



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA**

Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas

TESIS

**“Selección de variantes genéticas de nopal verdura
(*Opuntia velutina*) inducidas por radiación gamma con
características morfológicas y fitoquímicas mejoradas”**

**Que como requisito para obtener el grado de:
Doctora en Ciencias con opción en Biotecnología Alimentaria**

PRESENTA

M. C. Eréndira Rubio Ochoa

DIRECTOR

D. C. Pedro Antonio García Saucedo

CO-DIRECTOR

D. C. Juan Florencio Gómez Leyva

Morelia, Mich. Octubre del 2025

Índice general

I.	Resumen general	6
II.	Abstract.....	8
III.	Introducción general	10
IV.	Hipótesis	15
V.	Objetivo general	15
5.1.	Objetivos específicos.....	15
VI.	Capítulo 1. Obtención de variantes morfológicas mejoradas de nopal (<i>Opuntia velutina</i>) mediante mutagénesis inducida por radiación gamma.....	16
6.1.	Resumen	16
6.2.	Introducción.....	16
6.3.	Materiales y métodos.....	18
6.3.1.	Material vegetal y establecimiento <i>in vitro</i>	18
6.3.1.	Intervalo de dosis de radiación y determinación de la DL ₅₀	18
6.3.2.	Multiplicación brotes y proliferación de plantas	19
6.3.3.	Selección <i>in vitro</i> de plántulas mutantes putativas	19
6.3.4.	Análisis molecular con marcadores genómicos ISSR	19
6.3.5.	Diseño experimental y análisis estadístico	21
6.4.	Resultados.....	22
6.4.1.	Material vegetal y establecimiento <i>in vitro</i>	22
6.4.2.	Intervalos de dosis de radiación y determinación de la DL ₅₀	23
6.4.3.	Selección <i>in vitro</i> de plántulas putativas mutantes.....	24
6.4.4.	Análisis ISSR-PCR.....	27
6.5.	Discusión	32
6.6.	Conclusión.....	34
6.7.	Literatura citada.....	34
VII.	Capítulo 2. Comparación del perfil metabolómico y antioxidante de extractos etanólicos de líneas mutantes de nopal verdura (<i>Opuntia velutina</i>) obtenidas mediante irradiación gamma	41
7.1.	Resumen	41
7.2.	Introducción.....	41
7.3.	Materiales y métodos.....	43
7.3.1.	Material vegetal	43

7.3.2.	Obtención de extractos etanólica.....	43
7.3.3.	Evaluación fitoquímica.....	43
7.3.4.	Valoración de la actividad antioxidante	44
7.3.5.	Análisis metabolómico no dirigido.....	45
7.3.6.	Diseño experimental y análisis estadístico	45
7.4.	Resultados.....	47
7.4.1.	Evaluación de fitoquímica (CPT, CFT, clorofilas y carotenoides)	47
7.4.2.	Valoración de la actividad antioxidante	49
7.4.3.	Análisis de componentes principales entre el contenido de polifenoles y actividad antioxidante	50
7.4.4.	Comparativa del análisis metabolómico no dirigido de mutantes de <i>Opuntia velutina</i>	52
7.5.	Discusión	62
7.6.	Conclusión.....	66
7.7.	Literatura citada.....	66
VIII.	Discusión general	70
IX.	Perspectivas	72
X.	Literatura complementaria.....	73
XI.	Anexos I.....	74

Índice de cuadros

Capítulo 1

Cuadro 1. Oligonucleótidos usados para el monitoreo de la variabilidad de genética de presuntos materiales mutantes de <i>Opuntia velutina</i>	20
Cuadro 2. Amplificaciones generadas mediante oligonucleótidos ISSR en presuntos materiales mutantes de <i>Opuntia velutina</i>	27

Capítulo 2

Cuadro 1. Comparación fitoquímica de CPT, CFT, clorofilas y carotenoides entre materiales vegetales mutantes de <i>Opuntia velutina</i>	48
Cuadro 2. Actividad antioxidante de extractos etanólicos de materiales vegetales mutantes de <i>Opuntia velutina</i>	49
Cuadro 3. Identificación tentativa de metabolitos sobre acumulados en la línea mutante OUM05-01 en comparación con OUM00-00 (control).....	61

Índice de Figuras

Capítulo 1

Figura 1. Órganos de nopal verdura (<i>Opuntia velutina</i>).....	22
Figura 2. Porcentaje de mortalidad y sobrevivencia de nopal verdura.....	23
Figura 3. Curva de radiosensibilidad de meristemos de <i>Opuntia velutina</i> irradiados con diferentes dosis de radiación gamma.....	24
Figura 4. Variaciones morfológicas de mutantes putativas <i>in vitro</i> de <i>Opuntia velutina</i> obtenidas por irradiación gamma.....	25
Figura 5. Análisis de componentes principales entre los materiales vegetales obtenidos mediante irradiación gamma en generación V ₄	26
Figura 6. Patrón de amplificación de bandas obtenidas con los marcadores C3 (A), C4 (B) y C7 (C).....	29
Figura 7. Dendrograma de UPGMA de marcadores ISSR basado en el coeficiente de distancia de Jaccard en mutantes putativas de <i>Opuntia velutina</i>	31

Capítulo 2

Figura 1. Análisis de componentes principales del contenido de polifenoles (CPT), flavonoides (CFT), clorofila a (Ca), clorofila b (Cb), clorofilas totales (Ca + Cb), carotenoides (Cx + c) y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de diez materiales y control de <i>Opuntia velutina</i> (OUM00-00).....	51
Figura 2. Mapa de calor de agrupamiento jerárquico de los perfiles de comparación (generados por el método de Ward con distancias Euclidianas como algoritmo de agrupamiento).....	53
Figura 3. Gráfico de volcán de la comparación de los perfiles químicos globales (EIS + y EIS -) de las variantes mutantes de <i>Opuntia vaelutina</i> /material de referencia ($p \leq 0.05$).....	54
Figura 4. Gráfico de burbujas obtenido del análisis funcional de enriquecimiento de rutas metabólicas KEGG con los caracteres diferenciales significativos ($p \leq 0.05$) entre las líneas mutantes de <i>Opuntia velutina</i> y su control.....	56

Figura 5. Gráfico de dispersión del impacto de las vías metabólicas identificadas en la línea OUM05-01 de *Opuntia velutina*, a partir del conjunto de metabolitos acumulados ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$)..... 60

I. Resumen general

La mutagénesis *in vitro* es una práctica común para el mejoramiento genético de cultivos con valor alimenticio. Entre los agentes mutagénicos, la radiación gamma ha demostrado ser eficaz para generar líneas vegetales con características mejoradas en cultivos de agave, ginseng, arroz, etc. Dando como resultado, líneas sobreproductoras de metabolitos secundarios, resistencia a estreses abióticos y bióticos, y cambios morfológicos. Si bien esta técnica ha sido ampliamente aplicada, se recomienda para cultivos con complejidad genética, dificultad de germinación de semillas y ciclos de largo crecimiento, tal como las especies de nopal verdura (*Opuntia* spp.); quienes además de cumplir con estas condiciones han resaltado por contenido nutricional y fitoquímico como los polifenoles, compuesto reconocidos por su diversidad bioactiva, etc. Debido a lo anterior el presente trabajo pretende inducir variantes genéticas por irradiación gamma en nopal verdura (*Opuntia velutina*) para la selección de material con características morfológicas sobresalientes, aumento en la producción de polifenoles y capacidad antioxidante.

La investigación presento seis objetivos particulares, por lo que la metodología se estructuró en seis etapas y que se describen a continuación: 1) Se desarrolló un método de establecimiento *in vitro* de meristemos de nopal, utilizando cuatro tratamientos (T1, T2, T3, T4) y un control (solo con aguaje de agua corriente), distinguiéndose entre sí por los tiempos de exposición solución de cloro comercial (0, 5, 10, 15 min, respectivamente). Los meristemos fueron colocados en medio MS y se determinó el porcentaje de explantes asépticos, mortalidad por oxidación, contaminación de hongos y bacterias. 2) Los meristemos *in vitro* fueron expuestos a dosis entre 5 y 125 Gy de radiación gamma. Se monitoreó el porcentaje de oxidación, brotación, curva de radiosensibilidad y se estableció la dosis de radiación gamma inhibitoria del 50% del porcentaje de brotación (DL_{50}). 3) Los materiales sobrevivientes post irradiación fueron multiplicados hasta la obtención de la cuarta generación (V_4). Donde se registraron las medidas longitudinales, horizontales, transversales, número de brotes y raíces. Los materiales de *O. velutina* con características contrastantes permitieron una primera selección de 27 presuntos materiales mutantes. 4) Los materiales seleccionados en la etapa anterior, se sometieron a un análisis de variabilidad genética mediante el uso seis marcadores ISSR. Los patrones de amplificación se registraron en una matriz binaria con la que se determinó el total de bandas amplificadas, número de bandas polimórficas y porcentaje de polimorfismo. Estos resultados permitieron una segunda selección de material. 5) Los materiales seleccionados fueron aclimatados, liofilizados y macerados con etanol (80%). En los extractos se cuantificó los polifenoles (CPT), flavonoides (CFT), clorofilas (Ca, Cb y Ca + Cb) y carotenoides (Cx + c), así como de capacidad antioxidante de los radicales DPPH, ABTS y FRAP. 6) Finalmente, se realizó un análisis metabolómico no dirigido, en los materiales OUM05-01, OUM05-30 y OUM2534, se determinó los caracteres diferenciales de cada línea, los cambios de pliegue, análisis funcional de vías metabólicas y se identificaron tentativamente los metabolitos presentes en la línea OUM05-01.

Los resultados recabados para la primera etapa se estableció un sitio de colecta de un huerto comercial ubicado en el municipio de Ziracuaretiro, Mich. El material fue identificado y depositado en el INECOL Herbario del Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío (INECOL) como *Opuntia velutina*. Por otro lado, durante el establecimiento *in vitro* se manifestó mayor sobrevivencia para el T1 con 66%, siendo estadísticamente diferente al control ($p \leq 0.05$). En la segunda etapa, se

observó el 100% de oxidación de explantes en los tratamientos de 50 a 125 Gy. Los porcentajes de brotación más altos se reportaron en los tratamientos comprendidos entre 5 y 20 Gy (90, 76, 74 y 70% respectivamente). El promedio de brotes por explantes y CFB mostraron una respuesta inversamente proporcional a la dosis de radiación, mientras la DL_{50} fue calculada en 22.8 Gy.

Los resultados obtenidos de la tercera etapa se presentaron 178 poblaciones en la generación V₄. Se identificaron 27 materiales con incremento en longitud (50-100%), número de brotes (hasta seis veces más) y raíces (hasta cinco veces más), respecto al material de referencia. Los materiales se sometieron a un análisis de variabilidad genética, en donde cinco materiales no presentaron polimorfismo, sin embargo, los 22 materiales restantes presentaron porcentajes de polimorfismo entre 2.1 y 25.6%. El dendrograma exhibió nueve agrupaciones en donde destacó el séptimo (OUM05-30), octavo (OUM15-09 y OUM10-13) y noveno (OUM20-27) con las mayores distancias (0.49) al control y 0.42 entre ellas. Con estos resultados se seleccionaron diez materiales: ocho de ellos, identificados como líneas mutantes en comparación al material de referencia (OUM00-00).

Los resultados obtenidos en la quinta etapa, lograron evidenciar incrementos del CPT (5-30%), CFT (20%), Ca (15-120%), Cb (8-75%), Ca + Cb (20-100%), Cx + c (30-97%), DPPH (-18 a -43%), ABTS (-42% a + 8%) y FRAP (1-67%), respecto al control (10.39 ± 0.19 , 6.07 ± 0.19 , 0.49 ± 0.005 , 0.26 ± 0.03 , 0.75 ± 0.03 y 0.25 ± 0.02 mg/g, respectivamente), siendo los materiales OUM05-01, OUM20-24, OUM20-29 y OUM25-34 los que destacaron estadísticamente ($p \leq 0.05$). Los análisis espectrofotométricos permitieron agrupar tres conglomerados (CG). El CG1 estuvo compuesto por OUM05-01, OUM10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-29, y OUM25-34, con mayor contenido fitoquímico y potencial antioxidante.

El análisis metabólico no dirigido de extractos de tres variantes genéticas de *O. velutina* (OUM05-01, OUM05-30, OUM25-34) y su control (OUM00-00) reveló variabilidad metabólica contrastante al control. El análisis de agrupación jerárquica clasificó los materiales en dos subgrupos: el primero con OUM00-00 y OUM05-01, y el segundo con OUM05-30 y OUM25-34. El análisis funcional de rutas metabólicas involucró 78 rutas globales, en donde la línea OUM 05-01 y OUM05-30 destacaron en la biosíntesis de flavonoides e isoflavonoides, biosíntesis de fenilpropanoides, metabolismo de esfingolípidos, biosíntesis de pantotenato. Las identificaciones tentativas de los compuestos (cambio de pliegue ≥ 2 y $p \leq 0.05$) presentes en la línea OUM 05-01 sugieren la presencia de naringenina, apigenina, luteolina, genisteína, quercetina, kaempferol taxifolina y miricetina, asimismo ácido cítrico, y escopoletina, compuestos reconocidos por sus propiedades bioactivas.

Tras los resultados, se propone a la línea OUM 05-01 como un candidato prometedor derivado de mutagénesis *in vitro* en *O. velutina* obtenido por irradiación gamma, con características morfológicas y fitoquímicas superiores a su material progenitor.

Palabras clave: antioxidantes, fitomejoramiento, irradiación ionizante, ISSR, metabólica, mutaciones.

II. Abstract

In vitro mutagenesis is a common approach for the genetic improvement of food crops. Among mutagenic agents, gamma radiation has proven effective in generating plant lines with enhanced traits in crops such as agave, ginseng, and rice, resulting in overproduction of secondary metabolites, resistance to abiotic and biotic stresses, and morphological modifications. Although this technique has been widely applied, it is particularly recommended for crops with genetic complexity, seed germination difficulties, and long growth cycles, as is the case for vegetable prickly pear species (*Opuntia* spp.), which also stand out for their nutritional and phytochemical content, including polyphenols, compounds widely recognized for their diverse bioactive properties. Based on these considerations, the present study aimed to induce genetic variants of vegetable prickly pear (*Opuntia velutina*) through gamma irradiation, with the objective of selecting material exhibiting outstanding morphological traits, increased polyphenol production, and enhanced antioxidant capacity.

The research was structured into six specific objectives, corresponding to six methodological stages: (1) An *in vitro* establishment method for *O. velutina* meristems was developed using four treatments (T1, T2, T3, T4) and a control (tap water rinse only), distinguished by exposure times to commercial bleach solution (0, 5, 10, 15 min, respectively). Meristems were cultured on MS medium, and aseptic explant percentage, mortality by oxidation, and fungal and bacterial contamination were recorded. (2) *In vitro* meristems were exposed to gamma radiation doses ranging from 5 to 125 Gy. Oxidation percentage, sprouting rate, radiosensitivity curve, and the inhibitory dose at 50% sprouting (LD₅₀) were determined. (3) Surviving irradiated material was propagated until the fourth generation (V4), recording longitudinal, horizontal, and transversal dimensions, as well as the number of shoots and roots. Contrasting morphological traits in *O. velutina* enabled the preliminary selection of 27 putative mutant lines. (4) The selected materials underwent genetic variability analysis using six ISSR markers. Amplification patterns were scored in a binary matrix to determine total bands, polymorphic bands, and percentage of polymorphism, leading to a second selection of lines. (5) The selected materials were acclimatized, lyophilized, and macerated with 80% ethanol. Extracts were evaluated for polyphenol (TPC), flavonoid (TFC), chlorophyll (Ca, Cb, and Ca + Cb), and carotenoid (Cx + c) contents, as well as antioxidant capacity using DPPH, ABTS, and FRAP assays. (6) Finally, untargeted metabolomic profiling was conducted on variants OUM05-01, OUM05-30, and OUM25-34 to assess differential traits, fold changes, functional pathway enrichment, and tentative metabolite identification, with a focus on line OUM05-01.

In the first stage, explants were collected from a commercial orchard located in Ziracuaretiro, Michoacán, Mexico. The material was taxonomically identified and deposited in the INECOL Herbarium of the Instituto de Ecología A.C., Centro Regional del Bajío (INECOL) as *Opuntia velutina*. During *in vitro* establishment, the T1 treatment showed the highest survival rate (66%), statistically different from the control ($p \leq 0.05$). In the second stage, 100% oxidation was observed in explants treated with 50-125 Gy. The highest sprouting percentages were recorded at 5-20 Gy (90, 76, 74, and 70%, respectively). Shoot number and CFB were inversely proportional to radiation dose, while LD50 was estimated at 22.8 Gy.

In the third stage, 178 populations were obtained in generation V4. Twenty-seven materials exhibited increases in length (50-100%), shoot number (up to six-fold), and root number (up to five-fold) relative to the reference line. Genetic variability analysis revealed that five materials lacked polymorphism, while the remaining 22 showed polymorphism levels between 2.1 and 25.6%. The dendrogram revealed nine clusters, with groups seven (OUM05-30), eight (OUM15-09 and OUM10-13), and nine (OUM20-27) showing the greatest genetic distances (0.49) from the control and 0.42 among themselves. Based on these results, ten materials were selected, eight of which were confirmed as mutant lines compared with the reference (OUM00-00).

In the fifth stage, biochemical assays revealed increases in TPC (5-30%), TFC (20%), Ca (15-120%), Cb (8-75%), Ca + Cb (20-100%), Cx + c (30-97%), DPPH (-18 to -43%), ABTS (-42% to +8%), and FRAP (1-67%), relative to the control (10.39 ± 0.19 , 6.07 ± 0.19 , 0.49 ± 0.005 , 0.26 ± 0.03 , 0.75 ± 0.03 and 0.25 ± 0.02 mg/g, respectively). The lines OUM05-01, OUM20-24, OUM20-29, and OUM25-34 displayed statistically significant differences ($p \leq 0.05$). Spectrophotometric analyses grouped the materials into three clusters (CG). CG1, comprising OUM05-01, OUM10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-29, and OUM25-34, exhibited the highest phytochemical content and antioxidant potential.

Untargeted metabolomic analysis of extracts from three *O. velutina* variants (OUM05-01, OUM05-30, OUM25-34) and the control (OUM00-00) revealed contrasting metabolic profiles relative to the control. Hierarchical clustering separated the materials into two subgroups: OUM00-00 with OUM05-01, and OUM05-30 with OUM25-34. Functional pathway analysis highlighted 78 global metabolic pathways, with OUM05-01 and OUM05-30 enriched in flavonoid and isoflavonoid biosynthesis, phenylpropanoid biosynthesis, sphingolipid metabolism, and pantothenate biosynthesis. Tentative metabolite identifications (fold change ≥ 2 , $p \leq 0.05$) in line OUM05-01 suggested the presence of naringenin, apigenin, luteolin, genistein, quercetin, kaempferol, taxifolin, and myricetin, as well as citric acid and scopoletin, all recognized for their bioactive properties.

Taken together, these findings propose line OUM05-01 as a promising candidate derived from *in vitro* mutagenesis of *O. velutina* through gamma irradiation, exhibiting superior morphological and phytochemical traits compared to its progenitor line.

Keywords: antioxidants, plant breeding, ionizing irradiation, ISSR, metabolomics, mutations.

III. Introducción general

El mejoramiento genético de plantas es un conjunto de estrategias orientadas a incrementar el rendimiento, la calidad y la adaptabilidad de los cultivos mediante la selección y fijación de caracteres deseables. Esta actividad se fundamenta en el aprovechamiento de la variabilidad genética y en la aplicación de herramientas que permiten generar o identificar genotipos superiores de forma estable y heredable (Carrodegua-González y Zúñiga-Orozco, 2023). Actualmente las prácticas de mejoramiento genético generalmente suelen dividirse en técnicas convencionales o tradicionales y técnicas biotecnológicas (Schaart y col., 2016; Carrodegua-Gonzalez y Zúñiga-Orozco., 2023).

Las técnicas de mejoramiento genético tradicional se basan en el aprovechamiento de mutaciones espontáneas presentes en poblaciones naturales, así como la diversidad genética, mediante cruzamientos selectivos, autofecundación o una combinación de ambos. En este proceso, se identifican genotipos con características de interés para ser utilizados como líneas parentales, seguido de su autofecundación o cruzamiento (Carrodegua-González y Zúñiga-Orozco, 2023). Posteriormente, en la descendencia, se seleccionan los individuos que expresan los caracteres deseados y se reincorporan al ciclo de mejoramiento, dando continuidad a la selección transgeneracional hasta lograr la fijación genética de dichos rasgos (Ahmar y col., 2020). Estas estrategias son especialmente recomendadas en cultivos con ciclos reproductivos cortos, ya que permiten obtener varias generaciones en un solo año, lo que facilita el seguimiento fenotípico y acelera el proceso de selección, mientras que en especies anuales o perennes este proceso se prolonga considerablemente (Carrodegua-González y Zúñiga-Orozco, 2023). En general, el mejoramiento tradicional se ha centrado en cultivos diploides, debido a que los poliploides presentan un alto número de cromosomas y elevado nivel de heterocigosidad, complicando la obtención de líneas estables y favoreciendo la segregación en generaciones posteriores (Núñez-Colín y col., 2018; Herrera-Isidró y col., 2019; Ahmar y col., 2020; Omar, 2021).

Entre las técnicas biotecnológicas destacan la ingeniería genética y la mutagénesis inducida (Llatas y col., 2021). La ingeniería genética de plantas permite la inserción de fragmentos de ADN foráneo, alterando las características fenotípicas de la planta al añadir, eliminar o modificar genes específicos (Gómez-Márquez, 2013). Dentro de esta categoría se incluye la transgénesis, la edición génica (por ejemplo, CRISPR/Cas13a) y la selección asistida por marcadores moleculares (QTL). Actualmente, las técnicas de nueva generación, como la edición genética y la selección asistida presentan ventajas de rapidez, menor costo y alta eficiencia de selección, en comparación con la transgénesis, aunque requieren secuenciación previa del gen recombinante y diseño experimental cuidadoso (Nuijten y col., 2016; Godwin y col., 2019; Llatas y col., 2021). Por otro lado, la mutagénesis inducida se basa en el uso de agentes químicos, físicos o biológicos para generar modificaciones hereditarias en la secuencia del ADN. Entre sus principales ventajas frente a otros métodos, incluye la

aplicabilidad tanto en especies diploides como poliploides, así como su utilidad en cultivos de lento crecimiento; sin embargo, la identificación y selección variantes mutantes útiles suele efectuarse en la segunda (V_2) o tercera (V_3) generación, motivo por el cual frecuentemente es asociada con técnicas de cultivo de tejidos vegetales, ya que permite manejar un gran número de individuos en espacios reducidos (Ahmar y col., 2020).

El cultivo de tejidos vegetales comprende técnicas que desarrollan y mantienen explantes en medios nutritivos definidos bajo condiciones controladas y asépticas, aprovechando la totipotencialidad celular para regenerar individuos completos. Este enfoque se utiliza en micropropagación, estudios genéticos, fisiológicos y bioquímicos, y producción de metabolitos secundarios (Trigiano y Gray, 2016). La multiplicación clonal *in vitro* permite obtener nuevas variedades mediante mutagénesis en 2 a 3 años, acortando ciclos de crecimiento, controlando factores bióticos y abióticos y evitando polinización indeseada (Hernández y col., 2019; Spencer y col., 2021).

Por otro lado, una mutación consiste en cambios en la secuencia de ADN que pueden modificar la estructura de una proteína y, en consecuencia, producir variaciones fenotípicas (Lewin, 2008). Según la escala de la lesión, las mutaciones pueden ser cromosómicas (alteraciones en la estructura o número de cromosomas) o génicas (alteraciones puntuales en un solo gen) (Pierce, 2008). Las mutaciones génicas comprenden inserciones, deleciones y sustituciones de nucleótidos; estas últimas incluyen transiciones (purina por purina o pirimidina por pirimidina) y transversiones (purina por pirimidina o viceversa) (Lewin, 2008). Si bien pueden ocurrir de forma espontánea, su frecuencia mutacional puede incrementarse mediante agentes mutagénicos físicos o químicos (Nutan y Herrera-Olivas, 2021); siendo las radiaciones ionizantes, como los rayos gamma, capaces de inducir daño genético directo mediante la ruptura de doble cadena de ADN, o indirecto a través de la generación de radicales libres derivados de la radiólisis del agua intracelular (Spencer y col., 2021; Udage, 2021). Estas especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden ocasionar sustitución de bases, sitiosapurínicos o apirimidínicos, y rupturas en las cadenas de ADN (Puerta y Morales, 2020).

La radiación gamma, emitida principalmente por isótopos como Co^{60} y Cs-137 , posee alta penetración y energía (~ 1.36 MeV), lo que la convierte en un mutágeno eficiente para programas de mejoramiento genético (Oladosu y col., 2016; Balvoa y col., 2021). La dosis absorbida, expresada en Gray (Gy), debe ser optimizada para maximizar la frecuencia mutacional y minimizar daños letales al material vegetal (Spencer y col., 2021). Se emplean parámetros como la dosis letal 50 (DL_{50}) y la dosis de crecimiento 50 (GL_{50}) para evaluar radiosensibilidad y establecer condiciones experimentales adecuadas (Penna y Bhagwat, 2023). La radiosensibilidad varía según el tipo y estado fisiológico del tejido; tejidos desorganizados (callos, embriones somáticos) suelen ser más sensibles (DL_{50} entre 12.8-60 Gy) que semillas (38-184 Gy) o tejidos lignificados (23-250 Gy) (Abdelnour y col., 2020;

Pérez y col., 2020). Estas diferencias influyen en la capacidad regenerativa y supervivencia post-irradiación, lo que es crítico para la selección de variantes genéticas con características mejoradas (Le y col., 2019; Royani y col., 2021).

La mutagénesis *in vitro* inducida por radiación gamma ha emergido como una herramienta eficaz para la generación y selección de variantes genéticas con tolerancia a estrés biótico y abiótico, y mejoras en la calidad nutricional y fitoquímica sin comprometer el rendimiento productivo (Kharkwal, 2023). La selección de materiales mutantes mediante exposición a agentes inductores de estrés permite identificar plantas con resistencia o tolerancia incrementada frente a condiciones adversas, tales como salinidad, sequía, variaciones extremas de temperatura y presencia de metales pesados (Marcelino y col., 2018; Penna y Bhagwat, 2023). Ejemplos incluyen, arroz tolerante a NaCl (Abdelnour y col., 2020), caña de azúcar con mejoras bajo estrés salino (Nikam y col., 2014) y *Arabidopsis* con mayor germinación frente a cadmio y plomo (Qi y col., 2015). Asimismo, se han identificado líneas resistentes a patógenos como *Fusarium* en jengibre y *Botrytis* en zarzamora (Sharma y col., 2020; Huerta y col., 2022).

Las variaciones morfológicas, tales como incremento en número de brotes, longitud de tallo y raíces, constituyen indicadores tempranos de mutagénesis, mismos que han sido documentados en líneas de banana (Due y col., 2019; Hasim y col., 2021), vainilla (Serrano y col., 2022) y jengibre (Sharma y Thakur, 2021). De igual manera, la mutagénesis puede incrementar la acumulación de compuestos bioactivos y nutrientes esenciales, como azúcares, proteínas, ginsenósidos y flavonoides, evidenciado en frijol negro (Yasmin y col., 2019), ginseng (Le y col., 2019), agave (Ángeles-Espino y col., 2020) y jengibre (Sharma y Thakur, 2021).

La caracterización de mutantes mediante marcadores genéticos permite validar la variabilidad generada (Nadeem y col., 2018). Estos marcadores se clasifican en clásicos (fenotípicos, citológicos y bioquímicos) y moleculares (basados en ADN o ARN) (Nadeem y col., 2018; Dev y col., 2021;). Los marcadores clásicos, aunque de fácil aplicación, pueden verse afectados por variables ambientales y etapas de desarrollo (Bali, 2023). Por otro lado, los marcadores moleculares permiten contrastar el nivel de polimorfismos entre líneas progenitoras y mutantes, confirmando la variabilidad genética mediante técnicas como RFLP, RAPD, AFLP, SSR e ISSR (Pandey y col., 2016; Riviello y col., 2022). Por ejemplo, Le y col. (2019) detectaron entre 60 y 80% de polimorfismo con marcadores RAPD en mutantes de ginseng, mientras que Due y col. (2019) reportaron un 90% con ISSR en mutantes de banana. Marcadores más recientes como SRAP, SCoT y DArT ofrecen mayor resolución y reproducibilidad, siendo la elección dependiente de factores técnicos, costos y reproducibilidad (Singh y Singh, 2015; Nadeem y col., 2018; El-Fiki y col., 2021).

Si bien los marcadores genéticos constituyen herramientas fundamentales para validar variabilidad genética en diversos cultivos, los reportes sobre su aplicación en programas de mejoramiento por mutagénesis mediante radiación gamma en cactáceas son limitados. Por lo que, se evidencia la necesidad de generar antecedentes de especies del género *Opuntia*, cuya diversidad genética, adaptaciones morfológicas y relevancia agroindustrial ofrecen un alto potencial para la selección de variantes con características agronómicas y fitoquímicas mejoradas.

Las especies del género *Opuntia* presentan adaptaciones anatómicas, morfológicas y fisiológicas que les permiten prosperar en ambientes áridos, destacando cladodios suculentos con areolas, espinas y gloquidios, flores hermafroditas y frutos comestibles (Aruwa y col., 2018; Pratt y col., 2018; Medina-García y col., 2021; Paz-Navarro y col., 2023). La propagación del nopal puede ser sexual o asexual. La multiplicación asexual se efectúa mediante el enraizamiento de cladodios en suelo, técnica que asegura fidelidad genética, rápido desarrollo y bajo costo, pero que requiere grandes extensiones y material vegetal adulto, además de condiciones estacionales específicas (Potgieter y D'Aquino, 2018). La propagación sexual, mediante germinación de semillas, genera mayor variabilidad genética y es utilizada en programas de mejoramiento; sin embargo, la baja tasa de germinación debida a la predominancia de semillas inviables y al fenómeno de apomixis limita su aplicabilidad comercial (Núñez-Colin y col., 2018; Pratt y col., 2018; Balaguera-López y col., 2020). La diversidad genética en *Opuntia* es amplia y diversa, con niveles de ploidía que incluyen diploides, tetraploides, hexaploides, octaploides y reportes de pentaploides y heptaploides, siendo el número básico cromosómico $x = 11$ (Mazri y col., 2018; Omar, 2021).

