

1 9 8 7 - A

Reg. No. 79380199

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIO ANATOMICO-FISIOLOGICO COMPARATIVO EN
MORFOESPECIES DE NOPAL (*Opuntia* spp) TUNERO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN **BIOLOGIA**

P R E S E N T A

LUIS OCTAVIO LOPEZ AMEZCUA

GUADALAJARA, JAL AGOSTO DE 1991

ESTUDIO ANATOMICO-FISIOLÓGICO COMPARATIVO EN MORFOESPECIES DE NOPAL
(*Opuntia* spp) TUNERO.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara bajo la dirección del Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

A Tatiana: Por encontrarme
cuando me pierdo
por buscarme
cuando no me encuentro

A mis padres: José y María Concepción

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eulogio Pimienta Barrios, director de la tesis, por su paciencia, su amistad y su excelente calidad humana.

A Alejandro Muñoz, por su amistad y su apoyo en todo momento.

A Irene Mendez, por su atinada intervención.

Arsenio y Teresa, por su apoyo y su comprensión.

Dalmiro.

Maribel.

Betty.

A mis Hermanos Pepe y Guigui.

A mi Abuela Ma. Luisa, por su Amor.

CONTENIDO

1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	2
3. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 Origen y distribución	3
3.2 Descripción del genero <i>Opuntia</i>	3
3.2.1 Clasificación taxonómica	3
3.2.2 Morfología de la planta	3
3.2.3 Tallo	4
3.2.4 Cutícula	4
3.2.5 Epidermis	5
3.2.6 Colénquima	5
3.2.7 Clorénquima	6
3.3 Diferenciación floral	6
3.4 Fecundación	6
3.5 Genética y fitomejoramiento	7
3.6 Fisiología	7
3.6.1 Orientación de las pencas	8
4. MATERIALES Y METODOS	10
4.1 Estudio anatómico	12
4.2 Estudio fisiológico	13
4.3 Analisis estadístico	13
5. RESULTADOS	14
5.1 Grosor de cutícula	14
5.2 Profundidad de la cavidad o cripta estomática	14
5.3 Longitud de estomas	15
5.4 Grosor de epidermis	17
5.5 Grosor de colénquima	20
5.6 Grosor de clorénquima	22
5.7 Diámetro de núcleos	28

6. Porcentaje de acidez en el tejido clorénquimatoso.	30
7. Coeficientes de correlación entre las variables morfológico anatómicas de nopal tunero.	34
8. DISCUSION	36
9. CONCLUSIONES	40
10. LITERATURA CITADA	42

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Mecanismo fotosintético en plantas MAC.	8
Figura 2a. Corte transversal de la epidermis y corteza diferenciando cripta estomática, estomas y cavidad estomática.	16
Figura 2b. Profundidad de la cripta estomática.	16
Figura.3. Corte transversal de la epidermis y corteza diferenciando la cutícula, epidermis, colénquima, cristales de oxalato de calcio y clorénquima.	18
Figura.4. Corte transversal de la epidermis y corteza diferenciando cripta estomática, colénquima, aerenquima y clorénquima.	18
Figura 5. Presencia de cristales de oxalato de calcio.	26
Figura.6. Presencia de cristales de oxalato de calcio y tricomas.	26

INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Lista de morfoespecies utilizadas.	11
Cuadro 2. Grosor promedio de cutícula en micrometros (μm .).	19
Cuadro 3. Cavidad o cripta estomática promedio en micrometros (μm .).	21
Cuadro 4. Longitud promedio de estomas en micrometros (μm .).	23
Cuadro 5. Grosor promedio de epidermis multiseriada en micrometros (μm .).	24
Cuadro 6. Grosor promedio de colénquima en micrometros (μm .)	25
Cuadro 7. Grosor promedio de clorénquima en milímetros (mm.).	27
Cuadro 8. Diametro de núcleos en micrometros (μm .).	29
Cuadro 9. Magnitud del cambio nocturno en pH en el clorénquima de morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal tunero.	31
Cuadro 10. Variación en la acidificación nocturna en ($\mu\text{moles}/\text{cm}^2$) en la cara este de cladodios maduros en morfoespecies silvestres y cultivadas de nopal tunero.	32
Cuadro 10a. Variación en la acidificación nocturna en ($\mu\text{moles}/\text{cm}^2$) en la cara oeste de cladodios maduros en morfoespecies silvestres y cultivadas de nopal tunero.	33
Cuadro 11. Coeficientes de correlación entre las variables morfológico-anatómicas de nopal tunero.	35

1. INTRODUCCION

Diferentes autores han reportado modificaciones anatómicas en diferentes miembros de la familia *Cactaceae*, que les han permitido adaptarse a las condiciones limitantes que prevalecen en las zonas áridas y semiáridas (Conde,1975; Gibson,1982). Sin embargo, estos estudios se han realizado en un número limitado de miembros de esta familia y en casos aislados se reporta información de especies del subgénero *Opuntia*, a pesar de que en éste se encuentran clasificados los nopales, que entre las cactáceas, son los que presentan un mayor número de especies con mayor valor económico para el hombre.

Entre las modificaciones anatómicas adaptativas más importantes que se han registrado en cactáceas sobresalen la cutícula que tiene como funciones principales reducir la evaporación de agua celular y evitar o disminuir el daño por microorganismos patógenos (Conde,1975; Gibson y Nobel,1986); al reducir la evaporación o transpiración, también contribuye la formación de criptas estomáticas, que colocan en posición hundida a los estomas (Gibson,1982), y la presencia de cristales de calcio en la hipodermis, ya que al ser refractarios disminuyen la absorción excesiva de energía luminosa (Jacobsen,1960).

Por otro lado, los estudios de algunas de las modificaciones adaptativas de tipo anatómico, fisiológico y bioquímico en plantas del desierto, ofrecen la oportunidad de identificar tendencias de especialización estructural, que ayuden a explicar las relaciones filogenéticas-adaptativas entre miembros de las cactáceas, diferencias en la actividad fotosintética, de transpiración y mecanismos bioquímicos, fisiológicos o moleculares que puedan ayudar a incrementar la tolerancia a estrés del ambiente en plantas cultivadas, lo cual es una necesidad urgente, por las futuras reducciones de agua que se espera presenten en un futuro cercano (Berry, et al. 1982).

El presente estudio forma parte de un proyecto de investigación biosistemático orientado en primer plano a la descripción de aspectos biológicos del nopal tunero (*Opuntia* spp), tales como anatomía, morfología, reproducción, ecología, genética, evolución y composición química en tallos, frutos, semillas y flores, que ayuden a un mejor conocimiento de esta cactácea; el cual servirá para fortalecer el marco teórico, que servirá de base para la fundamentación de estudios posteriores y podrá ayudar a comprender mejor algunos aspectos anatómicos y funcionales en morfoespecies de nopal tunero.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la variación de características morfológicas, anatómicas y fisiológicas en cladodios adultos de nopal tunero de morfoespecies que difieren en su origen ecológico, taxonómico y hábitos de crecimiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la magnitud de la variación anatómica y fisiológica entre morfoespecies individuales.

2. Relacionar la variación en características anatómicas con las características ambientales que prevalecen en zonas semiáridas.

3. Establecer relaciones anatómico-funcionales con la variación en el esfuerzo reproductivo y adaptabilidad de morfoespecies de nopal tunero.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1 Origen y distribución.

Las cactáceas nativas exclusivamente de America que se caracterizan por habitar regiones áridas o semiáridas. Estas plantas han sido introducidas con éxito en muchas regiones de Europa. La familia cactaceae, comprende alrededor de 200 géneros y unas 2,000 especies.

En las zonas semiáridas de Mexico diferentes factores limitan el crecimiento de estas plantas. El agua es el principal factor limitante, sin embargo otras características ambientales como vientos fuertes y secos, cambios bruscos de temperatura a través del día, deficiencia de nutrientes en el suelo y la presencia de sales y substancias tóxicas, agudizan más la falta de agua. La evolución de los nopales tuneros en ambientes semiáridos, ha sido una de las principales causas por la que diferentes especies del subgenero *Opuntia* hayan diferenciado características fenológicas, fisiológicas y bioquímicas que le permiten adaptarse a tales condiciones adversas (Pimienta, 1988).

La distribución de estas en la república Mexicana, se localiza principalmente en las zonas semiáridas de los estados de San Luis Potosí, Zacatecas, Jalisco, Guanajuato, Aguascalientes, Puebla y Mexico D.F., Durango, Nuevo Leon, Tamaulipas y Oaxaca. .

3.2 DESCRIPCION DEL GENERO *Opuntia*

3.2.1 Clasificación taxonómica

El género *Opuntia* pertenece al orden cactales, a la familia cactáceae, a la subfamilia *Opuntioideae*, a la tribu *Opuntieae* y tiene 5 géneros : *Cylindropuntia*, *Grosonia*, *Corynopuntia*, *Opuntia* y *Selenicereus* (Bravo, 1978).

3.2.2 Morfología de la planta

Las cactáceas por sus caracteres de organización estructuralmente a las demas dicotiledoneas, presentan hábitos y estructuras anatómicas de adaptación altamente especializadas, que les imparten una fisonomía particular (Bravo, 1978a) .

La succulencia es la principal característica morfológica de los nopales y de la mayoría de las cactaceas, esta puede considerarse como

el sello distintivo de su parte aérea (tallo, flores y fruto) y resulta de la proliferación masiva de células de ciertos tejidos parenquimatosos, asociada a un aumento en el tamaño de las vacuolas y a una disminución en los espacios intercelulares (Anónimo, 1981).

