas de origen natural que actúa como señalizadores químicos regulando la actividad celular y el desarrollo vegetal. Los principales grupos de fitohormonas son: auxinas, giberelinas, citocininas, brasinosteroides, etileno, ácido abscísico, poliaminas y jasmonatos. Cada hormona vegetal influye de una manera específica en los tejidos y el desarrollo de la planta (Cuadro 16), sin embargo, generalmente sus funciones se traslapan, de modo que se observa el efecto conjunto de varios reguladores sobre el crecimiento (Pérez *et al.*, 1999; Taiz y Zeiger, 2006).

El transporte de los reguladores generalmente es vía xilema y floema y comúnmente se observa una mayor concentración de éstos en tejidos jóvenes, aunque el sitio de síntesis, metabolismo, efecto, sitio y modo de acción varían ampliamente (Cuadro 16 y 17). La acción de las fitohormonas también puede variar según factores bióticos y abióticos como el tipo de tejido y especie donde se aplique, etapa fenológica, luz, temperatura, cantidad, etc. El efecto de las hormonas también puede ser afectado por la nutrición vegetal ya que los micronutrientes como el calcio y fósforo forman parte de las rutas de señalización y biosíntesis (Cuadro 17), además de tener otros efectos en el desarrollo y productividad de las plantas como se observó en el Cuadro 10 (Radmacher, 1994; Pérez *et al.*, 1999; Zeiger y Taiz, 2006; Herrera *et al.*, 2006).

El estudio de hormonas vegetales ayuda en gran medida a la generación de metodologías para el sano desarrollo de las plantas y ha cobrado una gran importancia en las últimas décadas por los cultivos *in vitro* (Pérez *et al.*, 1999; Castillo *et al.*, 2005). Existen diversos métodos de detección y cuantificación de hormonas vegetales, siendo la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) una de las más precisas. Ésta técnica permite la separación de componentes en una matriz líquida para su identificación y cuantificación (Castillo *et al.*, 2005).

Los estudios de sintomatología vegetal pueden ser abordados desde reguladores de crecimiento, sobre todo cuando se observan alteraciones en el desarrollo, como el caso del engrosamiento del cladodio del nopal (Cano, 2012).

Cuadro 16. Funciones de fitohormonas.

	Inducción/promoción	Inhibición	Regulación	Mecanismo de acción
Auxinas	Diferenciación vascular. Crecimiento coleóptilos, tallos y raíces laterales. Dominancia apical.	Crecimiento radical longitudinal. Retrasan la abscisión de las hojas.	Desarrollo de fruto y yemas florales. Fototropismo. Gravitropismo.	Induce la salida de protones provocando la acidificación de la pared celular y su expansión.
Giberelinas	Crecimiento del tallo. Cuajado del fruto. Germinación de semillas. Inicio de la floración.		Altura y maduración de la planta. Biosíntesis de quininas.	Estimulan la división y elongación celular (sin acidificar la pared celular).
Citoquininas	Formación y crecimiento de yemas. Movimiento de nutrientes, Desarrollo de cloroplastos, Expansión celular en hojas y cotiledones.	Retrasan la senescencia de las hojas.	División celular en tallos y raíces. Dominancia apical. Morfogénesis en cultivo de tejidos junto con las auxinas. Relacionadas con tumores.	El receptor CRE1 promueve la fosforilación que provoca una cascada de señalización y activación de genes y proteínas.
Ácido absísico	Maduración de la semilla y embriogénesis. Senescencia de la hoja. Cierre de estomas y crecimiento radical ante estrés hídrico.	Germinación precoz. Producción de enzimas inducidas por ác.giberélico. Crecimiento del tallo ante el estrés hídrico.	Dormición de la semilla junto con el ác. giberélico. Estrés hídrico: señal anti-estrés, tolerancia del embrión. Acumulación de proteínas de reserva.	Activan canales iónicos y la expresión genética mediante acción directa en fosfolípidos y receptores extra e intracelulares.

Datos obtenidos de Pérez *et al.* (1999), Zeiger y Taiz (2006) y Herrera *et al.* (2006).

Cuadro 17. Síntesis, almacenamiento, transporte y señalización de hormonas vegetales.

	Síntesis	Almacenamiento	Transporte	Señalización
Auxinas	Meristemos, hojas jóvenes, frutos en desarrollo y semillas.	Almacenamiento en citosol y cloroplastos.	Polar (activo) independiente de la gravedad y no polar a través del floema.	El Ca ²⁺ y el pH intracelular actúan como señalizadores.
Giberelinas	Tejidos apicales. Regulan su propio metabolismo. Las auxinas promueven la biosíntesis de giberelinas.	Semillas, frutos jóvenes y raíces.	Vía xilema y floema.	Auxinas promueven la biosíntesis de giberelinas. El Ca ²⁺ y quinasas son posibles intermediarios de señalización.
Citoquininas	Tejidos jóvenes y Citosol de las células meristemáticas de raíz. Derivadas de adenina, aminopurina o de RNAt. Por acción bacteriana (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>).	Raíz y hojas.	Se transportan principalmente vía xilema desde la raíz al tallo, aunque también tienen transporte basipéto.	El receptor CRE1 promueve la fosforilación que provoca una cascada de señalización.
Ácido absísico	Es sintetizado a partir de la ruta de los carotenoides. Se inactiva por oxidación o conjugación.	Las concentraciones de ABA en los tejidos es altamente variable. Se acumula en yemas latentes.	Se transporta por tejido vascular.	Señalización es independiente de Ca ²⁺ . Excepto en células de guarda.

