

# Densidad de cristales de oxalato de calcio en quince cultivares de nopal<sup>♦</sup>

## Density of Calcium Oxalate Crystals in 15 Prickly Pear Cultivated Species

Aldo Tovar-Puente<sup>1</sup>, Marisela Pando-Moreno<sup>1\*</sup>, Humberto González-Rodríguez<sup>2</sup>,  
Laura Scott-Morales<sup>2</sup>, and Santiago de Jesús Méndez-Gallegos<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Estudiante de Doctorado. Facultad Ciencias Forestales U.A.N.L. y Profesor Investigador  
del Instituto Tecnológico de Linares  
Carr. Nacional. Km. 157 Linares, N. L. Tel/Fax (821) 212 67 05.

<sup>2</sup> Profesores investigadores. Facultad de Ciencias Forestales. U.A.N.L.  
Apartado postal 41. Linares, N.L. CP 67700  
Tel: (821) 212 42 51 Fax: (821) 212 42 51 ext. 251

<sup>3</sup> Profesor investigador. Colegio de Postgraduados. CREZAS. San Luis Potosí, SLP

\* Autor para correspondencia. e-mail: mpando55@hotmail.com

### RESUMEN

En las plantas del género *Opuntia*, el calcio es el principal constituyente mineral, se encuentra en forma de oxalatos de calcio o en forma libre. Estudios recientes han encontrado diferencias en los tipos de cristales de oxalato de calcio para subfamilias de cactáceas y mencionan la posibilidad de caracterizar especies de esta familia a partir de sus similitudes en los cristales de oxalato de calcio. En la presente investigación, se evalúan las diferencias en el número de cristales de oxalato de calcio de quince cultivares de nopal de los géneros *Opuntia* y *Nopalea*, como una característica que podría ser utilizada para discriminar entre géneros, especies o cultivares de nopal. Se analiza, también, la distribución de los oxalatos en los cladodios. Los resultados indican que no hubo diferencias en la densidad de cristales de oxalato de calcio entre la parte superior, media y basal de los cladodios de cada cultivar pero sí se presentaron diferencias entre cultivares. El número de cristales de oxalato de calcio por mm<sup>2</sup> varía entre 18 y 57 para los cultivares estudiados. Este trabajo hace una importante contribución a la difícil tarea de diferenciar cultivares de nopal u otras especies de cactáceas en una forma sencilla, mediante la determinación de la densidad de cristales de oxalato de calcio presentes.

### ABSTRACT

Recent studies have demonstrated differences in the type of calcium oxalate crystals among Cactaceae subfamilies and suggest the possibility of using the differences/similarities of calcium oxalate crystals to characterize species of this family. In this study, differences in the number of calcium oxalate crystals were evaluated for 15 prickly pear cultivated species of *Opuntia* and *Nopalea* genus, as a potential tool to discriminate among cactus species. Distribution of oxalates within cladodes was also analyzed. Results showed that density of calcium oxalate crystals was homogeneous at each cladode, both at the base, middle and top. However, number of crystals did differ between cultivated species. Number of calcium

---

<sup>♦</sup> Received 7 July 2007, Accepted 6 October 2007

crystals ranged from 18 up to 57 for the studied varieties. This work makes an important contribution to the difficult task of discriminating prickly pear varieties or other cactus species, by assessing the density of calcium oxalate crystals.

**Keywords:** prickly pear cactus, calcium oxalates, druses, *Opuntia*, *Nopalea*.

## INTRODUCCIÓN

El grupo de plantas conocidas como nopal comprende diversas especies de los géneros *Opuntia* y *Nopalea*, pertenecientes a la familia *Cactaceae*, la cual es originaria de América, donde se encuentra distribuida desde los 59° de latitud norte en Canadá, hasta los 52° latitud sur en La Patagonia, Argentina (Bravo y Sheinvar, 1995). La familia de las cactáceas comprende alrededor de 130 géneros, de los cuales *Opuntia* y *Nopalea* son considerados lo más importantes debido a su amplio uso (Valdéz, 2004). Se han realizado numerosos estudios sobre composición química y anatomía de diversas especies del género *Opuntia* para caracterizarlas en función del grosor de sus tejidos, frecuencia de estomas, tipo de cristales de oxalato de calcio, análisis bromatológicos y determinación de pectinas (Castillo, 1993; Trejo, 2003; Goycoolea y Cárdenas, 2003; Tovar *et al.*, 2006) y, ocasionalmente, sobre aspectos funcionales del tejido fotosintético de estas plantas (Silva, 2001).