El nopal (*Opuntia* spp.) es un recurso estratégico para sistemas agrícolas sustentables, particularmente en zonas áridas y semiáridas con suelos de baja fertilidad, debido a su elevada eficiencia en la producción de biomasa (hasta 60 veces superior a la de pastizales convencionales) y su bajo requerimiento hídrico (Dubeux y col., 2018; Potgieter y D'Aquino, 2018). Se utiliza como cerco vivo, forraje y fuente de metabolitos bioactivos, y su inclusión en dietas animales ha demostrado efectos hipoglucemiantes en cerdas lactantes y gallinas Rhode Island Red (González y col., 2021). Además, constituye el hospedero de la cochinilla productora de ácido carmínico, colorante natural de relevancia industrial (Castro-Carrasco, 2021). Los cladodios y frutos se destinan al consumo fresco o a la elaboración de productos de valor agregado (como harinas, mermeladas, jugos, vinos y aceites) cuya composición nutricional depende del manejo agronómico (El-Mostafa y col., 2014; Tilahun y Welegerima, 2018). También se emplea en formulaciones cosméticas y en medicina tradicional, atribuyéndosele propiedades antiulcerogénicas, antidiarreicas, antitusivas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes, hipoglucémicas, anticancerígenas y neuroprotectoras (El-Mostafa y col., 2014; Ochoa y Barbera, 2018; Tilahun y Welegerima, 2018; Aruwa y col., 2019).

El creciente interés de las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria en compuestos fenólicos derivados de *Opuntia* se justifica por su relevancia funcional, aunque su concentración depende de múltiples factores, entre ellos la especie, variedad y condiciones ambientales (Silva y col., 2021). Por ello, el uso de herramientas biotecnológicas, como la mutagénesis *in vitro* mediante irradiación gamma, se perfila como estrategia para obtener cultivos mejor adaptados a cambios ambientales y con mayor rendimiento nutricional y fitoquímico.

Desde el punto de vista nutricional, las pencas contienen entre 82 y 95% de humedad, 4 a 21% de ceniza, 0.3 a 2.5% de proteínas, 0.3 a 1.8% de lípidos, 15 a 51.4% de fibra y carbohidratos del 5.6 al 92%, con minerales como K, Mg, Ca y Na, vitaminas E, α -tocoferol y C, y aminoácidos como serina, prolina, arginina, ácido glutámico y taurina (Silva y col., 2021; Alshaikhi y col., 2024;). La actividad bioactiva se atribuye a metabolitos secundarios como ácidos grasos (palmítico, linoleico, linolénico, esteárico), esteroides (β -sitosterol, campesterol), carotenoides (luteína, β -caroteno, β -criptoxantina, violaxantina) y polifenoles (incluyendo ácidos fenólicos, flavonoides, ligninas y estilbenos) (Betancourt-Domínguez y col., 2006; Tilahun y Welegerima, 2018). Los flavonoides, presentes en todas las partes del nopal como isorhamnetina, quercetina, kaempferol, isoquercetina, nicotiflorina y rutina, exhiben propiedades antioxidantes, antihipertensivas, hepatoprotectoras, antiinflamatorias, analgésicas, antialérgicas e hipoglucemiantes (Aruwa y col., 2018; Aruwa y col., 2019). Asimismo, dietas enriquecidas con flavonoides se asocian con menor ganancia de peso, supresión del apetito y mayor captación muscular de glucosa; compuestos como los glucósidos de isorhamnetina han demostrado reducir la absorción de grasas y prevenir la aparición de diabetes mellitus tipo 2 (Rodríguez-Rodríguez y col., 2015; Matboli y col., 2021).

La combinación del alto valor nutricional del nopal, contenido fitoquímico, adaptabilidad y complejidad genética, junto con sus limitantes fenológicas y reproductivas, sugieren al nopal como una especie candidata para la aplicación de técnicas como la mutagénesis *in vitro* mediante radiación gamma, orientada a generar variantes con cambios morfológicos y fitoquímicos de interés. En este contexto, el presente trabajo plantea la evaluación de materiales de *Opuntia velutina* irradiada con rayos gamma bajo un enfoque integral que incluye análisis morfológico, fitoquímico y molecular, con el propósito de identificar y seleccionar variantes genéticas con características diferenciadas respecto a líneas no irradiadas.

IV. Hipótesis

La exposición de meristemos de *Opuntia velutina* en condiciones *in vitro* a la radiación gamma, induce variabilidad genética que permite la obtención de material con características morfológicas sobresalientes, aumento en la producción de polifenoles y capacidad antioxidante.

V. Objetivo general

Inducir variantes genéticas por irradiación gamma en nopal verdura (*O. velutina*) para la selección de material con características morfológicas sobresalientes, aumento en la producción de polifenoles y capacidad antioxidante.

5.1. Objetivos específicos

- Desarrollar un protocolo de establecimiento *in vitro* de explantes de *O. velutina*.
- Determinar la dosis letal media (DL₅₀) de radiación gamma en meristemos *in vitro* de *O. velutina*.
- Valorar e identificar los materiales vegetales con características morfológicas sobresalientes en contraste al control.
- Evaluar la variabilidad genética de las plántulas con características morfológicas sobresalientes mediante inter-secuencias simples repetidas (ISSR).
- Contrastar el contenido de clorofila, carotenoides, polifenoles y actividad antioxidante de extractos etanólicos de variantes genéticas de *O. velutina*.
- Comparar el perfil de metabolómico de extractos etanólicos de plántulas mutantes mediante cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (LC-MS).

VI. Capítulo 1. Obtención de variantes morfológicas mejoradas de nopal (*Opuntia velutina*) mediante mutagénesis inducida por radiación gamma

6.1. Resumen

El nopal (*Opuntia* sp.) es una cactácea de gran importancia agronómica y económica debido a su valor nutricional y contenido de compuestos bioactivos. Sin embargo, su mejoramiento genético es limitado por fenómenos como la apomixis y su lento crecimiento. Este estudio tuvo como objetivo inducir variaciones genéticas en meristemas de nopal verdura mediante radiación gamma para generar líneas morfológicamente mejoradas. Se establecieron cultivos *in vitro* de *Opuntia* sp. a partir de cladodios de 15 cm de longitud. Explantes fueron irradiados con dosis de 0-125 Gy de radiación gamma Co^{60} para determinar la DL_{50} . Plantas sobrevivientes se multiplicaron hasta la cuarta generación (V4) y se seleccionaron variantes morfológicas. Se extrajo ADN y aplicaron marcadores ISSR para evaluar polimorfismo genético. Los datos morfológicos y moleculares se analizaron mediante ANOVA, ACP y agrupamiento jerárquico (UPGMA) con el coeficiente de similitud de Jaccard. Se analizó la variabilidad genética de 27 materiales putativos mutantes con características morfológicas sobresalientes de *O. velutina*. Se amplificaron 57 bandas con seis cebadores, de las cuales 33 fueron polimórficas (54.5%). Los materiales mutantes mostraron de 0 a 12 bandas polimórficas, destacando el material OUM10-13. El análisis genético reveló distancias entre 0.14 y 0.96, agrupando los materiales en nueve grupos. Este análisis confirmó la inducción de variabilidad genética en *O. velutina* por irradiación gamma, proporcionando una base para futuras selecciones de materiales con características agronómicas mejoradas.

6.2. Introducción

El nopal (*Opuntia* sp.) es conocido como la cactácea de mayor importancia agronómica y económica en el mundo, debido a sus frutos (tunas) y pencas (cladodios) comestibles. Los nopalitos son consumidos en fresco e incorporados en la preparación de productos de valor añadido como harinas, mermeladas, jugos, vinos y aceites (El-Mostafa y col., 2014; Tilahun, y Welegerima, 2018). Su contenido nutricional se sustenta en su contenido de fibras (15-51.4%), carbohidratos (5.6-92%), minerales (4-21%) y vitaminas (como vitamina C y α -tocoferol) (Astello-García y col., 2012; Silva y col., 2021). Además, posee compuestos bioactivos que contribuyen a eliminar radicales libres y reducir el estrés oxidativo, tal es el caso de carotenoides betalaínas y betacianinas, y polifenoles (isorhamnetina, kaempferol y quercetina), (Tilahun y Welegerima, 2018). No obstante, el rendimiento y la calidad de sus cultivos se ve sujeta a la especie y/o variedad, que a su vez es influenciada por factores abióticos (clima, humedad, luz, pH, salinidad, etc) y bióticos (bacterias, hongos, virus, etc.). Por lo que, se ha buscado mejorar aspectos como la resistencia a enfermedades y plagas, en conjunto con la tolerancia al frío, reducción en número de espinas, gloquidias, semillas y contenido de mucilago (Mazri, 2018).

Las estrategias de mejoramiento genético se dividen en convencionales y biotecnológicas (Schaart y col., 2016; Carrodegua-Gonzalez y Zúñiga-Orozco., 2023). Las técnicas convencionales incluyen hibridación y domesticación a partir de semillas, pero presentan limitaciones en nopal verdura debido a su lento crecimiento, largos periodos juveniles (2–4 años), segregación genética y apomixis (Mazri, 2018; Omar, 2021). Por ello, el nopal puede ser considerado como un modelo de estudio dentro de las técnicas biotecnológicas, como la mutagénesis inducida.

La mutagénesis es una práctica común para el mejoramiento genético de cultivos con valor alimenticio, consiste en promover cambios en la cadena de ADN, dando como resultados caracteres transgeneracionales deseables (FAO/OIEA, 2021). Esto puede ser inducido mediante agentes mutagénicos físicos como la radiación gamma. Actualmente se estiman 3400 variedades mutantes de alto valor en el mercado, alrededor del 70% han sido obtenidas de manera directa o indirecta a partir de la radiación gamma (IAEA, 2023), por lo cual se considera más eficiente que otros agentes mutagénicos. La radiación gamma ha sido aplicada en tejidos organizados, desorganizados y semillas de diversas especies (agave, ginseng, arroz, etc.), dando como resultado líneas con incremento en metabolitos secundarios específicos (ginsenósidos, antocianinas, fructooligosacáridos, etc.), proteínas y aminoácidos, resistentes a fitopatógenos, tolerancia a las sequías y salinidad, mayor rendimiento y reducción de los periodos de cultivo (Abdelnour y col., 2020; Pérez-Jiménez y col., 2020; Royani y col., 2021; Huerta y col., 2022).

La validación de la variabilidad genética generada se realiza mediante marcadores moleculares y clásicos (Nadeem y col., 2018). Los marcadores clásicos se basan en cambios fenotípicos, bioquímicos, citológicos y morfológicos de los cultivos, siendo los cambios morfológicos los más comunes por su facilidad de observación y cuantificación (Singh y Singh., 2015; Nadeem y col., 2018). En contraste, los marcadores moleculares permiten detectar polimorfismo a nivel de ADN y ARN, siendo esenciales en programas de mejoramiento para corroborar diferencias entre los materiales progenitores y variantes obtenidas (Singh y Singh., 2015; Nadeem y col., 2018; Bhat y col., 2023). Entre los más empleados se incluyen marcadores dominantes o codominantes, basados en hibridación (RFLP) o amplificación por PCR (RAPD, AFLP, SSR, ISSR), siendo estos últimos frecuentes en mutantes obtenidos mediante mutagénesis *in vitro* por radiación gamma (Pandey y col., 2016; Due y col., 2019; El-Fiki y col., 2021; Sharma y Thakur, 2021; Riviello-Flores y col., 2022; Bhat y col., 2023).

Tras lo anterior, el alto valor agronómico, económico y nutricional del nopal ha fomentado la realización de investigaciones que incorporando herramientas biotecnológicas como la mutagénesis *in vitro* por radiación gamma. Por lo que, el objetivo de presente trabajo fue inducir variaciones genéticas en meristemos *in vitro* de *O. velutina* mediante radiación

gamma para obtener líneas morfológicamente mejoradas y evaluar su diversidad genética mediante marcadores ISSR.

6.3. Materiales y métodos

6.3.1. Material vegetal y establecimiento *in vitro*

Se colectaron cladodios jóvenes (entre 10 y 15 cm de longitud) de plantas maternas de *O. velutina* con más de 36 meses de edad, procedentes de un huerto comercial de nopal verdura ubicado en el municipio de Ziracuaretiro Mich. (19° 23'45.6''N, 102° 00' 00''O).

Los cladodios fueron divididos longitudinalmente, se retiraron las espinas y lavados con agua corriente. Posteriormente, los segmentos fueron sumergidos durante 4 h en una solución biocida compuesto por 5 g/L de oxitretaciclina y benomilo (Intermicina agrícola y Antrax 500pH). La desinfección superficial fue realizada mediante inmersión en etanol al 70% (v/v) durante 30 s, seguida de hipoclorito de sodio comercial (cloralex) al 6% durante 0, 5, 10 y 15 min, correspondientes a los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Después de cada tratamiento, los explantes se enjuagaron con agua estéril. Al finalizar los explantes fueron sumergidos por 3 min en una solución antioxidante estéril compuesta por 200 mg/L de ácido ascórbico y cítrico.

El material desinfectado fue cortado en fragmentos de 1 a 1.5 cm² que incluyeron una areola por sección, los cuales fueron transferidos a frascos de plástico transparente con tapa hermética de 30 mL, cada uno con 10 mL de medio basal MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 30 g/L de sacarosa (Sigma-Aldrich, México), 1.5 g/L de carbón activado (Sigma-Aldrich, México) y 8 g/L de agar (Sigma-Aldrich, México). El pH del medio se ajustó a 5.7 con NaOH o HCl (0.1 N).

Los cultivos fueron mantenidos durante seis semanas a $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h de luz (1000 lux) proporcionada por lámparas fluorescentes blancas. Al término de este periodo se registró el porcentaje de sobrevivencia, porcentaje de mortalidad por oxidación, contaminación por hongo y bacteria. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado, cada repetición consistió en diez explantes cultivados en frascos individuales.

6.3.1. Intervalo de dosis de radiación y determinación de la DL₅₀

Para la irradiación de los explantes, fueron utilizadas areolas desinfectadas por cada dosis. El intervalo de rayos gamma aplicado fue de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 100 y 125 Gy, emitido por una fuente de Cobalto-60 (Co⁶⁰) en un irradiador Gammacell (GO-220, Ontario, Canadá), ubicado en las instalaciones del Instituto Nacional de Investigación Nuclear (ININ, México).

Los explantes irradiados fueron cultivados en medio MS (descrito previamente) con 0.5 mg/L de bencilaminopurina (BA) y mantenidos bajo las mismas condiciones y tiempo de incubación descritos en la fase de Material vegetal y establecimiento *in vitro*. Transcurridas las seis semanas, fue registrado el número de explantes con brotes y se calculó el porcentaje de brotación mediante la fórmula: $PB\% = (NB/NT)100$, donde: PB% es el porcentaje de brotación, NB es el número de explantes con brote y NT es número total de explantes irradiados. La curva de radiosensibilidad fue establecida a partir de un análisis de regresión lineal entre el PB% y la dosis de radiación. Se realizaron diez repeticiones por dosis de irradiación, cada repetición consistió en una caja Petri con siete areolas.

6.3.2. Multiplicación brotes y proliferación de plantas

Los materiales sobrevivientes fueron subcultivados en medio ½ MS suplementado con 1 g/L polivinilpirrolidona (PVP) y 1 mg/L de BA, mediante ciclos de ocho semanas, hasta la cuarta generación (V₄). Los materiales V₄ fueron etiquetados bajo la siguiente nomenclatura OUM-dosis-línea, donde O corresponde a *Opuntia*, UM a la Universidad Michoacana y dosis a los Gy aplicados. El control se registró como OUM00-00.

6.3.3. Selección *in vitro* de plántulas mutantes putativas

En la generación V₄ se obtuvieron 178 líneas. En cada línea se determinó la longitud del eje horizontal, longitudinal, transversal del cladodio, así como el número de raíces y brotes. Las mediciones se realizaron con tres réplicas por línea y diez explantes por réplica. Los materiales que presentaron características morfológicas contrastantes al control fueron seleccionados como presuntos materiales mutantes.

6.3.4. Análisis molecular con marcadores genómicos ISSR

6.3.4.1. Extracción de ADN y análisis ISSR-PCR

El ADN fue extraído a partir de 0.1 g de plántulas *in vitro* de 27 materiales mediante el método de bromuro acetiltrimetilamonio (CTAB), descrito por Doyle y Doyle (1989), con modificaciones en la concentración de CTAB (4%) y 2-mercaptoetanol (2%). La calidad del ADN genómico fue verificada por electroforesis en gel de agarosa (0.8%) y se evaluó espectrofotométricamente mediante la relación A_{260}/A_{280} nm.

Las amplificaciones se llevaron a cabo siguiendo el protocolo desarrollado por el Laboratorio de Genética molecular del Instituto Tecnológico de Tlajomulco de Zúñiga, Jal. Se probaron once distintos oligonucleótidos, de los cuales seis (C3, C4, C6, C7, C8 y C9) generaron patrones de bandas reproducibles y definidos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Oligonucleótidos usados para el monitoreo de la variabilidad de genética de presuntos materiales mutantes de *Opuntia velutina*.

Número	Secuencia	Temperatura de alineamiento
C1	(GA) ₈ YC	45.4
C2	(AC) ₇ YC	46
C3	(GA) ₈ YC	46.7
C4	(GA) ₈ YT	47.4
C5	(CT) ₈ AGA	48.1
C6	T(CT) ₇ CC	48.1
C7	(CT) ₈ RG	48.1
C8	(GA) ₈ YG	48.8
C9	(GA) ₈ C	52
C10	(CA) ₇ RT	54
C11	(CTC) ₈	55.7

La mezcla de reacción para la obtención de los amplificados estuvo compuesta por 10 mM Tris-HCl (pH 8), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.5 U de Taq DNA polimerasa, 10 pmol de oligonucleótido y 2 µL de DNA; con volumen final de 12.5 µL. Las condiciones de amplificación se realizaron en un termociclador Select Cycle a tres tiempos: 1) un ciclo a 94 °C por 5 min, 2) seis ciclos de 94 °C por 40 s, 55 °C por 45 s con gradiente de -1° por ciclo y 72 °C por 90 s, y 3) cuarenta ciclos de 94 °C por 40 s, temperatura de alineamiento por 45 s y 72 °C por 90 s.

Los productos de amplificación fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2% (p/v), teñido con bromuro de etidio (0.1 µL/mL) y solución tampón TAE 1X (Tris 242. 2 g, ácido acético glacial 57.1 mL, EDTA 0.002 M, pH 8.3). Se empleó un marcador molecular de DNA Ladder de 1 kb (Promega).

Los patrones fueron convertidos en una matriz binaria de presencia (1) y ausencia (0). A partir de estos datos se determinó el total de bandas amplificadas (TBA), número de bandas polimórficas (NBP), porcentaje de polimorfismo (%BP), tomando como referencia el material no irradiado. Además, se calculó el contenido de información polimórfica (PIC), mediante la ecuación de Botstein y col. (1980): $PIC = 2 \sum P_i (1 - P_i)$, donde P_i es la frecuencia de ocurrencia de bandas polimórficas de cada primer y el índice marcador (IM). Para los análisis se seleccionaron tres plántulas individuales (una por repetición) de cada material.

6.3.5. Diseño experimental y análisis estadístico

Las variables evaluadas se sometieron a distintos procedimientos estadísticos según el tipo de dato y el objetivo del análisis.

En la etapa de establecimiento *in vitro* de explantes, se implementó un diseño completamente al azar (DCA). Los datos de las variables registradas (porcentaje de sobrevivencia, porcentaje de mortalidad por oxidación, contaminación por hongo y bacteria) fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) conforme al siguiente modelo: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$, donde: Y es la variable dependiente, μ la media general, α_i el efecto del tratamiento de asepsia, y ε_{ij} el error residual. La comparación de medias entre tratamiento se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

El porcentaje de brotación registrado en la generación V1, se obtuvo a partir de diez repeticiones por dosis, cada una constituida por siete explantes, para un total de 70 explantes por dosis. Los valores promedio de cada dosis se utilizaron para calcular la dosis letal media (DL₅₀) mediante un análisis de regresión lineal ajustado al modelo: $y = \beta_0 + \beta_1 x$, donde “y” corresponde al porcentaje de brotación, x a la dosis de irradiación, β_0 representa la brotación esperada a 0 Gy y β_1 la pendiente de la regresión.

Las variables morfológicas medidas en la generación V₄ (longitud de los ejes longitudinal, horizontal y transversal del cladodio, número de brotes por explante y las raíces) se analizaron bajo un diseño completamente al azar (DCA). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) conforme al siguiente modelo: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$, donde: Y es la variable dependiente, μ la media general, α_i el efecto del tratamiento de radiación gamma, y ε_{ij} el error residual. La comparación de medias entre tratamiento se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Posteriormente, las medias de las variables morfológicas se sometieron a un análisis de agrupación por conglomerados jerárquico por el método de Ward y componentes principales (ACP), con el fin de discriminar entre materiales con características sobresalientes respecto al control.

Los datos recabados en el análisis molecular, se transformaron en una matriz binaria presencia/ausencia, a partir de la cual se estimó la similitud genética con el coeficiente de Jaccard. Los patrones resultantes se agruparon mediante el método de pares no ponderados con media aritmética (UPGMA) para la construcción de un dendrograma.

6.4. Resultados

6.4.1. Material vegetal y establecimiento *in vitro*

Durante los meses de marzo y abril 2024, se colectaron cladodios jóvenes (Fig. 1A) y órganos florales de la planta donadora (Fig. 1B). Los materiales fueron prensados, secados, identificados como *O. velutina* con base en sus características morfológicas y depositados en el Herbario del Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío (INECOL) con número de registro IEB-273300.

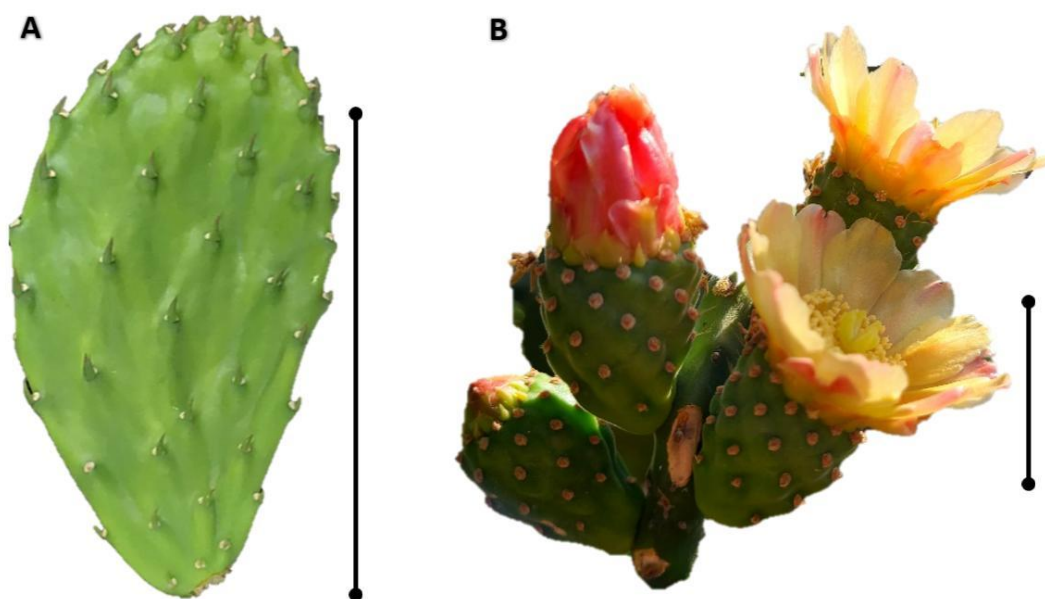


Figura 1. Órganos de nopal verdura (*Opuntia velutina*). A) Cladodio de nopal verdura (escala a 10 cm). B) Órganos florales (escala a 3 cm)

En la fase de establecimiento *in vitro*, el mayor porcentaje de sobrevivencia se registró en el tratamiento T2 (66.6%), seguido de T4 (53%) y T3 (43%), sin diferencias significativas entre ellos (Fig. 2). Las principales pérdidas se asociaron por contaminación de hongos (20-100%), seguida de bacterias (0-20%) y, en menor proporción por oxidación de los explantes (0-13%), sin diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

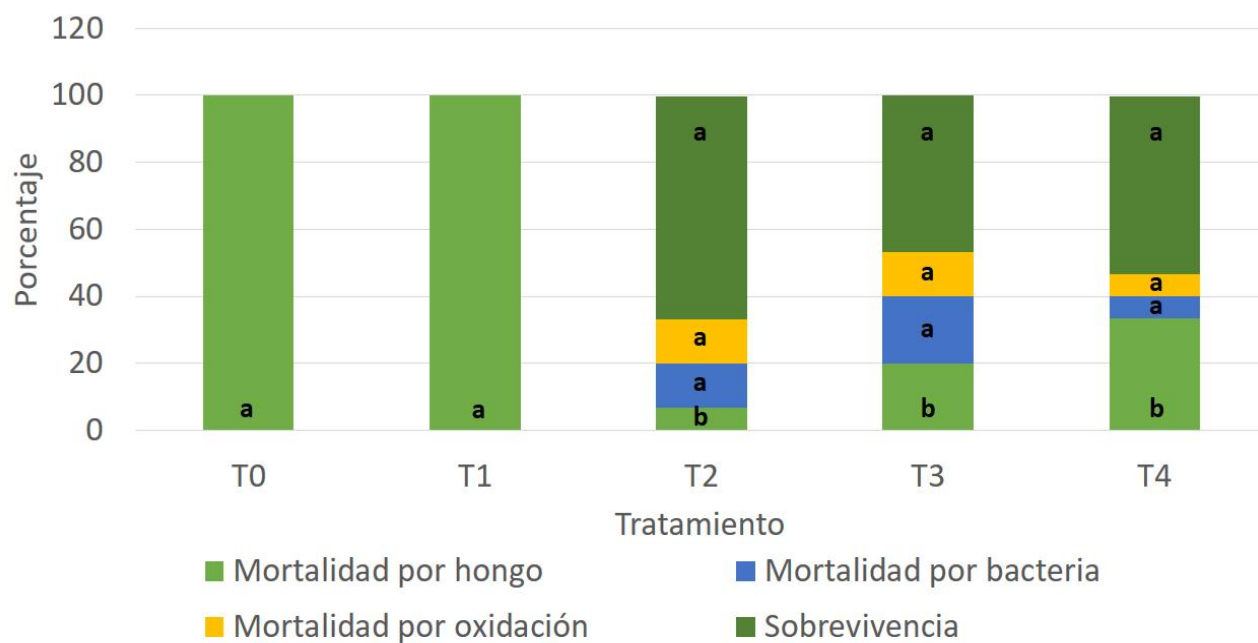


Figura 2. Porcentaje de mortalidad y sobrevivencia de nopal verdura. Letras semejantes indica valores estadísticamente iguales entre columnas a $p \leq 0.05$.

6.4.2. Intervalos de dosis de radiación y determinación de la DL_{50}

La radiosensibilidad de los meristemas de *O. velutina* registró una disminución del porcentaje de brotación conforme incrementó la dosis de irradiación. El mayor porcentaje de brotación se observó a 5 Gy, mientras que la mortalidad alcanzó el 100% a partir de 50 Gy. La relación dosis–respuesta se describió mediante regresión lineal: $y = -2.1709x + 99.5455$, donde y es el porcentaje promedio de brotación y x la dosis de irradiación (Gy). La pendiente ($\beta_1 = -2.1709$) indica que cada incremento de 1 Gy reduce la brotación en 2.17 puntos porcentuales, y el intercepto ($\beta_0 = 99.5455$) representa la brotación estimada a 0 Gy. A partir de esta ecuación la DL_{50} se calculó en 22.8 Gy (Fig. 3).

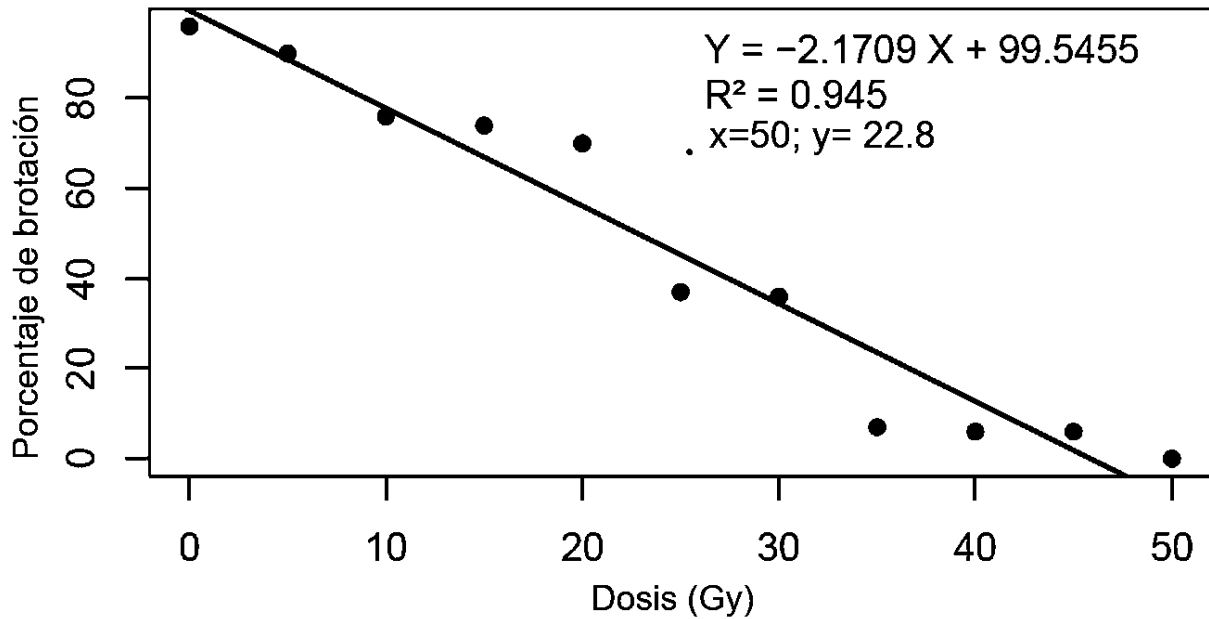


Figura 3. Curva de radiosensibilidad de meristemos de *Opuntia velutina* irradiados con diferentes dosis de radiación gamma.

Transcurridas seis semanas, se obtuvieron 260 materiales sobrevivientes, los cuales fueron micropropagados durante tres ciclos de multiplicación hasta la obtención de la V₄. Los materiales que no conservaron las características morfológicas de interés fueron descartados en la continuidad de los experimentos.

6.4.3. Selección *in vitro* de plántulas putativas mutantes

En la generación V₄, se presentaron 178 líneas de las que se registraron medidas longitudinales, horizontales, transversales, promedio de brotes y raíces del cladodio. Utilizando estas variables como referencia, se identificaron materiales que al momento mostraron cambios morfológicos significativos en contraste al control (OUM00-00) (Fig. 4, A-E). En la generación V₄, se presentaron 178 líneas de las que se registraron medidas longitudinales, horizontales, transversales del cladodio, así como el número de brotes y raíces del cladodio. Con base en estas variables, se identificaron materiales que al momento mostraron diferencias morfológicas significativos en contraste con el control (OUM00-00) (Fig. 4, A-E).

