



*Resúmenes de la XXIII Reunión Bienal de la  
Sociedad de Microscopía de España  
3 al 6 de Julio de 2007  
Bilbao*



# ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL APARATO FOTOSINTÉTICO EN PLANTAS C<sub>4</sub> Y CAM MEDIANTE MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

J.D. Alché, A. Olmedilla y M.I. Rodríguez-García

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

*e-mail: juandedios.alche@eez.csic.es*

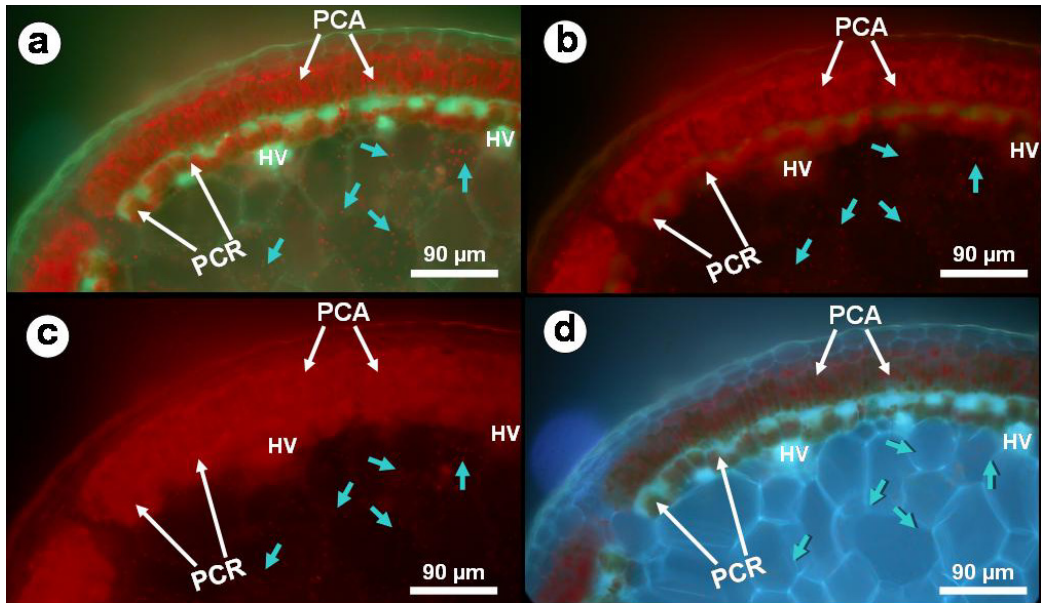
La autofluorescencia de los tejidos vivos es un fenómeno natural que se debe a la presencia de metabolitos endógenos y compuestos fluorescentes orgánicos e inorgánicos. En las células vegetales, la autofluorescencia se deriva principalmente de la presencia de clorofila y lignina, y es especialmente evidente cuando se usan longitudes de onda de excitación en el rango del azul y el ultravioleta. El uso de microscopía de epifluorescencia, y microscopía de barrido láser confocal puede contribuir a la caracterización de la estructura general de los tejidos, así como a la localización precisa de determinados componentes celulares [1]. La clorofila en concreto presenta un pico de absorción a 488nm. La emisión de fluorescencia de los fotosistemas I y II es sin embargo diferencial [2], estando dominada por fluorescencia por encima de 700 nm en el caso del PSI, y por debajo de 700 nm en el caso del PSII.

Se ha realizado un estudio histológico de hojas de diversas plantas C<sub>4</sub> y CAM mediante microscopía de epifluorescencia y microscopía de barrido láser confocal. El análisis de la autofluorescencia emitida por los tejidos de la hoja constituye un método rápido, sencillo y no disruptivo para establecer la organización básica de los tejidos fotosintéticos y no fotosintéticos. Dicho estudio ha permitido clasificar las plantas analizadas en varias categorías estructurales, además de sugerir un carácter mixto C<sub>4</sub>/CAM para algunas de ellas.

