

José Luis González Rebollar  
Ana Chueca Sancho  
(eds.)

# C<sub>4</sub> y CAM

Características generales y uso en programas  
de desarrollo de tierras áridas y semiáridas



Homenaje al doctor Julio López Gorgé

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Reservados todos los derechos por la legislación en materia de Propiedad Intelectual. Ni la totalidad ni parte de este libro, incluido el diseño de la cubierta, puede reproducirse, almacenarse o transmitirse en manera alguna por medio ya sea electrónico, químico, óptico, informático, de grabación o de fotocopia, sin permiso previo por escrito de la editorial.

Las noticias, los asertos y las opiniones contenidos en esta obra son de la exclusiva responsabilidad del autor o autores. La editorial, por su parte, sólo se hace responsable del interés científico de sus publicaciones.

*Catálogo general de publicaciones oficiales:*  
<http://publicaciones.060.es>



© CSIC  
© Fundación Ramón Areces  
© José Luis González Rebollar y Ana Chueca Sancho (eds.), y de cada texto, su autor

NIPO: 472-10-209-7  
ISBN: 978-84-00-09213-9  
Depósito Legal: M. 46.293-2010  
Impreso en Taravilla, S.L.  
Impreso en España. *Printed in Spain*

En esta edición se ha utilizado papel ecológico sometido a un proceso de blanqueado ECF, cuya fibra procede de bosques gestionados de forma sostenible.

# Identificación histológica y ultraestructural de plantas $C_4$ y CAM

ADELA OLMEDILLA ARNAL,  
JUAN DE DIOS ALCHE RAMÍREZ  
y MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ GARCÍA\*

## Resumen

Para averiguar el tipo de metabolismo fotosintético que presentan distintas plantas vasculares del Parque Natural del Cabo de Gata-Níjar (Almería) se realizó un estudio histológico y ultraestructural de su anatomía foliar. Se estudiaron veintiséis especies pertenecientes a 10 familias distintas, de ellas 12 resultaron ser  $C_4$ , 2 CAM y el resto  $C_3$ . Además de las especies que se ajustaban a los modelos anatómicos descritos para cada tipo de metabolismo fotosintético se encontraron variaciones sobre todo en la anatomía Kranz típica de las plantas  $C_4$ .

La mayoría de las especies encontradas pertenecía a la familia *Chenopodiaceae* y entre ellas se pudieron diferenciar tanto plantas  $C_3$  como  $C_4$ . Las especies de esta familia también se distinguieron por la gran variabilidad anatómica de sus hojas, muestra de su capacidad para adaptarse a diferentes ambientes incluidos los áridos.

## Summary

In order to determine the type of photosynthetic metabolism displayed by different vascular plants of the Parque Natural del Cabo de Gata-Níjar (Almería) a histological and ultrastructural study of their leaf anatomy has been performed. Twenty six vascular plant species from 10 different families were studied. Twelve of them turned out to be  $C_4$ , 2 CAM and the remaining resulted to be  $C_3$ . Variations on the model of leaf anatomy were found, especially in the Kranz typical anatomy for  $C_4$  plants.

The majority of species found belonged to the *Chenopodiaceae* family in which it was possible to differentiate  $C_3$  and  $C_4$  plants. The species of this family were also distinguished by their large variability in their leaf anatomy, which reflects their ability of adaptation to different environments, arid included.

## Introducción

Las plantas son organismos sésiles por lo que tienen que adaptarse a los distintos ecosistemas terres-

tres. En zonas áridas o semiáridas, como es el caso del Parque Natural del Cabo de Gata-Níjar caracterizado por sus altas temperaturas, sus largos y soleados días de verano y por la escasa lluvia en invierno, las plantas deben subsistir a una intensa irradiación solar que viene acompañada de altas temperaturas, escasa disponibilidad hídrica y altas concentraciones salinas en el suelo.

La fotosíntesis es uno de los procesos básicos de la vida de las plantas y como tal las etapas clave del mismo están altamente conservadas en todas las especies. Sin embargo, se han encontrado distintas variantes al mecanismo molecular de fijación y asimilación del  $CO_2$  que están estrechamente relacionadas con procesos de adaptación a entornos más o menos hostiles (Sage, 2004; Sayed, 2001). Estas variaciones se manifiestan en cambios en la anatomía foliar que, en algunas ocasiones, sólo se hacen patentes después de un estudio ultraestructural de los cloroplastos de estas especies.