3.2.3 Tallo

Los tallos de las cactáceas tienen formas muy diversas pero constantes para cada entidad taxonómica. En el subgénero *Opuntia* las especies son arbustivas si están provistas de un tronco bien definido, rastreras si carecen de él y arborecentes cuando tienen un tallo cilíndrico formado por cladodios viejos (Bravo, 1978a).

3.2.4 Cutícula

La cutícula es una capa continua generalmente gruesa la cual se sitúa sobre la superficie exterior de la epidermis. Esta protege a la planta de la evaporación y de la acción nociva de organismos pequeños, así como del medio ambiente.

El grosor y la composición de la cutícula es dependiente de un número de factores internos y externos. Skoss (1955), menciona que el grosor cuticular aumenta con la edad hasta que la madurez morfológica es alcanzada por la planta. También, hay algunas evidencias de que la radiación ultravioleta puede incrementar el grosor cuticular (Martin y Juniper, 1970).

Similarmente el estrés de agua y temperaturas altas han sido reportadas como causas del incremento en la cantidad de cera de la cutícula de la planta (Lee & Priestly, 1924; Skoss, 1955). Por otra parte, Kurtz, (1958) reportó que muchas plantas del desierto, incluidas especies de *Opuntia* tienen cutículas delgadas, contrario a lo que sería esperado en un ambiente caracterizado por alta temperatura e insolación y con un déficit severo de agua.

La cutícula es por el momento, cada vez más empleada como un importante carácter de diagnóstico en determinaciones taxonómicas (Metcalf & Chalk, 1950; Stace, 1965). Las especies *Larbergia latifolia* y *D. sissooides* pueden ser distinguidas basándose en caracteres cuticulares (Farooqui, 1989).

3.2.5 Epidermis.

La epidermis es el tejido característico que se encuentra al exterior de hojas jóvenes así como raíces y tallos.

La epidermis de las hojas, generalmente tienen una función protectora, regulando la evaporación de agua del tejido interno proveyendo una barrera parcial para las infecciones y lesiones mecánicas. También contribuye en la distribución uniforme de agua y solutos en la hoja (Cronquist, 1984).

La epidermis consta de células que embonan fuertemente entre sí, casi o prácticamente sin espacios intercelulares, excepto por un tipo de espacio intercelular denominado estoma.

Las células epidérmicas varían en forma, pero en superficie interior es por lo común plana y la superficie exterior puede ser plana o combada, la profundidad de las células del interior al exterior es generalmente menor que en cualquier otra dimensión y entonces típicamente de una sola célula de grosor y (con excepción de las células que rodean a los estomas) las células son en la mayoría de los casos casi iguales. Algunas veces, sin embargo, la epidermis puede ser de dos o más células de grosor y compuestas por dos o más tipos de células o ambas (epidermis multiseriada) (Cronquist, 1984).

3.2.6 Colénquima

El colénquima es un tejido vivo compuesto de células más o menos alargadas con paredes primarias gruesas constituidas principalmente por celulosa; además de los compuestos pécticos usuales. El colénquima puede o no tener espacios intercelulares.

La función principal del colénquima es el reforzamiento mecánico, generalmente es el primer tejido de soporte en tallos y hojas jóvenes y también es importante en tallos y hojas maduras.

Las células combinan una considerable resistencia con la flexibilidad y pueden continuar creciendo después que la pared se ha engrosado; por lo tanto, están idealmente adaptadas para el soporte de órganos en crecimiento (Cronquist, 1984).

En el caso específico del nopal tunero se localizan una serie de cristales de oxalato de calcio (drusas) generalmente ubicadas en las primeras dos capas celulares. Estos cristales cumplen una función refractaria, disminuyendo la incidencia de energía luminosa (Jacobsen, 1960).

3.2.7 Clorénquima

Es un tejido formado por células alargadas dispuestas en empalizada el cual presenta cloroplastos así como clorofila y en algunos casos recibe el nombre de parénquima clorofilico, ya que este tejido interviene en el proceso fotosintético de la planta.

Se presentan con frecuencia espacios intercelulares sobre todo en las zonas más cercanas a la epidermis. Este es uno de los tejidos más extensos que se presentan en este tipo de plantas.

La presencia de otras estructuras como son cristales de oxalato de calcio, ductos de mucilago, etc. son específicas de los nopales tuneros, su distribución y su tamaño varía dependiendo de la especie

3.3 DIFERENCIACION FLORAL

El inicio de la diferenciación de las yemas florales puede variar según la mayor o menor dependencia de la especie y variedad respecto del curso de la temperatura (Kramer *et al* 1983) .

La floración en *Opuntia* ocurre en diversas épocas del año aunque en la mayoría de las especies se presenta durante los meses de marzo a junio (Bravo, 1937a) . Las yemas florales de nopal tunero se diferencian durante los meses de marzo y abril y este evento ocurre en el mismo año en que el fruto se desarrolla y madura (Pimienta, 1990) . Las flores se producen por lo general en el borde de los cladodios (Sosa y Acosta , 1966) aunque la formación en la parte plana del cladodio se observa en plantas afectadas por el sistema de engrosamiento de cladodios (Pimienta, 1974) .

3.4 FECUNDACION

En condiciones naturales la depositación de granos de polen en los estigmas de las flores de nopal es abundante.

La germinación de los granos empieza relativamente rápido, ya que 24 hrs. después de la polinización es posible observar tubos polínicos desarrollandose en la epidermis glandular del canal estilar. los primeros tubos polínicos llegan a la cavidad locular de las flores 24 hrs. después de la apertura de la flor, y la mayoría la alcanzan en 48 y 72 hrs. La fecundación de los óvulos empieza 48 hrs. despues de la

apertura de la flor y se prolonga durante 10 días, solo un tubo polínico penetra en cada óvulo, a través del micrópilo, por lo que es una fecundación de tipo porogámica (Rosas y Pimienta, 1986) .

El número de óvulos que se fecunda por flor es alto, de un promedio de 200 óvulos por flores, un 90% de éstos se fecundan semillas (Rosas, 1984) .

3.5 GENÉTICA Y FITOMEJORAMIENTO

El nopal tunero es una planta que presenta un amplio polimorfismo, lo cual se observa al estudiar la variación morfológica en poblaciones cultivadas, silvestres y de solar (Pimienta, *et al* 1987) . Se cree que una de las causas de esta variación es el frecuente flujo genético natural entre las diferentes especies de *Opuntia* .

Se considera que el proceso evolutivo que posiblemente han seguido las formas de nopal para diferenciarse, involucra la hibridación en especies distintas seguida por poliploidia, lo que dio origen a individuos alopoloides con dos genomas distintos (Mauricio, 1985) .

En especies colectadas en México se han encontrado niveles de ploidad de $2n$, $4n$, $6n$ y $8n$ (Darrington & wylie, 1955) . Se estima que el 40% de las especies son diploides y el 60% son tanto diploides como poliploides (Lewis, 1980) . En general los nopales tuneros considerados silvestres (tapon. cardón, etc.) son diploides ($2n$) o tetraploides ($4n$), el grado más alto de poliploidia corresponde a los nopales cultivados (Sosa, 1964) .

Los nopales con los niveles más altos de poliploidia ($6n$ y $8n$) tienen mayor dispersión geográfica que los diploides ($2n$); de hecho la mayoría de las variedades de nopal tunero que se han dispersado en Europa, Africa, Australia y Sudamerica corresponden a la especie *O. ficus indica* que es octaploide en la mayoría de sus formas y variedades (Brutsch, 1984) .

3.6 FISILOGÍA

Una de las adaptaciones más importantes que el nopal tunero ha desarrollado para las condiciones limitantes desérticas es un proceso fotosintético denominado metabolismo ácido crasuláceo (MAC). Este tipo de fotosíntesis se distingue del de la mayoría de las plantas en que los

estomas se encuentran cerrados durante el día y abiertos en la noche, cuando la temperatura y el déficit de presión son ordinariamente bajos. En la fotosíntesis (MAC), el CO_2 del aire es fijado y convertido a ácido málico durante la noche; este ácido se almacena en las vacuolas de las células de la corteza. Durante el siguiente periodo de luz, el ácido málico es liberado de la vacuola y descarboxilado en el citoplasma para liberar CO_2 , el cual es finalmente refijado y reducido en los cloroplastos por medio del ciclo de Calvin. Una de las ventajas de esta ruta metabólica es que abate la pérdida de agua por transpiración, debido a que los estomas están abiertos en la noche y cerrados durante el día (Kluge y Ting, 1978; Witting *et al* 1979).

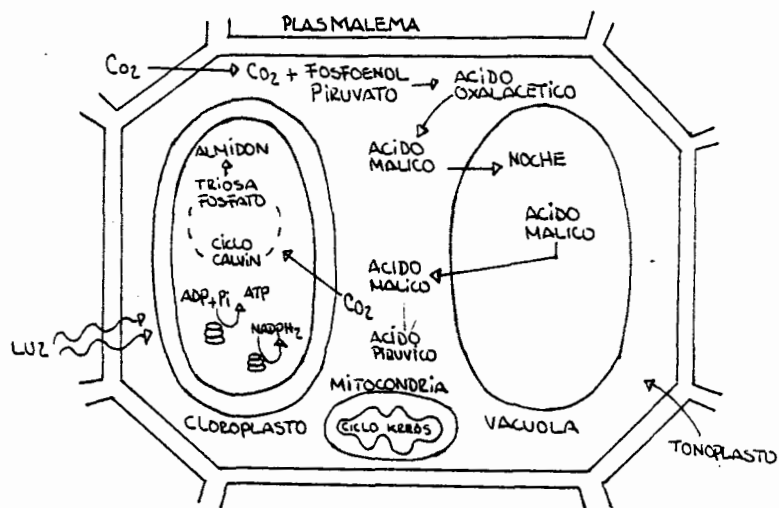


Fig. 1. Mecanismo fotosintético en plantas CAM (Kluge y Ting, 1978)

3.6.1 Orientación de las pencas.

Se ha observado que la posición de los cladodios (verticales, horizontales, etc.) influyen en la actividad fotosintética. Los verticales interceptan generalmente menos luz que los horizontales. La posición u orientación de los cladodios varía con la altitud y condiciones ambientales donde se desarrolla el nopal. En altitudes superiores a 27° grados norte o inferiores a 27° grados sur, la orientación de la cara plana de los cladodios es norte-sur; a latitudes inferiores a 27° grados en el hemisferio norte o sur la orientación de la cara plana es este-oeste.