Datos obtenidos de Radmacher (1994), Pérez *et al.* (1999), Zeiger y Taiz (2006) y Herrera *et al.* (2006).

3.1.3 Reguladores de crecimiento vegetal y el Calcio

El calcio se absorbe por las plantas vía xilema, entra a la raíz en forma de Ca^{2+} y por transpiración sube a las hojas donde se acumula, por lo que hay una menor cantidad en hojas jóvenes (Carreño, 2013). El calcio es intermediario de la señalización de auxinas y giberelinas (Zeiger *et al.* 2006; Carreño *et al.* 2013).

Las auxinas, AG y citoquininas inducen incrementos de Ca^{2+} citosólico. Las auxinas provocan oscilaciones con períodos irregulares de los iones de calcio y pH citosólico, éste mismo efecto se ha observado en células de guarda con el ABA (Zeiger *et al.* 2006).

En cultivos *in vitro* la combinación de AIA con citocininas y calcio acelera la división celular. El calcio en altas concentraciones impide la expansión de la pared celular, por lo que la célula modifica la dirección del crecimiento y se divide (Raven *et al.* 1992). La tasa de transporte de auxinas es regulada por calcio, ya que el transporte polar (célula-célula) de auxinas es dependiente de la disponibilidad Ca^{+2} . Las auxinas inducen la señalización de Ca^{+2} , por lo que las zonas de acumulación de auxinas funcionan como “sumideros” de Ca^{+2} . También se han encontrado receptores auxínicos para señales IAA inducidas por Ca^{+2} demostrando la importancia del calcio en la transducción de señales de IAA y otras auxinas (Vanneste y Friml, 2013).

El efecto del calcio y la fertilización sobre la acumulación de hormonas vegetales en nopales con engrosamiento del cladodio no ha sido estudiado por lo que en la presente investigación se midió la concentración de hormonas en plantas con y sin engrosamiento mediante CLAR.

3.2 OBJETIVOS

- Determinar el efecto de la nutrición y del calcio en la acumulación de fitohormonas en nopales con y sin engrosamiento de cladodio mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR).

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta y almacenamiento de muestras

Se utilizaron las mismas plantas evaluadas en el experimento del capítulo anterior. Las muestras fueron seleccionadas en base a la moda de severidad de cada tratamiento. Se tomó el cladodio más joven de 4 plantas por tratamiento. Las pencas fueron cortadas en trozos de 1 × 2 cm aproximadamente, colocadas en bolsas de tela de yute, sumergidas en nitrógeno líquido hasta su congelación y almacenadas a una temperatura de -20 °C hasta su liofilización.

Procesamiento de muestras

La criodesecación se efectuó con un liofilizador (FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry System), durante un período aproximado de tres días cuando el peso del tejido se mantuvo constante. La extracción y cuantificación de reguladores de crecimiento vegetal se hizo según el método de estándares internos de Xiangqing *et al.* (2010) con modificaciones (ANEXO II), en el que sólo se cuantificaron 5 hormonas, Ácido Giberélico (AG3), Ácido Indolacético (AIA), Ácido Absícico (ABA), Ácido Indolbutírico (AIB) y Zeatina (Zea).

Diseño de tratamientos

Las variables evaluadas fueron la cantidad de hormonas producidas. Cada planta se consideró como una unidad experimental. El diseño de los tratamientos se obtuvo como un factorial 5×2×2 (Fertilización, sustrato y nutrición respectivamente), en el que se seleccionaron únicamente 11 tratamientos (Cuadro 12, Cap. III) y 4 repeticiones.

Selección de muestras

Las muestras se seleccionaron en base a la moda de severidad de cada tratamiento utilizando la escala de severidad mencionada en el capítulo anterior.

Análisis estadístico

A los datos se les realizó un análisis de varianza mediante un Modelo Lineal Generalizado con Distribución Poisson y función de enlace Log, utilizando el procedimiento Glimmix de SAS. Se usaron los factores (Sintomatología, Sustrato y Fertilización) como efectos fijos mientras que los bloques y las repeticiones se usaron como efectos aleatorios. Las medias ajustadas por mínimos cuadrados (Least Square Means) se calcularon para los factores y se agruparon con un nivel de significancia al 5 % utilizando la prueba de Fisher. El propósito del análisis se sustenta en las siguientes hipótesis:

H₀: Los diferentes tratamientos generarán la misma cantidad de hormonas.

H_a: Por lo menos un tratamiento generará una cantidad de hormonas diferente a los demás.

