

Agrupamiento de genotipos de nopal (*Opuntia* spp.) de México por medio de la técnica de AFLPs y características del fruto

Cladistics of Mexican nopal genotypes (*Opuntia* spp.) based on AFLP markers and fruit characters

Espinoza Sánchez EA¹, H Silos Espino¹, S Flores Benitez¹, LL Valera Montero¹, E Rodríguez Salazar², C Gallegos Vázquez³, F Guevara Lara⁴, M González Chavira⁵, HS Guzmán Maldonado⁵

Resumen. Para contribuir al conocimiento de la diversidad genética del nopal se analizaron 85 genotipos representativos de *Opuntia* (silvestres y cultivados) por medio de la técnica de AFLPs y características del fruto. El análisis de AFLPs con los iniciadores *Mse* I-CAC/*Eco* RI-AAG generaron más fragmentos polimórficos (57,5 en promedio) por genotipo; se obtuvo un dendrograma que no mostró una clara relación de acuerdo a la taxonomía conocida. En complemento al perfil genético, y para permitir una referencia morfológica o química directa, agrupamos a los genotipos de acuerdo al contenido de °Brix de sus frutos, debido a que esta es una característica primordial para su identificación visual y aprovechamiento de consumo directo. Se encontró que los genotipos que crecieron bajo condición silvestre mostraron los valores más contrastantes en el contenido de °Brix. Las características de los frutos (morfológicas y °Brix) mostraron un rango amplio para los genotipos silvestres. Por ejemplo, los genotipos Tapón Blanco y Guilanche tuvieron una concentración de entre 21–22 °Brix, y los genotipos correspondientes al tipo xoconostles (frutos ácidos), entre 5,0–8,2 °Brix. Con la información genética y fisicoquímica obtenida se espera referenciar la gran riqueza biológica del nopal conservada en dos bancos de germoplasma de nopal nacional, como una estrategia para la identificación de genotipos. Así mismo, esta información podría ser utilizada en programas de mejoramiento genético del género *Opuntia*.

Palabras clave: Caracterización Molecular; *Opuntia*; AFLP; Dendrograma; Morfología del fruto.

Abstract. Dendrograms were constructed based on AFLP markers and a table was used to group fruit characters of wild and cultivated genotypes of Mexican nopal (*Opuntia* spp.). The AFLP dendrogram obtained using ≈57.5 markers (from primers *Mse* I-CAC/*Eco* RI-AAG) did not agree with the known taxonomic classification for this species. Additionally, a complementary table for fruit characters (morphological and °Brix) showed a wide range for wild genotypes, e.g. from 21–22 °Brix for ‘Tapón Blanco’ and ‘Guilanche’ genotypes, to 5.0–8.2 °Brix for xoconostles (acidic fruits). Even though there were some divergences with taxonomic classification, it is expected that both genetic and physicochemical information would contribute to a more appropriate identification of *Opuntia* genotypes that, in turn, may be used in breeding programs of this genus.

Keywords: Molecular Characterization; *Opuntia*; AFLP; Dendrogram; Fruit morphology.

¹ Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes, Km 18 carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, México, C.P. 20330.

² Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 138, Km 1, carretera Villa Hidalgo-Pinos, Zacatecas, México, C.P. 98980.

³ Depositario Nacional de *Opuntia*, Centro Regional Universitario Centro Norte de la Universidad Autónoma de Chapingo. Cruz del Sur # 100, Colonia Constelación, El Orito, Zacatecas, México C.P. 98085.

⁴ Laboratorio de Biotecnología y Funcionalidad de Alimentos, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad No. 940, Aguascalientes, Aguascalientes., México, C.P. 20100.

⁵ Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 6.5, Carretera Celaya-San Miguel de Allende, Roque, Celaya Guanajuato, México, C.P. 38110.

Address Correspondence to: Héctor Silos Espino, e-mail: silosespino@hotmail.com

Recibido / Received 2.V.2012. Aceptado / Accepted 15.III.2013.