Esta diferencia en la posiciones de orientación depende también en los meses en que se presente la precipitación pluvial. En lugares como la mayor parte de la república Mexicana en que la precipitación se presenta en verano, la orientación de los cladodios es este-oeste. La orientación de las pencas tiene efectos particulares fisiológicos y en consecuencia en la productividad del nopal tunero, debido a que la productividad en este tipo de plantas es frecuentemente limitada por la disponibilidad de luz (Nobel, 1982b) .

4. MATERIALES Y METODOS

Este estudio se llevo a cabo en 20 morfoespecies de nopal tunero (*Opuntia spp.*). Parte de este material fue colectado en un banco de germoplasma de nopal tunero que se encuentra establecido en el campo experimental de San Luis Potosí, y en poblaciones silvestres, de solar y cultivadas localizadas en los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Puebla, México, Aguascalientes y Jalisco. Los cladodios (pencas) que se colectaron en las localidades antes mencionadas fueron plantadas en recipientes de plástico de capacidad de 15 litros, en los jardines de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara. Estas plantas fueron fertilizadas con sulfato de amonio y gallinaza, aplicando una cantidad de 39.63 g. de gallinaza y 0.86 g. de sulfato de amonio; esta aplicación se realizó el 6 de junio y el 29 de septiembre de 1989. Las morfoespecies que se utilizaron en el presente estudio se alistan a continuación:

Cuadro. 1. Lista de morfoespecies utilizadas

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	TIPO DE NOPALERA	ORIGEN
Copena 5 Amarilla huesona	<i>Opuntia amyclaea.</i>	cultivada	Tecamachalco, Pue.
Burrona	<i>Opuntia megacantha</i>	cultivada	Pinos, Zacatecas
Chapeada	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	" "
Naranjona	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	" "
Papanton	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	Ojocaliente, Zac.
Bca. Rincón de Romos	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	Rincon de Romos, Ag
Pepino	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	P. Natera, Zac.
Bca. de Castilla	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	G. Godina, Zac.
Camuesa	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	Sn. Pedro, S.L.P.
Cristalina	<i>Opuntia sp</i>	cultivada	Pinos, Zac.
Charola	<i>Opuntia sp</i>	solar	V. de Arriago, S.L.
Fafayuco 84	<i>Opuntia sp</i>	solar	V. de Romos, S.L.P.
Morada			
Techaluta	<i>Opuntia sp</i>	solar	Techaluta, Jalisco
Tlaconopal	<i>Opuntia ficus indica</i>	cultivada	Chapingo, México
Copo de nieve	<i>Opuntia ficus indica</i>	cultivada	" "
Pelon Sn.			
Elias	<i>Opuntia ficus indica</i>	cultivada	Sn. Elias, S.L.P.
Tapón de Mayo	<i>Opuntia robusta</i>	solar	Pinos, Zac.
Tapón	<i>Opuntia robusta</i>	silvestre	Ojuelos, Jalisco
Cardón	<i>Opuntia streptacantha</i>	silvestre	" "

4.1 ESTUDIO ANATOMICO

A. Colecta y preparación de muestras.

De cada una de las morfoespecies se tomaron dos muestras por cladodio, de dos plantas diferentes. Para esto se utilizo un sacabocados de 0.78 cm. de diámetro que se incrusta en la parte media basal de cladodios de aproximadamente tres años de edad. Los cilindros que se obtuvieron con el sacabocado, se utilizaron para realizar cortes frescos transversales a mano, con ayuda de navajas de rasurar. Los cortes fueron de aproximadamente 40 μm . Los cortes se colocaron en portaobjetos, los que se tiñeron con azul de toluidina. Cuando no fue posible observar de inmediato la muestra, ésta se conservó en una caja de petri en el congelador de un refrigerador doméstico, a temperatura baja (-4°C .).

B. Registro de datos

Las observaciones al microscopio se realizaron utilizando 5 cortes transversales de cada morfoespecie y en cada una se realizaron observaciones en 5 campos diferentes. En cada uno de estos cortes se registraron los siguientes datos :

- a. Grosor de cutícula (μm)
- b. Profundidad de la cavidad o cripta estomática (μm)
- c. Grosor (μm) y número de capas celulares en la epidermis
- d. Longitud de estomas (μm)
- e. Grosor (μm) y número de capas celulares en el colenquima así como presencia de cristales de oxalato de calcio (drusas) .
- f. Grosor de clorénquima en (mm) así como presencia de drusas, ductos de mucilago
- g. Diámetro de núcleos en clorénquima (μm)

4.2 ESTUDIO FISIOLÓGICO

En las morfoespecies previamente mencionadas se llevaron a cabo las siguientes determinaciones :

A. Evaluación de la acumulación nocturna de acidez y cambios de pH.

La evaluación en los cambios en la acidez nocturna se llevaron a cabo en cladodios terminales de 8 a 10 meses de edad. Para medir los niveles de acidez, se tomaron muestras cilíndricas de la parte central media del cladodio utilizando un sacabocados de 0.78 cm. de diámetro.

De este cilindro se disectó el tejido de clorénquima en ambas partes, el que se homogenizó adicionando 30 ml de agua destilada en un mortero. El homogenizado que se obtuvo se tituló a un pH de 7.4 utilizando NaOH al 0.01 N ; además se registró el pH del homogenizado antes de iniciar la titulación de éste. Las muestras se colectaron una hora después de la puesta del sol y una hora antes de la salida (Nobel *et al*, 1983) .

Las determinaciones del pH se efectuaron directamente en los extractos que se utilizaron para evaluar la acidez nocturna. Para la titulación se utilizó un potenciómetro *beckman* modelo 40 .

La evaluación en la acidez del pH se efectuó tomando en cuenta la cantidad de milimoles de NaOH utilizados para llevar el pH del tejido clorénquimatoso a 7.4, dividido entre el área del sacabocados que se utilizó para obtener la muestra. También se registró el cambio en la diferencia de pH del final de la tarde a las primeras horas del día; tomando en cuenta la orientación de los cladodios (pencas) en relación a la posición del sol.

4.3 ANALISIS ESTADÍSTICO

Las determinaciones estadísticas que se efectuaron son las siguientes :

- a. Desviación media
- b. Desviación estandar
- c. Coeficiente de variación
- d. Análisis de varianza
- e. Análisis de correlación simple
- f. Prueba de Duncan

5. RESULTADOS

5.1 Grosor cuticular

La evaluación del grosor de cutícula, reveló que las morfoespecies silvestres presentaron mayor grosor cuticular que las cultivadas y de solar. Tal es el caso del nopal Tapón (*Opuntia robusta*) con una media de 45.1 μm . y Cardón (*Opuntia Estreptacantha*) que presentó la mayor cifra 58.2 μm . en el resto de las variedades el grosor de la cutícula osciló de 9.5 a 27.6 μm . con excepción de Amarilla huesona (*Opuntia megacantha*) con una medida de 55.8 μm . y es cultivada.

La media para las morfoespecies silvestres fue de 51.6 μm . en las cultivadas 23.1 y de solar 18.1 . El promedio general fue de 25.0 μm . (Cuadro 2).

El hecho de que el mayor grosor se haya encontrado en morfoespecies silvestres se puede explicar en parte por que estas morfoespecies presentan una mayor tolerancia a estresses bióticos (ej.plagas) y abióticos (ej.sequia).

Se observó en este carácter una amplia variación en las diferentes morfoespecies evaluadas, debido a que, el coeficiente de variación fue de 23.2 % y este osciló de 5.8 a 55.7 %.

La comparación estadística se llevó a cabo mediante el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de comparación de medias (Prueba de Duncan). Para esta variable se obtuvieron los siguientes resultados :Cardón y Amarilla huesona las cuales presentaron el mayor promedio son estadísticamente superiores a las demás morfoespecies pero iguales entre si estadísticamente.

Las morfoespecies Copo de nieve, Chapeada, Charola, Camuesa, Naranjona, Cristalina y Pelón san elias son estadísticamente iguales entre si. De la misma manera las que presentaron el menor promedio fueron Morada techaluta y Blanca de castilla (Cuadro 2).

Por último se observó una correlación positiva directa significativa entre el grosor de la cutícula y la epidermis ($r = 0.842$, $p = 0.001$). (Cuadro 11).