3.4 RESULTADOS

Los datos del análisis hormonal evidenciaron que al menos uno de los tratamientos presentó diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) en los reguladores de crecimiento cuantificados. Tanto los efectos principales como las interacciones influyeron de forma estadísticamente significativa ($Pr < 0.0001$) de manera general en la acumulación de hormonas evaluadas.

La cantidad de hormonas producidas en plantas con madres sintomáticas (MS) y asintomáticas (MAS) fue significativamente diferente ($Pr < 0.0001$) en todos los reguladores medidos excepto para zeatina (Zea) como se puede observar en Cuadro 18. Las plantas con madres sintomáticas produjeron más ABA y AG3, mientras que las plantas con origen asintomático tuvieron medias más altas para AIA, AIB y la suma de todos los reguladores. Estos resultados indican que la salud de la planta madre es un factor de importancia para la cantidad de fitohormonas. Coincide con la literatura, que menciona que algunos factores epigenéticos ocasionados por estrés, pueden ser heredados en la propagación clonal y por tanto las clonas hijas mantienen el desequilibrio de producción hormonal de la planta origen (Burn *et al.*, 1993; Finnegan *et al.*, 1998; Alexios *et al.*, 2008; Boyko y Kovalchuk, 2013). Como se observó anteriormente (Capítulo III) la sintomatología de la planta de origen no está

relacionada con el engrosamiento, lo que resalta la importancia de Zea en el desarrollo de síntomas, ya que fue la única hormona donde no hubo diferencias.

Cuadro 18. Efecto de la Sintomatología de la planta madre sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de *O. ficus-indica*.

	MS	MAS
ABA	2.2818 ± 0.5299 a*	0.0359 ± 0.009271 b
AG3	410.51 ± 6.3365 a	335.84 ± 5.8166 b
AIA	133.38 ± 3.5199 b	147.29 ± 2.8601 a
AIB	228.79 ± 3.8366 b	486.97 ± 6.3129 a
Zea	1189.85 ± 10.8250 a	1178.28 ± 7.9581 a
SUMA	2333.45 ± 14.8182 b	2755.37 ± 12.3257 a

Cladodios obtenidos de vástagos de plantas madre con síntomas (MS) y sin síntomas (MAS) de engrosamiento.

*Valores por filas con la misma letra indican que no hay diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Fisher a un 5% de probabilidad. Los valores ± indican el error estándar de la media.

Las medias de todos los reguladores de crecimiento fueron significativamente diferentes ($Pr < 0.0001$) al comparar por sustrato. El sustrato UACH presentó una mayor severidad e incidencia en general y medias mayores para todas las hormonas salvo en el caso de AIB (Cuadro 19), lo que señala que la deficiencia de AIB es un factor de vital importancia para el desarrollo de síntomas de engrosamiento. Esta deficiencia de AIB en plantas enfermas también fue encontrada por Cano (2012).

Cuadro 19. Efecto del Sustrato sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de *O. ficus-indica*.

	SE	UACH
ABA	0.01263 ± 0.003431 b*	6.4881 ± 2.0490 a
AG3	283.81 ± 3.2879 b	485.77 ± 10.2470 a
AIA	123.32 ± 2.2487 b	159.31 ± 5.7118 a
AIB	375.26 ± 5.1734 a	296.90 ± 9.0696 b
Zea	867.24 ± 5.7291 b	1616.60 ± 18.8186 a
SUMA	2000.73 ± 9.1077 b	3213.58 ± 28.4186 a

Plantas sembradas en el sustrato experimental (SE) y suelo de la nopalera de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

*Valores por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD), con un nivel de significancia al 5%. Los valores con ± son los errores estándar de la media.

La aplicación de 3,000 ppm fue estadísticamente diferente con un nivel de significancia al 6.4% con la media más baja, con respecto a los tratamientos sin calcio adicional (0) para el caso de ABA. Los tratamientos sin calcio adicional tuvieron las medias más bajas para las variables SUMA y AIA, éstas diferencias fueron estadísticamente significativas en comparación con los tratamientos con Ca adicional (Cuadro 20). Los contrastes muestran que la aplicación de Ca afecta directamente en el incremento de AIA y la SUMA general de fitohormonas, además la deficiencia de éste micronutriente aumenta la producción de ABA.

El nivel 1,000 ppm de Ca, presentó una mayor acumulación de Zea y AG3, además de una menor cantidad de AIB en comparación de los otros niveles de Ca. Todas las medias fueron estadísticamente diferentes a un valor de $P < .0001$ (Cuadro 20). Los tratamientos que componen 1,000 ppm tienen una severidad moda de 4 (sintomática) y 0 en suelo UACH y SE respectivamente, a diferencia de los otros niveles, en donde el sustrato es únicamente SE y la severidad moda es 0. Estos resultados indican que la deficiencia de AIB y el incremento de Zea y AG3 está relacionado con el sustrato UACH y la severidad 4, tal como se puede discutir más adelante en la figura 6. El suelo UACH presenta deficiencias de K (Cuadro 6 y Anexo I), por lo que estos desbalances hormonales también pueden estar relacionados con dicha deficiencia.