La asimilación del  $CO_2$  atmosférico por las plantas se realiza mediante las reacciones del Ciclo de Calvin que es común a todos los organismos fotosintéticos. La mayoría de las plantas son  $C_3$ : el primer producto de su fotosíntesis es una molécula de tres átomos de carbono y sus hojas presentan un solo tipo de cloroplastos. Existen, además, otras variedades fotosintéticas propias de vegetales superiores denominadas plantas  $C_4$  y plantas CAM (Crassulacean acid metabolism). En ellas, previa a la carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato catalizada por la enzima rubisco que produce ácido fosfo-glicérico de tres átomos de carbono, se produce una primera carboxilación del ácido fosfoenolpirúvico (PEP) que origina como producto estable primario un ácido dicarboxílico de cuatro átomos de carbono (málico o aspártico). Tanto en las plantas  $C_4$  como en las CAM, se consigue concentrar el  $CO_2$  en torno a la enzima rubisco llegando casi a su nivel de saturación y

\* Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de plantas. Estación Experimental del Zaidín. CSIC. Profesor Albarada 1. 18008 Granada, España.

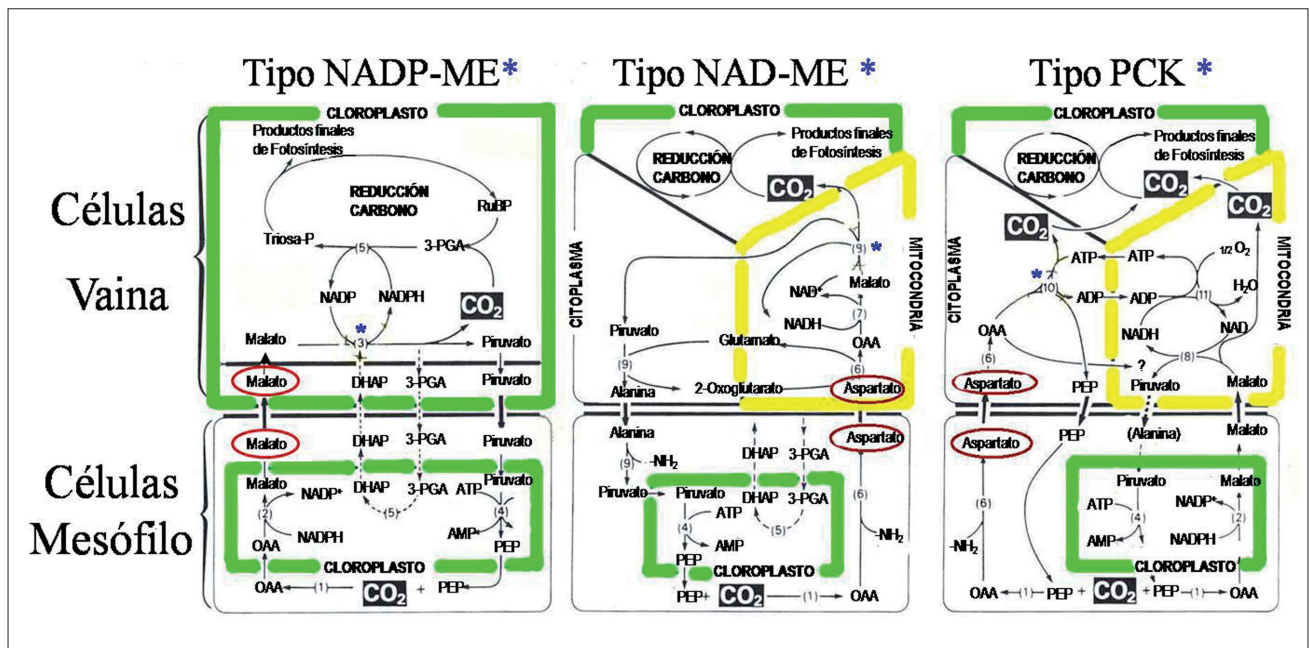
haciéndola así más eficaz en la segunda carboxilación al evitar al máximo la pérdida de CO<sub>2</sub> en la fotorrespiración (Kanai y Edwards 1999; Sage, 2004). La mejora en la asimilación del CO<sub>2</sub> atmosférico es posible gracias a que las carboxilaciones sucesivas se separan espacial o temporalmente. Esta mayor eficacia fotosintética les confiere una ventaja en su adaptación a ambientes con altas temperaturas, poca agua y alta salinidad lo que hace muy interesante su estudio.

En las plantas C<sub>4</sub> la anatomía foliar generalmente se modifica de manera que se forman dos tipos celulares implicados en la fotosíntesis: las células de la vaina y las células del mesófilo que conforman la típica anatomía en corona o Kranz (Hatch, 1984; Sage, 2004). Las células de la vaina con una pared más gruesa, se distribuyen formando un anillo alrededor de los haces vasculares y las del mesófilo se encuentran bajo la epidermis rodeando a las de la vaina. Estas células presentan dos tipos de cloroplastos distintos de manera que en los del mesófilo se produce la primera carboxilación y en los de las células de la vaina se produce la reducción del carbono. En la mayoría de las especies C<sub>4</sub> la carboxilación se realiza en el tejido que forman las células del mesófilo y la reducción en el que forman las células de la vaina, pero, dado que hay especies donde en estas funciones pueden intervenir además los cloro-

plastos de otras células de distinto origen; al primero, se le da el nombre genérico de tejido de asimilación fotosintética del carbono o PCA (photosynthetic carbon assimilation) y, al formado por las células donde se encuentra la rubisco y otras enzimas del ciclo de Calvin en las que se realiza la reducción, se le da el nombre de tejido de la reducción fotosintética del carbono o PCR (photosynthetic carbon reduction).