5.2 Profundidad de la cavidad ó cripta estomática.

Los estomas hundidos es una característica anatómica adaptativa de la vegetación xerófita. Esta adaptación aumenta la resistencia al

movimiento de agua de la planta a la atmósfera, lo cual se traduce en reducción de la pérdida de agua por transpiración (Nobel, 1974) . aproximadamente en un 95 % de las morfoespecies estudiadas se observaron estomas hundidos con diferentes profundidades de la cripta estomática (figura 2a). La profundidad y la forma presentaron una gran variación, de esta manera la menor profundidad se registró en el nopal Tapón (*O. robusta*) 7.0 micras y que es una morfoespecie silvestre. Las mayores cifras se observaron en una morfoespecie denominada Camuesa (*O. sp*) que es cultivada con una profundidad de la cripta estomática de 32.3 μm . (fig. 2b) y Cardon (*O. streptacantha*) con una media de 39.5 μm . Esta cifra al igual que la menor corresponden a morfoespecies silvestres. De esta manera se puede inferir que la variación en este carácter el cual se pueden interpretar como una adaptación morfológico-fisiológica relacionada con las condiciones de aridez que prevalecen en las condiciones semiáridas de las que son originarias este tipo de plantas.

De las morfoespecies que presentaron una profundidad menor a las 30 μm . corresponden en su gran mayoría a nopaleras cultivadas y en un rango menor a las de solar. En síntesis este carácter presento un amplio grado de variación, como lo muestra el coeficiente de variación (28.9 %) este rango oscilo entre 4.69 y 50.99 % .

Los resultados de la comparación estadística demuestran que la cavidad o cripta estomática es una de las variables más regulares que se registraron en este estudio. La prueba de comparación de medias muestra igualdad estadística en Camuesa, Pelón san elias, Fafayuco 84, Blanca rincon de romos, Pepino, Naranjona y Morada techaluta, como primer bloque. El mayor promedio se observo en Cardón; en tanto que Copo de nieve, Copena 5 y Tapón presentaron la menor profundidad (cuadro 3).

5.3 Longitud de estomas

Las morfoespecies que presentaron la mayor longitud fueron morfoespecies cultivadas, como lo es la Naranjona 56.6 μm .; Copena- 5 53.2 μm . La menor longitud de estomas se encontro en el Tapon de mayo 42.4 μm . y Tapon con 43.0 μm . (cuadro 4).

El promedio de coeficiente de variación fue bajo (6.3 %) lo cual nos indica que este carácter es estable. La variación oscilo entre 2.96 y 12.7 % .

La comparación estadística demostro que Naranjona fue la

morfoespecie que se registró significativamente diferente al resto de las morfoespecies estudiadas, esto se debe al alto promedio de esta variable

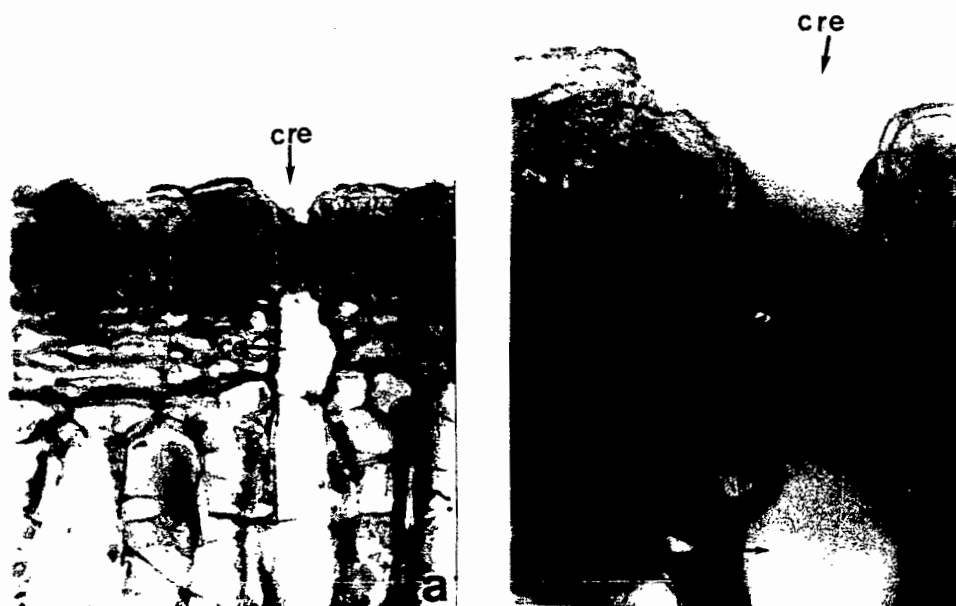


Fig. 2a. Corte transversal de epidermis y corteza. cripta estomática (Cre.), estoma (Es.), cavidad estomática (Ce.).

Fig. 2b. Profundidad de la cripta estomática. cripta estomática (Cre.), estoma (Es.), cavidad estomática (Ce.).

5.4 Grosor y número de capas celulares en epidermis.

La mayoría de las morfoespecies estudiadas presentaron epidermis de forma multiseriada, aun que se encontro variación en el número de capas celulares.(fig. 3).

El grosor oscilo entre 14.2 μm . a 253.9 μm . . Las morfoespecies con mayor grosor fueron Tapón que es silvestre, (97.6 μm .); Amarilla huesona 123.2 μm . ; Cardón (*O. streptacantha*) 253.9 μm .

Los casos en que se observaron estructuras derivadas de la peridermis corresponden a las siguientes morfoespecies; Tapón de mayo, Camuesa, Pepino, Cardón,y Blanca rincon de romos en las cuales se observa un desarrollo de felógeno En los casos de Tapón, Amarilla huesona, Fafayuco 84 y Charola se observo desarrollo de peridermis ; en Chapeada se presentó solo felodermis.

La disposicion celular varia de regular a irregular con crecimiento periclinal en todas las morfoespecies. El numero de capas celulares varia dependiendo en algunos casos de la formación de peridermis. El rango de variación fue de 2 a 7 capas celulares a excepción de Cardón en la cual se observaron hasta 10 capas celulares aproximadamente.

Las Morfoespecies que se encontraron estadísticamente superiores para esta variable fueron cardón y Amarilla huesona, esta característica se observa mucho menos estable si la comparamos con la anteriormente mencionada. En el analisis de comparacion de medias, podemos observar dos grupos con una igualdad estadística ; Blanca rincon de romos, Pelón san elias, Charola, Pepino, Copo de nieve y Camuesa. En un segundo grupo se encuentran Papantón, Blanca de castilla, Copene 5 y Morada techaluta.

Las morfoespecies que presentaron el menor grosor de epidermis fueron Tlaconopal y Burróna. (Cuadro 5).



Fig. 3. Corte transversal de la epidermis y corteza. cuticula (Cu.), epidermis (Ep.), colénquima (Col.), cristales de oxalato de calcio (Co.), clorénquima (Clor.).

Fig. 4. Corte transversal de la epidermis y corteza. cripta estomática (Cre.), colénquima (Col.), aerenquima (Aer.).

Cuadro. 2. Grosor promedio de cutícula en micrometros ($\mu\text{m}.$) de morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

MORFOESPECIE	MEDIA	NOPALERA	
Cadón	58.2	si	a
A. huesona	55.7	cu	a b
Tapón	45.1	si	c
Bca. rincon r.	30.6	cu	ch
copo de nieve	26.0	cu	d
Chapeada	25.4	cu	d e
Charola	24.3	so	d e f
Camuesa	23.7	cu	d e f g
Naranjona	22.6	cu	e f g h
Cristalina	22.6	cu	e f g h i
Pelon Sn. eli.	22.6	cu	e f g h i j
Tapón de mayo	19.8	so	h i j k
Eurrona	19.4	cu	k l
Tlaconopal	18.5	cu	k l m
Fafayuco 84	17.8	so	k l m n
Papantón	17.3	cu	k l m n ñ
Copena 5	14.2	cu	ñ o
Pepino	13.7	cu	o p
Morada tech.	11.1	so	o p q
Bca. castilla	9.5	cu	q r

Si = silvestre, So = solar, Cu = cultivado

\bar{X} = 25.0

C.V. = 23.2 %

El promedio del coeficiente de variación es de 19.83 % ;este promedio alto demuestra que existe una gran variación (poca estabilidad) en relacion a este carácter. El rango fue de 4.69 a 60.05 %

5.5 Grosor y número de capas celulares del colénquima.

El colénquima consiste en una serie de capas celulares las cuales varían en número y espesor dependiendo del caso. En este tipo de tejido se presentan un gran número de drusas (cristales de oxalato de calcio), los cuales difieren en su forma y tamaño en comparación con los que se observan en clorénquima y tejido medular; estos cristales se localizan generalmente en las primeras dos capas celulares de el colénquima y en algunos casos sobresalen hasta la epidermis (fig. 6 y 7).

Este colénquima también presenta espacios de aerénquima, en algunos casos se observan drusas en este aerenquima (fig.5). Existen ocasiones en que estos espacios se extienden hasta el tejido de clorénquima.

El grosor de colénquima oscilo de 78.7 μm en Cardón a 196.0 μm en el Tapon de mayo. Los rangos intermedios se presentaron en Cristalina, Camuesa, Copo de nieve, Blanca de castilla y Amarilla huesona, con una variación entre 120.3 a 124.2 μm . (Cuadro 6).

El mayor número de capas celulares se presentó en Tapon de mayo, con nueve capas y el menor en Cardón con tres capas. El promedio de las diferentes morfoespecies evaluadas fue de 6 capas celulares.

El grosor de colénquima fue un carácter que mostró poca variación entre las morfoespecies observadas, como lo indica el coeficiente de variación que fue de (7.54 %); el rango oscilo entre 2.17 a 25.89 μm , lo que puede considerarse como una característica estable.