En el eje longitudinal, el material OUM10-15 (Fig. 4-F) presentó incrementos significativos del 109% respecto al OUM00-00 (18.7 ± 1.4 mm). En el eje horizontal, OUM20-27 (Fig. 4-G) mostró valores 20% superiores al control (4.7 ± 0.3 mm). El eje transversal el material OUM15-25 alcanzó incrementos de 100% (Fig. 4-H). El número de brotes por explante fue mayor en OUM05-30, superando estadísticamente ($p \leq 0.05$) al control seis veces (0.31 ± 0.05).

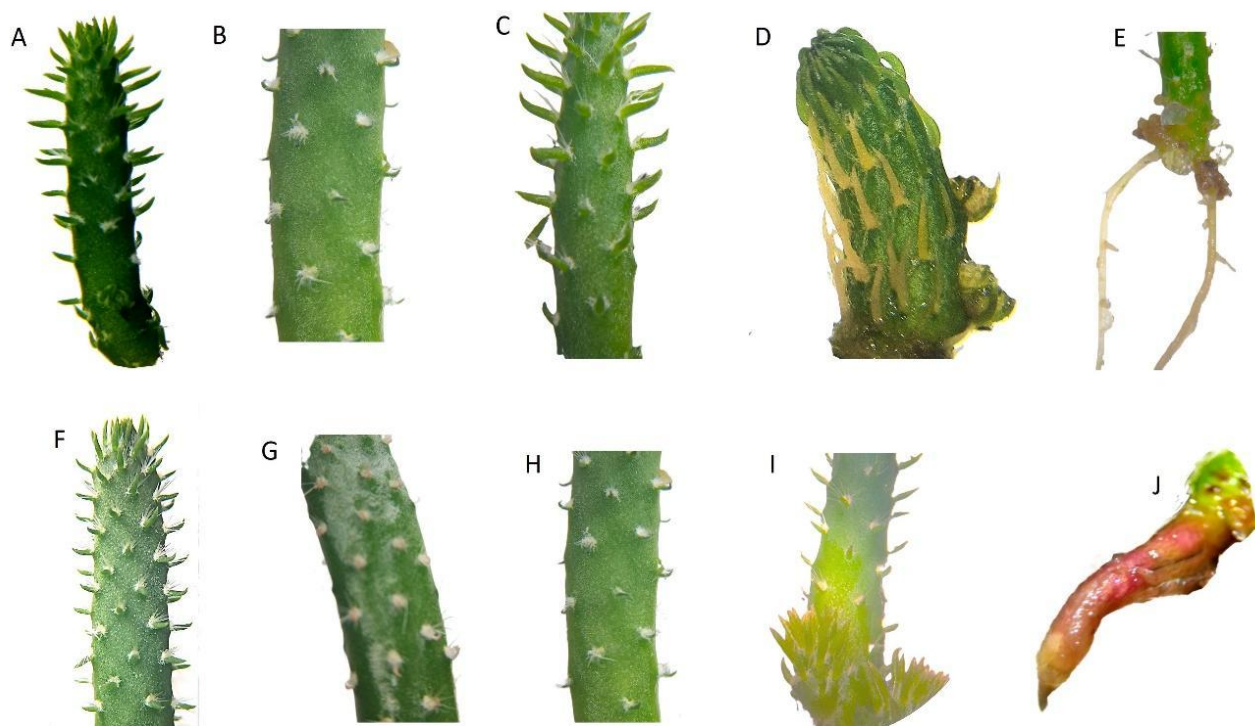


Figura 4. Variaciones morfológicas de mutantes putativas *in vitro* de *Opuntia velutina* obtenidas por irradiación gamma. A-E) eje longitudinal, horizontal, transversal, brotes y raíces del material de referencia (OUM00-00); F) OUM10-15, G) OUM20-27, H) OUM25-34, I) OUM05-30; J) OUM05-70.

En el número de raíces, destacaron OUM05-23 y OUM05-24 con 2.42 ± 0.22 y 2.33 ± 0.33 , respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas (Anexos I) ($p \leq 0.05$), los que representó un aumento de siete veces respecto al control (0.31 ± 0.05). Además, se identificaron cinco materiales que exhibieron pigmentación rosácea (OUM 05-70, OUM15-17, OUM20-45 y OUM20-35) (Fig. 4-J).

Los resultados morfológicos de los 178 presuntos materiales mutantes y el control fueron sometidos a análisis de componentes principales (ACP) para discriminar entre los materiales evaluados. El ACP mostró una varianza acumulada del 65.8%. El primer componente (39.1%) correlacionó fuertemente con los ejes horizontal y transversal ($r = 0.68$ y $r = 0.65$, respectivamente), mientras que el segundo componente (26.7%) se asoció con el eje longitudinal y el promedio de raíces ($r = 0.64$ y $r = 0.70$). La distribución de los materiales sobre los dos primeros componentes permitió discriminar las características morfológicas, como se muestra en la Fig. 5. Los materiales con cladodios más gruesos se ubicaron en el lado positivo del primer eje (mayor eje horizontal y transversal), mientras que las líneas con cladodios delgados se localizaron en el lado negativo. El segundo componente discriminó cladodios más largos con mayor número de raíces.

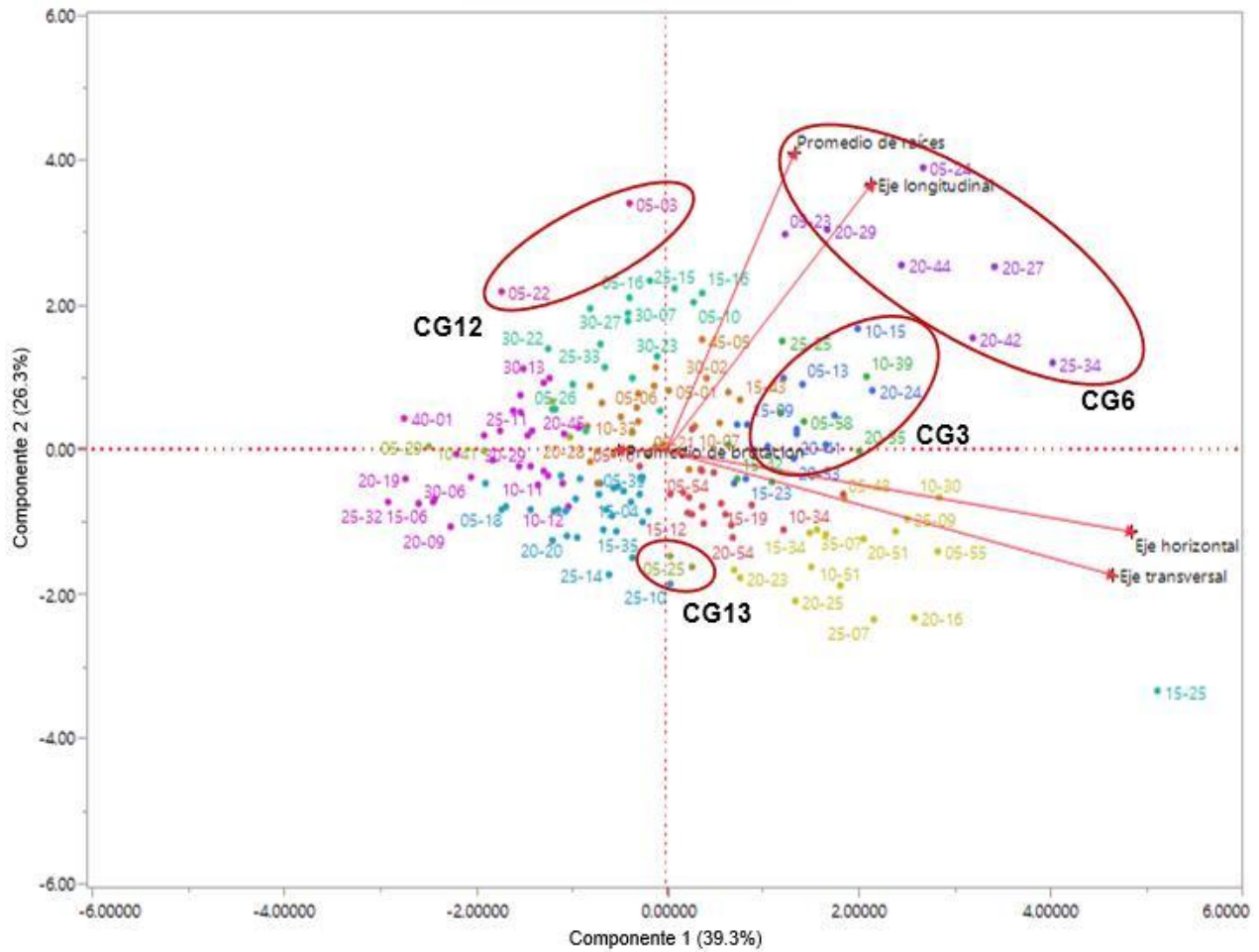


Figura 5. Análisis de componentes principales entre los materiales vegetales obtenidas mediante irradiación gamma en generación V₄. Los principales parámetros morfológicos del eje longitudinal, horizontal, transversal, promedio de brotes y raíces.

La agrupación jerárquica por similitud morfológica generó 13 grupos (CG1–CG13). El CG6 (OUM05-23, OUM05-24, OUM20-27, OUM20-29, OUM20-42, OUM20-44, OUM25-34) presentó aumentos significativos en longitud (82%), número de raíces (cinco veces) y eje transversal (24%) respecto al control. El CG3 evidenció incrementos en eje longitudinal (60%) y transversal (15%), con reducción de 30% en raíces y ausencia de brotes. CG12 (OUM05-03 y OUM05-22) mostró incrementos del 45% en eje longitudinal y dos a cuatro veces más brotes y raíces, mientras que CG13 (OUM05-25 y OUM05-30) destacó por el mayor promedio de brotes (cinco veces).

Con los resultados anteriores, se seleccionaron 22 materiales considerados como mutantes putativas (OUM05-01, OUM05-03, OUM05-06, OUM05-09, OUM05-13, OUM05-22, OUM05-23, OUM05-24, OUM05-25, OUM05-30, OUM05-38, OUM10-13, 10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-27, OUM20-29, OUM20-41, OUM20-42, OUM20-44, OUM25-34 y OUM35-08), además de cinco materiales que no pertenecieron a estos grupos (OUM05-70, OUM15-17, OUM20-35, OUM20-45 y OUM30-09) pero exhibieron pigmentación en raíces.

6.4.4. Análisis ISSR-PCR

Este estudio exploró la variabilidad genética mediante marcadores ISSR de los 27 presuntos materiales mutantes, así como el control interno (OUM00-00). Además, se integró como controles externos nopal blanco silvestre (*Opuntia* sp.), xoconostle (*O. joconostle*), agave (*Agave tequilana*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*) (Fig. 6, carriles 29, 30, 31 y 32 respectivamente). Los seis cebadores seleccionados amplificaron un total de 57 bandas, con un promedio de 9.6 bandas por marcador (Cuadro 2). Entre ellos, el C4 (Fig. 6B) exhibió el mayor número bandas (14), mientras el C9 que generó cinco. Los tamaños de los productos amplificados oscilaron entre 250 bp (C9) y 5000 pb (C6).

Cuadro 2. Amplificaciones generadas mediante oligonucleótidos ISSR en presuntos materiales mutantes de *Opuntia velutina*

Número	Marcador	TBA	NBP	%BP	Tamaño (bp)	PIC	IM
C3	(GA) ₈ YC	13	11	84.6	400-2600	0.48	4.23
C4	(GA) ₈ YT	14	11	78.5	500-2250	0.47	4.07
C6	T(CT) ₇ CC	10	4	40.0	400- 5000	0.11	0.18
C7	(CT) ₈ RG	9	1	11.1	300-4000	0.01	0.00
C8	(GA) ₈ YG	6	4	66.6	800-3500	0.32	0.48
C9	(GA) ₈ C	5	2	40	250-3000	0.08	0.14
	Total	57	33			1.49	9.10
	Promedios	9.6	5.5	54.5		0.25	1.51

TBA Total de bandas amplificadas
NBP Número de bandas polimórficas

% BP porcentaje de bandas polimórficas
PIC Contenido de información polimórfica
IM índice marcador

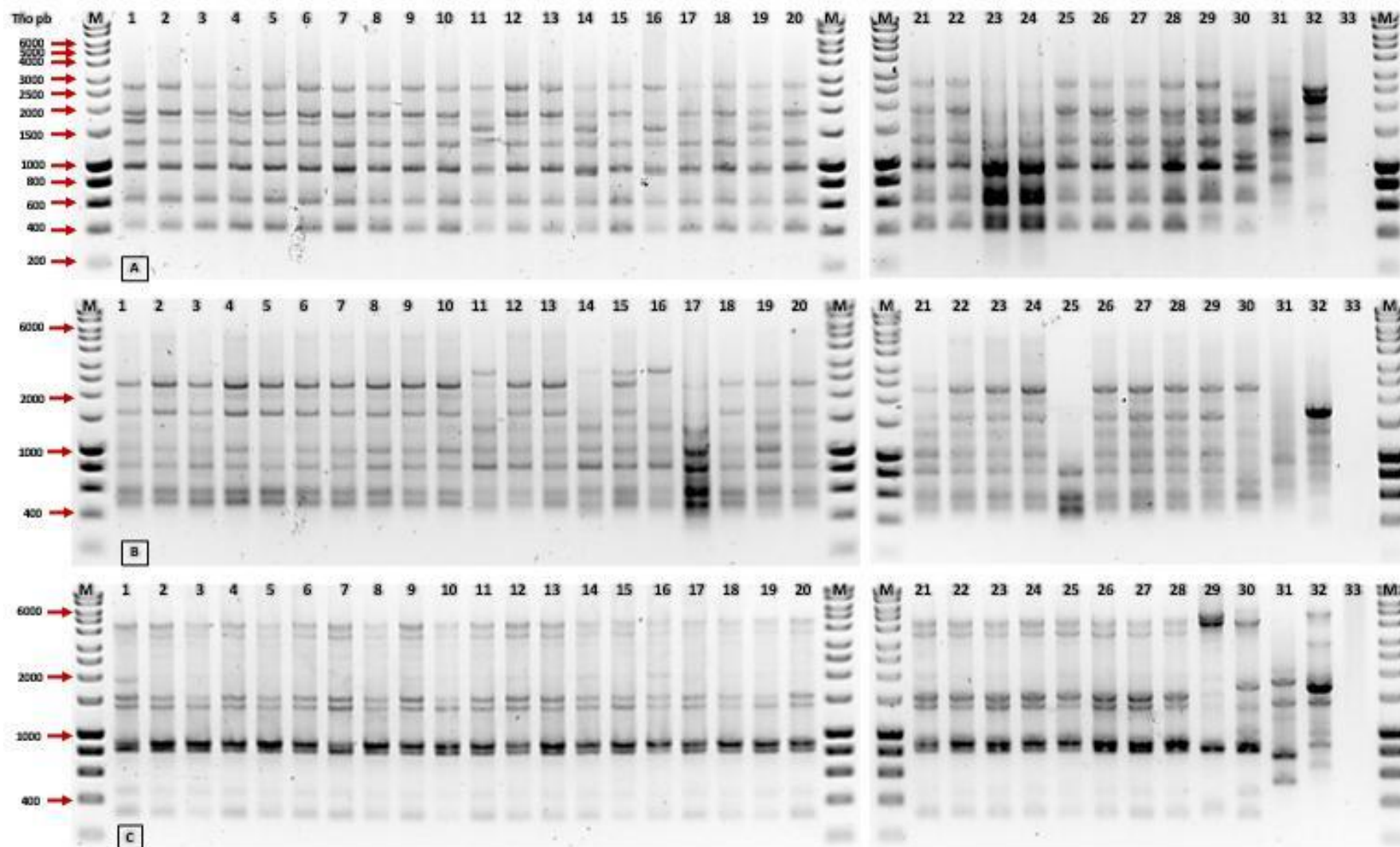


Figura 6. Patrón de amplificación de bandas obtenidas con los marcadores C3 (A), C4 (B) y C7 (C). El orden de los carriles fue el siguiente; M) Escalera de referencia con rango de 10 000-200 pb; 1) OUM00-00, 2) OUM05-01, 3) OUM05-03, 4) OUM05-06, 5) OUM05-09, 6) OUM05-13, 7) OUM05-22, 8) OUM05-23, 9) OUM05-24, 10) OUM05-25, 11) OUM05-30, 12) OUM05-38, 13) OUM05-70, 14) OUM10-13, 15) OUM10-15, 16) OUM15-09, 17) OUM15-17, 18) OUM20-24, 19) OUM20-27, 20) OUM20-29, 21) OUM20-35, 22) OUM20-41, 23) OUM20-42, 24) OUM20-44, 25) OUM20-45, 26) OUM25-34, 27) OUM30-09, 28) OUM35-08, 29) *Opuntia* sp., 30) *Opuntia joconostle*, 31) *Agave tequilana*, 32) *Nicotiana tabacum*, 33) Control negativo

De los 57 fragmentos obtenidos, 33 fueron polimórficos. Los marcadores C3 y C4 (Fig. 6A-6B) presentaron el mayor número de bandas polimórficas (11), con porcentajes de bandas polimórficas de 84.6 y 78.5%, valores de PIC de 0.48 y 0.47 e IM de 4.23 y 4.07, respectivamente. En contraste, C7 (Fig. 6C) amplificó una sola banda polimórfica (11.1%). El control interno (OUM00-00) presentó 47 bandas, mientras que los materiales mutantes reportaron entre 40 y 49 número de bandas, con un total de bandas polimórficas entre 0 y 12; cinco materiales (OUM05-22, OUM05-23; OUM05-25, OUM20-41y OUM25-34) no presentaron polimorfismo, el resto presentaron porcentajes de polimorfismo entre 2.1 y 25.6%. La línea OUM10-13 destacó con el mayor número de bandas polimórficas (12).

El dendrograma basado en el coeficiente de Jaccard mostró distancias genéticas de 0.60 a 0.96 entre controles externos y líneas mutantes (Fig. 7).

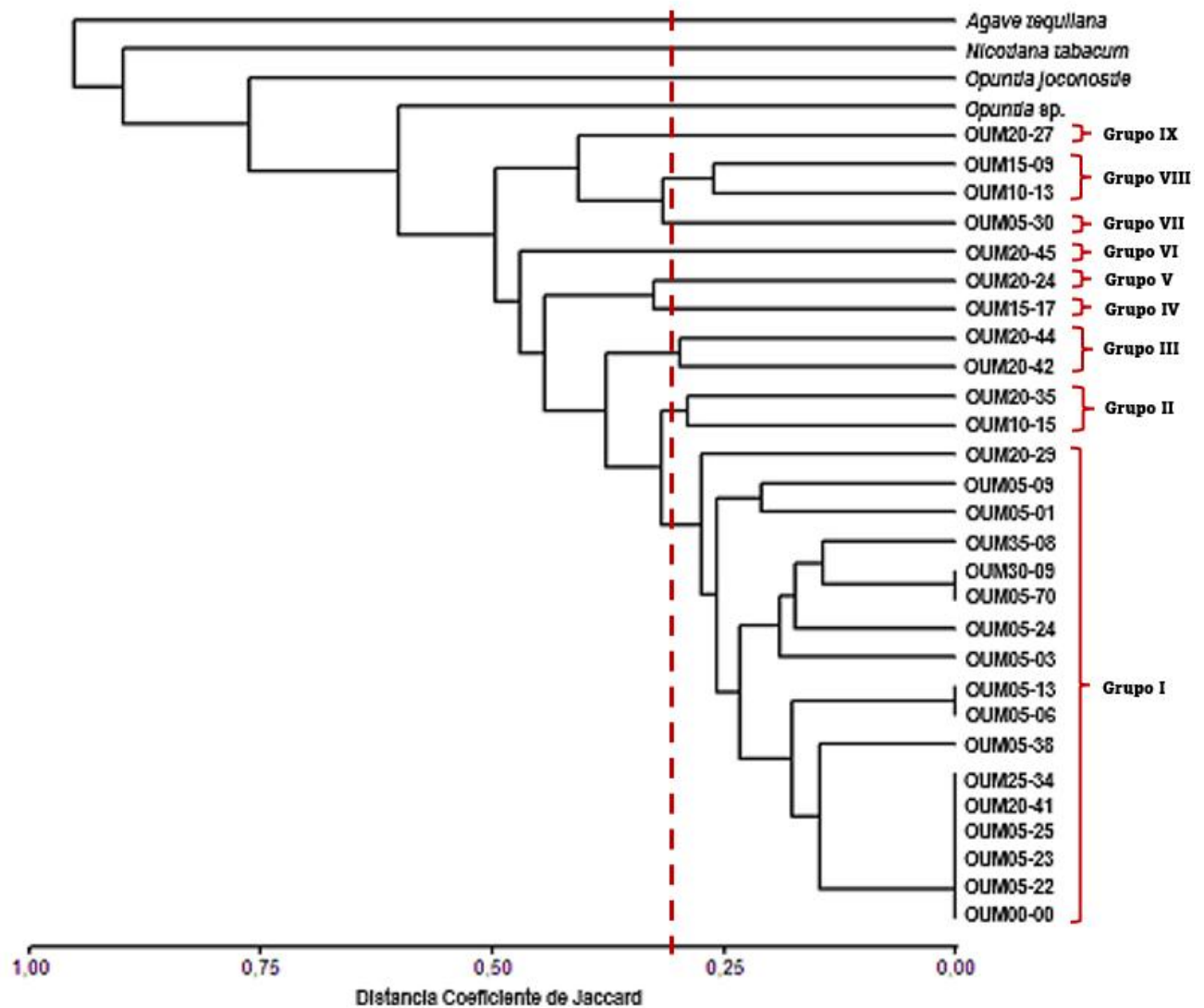


Figura 7. Dendrograma de UPGMA de marcadores ISSR basado en el coeficiente de distancia de Jaccard en mutantes putativas de *Opuntia velutina*. La abreviatura de OUM00-00 corresponde al material de referencia.

Las distancias entre líneas mutantes y el control oscilaron entre 0 y 0.49. Con un punto de corte de 0.30, los 27 materiales se agruparon en nueve conglomerados (I–IX). El primer grupo (I) fue compuesto por 17 materiales distintos, los cuales fueron divididos en dos subgrupos (A y B). El subgrupo A fue compuesto por la línea OUM20-29, y el subgrupo B integrado por 16 materiales (OUM05-09, OUM05-01, OUM35-08, OUM30-09, OUM05-70, OUM05-24, OUM05-03, OUM05-13, OUM05-06, OUM05-38, OUM25-24, OUM20-41, OUM05-25, OUM05-23, OUM05-22) entre los que se incluyó el control, presentando variaciones genéticas entre ellas del 0.14-0.17. El grupo II integrado por dos materiales (OUM20-35 y OUM10-15), al igual el grupo III (OUM20-42 y OUM20-44) y el grupo VIII (OUM10-13 y OUM15-09), con variaciones genéticas entre los materiales que las integran alrededor de 0.27 y 0.29. En contraste, los grupos IV(OUM15-17), V (OUM20-24), VI (OUM20-45), VII (OUM05-30) y IX (OUM20-27) fueron integrados por líneas únicas.

6.5. Discusión

La radiación gamma es una de las herramientas más utilizadas para inducir variabilidad genética en plantas de interés agronómico, debido a su capacidad de generar mutaciones heredables sin introducir material genético externo. En el presente estudio se aplicó irradiación a meristemos de *O. velutina* con el fin de inducir cambios en la secuencia de ADN, evaluar la respuesta morfológica de las plántulas regeneradas y validar la variabilidad genética mediante marcadores ISSR.

Los brotes irradiados mostraron diferentes respuestas, las cuales estuvieron relacionadas con la dosis de radiación. En particular los meristemos de nopal verdura (*O. velutina*) expuestos a dosis elevadas de radiación (50- 125Gy) manifestaron clorosis, necrosis y muerte. Las dosis altas de radiación sobre los tejidos suelen provocar daños irreparables en el ADN, limitando la duplicación celular y promoviendo la apoptosis multicelular (Spencer y col, 2021; Rubio-Ochoa y col., 2024). La DL_{50} estimada para meristemos de nopal verdura (22.8 Gy), e encuentra en el rango de tolerancia descrito para otras especies cultivadas, como *Agave tequilana* con DL_{50} a 26 Gy (Ángeles-Espino y col., 2013) y brotes de *Citrus* spp con 25-26 Gy (Pérez-Jiménez y col., 2020). a sensibilidad diferencial a la radiación depende de factores como el tipo de explante, el genotipo, el tamaño del genoma y condiciones fisicoquímicas del ambiente de cultivo (Jan y col, 2012; Magaia y col., 2016; Pérez-Jiménez y col., 2020; Spencer y col, 2021; Rubio-Ochoa y col., 2024).

Las variaciones en la arquitectura vegetal son fácilmente observables durante la regeneración de los tejidos, por lo que son aspectos frecuentemente reportados en la identificación de materiales mejorados (Hasim y col., 2021; Riviello-Flores y col., 2022; Rubio-Ochoa y col., 2024). En este estudio, la selección morfológica permitió identificar plántulas putativas mutantes con variaciones en el número de brotes, raíces y desarrollo de la penca, lo que coincide con reportes en plántulas mutantes putativas de banana (*Musa acuminata* cv..

Berangan), se observaron incrementos en el número de brotes (48%), peso fresco (33%), longitud de tallo (47%) y raíces (60%), (Hasim y col., 2021), así como en Vanilla (*Vanilla planifolia*) (Serrano y col., 2022). Sin embargo, debe considerarse el efecto hormético característico de la mutagénesis, en el cual dosis bajas pueden estimular el crecimiento y la diferenciación celular, mientras que dosis altas resultan letales (Volkova y col., 2022). Dado que este efecto es transitorio, se recomienda la selección de líneas élite entre la tercera y cuarta generación para erradicar quimeras, descartar variaciones somaclonales y fijar las mutaciones de interés (Toker y col., 2007; Sharman y Thakur, 2021).

Los análisis multivariados son herramientas útiles para la identificación de accesiones con variaciones estructurales (Zulfiqar y col., 2021). En este trabajo, el ACP logró clasificar y describir las poblaciones con cambios morfológicos contrastantes al control, lo cual también ha sido implementado en platano (*Musa* sp.) (Pestanana, y col., 2011), jengibre (*Zingiber officinale*) (Sharman y Thakur, 2021) y trigo (*Triticum aestivum*) (Mangi y col., 2021; Zulfiqar y col., 2021); al igual que en genotipos tolerantes al estrés abiótico como cebada (Chikha y col., 2016), caña de azúcar (Cha-um y col., 2012) y coliflor (Zhu y col., 2012). Estos análisis permiten una comprensión más profunda de las variaciones genéticas y fenotípicas en las poblaciones estudiadas en los programas de mejoramiento.

El porcentaje de polimorfismo en estudios de variabilidad genética puede verse afectado por la cantidad y tipo de marcadores implementados. Si bien cualquier grupo de marcadores moleculares provee información sobre variaciones génicas, su selección es fundamental para alcanzar los objetivos planteados (Rubio-Ochoa, 2024). Los marcadores ISSR han sido exitosamente aplicados para evaluar el porcentaje de polimorfismo y variabilidad genética en cultivos sometidos a irradiación gamma. En el presente trabajo se eligieron seis marcadores ISSR que permitieron alcanzar porcentajes significativos de polimorfismo (84.6%); proporciones menores (71.6%) fueron obtenidos al usar nueve cebadores en mutantes putativas de pitaya (*Stenocereus* cv. Zihonglong) (Deng y col., 2020). Otros estudios en tomate (*Lycopersicon esculentum*) (El-Fiki y col., 2021) y banana (*Musa paradisiaca* cv. Sapientum) (Due y col., 2019) también han corroborado aumento de la variabilidad genética (40 y 47%, respectivamente) tras la exposición a rayos gamma, tal como lo demostrado en la investigación actual.

Además, en el caso del género *Opuntia*, la micropropagación mediante brotes axilares es una técnica ampliamente utilizada para la homogeneidad genética y la estabilidad clonal, ya que la multiplicación ocurre a partir de meristemas preexistentes y no por dediferenciación celular. Esto implica que el método de regeneración *in vitro* empleado en *O. velutina* no constituye por sí mismo una fuente de variabilidad genética, por lo que los cambios detectados en el análisis ISSR son atribuidos a la acción de la radiación gamma (Evanno y col., 2005; Bouzroud y col., 2022).

6.6. Conclusión

El establecimiento *in vitro* de meristemas permitió contar con un sistema confiable para la aplicación del tratamiento mutagénico y la proliferación de plántulas. Este trabajo constituye el primer reporte de aplicación de irradiación gamma en meristemas de *O. velutina* cultivados *in vitro* que promovió cambios morfológicos que, al ser analizados mediante métodos multivariados, permitieron identificar materiales con características sobresalientes. El análisis con marcadores ISSR evidenció un incremento en la variabilidad genética y posibilitó la selección de 27 líneas mutantes con mejoras morfológicas. Estos resultados confirman que la irradiación gamma es una herramienta efectiva para inducir variabilidad y seleccionar genotipos con rasgos agronómicos superiores en programas de mejoramiento de nopal.

6.7. Literatura citada

- Abdelnour-Esquivel, A., Pérez, J., Rojas, M., Vargas, W., y Gatica-Arias, A. 2020. Use of gamma radiation to induce mutations in rice (*Oryza sativa* L.) and the selection of lines with tolerance to salinity and drought. *In Vitro Cellular y Developmental Biology-Plant* 56: 88-97.
- Ahmar, S., Gill, R. A., Jung, K. H., Faheem, A., Qasim, M. U., Mubeen, M., y Zhou, W. 2020. Conventional and molecular techniques from simple breeding to speed breeding in crop plants: recent advances and future outlook. *International journal of molecular sciences* 21(7): 2590.
- Alshaikhi, A. I., Alzahrani, M. Y., Hazzazi, J. S., Kurdi, J. R., y Ramadan, M. F. 2024. Nutritional aspects, bioactive phytochemicals and biomedical traits of *Opuntia* spp.: current trends and applications. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 10(2): 367-378.
- Ángeles-Espino, A., Dimas-Estrada, H. E., Ramírez-Alvarado, D., Cruz-Rubio, J. M., Palmeros-Suárez, P. A., y Gómez-Leyva, J. F. 2020. Caracterización molecular de mutantes de Agave tequilana inducidas con radiación gamma Co60 y su efecto en la acumulación de fructooligosacáridos. *Acta universitaria* 30.
- Ángeles-Espino, A.; Valencia, B. A. J., Virgen, C. G., Ramírez, S. C., Paredes, G. L. 2013. Determinación de la dosis letal (DL₅₀) con Co⁶⁰ en vitroplántulas de *Agave tequilana* var. Azul. *Revista fitotecnica mexicana* 36: 381-386.
- Aruwa, C. E., Amoo, S. O., y Kudanga, T. 2018. *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects—A comprehensive review. *Food Research International* 112:328-344.
- Aruwa, C. E., Amoo, S., y Kudanga, T. 2019. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. *Lwt*, 111: 337-344.
- Astello-García M., Santos Díaz M., Reyes-Agüero A., y Barba de la Rosa A. 2012. *Opuntia* spp. as a Source of Bioactive Compounds. En *Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds* (Ed) American Chemical Society. Pp.101-111.
- Balaguera-López H., Fischer G., y Magnitskiy S. 2020. Seed-fruit relationships in fleshy fruits: Role of hormones. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 14(1):90-103.