Existen otras modificaciones en la anatomía de las C<sub>4</sub> ya que no todas presentan la anatomía Kranz o en corona clásica (Lawlor, 2001; Sage, 2004). Además, dependiendo de la enzima que utilizan en la descarboxilación de las moléculas de 4 átomos de carbono se han descrito tres subtipos diferentes: 1) málico descarboxilasa dependiente de NADP, 2) de NAD o 3) PEP carboxiquinasa. Estos subtipos implican diferencias morfológicas tales como la distribución de los cloroplastos en las células de la vaina con respecto al haz vascular. Así, los cloroplastos de las células de la vaina pueden presentar la llamada distribución centrípeta cuando los cloroplastos se polarizan hacia el haz vascular, o la centrifuga cuando los cloroplastos se distribuyen por toda la célula de la vaina (ver esquema modificado de Hatch, 1987).

Se han encontrado plantas C<sub>4</sub> tanto en mono como en dicotiledóneas (Hatch, 1987; Sage, 2004) y



Esquema de los tres tipos de plantas C<sub>4</sub> según la enzima que utilizan en la descarboxilación (modificado de Hatch, 1987). El asterisco azul muestra la etapa en la que actúa la enzima que determina el tipo de planta C<sub>4</sub>. Dentro del círculo rojo se hace patente si son productoras de malato o aspartato. En verde se engloban las reacciones que se llevan a cabo en el cloroplasto y en amarillo en la mitocondria.

hay plantas con características morfológicas y funcionales tanto de las  $C_3$  como de las  $C_4$  por lo que han sido clasificadas como plantas intermedias  $C_3$ - $C_4$  (Rawsthorne, 1992; Hibberd and Quick, 2002).

En el caso de las plantas CAM, la primera carboxilación para fijar  $CO_2$  se realiza durante la noche cuando la pérdida de agua es más pequeña; de esta forma acumulan ácidos orgánicos, principalmente málico, en la vacuola. Esta acumulación es la que produce el sabor ácido de algunas Crasuláceas a primeras horas de la mañana y lo que les dio su nombre (metabolismo ácido de Crasuláceas o CAM, abreviatura de la denominación en inglés) (Teeri, 1982). Durante el día estos ácidos se transforman en azúcares a través del ciclo de Calvin. Para conseguir esta distribución temporal del metabolismo fotosintético las plantas CAM regulan la apertura de sus estomas al contrario que otras plantas: cerrándolos durante el día para evitar al máximo la pérdida de agua y abriéndolos durante la noche. Aunque prácticamente todas las plantas suculentas son plantas CAM, hay algunas suculentas, muchas de ellas halófilas, que no lo son y también hay plantas que no son suculentas pero sí presentan metabolismo fotosintético tipo CAM. Las plantas suculentas no poseen mesófilo en empalizada bien definido sino que el mesófilo esponjoso forma prácticamente toda la hoja, incluso la vaina que rodea los haces vasculares es mesófilica. Las células del mesófilo de estas plantas, además de cloroplastos, poseen grandes vacuolas donde se acumulan los ácidos por la noche (Nelson, 2005). Hay plantas CAM en distintas familias no sólo en *Crassulaceae*, *Cactaceae* y *Euphorbiaceae* sino también en *Cucurbitaceae*, *Geraniaceae*, *Labiatae*, *Lileaceae* y *Portulacaceae* (Sayed, 2001). Algunas plantas se pueden considerar como CAM facultativas pudiendo pasar de  $C_3$  a CAM dependiendo de las condiciones ambientales. En estas plantas la descarboxilación del malato durante el día puede ocurrir con cualquiera de las tres enzimas descritas para las  $C_4$  dependiendo de las especies.

Se han empleado distintas técnicas para determinar el metabolismo fotosintético de las plantas vasculares pero uno de los más usados ha sido el estudio de su anatomía foliar. En el marco del proyecto BAEZA financiado por la Fundación Ramón Areces se han realizado estudios histológicos y ultraestructurales de 26 especies encontradas en el Cabo de Gata en Almería para diferenciar los distintos tipos fotosintéticos. Estos

resultados junto con los de estudios botánicos y bioquímicos han permitido iniciar el catálogo de la flora de esta región.

## Materiales y métodos

Se recogieron plantas de 26 especies que crecían en el Cabo de Gata en Almería. Se tomaron fragmentos de hojas bien desarrolladas y sin señales de deterioro de unos pocos milímetros de lado, se fijaron durante 3 h a 4 °C en una mezcla de 4 % paraformaldehído y 2 % glutaraldehído en cacodilato 0,05 M, se postfijaron en  $OsO_4$  al 2 % en cacodilato 0,05 M y después de la deshidratación en series crecientes de etanol se incluyeron en Epon. Para el estudio al microscopio óptico se realizaron secciones transversales semifinas de 1 a 2 micras que se tiñeron con azul de toluidina mientras que las secciones ultrafinas fueron contrastadas con uranilo y plomo antes de su observación al microscopio electrónico.