Cuadro 20. Efecto del calcio sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de *O. ficus-indica*.

Ca	μ	Error	D *	Pr %	Ca	M	Error	D	Pr %
ABA					AIB				
0	1.5819	1.5907	1.533	55.82	0	987.60	28.5698	819.4	<.01
1000	0.04342	0.04256			0	168.15	4.4723		
0	1.5819	1.5907	1.116	6.40	0	987.60	28.5698	90.80	<.01
3000	0.4656	0.5308			3000	896.80	26.8811		
1000	0.04342	0.04256	0.422	52.08	1000	168.15	4.4723	728.6	<.01
3000	0.4656	0.5308			3000	896.80	26.8811		
AG3					Zea				
0	269.54	7.0547	129.4	<.0001	0	862.16	12.2601	881	<.01
1000	398.95	7.0450			1000	1743.21	14.8429		
0	269.54	7.0547	83.76	<.0001	0	862.16	12.2601	441.6	<.01
3000	353.30	9.9167			3000	1303.78	19.1754		
1000	398.95	7.0450	45.65	<.0001	1000	1743.21	14.8429	439.4	<.01
3000	353.30	9.9167			3000	1303.78	19.1754		
SUMA					AIA				
0	2428.88	23.6678	110.6	0.01	0	89.6155	3.7778	79.61	<.01
1000	2539.53	17.8988			1000	169.23	4.5518		
0	2428.88	23.6678	543	2.93	0	89.6155	3.7778	93.45	<.01
3000	2971.88	31.0922			3000	183.07	7.4093		
1000	2539.53	17.8988	432.3	5.10	1000	169.23	4.5518	13.84	60.69
3000	2971.88	31.0922			3000	183.07	7.4093		

*D = Diferencia de las medias comparadas.

Contrastes de medias según la prueba t de Student con un nivel de significancia al 5%, para ver los efectos del Ca de manera independiente a la fertilización. Tratamientos con fertilización al 100% con 0, 1000 y 3000 ppm de Ca adicionado.

El factor fertilización no mostró un patrón definido con respecto a su efecto sobre la producción de hormonas (Cuadro 21). Sin embargo, al comparar los valores de producción de hormonas agrupando por severidad y no por riqueza del tratamiento se puede observar un patrón más definido como se muestra en la Figura 6.

Cuadro 21. Efecto de la Fertilización sobre la acumulación de fitohormonas en cladodios de *O. ficus-indica* con diferentes niveles de fertilización.

	0%	20%	100%	100% + Ca 1000	100% + Ca 3000
ABA	0.2045 ± 0.0556 c*	0.4959 ± 0.1912 a	1.045 ± 0.3376 b	0.1472 ± 0.0424 c	0.1231 ± 0.0782 c
AG3	398.22 ± 6.3726 a	276.92 ± 7.587 a	410.06 ± 9.7204 b	394.03 ± 6.9917 a	396.09 ± 9.5042 a
AIA	127.49 ± 3.5394 d	87.661 ± 3.9858 c	147.6 ± 5.6113 e	167.54 ± 4.5183 b	195.76 ± 6.8416 a
AIB	106.1 ± 3.0118 e	1137 ± 25.478 c	216.99 ± 6.2092 a	184.7 ± 4.4264 d	856.97 ± 19.663 b
Zea	1389.7 ± 12.088 b	808.37 ± 13.029 c	858.7 ± 13.5153 d	1704.8 ± 14.528 a	1415 ± 18.535 b
SUMA	2316.7 ± 15.462 d	3187.8 ± 28.942 e	1652 ± 18.6526 b	2469.1 ± 17.452 c	3479.42 ± 30.80 a

*Valores por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD), con un nivel de significancia al 5%. Los valores con ± son los errores estándar de la media.

La cantidad de zeatina (Zea) fue notoriamente mayor en plantas sintomáticas (2, 4 y 3) con respecto a las plantas sanas (0), además se observó una deficiencia de AIB en plantas sintomáticas con respecto a las sanas (Figura 6), mostrando el efecto de ambas hormonas para el desarrollo de los síntomas. La zeatina está relacionada con la elongación y división celular, sin embargo, en este caso los tratamientos con mayor cantidad de dicha hormona fueron los que presentaron un menor crecimiento (severidad 4), por lo que el amachamiento del cladodio se debe a la cantidad de hormonas y a la interacción entre éstas. Esto coincide con la teoría, pues se sabe que la división celular de las citoquininas no se produce si no hay auxinas en el medio (Taiz y Zeiger, 2006).

Como se vio anteriormente la severidad y la incidencia están estrechamente relacionados con los niveles de Ca aplicados. El calcio actúa como transductor de señal de auxinas y citoquininas (Taiz y Zeiger, 2006; Vanneste y Friml, 2013) y que en combinación con auxinas y citoquininas regula la expansión y división celular (Raven *et al.*, 1992), además de estar involucrado en cascadas de señalización junto con diversas hormonas vegetales (ej. ABA) para la regulación del potencial hídrico por estrés salino (Taiz y Zeiger, 2006; Hanin, 2016). De esta manera se sobreentiende que los desbalances de Ca en suelo estén relacionados con desbalances hormonales y regulación del potencial hídrico que pueden traducirse en marchitez o engrosamientos.