INTRODUCCIÓN

Las plantas de nopal del género *Opuntia* se encuentran distribuidas por todo el territorio mexicano (Bravo-Hollis, 1978), en casi todos los tipos de regiones fisiográficas. Crece en forma silvestre y se propaga de forma sexual y asexual por medio de cladodios (clonal). Esto permite una gran cantidad de variantes susceptibles de estudio (Gallegos y Mondragón, 2011). El aspecto morfológico y de forma de crecimiento de los nopales hace que se les asignen nombres comunes de acuerdo a cada región para un solo tipo de nopal, y en tipos de vegetación conocidas como nopaleras (Rzedowski, 1978), donde crecen de manera silvestre. Como resultado, es altamente probable que se generen nuevos genotipos con algún potencial, sin que se le brinde la atención respectiva para su aprovechamiento o conservación (Gallegos-Vázquez et al., 2012). Algunas características específicas del nopal son su color de fruto, contenido de semillas, espinas, gloquidios, y una alta frecuencia de polinización cruzada, lo que hace difícil algunas veces establecer un criterio apropiado para la identificación de genotipos. Se han realizado diversos estudios para conocer la riqueza biológica del nopal. Por ejemplo, en morfología, Scheinvar (2010) propuso 93 especies para el subgénero *Opuntia* y 10 para el subgénero *Nopalea*. Mondragón-Jacobo y Bordelon (2002) encontraron que el color de fruto es un carácter apropiado para la agrupación en 32 genotipos de nopal. Reyes-Agüero et al. (2005, 2009) con base en la morfología de la planta, cladodio, flor, fruto y semilla reportaron 21 especies de 243 genotipos en la Altiplanicie Meridional de México, con variantes distribuidos de la siguiente manera: *O. albicarpa* (trece), *O. chaveña* (seis), *O. durangensis* (uno), *O. ficus-indica* (siete), *O. hyptiacantha* (siete), *O. joconostle* (seis), *O. lasiacantha* (cuatro), *O. lindheimeri* (uno), *O. megacantha* (veintidós), *O. robusta* (dos) y *O. streptacantha* (ocho) genotipos respectivamente. Por otro lado, también se han realizado algunas investigaciones que incluyen marcadores moleculares para establecer diferencias entre las especies. Usando la técnica de RAPDs, Wang et al. (1998) encontraron diferencias entre *O. ficus-indica*, *O. hyptiacantha*, *O. cochiniifera*, *O. lindheimeri* var. *Inermis* y *O. ellisinana*; García-Zambrano et al. (2006) separaron dos grupos de 100 genotipos sin encontrar una clara relación en cuanto a la caracterización taxonómica conocida. Por medio de la técnica de AFLPs y chSSR, Labra et al. (2003) encontraron similitud entre especies distintas, y propusieron que *O. ficus-indica* debería ser considerada como una planta domesticada a partir de *O. megacantha*. Luna-Páez et al. (2007) usando una combinación entre RAPDs e ISSR en embriones apomícticos de 22 genotipos silvestres y cultivados encontraron alta relación entre genotipos de *O. ficus-indica* y *O. megacantha* con los de *O. streptacantha*. Estos autores consideraron a los dos primeros genotipos como mejorados, mientras que el último fue un genotipo silvestre. Como ejemplo de genotipos cultivados tenemos a *O. megacantha*

(Morada T-10 y Pico Chulo), *O. ficus-indica* (genotipos sin espinas, Milpa Alta y Rojo Pelón), *O. albicarpa* (Cristalina y Burrón). Como ejemplo de genotipos silvestres; *O. joconostle* (Xoconostle Cuaresmeño), *O. streptacantha* (Cardona), *O. robusta* (Tapón); *O. hyptiacantha* (Charola), *O. lasiacantha* (Sanjuanera), *O. undulata* (Bolañera) y *O. cochiniifera* (Cacalote). La técnica de AFLPs provee más información para agrupar genotipos por la amplificación de fragmentos de ADN, lo que podría contribuir a la identificación de genotipos de *Opuntia*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar 85 genotipos representativos para obtener su perfil genético y agrupamiento por el tamaño y contenido de "Brix del fruto, por ser éste último un elemento de rápida relación identificación y con potencial de aprovechamiento para consumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron 85 genotipos de nopal (*Opuntia* spp.), un genotipo de *Pereskiaopsis rotundifolia* y otro de *Opuntia imbricata*, siendo estos dos últimos controles del análisis. Los genotipos fueron proporcionados por los Bancos de Germoplasma "Efraím Hernández Xolocotzi" (CBTA No. 138 Villa Hidalgo, Zac., México) y el Depositario Nacional de *Opuntia* (Centro Regional Universitario Centro Norte de la Universidad Autónoma Chapingo) ubicado en el Orito, Zacatecas, México (22° 44.7' N, 102° 36.4' O). Los genotipos de nopal se encuentran debidamente registrados e identificados a nivel de especie y la información puede ser consultada en las siguientes citas (Reyes Agüero et al., 2009; Gallegos y Mondragón, 2011).

Extracción de ADN. De cada genotipo, se obtuvieron muestras de 200 mg para la extracción de ADN los cuales fueron macerados hasta polvo fino con nitrógeno líquido. El ADN fue extraído por dos métodos: el descrito por Tel-Zur (1999) y el protocolo CTAB con modificaciones (CTAB-Fenol, CTAB-Fenol-Cloroformo, CTAB-Etanol y CTAB-Octanol).

Análisis de AFLP. La metodología para los análisis de AFLPs fue realizada en el laboratorio de análisis moleculares del INIFAP-Celaya, México, siguiendo a LI-COR Biosciences® (LI-COR, 2010) y Vos et al. (1995). Se utilizaron 6 combinaciones de iniciadores: *Mse I-CAA/Eco RI-ACC*, *Mse I-CAA/Eco RI-AGC*, *Mse I-CAA/Eco RI-AAC*, *Mse I-CAA/Eco RI-AAG*, *Mse I-CAC/Eco RI-AAG* y *Mse I-CAC/Eco RI-ACA*. La digestión se realizó con un volumen final de 515 µL de mezcla de reacción que contenía: 100 µL de ddH₂O *Sigma*®, 300 µL de Buffer R/L 10 X, 50 µL de *Tru 9* (10 U/µL), 15 µL de ADN muestra (100 ng/µL), 50 µL de *Eco RI* (10 U/µL), a 37 °C por 3,5 h y 70 °C por 15 min. La ligación se realizó con una mezcla de reacción de 200 µL de ddH₂O *Sigma*®, 100 µL de Buffer R/L 10 X,