En las plantas del género *Opuntia*, el calcio es el principal constituyente mineral, se encuentra en forma de oxalatos de calcio o en forma libre. Esta sal llega a constituir del 8 al 50 % del peso seco (Rivera y Smith citados por Trachtetenberg y Mayer, 1982) y hasta el 85 % de las cenizas en ejemplares viejos (Bravo, 1978). Las plantas y animales producen ácido oxálico en su metabolismo. Los oxalatos derivados de este ácido pueden estar presentes como sales solubles de sodio y potasio o bien como precipitados de calcio en forma de oxalatos de calcio (Franceschi y Horner, 1980). Por muchos años, el ácido oxálico era considerado un producto final del metabolismo, y puesto que este ácido es potencialmente tóxico, la función de hacerlo inactivo, manteniendo bajos niveles de solubilidad, fue prácticamente la única función atribuida a los cristales de oxalato de calcio (Franceschi and Loewus, 1995). Otros trabajos, como el de Lane (1994) probaron que los cristales de oxalato de calcio constituyen un almacenamiento de nutrientes estructuralmente importante. Estudios más recientes han demostrado que el ácido oxálico está sintetizado en respuesta a altos niveles de calcio en aquellas plantas que son capaces de acumular oxalatos de calcio (Keates *et al.*, 2000; Kostman *et al.*, 2001), como es el caso de las opuntias. Sin embargo, hasta la fecha, no hay un consenso en cuanto a la función que cumplen los depósitos de oxalatos de calcio en las plantas. Monje y Baran (2002) sugieren que la precipitación de oxalatos de calcio en los tejidos puede estar relacionada a aspectos fisiológicos de las plantas suculentas, particularmente con la retención de agua en sus tejidos. Dichos autores, al igual que Malainine *et al.*, (2003) reportan diferentes tipos de cristales de oxalato de calcio: aquellos constituidos por weddellita, que presentan formas tetragonales y los que tienen forma de estrella con puntas agudas donde el biomineral presente es la whewellita y mencionan la posibilidad de caracterizar géneros o especies de esta familia a partir de sus similitudes en el tipo de estos cristales. En la presente investigación, se evalúan las diferencias no en el tipo, sino en el número, de cristales de oxalato de calcio de quince cultivares de nopal de los géneros *Opuntia* y *Nopalea*, como una característica que podría ser utilizada para discriminar entre géneros, especies o cultivares de nopal. Se analiza, también, la distribución de los oxalatos en los cladodios, comparando la densidad (número de cristales por mm<sup>2</sup>) entre la parte superior, media y basal de los cladodios.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó con material vegetal colectado del banco de germoplasma de nopal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicada en Marín, Nuevo León, México. La altitud es de 375 msnm y localizada en las coordenadas 25° 53' norte y 100° 03' oeste. Los cultivares utilizados fueron: Jalpa, Copena V1, Villanueva, Liso Forrajero, Pabellón, Copena F1, Milpa Alta, OE 3, Llera, Tamazunchale, Morado T10, Cristalino, Burrona, Rojo Vigor, y Pelón (Cuadro 1). De estos, sólo los cultivares Llera y Tamazunchale pertenecen al género *Nopalea* y el resto pertenecen al género *Opuntia*.

Cuadro 1. Dimensiones promedio y valores de desviación estándar de los cladodios utilizados.

Table 1. Average size and standard deviation values for the cladodes.