- Bali, B. K. 2023. Different Types of DNA molecular markers and genotyping applications for mutation breeding. En *biotechnologies and genetics in plant mutation breeding* (Ed) Revolutionizing plant biology: 2086-2091.
- Balvoa, C. S.; Heredia, M. M., Gualapuro, G. M., y Yanchapanta, B. V. 2021. La radiación ionizante gamma y usos actuales en ciencias agrícolas, oportunidades para los cultivos andinos: Breve revisión. *Polo del Conocimiento* 6: 352-375.
- Betancourt-Domínguez M., Hernández-Pérez T., García-Saucedo P., Cruz-Hernández A., y Paredes-López O. 2006. Physico-chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). *Plant foods for human nutrition* 61(3): 115-119.
- Bhat, R.S.; Brijesh, Patil M.P.; Tilak, I.S. y Shirasawa, K. 2023. Molecular Markers for Mutant Characterization. Penna, S. y Mohan S.J. En *Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience*. (Ed) Springer Nature. Singapur. Pp. 205-232.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., y Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics* 32(3):314
- Bouzroud, S., El Maaiden, E., Sobeh, M., Devkota, K. P., Boukcim, H., Kouisni, L., y El Kharrassi, Y. (2022). Micropropagation of *Opuntia* and other cacti species through axillary shoot proliferation: a comprehensive review. *Frontiers in Plant Science*, 13: 926653.
- Carrodegua-Gonzalez, A., y Zúñiga-Orozco, A. 2023. Métodos utilizados para la selección de parentales en pre-mejoramiento genético de plantas. *Cultivos Tropicales* 43(2):15.
- Castro-Carrasco C. A. 2021. Producción de grana cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*). *Opuntia: aportaciones a su conocimiento y aprovechamiento*: 37-43
- Cha-um, S., Chuencharoen, S., Mongkolsiriwatana, C., Ashraf, M., y Kirdmanee, C. 2012. Screening sugarcane (*Saccharum* sp.) genotypes for salt tolerance using multivariate cluster analysis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 110: 23-33.
- Chikha, M. B., Hessini, K., Ourteni, R. N., Ghorbel, A., y Zoghlami, N. 2016. Identification of barley landrace genotypes with contrasting salinity tolerance at vegetative growth stage. *Plant Biotechnology* 33(4): 287-295).
- Deng, R., Fan, J., Wang, Y., Liu, T., y Jin, J. 2020. Mutation induction of EMS and ⁶⁰Co γ irradiation *in vitro* cultured seedlings of red pulp pitaya (*Stenocereus*) and ISSR analyzing of mutant.
- Dev, R., Singh, S. K., Singh, R., Singh, A. K., Patel, V. B., Alizadeh, M., y Kumar, K. 2021. Assessment of genetic diversity of grape mutants based on RAPD and SSR markers. *Indian Journal*.
- Doyle, J.J. y Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Dubeux J., Salem H., y Nefzaoui A. 2018. Producción y utilización del nopal como forrajero en la nutrición animal. En *Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. Pp 77-83.
- Due, M.S.; Susilowati, A. y Yunus, A. 2019. The effect of gamma rays irradiation on diversity of *Musa paradisiaca* var. Sapientum as revealed by ISSR molecular marker. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 20(5):1416-1422.

- El-Fiki, A., Fahmy, E., Doma, A. A., Helmy, O., Adly, M., y El-Metabteb, G. 2021. The genetic variation assessment of *in vitro* irradiated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) by SCoT and ISSR markers. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* 10(4):557-565.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. H. S. y Cherkaoui-Malki, M. 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules* 19 (9): 14879-14901.
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8): 2611-2620.
- FAO/OIEA. 2021. Manual de mejoramiento por mutación. 3ra edición. Spencer-Lopes, M.M, Forster, B.P, Jankuloski, L. Viena, FAO.
- Godwin, I. D., Rutkoski, J., Varshney, R. K., y Hickey, L. T. 2019. Technological perspectives for plant breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 132(3): 555-557.
- Gómez-Márquez, J. 2013. La revolución de la ingeniería genética. *Nova Acta Científica Compostelana* 20.
- González, M. C., Sánchez, R. E. P., Caratachea, A. J., y Gutiérrez, E. 2021. Efecto de la adición de nopal (*Opuntia ficus-indica*) en la dieta de gallinas Rhode Island Red sobre la calidad del huevo con énfasis en el colesterol. En *Opuntia: aportaciones a su conocimiento y aprovechamiento*. pp.65.
- Hasim, A. A., Shamsiah, A., y Hussein, S. 2021. Induced mutations using gamma ray and multiplication of plantlet through micro cross section culture of banana (*Musa acuminata* cv. Berangan). En *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. (Ed) IOP Publishing. Pp. 012007.
- Hernández, M. S.; Pedraza, S. M., López P., Gómez, S. J. y Morales, G. J. 2019. Mutagenesis in the improvement of ornamental plants. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 25:151-167.
- Herrera-Isidron L., Valencia-Lozano E., y Cabrera-Ponce J. 2019. Plantas editadas en el genoma. *Agrociencia* 53(8): 1139-1959.
- Huerta, O. A. M.; Hernández, G. A., López, G. R., Fernández, P. S. P., Zavala, P., M. G., Salgado, G. R. 2022. *In vitro* selection of blackberry (*Rubus fruticosus* ‘Tupy’) plants resistant to *Botrytis cinerea* using gamma ray-irradiated shoot tips. *Plant Biotechnology* 22: 0312.
- Jan, S.; Parween, T., Siddiqi, T. O. 2012. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews* 20: 17-39.
- Kharkwal, M. C. 2023. History of Plant Mutation Breeding and Global Impact of Mutant Varieties. En *Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience* (Ed) Singapore: Springer Nature Singapore. pp. 25-55.
- Le, K. C., Ho, T. T., Paek, K. Y., y Park, S. Y. 2019. Low dose gamma radiation increases the biomass and ginsenoside content of callus and adventitious root cultures of wild ginseng (*Panax ginseng* Mayer). *Industrial Crops and Products* 130:16-24.
- Lewin B. 2008. Los genes son ADN. Genes IX. (Ed) McGraw-Hill Interamericana. Pp 1-22.

- Llatas, M. N. S., Ulloa, W. E. V., Aguilar, E. E. V., Huaman, J. J. P., Luján, L. F. R., Cerdan, W. G. B., ... y Rosales, Y. I. Y. 2021. Mejoramiento genético en plantas autógamas. *REBIOL* 41(1), 136-153.
- Magaia, H. E., Joseph, J., Elsy, C. R., Francis, R. M., Bastian, D., Sujatha, R., y Beena, C. 2016. Creation of variability by *in vitro* mutagenesis in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). *Journal of Tropical Agriculture* 53 (2): 123-130
- Mangi, N., Baloch, A. W., Khaskheli, N. K., Ali, M., y Afzal, W. 2021. Multivariate analysis for evaluation of mutant bread wheat lines using metric traits. *Integrative Plant Sciences* 1(1): 29-34.
- Marcelino, M. N., Fernando, V. H. P., Magali, R. R., López, V., Ángel, M., Analilia, A. B., y de Fátima, R. C. F. 2018. Resistencia y Tolerancia a Estrés Abiótico: Mecanismos Sofisticados De Adaptación De Las Plantas Ante Distintas Condiciones De Estrés. *Frontera Biotecnológica: Tepetitla, Mexico* 5.
- Matboli, M., Saad, M., Hasanin, A. H., Saleh, L. A., Baher, W., Bekhet, M. M., y Eissa, S. 2021. New insight into the role of isorhamnetin as a regulator of insulin signaling pathway in type 2 diabetes mellitus rat model: Molecular and computational approach. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 135:111176.
- Mazri, M. 2018. Cactus pear (*Opuntia* spp.) breeding. En *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits*. (Ed) Springer, Cham 307-341.
- Medina-García G., Zegbe J., Ruiz-Corral J., Casa-Flores J., y Rodríguez-Moreno V. 2021. Influencia del cambio climático en los requerimientos térmicos del nopal tunero (*Opuntia* spp.) en el Centro-Norte de México. *Revista bio ciencias* 8.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., y Baloch, F. S. 2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology y Biotechnological Equipment* 32 (2): 261-285.
- Nikam A., Devarumath R., Shitole M., Ghole V., Tawar P., y Suprasanna P. 2014. Gamma radiation, *in vitro* selection for salt (NaCl) tolerance, and characterization of mutants in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *In Vitro Cellular y Developmental Biology-Plant* 50(6):766-776.
- Nuijten, E., Messmer, M. M., y Lammerts van Bueren, E. T. 2016. Concepts and strategies of organic plant breeding in light of novel breeding techniques. *Sustainability* 9(1): 18.
- Núñez-Colín, C. A., Gallegos-Vázquez, C., y Mondragón-Jacobo, C. 2018. Problemática del mejoramiento por hibridación en nopal (*Opuntia* spp): hipótesis sobre segregación mendeliana poliploide. *Acta Agrícola y Pecuaria* 4(2): 27-34.
- Nutan P., y Herrera-Olivas A. 2021. Generation of new plant varieties by genetic improvement through mutation. *Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola* 3:6.
- Ochoa M., y Barbera G. 2018. Historia e importancia agroecológica y económica del nopal. Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. Pp. 1-12

- Oladosu, Y.; Rafii, M., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H., y Usman, M. 2015. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology y Biotechnological Equipment* 30: 1-16.
- Omar, A., ElSayed, A., y Mohamed A. 2021. Genetic diversity and ecotypes of *Opuntia* spp. En *Opuntia spp. Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications* (Ed) Springer, Cham . Pp. 181-199.
- Organización internacional de energía atómica (IAEA). Base de datos de variedades mutantes. Consultado en: <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx> (visitado el 16 de octubre del 2023).
- Pandey, N.; Meena, R.P.; Rai, S.K. y Pandey-Rai, S. (2016). *In vitro* generation of high artemisinin yielding salt tolerant somaclonal variant and development of SCAR marker in *Artemisia annua* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC) 127: 301-314.
- Paz-Navarro, A., Ojeda-Linares, C. I., Álvarez-Ríos, G. D., Vallejo, M., & Casas, A. 2023. Traditional management and diversity of *Opuntia*: general panorama in Mexico and a case study in the meridional central plateau. En *Ethnobotany of the Mountain Regions of Mexico* (Ed) Cham: Springer International Publishing. Pp. 233-264.
- Penna, S., y G. Bhagwat, S. 2023. Mutagenesis and selection: reflections on the *in vivo* and *in vitro* approaches for mutant development. En *Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience* (Ed) Singapore: Springer Nature Singapore. Pp. 99-127.
- Pérez-Jiménez, M., Tallón, C. I., y Pérez-Tornero, O. 2020. Inducing mutations in *Citrus* spp.: Sensitivity of different sources of plant material to gamma radiation. *Applied Radiation and Isotopes* 157:109030.
- Pestanana, R. K. N., Amorim, E. P., Ferreira, C. F., de Oliveira Amorim, V. B., Oliveira, L. S., da Silva Ledo, C. A., de Oliveira E., y Silva, S. 2011. Agronomic and molecular characterization of gamma ray induced banana (*Musa* sp.) mutants using a multivariate statistical algorithm. *Euphytica* 178 (2):151-158.
- Pierce B. 2009. Genética: Un enfoque conceptual. (Ed) Médica Panamericana. Pp 470-480
- Potgieter J., y D'Aquino S. 2018. Producción de tuna y manejo post cosecha. Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. Pp. 53-75.
- Pratt L., Franck N., y Suszuki F. 2018. Morfología y anatomía de *Platipuntia*. Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. Pp. 21- 29
- Puerta, O. J. y Morales, A. J. 2020. Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes. *Revista Colombiana de Cardiología* 27:61-71.
- Qi, W., Zhang, L., Wang, L., Xu, H., Jin, Q., y Jiao, Z. 2015. Pretreatment with low-dose gamma irradiation enhances tolerance to the stress of cadmium and lead in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Ecotoxicology and environmental safety* 115: 243-249.
- Riviello-Flores, M. D. L. L., Cadena-Iñiguez, J., Ruiz-Posadas, L. D. M., Arévalo-Galarza, M. D. L., Castillo-Juárez, I., Soto Hernández, M., y Castillo-Martínez, C. R. 2022. Use of gamma radiation for the genetic improvement of underutilized plant varieties. *Plants* 11(9):1161.

- Rodríguez-Rodríguez C., Torres N., Gutiérrez-Urbe J., Noriega L., Torre-Villalvazo, I., Leal-Díaz A., y Tovar A. 2015. The effect of isorhamnetin glycosides extracted from *Opuntia ficus-indica* in a mouse model of diet induced obesity. *Food y function* 6(3):805-815.
- Royani, J. I.; Abdullah, L., Aisyah, S. I. 2021. Radio-sensitivity of irradiated seed, plantlets, callus, and *in vitro* leaves from *Indigofera zollingeriana* Miq by gamma rays. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 913: 012061.
- Rubio-Ochoa, E., De la Cruz-Torres, E., Olalde-Portugal, V., Pérez-Sánchez, R. E, Gómez-Leyva, J. F., García-Saucedo, P.A. 2024. Mutagénesis por radiación gamma para mejora genética de plantas de importancia alimentaria. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 15(5).
- Sage, E.; Shikazono, N. 2017. Radiation-induced clustered DNA lesions: Repair and mutagenesis. *Free Radical Biology and Medicine* 107: 125-135.
- Schaart, J. G., van de Wiel, C. C., Lotz, L. A., y Smulders, M. J. 2016. Opportunities for products of new plant breeding techniques. *Trends in Plant Science* 21(5):438-449.
- Serrano, M.K.; Gómez, F.C.; Cruz, S.; Spinoso, J.L. y Bello, J.J. 2022. Gamma radiation (⁶⁰Co) induces mutation during *in vitro* multiplication of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews). *Horticulturae*. 8(6): 503.
- Sharma, V. y Thakur, M. 2021. Gamma irradiations induced morphological and biochemical variations in *in vitro* regenerated ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)-an invaluable medicinal spice. *International Journal of Radiation Biology* 97(12):1696-1704.
- Sharma, V., Thakur, M., y Tomar, M. 2020. *In vitro* selection of gamma irradiated shoots of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. zingiberi and molecular analysis of the resistant plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 143: 319-330.
- Sharma, V., y Thakur, M. 2021. Applicability of SCoT markers for detection of variations in Fusarium yellows resistant lines of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) induced through gamma irradiations. *South African Journal of Botany* 140: 454-460.
- Silva, M. A., Albuquerque, T. G., Pereira, P., Ramalho, R., Vicente, F., Oliveira, M. B. P., y Costa, H. S. 2021. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: A multi-benefit potential to be exploited. *Molecules* 26(4) 951.
- Singh, B. D., y Singh, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: principles and practices.
- Spencer, L. M.M.; Forster, B.P., Jankuloski, L. 2021. En Manual de mejoramiento por mutación (Ed) Food and Agriculture Organization of the United National (FAO): Roma Italia.
- Tilahun, Y., y Welegerima, G. 2018. Pharmacological potential of cactus pear (*Opuntia ficus Indica*): A review. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry* 7(3):1360-1363.
- Toker, C.; Yadav. S.S. y Solanki, I.S. 2007. Mutation breeding. Yadav, S.S.; McNeil, D.; Stevenson, P.C. En Lentil: An ancient crop for modern times. (Ed) Springer. Países bajos. Pp. 209-224
- Trigliano R., y Gray D. 2016. *Plant tissue culture, development, and biotechnology*. CRC Press.
- Udage, A. C. 2021. Introduction to plant mutation breeding: Different approaches and mutagenic agents. *Journal of Agricultural Sciences–Sri Lanka* 16: 466-483.

- Volkova, P. Y., Bondarenko, E. V., y Kazakova, E. A. 2022. Radiation hormesis in plants. *Current Opinion in Toxicology* 30.
- Yasmin, K., Arulbalachandran, D., Soundarya, V., Vanmathi, S. 2019. Effects of gamma radiation (γ) on biochemical and antioxidant properties in black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *International journal of radiation biology* 95:1135.
- Zhu, S. Y., Zhang, X. L., Luo, T. K., Liu, Q., Tang, Z., y Jing, Z. G. 2012. Comprehensive evaluation of salt tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis L.) during germination stage. *Journal Nuclear Agricultural Sciences* 2: 380-390.
- Zulfiqar, S., Ishfaq, S., Ikram, M., Nawaz, M. A., y Rahman, M. U. 2021. Characterization of gamma-rays-induced spring wheat mutants for morphological and quality traits through multivariate and GT Bi-plot analysis. *Agronomy* 11(11): 2288.

VII. Capítulo 2. Comparación del perfil metabolómico y antioxidante de extractos etanólicos de líneas mutantes de nopal verdura (*Opuntia velutina*) obtenidas mediante irradiación gamma

7.1. Resumen

La mutagénesis inducida mediante radiación gamma (Co^{60}) es una herramienta eficaz en el mejoramiento genético de cultivos, generando variabilidad genética en plantas, exitosamente aplicada en cultivos comerciales. Esta técnica principalmente es recomendada en especies con periodos juveniles largos, como el nopal verdura (*O. velutina*), rica en metabolitos fenólicos bioactivos. Por lo que, este estudio evaluó el contenido fitoquímico, antioxidante y perfil metabolómico de líneas mutantes de nopal obtenidas por irradiación gamma. Se utilizaron diez materiales de nopal verdura, nueve materiales mutantes y un control, cultivados *in vitro* y aclimatados en invernadero. Los extractos etanólicos fueron obtenidos mediante maceración y centrifugado. Se cuantificaron polifenoles, flavonoides, clorofilas y carotenoides por espectrofotometría. La actividad antioxidante se evaluó con DPPH, ABTS y FRAP, y el análisis metabolómico se realizó con cromatografía líquida y espectrometría de masas. Con el software Progenesis QI se identificaron los metabolitos acumulados. Las líneas OUM05-01 y OUM25-34 mostraron aumentos significativos en los compuestos fenólicos totales (CPT) y flavonoides totales (CFT), así como en los pigmentos clorofílicos y carotenoides. En la actividad antioxidante, OUM05-01 mostró la mayor capacidad frente al radical ABTS y FRAP. El análisis de componentes principales reveló tres grupos de materiales, y el análisis metabolómico no dirigido identificó variaciones significativas en las rutas metabólicas, destacando la biosíntesis de flavonoides en OUM05-01. En esta línea se identificaron metabolitos sobreacumulados de carácter fenólico como quercetina y taxifolina. Las mutaciones inducidas por radiación gamma en *O. velutina* aumentaron la diversidad metabólica y promovieron la sobreacumulación de metabolitos con potencial bioactivo.

7.2. Introducción

La mutagénesis inducida es una estrategia utilizada en el mejoramiento genético de plantas para generar variabilidad heredable y seleccionar caracteres de interés agronómico. Entre los agentes físicos empleados se encuentra la radiación gamma, emitida por isótopos radiactivos como Cobalto-60 (Co^{60}), misma que ha sido aplicada para mejorar atributos en plantas relacionados con la resistencia a factores bióticos (fitopatógenos), abióticos (sequías y salinidad), así como características estructurales, rendimientos, valor nutricional (proteínas y aminoácidos) y fitoquímico (ginsenósidos, antocianinas, fructooligosacáridos, etc.) (Udage, 2021; Rubio-Ochoa, 2024).

Si bien, la radiación gamma ha sido aplicada en cultivos de importancia comercial, como arroz (*Oryza sativa*), vainilla (*Vanilla planifolia*), tomate (*Lycopersicon esculentum*),

jengibre (*Zingiber officinale*) y ginseng (*Panax ginseng*) (Le y col., 2019; Abdelnour-Esquivel y col., 2020; Sharma y col., 2020; Serrano y col., 2022), su aplicación suele ser remendada en especies con largos periodos juveniles, baja tasa de germinación de semillas o complejidad genética, como el nopal (*Opuntia* spp), una cactácea de valor alimenticio y cultural en regiones áridas y semiáridas. Los frutos (tunas) y pencas (cladodios) se consumen en fresco (Silva y col., 2021), en platillos regionales y también se incorporan en la preparación de productos de valor añadido como harinas, mermeladas, jugo, vinos y aceites (El-Mostafa y col., 2014; Tilahun y Welegerima, 2018).

Los cladodios (pencas) de nopal representan una fuente rica en fibras, vitaminas y minerales (Astello-García y col., 2012; Silvia y col., 2021), además de contener metabolitos secundarios como ácidos grasos (ácido palmítico y linoleico), esteroides (β -sitosterol, campesterol), carotenoides (luteína, β -caroteno) y compuestos fenólicos (flavonoides y estilbenos) (Tilahun y Welegerima, 2018; Aruwa y col., 2019; Silva y col., 2021; Sallam y col., 2022). Los compuestos fenólicos se caracterizan por la presencia de uno o más anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilo (Abdel-Hameed y col., 2014; Bertelli y col., 2021); con base en la variabilidad de sus estructuras, se clasifican en fenoles simples, como los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, y polifenoles, entre los que se incluyen flavonoides, estilbenos y ligninas (Valencia-Avilés y col., 2017; Bertelli y col., 2021).

En especies de *Opuntia* se han identificado flavonoides como kaempferol, quercetina, isoharmnetin, rhamnetin, y nicotiflorin (Aruwa y col., 2019; Iftikhar y col., 2023; Elouazkiti y col., 2024). Estos compuestos presentan propiedades biológicas asociadas con la neutralización de radicales libres, regulación de procesos inflamatorios, efectos hipoglucemiantes, hepatoprotectores, antimicrobianos y antivirales, además de un papel preventivo en enfermedades metabólicas y crónico-degenerativas como diabetes, cáncer y enfermedades cardiovasculares (Abdel-Hameed y col., 2014; Tilahun y Welegerima, 2018; Izuegbuna, y col., 2019).

Actualmente, se han descrito más de 8000 estructuras fenólicas en plantas (Dai y col., 2010), lo cual representa un desafío para su aislamiento, cuantificación y caracterización. Dada su naturaleza polar, suelen extraerse mediante solventes como metanol, etanol, acetonitrilo o acetona, solos o en mezcla con agua (Weber y Passon, 2019). La cuantificación global de polifenoles o subgrupos específicos se realiza mediante métodos colorimétricos, aunque su especificidad es baja, debido a la influencia de otros compuestos reductores (Singleton y Rossi, 1965; Viñas y Campillo, 2019; Bärlocher y Graça, 2020). Por lo que, para superar estas limitantes se emplean técnicas cromatografía de alta resolución acoplada a detectores como resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masa (MS) (Kontogianni, 2014; Chiriac y col., 2021).

En particular, la cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-MS) ha permitido el análisis no dirigido de metabolitos, proporcionando información integral del metaboloma vegetal, la elucidación de rutas metabólicas y la identificación de biomarcadores (Oh y col., 2021; Wang y col., 2024). La complejidad del perfil fenólico en *Opuntia*, así como la presencia de metabolitos diferenciales entre genotipos, refuerza su relevancia como marcadores químicos para la caracterización de variantes y la selección de materiales mejorados (Siracusa y Ruberto, 2014; Bhat y col., 2023). Por lo que, el objetivo del trabajo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos, la actividad antioxidante y el perfil metabolómico de extractos etanólicos de variantes genéticas de nopal verdura (*O. velutina*) obtenidas por irradiación gamma y establecidas ex vitro, para contrastar su variación fitoquímica respecto al material no irradiado.

7.3. Materiales y métodos

7.3.1. Material vegetal

Se usaron diez materiales de *O. velutina* obtenidos a partir de meristemos *in vitro* irradiados con rayos gamma. Ocho de ellos, identificados como líneas mutantes de acuerdo a las técnicas moleculares previamente descritas (OUM05-01, OUM05-09, OUM05-30, OUM10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-29 y OUM20-35) y dos sin presentar variación genética (OUM05-22 y OUM25-34) en comparación con el material de referencia (OUM00-00). Los cultivos *in vitro* fueron aclimatados en contenedores de plástico transparentes con sustrato compuesto por turba de musgo y agrolita (1:1), bajo condiciones de invernadero (intensidad lumínica de 1600 lux, 35 ± 2 °C y 60% de humedad relativa). Los cladodios fueron aclimatados por un periodo de diez semanas hasta su procesamiento.

7.3.2. Obtención de extractos etanólica

Se emplearon cladodios mantenidos en invernadero como material vegetal, los cladodios fueron congelados y liofilizados (Marca, Modelo). El material seco se pulverizo con mortero de cerámica hasta tener un polvo homogéneo, enseguida se maceró en etanol al 80% (1:10 p/v) e incubó a 45°C a baño María por 120 min (Marca, modelo). El sobrenadante fue recuperado mediante centrifugado por 6000 rpm por 15 min (Marca, modelo). Los extractos recuperados fueron sometidos a cuantificaciones fitoquímicas y metabolómicas.

7.3.3. Evaluación fitoquímica

7.3.3.1. Cuantificación de polifenoles (CPT)

Se cuantificó con base en lo descrito por Tranquilino-Rodríguez *et al.*, (2020). Se mezclaron 0.050 mL del extracto etanólico, 0.1 mL de Folin-Ciocalteu (1 N), 0.550 mL de agua destilada, y 0.300 mL de carbonato de sodio al 7.5% (Na_2CO_3), se incubó por 15 min y se leyó la absorbancia a 760 nm. Los resultados se ponderaron en una curva patrón de ácido gálico y se expresaron en miligramos equivalentes por gramo de peso seco (mg EAG/g).

7.3.3.1. Cualificación de flavonoides (CFT)

Para el contenido de flavonoides totales se determinó por el método de cloruro de aluminio, reportado por Tranquilino-Rodríguez y col. (2020); se tomaron 0.030 mL del extracto, se añadió 0.170 mL de etanol, 0.01 mL de una solución de cloruro de aluminio al 10% (AlCl_3), 0.01 mL de solución de acetato de potasio al 1 M (CH_3COOK) y 0.28 mL de agua destilada. La mezcla se incubó por 30 min, y se leyó 415 nm. Las concentraciones se calcularon con una curva patrón de quercetina (Q) y se expresaron en miligramos equivalentes por gramo de peso seco (mg EQ/g).

7.3.3.2. Cuantificación de clorofilas y carotenoides

El contenido de clorofilas y carotenoides fue evaluado mediante el método espectrofotométrico de por Lichtenthaler y Buschmann, (2001). Los extractos se diluyeron en etanol al 95% (1:10) y se midieron las absorbancias a 470, 649, 665 nm. Las concentraciones de clorofila a (Ca), clorofila b (Cb), clorofilas totales (Ca + Cb), carotenoides totales (Cx + c), se calcularon usando como referencia las siguientes ecuaciones:

$$\text{Ca } (\mu\text{g /mL}) = (13.36 * A_{665}) - (5.19 * A_{649})$$

$$\text{Cb } (\mu\text{g /mL}) = (27.43 * A_{649}) - (8.12 * A_{665})$$

$$\text{Ca + Cb } (\mu\text{g /mL}) = (5.24 * A_{665}) + (22.24 * A_{649})$$

$$\text{Cx + c } (\mu\text{g /mL}) = (1000 * A_{470} - 2.13 * \text{Ca} - 97.64 * \text{Cb})/209$$

Los resultados se expresan como mg/g de peso seco.

7.3.4. Valoración de la actividad antioxidante

7.3.4.1. Radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH)

Se cuantificó con base en lo descrito por Tranquilino-Rodríguez y col. (2020). Se mezcló 0.8 mL del radical DPPH al 0.1mM y 0.2 mL de muestra (dilución o patrón), se incubó por 30 min y se leyó la absorbancia a 517 nm. Los resultados fueron ponderados con una curva patrón de trolox y unidades expresadas en miligramos equivalentes por gramos de peso seco (mg ET/g).

7.3.4.2. Radical ácido 2,2'azinobis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS)

La actividad neutralizante del radical ABTS^{++} se midió según lo reportado por Tranquilino-Rodríguez y col. (2020). El radical se generó mediante una solución acuosa de ABTS con persulfato de potasio, que fue incubada por 12 h en oscuridad. Enseguida, la solución se diluyó en etanol hasta obtener una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. Para la evaluación de la capacidad neutralizante, se colocaron 0.950 mL de solución de ABTS con 0.025 mL de extracto y 0.025 mL de etanol, posterior a 30 min, se registró la absorbancia a 734 nm y los resultados se expresaron en mg ET/g.

7.3.4.3. Poder reductor de hierro (III) o FRAP (por sus siglas en inglés “ferric reducing/antioxidant power”)

El ensayo se realizó según lo reportado Lui y col. (1982). Se prepararon las soluciones: A) 300 mM de acetato de sodio disuelto en 0.8 ml de ácido acético y 49.2 mL de agua y pH de 3.6. B) 10 mM de 2, 4, 6 tripiridil-s-triazina-ferroso (TPTZ), en 5 mL ácido clorhídrico al 40 mM y C) 20 mM de cloruro férrico en 5 mL de agua. Las soluciones se mezclaron en proporción 10:1:1 e incubadas a 37 °C por 10 min. Se tomaron 0.950 mL de esta mezcla, 0.025 mL del extracto y 0.025 mL de etanol e incubación por 30 min con lectura a 593 nm. Los resultados se reportaron en mg ET/g.

7.3.5. Análisis metabolómico no dirigido

Los extractos etanólicos fueron colocados en rotavapor a 40 °C hasta peso constante. Los reconcentrados se sometieron a una segunda extracción con metanol en una proporción 1:20 (p/v), e incubados en baño ultrasónico durante 20 min. Posteriormente, se reconcentraron y diluyeron en metanol a una concentración final de 100 mg/mL y filtraron con membrana PTFE de 0.2 µm.

El análisis se realizó en un sistema de cromatografía líquida de ultra alta resolución (Acquity UPLC I Class, Waters) acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución (Synapt HDMi). La separación se realizó en una columna de C18 Waters Acquity BEH (1.7 µm, 2.1 mm × 50 mm) mantenida a 40 °C y 15 °C para las muestras. La fase móvil consistió en (A) agua y (B) acetonitrilo, ambos acidificados con 0.1% de ácido fórmico. Se utilizó un gradiente eluyente con las siguientes condiciones: de 0 a 20 min (1-99% de B), de 20.1 a 24 min (99% de B), y de 24.1 a 25 min (1% de B). La velocidad de flujo fue de 0.3 mL/min y el volumen de inyección de 10 µL. La ionización por electrospray en modo positivo y negativo (ESI±) se adquirió en un rango de 50-1200 Da, con una temperatura fija de la fuente de 120 °C, una temperatura de desolvación de 20 °C, un flujo de gas de desolvación de 600 L/h, un cono de extracción a 0.5 V y un voltaje de capilar de 3 y 2.5 kV. En el escaneo de baja energía, el voltaje del cono fue de 40 y 80 V, y la energía de colisión de 6 V para la función 1 y de 10 a 30 V para la función 2. Las muestras se inyectaron por triplicado en ambos modos de ionización.