Cuadro. 3. Cavidad o cripta estomática promedio en micrometros (μm) de morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

MORFOESPECIE	MEDIA	NOPALERA	
Cardón	39.5	si	a
Camuesa	32.3	cu	b
Pelon Sr. eli.	31.2	cu	b c
Fafayuca 84	30.0	so	c ch
Bca. rincon r.	29.0	cu	c ch d
Pepino	27.7	cu	ch d e
Naranjona	26.5	cu	d e f
Morada tech.	25.0	so	e f g
Bca. castilla	21.1	so	h
Charola	20.6	cu	h i
Cristalina	18.8	cu	h i j
Chapeada	17.1	cu	j k
Tlaconopal	15.8	cu	k l
Papantón	14.6	cu	k l m
Burrona	12.6	cu	m n
Tapon mayo	12.0	so	m n ñ
A. huesona	11.5	cu	n ñ o
Copo nieve	9.8	cu	ñ o p
Copena 5	8.1	cu	p q
Tapón	7.0	si	q r

Si = silvestre So = solar Cu = cultivada

\bar{X} = 20.5

C. V. = 28.9 %

5.6 grosor en (mm) de clorénquima

El clorénquima conjuntamente con el tejido medular son las dos estructuras que aportan a las cactáceas esa característica de succulencia tan particular en este tipo de plantas. Por esto el clorénquima viene a ser el tejido que mayor extensión presenta en las morfoespecies estudiadas. Se observaron interactuando con este tejido las siguientes estructuras : aerenquima, ductos de mucilago, y drusas. La presencia de estas se describe a continuación : se localizan espacios intercelulares en el 95 % de las morfoespecies, solo en algunos casos como en tapón de mayo, cardón, burrona y camuesa el aerenquima se origina desde la epidermis pasando por el colénquima y llegando hasta el clorénquima.

Los cloroplastos se observaron en todas las morfoespecies muy abundantes sobre todo en la region cortical proximal al colénquima.

Los ductos de mucilago se presentan muy escasos en la morfoespecie Tlaconopal y Bca. de castilla. La presencia de mucilago varia de una morfoespecie a otra, observandose más abundante en Amarilla huesona, Chapeada, Charola , Naranjona y Fafayuco 84 .

Los cristales de oxalato varían en cuanto a su tamaño y cantidad, estos cristales fueron más abundantes en la region cortical distal próxima al tejido madular, aunque son de tamaño pequeño. Los cristales de mayor tamaño se presentan en la region proximal del clorénquima aun que son menos abundantes.

Para este carácter se registro una gran variación, los valores se registraron en mm. Las morfoespecies Burrona, Tapón, Cardón, Pelón san elias y Copena - 5 conforman un grupo estadísticamente igual. El mayor promedio fue el de Camuesa, de la misma manera el menor fue de Fafayuco 84. Morada techaluta y pepino las cuales mostraron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 7). La variación para este carácter oscilo de 3.356 mm en Pepino a 5.698 mm en Camuesa.

El promedio del coeficiente de variación indica muy poca variación en relación a este carácter este fue de 4.21 % y el rango oscilo de 0.83 a 12.53. Esta característica demuestra ser, más estable de todas las evaluadas.

Cuadro. 4. Longitud promedio de estomas en micrometros (μm) de morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

MORFOESPECIES	MEDIA	NOPALERA	
Naranjona	56.6	cu	a
Copena 5	53.2	cu	b
Bca. castilla	53.2	cu	b c
Camuesa	53.2	cu	b c ch
Copo de nieve	52.4	cu	b c ch d
Fafayuco 84	51.4	so	b c ch d e
Bca. rincon r.	51.2	cu	b c ch d e f
Cardón	51.2	si	b c ch d e f g
Chapeada	50.9	cu	b c ch d e f g h
Morada lech.	50.7	so	b c ch d e f g h i
Pelon Sn. eli.	50.5	cu	b c ch d e f g h i j
Tlaconopal	50.1	cu	d e f g h i j k
A. huesona	49.1	cu	e f g h i j k l
Cristalina	49.7	cu	e f g h i j k l m
Pepino	47.8	cu	j k l m n
Charola	46.6	so	l m n ñ
Burrona	45.9	cu	m n ñ o
Papantón	44.3	cu	ñ o p
Tapón	43.0	si	o p q
Tapón mayo	42.4	so	p q r

Si = silvestre So = solar Cu = cultivada

\bar{x} = 49.6

C.V. = 6.3 %

Cuadro. 5. Grosor promedio de epidermis multiseriada en micrometros (μm) de morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

MORFOESPECIES	MEDIA	NOPALERA	
Cardón	253.9	si	a
A. huesona	123.2	cu	b
Tapón	97.6	si	c
Chapeada	78.7	cu	ch
Tapon mayo	68.4	so	d
Cristalina	67.8	cu	d e
Fafayuco 84	66.7	so	d e f
Bac. rincón r.	50.9	cu	g
Pelón Sn. eli.	50.1	cu	g h
Charola	49.3	so	g h i
Pepino	44.7	cu	g h i j
Copo de nieve	41.6	cu	h i j k
Camuesa	41.2	cu	h i j k l
Naranjona	29.6	cu	m
Papantón	27.7	cu	m n
Bca. castilla	27.3	cu	m n ñ
Copena 5	26.9	cu	m n ñ o
Morada tech.	21.9	so	m n ñ o p
Tlaconopal	20.4	cu	n ñ o p q
Burrona	14.2	cu	p q r

Si = silvestre So = solar cu = cultivada

\bar{X} = 60.1

C.V. = 19.8 %

Cuadro. 6. Grosor promedio de colénquima en micrometros (μm) de morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

MORFOESPECIES	MEDIA	NOPALERA	
Tapón mayo	196.0	so	a
Pelon Sn. eli.	175.6	cu	b
Copena 5	171.3	cu	b c
Tlaconopal	165.5	cu	c ch
Pepino	155.1	cu	d
Tapón	151.2	si	d e
Naranja	142.0	cu	f
Chapeada	141.2	cu	f g
Fafayuco 84	140.7	so	f g h
Charola	135.4	so	f g h i
Papantón	134.6	cu	f g h i j
A. huesona	124.2	cu	k
Bca castilla	124.2	cu	k l
Copo de nieve	122.7	cu	k l m
Camuesa	122.3	cu	k l m n
Cristalina	120.3	cu	k l m n fi
Burrona	115.9	cu	k l m n fi o
Bca. rincon r.	109.6	cu	o p
Morada tech.	103.7	so	p q
Cardón	78.7	si	r

Si = silvestre So = solar Cu = cultivada

\bar{X} = 136.5

C.V. = 7.5 %

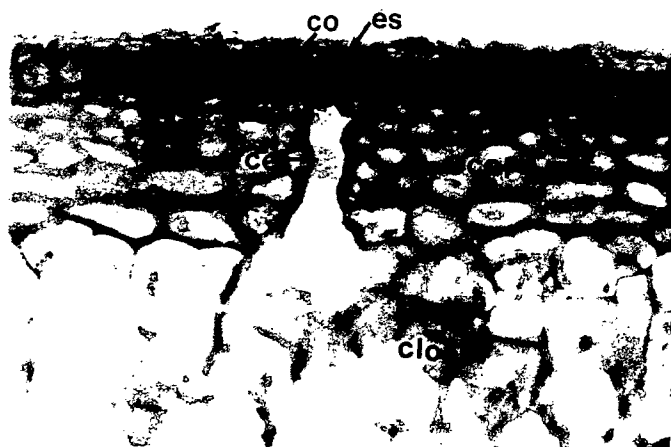


Fig. 5. Presencia de cristales de oxalato de calcio (Co.), estomas (Es.) cavidad estomática (Ce.), colénquima (Col) y clorénquima (Clor.).



Fig. 6. Presencia de cristales de oxalato de calcio (Co), y tricomas, (Tri.).

Cuadro. 7. Grosor promedio de clorénquima en milímetros (mm) de 20 morfoespecies de nopal tunero y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

MORFOESPECIES	MEDIA	NOPALERA							
Camuesa	5698.0 mm	cu	a						
Tapón mayo	5515.8 mm	so	b						
Bca. castilla	5344.8 mm	cu	c						
Charoia	5156.5 mm	so	ch						
Naranjona	4916.9 mm	cu	d						
A. huesona	4767.5 mm	cu	e						
Chapeada	4605.7 mm	cu	f						
Cristalina	4596.3 mm	cu	f g						
Copo de nieve	4590.2 mm	cu	f g h						
Burrona	4324.0 mm	cu	i						
Tapón	4308.5 mm	si	i j						
Cardón	4303.8 mm	si	i j k						
Pelon Sn. eli.	4297.6 mm	cu	i j k l						
Copena 5	4268.0 mm	cu	i j k l m						
Papantón	4160.7 mm	cu	m n						
Bca. rincon r.	4132.3 mm	cu	n ñ						
Tlaconopal	4068.8 mm	cu	n ñ o						
Fafayuco 84	3914.8 mm	so	p						
morada tech.	3570.9 mm	so	q						
Pepino	3356.2 mm	cu	r						

Si= silvestre So= solar Cu= cultivda

$\bar{X} = 44.9$

C.V. = 4.2 %

5.7 Tamaño de núcleos

El tamaño de núcleo observó gran diversidad entre las medias registradas, aun que presenta un grupo estadísticamente igual en el cual se encuentra Morada techaluta, Pelón san elias, Tapón de mayo, Cardón, Copo de nieve, Fafayuco 84, Tlaconopal, Naranjona, Blanca de castilla y Papantón. (Cuadro 8).

La variación en el diametro del nucleo en las morfoespecies estudiadas es de 11.5 μm en tapón de mayo y es silvestre a 30.8 μm y es cultivada.

El diametro de nucleos es un caracter que presento un amplio nivel de variación, como lo indica el promedio del coeficiente de variación (17.0 %), este carater presento un rango de 6.82 a 27.52 % .