Género y especie	Cultivar	Largo cladodio (cm) media (std. dev.)	Ancho cladodio (cm) media (std. dev.)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Jalpa	39.70 ( $\sigma = 4.36$ )	18.37 ( $\sigma = 1.80$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Copena V1	31.25 ( $\sigma = 2.75$ )	18.25 ( $\sigma = 0.96$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Villanueva	43.50 ( $\sigma = 3.11$ )	23.50 ( $\sigma = 4.65$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Liso forrajero	32.90 ( $\sigma = 2.76$ )	22.50 ( $\sigma = 1.29$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Pabellón	37.50 ( $\sigma = 4.51$ )	21.07 ( $\sigma = 2.75$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Copena F1	46.75 ( $\sigma = 3.50$ )	19.50 ( $\sigma = 2.08$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Milpa alta	34.25 ( $\sigma = 0.96$ )	17.75 ( $\sigma = 0.96$ )
<i>Opuntia undulata</i> Griffiths	OE3	32.50 ( $\sigma = 2.89$ )	26.00 ( $\sigma = 1.81$ )
<i>Nopalea</i> spp	Llera	25.62 ( $\sigma = 1.25$ )	12.00 ( $\sigma = 0.82$ )
<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm - Dyck	Tamazunchale	23.25 ( $\sigma = 5.85$ )	13.00 ( $\sigma = 1.15$ )
<i>Opuntia</i> spp	Morado T10	38.25 ( $\sigma = 1.71$ )	21.00 ( $\sigma = 2.0$ )
<i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar	Cristalino	40.25 ( $\sigma = 5.56$ )	22.50 ( $\sigma = 2.08$ )
<i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar	Burrona	34.50 ( $\sigma = 4.20$ )	17.75 ( $\sigma = 3.59$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Rojo vigor	37.25 ( $\sigma = 3.30$ )	18.00 ( $\sigma = 0.82$ )
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Local	31.25 ( $\sigma = 3.59$ )	20.00 ( $\sigma = 1.83$ )

Las determinaciones del número de cristales de oxalato de calcio por  $\text{mm}^2$  se realizaron utilizando cuatro cladodios de cada cultivar como repeticiones. Todos los cladodios, cuyas dimensiones se presentan en el Cuadro 1, fueron de tercer piso, con exposición norte, de entre 8 y 10 meses de edad y procedieron de plantas independientes. Se obtuvieron muestras de  $4 \text{ cm}^2$  (bloques de  $2 \times 2 \text{ cm}$ ) de la parte superior, media y basal de cada cladodio y se hicieron comparaciones entre cultivares y entre la concentración de los cristales en el cladodio de cada cultivar.

Para la observación y cuantificación de los cristales de oxalato de calcio se hicieron cortes transversales a mano, lo más finamente posible, colocándolos en etanol al 70 % y posteriormente en hidróxido de potasio al 10 % para ser observados al microscopio (objetivo 10 X) promediándose 4 campos por cultivar para cada posición en el cladodio (superior, media y basal).

Mediante Análisis de Varianza, se comparó la densidad de cristales de oxalato de calcio entre la parte superior, media y basal de los cladodios de cada cultivar ( $n=4$ ) para determinar si éstos se concentran, mayormente, en alguna parte del cladodio.

Asimismo, se utilizó el análisis de varianza ( $n=12$ ) para comparar la densidad de cristales de oxalato de calcio entre cultivares. La comparación de las medias se llevó a cabo mediante la prueba de Tukey ( $P=0.05$ ) (Steel y Torrie, 1980). Todos los procedimientos estadísticos que se aplicaron fueron efectuados con el paquete estadístico SPSS (por sus siglas en inglés: Statistical Package for Social Sciences, versión estándar 10.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método utilizado para la observación de los cristales de oxalato de calcio resultó efectivo, ya que permitió la diferenciación y conteo de éstos a través del microscopio óptico.

No hubo diferencias en la densidad de cristales de oxalato de calcio entre la parte superior, media y basal de los cladodios de ninguno de los cultivares ( $n=4$ ,  $P>.01$ ). Estos resultados permiten reducir el número de muestras a tomar en futuras investigaciones, para la cuantificación del número de cristales de oxalato de calcio, ya que se comprueba que es innecesario muestrear diferentes partes del cladodio.

La cantidad de cristales de oxalatos de calcio por  $\text{mm}^2$  (Cuadro 2) sí resultó diferente entre cultivares ( $n=12$ ;  $P< 0.0001$ ), conformándose 7 grupos de acuerdo a los resultados de la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) (Figura 1).