500 μL de T4 ADN *Ligasa* (1 U/ μL), 100 μL de Adaptador *Mse I* (50 pmol/ μL), 100 μL de Adaptador *Eco RI* (5 pmol/ μL), 120 μL de ATP 10 mM, a 37 °C por 5,5 h; la dilución de muestra fue de 2 μL por 18 μL de agua ultrapura. La pre-amplificación se realizó con un volumen final de 1 mL de la mezcla de reacción que contenía: 540 μL de ddH₂O *Sigma*[®], 125 μL de PCR Buffer 10 X, 60 μL de MgCl₂ 50 mM, 100 μL de dNTPs 2.5 mM c/u, 25 μL de *Taq* (5 U/ μL), 75 μL de *Iniciador Mse I+C* 50 ng/ μL , y 75 μL de *Iniciador Eco RI+A* 50 ng/ μL con un ciclo de 94 °C por 2 min, 20 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 1 min y 7 min a 75 °C; las muestras fueron diluidas utilizando 1 μL con 39 μL de agua ultrapura. La amplificación se realizó con un volumen final de 377,2 μL de mezcla de reacción que contenía: 148 μL de ddH₂O (*Sigma*[®]), 50 μL de PCR Buffer 10 X, 24.2 μL de MgCl₂ 50 mM, 40 μL de dNTPs 2.5 mM c/u, 15 μL de *Taq* (5 U/ μL), 50 μL de *Mse I* 50 ng/ μL , 25 μL del *Iniciador Eco RI* 10 pmol/IRDye700 nm, y 25 μL *Iniciador Eco RI* 10 pmol/IRDye800 nm; la reacción se realizó a 94 °C por 2 min, 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, 12 ciclos del ciclo 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, 23 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, un ciclo de 7 min a 72 °C, 4 °C. El touchdown incluyó 94 °C por 3 min, un ciclo de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por un min, 12 ciclos de 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s (0.7 °C por ciclo), 23 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por un min y un ciclo de 5 min a 72 °C, 4 °C. Se añadió 1,5 mL de buffer de carga a igual volumen de reacción (80% formamida, 1 mg/mL xileno-cianol FF, 1 mg/mL bromofenol-blue, 10 M EDTA, pH 8,0), desnaturalizado con *Blue stop buffer*[®] (LICOR[®]) por 3 min a 92 °C, cargado en un gel de poliacrilamida al 6,5% en buffer TBE por 2 h a 40 W. La secuenciación fue realizada en un secuenciador *ADN Li-Cor 4200*[®] con dos filtros: 700 nm y 800 nm. Las bandas polimórficas fueron analizadas y contabilizadas manualmente y las matrices resultantes fueron utilizadas para la construcción de un dendrograma basado en el coeficiente de Jaccard usando UPGMA con el software NTSYS pc 2.1 (Exeter Software, Setauket, New York, U. S.A).

Mediciones morfológicas de los frutos. Para inferir el perfil genético obtenido con la morfología del nopal se analizaron frutos de los mismos genotipos. Así, se determinó su coloración con el código Munsell (Munsell, 1977), y se realizaron mediciones de longitudes polares y diámetros ecuatoriales utilizando un vernier digital (CALDI-6MP Truper[®], Switzerland). Los pesos se obtuvieron con una balanza analítica (OHAUS[®] analytical plus, Ohaus Inc. Florham Park, Switzerland). El contenido de sólidos solubles expresados como °Brix fue obtenido con un refractómetro portátil (Erma[®], Hand Refractometer[®] Tokio, Japón). Las medidas fueron realizadas en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes, México.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis genético. El número de fragmentos generados con los diferentes iniciadores en los genotipos dulces y ácidos fue de entre 37,9 a 57,5 en promedio (Tabla 1), los cuales variaron en tamaño entre 50-700 pb (Fig. 1, Fig. 2). Uno de los genotipos de *Opuntia* (Camueso Redondo) mostró 336 fragmentos amplificadas. Le siguió un xoconostle (Limón) con 315 fragmentos lo que podría indicar que la característica dulce o ácido puede residir en muy poca diferenciación en sus ADN. Los fragmentos generados con el iniciador M-CAC/E-AAG permitieron distinguir a la especie más alejada (*P. rotundifolia*) de los genotipos de nopal analizados. Por consiguiente, los fragmentos generados con este iniciador se utilizaron para construir un dendrograma y obtener la relación genética respectiva (Fig. 3 A).

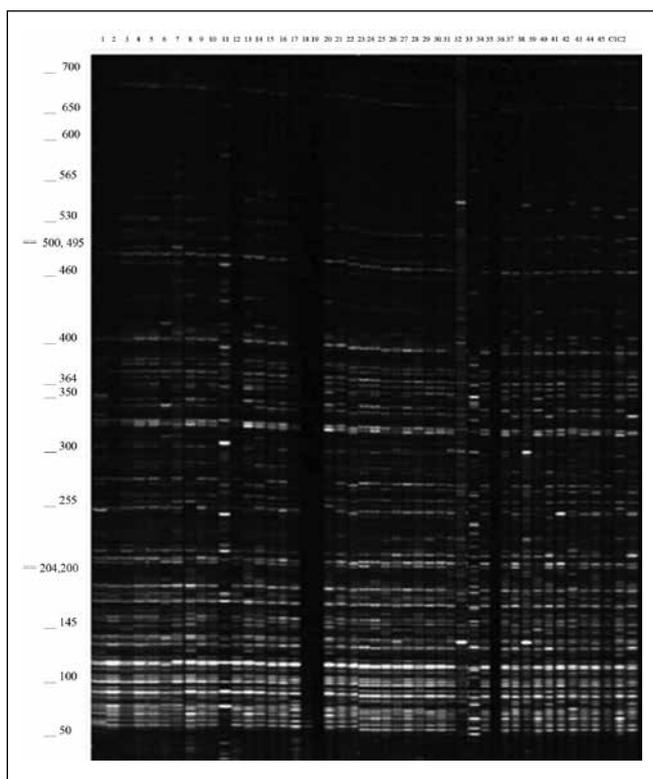


Fig. 1. Perfil genético de genotipos de nopal de frutos dulces (*Opuntia* spp., >10,3 °Brix) generado por AFLPs con los iniciadores M-CAC/E-AAG y dos controles (C1: *Pereskopsis rotundifolia* y C2: *Opuntia imbricata*). El número de la parte superior indica la línea con el genotipo descrito en la Tabla 2. El número al lado izquierdo indica el marcador de peso molecular.