Para visualizar mejor las membranas de los cloroplastos y mitocondrias otros fragmentos de hoja se fijaron en paralelo en una solución acuosa de permanganato potásico al 2% en agua que fueron después deshidratados e incluidos en las mismas condiciones que las muestras fijadas en la mezcla de aldehídos detallada anteriormente. De estas muestras también se obtuvieron tanto cortes semifinos como ultrafinos que fueron estudiadas al microscopio óptico y electrónico respectivamente.

## Resultados

Las condiciones climáticas del Parque Natural del Cabo de Gata-Níjar en la provincia de Almería hacen posible el desarrollo de un gran número de especies xerofitas. A pesar del interés de estas plantas, no existen prácticamente catálogos de las especies de esta región.

En este estudio se han analizado las características histológicas y ultraestructurales de las hojas de 26 especies de plantas vasculares. Estas especies pertenecen a las 10 familias que se detallan en la Tabla 1. De acuerdo con los caracteres histológicos observados se han clasificado las plantas en tres grandes grupos: plantas  $C_3$  (12 especies), plantas  $C_4$  (12 especies) o CAM (2 especies).

TABLA 1

Especies estudiadas. Se detalla la familia a la que pertenecen y, de acuerdo con los resultados histológicos, se apunta el tipo de metabolismo fotosintético que tienen sus hojas: C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> y CAM. C<sub>4</sub>-2 indica el subtipo 2 o NAD-ME

| Especie                             | Familia        | Tipo              | Observaciones                                     |
|-------------------------------------|----------------|-------------------|---|
| <i>Amaranthus blitoides</i>         | Amarantaceae   | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta. cloroplastos vaina con grana |
| <i>Arundo donax</i>                 | Poaceae        | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Atriplex glauca</i>              | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta. cloroplastos vaina con grana |
| <i>Atriplex halimus</i>             | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrífuga                               |
| <i>Atriplex semibaccata</i>         | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrífuga                               |
| <i>Beta maritima</i>                | Chenopodiaceae | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Calendula arvensis</i>           | Compositae     | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Capparis spinosa</i>             | Caparidaceae   | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Fagonia cretica</i>              | Zygophyllaceae | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrífuga                               |
| <i>Halimionae portulacoides</i>     | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrífuga                               |
| <i>Halogetum sativus</i>            | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta. cloroplastos vaina con grana |
| <i>Hordeum murinum</i>              | Poaceae        | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Hyparrhenia hirta</i>            | Poaceae        | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrípeta. cloroplastos vaina con grana |
| <i>Launaea lanata</i>               | Compositae     | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Lycium intricatum</i>            | Solanaceae     | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Lygeum spartium</i>              | Poaceae        | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Mesembryanthemum cristalinum</i> | Aizoaceae      | CAM               |   |
| <i>Mesembryanthemum nodiflorum</i>  | Aizoaceae      | CAM               |   |
| <i>Oxalis pres-caprae</i>           | Oxalidaceae    | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Periploca laevigata</i>          | Asclepiadaceae | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Salsola kali</i>                 | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta                               |
| <i>Salsola oppositifolia</i>        | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub>    | Distrib. centrífuga                               |
| <i>Salsola vermiculata</i>          | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta                               |
| <i>Suaeda pruinosa</i>              | Chenopodiaceae | C <sub>4</sub> -2 | Distrib. centrípeta                               |
| <i>Suaeda vera</i>                  | Chenopodiaceae | C <sub>3</sub>    |   |
| <i>Zygophyllum fabago</i>           | Zygophyllaceae | C <sub>3</sub>    |   |

### Plantas C<sub>3</sub>

Hemos encontrado plantas C<sub>3</sub> pertenecientes a distintas familias: *Poaceae* (3), *Chenopodiaceae* (2), *Compositae* (2), *Caparidaceae* (1), *Solanaceae* (1), *Oxalidaceae* (1), *Asclepiadaceae* (1) y *Zygophyllaceae* (1) (Tabla 1). Entre ellas observamos plantas con el mesófilo en empalizada y lagunar claramente distinguibles con un único tipo de cloroplastos adosados a la pared: *Calendula arvensis* (*Compositae*) y *Suaeda vera* (*Chenopodiaceae*) (figuras 1a, b, f y g). En el resto de plantas C<sub>3</sub> no se distingue claramente el mesófilo en empalizada como en: *Arundo donax*, *Hordeum murinum* y *Lygeum spartium* (*Poaceae*); *Capparis spinosa* (*Caparidaceae*); *Beta*

*maritima* y *Zygophyllum fabago* (*Chenopodiaceae*); *Launaea lanata* (*Compositae*); *Lycium intricatum* (*Solanaceae*); *Oxalis pres-caprae* (*Oxalidaceae*) y *Periploca laevigata* (*Asclepiadaceae*) (figs. 1c, d, e). Pero en todas ellas se detecta un solo tipo de cloroplastos con grana bien desarrollados y que presentan gránulos de almidón, como puede verse con mayor detalle tras el estudio al microscopio electrónico (figs. 1b, f, g, h).