Cuadro 2. Número de cristales de oxalatos de calcio por mm<sup>2</sup> en tres posiciones del cladodio: superior, media y basal. El número entre paréntesis corresponde a la desviación estándar.

Table 2. Number of calcium oxalate crystals per mm<sup>2</sup> for each different position in the cladode: top, middle, and basal. Numbers in parenthesis are standard deviation.

Género y especie	Cultivar	Número de drusas. Parte superior (n = 4)	Número de drusas. Parte media (n = 4)	Número de drusas. Parte basal (n = 4)	Número de drusas. Promedio por cultivar (n = 12)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Jalpa	26.25 (σ=3.59)	23.5 (σ=6.40)	23 (σ=2.94)	24.25 (σ=2.99)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Copena V1	19.5 (σ=6.14)	18.25 (σ=3.86)	17.25 (σ=2.75)	18.33 (σ=3.09)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Villanueva	16.5 (σ=1.91)	18.25 (σ=1.89)	18 (σ=4.08)	17.58 (σ=2.20)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Liso forrajero	50.25 (σ=7.14)	53.75 (σ=8.46)	45 (σ=4.08)	49.66 (σ=5.86)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Pabellón	60.5 (σ=13.28)	54.25 (σ=6.85)	55.75 (σ=8.66)	56.83 (σ=6.01)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Copena F1	23 (σ=1.83)	23 (σ=2.16)	26.5 (σ=1.29)	24.16 (σ=0.88)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Milpa alta	35.25 (σ=5.80)	34.75 (σ=13.05)	38.75 (σ=12.28)	36.25 (σ=10.16)
<i>Opuntia undulata</i> Griffiths	OE3	44 (σ=4.69)	46.75 (σ=4.35)	45.25 (σ=2.5)	45.33 (σ=2.23)
<i>Nopalea</i> spp	Llera	43 (σ=3.37)	45.5 (σ=2.08)	49.25 (σ=3.3)	45.92 (σ=1.81)
<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm - Dyck	Tamazunchale	42.75 (σ=2.87)	44 (σ=4.16)	42 (σ=1.41)	42.91 (σ=2.19)
<i>Opuntia</i> spp	Morado T10	27.5 (σ=1.73)	24 (σ=4.97)	24.25 (σ=5.44)	25.25 (σ=3.40)
<i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar	Cristalino	31.5 (σ=3.11)	31.25 (σ=3.20)	27.75 (σ=5.56)	30.16 (σ=2.76)
<i>Opuntia albicarpa</i> Scheinvar	Burrona	31.75 (σ=4.72)	23.75 (σ=6.24)	23.75 (σ=3.30)	26.41 (σ=3.59)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Rojo vigor	27.75 (σ=5.06)	28 (σ=6.78)	23.75 (σ=4.35)	26.5 (σ=4.72)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	Local	25.5 (σ=1.0)	26.75 (σ=4.43)	20 (σ=1.63)	24.08 (σ=1.67)