Fig. 1. AFLP fragments, using primers M-CAC/E-AAG, of sweet *Opuntia* spp. (>10.3 °Brix) and *Pereskopsis rotundifolia* and *Opuntia imbricata* (C1 and C2, respectively). Numbers on top correspond to the ID numbers from Table 1. Molecular weight is described on the left side.

Tabla 1. Fragmentos de ADN amplificados por AFLPs de genotipos silvestres y cultivados de *Opuntia* spp. de México.
Table 1. AFLP amplicons from wild and cultivated Mexican *Opuntia* spp. genotypes

No	Genotipos dulces (<i>Opuntia</i> spp.)	Iniciadores*						Total	No.	Genotipos ácidos* (<i>Opuntia</i> spp.)	Iniciadores						Total
		A	B	C	D	E	F				A	B	C	D	E	F	
1	Roja cereza	78	34	36	42	53	45	288	46	Rojo San Isidro	50	41	44	52	63	2	252
2	Apanicho	44	34	33	32	48	37	228	47	Rosa	50	46	37	50	65	43	291
3	Terciopelo	53	42	40	49	61	48	293	48	Canica	60	55	40	0	63	55	273
4	Rastrero Común	58	37	33	47	54	63	292	49	Fresa	53	49	43	44	71	51	311
5	Blanca de Castilla	54	48	36	57	53	56	304	50	Orejón	53	44	45	47	66	49	304
6	Duraznillo Amarillo	41	50	38	48	54	35	266	51	Manso	49	44	37	52	61	46	289
7	Pelón Blanco	51	44	35	51	59	42	282	52	Blanco Villa Hidalgo	45	37	20	0	61	59	222
8	Tapón Mayero	49	46	35	51	58	59	298	33	Piriforme	55	46	0	44	61	42	248
9	Tapón Macho	42	7	42	46	61	35	233	54	Rojizo	58	47	35	46	56	54	296
10	Pachón Rojo	52	44	42	53	67	46	304	55	Rojo Villa Hidalgo	48	56	0	41	60	62	267
11	Rojo Pelón	60	56	55	39	70	28	308	56	Verdulero	57	45	40	44	73	33	292
12	Jarrilla Amarilla	58	42	35	31	71	39	276	57	Meloncillo Cruceñ	58	54	37	47	71	50	317
13	Tapón forma globosa	57	44	37	48	42	58	286	58	Dorado	56	44	38	28	65	48	279
14	Rojo Sandia	55	50	38	49	58	56	306	59	Rosado	52	51	42	0	69	55	269
15	Huevo de Gato	48	46	37	49	67	58	305	60	Ombligón	51	48	37	44	65	12	257
16	Cardón Chatito	45	50	40	6	58	47	246	61	Limón	51	44	37	49	69	65	315
17	Rastrero Duraznillo	43	37	44	49	67	52	292	62	Cuaresmeño Blanco	51	45	48	0	61	48	253
18	Meloncillo Rosa	52	44	36	37	44	46	259	63	Lima	54	49	38	44	59	45	289
19	Sangre de Toro	51	39	40	37	55	48	270	64	Chiché	49	46	42	45	64	54	300
20	Camueso Legítimo	44	39	37	44	33	0	197	65	Guanajuato	54	45	40	37	55	48	279
21	Verdulero Huarachon	33	37	36	40	48	67	261	66	Cuaresmeño	52	33	50	44	59	30	268
22	Pachón Cimarrón	50	30	36	45	57	43	261	67	Blanco cruceñ	9	39	33	41	46	0	168
23	Masuda Blanca	26	31	43	58	47	17	222	68	Limeño	53	34	33	15	56	67	258
24	Meloncillo Memelo	51	36	45	56	52	34	274	69	Chacalote	53	33	43	31	53	59	272
25	Pico Chulo	47	33	52	44	55	38	269	70	Pachón	54	34	43	38	64	69	302
26	Memelo	56	34	40	44	55	38	267	71	Púrpura	53	44	36	46	58	35	272
27	Burrona	52	28	38	46	50	45	259	72	Pijo	45	40	34	43	59	41	262
28	Milpa Alta	56	27	49	40	51	43	266	73	Espinoso	39	44	36	35	58	49	261
29	Anaranjada	54	37	34	46	55	44	270	74	Verde	40	33	62	50	58	40	283
30	Tapón Ballita penca chica	57	34	37	16	51	52	247	75	Amarillo	32	31	43	49	48	33	236
31	Fafayuco Globoso	44	32	33	44	55	51	259	76	Tuna agria	45	33	31	47	55	43	254
32	Mulato	50	25	36	30	52	48	241	77	Chapeado	34	32	48	52	51	31	248
33	Guilanche	51	38	28	0	43	30	190	78	Apan Hidalgo	46	25	30	38	60	39	238
34	Camueso Naranja	53	43	35	40	53	47	271	79	Chaeño	48	36	33	41	55	2	215
35	Zarca	54	34	38	47	57	52	282	80	Amarillo Grande	35	44	43	43	59	49	273