### Plantas C<sub>4</sub>

También hemos encontrado especies C<sub>4</sub> pertenecientes a distintas familias: *Chenopodiaceae* (9), *Ama-*

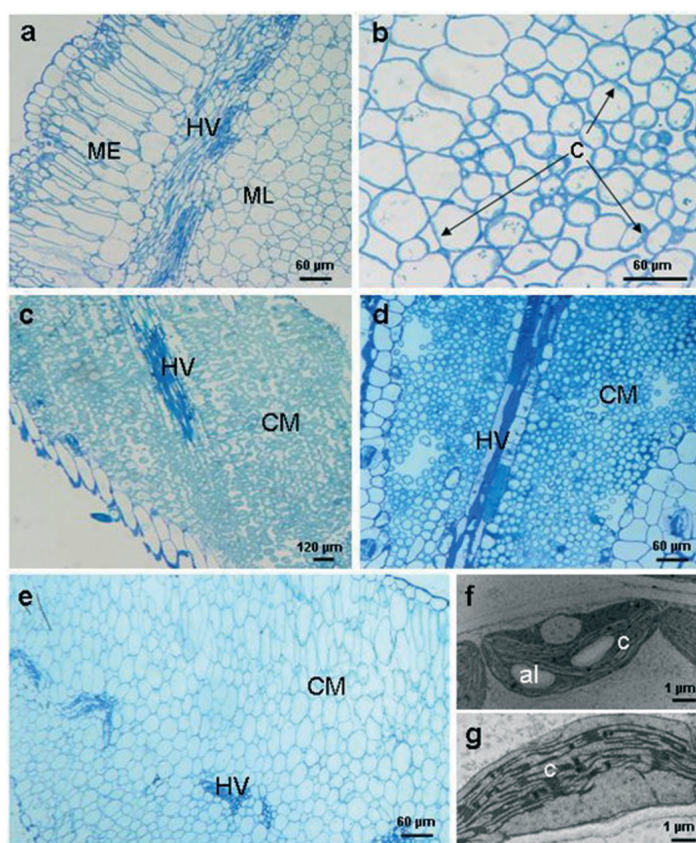


FIGURA 1. Plantas C<sub>3</sub>. a-e: Secciones semifinas de hojas fijadas con aldehydos y teñidas con azul de toluidina obtenidas de: a, b) *Suaeda vera*, c) *Hordeum murinum* d) *Periploca laevigata*, e) *Zygophyllum fabago*. f,g: Cortes ultrafinos de hojas de *Calendula arvensis* fijadas con: f) aldehydos y g) permanganato potásico. Mesófilo en empalizada (ME) y lagunar (ML). Células del mesófilo (CM) y que acumulan agua (CA). Haces vasculares (HV). Cloroplastos (c).

*rantaceae* (1), *Poaceae* (1) y *Zygophyllaceae* (1) (fig. 2). Con la típica anatomía tipo Kranz (células del mesófilo inmediatamente bajo la epidermis y rodeando a las células de la vaina que forman un anillo alrededor de los haces vasculares) y cloroplastos con distribución centrífuga en las células de la vaina (cloroplastos distribuidos al azar en las células de la vaina, adyacentes a la pared de las células del mesófilo): *Atriplex halimus*, *Atriplex semibaccata*, *Fagonia cretica* y *Halimionae portulacoides* (figs. 2a, b). Con la típica anatomía tipo Kranz y cloroplastos con distribución centrípeta en las células de la vaina (cloroplastos orientados hacia el tejido vascular): *Amaranthus blitoides*, *Halogatum sativus*, e *Hyparrhenia hirta* (fig. 2 c). Suculentas con células que rodean a un tejido donde se acumula agua con una distribución centrípeta de sus cloroplastos: *Atriplex glauca*, *Salsola kali*, *Salsola vermiculata* y