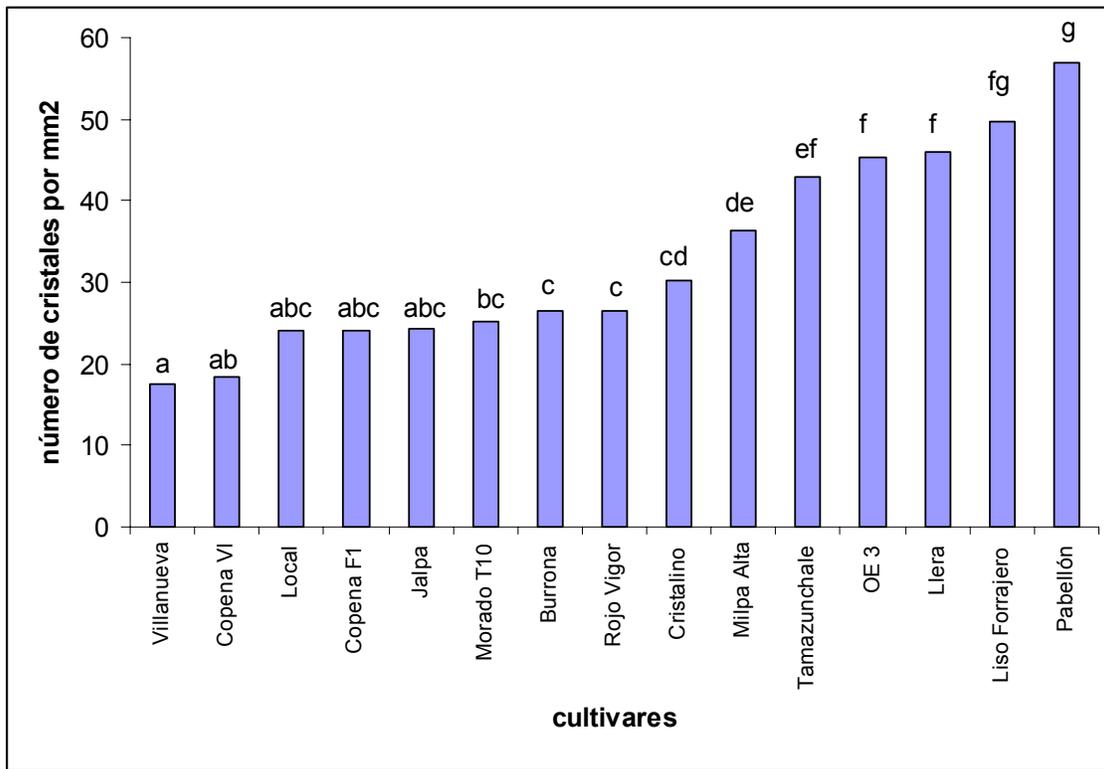


Figura 1. Número de cristales de oxalato de calcio por mm<sup>2</sup> para los cultivares de nopal estudiados.  
<sup>1</sup> Letras diferentes en columnas indican diferencias altamente significativas entre cultivares (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

Figure 1. Number of calcium oxalate crystals per mm<sup>2</sup> for the studied prickly pear varieties.  
<sup>1</sup> Different letters in columns are for statistically significant differences between varieties (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

La Figura 1 muestra cómo el número de cristales de oxalato de calcio varió entre 18 y 57 mm<sup>-2</sup> para los cultivares estudiados. Los cultivares Llera y Tamazunchale, correspondientes al género *Nopalea* (*Nopalea spp.* y *Nopalea cochenillifera*, respectivamente), no parecen diferenciarse en esta característica de otros cultivares del género *Opuntia*, ya que resultaron estadísticamente iguales que Milpa Alta, OE 3 y Liso Forrajero. Contrariamente, algunos cultivares, aún cuando pertenecientes a la misma especie (*Opuntia ficus-indica*), mostraron densidades estadísticamente diferentes, como es el caso de los cultivares Pabellón y Villanueva; el primero de ellos con la más alta densidad promedio de cristales de oxalato de calcio (56.83 mm<sup>-2</sup>) y el segundo con la menor densidad promedio (17.58 mm<sup>-2</sup>) de los cultivares evaluados.

Existen muy pocos trabajos que reporten una cuantificación del número de cristales de oxalato de calcio en los cladodios del nopal, a pesar de que éste ha sido mencionado por numerosos autores como una característica importante a determinar en cactáceas (Trachtenberg, S, y M. Mayer. 1982; citados por Romero-López *et al.*, 2006 y por Flores-Hernández *et al.*, 2006). Entre esos trabajos está el de Trejo (2003) quien, en un estudio realizado en México, en el municipio de Colón, Querétaro, reporta densidades de  $10 \pm 7$  drusas mm<sup>-2</sup> para *Opuntia ficus indica*, cultivares Milpa Alta y Rubra. En general, los valores de densidad de drusas encontrados en el presente trabajo son mayores que los reportados por Trejo, si bien

dicho autor no presenta, por separado, los valores obtenidos para cada una de los dos cultivares estudiados.

Este trabajo contribuye a la posibilidad de diferenciar cultivares de nopal u otras especies de cactáceas en una forma sencilla, mediante la determinación de la densidad de cristales de oxalato de calcio presentes. Para corroborar esto será necesario repetir las determinaciones aquí realizadas con los mismos cultivares pero provenientes de otras localidades que exhiban diferentes condiciones edáficas.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Instituto Tecnológico de Linares el apoyo por beca comisión para realizar estudios doctorales de los cuales emana esta investigación. Así mismo se agradece al CONACYT por el apoyo de beca brindado en el transcurso de esta investigación.