36	Tapón Blanco	60	30	34	0	57	44	225	81	<i>O. joconostle/O. matudae</i>	51	38	34	42	51	52	268
37	Masuda Roja	54	39	35	49	58	45	280	82	Memeño	63	45	39	0	64	43	254
38	Reyna	50	35	39	36	47	45	252	83	Rosa Agrio	50	40	31	36	46	46	249
39	Sangre de toro 2	55	40	40	51	50	51	287	84	Naranjón	50	38	47	42	54	41	272
40	Cochinero	30	39	42	47	60	44	262	85	Rojo Los Campos	48	49	37	55	53	53	295
41	Fafayuco Legítimo	43	36	34	44	61	45	263		Promedio	48,8	42	37,1	37,5	59,6	43,5	268,7
42	Duraznillo Bola	44	44	41	43	59	52	283		Controles							
43	Camueso Redondo	97	34	39	41	69	56	336	C1	Coyonostle <i>O. imbricata</i>)	50	32	40	24	58	2	206
44	Tapón Común	48	49	36	50	61	58	302	C2	<i>Pereskiaopsis (P. rotundifolia)</i>	51	32	35	38	56	45	257
45	Duraznillo Rojo	44	46	48	38	68	53	297		Promedio de control	50,5	32	37,5	31	57	23,5	231,5
	<i>Promedio</i>	50,9	38,3	38,6	41	55,6	45,3	270,2		<i>Promedio general</i>	49,9	39,8	37,9	39,3	57,5	44	268,6

Iniciadores: A = M-CAA/E-ACC; B = M-CAA E-AGC; C = M-CAA/ E-AAC; D = M-CAA/ E-AAG; E = M-CAC/ E-AAG; F = M-CAC/E-ACA.

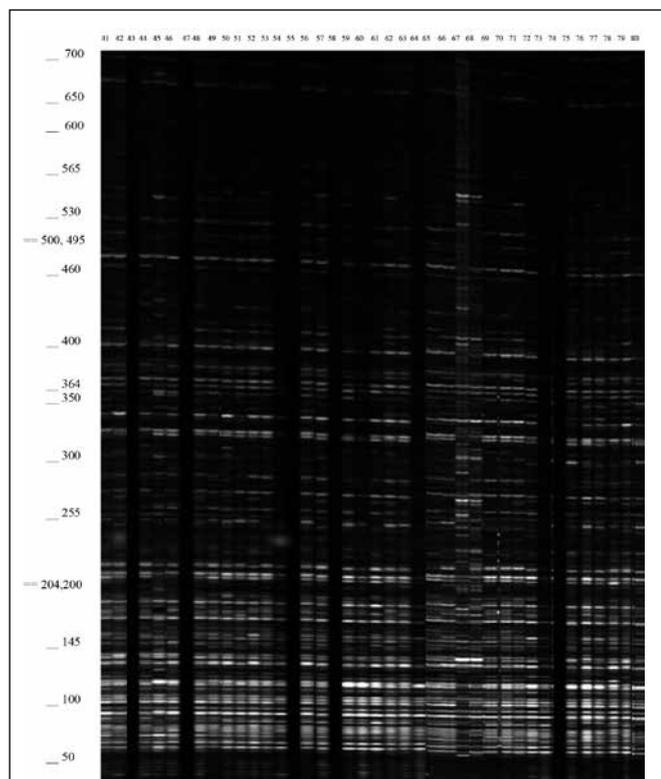


Fig. 2. Perfil genético de genotipos de nopal de frutos ácidos (*Opuntia* spp., <10,3 °Brix) generado por AFLPs con los iniciadores M-CAC/E-AAG. El número de la parte superior indica la línea con el genotipo descrito en la Tabla 2. El número al lado izquierdo indica el marcador de peso molecular.

Fig. 2. AFLP profile of nopal (*Opuntia* spp.) genotypes having acidic fruits (<10.3 °Brix) using primers M-CAC/E-AAG. Numbers on top of the figure refer to genotypes described on Table 2. Numbers on the left correspond to molecular weight.

El dendrograma mostró dos grupos muy diferenciados denominados ramas *b* y *e*, respectivamente. La rama o grupo *b* incluyó a la *c* donde se ubica el grupo control (*P. rotundifolia* y *O. imbricata*). El primero considerado ancestro de los nopales modernos y el segundo correspondiente a un genotipo del género *Cylindropuntia*, pariente cercano del género *Platyopuntia*. La rama o grupo *d* incluyó genotipos mayoritariamente silvestres, de fruto pequeño y sabor ácido del tipo xoconostle (Chiché, Blanco Crucen, Cuaresmeño Blanco, Ombligón y Canica). La mayor relación genética se encontró entre los llamados Canica y Meloncillo rosa con un coeficiente de similitud de 0,8.

El grupo *e* incluyó la mayoría de los genotipos silvestres y cultivados analizados (76), y con diferentes características morfológicas. De manera sobresaliente se separó el genotipo Rojo Pelón y posteriormente se formó la rama *f* que agrupó a los genotipos restantes. De manera general podemos diferenciar dos grandes grupos. Uno fue el grupo *p* que agrupó a la mayoría de los genotipos silvestres de fruto pequeño y sabor ácido, con la excepción de un genotipo cultivado (Reyna). El otro grupo fue el *q* que integró 20 genotipos identificados por su potencial frutícola y hortícola (Blanco Pelón, Pico chulo, Masuda Blanca, Milpa Alta, Verdulero Huarachón y Anaranjada), y 3 genotipos de fruto ácido de tipo xoconostle (Xoconostle Rojo Los Campos, Amarillo Grande y Manso, respectivamente). Al final se formó el grupo *r* con solo dos genotipos (Roja Cereza y Terciopelo) que se caracterizaron por presentar gran cantidad de espinas en el cladodio, y sus frutos fueron pequeños de color rojo (0,7). En términos generales, el dendrograma sugiere que los genotipos de fruto ácido o dulce mantienen una estrecha relación genética; por ejemplo, los genotipos más dulce (Tapón rastrero) y más ácido (Pijo) con una cercanía de 0,71 (Fig. 3 A).