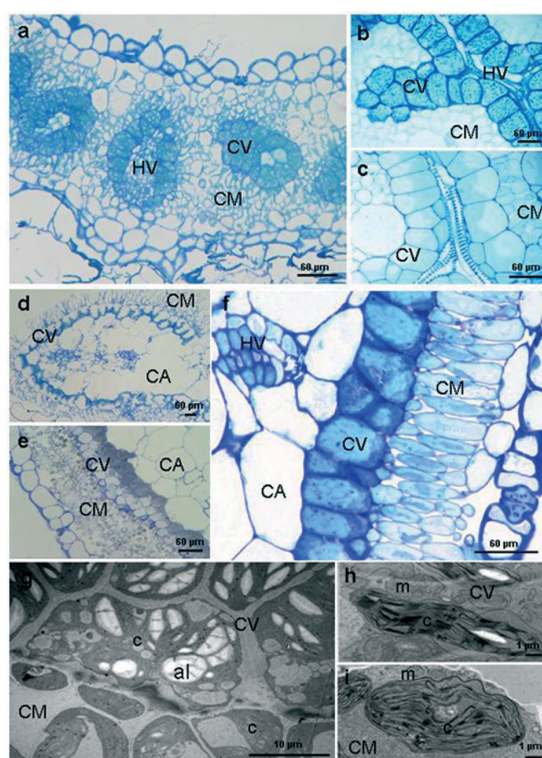


FIGURA 2. Plantas C<sub>4</sub>. a, b, c, d, f: Secciones semifinas de hojas fijadas con aldehydos y teñidas con azul de toluidina obtenidas de: a) *Atriplex semibaccata*, b) *Halimionae portulacoides*, c) *Amaranthus blitoides*, d) *Suaeda pruinosa* y f) *Salsola oppositifolia*. e: Secciones semifinas de hojas de *Salsola kali* fijadas con permanganato. g, h, i: Cortes ultrafinos de hojas de *Atriplex semibaccata* fijadas con: g) aldehydos y h, i) permanganato potásico. Células del mesófilo (CM) y vaina (CV). Haces vasculares (HV). Cloroplastos (c) y mitocondrias (m).

*Suaeda pruinosa*. Todas con una sola capa de células rodeando a las células que almacenan agua excepto en el caso de *Salsola kali*, que presenta varias capas (figs. 2 d, e). También encontramos otra suculenta con mesófilo en empalizada y las células que rodean a las células que acumulan agua con una distribución centrífuga de sus cloroplastos *Salsola oppositifolia* (fig. 2 f). En todas ellas hemos encontrado dos tipos celulares con las células de la vaina con una pared más gruesa que la de las células del mesófilo y con cloroplastos distintos en ambos tipos de células. Estudiando los detalles ultraestructurales de dichos cloroplastos hemos podido observar también diferencias, por ejemplo, en el caso de los cloroplastos de *Atriplex semibaccata* observamos almidón principalmente en las células de la vaina y mayor cantidad de grana que en los del mesófilo (figs. 2 g, h, i).

## Plantas CAM

Se han encontrado dos especies CAM: *Mesembryantemum cristalinum* y *Mesembryantemum nodiflorum*, ambas pertenecientes a la familia *Aizoaceae* con un solo tipo de cloroplastos en el mesófilo. Dichos cloroplastos, ricos en almidón y plastoglóbulos, se sitúan adyacentes a la pared. Las células del mesófilo se encuentran en estrecho contacto unas con otras y contienen grandes vacuolas que dejan el citoplasma reducido a una fina banda con numerosas mitocondrias (fig. 3).

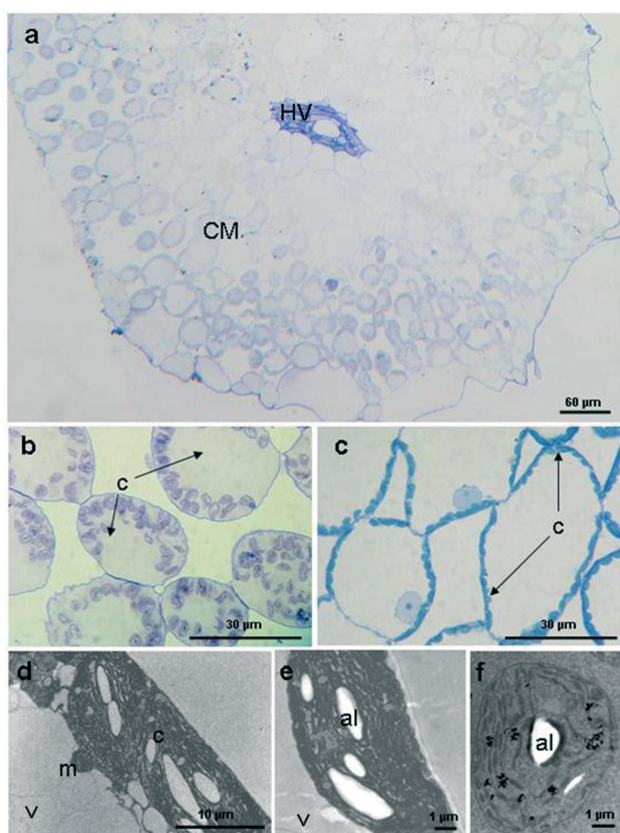


FIGURA 3. Plantas CAM. a,b,c: Secciones semifinas de hojas de *Mesembryantemum nodiflorum*: a, c) fijadas con permanganato y b) fijadas con mezclas de aldehídos. Células del mesófilo (CM). Haces vasculares (HV). Cloroplastos (c).