7.3.6. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar y se llevaron a cabo por triplicado. Las variables espectrofotométricas (compuestos fenólicos, flavonoides, clorofilas, carotenoides y actividad antioxidante) se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$). Adicionalmente, se aplicó un análisis de agrupación por conglomerados jerárquico por el método de Ward, y de componentes principales (ACP) entre variables.

Los datos cromatográficos se adquirieron y procesaron con el software MassLynx (versión 4.1). Los valores de masa/carga (m/z), los tiempos de retención (rt) y las intensidades de señal. Las intensidades de las señales se transformaron mediante Log_{10} . Los datos se sometieron a un análisis de agrupación de conglomerados jerárquico por distancias Euclidianas por método de Ward, lo que fue resumido con un mapa de calor. Se realizaron comparaciones pareadas frente al control mediante prueba de t ($p \leq 0.05$) y estimación de cambio de pliegue (CP), cuyos resultados se resumieron en un gráfico de volcán.

Los caracteres diferenciales se sometieron a análisis funcional de rutas metabólicas mediante el algoritmo Mummichog con la base de datos KEGG para *Gossypium hirsutum*. Se obtuvo el factor de enriquecimiento (EnrF) y el valor p transformado ($-\log_{10} p$), presentándose en gráficos de burbujas. El análisis de impacto topológico de vías se efectuó considerando metabolitos con $CP \geq 2$ y $p \leq 0.05$. En este análisis se obtuvo el número de metabolitos encontrados (hits), el impacto sobre la vía, el valor p ($-\log_{10} p$) y se usó la tasa de descubrimientos falsos esperada (FDR, por sus siglas en inglés) por método de Benjamini-Hochberg, tomado el umbral $FDR \leq 0.05$ como resultados significativos. El análisis de vías fue resumido a través de un diagrama de dispersión.

La identificación tentativa de metabolitos se llevó a cabo utilizando el $tr-m/z$ obtenido para cada carácter, donde se obtuvo la puntuación global (Score), la puntuación de coincidencias de fragmentación (Score Frg), error de la masa (Error) y similitud isotópica (Sim), del mismo modo se usaron 60 estándares para compuestos fenólicos L-fenilalanina, (-)-epigallocatequina, malvina, (+)-catequina, escopolina, ácido clorogénico, cloruro de kuromanina, cloruro de keracianina, ácido cafeico, ácido vainílico, procianidina B2, mangiferina, (-)-epicatequina, (-)-galocatequina galato, quercetina-3,4'-di-O-glucósido, ácido 4-cumárico, ácido elágico, escopoletina, miricitrina, rutina, ácido sinápico, quercetina-3-D-galactósido, (-)-epicatequina galato, quercetina-3-glucósido, ácido 3-cumárico, luteolina-7-O-glucósido, penta-O-galoil- β -D-glucosa, kaempferol-3-O-glucósido, quercitrina, naringina, miricetina, hesperidina, ácido rosmarínico, floridzina, secoisolariciresinol, trans-resveratrol, luteolina, quercetina, psoraleno, apigenina, naringenina, angelicina, kaempferol, hesperetina, podofilotoxina, ácido nordihidroguaiaretico, crisina, crisofanol, kaempferida y emodina.

Los análisis estadísticos espectrofotométricos fueron obtenidos mediante el paquete estadístico JMP, los análisis cromatográficos en la plataforma MetaboAnalyst 6.0, y la identificación de metabolitos con el software Progenesis QI (Waters).

7.4. Resultados

7.4.1. Evaluación de fitoquímica (CPT, CFT, clorofilas y carotenoides)

La evaluación fitoquímica de los materiales se resume en el Cuadro 1. El contenido de CPT mostró incrementos significativos en los materiales OUM25-34 y OUM05-01, con valores de 13.47 ± 0.38 y 12.84 ± 0.61 mg EAG/g, correspondientes a aumentos del 30 y 24% en comparación con el control OUM00-00 (10.39 ± 0.19 mg EAG/g). En el CFT, las líneas OUM20-24 y OUM20-29 presentaron valores de 7.27 ± 0.24 y 7.18 ± 0.18 mg EQ/g, superiores en 20 y 18% al material de referencia (6.07 ± 0.19 mg EQ/g).

Dentro del contenido de Ca, los materiales OUM05-01 y OUM25-34 registraron mayores concentraciones de clorofila a (Ca) con 1.08 ± 0.01 y 1.05 ± 0.01 mg/g PS, equivalentes a incrementos del 120 y 114% respecto al control (0.49 ± 0.01 mg/g). Del mismo modo, el material OUM25-34 presentó el mayor contenido de Cb (0.45 ± 0.02 mg/g), con un incremento del 73% sobre el control (0.26 ± 0.03 mg/g) sin mostrar diferencias estadísticas entre ambos. Es esta misma línea el contenido de Ca + Cb aumentó en un 150% respecto al control (0.75 ± 0.03 mg/g). En contraste, la línea OUM05-22 reducciones de 14, 88 y 41% de Ca, Cb, Ca y Cb, respectivamente, en relación con el material de referencia. Respecto a Cx + c, las líneas OUM05-01 y OUM20-24 registraron valores de 0.49 ± 0.01 y 0.50 ± 0.01 mg/g, con incrementos del 96 y 100% frente al material de referencia (0.25 ± 0.02 mg/g), presentando diferencias estadísticas significativas.

Cuadro 1. Comparación fitoquímica de CPT, CFT, clorofilas y carotenoides entre materiales vegetales mutantes de *Opuntia velutina*

O. velutina	CPT (mg EAG/g) Contenido de polifenoles totales	CFT (mg EQ/g) Contenido de flavonoides totales	Ca (mg/g) Contenido de clorofila α	Cb (mg/g) Contenido de clorofila β	Ca + Cb (mg/g) Contenido de clorofilas totales	Cx + c (mg/g) Contenido de carotenoides totales
OUM00 -00	10.39 $\pm$ 0.19 ^E	6.07 $\pm$ 0.19 ^{BC}	0.49 $\pm$ 0.01 ^F	0.26 $\pm$ 0.03 ^{CD}	0.75 $\pm$ 0.03 ^F	0.25 $\pm$ 0.02 ^F
OUM05 -01*	12.84 $\pm$ 0.61 ^{AB}	6.26 $\pm$ 0.21 ^{BC}	1.08 $\pm$ 0.01 ^A	0.13 $\pm$ 0.01 ^{FG}	1.20 $\pm$ 0.03 ^B	0.49 $\pm$ 0.01 ^A
OUM05 -09*	7.34 $\pm$ 0.20 ^F	4.75 $\pm$ 0.33 ^F	0.48 $\pm$ 0.02 ^F	0.09 $\pm$ 0.00 ^{GH}	0.57 $\pm$ 0.02 ^G	0.39 $\pm$ 0.01 ^{CD}
OUM05 -22	8.56 $\pm$ 0.28 ^F	4.85 $\pm$ 0.32 ^{EF}	0.42 $\pm$ 0.02 ^G	0.03 $\pm$ 0.00 ^H	0.44 $\pm$ 0.02 ^H	0.40 $\pm$ 0.01 ^{CD}
OUM05 -30*	8.02 $\pm$ 0.37 ^F	5.00 $\pm$ 0.03 ^{DEF}	0.68 $\pm$ 0.03 ^D	0.17 $\pm$ 0.01 ^{EF}	0.86 $\pm$ 0.04 ^E	0.33 $\pm$ 0.02 ^E
OUM10 -15*	11.09 $\pm$ 0.20 ^{CDE}	5.75 $\pm$ 0.18 ^{CDE}	0.61 $\pm$ 0.00 ^E	0.37 $\pm$ 0.04 ^B	0.98 $\pm$ 0.04 ^D	0.45 $\pm$ 0.03 ^{AB}
OUM15 -09*	10.81 $\pm$ 0.46 ^{DE}	6.70 $\pm$ 0.36 ^{AB}	0.69 $\pm$ 0.05 ^D	0.23 $\pm$ 0.04 ^{DE}	0.92 $\pm$ 0.02 ^{DE}	0.41 $\pm$ 0.02 ^{BC}
OUM20 -24*	12.20 $\pm$ 0.29 ^{BC}	7.27 $\pm$ 0.24 ^A	0.92 $\pm$ 0.01 ^B	0.17 $\pm$ 0.01 ^{EF}	1.08 $\pm$ 0.02 ^C	0.50 $\pm$ 0.01 ^A
OUM20 -29*	11.63 $\pm$ 0.21 ^{BCD}	7.18 $\pm$ 0.18 ^A	0.82 $\pm$ 0.01 ^C	0.28 $\pm$ 0.03 ^{CD}	1.10 $\pm$ 0.02 ^C	0.39 $\pm$ 0.02 ^{CD}
OUM20 -35*	7.42 $\pm$ 0.32 ^F	4.73 $\pm$ 0.16 ^F	0.57 $\pm$ 0.01 ^E	0.33 $\pm$ 0.02 ^{BC}	0.89 $\pm$ 0.02 ^E	0.17 $\pm$ 0.02 ^G
OUM25 -34	13.47 $\pm$ 0.38 ^A	5.77 $\pm$ 0.38 ^{CD}	1.05 $\pm$ 0.01 ^A	0.45 $\pm$ 0.02 ^A	1.50 $\pm$ 0.01 ^A	0.36 $\pm$ 0.01 ^{DE}

Media $\pm$ DS. Los valores con letras iguales dentro de las columnas prestaron valores estadísticamente similares entre sí según la prueba Tukey en $p \leq 0.01$. Los materiales vegetales marcados con * fueron identificados como variantes genéticas del material de referencia (OUM00-00).

7.4.2. Valoración de la actividad antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante se presentan en el Cuadro 2. Respecto a la actividad antioxidante frente al radical DPPH, se observaron reducciones significativas del 18 al 43%. a línea OUM20-24 registró la menor capacidad antioxidante (3.01 ± 0.29 mg ET/g), en contraste con el material de referencia OUM00-00, que presentó la mayor actividad (5.30 ± 0.17 mg ET/g).

Cuadro 2. Actividad antioxidante de extractos etanólicos de materiales vegetales mutantes de *Opuntia velutina*

<i>O. velutina</i>	DPPH mg ET/g	ABTS mg ET/g	FRAP mg ET/g
OUM00-00	5.30 ± 0.17^A	7.23 ± 0.21^{AB}	5.68 ± 0.38^D
OUM05-01*	4.17 ± 0.16^{BC}	7.79 ± 0.15^A	9.51 ± 0.32^A
OUM05-09*	3.41 ± 0.21^{CDE}	5.16 ± 0.17^D	6.31 ± 0.29^{CD}
OUM05-22	4.05 ± 0.24^{BCD}	5.95 ± 0.10^C	7.33 ± 0.26^{BC}
OUM05-30*	4.13 ± 0.15^{BCD}	5.20 ± 0.14^D	8.25 ± 0.24^B
OUM10-15*	3.46 ± 0.36^{CDE}	7.08 ± 0.36^{AB}	5.76 ± 0.51^D
OUM15-09*	4.33 ± 0.07^B	6.53 ± 0.03^{BC}	7.23 ± 0.49^{BC}
OUM20-24*	3.01 ± 0.29^E	5.97 ± 0.24^C	5.73 ± 0.35^D
OUM20-29*	4.02 ± 0.21^{BCD}	6.81 ± 0.15^B	7.43 ± 0.21^{BC}
OUM20-35*	3.34 ± 0.24^{DE}	4.15 ± 0.28^E	5.90 ± 0.31^D
OUM25-34	4.07 ± 0.25^{BCD}	7.06 ± 0.28^{AB}	7.16 ± 0.18^{BC}

Media $\pm$ DS. Los valores con letras iguales dentro de las columnas prestaron valores estadísticamente similares entre sí según la prueba Tukey en $p \leq 0.01$. Los materiales vegetales marcados con * fueron identificados como variantes genéticas del material de referencia (OUM00-00)

En la capacidad neutralizante del radical ABTS, la línea OUM05-01 alcanzó 7.79 ± 0.15 mg ET/g, lo que representó un incremento del 8% en relación con el control (7.23 ± 0.21 mg ET/g); sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas frente al material de referencia ni frente a las líneas OUM10-15 (7.08 ± 0.36 mg ET/g) y OUM25-24 (7.06 ± 0.28 mg ET/g).

En el ensayo FRAP, se registraron incrementos de 1 a 67% en comparación con el control (5.68 ± 0.38 mg ET/g). La línea OUM05-01 mostró el mayor poder reductor (9.51 ± 0.32 mg ET/g), siendo estadísticamente superior al material de referencia.

7.4.3. Análisis de componentes principales entre el contenido de polifenoles y actividad antioxidante

El ACP se aplicó para visualizar las relaciones entre el contenido de compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante, así como el agrupamiento de los materiales evaluados en función de sus características fitoquímicas y su potencial antioxidante (Fig. 1).

En el análisis de ACP, evidenció un 68.2% de la variabilidad de los datos analizados. El componente 1 acumuló un 49.9% de la varianza, con mayor aporte de las variables de CPT ($r = 0.46$), Ca ($r = 0.42$) y Ca + Cb ($r = 0.41$). El componente 2 aportó un 19.3% de la varianza, como las principales contribuyentes se encontró a Cb ($r = -0.63$) y FRAP ($r = 0.59$).

Se detectaron correlaciones positivas y significativas entre las variables que contribuyeron al primer componente. La correlación más alta correspondió a Ca y Ca + Cb ($r = 0.91$), seguida por las asociaciones entre CPT y Ca + Cb ($r = 0.86$), y CPT y Ca ($r = 0.84$). En contraste, las variables vinculadas al segundo componente (Cb y FRAP), mostraron una correlación negativa ($r = -0.42$). Así mismo, se observó una correlación positiva significativa entre CPT y ABTS ($r = 0.82$), y CPT y CFT ($r = 0.76$).

Los once materiales analizados se distribuyeron entre los dos primeros componentes, lo que permitió identificar tres conglomerados (CG1-3). El CG1 incluyó seis materiales (OUM05-01, OUM10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-29, y OUM25-34), caracterizados por mayores valores de polifenoles totales, flavonoides y actividad neutralizante de ABTS. El CG2 se integró únicamente por OUM00-00, mientras el tercero CG3 agrupó por cuatro materiales (OUM05-09, OUM05-22, OUM05-30 y OUM20-35).

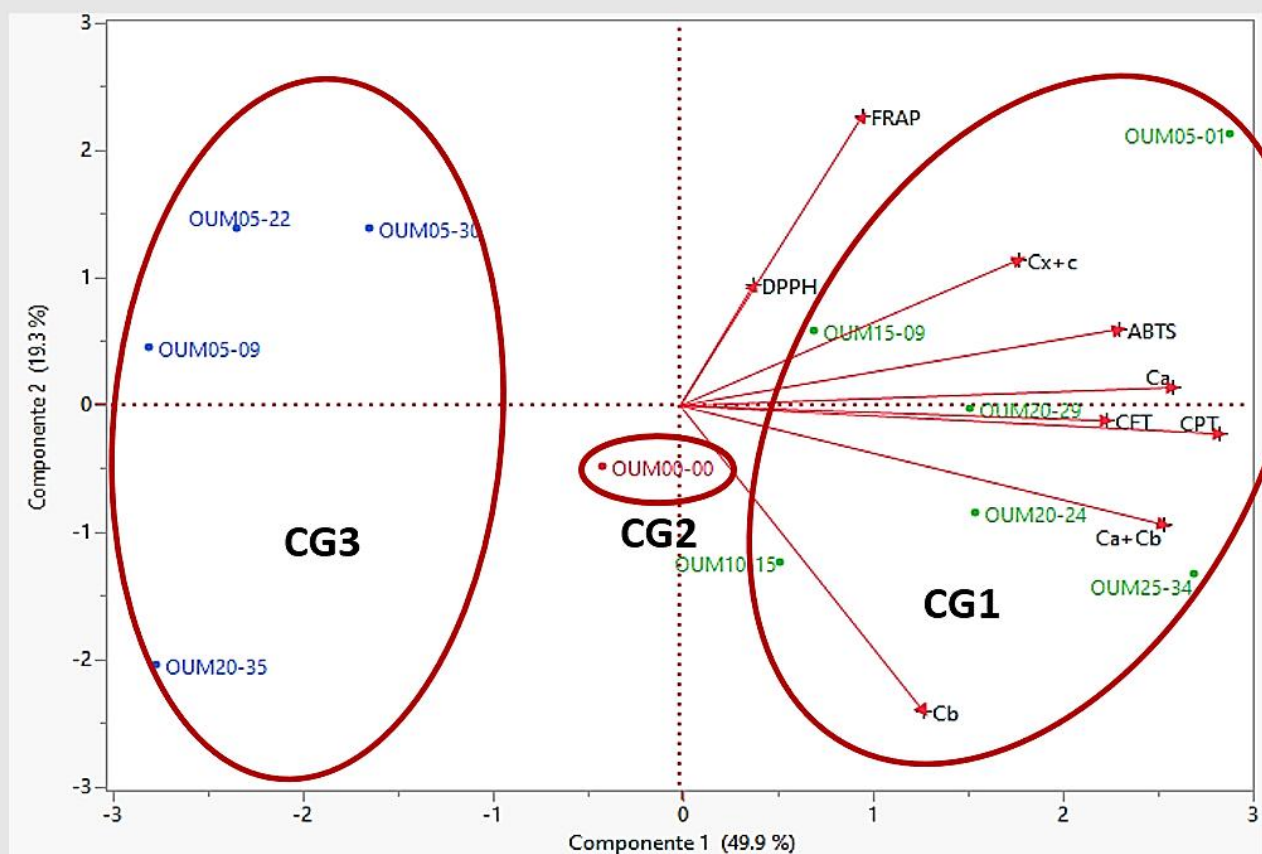


Figura 1. Análisis de componentes principales del contenido de polifenoles (CPT), flavonoides (CFT), clorofila a (Ca), clorofila b (Cb), clorofilas totales (Ca + Cb), carotenoides (Cx + c) y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de diez materiales y control de *Opuntia velutina* (OUM00-00).

7.4.4. Comparativa del análisis metabolómico no dirigido de mutantes de *Opuntia velutina*

El análisis metabolómico no dirigido de los extractos de tres variantes genéticas de *O. velutina* (OUM05-01, OUM05-30, OUM25-34) y su control (OUM00-00) permitió generar una base de datos combinada de espectros de ambos modos de ionización (ESI+ y ESI-), que integró 21 200 valores de *rt-m/z*.

En el mapa de calor obtenido a partir de esta base de datos (Fig. 2) evidenció cuatro conjuntos principales de señales y perfiles fitoquímicos distintos entre los materiales. Asimismo, el análisis de agrupamiento distribuyó los cuatro materiales en dos subgrupos: el primero integrado por el control y la línea OUM05-01, y el segundo por las líneas OUM05-30 y OUM25-34, lo que reflejó una mayor similitud metabolómico dentro de las líneas de cada subgrupo.

En el análisis de comparación de pliegue (CP) mostró que, la línea OUM05-01 respecto al control, se identificaron 4717 características *rt-m/z* diferenciales ($p \leq 0.05$) en modo de ESI- y 4786 en ESI+. Entre ambos modos de ionización se identificaron 4939 caracteres incrementados ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$), respecto al material de referencia (Fig. 3, A y B).

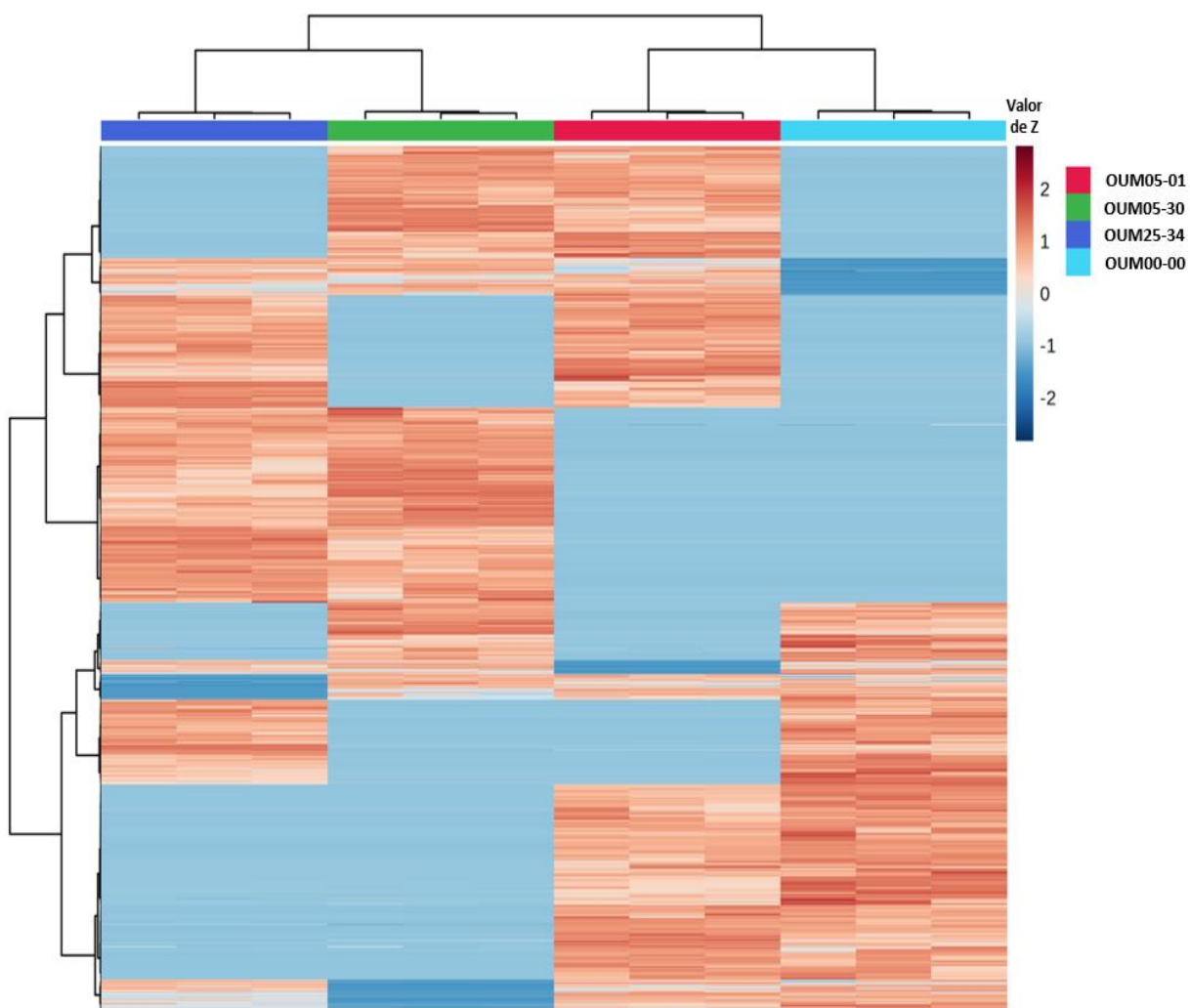


Figura 2. Mapa de calor de agrupamiento jerárquico de los perfiles de comparación (generados por el método de Ward con distancias Euclidianas como algoritmo de agrupamiento). Cada fila corresponde a una característica $rt-m/z$ única. La comparación de intensidad se muestra mediante la puntuación z (los colores rojo y azul indican intensidades más altas y más bajas, respectivamente, entre las muestras).

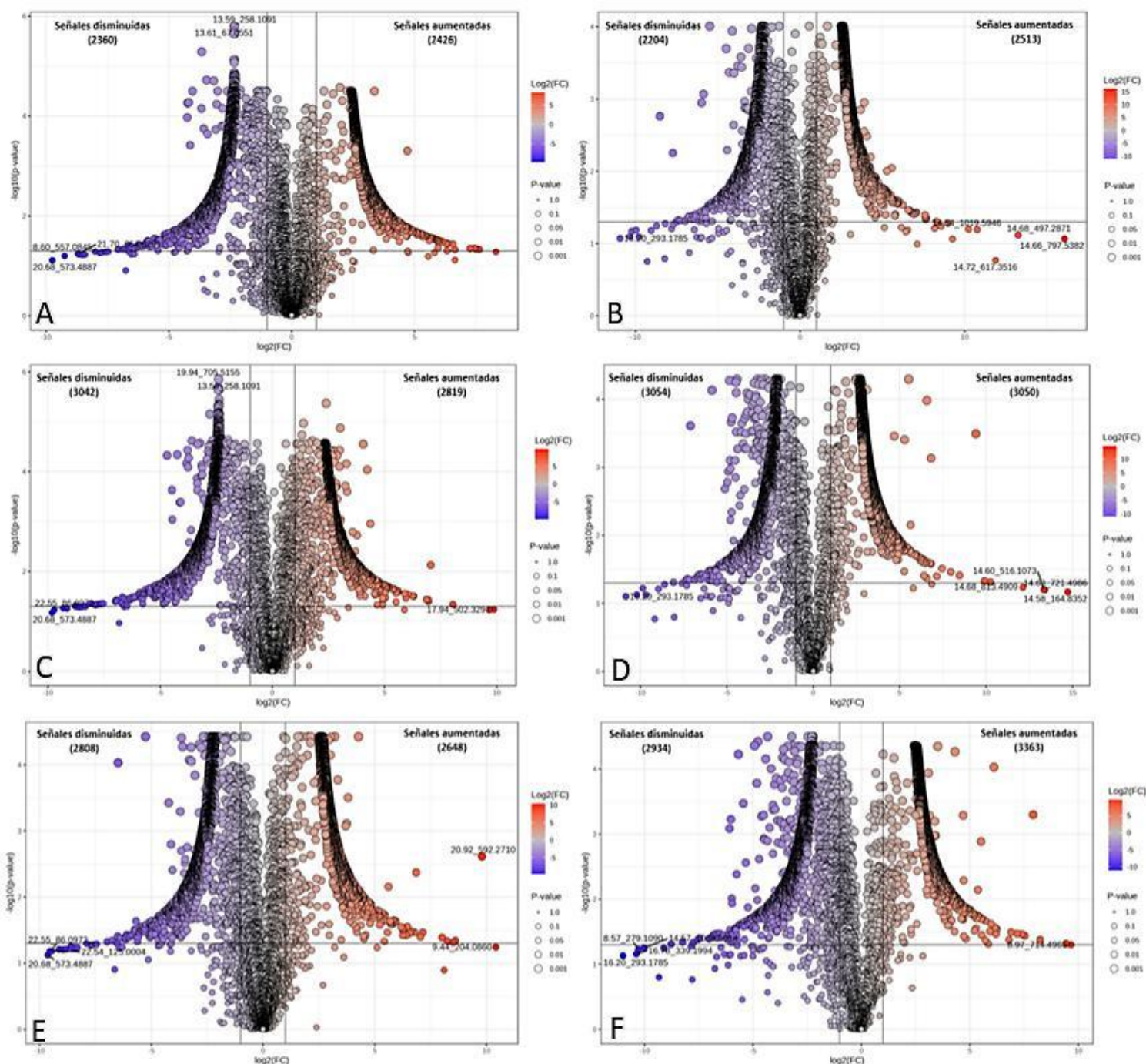


Figura 3. Gráfico de volcán de la comparación de los perfiles químicos globales (EIS + y EIS -) de las variantes mutantes de *Opuntia velutina*/material de referencia ($p \leq 0.05$). A y B, corresponden a la comparación entre la línea OUM05-01/OUM00-00 en modos de ionización positiva y negativa, respectivamente; C y D corresponden a la comparación entre la línea OUM05-01/OUM00-00 en modos de ionización positiva y negativa, respectivamente OUM05-30/OUM00-00. E y F corresponden a la línea OUM25-34/OUM00-00 en los mismos modos de ionización antes mencionados. Cada círculo corresponde a una característica rt - m/z . Los colores rojo y azul indican valores de cambio de pliegue logarítmicos positivos y negativos significativos (prueba t), respectivamente.

En la línea OUM05-30 se detectaron 6104 características rt-m/z diferenciales ($p \leq 0.05$) en modo ESI- y 5861 en modo ESI+, con 5869 de señales aumentadas ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$), respecto al material de referencia (Fig. 3, C y D). Finalmente, en OUM25-34 se identificaron 6297 y 5456 características rt-m/z diferenciales ($p \leq 0.05$) en ESI- y ESI+, respectivamente; de los cuales 6011 mostraron incrementos significativos ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$) (Fig. 3, E y F).

Los caracteres diferenciales significativos ($p \leq 0.05$) fueron sometidos a un análisis funcional con el objetivo de identificar rutas metabólicas tentativas que pudieron ser alteradas durante los procesos de mutagénesis, lo que fue posible al estimar el factor de enriquecimiento (EnrF). El análisis de enriquecimiento de rutas reportó un total de 78 rutas entre las tres variantes genéticas de *O. velutina*, las cuales se resumen en la Fig. 4.