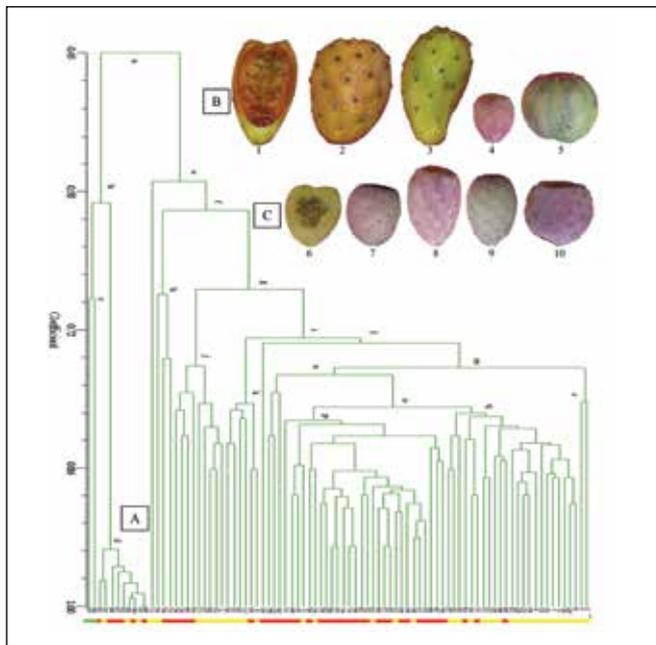


Fig. 3. (A) Dendrograma de 85 genotipos de nopal (*Opuntia* spp.) generado por AFLPs con los iniciadores M-CAC/E-AAG. El número inferior indica el genotipo de nopal descrito en la Tabla 1. La barra de color verde indica control, la de color amarillo a genotipos de nopal de fruto ácido y la de color rojo a genotipos de nopal de fruto dulce. (B) Frutos de genotipos de nopal de fruto dulce. 1: Anaranjada, 2: Zarca (2.5 GY 8/10), 3: Blanca de Castilla (2.5 GY 8/8), 4: Duraznillo Rojo (5RP 6/10) y 5: Tapón Blanco (5 GY 7/6). (C) Frutos de genotipos de nopal de fruto ácido conocidos como xoconostles. 6: Chiché (5 RP 5/9), 7: Rosa (5 RP 6/10), 8: Púrpura (5 RP 7/8), 9: Chacalote (5 RP 5/8) y 10: Pijo (5 RP 6/8).

Descripción morfológica del fruto. De acuerdo al contenido de °Brix en el fruto (Tabla 2) fue posible diferenciar cuatro grupos principales debido a que este es un carácter distintivo a simple vista, y de rápida relación al genotipo en estudio (Fig. 3 B). El grupo I incluyó genotipos de fruto ácido (5,0-9,5 °Brix) conocidos comúnmente como xoconostles de origen silvestre y cultivado. En el Grupo II se ubicaron genotipos con valores de entre 10,3-17,9 °Brix. Estos dos grupos consideran los genotipos de importancia frutícola y hortícola. El Grupo III se caracterizó por genotipos de mayor tamaño y con un contenido de entre 14,1-17,5 °Brix. El Grupo IV se distinguió por dos genotipos silvestres, con el mayor contenido de °Brix y menor tamaño de fruto, menor contenido de mucilago y mayor contenido de espinas.

DISCUSIÓN

Las caracterizaciones genéticas acompañadas de características morfológicas han permitido una mejor identificación de especies de importancia agronómica como se indica a continuación. Con el uso de marcadores moleculares tipo RAPDs, Tapia et al. (2005a) encontraron alta relación en 12 genotipos de piña (*Ananas* spp.) con algunas características morfológicas de la planta (peso, presencia de espinas, color y longitud de hoja, peso de fruto, resistencia a plagas y enfermedades), Azuara et al. (2008) obtuvieron un dendrograma que mostró una relación entre la agrupación genética y genotipos de ajo con menor número de dientes y mayor rendimiento. Melgoza-Villagómez et al. (2009) concluyeron que la respuesta de maduración del fruto se relacionó con la agrupación obtenida por los fragmentos amplificadas al azar analizando 24 genotipos de durazno (*Prunus persica*). Sin embargo, varios estudios hallaron relación entre los perfiles genéticos y las características morfológicas utilizando marcadores moleculares tipo AFLPs. Por ejemplo, Tapia et al. (2005b) no encontraron relación genética con las características de las flores, las hojas y los frutos en mandarina (*Citrus* spp.). Resultados similares fueron obtenidos por Gutiérrez-Diez et al. (2009) al analizar el perfil genético con la morfología del fruto (tamaño, radio polar, diámetro ecuatorial y peso) en genotipos de aguacate. Con la información obtenida en este trabajo, consideramos que la estrecha relación observada entre genotipos silvestres y cultivados es debido a la interpolinización cruzada entre las especies (México es considerado centro de origen: Bravo-Hollis, 1978), con niveles de ploidías variantes de 2n, 4n, 6n y 8n (Rodríguez y Nava, 1998). Por lo tanto, la información generada no mostró relación directa de acuerdo a la taxonomía aceptada en *Opuntias*, basada en la morfología. La información es recurrente en diversos dendrogramas obtenidos por caracterizaciones genéticas (Wang et al., 1998; Labra et al., 2003; Guerrero-Muñoz et al., 2006; García-Zambrano, 2006; Luna-Páez et al., 2007). Los taxónomos consideran que el nopal continúa en una activa diferenciación genética (Granados y Castañeda, 1991). Por lo tanto, se requieren más estudios que detecten diferencias en las especies para crear una posible reclasificación de los mismos (Barrientos et al., 1993; Wang et al., 1998). Finalmente, nuestro estudio contribuyó a determinar el perfil genético y su agrupamiento de genotipos de nopal (*Opuntia* spp.) representativos de México, presentes en dos bancos nacionales de conservación de germoplasma de nopal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Red de Nopal del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas dependiente de la Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SINAREFI-