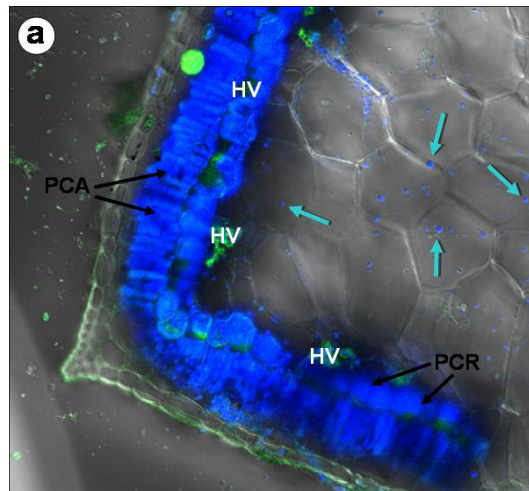
Para realizar el estudio, se obtuvieron secciones transversales (aprox. 0.5 mm) de hojas de las siguientes especies de plantas de las familias *Cyperaceae*, *Poaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Portulacaceae* y *Crassulaceae*. Dichas secciones fueron obtenidas a mano con un escalpelo de acero. Las secciones se colocaron en portaobjetos con una gota de agua, se cubrieron con un cubreobjetos y se observaron con un microscopio de epifluorescencia Nikon TE-2000U utilizando distintas combinaciones de filtros. Las imágenes fueron capturadas con una cámara Nikon Coolpix 4500 a una resolución de 2272x1704.

Se realizaron observaciones complementarias con un microscopio de barrido láser confocal Nikon C1 utilizando un láser Ar-488nm y un módulo diascópico DIC para luz transmitida. En todos los casos se utilizó un "pinhole" de pequeño tamaño (30 μm) y un objetivo Plan Achromat 60.0x/1.40/0.21. Las imágenes fueron procesadas con el software Nikon EZ-C1 viewer (2.10).

Los resultados obtenidos indican que la microscopía confocal, aparte de mejorar ostensiblemente la resolución respecto a la epifluorescencia estándar, probablemente permita desarrollar nuevas aplicaciones, como discriminar la distribución específica de los fotosistemas I y II en plantas C<sub>4</sub>, o cuantificar la actividad de los diferentes componentes del aparato fotosintético. La utilización de estas herramientas de Biología Celular permite, gracias a su facilidad de uso, diseñar experimentos destinados a ampliar el conocimiento de la fisiología de estas plantas, analizando la autofluorescencia específica emitida por su aparato fotosintético en distintas condiciones ambientales.



**Figura 1: Autofluorescencia en secciones transversales de hojas de *Salsola opositifolia*** observada mediante microscopía de epifluorescencia con irradiación azul (a), azul/violeta (b), roja (c) y ultravioleta. PCR: Photosynthetic Carbon Reduction tissue PCA: Photosynthetic Carbon Assimilation tissue. HV: haces vasculares. Las flechas muestran la localización de cloroplastos presentes en el tejido almacenador de agua.



**Figura 2: Autofluorescencia en secciones transversales de hojas de *Salsola opositifolia*** observada mediante microscopía confocal y luz transmitida. PCR: Photosynthetic Carbon Reduction tissue PCA: Photosynthetic Carbon Assimilation tissue. HV: haces vasculares. Las flechas muestran la localización de cloroplastos presentes en el tejido almacenador de agua.

### Referencias

- [1] A.M. Zobel and R.E. March. *Annals of Botany* 71,251-255 (1993).
- [2] G.E. Edwards, R.T. Furbank, M.D. Hatch and B. Osmond. *Plant Physiology* 125,46-49 (2001).
- [3] El presente trabajo ha sido financiado por los Proyectos MEC BFU2004-00601/BFI y por un proyecto de la Fundación Ramón Areces: "Empleo de especies autóctonas C<sub>4</sub> y CAM en programas de protección y desarrollo de zonas áridas y semiáridas del mediterráneo español". Los autores agradecen a A.B. Robles la caracterización botánica del material de estudio.