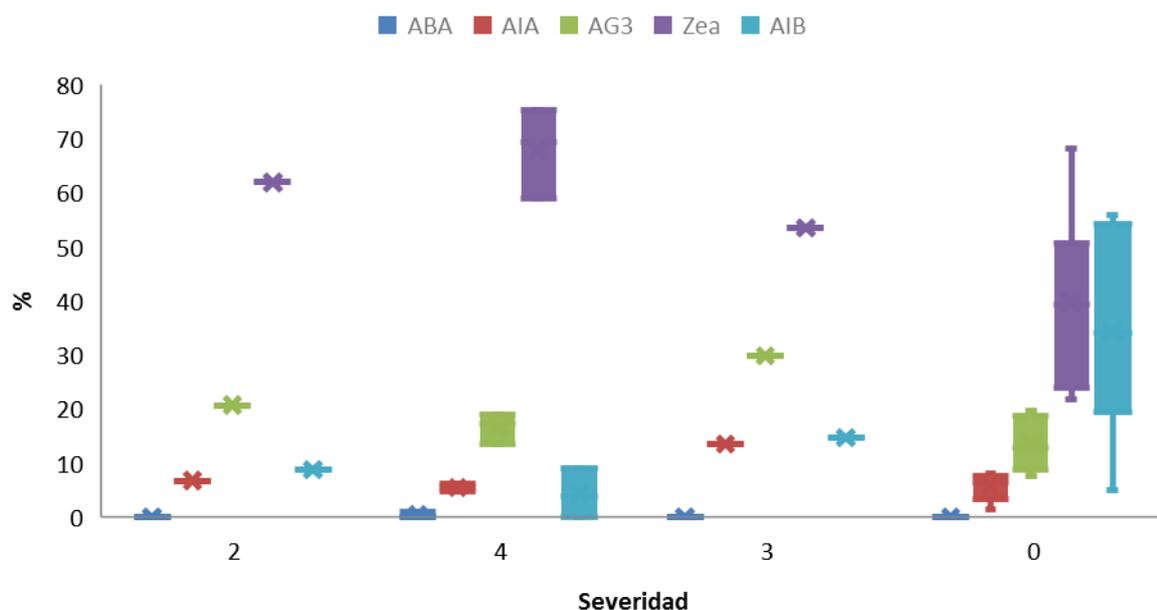


Figura 6. Diagrama de caja de la cantidad de hormonas en plantas de *O. ficus-indica* con diferentes niveles de severidad. Donde 4 es el nivel más alto y 0 corresponde a plantas sanas.

En las plantas sintomáticas se encontró una mayor producción de reguladores con respecto a las plantas asintomáticas excepto para las auxinas. En AIA la producción fue igual y en AIB la producción fue menor en plantas enfermas. Los resultados indican un desbalance hormonal en todos los reguladores de crecimiento salvo en AIA (Cuadro 22 y Figura 7).

Cuadro 22. Acumulación de fitohormonas en cladodios de *O. ficus-indica* con síntomas (S) y sin síntomas (AS) de engrosamiento.

	ASINTOMÁTICAS (AS)	SINTOMÁTICAS (S)
ABA	0.1304 ± 0.02913 b*	7.5786 ± 1.3389 a
AG3	313.01 ± 3.6107 b	393.80 ± 4.4376 a
AIA	135.57 ± 2.3918 a	136.64 ± 2.6166 a
AIB	638.04 ± 5.3077 a	433.64 ± 4.5514 b
Zea	113.70 ± 6.8095 b	1244.35 ± 7.8781 a
SUMA	2332.86 ± 9.8695 b	2388.97 ± 10.9220 a

*Valores por filas con la misma letra indican que no hay diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Fisher a un 5% de probabilidad. Los valores ± indican el error estándar de la media.