## Discusión

De las especies estudiadas (26) en el Cabo de Gata (Tabla 1) la mayoría pertenece a la familia *Chenopodiaceae* (11), dentro de esta familia encontramos que son más numerosas las de tipo  $C_4$  (9) que las  $C_3$  (2). El resto de las especies pertenecen a distintas familias entre

las que predominan las de tipo  $C_3$  (10) frente a las  $C_4$  (3) y CAM (2). En resumen, podemos decir que, según nuestra selección de plantas, las plantas  $C_4$  y  $C_3$  tienen una representación similar en el Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar (Almería) mientras que las especies CAM son minoritarias.

En las plantas  $C_3$ , además de la típica anatomía foliar en la que se distinguen claramente las células del mesófilo en empalizada situadas bajo la epidermis del haz y el mesófilo lagunar en el envés, hemos encontrado en nuestros estudios diversas variaciones. Algunas de ellas ya han sido previamente descritas (López y Devesa 1991, Jacobs 2001). Estas variaciones posiblemente se han producido en función de las condiciones ambientales donde se desarrollan.

Dentro de las  $C_4$  estudiadas, se han encontrado también modificaciones en la anatomía foliar. Ya desde los inicios de los estudios de las  $C_4$  se describieron variaciones en la anatomía foliar tipo Kranz (Downton, 1971). En la revisión de Sage (2004), se afirma que hasta ese momento se habían identificado hojas con más de 15 tipos de anatomía Kranz e incluso se recoge un nuevo tipo de fotosíntesis  $C_4$  que tiene lugar con un solo tipo de células fotosintéticas (Voznesenskaya et al. 2001, 2002). En estas últimas, la compartimentalización de las tareas fotosintéticas se realiza en distintas regiones de la célula con lo que se consigue fotosíntesis  $C_4$  sin la anatomía Kranz (Chuong et al. 2006).

En las especies que presentan anatomía Kranz con dos tipos celulares se modifica la pared externa de las células de la vaina o, en general, de las que forman el tejido donde se lleva a cabo la reducción del carbono (PCR, photosynthetic carbon reduction). Esta pared es más gruesa que la de las células del mesófilo de manera que se evita al máximo la pérdida de  $CO_2$ . En muchas herbáceas, dicha pared está impregnada de suberina. En especies sin suberina, los cloroplastos de estas células se distribuyen de forma centrípeta, de manera que la vacuola de las células de la vaina sirve para frenar la pérdida de  $CO_2$  (Sage, 2004).

Ya en 1971, Downton intentó correlacionar la posición de los cloroplastos en las células de la vaina y su ultraestructura con las reacciones de la fotosíntesis que llevan a cabo. Este autor señaló que la presencia en las células de la vaina de cloroplastos con poca grana o agranales ponía de manifiesto la falta de fotosistema II, por lo que estos cloroplastos no serían capaces de generar potencial reductor fotoquímicamente. El poder reductor probablemente lo tendría que proporcionar el



malato del mesófilo para reducir NADPH<sub>2</sub> por lo que, frecuentemente, las C<sub>4</sub> con poca grana en las células de la vaina son formadoras de malato, es decir del tipo NADP-ME o tipo PCK (ver esquema Hatch 1987). La distribución centrífuga de los cloroplastos de las células de la vaina facilitaría el acoplamiento entre los cloroplastos de la vaina y los del mesófilo para intercambiar malato y por tanto suministrar ese poder reductor. Cuando los cloroplastos de la vaina tienen grana pueden distribuirse de forma centrífuga o centrípeta, pero las especies que tienen distribución centrípeta suelen ser formadoras de aspartato (tipo NAD-ME). La presencia o no de mitocondrias próximas a los cloroplastos de las células de la vaina es otro indicio del posible subtipo de C<sub>4</sub> puesto que en las plantas NAD-ME y en las PCK, parte de las reacciones de descarboxilación del aspartato o del malato se realizan en las mitocondrias (Downton, 1971, Hatch, 1987, Sage 2004).

En el estudio ultraestructural fue de gran utilidad la el uso del permanganato potásico que fijaba mejor las estructuras membranosas, proporcionado información sobre el número y tamaño de los grana en los cloroplastos y de las características de las mitocondrias.

Los resultados obtenidos confirman la heterogeneidad que existe en las hojas de las especies de *Chenopodiaceae* con respecto a su anatomía y fisiología (Jacobs, 2001). En las otras familias estudiadas también se han encontrado variaciones de los distintos modelos. Aunque la clasificación definitiva dentro de un subtipo u otro de las distintas especies estudiadas sólo se puede completar con los datos bioquímicos y los de inmunolocalización de las enzimas específicas de cada tipo, su estudio anatómico y ultraestructural aporta datos interesantes de estas plantas capaces de adaptarse a las condiciones ambientales del Parque de Cabo de Gata-Níjar.