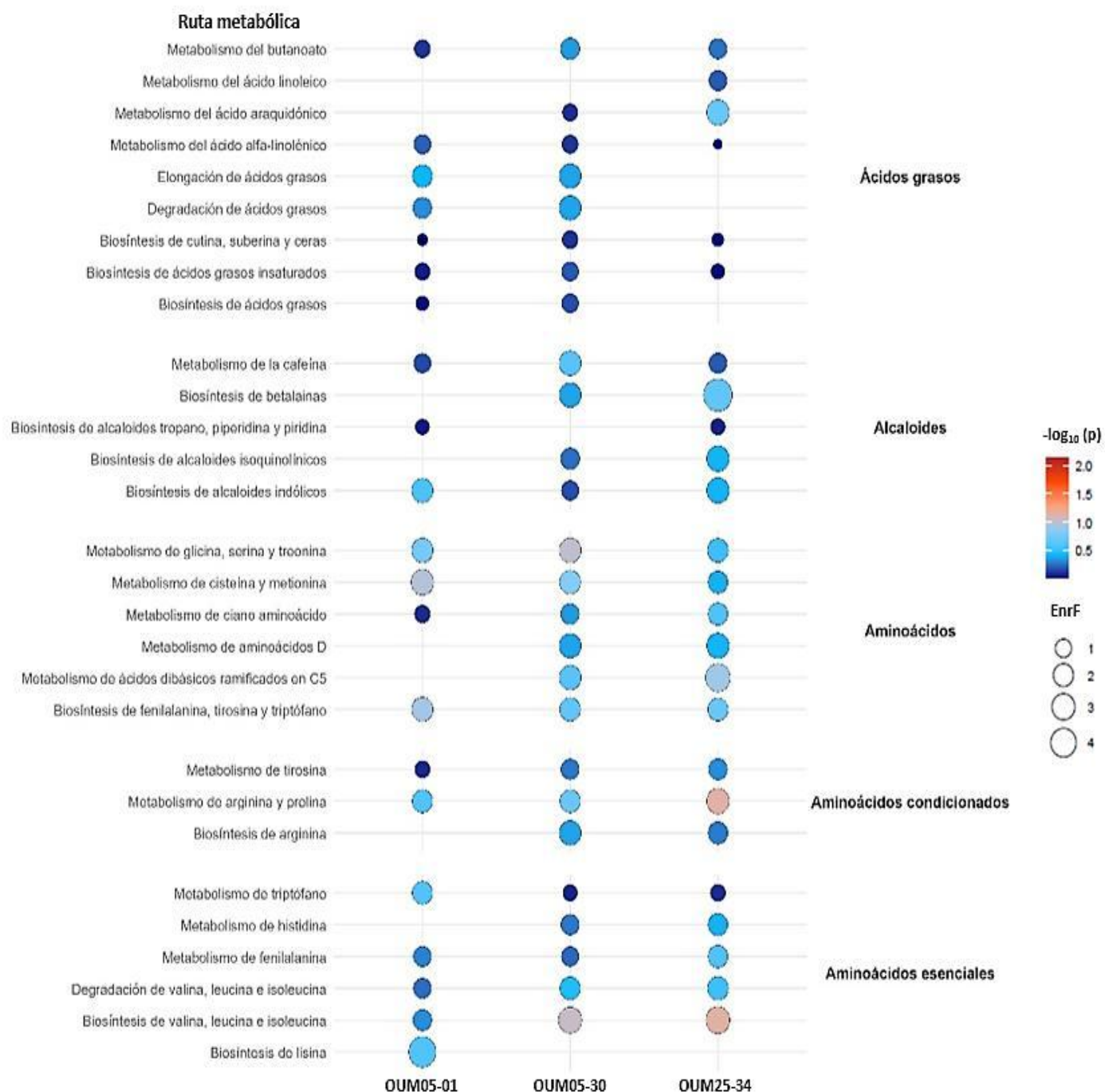


Figura 4. Gráfico de burbujas obtenido del análisis funcional de enriquecimiento de rutas metabólicas KEGG con los caracteres diferenciales significativos ($p \leq 0.05$) entre las líneas mutantes de *Opuntia velutina* y su control. El tamaño de los círculos se relaciona con el de factor de enriquecimiento (EnrF), mientras el color con el nivel de significancia estadística [$-\log_{10} (p)$] de la ruta.

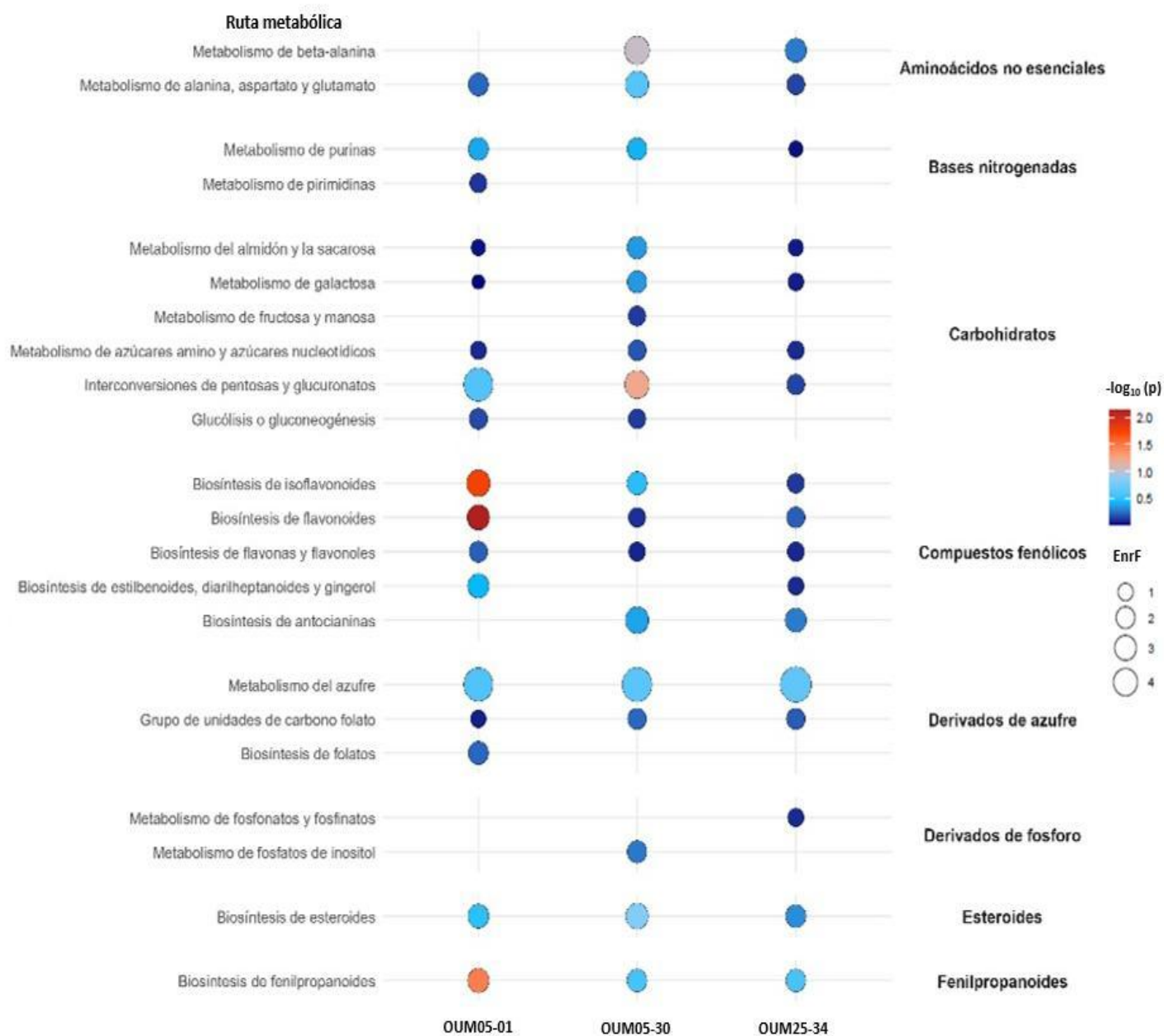


Figura 4 (continuidad). Gráfico de burbujas obtenido del análisis funcional de enriquecimiento de rutas metabólicas KEGG con los caracteres diferenciales significativos ($p \leq 0.05$) entre las líneas mutantes de *Opuntia velutina* y su control. El tamaño de los círculos se relaciona con el de factor de enriquecimiento (EnrF), mientras el color con el nivel de significancia estadística [$-\log_{10}(p)$] de la ruta.

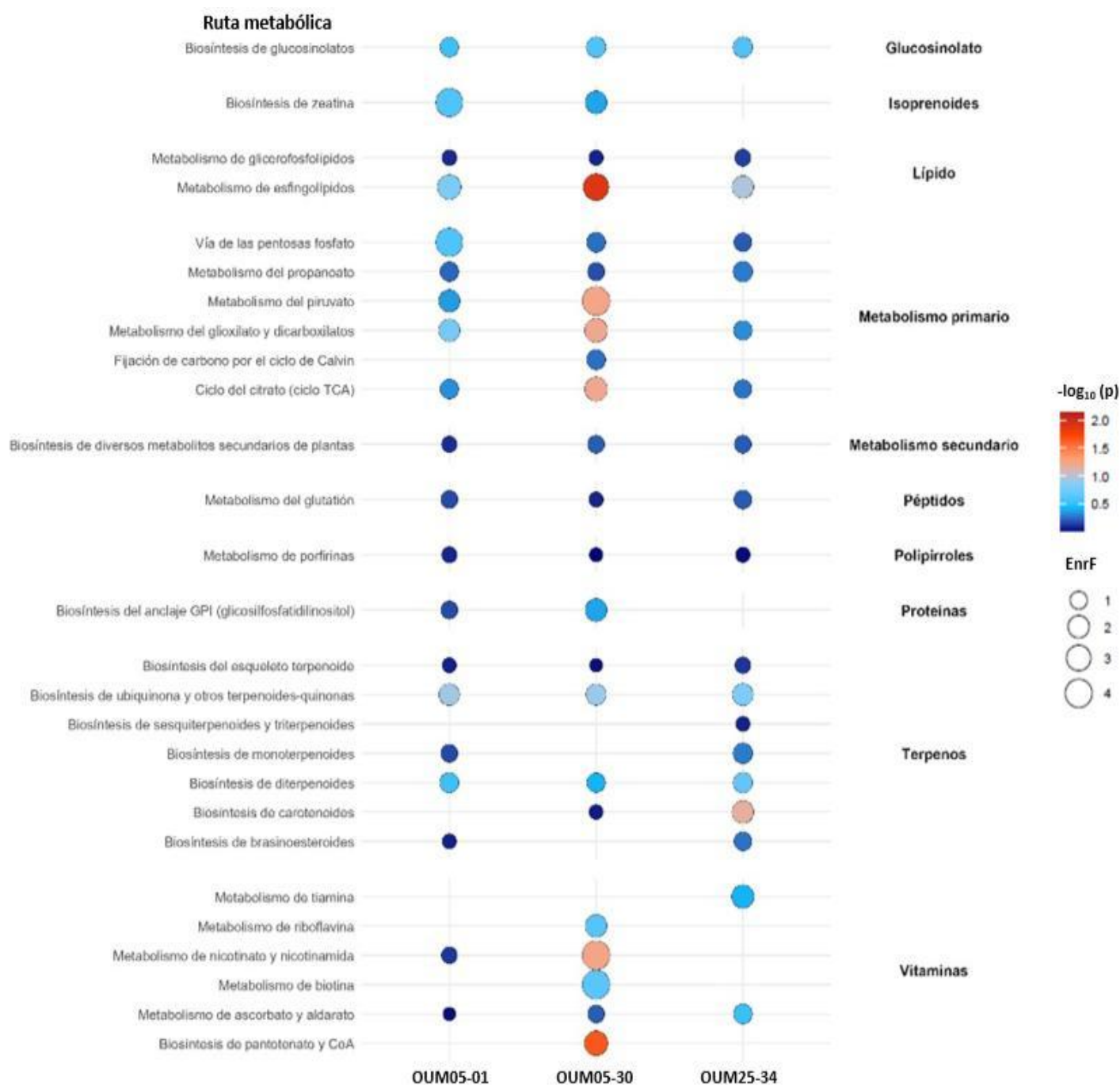


Figura 4 (continuidad). Gráfico de burbujas obtenido del análisis funcional de enriquecimiento de rutas metabólicas KEGG con los caracteres diferenciales significativos ($p \leq 0.05$) entre las líneas mutantes de *Opuntia velutina* y su control. El tamaño de los círculos se relaciona con el de factor de enriquecimiento (EnrF), mientras el color con el nivel de significancia estadística [$-\log_{10}(p)$] de la ruta.

En la línea OUM05-01 destacaron enriquecimientos significativos en las rutas de biosíntesis de flavonoides (EnrF= 1.8, $-\log_{10} p = 2.1$), isoflavonoides (EnrF= 2.1, $-\log_{10} p = 1.8$), y fenilpropanoides (EnrF= 1.6, $-\log_{10} p = 1.5$), todas relacionadas con la síntesis de compuestos fenólicos. Por su parte, en la línea OUM05-30 sobresalieron los enriquecimientos del metabolismo de esfingolípidos (EnrF= 3.3, $-\log_{10} p = 1.9$), y biosíntesis de pantotenato y CoA (EnrF= 2.6, $-\log_{10} p = 1.6$), las cuales se encuentran vinculadas con la regulación del metabolismo lipídico y la disponibilidad de CoA. En la línea OUM25-34 se observaron tendencias de enriquecimiento en la biosíntesis de carotenoides (EnrF= 2.1, $-\log_{10} p = 1.2$), biosíntesis de valina, leucina e isoleucina (EnrF= 2.7, $-\log_{10} p = 1.1$) y metabolismo de arginina (EnrF= 2.3, $-\log_{10} p = 1.1$), lo que sugiere una posible participación funcional, aunque sin alcanzar significancia estadística bajo un umbral establecido.

Dado que la línea OUM05-01 presentó el mayor número de rutas enriquecidas, las señales incrementadas en ambos modos de ionización (4939 en total) con $CP \geq 2$ ($p \leq 0.05$) fueron sometidas a identificación tentativa de mediante la base de datos KEGG, disponible para *Gossypium hirsutu*. Como resultado, se identificaron tentativamente 315 metabolitos, posteriormente integrados a un análisis de vías metabólicas.

En el análisis de las vías metabólicas (Fig. 5) mostró mayor impacto en la biosíntesis de flavonas y flavonoides (impacto = 0.8), el metabolismo de galactosa (impacto = 0.7), la biosíntesis de flavonoides (impacto = 0.6), el metabolismo del ácido alfa linolénico (impacto = 0.6) y la biosíntesis de fenilpropanoides (impacto = 0.5), todas con significancia estadística ($FDR \leq 0.05$). Estos resultados mostraron que los metabolitos que aumentaron su acumulación se concentra en rutas de síntesis de compuestos fenólicos.

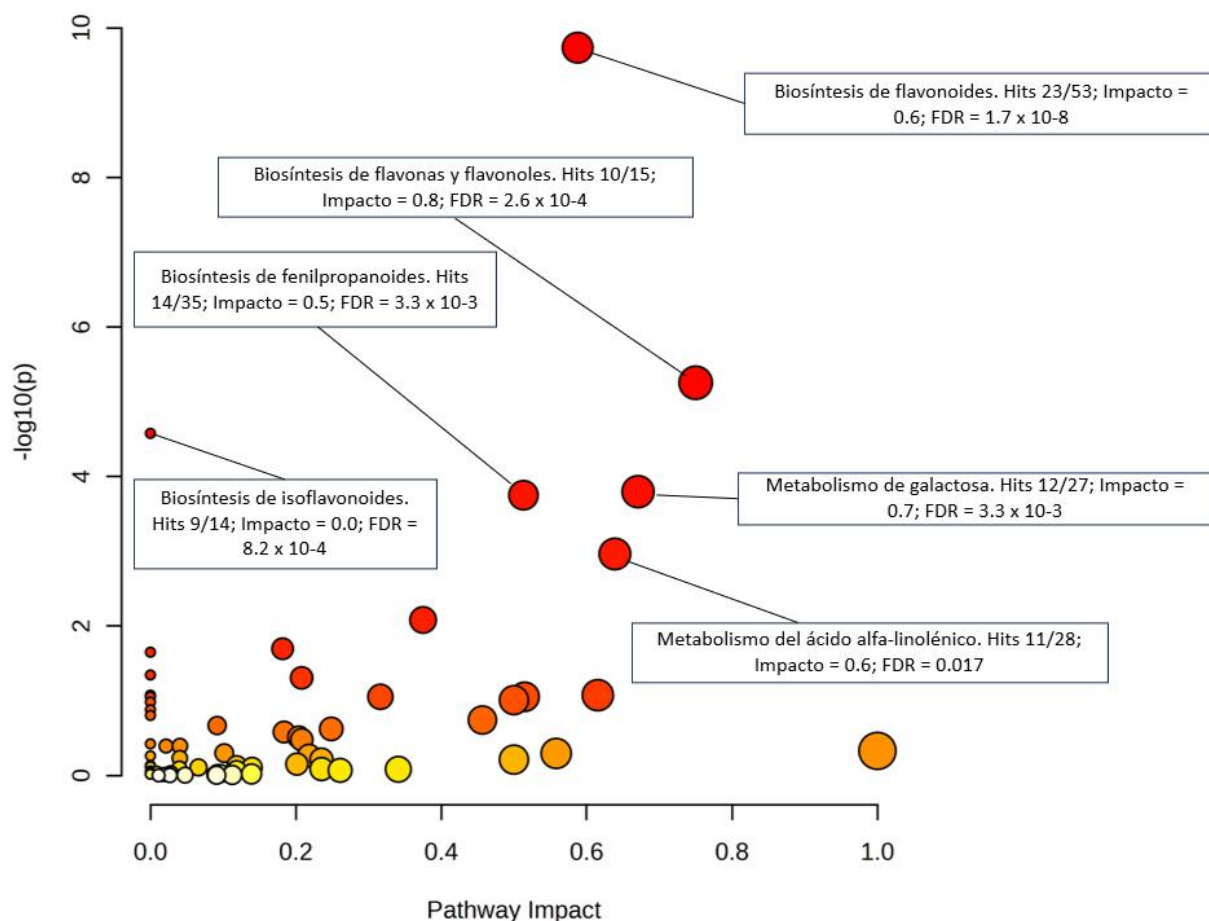


Figura 5. Gráfico de dispersión del impacto de las vías metabólicas identificadas en la línea OUM05-01 de *Opuntia velutina*, a partir del conjunto de metabolitos acumulados ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$). La escala de color, de rojo a amarillo, representa el valor de impacto significativo de cada vía metabólica ($FDR \leq 0.05$).

De manera complementaria, las características tr-m/z fueron analizadas con el software progenesis QI. La identificación tentativa consideró la puntuación global (score), la puntuación de coincidencias de fragmentación (score frg), error de la masa (Error) y similitud isotópica (Sim). Adicionalmente se usaron estándares para 60 compuestos fenólicos, lo que permitió identificar tentativa 16 compuestos en la línea OUM05-01 (Cuadro 3). Estos metabolitos podrían estar relacionados con el potencial antioxidante observado en esta línea, y vinculados a las vías metabólicas con mayor impacto.

Cuadro 3. Identificación tentativa de metabolitos sobre acumulados en la línea mutante OUM05-01 en comparación con OUM00-00 (control)

Progenesis QI											
No	m/z	tr	Nombre tentativo	Formula	Aducto	Score	Score Frg	Error (ppm)	Sim	CP	p valor
1	192.0261n	1.13	Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	M-H ₂ O-H, M-H	58.1	96.4	-4.67	99.26	5.7	9.8 x 10 ⁻⁵
2	271.0595	2.28	Genisteína	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	M+H	43.1	27.1	-2.18	90.81		
3	286.0479n	4.2	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	M+H-H ₂ O, M+H	50.3	53.2	0.56	99.00	0.2	1.97 x 10 ⁻⁵
4	302.0438n	4.8	Isómero de quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	M+H, M+Na, M+H-H ₂ O	45.7	35	3.92	97.99	6.4	6.35 x 10 ⁻⁴
5	325.0125 m/z	4.9	Isómero de luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	M+K	47	44.9	5.64	96.32	-	-
6	341.107	5.19	Trehalosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	M-H	47.1	56.5	-5.58	85.39	6.6	5.33 x 10 ⁻⁴
7	304.0568n	5.23	Taxifolina	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	M-H ₂ O-H, M-H	46.5	46.1	-5.10	92.10	6.9	8.73 x10 ⁻⁴
8	299.0181 m/z	5.43	Miricetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	M-H ₂ O-H	42.4	34.7	-5.09	83.39	-	-
9	151.0025 m/z	6.04	Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	M-H ₂ O-H	44.8	40.2	-6.71	91.64	-	-
10	269.0433 m/z	7.07	Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	M-H	41.2	31	-8.24	83.99	0.2	5.10 x 10 ⁻⁵
11	272.0695n	9.55	Isómero naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	M+H-H ₂ O, M+Na	43	23.3	3.92	96.010	5.3	3.17 x 10 ⁻⁵
12	193.0496 m/z	10.7 8	Isómero de escopoletina	C ₁₀ H ₈ O ₄	M+H	41.7	15.7	0.21	93.21	5.5	5.50 x 10 ⁻⁵
Estándares											
No	m/z	tr	Nombre tentativo	Formula	Aducto			Error (ppm)		CP	p valor
1	175.0233	4.37	Escopoletina	C ₁₀ H ₈ O ₄	M-H ₂ O+H, M-H ₂ O-H, M+Na			-1.62 x 10 ⁻⁸		6.2-8.4	2.00 x 10 ⁻⁴
2	283.0239	6.27	Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	M-H ₂ O-H			-1.29		8.4	1.50 x 10 ⁻³
3	287.0555	6.37	Luteolina	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	M+H			-2.26		0.2	1.75 x 10 ⁻³
4	271.06065	7.03	Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	M-H			-2.40		0.2	5.10 x 10 ⁻⁰⁵

Masa experimental (m/z), tiempo de retención (tr), puntuación global (Score), puntuación de coincidencias de fragmentación (Score Frg), error de la masa (Error), similitud isotópica (Sim), Cambio de pliegue (CP), valor p fue obtenido de la prueba t ($p \leq 0.05$).

Entre los compuestos que aumentaron su acumulación ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$), se identificó tentativamente a quercetina ($CP = 8.4$), taxifolina ($CP = 6.9$), isómeros de quercetina y naringenina ($CP = 6.4$ y 5.3 , respectivamente), todos pertenecientes a las rutas de flavonoides y flavonas. A su vez, se detectó la presencia a escopoletina ($CP = 6.2-8.4$), y posibles isómeros ($CP = 5.5$), asociados a la vía de fenilpropanoides; trehalosa ($CP = 6.6$), en el metabolismo de galactosa; y ácido cítrico ($CP = 5.7$), componente clave en el ciclo TCA y reconocido por su contribución en la neutralización de radicales libres.

7.5. Discusión

La identificación de materiales mejorados generalmente es llevada a cabo a través de la detección de cambios morfológicos, citológicos y bioquímicos (Nadeem y col., 2018; Bhat y col., 2023). Bajo este enfoque, la comparación del contenido y perfil fitoquímico entre el material de referencia y sus variantes génicas, permite identificar materiales elite en la producción de metabolitos de valor comercial y/o nutracéutico.

En este estudio, las variantes de *O. velutina* mostraron incrementos significativos en el CPT y CFT, con aumentos del 5 al 30% y 3 al 20%, respectivamente en comparación al material de referencia. Los materiales OUM25-34 (13.47 ± 0.38 mg EAG/g) y OUM20-24 (7.27 ± 0.24 mg EQ/g) fueron los más destacados. Asimismo, se encontraron incrementos en los contenidos de Ca (5-88%), Cb (18-60%), Ca + Cb (8-150%) y Cx + c (40-96%), donde los materiales OUM25-34 y OUM05-01, presentaron mayor participación. Estos valores, duplicaron lo reportado por Astello-García y col. (2015) en las variedades Copena, Atlitico y Rojo vigor de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*), donde los autores reportaron valores del CPT entre 3.7 y 7.6 mg EAG/g PS, y el CFT entre 5.3-6.1 mg EQ/g PS. De manera semejante, se superaron a los obtenidos por Iftikhar y col. (2023) en cladodios de nopal (*O. ficus-indica*) variedad Meyer, con un contenido de 4 mg EAG/g PS de CPT y 0.6 mg EQ/g PS de CFT, lo que evidencia el potencial diferencial de los genotipos.

Los materiales analizados reflejaron incrementos del 11-67% en el poder reductor del ion férrico. No obstante, se registraron disminuciones en la neutralización de radicales ABTS (-2 a -42%) y DPPH (-18 a -43%). La variación del potencial antioxidante en extractos vegetales está sujeta al tipo y abundancia de metabolitos presentes, además se ve influenciado en gran medida entre géneros y variedades dentro de una misma especie, tal como lo reportado por Astello-García y col. (2015) entre quince variedades de las especies *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha*, *O. megacantha*, *O. albicarpa* y *O. ficus-indica* con valores de 15.7 mg ET/g PS, 9.21 mg ET/g PS, 12.3 mg ET/g PS y 10.1, 127.4 mg ET/g PS, respectivamente, frente al radical DPPH. Estos resultados, son superiores a los reportados en el presente trabajo. Estos resultados sugieren que, aunque los compuestos fenólicos y carotenoides contribuyen significativamente a la actividad antioxidante, otros metabolitos secundarios podrían participar en esta respuesta.

El análisis multivariante mediante ACP y el conglomerado jerárquico, han sido implementados en el análisis de metabolitos secundarios y propiedades bioactivas presentes en especies del género *Opuntia*. Estos métodos permiten explorar información subyacente en un conjunto robusto de datos, identificar patrones que permitan comprender las asociaciones o discrepancias entre variables y facilitar la agrupación de los materiales analizados (Pena-Valdivia y col., 2008; Mangi y col., 2021; Dev y col., 2024).

El ACP en este trabajo explicó un 69% de la variabilidad total a través de los dos primeros componentes, destacándose las variables de CPT, Ca, Ca + Cb, Cb y FRAP, con correlaciones positivas y significativas (Ca y Ca + Cb, $r = 0.91$; CPT y Ca + Cb, $r = 0.86$; CPT y Ca, $r = 0.84$), lo que asoció el incremento en pigmentos fotosintéticos con mayores niveles de compuestos fenólicos, sugiriendo una posible co-regulación metabólica entre ambas rutas biosintéticas en las variantes genéticas de *O. velutina*. En contraste, las variables que contribuyeron al segundo componente, Cb y FRAP, mostraron una correlación negativa ($r = -0.42$), evidenciando que la acumulación de clorofila b no se relaciona con el aumento de la capacidad antioxidante. Adicionalmente, la correlación positiva entre CPT y ABTS ($r = 0.82$) confirma la contribución de los compuestos fenólicos a la actividad antioxidante.

Estos resultados concuerdan parcialmente con lo reportado por Iftikhar y col. (2023) en *O. ficus-indica*, quienes identificaron una asociación directa entre los contenidos fenólicos y la capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana. De manera semejante Astello-García y col. (2015), relacionaron positivamente el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante al analizar 15 materiales de *Opuntia spp* con distinto grado de domesticación. Sin embargo, señalaron que en algunos cultivares la capacidad antioxidante pudo deberse a otros compuestos (vitaminas, carotenos, ascorbato o glutatión), por lo que no encontraron relación entre el grado de domesticación y las variables medidas.

En este estudio, las correlaciones entre pigmentos, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante permitieron explicar la separación de los conglomerados identificados. El conglomerado uno destacó por presentar incrementos significativos en el contenido de CPT (4 y 49%), Ca (9 al 88%), Ca + Cb (12 al 45%), Cx + c (48 al 96%) y FRAP (1 al 67%), así como variaciones en el CFT (- 5 a 20%), Cb (- 40 a 60%) y ABTS (- 17 a 18%). Entre las líneas mutantes analizadas, la variante OUM05-01 presentó los valores más altos de Ca y Cx + c; mayores concentraciones de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, lo que la posicionó como un genotipo con potencial para su selección.

El análisis metabolómico no dirigido, se llevó a cabo en las líneas OUM05-01, OUM05-30 y OUM25-34, con el objetivo de identificar reconfiguraciones metabólicas inducidas por mutagénesis. La integración de los grupos dentro del mapa de calor, demostró una mayor similitud entre el metaboloma global de la línea OUM05-01 y el control, mientras que la línea OUM25-34 y OUM0530 fueron más semejantes entre ellas. Este comportamiento

contrasta con los resultados del análisis de componentes principales (ACP) basado en datos espectrofotométricos, lo cual sugiere la influencia de metabolitos no cuantificados por métodos convencionales.

Los patrones observados en la distribución de las señales diferenciales en las tres líneas mutantes de *O. velutina* (OUM05-01, OUM05-30 y OUM25-34) con respecto al material de referencia, reflejaron ajustes funcionales en las vías metabólicas. Las variaciones entre las magnitudes (CP) de las señales sugirió que cada línea podría estar regulando rutas metabólicas particulares, lo que fue validado a través del análisis funcional, que permitió identificar las rutas alteradas o enriquecidas (EnrF) de cada línea.

Las alteraciones reflejadas en biosíntesis de pantotenato y CoA de la línea OUM05-30, se podrían asociar a la disponibilidad de pantotenato, precursor esencial de la CoA, coenzima clave en el metabolismo energético y síntesis de ácidos grasos, como los esfingolípidos. Los esfingolípidos son lípidos presentes en las células vegetales que forma parte de las membranas células y organelos membranosos, actúan como sensores y moléculas de señalización en la respuesta al estrés o presencia de toxinas (Jiang y col., 2019; Liu y col., 2021; Shomo y col., 2024). El valor del EnrF alcanzado en estas rutas sugiere que las alteraciones genéticas en OUM05-30 pudieron inducir una reconfiguración del metabolismo lipídico, lo que potencialmente podría alterar los mecanismos de defensa frente al daño ambiental o patógenos.

Del mismo modo, la línea OUM25-34 mostró alteraciones en el metabolismo de esfingolípidos (EnrF= 2.01; $-\log_{10}p= 0.94$), junto la biosíntesis de valina, leucina e isoleucina (EnrF = 2.72; $-\log_{10}p = 1.13$) y metabolismo de arginina y prolina (EnrF = 2.26; $-\log_{10}(p) = 1.12$) sugiere un redireccionamiento en la ruta de los aminoácidos de cadena ramificada. Estas rutas están asociado a la respuesta al estrés como osmoreguladores, sustratos alternativos para la formación de ATP y promotores de crecimiento (Yang y col., 2020; Ingrisano y col., 2023), mientras que la arginina funciona como precursor de poliaminas y óxido nítrico y moduladores en la señalización de estrés (Yang y col., 2020; Hussein y col., 2022). Finalmente, el EnrF observado en la vía de biosíntesis de carotenoides en la misma línea podría estar relacionado con los valores obtenidos en la cuantificación espectrofotométrica de clorofilas y carotenoides.

En contraste, la línea OUM05-01 destacaron enriquecimientos significativos en las rutas de biosíntesis de flavonoides, isoflavonoides, y fenilpropanoides, lo que reflejó una reconfiguración del pool de metabolitos fenólicos diferenciales. El impacto de la red metabólica sugiere que los metabolitos acumulados ($CP \geq 2$; $p \leq 0.05$) en esta línea, ocupan posiciones clave dentro de las rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos. Su localización en nodos centrales indica una posible reconfiguración metabólica orientada hacia la síntesis de fenilpropanoides y flavonoides, lo que se encuentra asociado con su perfil enriquecido.

La síntesis de los fenilpropanoides deriva de la ruta del ácido shikímico, siendo los aminoácidos como fenilalanina y tirosina sus principales precursores. De acuerdo con su estructura química, los fenilpropanoides pueden clasificarse en cinco grupos: estilbenos, cumarinas, monolignoles, ácidos fenólicos y flavonoides (Deng y Lu, 2017), siendo estos tres grupos finales los más abundantes. Tanto los ácidos fenólicos como los flavonoides han demostrado propiedades inmunomodulatorias, antivirales, antimicrobianas, antiinflamatorias, anticancerígenas y antioxidantes, entre otras (Izuegbuna, y col., 2019; Khazdair y col., 2021; Burgos y col., 2022; dos Santos y col., 2024).

En la fitoquímica de cladodios de nopal, se han reportado diversos ácidos fenólicos, entre ellos: ácido ferúlico, ácido p-cumárico, vainillina, ácido 4-hidroxibenzoico y ácido gálico (Aruwa y col., 2019; Iftikhar y col., 2023; Elouazkiti y col., 2024), siendo este último uno de los compuestos tentativamente identificados en la línea OUM05-01. En este mismo sentido, entre los subgrupos de flavonoides presentes en nopal se han identificado flavanonas como hesperidina y naringenina; flavonas como apigenina, luteolina, diosmetina; y flavonoles como kaempferol, isorhamnetina, quercetina, rhamnetina y taxifolina (Aruwa y col., 2019; Iftikhar y col., 2023; Elouazkiti y col., 2024).