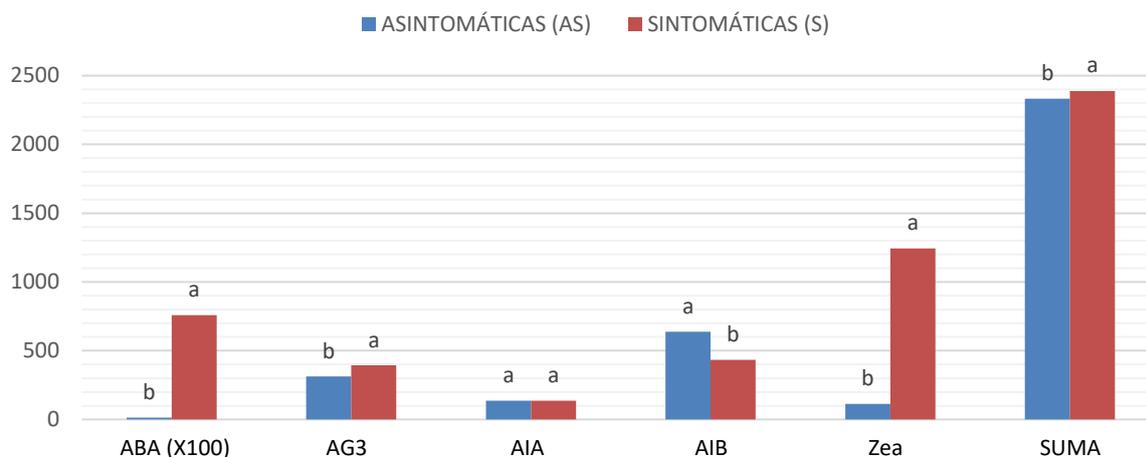


Figura 7. Gráfica de barras de la producción de hormonas en plantas asintomáticas vs sintomáticas de *O. ficus-indica*. Las letras diferentes por variable indican que los valores de las medias son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia del 5%. Los valores de ABA es multiplicaron por 100 para observar un mejor contraste.

Taiz y Zeiger (2006) y Pérez *et al.* (1999) afirman que las hormonas son reguladores que actúan en conjunto, por lo que no es extraño que se observe un desbalance en varias de ellas en un solo síntoma. Las auxinas entre otras cosas regulan el gravitropismo y la dominancia apical de la planta, la gravedad es percibida mediante la sedimentación de almidón en los amiloplastos. La cantidad de almidón intracelular es afectada directamente por las giberelinas, ya que estimulan la hidrólisis mediante amilasa (Taiz y Zeiger, 2006; Herrera, 2006). La cantidad de AIB fue menor en plantas enfermas, mientras que la cantidad de AG3 fue mayor, ambas hormonas están relacionadas con el gravitropismo, además estudios anteriores reportan una acumulación de almidón en plantas con engrosamiento (Ramírez, 2013). Por lo que el engrosamiento del cladodio puede estar relacionado con el gravitropismo y la dominancia apical.

Taiz y Zeiger (2006) y Pérez *et al.* (1999) mencionan que las auxinas participan en el crecimiento celular, crecimiento del tallo, diferenciación vascular, inducción de división celular y dominancia apical. Las auxinas, AG y citoquininas inducen incrementos de Ca^{2+} citosólico. Las auxinas y provocan oscilaciones con períodos irregulares de los iones de calcio y pH citosólico, éste mismo efecto se ha observado en células de guarda con el ABA. La deficiencia de AIB y Ca^{2+} sumado al exceso de ABA, AG3 y Zea podría entorpecer estos procesos, generando que las plantas tuvieran un

crecimiento solo por división celular y una pérdida de la dominancia apical por lo que se podría generar un engrosamiento por hiperplasia o hipertrofia celular, tal como mencionan Pimienta (1974) y Ramírez (2013).

El coeficiente de correlación mostró una relación directamente proporcional para todas las variables reportadas (Cuadro 23) con una probabilidad de error menor al 0.2 %. Ninguna variable presentó una relación positiva perfecta (valor 1), y se encontró un gran número de variables correlacionadas, lo que muestra una gran complejidad entre las interacciones de las hormonas medidas, tal como mencionan Taiz y Zeiger (2006) y Pérez *et al.* (1999). Aunque la producción de AIA no fue diferente en plantas con y sin síntomas (Cuadro 21), está directamente relacionada con el resto de las variables de estudio excepto con la AIB (Cuadro 22), por lo que probablemente ejerza algún efecto de manera indirecta.

Cuadro 23. Coeficientes de correlación de Pearson (r) y nivel de significancia (P) entre diferentes variables respuesta por efecto de la sintomatología.

Variables de estudio correlacionadas	R	P
AG3 vs AIA	0.71632	< 0.0001
AG3 vs SUMA	0.60074	0.0019
AG3 vs Zea	0.78668	< 0.0001
Zea vs AIA	0.61851	0.0013
Zea vs ABA	0.74622	< 0.0001
Zea vs SUMA	0.68400	0.0002
AIA vs SUMA	0.61851	0.0013
AIB vs SUMA	0.63565	0.0008

Solo se reportan las correlaciones significativas ($P \leq 0.002$).

4.5 CONCLUSIONES

- Se observó que la salud de la planta madre, y el sustrato en general ejercieron un fuerte efecto sobre la cantidad de hormonas producidas. Probablemente se deba a factores epigenéticos heredables por clonas.
- Todos los reguladores de crecimiento analizados, excepto AIA, mostraron medias estadísticamente distintas en plantas sintomáticas vs asintomáticas, aunque hubo algunas en las que se observó un efecto mayor.
- Aunque la producción de AIA no fue estadísticamente diferente ($\alpha = 0.05$) en plantas con y sin síntomas, está directamente relacionada con el resto de las variables de estudio excepto con la AIB, por lo que probablemente ejerza algún efecto de manera indirecta.
- La falta de AIB es una característica de plantas con síntomas. Los tratamientos con una severidad más grande además de presentar una deficiencia de AIB tenían una mayor cantidad de Zea, por lo que estas dos hormonas parecen ser la clave para la aparición y severidad de los síntomas.
- La severidad de la enfermedad está fuertemente ligada al sustrato y al desbalance de AIB + Zea.
- Los síntomas de engrosamiento y marchitez pueden explicarse por desbalances hormonales relacionados con desbalances de Ca y la regulación del potencial hídrico de la planta.