SNICS-SAGARPA), al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado al alumno Alexander Espinoza Sánchez a través de una beca para estu-

dios de postgrado y a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Dirección General de Educación Superior Tecnológica (DGEST-SEP) por todo el apoyo brindado.

Tabla 2. Genotipos de nopal mexicanos *Opuntia* spp. agrupados de acuerdo a características del fruto.

Table 2. Fruit features on Mexican *Opuntia* genotypes.

Grupo	Nombre local	Características del fruto				
		Longitud (mm)**	Diámetro (mm)**	Peso (g)**	Color	°Brix
I	Xoconostle verdulero, Xoconostle limeño, Xoconostle dorado, Xoconostle rojo Los Campos, Xoconostle orejón, Xoconostle cuaresmero Blanco Villa Hidalgo*, Xoconostle memeño, Xoconostle chachalote, Tuna agria, Xoconostle rojo Villa Hidalgo, Xoconostle verde, Xoconostle rosado, Xoconostle rosa, Xoconostle blanco villa hidalgo, Xoconostle púrpura, Xoconostle pachón, Xoconostle amarillo, Xoconostle piriforme, Xoconostle chiché, Xoconostle canica, Xoconostle cuaresmero*, Xoconostle lima, Xoconostle amarillo grande, Xoconostle espinoso (syn: Xoconostle artón), Xoconostle rojo San Isidro, Xoconostle rojizo, Xoconostle Guanajuato, Xoconostle fresa, Xoconostle rosa agrio, Xoconostle, Ombligón, Xoconostle limón, Xoconostle chapeado, Xoconostle chabeño, Xoconostle pijo, Xoconostle naranjón.	27,9 ± 3,45-60,25 ± 0,68	20,1 ± 2,45 – 47,26 ± 2,39	15,87 ± 2,61-58,33 ± 3,82	Anaranjado / rojo/amarillo/verde	5,0 – 9,5
II	Rojo Sandía, Huevo de Gato, Meloncillo Memelo, Memelo, Sangre de Toro 2, Milpa Alta*, Masuda Roja, Reyna*, Tapón Común, Pelón Blanco*, Roja Cereza, Duraznillo Bola, Terciopelo, Meloncillo Rosa, Duraznillo Amarillo, Duraznillo Rojo, Pachón Cimarrón (syn: Castaño), Burróna*, Fafayuco Legítimo*, Fafayuco Globoso*.	24,32 ± 1,44 – 85,68 ± 2,04	18,10 ± 1,16 – 76,6 ± 30,03	17,34 ± 1,70-136,73 ± 5,71	Rojo/rosa/verde/morado/amarillo/	10,3 – 13,9
III	Camueso redondo, Mulato, Blanca de Castilla, Rojo Pelón*, Tapón forma globosa, Rastrero duraznillo, Anaranjada, Zarca, Sangre de Toro, Pachón Rojo, Tapón Ballita penca chica, Apanicho (syn: Apalillo), Tapón Mayero, Jarrilla Amarilla, Camueso Legítimo, Pico Chulo*, Masuda Blanca (syn: Algodón), Cochinero, Cardón Chatito, Verdulero Huarachon, Rastrero Común, Camueso Naranja.	30,22 ± 0,71-87,64 ± 0,95	30,05 ± 3,22 – 55,24 ± 3,48	19,03 ± 0,70 – 151,23 ± 24,45	Anaranjado / morado/verde/amarillo/rojo/rosa	14,1 – 17,5
IV	Tapón Blanco, Guilanche (syn: Nopal Rastrero).	47,06 ± 8,11-21,88 ± 0,82	43,27 ± 4,61-39,21 ± 4,24	67,56 ± 33,21-46,96 ± 24,44	verde/ morado	21-22

** Genotipos cultivados (reproducción por cladodio y selección individual).

** Promedio ± SD de un solo genotipo; cuando dos valores se encuentran distantes se muestran rangos de múltiples genotipos (mínimo y máximo ± SD).

* Cultivated genotypes (reproduction by cladode and individual selection).

** Mean ± SD of a single genotype; when two values are far apart, ranges for multiple genotypes are reported (minimum and maximum ± SD).