Los compuestos putativamente identificados en la línea OUM05-01, son consistentes con varios metabolitos pertenecientes a estos subgrupos, incluyendo naringenina, apigenina, luteolina, genisteína, quercetina, kaempferol, taxifolina y miricetina. Entre estos, quercetina y taxifolina mostraron incrementos significativos ($CP = 8.4$ y 6.8 , respectivamente; $p \leq 0.05$) en su abundancia con relación al material de referencia. Ambos compuestos, además de su capacidad antioxidante, poseen posiciones nodales en la red metabólica, siendo precursores en la biosíntesis de antocianinas, isoharmente y rhamnetina.

Por otra parte, aunque el enfoque principal de esta línea se centró en compuestos fenólicos, también se identificó un incremento significativo en la abundancia del ácido cítrico ($CP = 5.7$; $p \leq 0.05$) con relación al control. El ácido cítrico es un ácido orgánico que, además, de participar en rutas centrales como el ciclo de Krebs, ha reportado múltiples propiedades bioactivas. Entre ellas han destacado sus propiedades antimicrobianas, como coadyuvante en la biodisponibilidad de minerales esenciales como el hierro, facilitando su absorción intestinal (Książek, 2023). Asimismo, se le atribuyen efectos anticoagulantes, antiinflamatorios y antioxidantes (Scaravilli y col., 2018; Singh y col., 2022). Estas propiedades pudieron haber contribuido, en conjunto con los compuestos fenólicos, a una mayor capacidad neutralizante de los radicales.

A pesar de la escasa evidencia previa sobre la presencia de cumarinas en especies del género *Opuntia*, en esta investigación se detectó la presencia de escopoletina en la línea OUM05-01. Este compuesto es un metabolito derivado de la vía de los fenilpropanoides, cuya síntesis requiere como precursores al ácido p-cumárico y ácido cafeico. Ambos previamente

identificados en cladodios de nopal de *O. ficus-indica*, *O. robusta* y *O. leucotricha* (Guevara-Figueroa y col., 2010; El-Hawary y col., 2020; Ben-Lataief y col., 2021), lo que sugiere la disponibilidad de las rutas necesarias para la biosíntesis de escopoletina. A su vez, el ácido p-cumárico, se reconoce como un eslabón entre las rutas de biosíntesis de flavonoides y cumarinas, lo cual apoya la hipótesis de que estas rutas metabólicas están funcionalmente activas en algunas especies de nopal y posiblemente modificadas en el caso particular de la línea OUM05-01.

7.6. Conclusión

Las variaciones genéticas inducidas mediante irradiación gamma en *O. velutina* modificaron el perfil metabolómico de las líneas analizadas, evidenciándose un aumento en la acumulaciones compuestos fenólicos con actividad antioxidante. La línea OUM05-01 destacó por la reconfiguración de rutas biosintéticas clave y variación fitoquímica respecto al material de referencia, lo que sugiere un potencial funcional y adaptativo diferencial atribuible a las mutaciones inducidas. No obstante, la diversidad metabólica observada en las líneas OUM05-30 y OUM25-34 confirma la capacidad de la mutagénesis por radiación gamma para generar variabilidad metabólica y ampliar la base de recursos genéticos en esta especie.

7.7. Literatura citada

- Abdel-Hameed, E. S. S., Nagaty, M. A., Salman, M. S., y Bazaid, S. A. 2014. Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food chemistry* 160: 31-38.
- Abdelnour-Esquivel, A.; Pérez, J.; Rojas, M.; Vargas, W y Gatica-Arias, A. 2020. Use of gamma radiation to induce mutations in rice (*Oryza sativa* L.) and the selection of lines with tolerance to salinity and drought. *In Vitro Cellular y Developmental Biology-Plant* 56:88-97.
- Aruwa, C. E., Amoo, S., y Kudanga, T. 2019. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. *Food science and technology* 111: 337-344.
- Astello-García M., Santos Díaz M., Reyes-Agüero A., y Barba de la Rosa, A. 2012. *Opuntia* spp. as a Source of Bioactive Compounds. In *Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds* 101-111.
- Astello-García, M. G., Cervantes, I., Nair, V., del Socorro Santos-Díaz, M., Reyes-Agüero, A., Guéraud, F., y de La Rosa, A. P. B. 2015. Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 119-130.
- Bärlocher, F., y Graça, M. A. 2020. Total phenolics. *Methods to study litter decomposition: a practical guide* 157-161.
- Ben-Lataief, S., Zourgui, M. N., Rahmani, R., Najjaa, H., Gharsallah, N., y Zourgui, L. 2021. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of bioactive

compounds extracted from *Opuntia dillenii* cladodes. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15: 782-794.

- Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Bains, G., Cappellucci, G., y Miraldi, E. 2021. Polyphenols: From theory to practice. *Foods* 10(11): 2595.
- Bhat, R. S., Brijesh Patil, M. P., Tilak, I. S., y Shirasawa, K. 2023. Molecular Markers for Mutant Characterization. *Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience* 205-232.
- Burgos, C., Alfonso, L., Ferro, E., y Langjahr, P. 2022. Immunomodulatory activity of species of the genus *Baccharis*. *Revista Paraguaya de Reumatología* 8(1): 45-50.
- Chiriac, E. R., Chițescu, C. L., Geană, E. I., Gird, C. E., Socoteanu, R. P., y Boscencu, R. 2021. Advanced analytical approaches for the analysis of polyphenols in plants matrices—A review. *Separations* 8(5): 65.
- Dai, J., y Mumper, R. J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15(10): 7313-7352.
- Deng, Y., y Lu, S. (2017). Biosynthesis and regulation of phenylpropanoids in plants. *Critical reviews in plant sciences* 36(4): 257-290.
- Dev, R., Mangalassery, S., Dayal, D., Louhaichi, M., y Hassan, S. 2024. Genetic variability, characters association and principal component study for morphological and fodder quality of *Opuntia* and *Nopalea* sp. in India. *Genetic Resources and Crop Evolution* 71(5): 2297-2310.
- dos Santos Nunes, M. K., Júnior, J. V. C., de Souza, F. S., Andrade, P. N., de Castro, R. D., Pêsoa, H. D. L. F., y da Silveira, R. D. C. 2024. Efeito antimicrobiano do ácido ferúlico: uma revisão integrativa de bioensaios. *Revista Eletrônica Acervo Saúde* 24(4): e16186-e16186.
- El-Hawary, S. S., Sobeh, M., Badr, W. K., Abdelfattah, M. A., Ali, Z. Y., El-Tantawy, M. E., y Wink, M. 2020. HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* cladode, peel and fruit pulp extracts and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(10): 2829-2838.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbij, M. H. S. y Cherkaoui-Malki, M. 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules* 19 (9): 14879-14901.
- Elouazkiti, M., Elyacoubi, H., Gadhi, C., Bouamama, H., y Rochdi, A. 2024. Proximate nutritive values, antioxidant capacity, antimicrobial properties and profiling the chemical content of *Opuntia stricta* cladodes and fruit peel by HPLC–DAD-ESI/MS analyses. *Natural Product Research* 1-12.
- Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L. W., y de la Rosa, A. P. B. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of food composition and análisis* 23(6): 525-532.
- Hussein, H. A. A., Alshammari, S. O., Kenawy, S. K., Elkady, F. M., y Badawy, A. A. (2022). Grain-priming with L-arginine improves the growth performance of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under drought stress. *Plants* 11(9): 1219.

- Iftikhar, K., Siddique, F., Ameer, K., Arshad, M., Kharal, S., Mohamed Ahmed, I. A., y Aziz, N. 2023. Phytochemical profiling, antimicrobial, and antioxidant activities of hydroethanolic extracts of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit and pulp. *Food Science y Nutrition*, 11(4): 1916-1930.
- Ingrisano, R., Tosato, E., Trost, P., Gurrieri, L., y Sparla, F. 2023. Proline, cysteine and branched-chain amino acids in abiotic stress response of land plants and microalgae. *Plants* 12(19): 3410.
- Izu Ngbuna, O., Otunola, G., y Bradley, G. 2019. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of *Opuntia stricta* cladodes. *Plos one* 14(1), e0209682.
- Jiang, Z., Zhou, X., Tao, M., Yuan, F., Liu, L., Wu, F., y Pei, Z. M. 2019. Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca²⁺ influx. *Nature* 572(7769): 341-346.
- Khazdair, M. R., Anaeigoudari, A., y Agbor, G. A. 2021. Anti-viral and anti-inflammatory effects of kaempferol and quercetin and COVID-2019: A scoping review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 11(8): 327-334.
- Kontogianni, V. G. 2014. Novel techniques towards the identification of different classes of polyphenols. *Academic Press: Polyphenols in plants* 159-185.
- Książek, E. 2023. Citric acid: properties, microbial production, and applications in industries. *Molecules* 29 (1): 22.
- Le, K.C.; Ho, T.T.; Paek, K.Y. y Park, S.Y. 2019. Low dose gamma radiation increases the biomass and ginsenoside content of callus and adventitious root cultures of wild ginseng (*Panax ginseng* Mayer). *Industrial Crops and Products* 130:6-24.
- Lichtenthaler, H. K., y Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry* 1(1): F4-3.
- Liu, N. J., Hou, L. P., Bao, J. J., Wang, L. J., y Chen, X. Y. 2021. Sphingolipid metabolism, transport, and functions in plants: Recent progress and future perspectives. *Plant communications* 2(5).
- Mangi, N., Baloch, A. W., Khaskheli, N. K., Ali, M., y Afzal, W. 2021. Multivariate analysis for evaluation of mutant bread wheat lines using metric traits. *Integrative Plant Sciences* 1(1): 29-34.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., y Baloch, F. S. 2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology y Biotechnological Equipment* 32(2): 261-285.
- Oh, M.; Park, S.; Kim, H.; Choi, G.J.; Kim, S.H. 2021. Application of UPLC-QTOF-MS Based Untargeted Metabolomics in Identification of Metabolites Induced in Pathogen-Infected Rice. *Plants* 10:213.
- Pena-Valdivia, C. B., Luna-Cavazos, M., Carranza-Sabas, J. A., Reyes-Agueero, J. A., y Flores, A. 2008. Morphological characterization of *Opuntia* spp.: a multivariate analysis. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 10(1): 1-21.
- Rubio-Ochoa, E., De la Cruz-Torres, E., Olalde-Portugal, V., Pérez-Sánchez, R. E., Gómez-Leyva, J. F., García-Saucedo, P.A. 2024. Mutagénesis por radiación gamma para mejora genética de plantas de importancia alimentaria. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 15(5).

- Sallam, I. E., Rolle-Kampczyk, U., Schäpe, S. S., Zaghloul, S. S., El-Dine, R. S., Shao, P., y Farag, M. A. 2022. Evaluation of antioxidant activity and biotransformation of *Opuntia ficus* fruit: the effect of *in vitro* and *ex vivo* gut microbiota metabolism. *Molecules* 27(21): 7568.
- Scaravilli, V., Di Girolamo, L., Scotti, E., Busana, M., Biancolilli, O., Leonardi, P., y Zanella, A. 2018 . Effects of sodium citrate, citric acid and lactic acid on human blood coagulation. *Perfusion* 33(7): 577-583.
- Serrano, M.K., Gómez, F.C., Cruz, S., Spinoso, J.L. y Bello, J.J. 2022. Gamma radiation (60Co) induces mutation during *in vitro* multiplication of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews). *Horticulturae* 8(6): 503.
- Sharma, V.; Thakur, M. y Tomar, M. 2020. *In vitro* selection of gamma irradiated shoots of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. zingiberi and molecular analysis of the resistant plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC) 143:319-330.
- Shomo, Z. D., Li, F., Smith, C. N., Edmonds, S. R., y Roston, R. L. 2024. From sensing to acclimation: The role of membrane lipid remodeling in plant responses to low temperatures. *Plant Physiology* 196(3): 1737-1757.
- Silva, M. A., Albuquerque, T. G., Pereira, P., Ramalho, R., Vicente, F., Oliveira, M. B. P., y Costa, H. S. 2021. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: A Multi-Benefit Potential to Be Exploited. *Molecules* 26(4): 951.
- Singh, S. K., Kaldate, R., y Bisht, A. 2022. Citric acid, antioxidant effects in health. En: *Antioxidants effects in health* (Ed) Elsevier. Pp. 309-322.
- Siracusa, L., y Ruberto, G. 2014. Plant polyphenol profiles as a tool for traceability and valuable support to biodiversity. En *Polyphenols in plants* (Ed) Academic Press. pp. 15-33
- Tilahun Y., y Welegerima, G. 2018. Pharmacological potential of cactus pear (*Opuntia ficus Indica*): A review. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry* 7; (3):1360-1363.
- Tranquilino-Rodríguez, E., H. E., Martínez-Flores, J. O., Rodiles-López, J. D., Dios Figueroa-Cárdenas y R. E., Pérez-Sánchez. 2020. Optimization in the extraction of polyphenolic compounds and antioxidant activity from *Opuntia ficus-indica* using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*. 44(6).
- Udage, A.C., 2021. Introduction to plant mutation breeding: different approaches and mutagenic agents. *The journals of agricultural Sciences–Sri Lanka* 16: 466-483
- Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H. E., y García-Pérez, M. E. 2017. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas* 16: 15-29.
- Viñas, P., y Campillo, N. 2019. Gas Chromatography: Mass spectrometry analysis of polyphenols in foods. En: *Polyphenols in plants* (Ed) Academic Press. pp. 285-316
- Wang, F.; Liu, H.; Huang, Z.; Zhang, Y.; Lu, Y. y Zhou, Y. 2024. evaluation of whitening effects and identification of potentially active compounds based on untargeted metabolomic analysis in different chrysanthemum cultivar extracts. *Antioxidants*. 13: 1557.
- Weber, F., y Passon, M. (2019). Characterization and quantification of polyphenols in fruits. En: *Polyphenols in plants* (Ed) Academic Press. pp 111-121.
- Yang, Q., Zhao, D., y Liu, Q. 2020. Connections between amino acid metabolisms in plants: lysine as an example. *Frontiers in Plant Science* 11: 928. *Frontiers in Plant Science* 11: 928.

VIII. Discusión general

La irradiación gamma es una herramienta efectiva para inducir variabilidad genética en plantas de interés agronómico, debido a su capacidad para generar mutaciones heredables sin introducir material genético externo (FAO/OIEA, 2021; IAEA, 2023). En *Opuntia velutina*, especie del género *Opuntia*, cuya propagación sexual presenta limitaciones y donde los métodos convencionales de mejoramiento resultan poco eficientes (Mazri, 2018; Omar, 2021), la inducción de mutagénesis mediante radiación gamma representó una estrategia viable para la obtención de variantes con características diferenciadas en distintos niveles de organización.

La determinación de la DL_{50} en 22.8 Gy mostró que los meristemos de *O. velutina* presentan una sensibilidad semejante con lo reportado en especies como *A. tequilana* (26 Gy) y *Citrus spp.* (25-26 Gy) (Ángeles-Espino y col., 2013; Pérez-Jiménez y col., 2020). En las primeras generaciones, la exposición a los rayos gamma indujo respuestas transitorias consistentes con un efecto hormético, caracterizado por la estimulación del crecimiento bajo dosis bajas y la inhibición letal a dosis elevadas (Volkova y col., 2022; Spencer y col., 2021; Rubio-Ochoa y col., 2024). Este fenómeno se ha relacionado con la activación de mecanismos de defensa que, fomentan la tolerancia a condiciones de estrés abiótico como sequía, salinidad y temperaturas extremas, mediante la inducción de rutas antioxidantes y osmoprotectoras (Katiyar y col., 2022). Este tipo de respuestas se ha descrito como una forma de resistencia adquirida, donde la exposición inicial al estrés por irradiación desencadena mecanismos de adaptación frente a condiciones posteriores (Villegas y col., 2025). No obstante, es fundamental considerar que dicha tolerancia está sujeta al umbral de sensibilidad propio de cada genotipo, ya que dosis superiores pueden comprometer la viabilidad celular y la integridad genética de los materiales irradiados.

Dados los efectos observados fueron transitorios en las primeras generaciones, la evaluación morfológica se extendió hasta la cuarta generación, donde se identificaron incrementos estables en longitud y grosor de cladodios, así como en el número de brotes y raíces. En consecuencia, la selección de materiales en generaciones posteriores se vuelve indispensable para descartar quimeras y fijar las mutaciones de interés, tal como ha sido señalado en otros programas de mutagénesis vegetal (Toker y col., 2007; Sharman y Thakur, 2021; Rubio-Ochoa y col., 2025).

El análisis multivariado permitió discriminar grupos con características fenotípicas diferenciadas, lo cual confirma la utilidad de este enfoque para clasificar accesiones con base en variaciones estructurales (Zulfiqar y col., 2021). Asimismo, la validación molecular mediante ISSR corroboró la existencia de polimorfismo en las líneas irradiadas, descartando la influencia de la micropropagación como fuente de variabilidad, dado que la regeneración a partir de brotes axilares no induce desdiferenciación celular (Evanno y col., 2005; Bouzroud y col., 2022). Los porcentajes de polimorfismo obtenidos (hasta 84.6%) se encuentran dentro del rango reportado para otros cultivos sometidos a irradiación gamma, como pitaya (71.6%)

(Deng y col., 2020), tomate (40%) (El-Fiki y col., 2021) y banana (47%) (Due y col., 2019). Por lo tanto, estos resultados confirman la eficacia de la radiación gamma como generadora de diversidad genética.

La variabilidad genética se reflejó diferencias fitoquímicas y metabolómicas entre las líneas irradiadas y el control. En la presente investigación, se registraron incrementos significativos en CPT (5-30%) y CFT (3-20%), con valores superiores a los descritos en cladodios comerciales de *O. ficus-indica* (Astello-García y col., 2015; Iftikhar y col., 2023). Asimismo, se observaron aumentos en pigmentos fotosintéticos (Ca, Cb y Cx), particularmente en OUM05-01 y OUM25-34. Del mismo modo, se evidenció correlación positiva entre Ca y Ca + Cb ($r = 0.91$); CPT y Ca + Cb, ($r = 0.86$), CPT y Ca ($r = 0.84$) y CPT y CFT ($r = 0.76$). Estos resultados sugieren una co-regulación metabólica entre las rutas de fenilpropanoides y fotosíntesis, fenómeno previamente descrito en especies de *Opuntia* y otros cultivos (Pena-Valdivia y col., 2008; Mangi y col., 2021; Dev y col., 2024).

Los ensayos antioxidantes revelaron un comportamiento heterogéneo. Algunas líneas mostraron incrementos en su poder reductor (OUM05-01, OUM10-15, OUM15-09, OUM20-24, OUM20-29, y OUM25-34), mientras que otras presentaron reducciones en la capacidad de neutralizar radicales libres mediante DPPH y ABTS (OUM05-09, OUM05-22, OUM05-30 y OUM20-35). Este comportamiento, aunque contrastante, resulta coherente con lo señalado por Astello-García y col. (2015), quienes reportaron que la capacidad antioxidante en *Opuntia* no depende únicamente de los polifenoles, sino también de metabolitos como carotenoides, vitaminas, glutatión y ascorbato. La correlación positiva entre CPT y ABTS en este estudio refuerza el papel central de los compuestos fenólicos como principales contribuyentes en la actividad antioxidante, sin excluir la participación de otros metabolitos.

El análisis metabolómico no dirigido evidenció reconfiguraciones globales del metaboloma inducidas por la irradiación gamma en las tres líneas analizadas (OUM05-01, OUM05-30 y OUM25-34). La línea OUM05-30 mostró alteraciones en el metabolismo de esfingolípidos y biosíntesis de pantotenato y CoA, mientras que OUM25-34 presentó cambios en la biosíntesis de carotenoides y aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina).

La línea OUM05-01 presentó enriquecimientos en rutas de flavonoides, isoflavonoides y fenilpropanoides, con identificación tentativa de compuestos bioactivos como quercetina, taxifolina y naringenina. Estos metabolitos poseen un reconocido potencial nutracéutico respaldado por estudios recientes que han mostrado efectos cardiovasculares al reducir la presión arterial y mejorar la función endotelial, neurocognitiva, hepatoprotector, además de propiedades anticancerígena, antiinflamatorias y antioxidantes en distintos modelos biológicos (Mahmoud y col., 2019; Aghababaei y Hadidi, 2023; Jain y Vaidya, 2023; Carrillo-Martínez y col., 2024).

De manera paralela en la línea OUM05-01, también se detectó la presencia de escopoletina, cuya detección en especies del género *Opuntia* ha sido escasamente documentada. Este metabolito se origina en la vía de los fenilpropanoides, a partir de precursores como el ácido p-cumárico y al ácido cafeico, previamente descritos en cladodios de *O. ficus-indica*, *O. robusta* y *O. leucotricha* (Guevara-Figueroa y col., 2010; El-Hawary y col., 2020; Ben-Lataief y col., 2021). La presencia de escopoletina en OUM05-01 sugiere que las rutas metabólicas responsables de su síntesis se encuentran activas y posiblemente reconfiguradas en esta línea mutante, lo que aporta evidencia sobre la capacidad de la irradiación gamma para inducir modificaciones funcionales en el metabolismo secundario de *Opuntia*.

En conjunto, los resultados indican que la reconfiguración metabólica observada constituye una respuesta a la variabilidad genética inducida por la irradiación gamma (Yang y col., 2020; Ingrisano y col., 2023; Hussein y col., 2022); y confirman que la irradiación gamma en *O. velutina* generó variabilidad heredable con manifestaciones fenotípicas, genéticas y metabolómicas.

IX. Perspectivas

La irradiación gamma en *O. velutina* permitió generar un mayor acervo de variantes con diferencias morfológicas, genéticas y metabolómicas, que amplían los antecedentes del fitomejoramiento de la especie. Si bien la línea OUM05-01 se destacó por su perfil fenotípico y metabolómico, resulta esencial su validación en campo, desarrollo fenológico y desempeño bajo condiciones ambientales, aunado a su valoración nutricional. Además, la variabilidad inducida incluye genotipos con modificaciones en pigmentos fotosintéticos, metabolismo lipídico y rutas de aminoácidos, lo que representa un recurso no solo para la selección de materiales con potencial agronómico y nutraceutico, sino también para la identificación de líneas con tolerancia diferencial a factores abióticos y bióticos. Debido a lo anterior se posicionan a la mutagénesis inducida por radiación gamma como una estrategia eficaz para diversificar el germoplasma de *O. velutina* y generar materiales con aplicaciones en programas de mejoramiento y biotecnología vegetal.

X. Literatura complementaria

- Katiyar, P., Pandey, N., y Keshavkant, S. 2022. Gamma radiation: A potential tool for abiotic stress mitigation and management of agroecosystem. *Plant stress*, 5: 100089.
- Villegas, D., Sepúlveda-Hernández, C., Salamé, M. J., y Poupin, M. J. 2025. Enhancing growth and salinity stress tolerance in Arabidopsis with low-dose gamma radiation priming through a hormesis approach. *Plant Stress*, 16: 100834.
- Jain, S., y Vaidya, A. 2023. Comprehensive review on pharmacological effects and mechanism of actions of taxifolin: A bioactive flavonoid. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 7: 100240.
- Aghababaei, F., y Hadidi, M. 2023. Recent advances in potential health benefits of quercetin. *Pharmaceuticals*, 16(7): 1020.
- Mahmoud, A. M., Hernandez Bautista, R. J., Sandhu, M. A., y Hussein, O. E. 2019. Beneficial effects of citrus flavonoids on cardiovascular and metabolic health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, (1): 5484138.
- Carrillo-Martinez, E. J., Flores-Hernández, F. Y., Salazar-Montes, A. M., Nario-Chaidez, H. F., y Hernández-Ortega, L. D. 2024. Quercetin, a flavonoid with great pharmacological capacity. *Molecules*, 29(5): 1000.

XI. Anexos I

Cuadro 1. Medidas morfológicas de cladodios de nopal verdura (*Opuntia velutina*) *in vitro* irradiación con rayos gamma de la cuarta generación

Línea (OUM)	Eje longitudinal (mm)		Eje horizontal (mm)		Eje transversal (mm)	
	Media ± DS	Grupo	Media ± DS	Grupo	Media ± DS	Grupo
00-00	18.7 ± 1.4	bcdefghijklmno	4.7 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRST U	3.2 ± 0.4	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
05-01	33.1 ± 2.5	BCD	3.9 ± 0.4	NOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
05-02	24.6 ± 1.8	OPQRSTUVWXYZ	3.3 ± 0.3	efghijklmnop	2.5 ± 0.4	efghi
05-03	28.1 ± 1.2	GHIJKLM	3.4 ± 0.5	abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
05-04	26.8 ± 0.8	JKLMNOPQ	3.5 ± 0.8	Zabcdefghijklmnop	2.8 ± 0.3	VWXYZ abcdefghi
05-05	22.1 ± 0.5	UVWXYZ[\]^_`a	3.7 ± 0.3	UVWXYZabcdefghijklmnop	3.0 ± 0.0	STUVWXYZ abcdefghi
05-06	30.0 ± 0.6	EFGHI	3.6 ± 0.2	WXYZabcdefghijklmnop	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefgh
05-07	20.4 ± 0.7	]\^_`abcdefghijkl	4.0 ± 0.01	KLMNOPQRSTUVWX abcdefghijkl	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
05-08	22.8 ± 0.4	TUVWXYZ[\]^_`	2.9 ± 0.4	mnop	2.9 ± 0.4	TUVWXYZ abcdefghi
05-09	31.4 ± 0.7	CDEF	4.3 ± 0.04	HIJKLMNOPQRSTUVWXY Zabcdef	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
05-10	25.2 ± 0.7	LMNOPQRSTUV	4.3 ± 0.04	HIJKLMNOPQRSTUVWXY Zabcdef	2.8 ± 0.2	WXYZ abcdefghi
05-11	9.1 ± 0.2	P1Q1R1S1T1U1V1W 1X1	2.9 ± 0.2	nop	2.6 ± 0.1	abcdefghijkl
05-12	18.5 ± 0.5	cdefghijklmnop	3.5 ± 0.2	YZ abcdefghijklmnop	2.8 ± 0.4	XYZ abcdefghi
05-13	30.1 ± 0.8	DEFG	4.5 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWX YZ a	3.7 ± 0.0	FGHIJKLMNOPQRSTUVWXY
05-14	12.4 ± 1.1	A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1M1N1	3.8 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
05-15	25.1 ± 0.9	MNOPQRSTUVW	4.2 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXY Z abcdefgh	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
05-16	24.2 ± 0.2	PQRSTUVWXYZ[	3.6 ± 0.2	WXYZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.2	UVWXYZ abcdefghi
05-18	10.4 ± 0.4	K1L1M1N1O1P1Q1 R1S1T1U1V1	3.5 ± 0.2	XYZ abcdefghijklmnop	2.7 ± 0.0	Z abcdefghi

05-19	9.3± 0.04	O1P1Q1R1S1T1U1V 1W1X1	4.0 ± 0.02	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.0 ± 0.3	STUVWXYZ abcdefghi
05-21	22.02 ± 0.3	WXYZ[\]^_`a	3.9 ± 0.1	NOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
05-22	26.1 ± 0.5	JKLMNOPQR	2.9 ± 0.2	nop	2.6 ± 0.2	bcdefghi
05-23	24.8 ± 0.8	NOPQRSTUVWXYZ	3.9 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.8 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU
05-24	38.6 ± 0.6	A	4.8 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRST	3.8 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU
05-25	11.0 ± 1.0	H1I1J1K1L1M1N1O 1P1Q1R1S1T1	4.4 ± 0.4	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abc	4.1 ± 0.2	BCDEFGHIJKLMNOP
05-26	15.8 ± 0.4	opqrstuvwxyz{ }~•	3.3 ± 0.3	efghijklmnop	2.9 ± 0.2	UVWXYZ abcdefghi
05-27	12.7 ± 0.7	A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1M1	3.4 ± 0.2	bcdefghijklmnop	2.5 ± 0.4	cdefghi
05-28	21.7 ± 1.5	XYZ[\]^_`ab	4.2 ± 0.3	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghi	4.1 ± 0.1	BCDEFGHIJKLMNOPQ
05-29	16.8± 0.4	lmnopqrstuvwxyz	2.9 ± 0.1	mnop	2.4 ± 0.1	fghi
05-30	9.2 ± 0.5	O1P1Q1R1S1T1U1V 1W1X1	4.6 ± 0.2	EFGHIJKLMNOPQRSTUV WX	3.9 ± 0.1	CDEFGHIJKLMNOPQRS
05-31	26.1 ± 0.6	JKLMNOPQRS	4.9 ± 0.2	BCDEFGHIJKLMNOP	4.3 ± 0.3	BCDEFGHIJKL
05-38	30.2 ± 1.9	DEFG	4.6 ± 0.2	EFGHIJKLMNOPQRSTUV WX	3.8 ± 0.4	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU W
05-39	6.9 ± 0.4	W1X1Y1Z1	3.8 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.3 ± 0.3	NOPQRSTUVWXYZ abcdefg
05-41	22.7 ± 0.9	TUVWXYZ[\]^_`	4.1 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghi	2.9 ± 0.2	UVWXYZ abcdefghi
05-48	16.1 ± 0.2	nopqrstuvwxyz{ }~	4.9 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQ	4.4 ± 0.2	BCDEFGHIJ
05-51	16.9 ± 0.4	klmnopqrstuvw	4.3 ± 0.3	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abcde	3.6 ± 0.4	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
05-52	24.8 ± 1.3	NOPQRSTUVWXYZ	3.0 ± 0.0	klmnop	2.7 ± 0.3	YZ abcdefghi
05-53	9.0 ± 0.3	Q1R1S1T1U1V1W1 X1	3.8 ± 0.2	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefgh
05-54	24.8 ± 1.2	NOPQRSTUVWXYZ	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abc	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
05-55	14.9 ± 0.2	stuvwxyz { }~• A1B1C1D1E1	5.7 ± 0.3	ABC	4.7 ± 0.3	BCD
05-56	16.3± 0.3	mnopqrstuvwxyz {	3.8 ± 0.4	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.3 ± 0.3	MNOPQRSTUVWXYZ abcdef