4.6 LITERATURA CITADA

- Alexios, P. Kapazoglou, A. Eleni, T. Nives K. (2008). Epigenetics and Plant Breeding. ResearchGate. DOI:10.1002/9780470380130.ch2.
- Boyko, A. e Kovalchuk, I. (2013). Epigenetic Regulation of Genome Stability in Plants in Response to Stress. Epigenetic Memory and Control in Plants. Springer.
- Burn, J. E. Bagnall, DJ. Metzger, J. D. Dennis, E. S. and Peacock, J. (1993). DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering. Proceedings Natural Academy of Sciences USA, Developmental Biology, vol. 90, 287-291.
- Cano, H. R. (2012). Estudios de aspectos bióticos y fisiológicos relacionados al engrosamiento de cladodios del nopal (*Opuntia ficus-indica*). Teis para obtener el título de M.C. en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
- Carrasco, G. e Izquierdo, J. (1996). Anual técnico. La empresa hidropónica de mediana escala: La técnica de solución nutritiva recirculante ("NFT"). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Universidad de Talca.
- Carreño, A. Chaparro, G. A. (2013). Tolerancia al aluminio en especies vegetales: mecanismos y genes. Universitas Scientárvm 18 (3): 283-310. doi: 10.11144/Javeriana.SC18-3.taev [en línea: 2016]. <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/5468/6507>
- Castillo, G. Altuna, B. Michelena, G. Sánchez, B. y Acosta, M. (2005). Cuantificación de AIA por HPLC utiizando el método del estándar interno. ICIDCA. Vol. XXXIX. 2: 51-55 pp.
- Finnegan, E. J. Genger, R. K. Kovac, K. Peacock, W. J. and Dennis, E. S. (1998). DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization. Proceedings Natural Academy of Sciences USA, Plant Biology, vol. 95, 5824-5829 pp.
- Herrera, J. Alizaga, R. Guevara, E. y Jiménez, V. (2006). Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. Vol. 4. Germinación y crecimiento de la planta. Editorial Universidad de Costa Rica. 1-113 pp.
- Pérez, M. E. Raírez, M. R. Palenius, N. H. y Ochoa, A. N. (1999). Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Pimienta, B. E. (1974). Estudios de las causas que producen engrosamiento de cladodios de nopal (*Opuntia spp.*) en la zona de Chapingo. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados.
- Radmacher, W. (1994). Giberellin formation in microorganisms. Plant Growth Regulation. 15: 303-314 pp.
- Ramírez, A. N. (2013). Factores bióticos y abióticos relacionados al engrosamiento del cladodio de nopal (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.). Tesis para obtener el título de M.C. en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
- Raven, H. P. Evert, F. R. Eichhorn, E. S. (1992). Biología de las plantas. Vol. 2. Editorial Reverté. P: 475-481.
- Vanneste, S. y Friml, J. (2013). Calcium: The missing link in auxin action. Plants. 2: 650-675 pp.
- Zeiger, E. Taiz, L. (2006). Fisiología Vegetal. Vol. 1. Universitat Jaume. P: 840-870.

ANEXO I.

Análisis de suelo



Laboratorio de Nutrición Vegetal, S.C.
"La Perfección en Calidad Analítica"



DIAGNOSTICO DE LA FERTILIDAD DEL SUELO

Información General

No. de Registro: SU- 13839 Centro de Recepción: Fecha Recepción: 12/10/2012 Fecha Entrega: 19/10/2012 Id Cliente: 5,830 Cliente: Universidad UACH	Rancho: La Resolana Sector del Predio: M6 TEXCOCO E Prof. Muestra: cm Ubicación GPS Lat: Long: Municipio : Estado: Estado de México	Cultivo Anterior: Manejo de Residuos: Cultivo a Plantar: Meta de Rendimiento: Ton/Ha Tipo de Agricultura: Fuente de Agua:
--	--	--

Propiedades Físicas del Suelo

Clase Textural: Franco	Color Munsell
Punto de Saturación : 59.6 % Alto	Seco: ND
Capacidad de Campo : 31.9 % Alto	Hum: ND
Punto March. Perm. : 19.0 % Alto	Dap: 0.74 g/cm3
Cond. Hidráulica : 6.55 cm/hr Alto	

Reacción del Suelo y Necesidades de Yeso

pH (1:2 agua) : 7.07	Neuro
pH Buffer : ND	
Carbonatos Totales (%): 3.32 %	Bajo
Salinidad (CE Extracto) : 1.22 ds/m	Mod. Bajo
Requerimientos de Yeso : No Req.	Ton/Ha