En cuanto a las especies CAM encontradas, hay que mencionar que por su capacidad de presentar metabolismo C<sub>3</sub>/CAM de forma facultativa han sido objeto de un estudio más profundo en otra de las contribuciones de este libro.

La clasificación de las plantas de acuerdo con los datos histológicos detallada en la Tabla 1 está en general de acuerdo con la obtenida de los datos bioquímicos o de composición isotópica. Sin embargo existen casos de especies que pueden tener un metabolismo intermedio entre C<sub>3</sub>/C<sub>4</sub> o C<sub>3</sub>/CAM. En ellos los datos histológicos son característicos de un tipo u otro pero no ponen de manifiesto esta posible alternancia.

## Agradecimientos

A Julio López Gorgé por animarnos a participar en este proyecto multidisciplinar subvencionado por la Fundación Ramón Areces, del que fue inagotable fuente de inspiración.

## Referencias bibliográficas

- CHUONG, S.D.X.; FRANCESCHI, V.R. y EDWARDS, G.E., 2006. «The cytoskeleton maintains organelle partitioning required for single-cell C<sub>4</sub> photosynthesis in *Chenopodiaceae* species». *Plant Cell*, 18, 2207-2223
- EDWARDS, G.E.; FURBANK, R.T.; HATCH, M.D. y C.; OSMOND, B., 2001. «What Does It Take to Be C<sub>4</sub>? Lessons from the Evolution of C<sub>4</sub> Photosynthesis». *Plant Physiol.*, 125, 46-49.
- HATCH, M.D., 1987. «C<sub>4</sub> photosynthesis; a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure». *Biochem. Biophys. Acta*, 895, 81-106.
- HIBBERD, J.M. y QUICK, W.P., 2002. «Characteristics of C<sub>4</sub> photosynthesis in stems and petioles of C<sub>3</sub> flowering plants». *Nature*, 415, 451-454.
- JACOBS, S.W.L., 2001. «Review of leaf anatomy and ultrastructure in the *Chenopodiaceae* (*Caryophyllales*)». *J. Torrey Bot. Soc.*, 128, 3, 236-253.
- KADEREIT, G.; BORSCH, T.; WEISING, K. y FREITAG, H., 2003. «Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the Evolution of C<sub>4</sub> Photosynthesis». *Int. J. Plant Sci.*, 164, 959-986.
- KANAI, R. y EDWARDS, G.E., 1999. «The biochemistry of C<sub>4</sub> photosynthesis». En: *C<sub>4</sub> plant biology*, 49-87. Eds. Sage, R.S. y MONZÓN, R.K. San Diego, CA, USA Academic press.
- LAWLOR, D.W., 2001. *Photosynthesis: molecular, physiological and environmental processes*, 3<sup>rd</sup> edition. Springer Verlag, New York.
- LÓPEZ, J. y DEVESA, J.A., 1991. «Contribución al conocimiento de la anatomía foliar de las *Aveneae* (*Poaceae*, *Pooideae*) del centro-oeste de España». *Anales Jar. Bot. Madrid*, 28, 2, 171-187.
- NELSON, E.A.; SAGE, T.L., y SAGE, R.E., 2005. «Functional leaf anatomy of plants with crassulacean acid metabolism». *Funct. Plant Biol.*, 32, 409-419.
- PYANKOV, V.; ZIEGLER, H.; KUZ'MIN, A. y EDWARDS, G., 2001. «Origin and evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis in the tribe Salsoleae (*Chenopodiaceae*) based on anatomical and biochemical types in leaves and cotyledons». *Plant Syst. and Evol.*, 230, 43-74.
- RAWSTHORNE, S., 1992. «C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> intermediate photosynthesis: linking physiology to gene expression». *Plant J.*, 2, 267-274.
- SAGE, R., 2004. «The evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis». *New Phytol.*, 161, 341-370.
- SAYED, O.H., 2001. «Review: Crassulacean Acid Metabolism 1975-2000, a check list». *Photosynthetica*, 39, 3, 339-352.
- TEERI, J. A., 1982. «Photosynthetic variation in the Crassulaceae». En: *Crassulacean Acid Metabolism*, 244-259. Eds. I.P. Ting and M.Gibbs. America Society of Plant Physiologists.
- VOZNESENSKAYA, E.V.; FRANCESCHI, V.R.; KIIRATS, O.; FREITAG, H., y EDWARDS, G., 2001. «Kranz anatomy is not

essential for terrestrial C<sub>4</sub> plant photosynthesis». *Nature*, 414, 29, 543-546.  
VOZNESENSKAYA, E.V.; FRANCESCHI, V.R.; KIIRATS, O.; ARTYUS-

HEVA, E.G.; FREITAG, H. y EDWARDS, G.E., 2002. «Proof of C<sub>4</sub> photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (Chenopodiaceae)». *Plant J.*, 31, 5, 649-662.