05-57	23.0 ± 0.6	STUVWXYZ[\]^_	4.3 ± 0.3	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ Z abcdefg	3.3 ± 0.3	NOPQRSTUVWXYZ abcdefg
05-58	14.6 ± 0.7	Uvwxyz {}~• A1B1C1D1E1F1	4.8 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRS	3.9 ± 0.1	CDEFGHIJKLMNOPQRS
05-70	17.2 ± 0.4	ijklmnopqrstuv	4.0 ± 0.8	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.3 ± 0.3	NOPQRSTUVWXYZ abcdefg
10-01	25.2 ± 0.4	KLMNOPQRSTU	3.5 ± 0.2	XYZ abcdefghijklmnop	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
10-07	24.8 ± 0.2	NOPQRSTUVWXYZ	4.1 ± 0.1	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghij	3.4 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcde
10-11	16.6 ± 0.4	lmnopqrstuvwxyz	3.5 ± 0.4	XYZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
10-12	13.2 ± 0.6	}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1	3.8 ± 0.4	STUVWXYZ abcdefghijklmno	3.1 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefgh
10-13	34.1 ± 1.6	BC	5.4 ± 0.3	BCDEFG	3.3 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdef
10-15	39.0 ± 0.6	A	4.7 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRST U	3.8 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU
10-16	19.0 ± 1.5	abcdefghijklmn	4.1 ± 0.1	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghij	3.7 ± 0.3	EFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
10-17	28.0 ± 0.3	GHIJKLM	4.6 ± 0.2	EFGHIJKLMNOPQRSTU WX	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
10-25	25.6 ± 1.3	JKLMNOPQRST	4.8 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRS	4.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQ
10-28	15.4 ± 0.5	qrstuvwxyz {}~• A1B1C1	3.3 ± 0.4	fghijklmnop	2.8 ± 0.2	XYZ abcdefghi
10-30	16.6 ± 0.4	lmnopqrstuvwxyz	5.6 ± 0.1	ABCDE	4.6 ± 0.2	BCDEFGH
10-33	17.4 ± 0.8	ghijklmnopqrstuv	3.7 ± 0.3	UVWXYZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.2	UVWXYZ abcdefghi
10-34	18.1 ± 0.7	efghijklmnopqr	4.8 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQR	4.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQ
10-36	16.3 ± 0.05	nopqrstuvwxyz {}	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ ab	3.8 ± 0.3	DEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ X
10-37	14.7 ± 0.7	tuvwxyz {}~• A1B1C1D1E1F1	3.8 ± 0.4	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.2 ± 0.4	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
10-39	28.3 ± 0.7	FGHIJK	4.7 ± 0.0	CDEFGHIJKLMNOPQRST U	4.2 ± 0.2	BCDEFGHIJKLMN
10-40	17.3 ± 0.3	hijklmnopqrstuv	4.0 ± 0.0	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.8 ± 0.4	DEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ X
10-41	17.8 ± 0.4	ghijklmnopqrst	3.4 ± 0.2	bcdefghijklmnop	2.4 ± 0.1	fghi

10-46	15.1 ± 0.4	rstuvwxyz {}~• A1B1C1D1	3.5 ± 0.2	YZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.2	UVWXYZ abcdefghi
10-50	28.1 ± 0.6	GHIJKLM	3.6 ± 0.1	VWXYZ abcdefghijklmnop	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
10-51	12.7 ± 0.6	A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1M1	5.0 ± 0.0	BCDEFGHIJKLM	4.6 ± 0.1	BCDEFG
15-01	22.1 ± 0.6	VWXYZ [\]^_`a	3.0 ± 0.1	ijklmnop	2.7 ± 0.3	YZ abcdefghi
15-02	17.1 ± 0.7	ijklmnopqrstuvw	4.4 ± 0.1	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abcd	3.6 ± 0.1	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
15-04	13.5 ± 0.2	z {}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1	4.1 ± 0.1	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.4 ± 0.1	LMNOPQRSTUVWXYZ abcde
15-05	11.7 ± 0.5	F1G1H1I1J1K1L1M1 N1O1P1Q1	3.9 ± 0.4	MNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmn	2.8 ± 0.4	VWXYZ abcdefghi
15-06	8.5 ± 0.4	R1S1T1U1V1W1X1 Y1	2.9 ± 0.2	nop	2.6 ± 0.2	bcdefghi
15-07	14.4 ± 0.5	vwxyz {}~• A1B1C1D1E1F1G1	3.9 ± 0.1	NOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.6 ± 0.1	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
15-08	17.5 ± 0.7	ghijklmnopqrstu	3.9 ± 0.1	NOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.4 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcde
15-09	31.4 ± 0.3	CDEF	4.5 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ ab	3.4 ± 0.4	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdef
15-10	13.3 ± 0.5	{}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1	4.0 ± 0.3	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefgh
15-11	22.9 ± 0.6	TUVWXYZ [\]^_`	4.4 ± 0.1	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abcd	3.7 ± 0.0	FGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
15-12	16.7 ± 0.7	lmnopqrstuvwxyz	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abc	3.5 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ ab
15-14	17.8 ± 0.7	ghijklmnopqrst	3.7 ± 0.3	UVWXYZ abcdefghijklmnop	3.2 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefgh
15-16	26.3 ± 0.7	JKLMNOPQR	3.8 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.3 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdef
15-17	22.0 ± 0.3	WXYZ [\]^_` a	3.5 ± 0.4	XYZ abcdefghijklmnop	2.3 ± 0.3	ghi
15-18	22.5 ± 0.2	TUVWXYZ [\]^_`	5.2 ± 0.2	BCDEFGHIJ	4.6 ± 0.2	BCDEFGH
15-19	19.5 ± 0.2	`abcdefghijkl	4.4 ± 0.4	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ abc	3.8 ± 0.4	DEFGHIJKLMNOPQRSTUVW X
15-20	13.3 ± 0.5	{}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1	3.6 ± 0.1	VWXYZ abcdefghijklmnop	3.6 ± 0.1	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ

15-21	19.4 ± 0.2	`abcdefghijklm	4.2 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefgh	3.5 ± 0.2	JJKLMNOPQRSTUVWXYZ abc
15-22	16.9 ± 0.7	klmnopqrstuvwxyz	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWX YZ abc	3.9 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRST
15-23	23.3 ± 2.2	RSTUVWXYZ [\]^	4.6 ± 0.1	EFGHIJKLMNOPQRSTUV WX	3.6 ± 0.1	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ a
15-24	13.1 ± 0.4	}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1	3.0 ± 0.0	klmnop	2.5 ± 0.2	defghi
15-25	10.6 ± 0.1	J1K1L1M1N1O1P1Q 1R1S1T1U1	6.5 ± 0.2	A	6.5 ± 0.2	A
15-26	26.3 ± 1.1	JKLMNOPQR	4.1 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghi	3.6 ± 0.3	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
15-27	18.6 ± 0.5	bcdefghijklmnop	4.2 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ abc defgh	3.4 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcde
15-28	17.9 ± 0.5	ghijklmnopqrs	4.5 ± 0.4	FGHIJKLMNOPQRSTUVW XYZ	3.7 ± 0.3	EFGHIJKLMNOPQRSTUVWX
15-33	15.5 ± 0.4	pqrstuvwxyz {}~• A1B1	4.0 ± 0.8	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.3 ± 0.3	NOPQRSTUVWXYZ abcdefg
15-34	15.7 ± 0.3	opqrstuvwxyz {}~• A1	4.9 ± 0.1	BCDEFGHIJKLMNOP	4.2 ± 0.4	BCDEFGHIJKLMN
15-35	11.6 ± 0.1	F1G1H1I1J1K1L1M1 N1O1P1Q1R1	3.8 ± 0.4	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.5 ± 0.4	JJKLMNOPQRSTUVWXYZ abcd
15-37	23.4 ± 0.5	RSTUVWXYZ[\]	4.0 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklm	3.0 ± 0.3	STUVWXYZ abcdefghi
15-38	20.2 ± 0.7	^_ `abcdefghi	3.8 ± 0.4	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.2 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefgh
15-40	16.9 ± 0.5	klmnopqrstuvwxyz	4.0 ± 0.0	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.3 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdef
15-41	14.0 ± 0.3	wxyz {}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1	3.9 ± 0.1	NOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
15-42	17.4 ± 1.2	hijklmnopqrstuv	4.5 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWX YZ a	3.7 ± 0.0	FGHIJKLMNOPQRSTUVWXY
15-43	26.9 ± 0.5	IJKLMNOP	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWX YZ abc	3.4 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcde
15-47	21.4 ± 0.3	Z [\]^_ `abcd	3.8 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.6 ± 0.5	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ ab
15-48	7.5 ± 0.4	V1W1X1Y1Z1	3.7 ± 0.3	TUVWXYZ abcdefghijklmnop	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh

15-49	8.3± 0.3	S1T1U1V1W1X1Y1 Z	4.1 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghi	3.5 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ ab
15-51	15.8 ± 0.2	opqrstuvwxyz {}~• A1	4.1 ± 0.1	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghij	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
15-52	16.4 ± 0.4	lmnopqrstuvwxyz{	3.5 ± 0.2	XYZ abcdefghijklmnop	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
20-02	17.1 ± 0.6	klmnopqrstuvwxyz	4.0 ± 0.0	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklm	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
20-04	19.9 ± 0.1	_`abcdefghijk	3.1 ± 0.2	ijklmnop	2.5 ± 0.2	cdefghi
20-05	10.9 ± 0.5	I1J1K1L1M1N1O1P1 Q1R1S1T1	4.0 ± 0.3	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefgh
20-08	28.4 ± 0.5	FGHIJ	4.6 ± 0.3	DEFGHIJKLMNOPQRSTU VW	3.6 ± 0.3	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
20-09	5.8 ± 0.2	Y1Z1	3.0 ± 0.0	klmnop	2.8 ± 0.2	XYZ abcdefghi
20-11	17.5 ± 0.4	ghijklmnopqrstu	3.5 ± 0.2	YZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.4	TUVWXYZ abcdefghi
20-12	17.6± 0.4	ghijklmnopqrstu	4.2 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefgh	3.6 ± 0.3	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
20-14	8.9± 0.5	Q1R1S1T1U1V1W1 X1	4.6 ± 0.2	EFGHIJKLMNOPQRSTU WX	4.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQR
20-15	17.2± 0.2	ijklmnopqrstuv	3.8 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	2.8 ± 0.3	VWXYZ abcdefghi
20-16	10.1 ± 0.7	L1M1N1O1P1Q1R1S 1T1U1V1	5.9 ± 0.1	AB	4.6 ± 0.4	BCDEF
20-19	7.3 ± 1.5	V1W1X1Y1Z1	3.0 ± 0.3	ijklmnop	2.2 ± 0.2	hi
20-20	8.9 ± 0.4	Q1R1S1T1U1V1W1 X1Y1	3.8 ± 0.7	RSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.3 ± 0.9	MNOPQRSTUVWXYZ abcdef
20-21	6.6 ± 0.2	X1Y1Z1	3.5 ± 0.2	XYZ abcdefghijklmnop	3.0 ± 0.0	STUVWXYZ abcdefghi
20-22	13.8 ± 0.5	xyz []~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1	4.8 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRST	3.8 ± 0.4	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU W
20-23	8.0 ± 0.3	T1U1V1W1X1Y1	4.7 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRST U	4.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQR
20-24	34.3 ± 0.6	BC	4.6 ± 0.1	DEFGHIJKLMNOPQRSTU VW	4.3 ± 0.0	BCDEFGHIJKL
20-25	8.4 ± 0.2	S1T1U1V1W1X1Y1	5.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMN	4.3 ± 0.3	BCDEFGHIJKLM
20-27	34.5 ± 0.6	BC	5.7 ± 0.6	ABCD	4.0 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNOPQ
20-28	20.2 ± 1.2	^_`abcdefghij	3.7 ± 0.3	UVWXYZ abcdefghijklmnop	3.0 ± 0.3	STUVWXYZ abcdefghi

20-29	32.1 ± 1.4	BCDE	4.6 ± 0.4	EFGHIJKLMNOPQRSTU VWXY	3.4 ± 0.1	LMNOPQRSTUVWXYZ abcde
20-35	21.6 ± 0.2	YZ[\]^_`abc	5.0 ± 0.0	BCDEFGHIJKLM	4.2 ± 0.3	BCDEFGHIJKLMNO
20-36	11.8 ± 0.4	E1F1G1H1I1J1K1L1 M1N1O1P1Q1	3.4 ± 0.2	bcdefghijklmnop	3.3 ± 0.3	LMNOPQRSTUVWXYZ abcdef
20-40	20.2 ± 0.8	^_` abcdefghij	4.7 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRST U	3.7 ± 0.0	EFGHIJKLMNOPQRSTU VWXY
20-41	30.1 ± 0.1	DEFGH	4.7 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNOPQRST UV	3.7 ± 0.0	EFGHIJKLMNOPQRSTU VWXY
20-42	31.9 ± 0.4	CDE	5.2 ± 0.2	BCDEFGHIJ	4.5 ± 0.2	BCDEFGHI
20-44	33.5 ± 0.5	BC	5.3 ± 0.3	BCDEFGH	3.5 ± 0.2	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ ab
20-45	23.7 ± 0.7	QRSTUVWXYZ[\	3.4 ± 0.2	bcdefghijklmnop	2.9 ± 0.4	TUVWXYZ abcdefghi
20-51	18.1 ± 0.4	fghijklmnopqr	5.3 ± 0.6	BCDEFGHI	4.3 ± 0.3	BCDEFGHIJKL
20-53	27.3 ± 0.7	GHIJKLMNO	4.5 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTU VWXY a	4.0 ± 0.6	BCDEFGHIJKLMNOPQ
20-54	15.0 ± 0.3	rstuvwxyz []~• A1B1C1D1	4.6 ± 0.3	DEFGHIJKLMNOPQRSTU VW	3.8 ± 0.2	CDEFGHIJKLMNOPQRSTU
25-07	9.0 ± 0.6	A1 P1Q1R1S1T1U1V1W 1X1	5.3 ± 0.3	BCDEFGH	4.8 ± 0.5	BC
25-09	20.2 ± 0.8	^_` abcdefghij	5.1 ± 1.3	BCDEFGHIJK	4.7 ± 0.0	BCDE
25-10	5.8 ± 0.2	Y1Z1	4.5 ± 0.2	FHIJKLMNOPQRSTU VWXY	3.6 ± 0.1	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
25-11	15.1 ± 0.2	rstuvwxyz []~• A1B1C1D1	3.2 ± 0.4	ghijklmnop	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
25-14	4.8 ± 0.5	Z1	4.1 ± 0.2	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghi	3.4 ± 0.1	LMNOPQRSTUVWXYZ abcde
25-15	27.5 ± 5.3	GHIJKLMNO	3.7 ± 0.3	UVWXYZ abcdefghijklmnop	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
25-18	11.3 ± 0.7	G1H1I1J1K1L1M1N 1O1P1Q1R1S1	3.8 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefghijklmnop	3.0 ± 0.3	RSTUVWXYZ abcdefgh
25-19	7.5 ± 0.4	U1V1W1X1Y1Z1	3.0 ± 0.0	klmnop	2.4 ± 0.1	fghi
25-22	25.4 ± 0.5	JKLMNOPQRST	3.4 ± 0.1	cdefghijklmnop	2.7 ± 0.0	Z abcdefghi
25-23	28.4 ± 1.4	FGHIJ	3.7 ± 0.0	UVWXYZ abcdefghijklmnop	2.7 ± 0.0	Z abcdefghi

25-25	22.1 ± 1.2	VWXYZ[\]^_`a	4.5 ± 0.2	GHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ YZ a	3.6 ± 0.1	HIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
25-28	21.2 ± 1.0	[\]^_`abcde	3.7 ± 0.0	UVWXYZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
25-32	6.7 ± 0.3	W1X1Y1Z1	2.7 ± 0.3	p	2.4 ± 0.1	fghi
25-33	18.8 ± 0.5	bcdefghijklmno	3.6 ± 0.2	WXYZ abcdefghijklmnop	3.0 ± 0.3	STUVWXYZ abcdefghi
25-34	35.1 ± 0.6	B	5.6 ± 0.2	ABCDEF	4.9 ± 0.4	B
25-35	8.0 ± 0.3	T1U1V1W1X1Y1Z1	3.5 ± 0.2	Z abcdefghijklmnop	3.3 ± 0.0	MNOPQRSTUVWXYZ abcdef
30-02	28.2 ± 0.2	GHIJKL	4.3 ± 0.5	IJKLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefgh	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefg
30-03	25.3 ± 1.2	JKLMNOPQRST	3.2 ± 0.2	ghijklmnop	2.7 ± 0.0	Z abcdefghi
30-06	13.6 ± 0.3	yz {}~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1	3.0 ± 0.3	lmnop	2.7 ± 0.0	Z abcdefghi
30-07	24.5 ± 0.9	OPQRSTUVWXYZ	3.8 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefghijklmnop	2.7 ± 0.3	YZ abcdefghi
30-08	18.3 ± 0.8	defghijklmnopq	4.6 ± 0.1	DEFGHIJKLMNOPQRSTU VW	4.6 ± 0.4	BCDEF
30-09	10.9 ± 0.1	H1I1J1K1L1M1N1O 1P1Q1R1S1T1	3.7 ± 0.3	TUVWXYZ abcdefghijklmnop	3.0 ± 0.3	STUVWXYZ abcdefghi
30-10	12.3 ± 0.7	C1D1E1F1G1H1I1J1 K1L1M1N1O1	3.8 ± 0.3	PQRSTUVWXYZ abcdefghijklmnop	2.8 ± 0.2	WXYZ abcdefghi
30-12	16.9 ± 0.4	klmnopqrstuvwxyz	3.0 ± 0.0	klmnop	2.8 ± 0.2	XYZ abcdefghi
30-13	22.7 ± 0.5	TUVWXYZ [\]^_`	3.5 ± 0.2	XYZ abcdefghijklmnop	2.5 ± 0.2	cdefghi
30-17	11.7 ± 0.8	F1G1H1I1J1K1L1M1 N1O1P1Q1	3.9 ± 0.5	OPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmnop	3.5 ± 0.2	JKLMNOPQRSTUVWXYZ abcd
30-18	10.9 ± 0.6	H1I1J1K1L1M1N1O 1P1Q1R1S1T1	4.9 ± 0.2	BCDEFGHIJKLMNOP	4.4 ± 0.1	BCDEFGHIJK
30-19	23.4444 ± 0.3849	RSTUVWXYZ[\]	3.6 ± 0.2	WXYZ abcdefghijklmnop	2.8 ± 0.2	WXYZ abcdefghi
30-20	21.6 ± 0.5	YZ[\]^_`abc	3.7 ± 0.3	UVWXYZ abcdefghijklmnop	3.2 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefgh
30-21	12.1 ± 0.5	D1E1F1G1H1I1J1K1 L1M1N1O1P1	3.7 ± 0.0	UVWXYZ abcdefghijklmnop	2.6 ± 0.2	bcdefghi
30-22	21.0 ± 0.3	[\]^_`abcdef	3.3 ± 0.0	efghijklmnop	2.6 ± 0.1	abcdefghi

30-23	13.3 ± 1.1	{~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1	4.0 ± 0.3	KLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijkl	3.1 ± 0.2	QRSTUVWXYZ abcdefgh
30-26	9.8 ± 0.5	M1N1O1P1Q1R1S1T 1U1V1W1	3.9 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	2.8 ± 0.2	XYZ abcdefghi
30-27	25.1 ± 0.7	LMNOPQSTUVW	3.6 ± 0.2	WXYZ abcdefghijklmnop	2.9 ± 0.1	TUVWXYZ abcdefghi
30-29	17.0 ± 0.3	klmnopqrstuvwxyz	3.5 ± 0.2	YZ abcdefghijklmnop	2.7 ± 0.3	Z abcdefghi
35-03	27.0 ± 0.7	HIJKLMN	3.9 ± 0.2	OPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmno	3.0 ± 0.0	STUVWXYZ abcdefghi
35-07	13.3 ± 0.6	{~• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1	5.0 ± 0.6	BCDEFGHIJKL	4.2 ± 0.4	BCDEFGHIJKLMN
35-08	31.7 ± 1.5	CDE	4.7 ± 0.3	CDEFGHIJKLMNQRST U	3.4 ± 0.1	LMNOPQRSTUVWXYZ abcde
35-09	20.5 ± 0.8	]^_`abcdefg	3.6 ± 0.3	VWXYZ abcdefghijklmnop	2.8 ± 0.4	XYZ abcdefghi
40-01	12.8 ± 0.7	• A1B1C1D1E1F1G1H 1I1J1K1L1M1	2.9 ± 0.3	op	2.0 ± 0.3	i
40-02	20.2 ± 0.8	^_`abcdefghij	3.2 ± 0.2	hijklmnop	2.8 ± 0.2	WXYZ abcdefghi
40-04	9.4 ± 0.8	N1O1P1Q1R1S1T1U 1V1W1X1	3.7 ± 0.0	UVWXYZ abcdefghijklmnop	2.5 ± 0.4	cdefghi
45-01	16.5 ± 0.7	lmnopqrstuvwxyz	3.3 ± 0.3	defghijklmnop	2.5 ± 0.2	cdefghi
45-04	15.1 ± 0.9	rstuvwxyz {~• A1B1C1D1	4.4 ± 0.2	GHIJKLMNQRSTUUVWX YZ abc	3.6 ± 0.1	HIJKLMNQRSTUWXYZ
45-05	27.8 ± 0.7	GHIJKLMN	3.5 ± 0.2	YZ abcdefghijklmnop	3.7 ± 0.0	FGHIJKLMNQRSTUWXYZ

Los valores con letras semejantes dentro de las columnas prestaron valores estadísticamente iguales entre sí según la prueba Tukey en $p \leq 0.05$.

Cuadro 2. Número de brotes y raíces obtenido de cladodios de nopal verdura (*Opuntia velutina*) *in vitro* irradiación con rayos gamma en la cuarta generación

Línea (OUM)	Número de Brotes		Número de Raíces	
	Media $\pm$ DS	Grupo	Media $\pm$ DS	Grupo
OUM-0000	0.31 $\pm$ 0.05	EFG	0.31 $\pm$ 0.05	QRST
05-01	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-02	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-03	1.03 $\pm$ 0.29	C	2.08 $\pm$ 0.36	ABC
05-04	0.69 $\pm$ 0.05	D	0.08 $\pm$ 0.14	ST
05-05	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-06	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-07	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.11 $\pm$ 0.19	ST
05-08	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-09	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-10	0.00 $\pm$ 0.00	H	1.42 $\pm$ 0.22	EFGHI
05-11	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-12	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.81 $\pm$ 0.17	KLMNOP
05-13	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.69 $\pm$ 0.05	LMNOPQ
05-14	0.00 $\pm$ 0.00	H	1.19 $\pm$ 0.17	FGHIJK
05-15	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.69 $\pm$ 0.05	LMNOPQ
05-16	0.00 $\pm$ 0.00	H	1.61 $\pm$ 0.10	CDEF
05-18	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.00 $\pm$ 0.00	T
05-19	0.00 $\pm$ 0.00	H	1.58 $\pm$ 0.22	DEFG
05-21	0.00 $\pm$ 0.00	H	0.11 $\pm$ 0.19	ST
05-22	1.31 $\pm$ 0.05	BC	1.11 $\pm$ 0.19	GHIJKL
05-23	0.00 $\pm$ 0.00	H	2.42 $\pm$ 0.22	A

05-24	0.00 ± 0.00	H	2.33 ± 0.33	AB
05-25	1.36 ± 0.38	B	0.00 ± 0.00	T
05-26	0.19 ± 0.17	FGH	0.81 ± 0.17	KLMNOP
05-27	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
05-28	0.00 ± 0.00	H	0.92 ± 0.14	JKLMN
05-29	0.61 ± 0.10	D	0.00 ± 0.00	T
05-30	2.22 ± 0.69	A	0.22 ± 0.19	QRST
05-31	0.31 ± 0.05	EFG	0.00 ± 0.00	T
05-38	0.00 ± 0.00	H	0.19 ± 0.17	RST
05-39	0.00 ± 0.00	H	0.61 ± 0.10	MNOPQR
05-41	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
05-48	0.00 ± 0.00	H	0.61 ± 0.20	MNOPQR
05-51	0.22 ± 0.19	EFGH	0.00 ± 0.00	T
05-52	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
05-53	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
05-54	0.61± 0.10	D	0.00 ± 0.00	T
05-55	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
05-56	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
05-57	0.31 ± 0.05	EFG	0.39 ± 0.10	PQRST
05-58	0.00 ± 0.00	H	1.31 ± 0.05	FGHIJ
05-70	0.31 ± 0.05	EFG	0.31± 0.05	QRST
10-01	0.19 ± 0.17	FGH	0.61 ± 0.10	MNOPQR
10-07	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
10-11	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
10-12	0.22 ± 0.19	EFGH	0.00 ± 0.00	T
10-13	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
10-15	0.00 ± 0.00	H	0.69± 0.05	LMNOPQ
10-16	0.00 ± 0.00	H	0.31± 0.05	QRST

10-17	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
10-25	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
10-28	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
10-30	0.00 ± 0.00	H	0.81 ± 0.17	KLMNOP
10-33	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
10-34	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
10-36	0.19 ± 0.17	FGH	0.00 ± 0.00	T
10-37	0.08 ± 0.04	GH	0.11 ± 0.09	ST
10-39	0.00 ± 0.00	H	1.00 ± 0.00	IJKLM
10-40	0.00 ± 0.00	H	0.42 ± 0.22	OPQRST
10-41	0.42 ± 0.22	DEF	0.00 ± 0.00	T
10-46	0.19 ± 0.17	FGH	0.00 ± 0.00	T
10-50	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
10-51	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-01	0.00 ± 0.00	H	0.61 ± 0.10	MNOPQR
15-02	0.00 ± 0.00	H	0.69 ± 0.05	LMNOPQ
15-04	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-05	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-06	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-07	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.19	ST
15-08	0.00 ± 0.00	H	0.47 ± 0.24	NOPQRST
15-09	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-10	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-11	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-12	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-14	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-16	0.00 ± 0.00	H	1.53 ± 0.24	DEFGH
15-17	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.5	QRST

15-18	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-19	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-20	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
15-21	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-22	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-23	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-24	0.00 ± 0.00	H	0.19 ± 0.17	RST
15-25	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-26	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
15-27	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-28	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-33	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
15-34	0.00 ± 0.00	H	0.19 ± 0.17	RST
15-35	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-37	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-38	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
15-40	0.00 ± 0.00	H	0.19 ± 0.17	RST
15-41	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-42	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
15-43	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
15-47	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
15-48	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-49	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-51	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
15-52	0.19 ± 0.17	FGH	0.00 ± 0.00	T
20-02	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-04	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-05	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T

20-08	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-09	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-11	0.31 ± 0.05	EFG	0.00 ± 0.00	T
20-12	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
20-14	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
20-15	0.5 ± 0.17	DE	0.39 ± 0.10	PQRST
20-16	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-19	0.00 ± 0.00	H	0.19 ± 0.17	RST
20-20	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-21	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
20-22	0.00 ± 0.00	H	0.69 ± 0.05	LMNOPQ
20-23	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.19	ST
20-24	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
20-25	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-27	0.00 ± 0.00	H	1.89 ± 0.19	BCDE
20-28	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-29	0.00 ± 0.00	H	2.00 ± 0.00	ABCD
20-35	0.00 ± 0.00	H	0.69 ± 0.05	LMNOPQ
20-36	0.00 ± 0.00	H	0.22 ± 0.19	QRST
20-40	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-41	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
20-42	0.00 ± 0.00	H	1.19 ± 0.17	FGHIJK
20-44	0.00 ± 0.00	H	1.61 ± 0.10	CDEF
20-45	0.00 ± 0.00	H	0.33 ± 0.58	PQRST
20-51	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
20-53	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
20-54	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
25-07	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T

25-09	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
25-10	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
25-11	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
25-14	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
25-15	0.00 ± 0.00	H	1.42 ± 0.22	EFGHI
25-18	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
25-19	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
25-22	0.00 ± 0.00	H	1.08 ± 0.14	HIJKLM
25-23	0.00 ± 0.00	H	1.11 ± 0.19	GHIJKL
25-25	0.00 ± 0.00	H	1.53 ± 0.24	DEFG
25-28	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
25-32	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
25-33	0.00 ± 0.00	H	1.31 ± 0.05	FGHIJ
25-34	0.00 ± 0.00	H	1.00 ± 0.00	IJKLM
25-35	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
30-02	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
30-03	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
30-06	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
30-07	0.00 ± 0.00	H	1.19 ± 0.17	FGHIJK
30-08	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
30-09	0.00 ± 0.00	H	0.89 ± 0.19	JKLMNO
30-10	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
30-12	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
30-13	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
30-17	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
30-18	0.00 ± 0.00	H	0.22 ± 0.19	QRST
30-19	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
30-20	0.00 ± 0.00	H	0.69 ± 0.05	LMNOPQ

30-21	0.00 ± 0.00	H	0.89 ± 0.19	JKLMNO
30-22	0.00 ± 0.00	H	0.92 ± 0.14	JKLMN
30-23	0.00 ± 0.00	H	1.61 ± 0.10	CDEF
30-26	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
30-27	0.00 ± 0.00	H	1.11 ± 0.19	GHIJKL
30-29	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
35-03	0.00 ± 0.00	H	0.61 ± 0.10	MNOPQR
35-07	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
35-08	0.00 ± 0.00	H	0.50 ± 0.17	NOPQRS
35-09	0.00 ± 0.00	H	1.11 ± 0.19	GHIJKL
40-01	0.00 ± 0.00	H	0.39 ± 0.10	PQRST
40-02	0.00 ± 0.00	H	0.11 ± 0.09	ST
40-04	0.00 ± 0.00	H	0.00 ± 0.00	T
45-01	0.00 ± 0.00	H	0.31 ± 0.05	QRST
45-04	0.00 ± 0.00	H	0.22 ± 0.19	QRST
45-05	0.00 ± 0.00	H	1.00 ± 0.00	IJKLM

Los valores con letras semejantes dentro de las columnas prestaron valores estadísticamente iguales entre sí según la prueba Tukey en $p \leq 0.05$.

Eréndira Rubio Ochoa

Selección de variantes genéticas de nopal verdura (Opuntia velutina) inducidas por radiación gamma con características ...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:506404618

Fecha de entrega

1 oct 2025, 11:35 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

1 oct 2025, 11:39 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Selección de variantes genéticas de nopal verdura (Opuntia velutina) inducidas por radiación ga....pdf

Tamaño del archivo

2.1 MB

90 páginas

29.433 palabras

154.392 caracteres

18% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 18%  Fuentes de Internet
- 15%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
560 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas	
Título del trabajo	Selección de variantes genéticas de nopal verdura (<i>Opuntia velutina</i>) inducidas por radiación gamma con características morfológicas y fitoquímicas mejoradas	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	M. C. Eréndira Rubio Ochoa	erendira.rubio.ochoa@umich.mx
Director	Dr. Pedro Antonio García Saucedo	antonio.garcia@umich.mx
Codirector	Dr. Juan Florencio Gómez Leyva	
Coordinador del programa	Dr. Rodolfo Pérez Rodríguez	doc.ciencias.biologicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	si	Revisión de la sintaxis y coherencia

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	si	Auxiliar en la traducción del resumen en inglés
Revisión y corrección de estilo	si	Revisión de ortografía y gramática
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro	no	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	M.C. Eréndira Rubio Ochoa 
Lugar y fecha	01 de octubre del 2025, Uruapan, Mich.