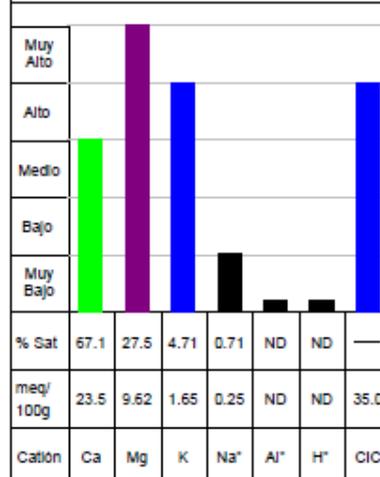
Fertilidad del Suelo

Det	Result	Unid	Muy Bajo	Bajo	Mod. Bajo	Mediano	Mod. Alto	Alto	Muy Alto
MO	15.5	%	[Bar chart showing MO at 15.5% in the 'Bajo' range]						
N-Inorg.	21.1	ppm	[Bar chart showing N-Inorg. at 21.1 ppm in the 'Bajo' range]						
P-Bray	474	ppm	[Bar chart showing P-Bray at 474 ppm in the 'Bajo' range]						
K	645	ppm	[Bar chart showing K at 645 ppm in the 'Bajo' range]						
Ca	4701	ppm	[Bar chart showing Ca at 4701 ppm in the 'Bajo' range]						
Mg	1174	ppm	[Bar chart showing Mg at 1174 ppm in the 'Bajo' range]						
Na *	58.4	ppm	[Bar chart showing Na at 58.4 ppm in the 'Muy Bajo' range]						
Fe	72.4	ppm	[Bar chart showing Fe at 72.4 ppm in the 'Bajo' range]						
Zn	10.8	ppm	[Bar chart showing Zn at 10.8 ppm in the 'Bajo' range]						
Mn	11.6	ppm	[Bar chart showing Mn at 11.6 ppm in the 'Bajo' range]						
Cu	10.9	ppm	[Bar chart showing Cu at 10.9 ppm in the 'Bajo' range]						
B	0.94	ppm	[Bar chart showing B at 0.94 ppm in the 'Bajo' range]						
S	108	ppm	[Bar chart showing S at 108 ppm in the 'Bajo' range]						

* Es deseable que estos elementos tengan un bajo contenido

Cationes Intercambiables

Gráfico Basado en % de Saturación



Relaciones entre cationes (basadas en me/100g)

Relación	Ca/K	Mg/K	Ca+Mg/K	Ca/Mg
Resultados	14.0	5.83	20.1	2.44
Interpretación	Mediano	Muy Alto	Mediano	Mediano

ANEXO II.

Protocolo de extracción y cuantificación de reguladores de crecimiento vegetal

Las pencas fueron cortadas en trozos de 1 x 2 cm aproximadamente, colocadas en bolsas de tela de yute, sumergidas en nitrógeno líquido hasta su congelación y almacenadas a una temperatura de -20 °C hasta su liofilización.

- 1.- Colocar 50 mg de tejido liofilizado en un tubo Eppendorf de 2 mL con tapa.
- 2.- Macerar el tejido del Eppendorf y colocar tubo en hielo.
- 3.- Se agregan 50 µL de una solución que contenga los estándares internos a cada tubo que contenga el material vegetal.
- 4.- Añadir 500 µL de solución de extracción, 2-propanol: agua: HCl concentrado (2:1:0.002, vol:vol:vol), a cada tubo.
- 5.- Colocar los tubos en un agitador a una velocidad de 100 rpm por 30 min a 4 °C. (vórtex)
- 6.- Añadir 1 mL de diclorometano a cada muestra y agitar por 30 min a 4 °C.
- 7.- Colocar las muestras en una microcentrífuga refrigerada a 4 °C y centrifugar 5 min. a 13000 g.
- 8.- Trasferir alrededor de 900 µL del solvente de la fase baja utilizando pipeta Pasteur a otro vial y concentrar la mezcla (sin llegar a desecar completamente usando una corriente de nitrógeno. Añadir 0.5 (0.9) mL de metanol.
- 9.- Inyectar 50 µL en el HPLC, de acuerdo a las condiciones de análisis utilizado por Xiangging *et al.* (2010).

Cuadro 24. Parámetros de gradiente CLAR (Cromatografía Líquida de Alta Resolución)

Tiempo (min)	Gradiente (% de B por volumen)
0-2	30
2-20	Incremento lineal a 100
20-22	100
22-25	Decremento lineal a 30

Fase móvil A: agua destilada con ácido fórmico al 0.1%. Fase móvil B: metanol con 0.1% de ácido fórmico.

Tiempos de retención de los estándares internos. Tiempo de retención de las hormonas utilizadas como estándares internos, a partir de los cuales se compararon los resultados de las muestras analizadas.

Cuadro 25. Tiempos de retención de estándares internos.

Estándar	Tiempo de retención (min)
Zeatina	7.1
AG3	10.8
ABA	12.6
AIA	14.2
AIB	17.3

AG3: Ácido Giberelico, ABA: Ácido absísico, AIA: Ácida Indolacetico, AIB: Ácido Indobutírico.

Fuente:

Xianqing *et al.*, 2010. Quantitative analysis of major plant hormones in crude extracts by HPLC-Mass spectrometry. Nature protocols.