REFERENCIAS

- Azuara, H.L., H. Silos-Espino, C. Perales-Segovia, L. J.F. Gómez, A.G.S. Alpuche y V.L.M. Macías (2008). Morphological and genetic characteristics allow the identification of a collection of garlic cultivars in the North-Central region of Mexico. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* 77: 81-91.
- Barrientos-Pérez, F., A. Muratalla-Lua y F. Barrientos-Priego (1993). New hybrids of *Opuntia*. En: Biotechnology for arid land plants. Institute The University of Texas at Austin. Austin, TX, U. S. A. Chapter 18. pp. 243-251.
- Bravo-Hollis, H. (1978). Las Cactáceas de México. Vol 1 UNAM, México, pp. 235-351.
- García-Zambrano, E., A. Gutiérrez-Díez, G. Salinas-García, E. Cárdenas-Cerda, R. Vázquez-Alvarado, F. Zavala-García y C. J. Martínez (2006). Classification and estimation of genetic diversity of nopal (*Opuntia* spp.) on the basis of phenotypic descriptors and genetic molecular markers. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* 75: 125-135.
- Gallegos-Vázquez, C., y C. Mondragón-Jacobo (2011). Cultivares selectos de tuna, de México al Mundo. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SNICS-SAGARPA) y Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Chapingo, Méx. 159 p.
- Gallegos-Vázquez, C., L. Scheinvar, C. Nuñez Colín y C. Mondragón Jacobo (2012). Morphological diversity of xocostoles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a mexican contribution to functional foods. *Fruits* 67: 109-120.
- Granados, D. y A. Castañeda (1991). Nopal. Historia, fisiología, genética e importancia frutícola Editorial Trillas, 1ª Edición. México, D.F. 227 p.
- Guerrero-Muñoz, M.P., M.H. Zavaleta, A. Barrientos-Priego, C. Gallegos-Vázquez, C. Nuñez-Colín, E. Valadéz-Moctezuma y J. Cuevas-Sánchez (2006). Techniques for studying internal micro-morphology from *Opuntia* hard seeds. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29:37-43.
- Gutiérrez-Díez, A., J. Martínez, E. García-Zambrano, L. Iracheta-Donjuan, J. Ocampo-Morales y I. Cerda-Hurtado (2009). Study of genetic diversity of native avocado in Nuevo León, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 9-18.
- Labra, M., F. Grassi, M. Bardini, S. Imazio, A. Guiggi, S. Citterrop, E. Banfi, y S. Sgorbati (2003). Genetic relationships in *Opuntia* Mill. genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Science* 165: 1129-1136.
- LI-COR (2010). IRDye Fluorescent AFLP protocol for large plant genome analysis. Doc# 988-11159 <http://biosupport.licor.com>; última consulta: 20. IX. 2010.
- Luna-Páez, A., E. Valadéz-Moctezuma, A. Barrientos-Priego y C. Gallegos-Vázquez (2007). Characterization of *Opuntia* spp. by means of seed with RAPD and ISSR Markers and its possible use for differentiation. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 9: 43-59.
- Melgoza-Villagómez, C., H. Silos-Espino, A. Nava-Cedillo, L. Valera-Montero, C. Perales-Segovia, M. Martínez, C. Martínez, A. Cruz y O. Paredes López (2009). Identification of peach genotypes (*Prunus pérsica* L. Batsch) in the North-Central Region, México. *International Journal of Botany* 5: 160-165.
- Mondragón, J.C. y B.B. Bordelon (2002). Apomixis presence on crosses from Mexican nopal and their preliminary molecular identification. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25: 247-252.
- Mondragón-Jacobo, C. (2004). Nopal breeding: Updates at 2003 and perspectives. *Horticultura* 9: 97-114.
- Munsell, A.H. (1977). Munsell color charts for plant tissues. Munsell Color Co. Baltimore, MD, E.E.U.U. 40 p.
- Reyes-Agüero, J., J. Aguirre A. y J. Flores (2005). Morphological variation of *Opuntia* (Cactaceae) related to domestication in the Mexican Southern Uplands. *Interciencia* 30: 476-484.
- Reyes-Agüero, J., J.R. Aguirre Rivera, F. Carlín Castelán y A. González-Durán (2009). Catálogo de principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la Altiplanicie Meridional de México. UASLP, SAGARPA y CONACYT San Luis potosí, S.L.P. México. 350 p.
- Rodríguez, S.E. y A. Nava-Cedillo (1998). Nopal. Riqueza agroecológica de México. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológicas. S.E.P. México, D.F. 160 p.
- Rzedowski, J. (1978) Vegetación de México. Limusa, México, D. F. 432 p.
- Scheinvar, L., G. Olalde-Parra, D. Olvera-Shule y C. Martínez-González (2010). Base de datos Especies Silvestres de Nopales Mexicanos. Laboratorio de Cactología, Jardín Botánico IB-UNAM.
- Tapia, C.E., H. Guillen y M. Gutiérrez (2005a). Genetic Characterization of pineapple (*Ananas* spp.) accessions by RAPD and ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28: 187-194.
- Tapia, C.E., E.M.A. Gutiérrez, M.L. Warburton, V.A. Santacruz y M.A. Villegas (2005b). Characterization of mandarin (*Citrus* spp.) using morphological and AFLP markers. *Interciencia* 30: 687-693.
- Tel-Zur, N., S. Abbo, D. Myslabodski y Y. Mizrahi (1999). Modified CTAB procedure for DNA isolation from epiphytic cacti of the genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 249-254.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper y M. Zabeau (1995). A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Wang, X., P. Felker, D., M. Burow y A. Paterson (1998). Comparison of RAPD marker patterns to morphological and physiological data in the classification of *Opuntia* accessions. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 3: 3-14.