Cuadro. 8. Diametro promedio de núcleos en micrometros ($\mu\text{m}.$) de 20 morfoespecies de nopal y su comparación mediante la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

MORFOESPECIES	MEDIA	NOPALERA	
Chapeada	30.8	cu	a
Camuesa	29.6	cu	a b
Burrona	26.1	cu	c
Pepino	23.5	cu	ch
Morada tech.	21.2	so	d
Pelón San eli.	21.2	cu	d e
Tapón mayo	20.8	so	d e f
Cardón	20.4	si	d e f g
Copo de nieve	20.0	cu	d e f g h
Fafayuco 84	19.2	so	d e f g h i
Tlaconopal	19.2	cu	d e f g h i j
Naranjona	18.8	cu	f g h i j k
Eca. castilla	18.8	cu	f g h i j k l
Papantón	18.8	cu	h i j k l m
Charola	16.5	so	m n
Cristalina	16.5	cu	m n ñ
Eca. rincon r.	15.8	cu	ñ o
A. huesona	15.0	cu	ñ o p
Copena 5	13.0	cu	p q
Tapón	11.5	si	p q r

Si = silvestre So = solar Cu = cultivada

\bar{X} = 19.8

C. V. = 17.0 %

6.0 Porcentaje de acidez en el tejido clorénquimatoso

La acidez en el tejido clorénquimatoso es una característica fisiológica importante, la cual esta relacionada con la actividad fotosintética de la planta; mediante la fijación de ácido malico en los tejidos. La importancia en la evaluación de este carácter radica en la variación del pH de los tejidos, durante el día y la noche.

La magnitud en el cambio nocturno en pH en clorénquima, tomando en cuenta la variación y su comparación entre las 6 pm y las 6 am varia en un rango de una unidad aproximadamente, esto nos permite determinar como ocurrió la actividad fotosintética en el transcurso de la noche a la mañana siguiente (Cuadro 9).

La mayor acidificación para la muestra de las 6 am en la cara este del cladodio se presentó en Amarilla huesona con un total de 532.0 $\mu\text{moles}/\text{cm}^2$; para la cara oeste fue en Pelón san elias, con un total de 682.0 $\mu\text{moles}/\text{cm}^2$. Una observación relevante es que en la cara oeste se presentaron cifras más altas en comparación con la cara este. La menor acidificación tanto en la cara este como la oeste se encontró en Tapon de mayo (silvestre). En la orientación este fue de 38.9 $\mu\text{moles}/\text{cm}^2$ y en la oeste de 66.6 $\mu\text{moles}/\text{cm}^2$ (Cuadros 10 y 11).

La relación en la eficiencia fotosintética oscila entre 5 morfoespecies, de las cuales 5 son cultivadas y solo una de solar (Charola).

La magnitud del cambio nocturno en el pH en el mismo tejido (ΔpH); en comparación con la este-oeste, indica también cifras más altas para la oeste. (Cuadro 9).

Cuadro. 9. magnitud del cambio nocturno en pH en el clorénquima de morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal tunero.

MORFOESPECIE	ORIENTACION					
	ESTE			OESTE		
	pH 6 pm	pH 6 am	Δ pH	pH 6 pm	pH 6 am	Δ pH
Copena 5	5.86	4.27	1.55	5.38	4.14	1.23
Papantón	5.62	4.50	1.12	5.71	4.62	1.09
Naranjona	5.57	4.21	1.36	5.37	4.41	0.96
Fafayuco 84	5.45	4.53	0.92	5.46	4.24	1.22
Camuesa	5.44	4.84	0.60	5.32	4.54	0.78
Chapeada	5.44	4.39	1.05	5.40	4.46	0.94
Copo de nieve	5.41	4.19	1.22	5.60	4.08	1.52
Pepino	5.39	4.60	0.79	5.57	4.46	1.11
Tlaconopal	5.35	4.63	0.72	5.34	4.83	0.51
Morada techaluta	5.34	4.68	0.66	5.59	4.46	1.13
Felón san elias	5.34	4.40	0.94	5.53	4.31	1.22
Charola	5.33	4.45	0.88	5.43	4.33	1.10
Tapón de mayo	5.31	4.68	0.63	5.18	4.50	0.67
Blanca rincón romos	5.29	4.66	0.62	5.29	4.48	0.81
Burrona	5.29	4.38	0.90	5.26	4.33	0.93
Blanca de castilla	5.24	4.59	0.65	5.37	4.57	0.80
Cardón	5.17	4.32	0.85	5.11	3.98	1.13
Amarilla huesona	5.11	4.14	0.97	5.06	4.32	0.76
Tapón	5.10	4.59	0.51	5.23	5.53	0.30
Cristalina	5.08	4.24	0.84	5.10	4.16	0.94

\bar{X} =	5.35	4.45	0.88	5.36	4.43	0.95
C.V. =	3.39	4.13	29.50	3.21	7.14	28.43

Í Incremento en unidades de pH (Δ) de las 6 pm a las 6 am.

Cuadro. 10. Variación en la acidificación nocturna (μ .moles/cm.²), en la cara este de cladodios maduros en morfoespecies silvestres y cultivadas de nopal tunero.

MORFOESPECIE	ORIENTACION ESTE	
	Acidificación nocturna (μ .moles/cm. ²) ¹	Tipo de nopalera
Amarilla huesona	532.05	cu
Naranjona	488.46	cu
Charola	412.32	so
Copo de nieve	387.17	cu
Pelón san elias	385.19	cu
Chapeada	379.48	cu
Papantón	284.61	cu
Burrona	280.12	cu
Tlaconopal	269.23	cu
Fafayuco 84	217.94	so
Blanca de castilla	216.66	cu
Pepino	215.38	cu
Morada techaluta	212.82	so
Tapón	176.92	si
Blanca rincon romos	174.35	cu
Cristalina	159.35	cu
Camuesa	117.44	so
Copena 5	109.87	cu
Cardón	100.51	si
Tapón de mayo	38.97	so

$$\bar{X} = 257.96$$

$$C.V. = 50.99$$

¹La acidificación se refiere a la cantidad de μ .moles de NaOH que se utilizaron para llevar el pH del tejido a 7.4 , dividido entre el area del tejido que se utilizó para obtener la muestra.

Cuadro. 10a. Variación en la acidificación nocturna (μ . moles/cm².), en la cara oeste de cladodios maduros en morfoespecies silvestres y cultivadas de nopal tunero.

MORFOESPECIE	ORIENTACION OESTE	
	Acidificación nocturna (μ . moles/cm ² .) ¹	Tipo de nopalera
Pelón san elias	682.05	cu
Amarilla huesona	487.17	cu
Charola	470.51	so
Chapeada	465.38	cu
Copo de nieve	410.25	cu
Naranjona	346.15	cu
Blanca rincon romos	333.33	cu
Blanca de castilla	293.58	cu
Fafayuco 84	291.02	so
Burrona	247.43	cu
Papantón	241.02	cu
Pepino	233.33	cu
Tlaconopal	207.69	cu
Camuesa	200.00	cu
Morada techaluta	191.02	so
Cardón	175.51	si
Cristalina	162.82	cu
Copena 5	149.35	cu
Tapón	70.51	si
Tapón de mayo	66.66	so

$$\bar{X} = 286.39$$

$$C.V. = 52.65$$

¹La acidificación se refiere a la cantidad de μ moles de NaOH que se utilizaron para llevar el pH del tejido a 7.4 , dividido entre el area del tejido que se utilizó para obtener la muestra.

7.0 Coeficientes de correlación entre las variables morfológico-anatómicas de nopal tunero.

En el cuadro se presenta una matriz con los coeficientes de correlación entre las variables morfológico-anatómicas de nopal tunero, en la cual se observó que únicamente existe correlación significativa entre el grosor cuticular y el grosor de epidermis ($p=0.001$) lo cual nos indica una relación entre ambas variables; que de alterarse una la otra se modifica en una proporción positiva directa.

El resto de las variables evaluadas no presentaron correlación significativa, lo cual nos indica que no existe una relación directa ya sea positiva o negativa entre estas variables (cuadro 11.).

Cuadro. 11. Coeficientes de correlación entre las variables morfológico-anatómicas de nopal tunero.

	G. Cut.	C. Est.	G. Epid.	G. Col.	G. Clo.	D. Nucl.	L. Est.
G. Cut.		0.030	0.842*	-0.352	0.018	-0.182	-0.104
C. Est.			0.297	-0.374	-0.250	0.284	0.428
G. Epid.				-0.360	-0.172	-0.052	-0.088
G. Col.					0.269	0.122	-0.270
G. Clo.						0.028	0.058
D. Nucl.							0.153

*Significativo al 0.001 %

8. DISCUSION

La evolución de las morfoespecies de nopal bajo las condiciones que prevalecen en las zonas semiáridas de México, ha conducido a que estas desarrollen características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que les han permitido adaptarse a tales condiciones adversas (Pimienta,1990).

La mayoría de los trabajos se han orientado principalmente al estudio de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos (Kluge y Ting, 1978; Whitting et al 1979; Osmond, 1978; Gibson y Nobel, 1986), y en pocos casos se han estudiado las variaciones anatómicas y fisiológicas que están relacionadas con la resistencia y adaptación a las condiciones limitantes que prevalecen en las zonas semiáridas (Conde,1975; Orozco,1975; Loera,1990).