### LITERATURA CITADA

Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Volumen 1. 2ª Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 743 p.

Bravo-Hollis, H. y L. Sheinvar. 1995. El interesante mundo de las cactáceas. CONACYT-Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 223 p.

Castillo, V. J. 1993. Relación entre algunas características anatómicas del nopal (*Opuntia* spp) y el establecimiento de la cochinilla (*Dactylopius coccus* C). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 90 p.

Conde, L.F. 1975. Anatomical comparisons of five species of *Opuntia* (Cactaceae). *Annals of Missouri Botanical Garden*. 62:424-473.

Esau, K. 1976. Anatomía Vegetal. 1a edición. Ediciones Omega, S. A. Casanova. Barcelona.

Flores-Hernández, A., B. Murillo, E. Rueda, J. Salazar, J.L. García y E. Troyo. 2006. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77:97-102.

Franceschi, V. R. y H.T. Horner Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Bot. Rev.* 46(4):361-427.

Franceschi, V. R y F.A. Loewus. 1995. Oxalate biosynthesis and function in plants. In: Khan, S.R. (ed). *Calcium Oxalate in Biological Systems*. CRC Press, FL. pp. 113-130.

Goycoolea, F. y A. Cárdenas. 2003. Pectins from *Opuntia, spp.*: a short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. pp. 17-23.

Keates S.A., N.M. Tarlyn, F.A. Loewus y V.R. Franceschi. 2000. L-ascorbic acid and L-galactose as sources of oxalic acid and calcium oxalate in *Pistia stratiotes*. *Phytochemistry* 53:433-440

Kostman T.A., N. Tarlyn, F. Loewus y V. Franceschi. 2001. Biosynthesis of L-ascorbic acid and conversion of carbons 1 and 2 of L-ascorbic acid to oxalic acid occurs within individual calcium oxalate crystal idioblasts. *Plant Physiol* 125:634-640.

- Malainine, M.E., A. Dufresne, D. Dupeyre, M.R. Vignon y M. Mahrouz. 2003. First evidence for the presence of weddellite crystallites in *Opuntia ficus-indica* parenchyma. *Z. Naturforsch.* (58):821-816.
- Mauseth, J. D. 1984. Introduction to Cactus Anatomy. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* Vol. 56:33-37 and 131-135.
- Monje, P. V. y E.J. Baran. 2002. Characterization of calcium oxalates generated as biominerals in Cacti. *Plant Physiology* Vol.128:707-713
- Romero-López, R., A. Flores, E. Santamaría, J. Salazar, M. Ramírez y A. Pedroza. 2006. *Revista Chapingo, Serie Zonas Áridas* 5:41-48.
- Silva, H, E. Acevedo, y P. Silva. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* Vol.74(2):341-351.
- Steel, R.G.D. y J.C. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*. 2<sup>nd</sup> ed. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Tovar, P.A., M. Pando-Moreno, H. González, R. Vázquez y M. Madrigal. 2006. Caracterización Química y Física de Quince Cultivares de Nopal de los Géneros *Opuntia* y *Nopalea*. *Bol. Nakari* 17(2):29-35.
- Trachtenberg, S. and M. Mayer. 1982. Mucilage cells, calcium oxalate crystals and soluble calcium in *Opuntia ficus-indica*. *Ann. Bot.* 50:549-557.
- Trejo, P.J. 2003. Anatomía y análisis químico proximal de los cladodios de dos especies de *Opuntia*, hospedera y no hospedera, de la cochinilla de la grana (*Dactylopius coccus* Costa). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Valdéz-Flores, C.A. 2004. Los nopales y la lucha contra la desertificación. En: Esparza-Frausto, Valdéz-Cepeda y Méndez-Gallegos (editores). *El Nopal, tópicos de actualidad*. Universidad Autónoma Chapingo (CRUCN) y Colegio de Posgraduados (Campus san Luis Potosí). pp. 167-182.