Entre las características anatómicas evaluadas en este estudio, llama la atención la variación observada en las variables; grosor de cutícula, profundidad de cripta estomática y la presencia de cristales de oxalato de calcio, ya que en estas se han encontrado que directa o indirectamente incrementan la resistencia de las plantas en ambientes secos, debido a que estas tres variables anatómicas reducen la transpiración. De esta manera si una determinada morfoespecie de nopal posee cutícula gruesa, estomas hundidos y cristales de oxalato de calcio tendrá una mayor eficiencia en el uso del agua, que morfoespecies con características opuestas.

Es relevante también que en morfoespecies silvestres (e.g. Cardón) en que se observa que presentan una mayor adaptación a la sequía en condiciones de campo, también presentan los valores más altos de grosor cuticular y profundidad estomática. En contraste con morfoespecies cultivadas, que en la mayoría de los casos presentan menor profundidad de estomas y generalmente en condiciones de campo presentan menor resistencia a la sequía.

El hecho de que se haya encontrado una correlación positiva entre el grosor de epidermis y el grosor de cutícula resulta interesante ya que confirma observaciones previas de que la cutícula se deriva de excreciones metabólicas de células epidermales (Esau,1976); por lo que es de esperarse que un ambiente seco a condiciones de sequía pueden estimular la formación de cutículas gruesas, siempre y cuando esta se derive de una epidermis gruesa a multiseriada, ya que estas

aparentemente tienen mayor capacidad metabólica para la síntesis de compuestos precursores de la cutícula que epidermis delgadas. Un ejemplo importante de esta relación son los valores observados con las morfoespecies Cardón y Amarilla huesona, que ambas presentan los mayores valores de grosor de epidermis y cuticular, y es de esperarse que cuando ambas características se combinan con mayor grosor, contribuyen con mayor eficiencia a reducir la transpiración epidermal.

Además de prevenir la pérdida de agua, la cutícula es empleada como importante carácter diagnóstico en determinaciones taxonómicas (Safou, 1988; Farroqui, 1989).

Los estomas hundidos es una característica anatómica adaptativa de la vegetación xerofita. Esta adaptación aumenta la resistencia al movimiento de agua de la planta a la atmósfera, lo cual se traduce en reducción de la pérdida de agua por transpiración (Nobel, 1974).

La longitud de estomas es una variable que ha sido tomada como indicador del nivel de ploidía en estudios anteriores (Sax & Sax, 1937; Wagner, 1954; Stone, 1961; Przywara et al., 1988), de tal manera que las especies poliploides se caracterizan por presentar estomas de mayor tamaño que las diploides (Sax & Sax, 1937; Wagner, 1954; Stone, 1961; Przywara et al., 1988; Pimienta 1988). Lo cual concuerda con los datos registrados ya que las morfoespecies con mayor longitud estomática corresponden a las cultivadas, las cuales suelen ser poliploides (Sosa, 1964).

Otra característica de este tipo de plantas es la presencia de cristales de oxalato de calcio, los cuales en la mayoría de las morfoespecies evaluadas se presentaron en cantidades relativamente altas en el tejido de colénquima, principalmente se encontraron alineados en la interfase entre la epidermis y el colénquima, lo cual está apoyando la sugerencia de Jacobsen (1960), que indica que esta capa de cristales de oxalato de calcio es refractaria y actúa disminuyendo la absorción excesiva de energía luminosa.

Por otro lado esta capa de colénquima se le asigna función fisiológica específica, aun que se reconoce que por el tipo de célula que la compone se supone que actúa como tejido de sostén (Gibson y Nobel, 1986), aun que no se puede descartar que esta capa también contribuya a regular la economía hídrica de la planta, ya que es una capa compacta de células con pared primaria, que al menos constituye una mayor resistencia del movimiento del flujo de agua en el proceso de

transpiración, que las células subyacentes de clorénquima ya que presentan una mayor cantidad de espacios huecos (aerenquima) entre células, que presentan una menor resistencia al movimiento de agua en el flujo transpiratorio.

Esta característica anatómica mostro mayor estabilidad de acuerdo con los valores del coeficiente de variación registrados, por lo que se puede afirmar que tiene una menor sensibilidad a los cambios del ambiente, como es el caso del grosor de cutícula, cuya variación se encuentra regulada por factores ambientales más que genéticos (Gibson y Nobel, 1975; Orozco, 1975).

El tamaño de núcleo posiblemente tenga que ver con los niveles de productividad, así como de su capacidad de dispersión geográfica, esto aunado con los niveles más altos de poliploidia, los cuales se observan en nopales cultivados (Sosa, 1964). Los nopales con los niveles más altos de ploidia ($6n$ y $8n$) tienen mayor dispersión geográfica que los diploides ($2n$) y se refleja esta característica en relación al vigor de la planta y con respecto a todas sus estructuras (cladodios, frutos, tallos etc.).

El porcentaje de acidez es una medida para evaluar la eficiencia fotosintética en las plantas suculentas que presentan metabolismo ácido crasuláceo. Entre mayor acidez presenta el tejido en las primeras horas del día, se asume que es mayor la actividad fotosintética. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con observaciones sobre el crecimiento de algunas morfoespecies. Tal es el caso de Amarilla huesona que presenta una mayor actividad fotosintética y en condiciones de crecimiento en campo supera ampliamente al resto de las morfoespecies. En contraste Tapón de mayo presenta la menor eficiencia fotosintética lo cual coincide, con la observación de que es una de las morfoespecies con menor crecimiento.

Los cambios en pH y acidez titulable que se registran en el intervalo de tiempo que ocurre en las últimas horas del día y las primeras del día siguiente, se pueden considerar como indicadores indirectas de la actividad fotosintética del nopal. Los valores de acidificación obtenidos en el estudio relacionan una variación extrema, ya que los valores menores se encuentran en morfoespecies silvestres y los más altos en cultivadas. Estas diferencias en la actividad fotosintética coinciden con las observaciones sobre el crecimiento de morfoespecies silvestres y cultivadas en el campo ya que estas últimas

presentan mayores tasas de crecimiento que las silvestres.

Los cambios en la acidez titulable durante la noche pueden ser utilizados como un criterio en la selección de fenotipos de nopal tunero, con mayor capacidad de crecimiento en condiciones de campo.

Las observaciones realizadas en este trabajo nos permiten sugerir que el nopal tunero se ha adaptado a las condiciones limitantes que prevalecen en las zonas áridas, complementando el metabolismo CAM con modificaciones anatómicas y fisiológicas, que contribuyen principalmente en regular la economía hídrica de la planta. Entre estas modificaciones destaca un mayor grosor cuticular, estomas hundidos y la diferenciación de capas superficiales de oxalato de calcio, que reducen la intensidad de la energía luminosa que incide en los cladodios. Esta última característica al reducir la temperatura de los tejidos, reduce también la transpiración.

9. CONCLUSIONES

1. El nopal tunero ha desarrollado modificaciones anatómicas tales como cutícula gruesa, estomas hundidos, tejido colénquimatoso con presencia de cristales de oxalato de calcio que en conjunto con el metabolismo fotosintético CAM, contribuyen a que esta especie se pueda adaptar a las condiciones limitantes que prevalecen en las zonas semiáridas.

2. Las modificaciones anatómicas de los tallos fotosintéticos del nopal relacionados con la resistencia a sequía y otros factores adversos registrados en este trabajo son: cutícula gruesa, epidermis multiseriada, estomas hundidos y cristales de oxalato de calcio (drusas).

3. La cavidad o cripta estomática se presentó en todas las morfoespecies evaluadas, aunque se registró una amplia variación en la profundidad de la cavidad. La disposición hundida de los estomas se considera como una adaptación importante del nopal tunero para regular la economía hídrica en ambientes semiáridos.

4. La epidermis es la parte del cladodio que presenta modificaciones anatómicas importantes, las que se han relacionado como relevantes para la regulación de los efectos de un ambiente árido, y a que una epidermis gruesa es necesaria para que se diferencie una cutícula gruesa y la cavidad o cripta estomática.

5. En todas las morfoespecies estudiadas se observan drusas en los primeros estratos celulares del colénquima, lo cual puede tener cierta función refractaria para disminuir la incidencia de energía luminosa.

6. El mayor tamaño de núcleos y de estomas se registró en morfoespecies cultivadas, las cuales confirman su naturaleza poliploide.

7. El mayor promedio en la longitud de estomas se registro en morfoespecies cultivadas, que presentan la característica de ser poliploides.

8. La longitud de estomas se puede utilizar como indicador del nivel de ploidia en nopal tunero.

9. Los cambios en acidificación nocturna en cladodios fotosintéticos, constituyen una tecnica simple y sensitiva para evaluar la eficiencia fotosintética en nopal tunero.

10. Los cambios en acidificación nocturna pueden ser utilizados como un parámetro fisiológico para detectar fenotipos de nopal tunero con mayor vigor.

10. LITERATURA CITADA

- Anónimo, 1981. El nopal. INIF. CONAZA. Publicación especial No.34 México D.F. 85 p.
- Berry, J. 1983. Fotosíntesis de alta eficiencia, carnegie institute Stanford university.
- Bravo, H. 1937a. Las cactáceas de México, Universidad Nacional de México.
- Bravo, H. 1978a.. Las cactáceas de México. 2da. Ed. UNAM México, D.F. 735 p.
- Brutch, O.M. 1984. Pricky pear (*O. ficus indica*) cultivation in southern Africa. In ; symposium on Agricultural use of Cactaceae. Prospects and problems. 18th. congress of the international organization for succulent plant study. Frankfurt W. Germany. Manuscrito inedito.
- Conde, F.L. 1975. Anatomical comparations of five species of *Opuntia* (cactaceae). Ann. Missouri Bot. Gard. 62: 425-473.
- Cronquist, A. 1986. Introducción a la Botánica, Continental. 2da Ed. México.
- Darlington, C.D. & A.P. Wylie 1955. Chromosome atlas of flowering plants. Allen and Uniwín, London.
- Esau, K. 1965. Plant anatomy, New york, John Wyley. 767 p.
- Esau, K. 1976. Anatomía vegetal. Omega. 3era Ed. 190-235 p
- Farooqui, P., N. Venkatasubramanian and V.K. Nallasamy 1989. Use of cuticular studies in distinguishing species of (*Dalbergia*) Plant Sci. 99: 7-14.
- Gibson, C.A. & P.S. Nobel. 1986, The cactus primer. Harvard University press. Cambridge Massachusetts. 286 p.
- Jacobsen, A. Handbook of Succulent Plants . Blanford press London 489 p .
- Kramer S.R. Schurrcht and G. Friedrich. 1983, Fruticultura . Trad. Drorky 2da. Ed. CECSA. México 275 p.
- Kluge, M and I.P. Ting. 1978, Crassulacean acid metabolism. Springer verlag. Berlin Hedelberg. 209 p.
- Kurtz, E.B. 1959, A survey of some plant. Waxes of southern Arizona. Jour. Amer. Oil chem. Soc. 35: 465-467.
- Lee, B. and J.H. Priestly, 1924. The plant cuticle. I. Its. structure, distribution and function. Ann. Bot. London 38: 525-545.

- Lewis, H.W. 1980 polyploidy in angiosperm : dicotyledons in : W.H. Lewis (ed) . Polyploidy, Biological relevance. Plenum press. New York and London.
- Loera, Q.M.M. 1990, Estudio morfológico-anatómico de la epidermis en morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal (*Opuntia s.p.p.*) tunero. Tesis profesional, Facultad de Ciencias. Universidad de Guadalajara. 48p.
- Martin J.T. and B.E. Juniper, 1970. The cuticules of plants. Edward Arnold, London.
- Mauricio L.R. 1985 Caracterización fenológica y morfológica de formas de nopal (*Opuntia spp*) tunero en el altiplano Potosino-Zacatecano. I. primavera-verano, 1973. Tesis de licenciatura. facultad de Agricultura Universidad de Guadalajara. 113 p.
- Metcalfe, C.R. and L. Chalk. 1950. Anatomy of the dicotyledons. 2 Vols. Clarendon Press, Oxford.
- Nobel, S.P. 1974 Biophysical Plant Physiology. W.H. Freeman. San Francisco. 488 p.
- Nobel, S.P. 1982 b. Orientation, PAR interception and nocturnal acidity increases for terminal cladodes of a widely cultivated cactus, (*Opuntia ficus indica*) Amer. J. Bot. 69 (6) : 1462-1469.
- Nobel, S.P. 1983 Nutrient levels in cacti in relation to nocturnal acid accumulation and growth. Amer. J. Bot. 70 : 1244-1253.
- Nobel, S.P. and Gibson C.A. 1986. The Cactus Primer. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 286 p.
- Orozco, C. 1987, Estudio anatomico de la epidermis de 7 especies de *Opuntia*, de 20 localidades del valle de México. Cact. Suc. Mex. XXXII 1987.
- Osmond, B.C. 1978, " Crassulacean acid metabolism: A curiosity in context" Ann. Rev. Plant phisiol, 29: 379-414.
- Pimienta, B.E. 1974. Estudio de las causas que producen engrosamiento de cladodios en nopal (*Opuntia spp*) en la zona de Chapingo. Tesis de Maestria. Colegio de Postgraduados. ENA. Chapingo, México.
- Pimienta B.E., A. Delgado y R. Mauricio L. 1987. Evaluación en la variación de formas de nopal (*Opuntia spp*) tunero en la zona centro de México. In; Strategies for Classification and Management of Native Vegetation for Food Production in Arid Zones Tucson, AZ. pp. 82-86.

Pimienta B.E. 1988. El Nopal Tunero. Descripción botánica, usos e importancia económica. *Germe* 7: 10-52.

Pimienta B.E. 1990. El Nopal Tunero. Serie libros tiempos de ciencia Ed. Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jal. Méx.

Przywara L. , K.K. Pandey and P.M. Sanders. 1988. Length of stomata as an indicator of ploidy level in (*Actinidia deliciosa*).

Rosas, C.M.P. 1984. Polinización y fase programica en (*Opuntia spp*). Tesis profesional. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Morelia, Mich. 76 p.

Rosas, C.M.P. y E.Pimienta B. 1986. Polinización fase programica en nopal(*Opuntia ficus indica*) (L. Miller) tunero. *Fitotecnia* 8:164-176.

Safou, O.M. Saint-Martin et p. Rouane.1988 Stomata and waxes in genus (*Quercus*). *C.R. Acad. Sci. paris* 307: 701-707.

Sax, K. and H.J. Sax. 1937. Stomata size and distribution in diploid and polyploid plants. *Jour. Arnold Arbor.* 18:164-172.

Skoss, J.D. 1955. Structure and composition of plant cuticle in relation to enviromental factors and permeability. *Bot. Gar. (Crawforwille)*. 117:55-72.

Sosa, Ch.R. 1964. Microesporogénesis importancia económica y distribución de tres especies del género *Opuntia*. Tesis de Maestria. Colegio de postgraduados. Chapingo México.

Sosa, Ch.R. y A. Acosta. 1966. Poliploidia en (*Opuntia spp*) *Agrociencia* 1(1):100-106.

Stace, C.A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy: *Bull. Br. Mus (Nat. Hist.) Bot.* 41:78.

Stone,D.E. 1961. Ploiday level and stomatal size in the (*American hickories*). *Brittonia*. 13:293-302.

Wagner, W.H. Jr. 1954. Reticulate evolution in the *Appalachian aspleniums*. *Evolution*. 8:103-118.

Witting, H.B., H.A. de Venter and J.G.C. Small. 1979. Crassulacean acid metabolism in jointed cactus (*Opuntia aurantiaca* Lindley) *Agroplantea* 11:41-43.

APENDICE

Cuadro. 12. Análisis de varianza para el grosor cuticular.

Fv	GL	SC	MC	F calculada
Total	199	41445.18		
Tratamientos	10	3435.11	1808.11	45.90*
Error	180	7091.07	39.39	

CV =23.2 % Media =25.0

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

Cuadro. 13. Análisis de varianza para la cavidad estomática.

FV	GL	SC	MC	Fcalculada
Total	199	20614.33		
Tratamientos	19	15911.00	837.42	32.05*
Error	180	4703.33	26.13	

CV =28.9 % Media =20.5

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

Cuadro. 14. Análisis de varianza para la longitud de estomas.

FV	GL	SC	MC	F calculada
Total	199	7983.47		
Tratamientos	19	2579.10	135.74	4.52*
Error	180	5404.38	30.02	

CV =6.3 % Media =49.6

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

Cuadro. 15. Análisis de varianza para el grosor de epidermis.

FV	GL	SC	MC	Fcalculada
Total	199	291316.44		
Tratamientos	19	290909.57	14258.40	125.77*
Error	180	20406.86	113.37	

CV =19.8 % Media =60.1

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

Cuadro. 16. Análisis de varianza para el grosor de colénquima.

FV	GL	SC	MC	F calculada
Total	199	101429.83		
Tratamientos	19	28670.30	4140.54	32.75*
Error	180	22759.53	126.44	

CV =7.5 % Media =136.5

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

cuadro. 17. Análisis de varianza para el grosor de clorénquima.

FV	GL	SC	MC	F calculada
Total	199	40203879.71		
Tratamiento	19	35209375.39	1853125.02	66.79*
Error	180	4994504.38	27747.25	

CV =4.2 % Media =44.9

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).

Cuadro. 18. Análisis de varianza para el diametro de núcleos.

FV	GL	SC	MC	F calculada
Total	199	3753.53		
Tratamientos	19	2285.93	120.31	14.76*
Error	180	1467.60	8.15	

CV =17.0 % Media =19.8

* Valor altamente significativo (99.9 % de probabilidad).



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Sección

Expediente

Número 0545/90

SR. LUIS OCTAVIO LOPEZ AMEZCUA
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ESTUDIO ANATOMICO-FISIOLOGICO COMPARATIVO EN MORFOESPECIES DE NOPAL (*Opuntia spp*) TUNERO" para obtener la Licenciatura en -- Biología.

Al mismo tiempo le informamos a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis al Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Abril 5 de 1990
EL DIRECTOR



ING. ADOLFO ESPINOSA DE LOS MONTEROS CARDENAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIO

M. EN C. ROBERTO MIRANDA MEDRANO

c.c.p. El Dr. Eulogio Pimienta Barrios, Director de Tesis.-Pte.
c.c.p. El expediente del alumno.

mjsd



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS
COORDINACION DE INVESTIGACION

Expediente

Número

M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, manifiesto a Usted que una vez revisada la Tesis "ESTUDIO ANATOMICO-FISIOLÓGICO COMPARATIVO ENTRE MORFOESPECIES DE NOPAL (*Opuntia* spp) TUNERO", presentada por el C. Luis Octavio López Amezcua, pasante de la Lic. en Biología y habiendo realizado las observaciones pertinentes, considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad de Ciencias Biológicas a su digno cargo y no teniendo inconveniente para que se imprima solicito a Usted permita se realicen los trámites para el examen correspondiente.

Sin otro particular aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo y reiterarle mi consideración más distinguida.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. 24 de Junio de 1991.

Dr. Eulogio Pimentá Barrios
Director de Tesis

Al contestar este oficio citese fecha y número