

Lagascalía 15 (Extra): 527-533 (1988).

CUATRO NUEVAS ESPECIES  
 CON ANATOMIA FOLIAR TIPO KRANZ:  
 SALSOLA VERMICULATA L., CYPERUS CAPITATUS  
 VANDÉLLI, SPOROBOLUS PUNGENS (SCHREBER)  
 KUNTH, SPARTINA DENSIFLORA BROUNG.

C. ECHEVARRÍA, A. MORILLA & M. SERRANO

Dpto. de Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla.  
 Avda. de Reina Mercedes, s/n. Sevilla 41012.

**Resumen.** La presencia de la anatomía foliar Kranz es el más común de los criterios utilizados para detectar plantas con metabolismo  $C_4$  y se caracteriza porque sus hojas poseen una vaina fotosintética que rodea a los haces conductores y un mesófilo fotosintético radial situado en corona alrededor de la misma. A partir del estudio microanatómico de las cormofitas del Parque Natural de las Marismas del Odiel, se concluyó que las especies *Salsola vermiculata* L., *Cyperus capitatus* Vandelli, *Sporobolus pungens* (Schreber) Kunth, *Spartina densiflora* Broung presentan anatomía foliar tipo Kranz, por lo que podrían ser consideradas nuevas especies  $C_4$ .

**Summary.** Among the several criteria used to detect  $C_4$  plants. Kranz leaf anatomy where the leaves possess a chlorenchyma tissue bundle sheath and radiate mesophyll tissue, is the most common one we have studied the cormophytes of the Odiel Marshes Natural Park and we have observed that the species *Salsola vermiculata* L., *Cyperus capitatus* Vandelli, *Sporobolus pungens* (Schreber) Kunth, *Spartina densiflora* Broung show Kranz type leaf anatomy and consequently they should be considered as new  $C_4$  plants.

## INTRODUCCION

Los vegetales  $C_4$  se caracterizan por verificar una «fotosíntesis cooperativa» (KARPILOV, 1970) basada en la diferenciación fisiológica lograda evolutivamente (GIL, 1986) por una compartimentación espacial de los enzimas fotosintéticos en dos tejidos diferentes de situación adyacente (GIL & al.,

1982; EDWARDS & WALKER, 1983). Este tipo especial de estructura fotosintética determina la posibilidad de actuación de mecanismos concentradores de  $\text{CO}_2$  con las consiguientes ventajas de disminución de la inhibición fotosintética por el  $\text{O}_2$  y de incremento de la producción neta (GIL & al., 1982).

Una de las características más conspicuas de los vegetales  $\text{C}_4$  es la posesión de una estructura foliar denominada Kranz (HABERLANDT, 1914) en la que se distingue un mesófilo fotosintético radial, alrededor de la vaina de los haces que, a su vez, presenta también cloroplastos funcionales.

Las células de la vaina, estrechamente adosadas unas a otras (LAETSCH, 1974), presentan paredes celulares más gruesas que las del mesófilo, con numerosas punteaduras atravesadas por plasmodesmos que comunican sus protoplastos con los del mesófilo, siendo su número inferior que el de las células de la corona mesofílica (BLACK & MOLLENHAUER, 1971; BROWN, 1975). Estas dejan grandes espacios intercelulares entre sí y se disponen helicoidalmente alrededor de los cordones de la vaina, lo cual facilita la difusión del  $\text{CO}_2$  desde el exterior (EDWARDS & BLACK, 1971; BLACK & al., 1973; CHEN & al., 1974). Sin embargo, sobre este modelo convencional es posible hallar diversas modificaciones (DE WINTER, 1965; WELKIE & CALDWELL, 1970; LERMAN & RAYNAL, 1972; SHOMER-ILAN & al., 1979).

Los cloroplastos de las células de la vaina son habitualmente distintos a los del mesófilo, de mayor tamaño, más abundantes y con una distribución espacial específica, correlacionable con los subtipos fisiológicos (GUTIÉRREZ & al., 1974), exhibiendo generalmente una cierta deficiencia en PS II (DOWTON, 1970; KU & al., 1974; MAYNARD & al., 1974) y retículo periférico (SHUMWAY & WEIER, 1967; ROSADO-ALBERIO, 1968). Los cloroplastos de las células del mesófilo suelen tener apariencia normal, pero son deficientes en Rubisco, a pesar de lo cual pueden, en ocasiones, sintetizar almidón, como los de la vaina (JIMÉNEZ & al., 1981).

Las mitocondrias suelen ser mayores y más complejas en la vaina (LAETSCH, 1974) aunque se trata de un fenómeno que varía con el subtipo fisiológico (LAETSCH, 1968; EDWARDS & HUBER, 1981). Los peroxisomas son, asimismo, más numerosos en las células de la vaina, lo cual facilita la posible operatividad del ciclo  $\text{C}_2$  fotorrespiratorio (EDWARDS & WALKER, 1981; GIL & al., 1982).

Por lo que respecta al resto de la estructura foliar, no existen variaciones específicas del metabolismo  $\text{C}_4$ , ni por lo que se refiere a las cutículas, epidermis, estomas, tejidos de sostén y glandulares, ni a las formas ni tamaño de las hojas que suelen depender más de las adaptaciones al ambiente, que de la modalidad fotosintética (GIL & al., 1982).

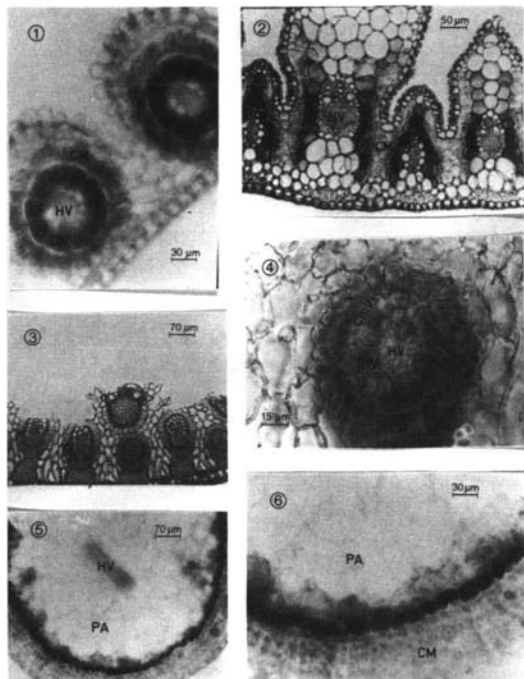


Fig. 1. Micrografía de una sección transversal de hoja de: *Sporobolus pungens* (Schreber) Künth; Fig. 2. *Spartina densiflora* Broung; Figs. 3 y 4. *Cyperus capitatus* Vandelli; Figs. 5 y 6: *Salsola vermiculata* L. HV, Haz vascular; Cfv. Células fotosintéticas de la vaina; CmV. Células del mestoma de la vaina; CM. Células del mesófilo; PA, Parénquima acuífero.



## MATERIALES Y METODO

El material fresco, recolectado «in situ», fue trasladado al laboratorio en bolsas de plástico cerradas herméticamente. Posteriormente se procedió a practicar cortes transversales a sus estructuras fotosintéticas. Los cortes, realizados manualmente, fueron teñidos con safranina al 0.1% y decolorados después en alcohol etílico, al 70%. El tiempo de tinción y decoloración, así como el montaje de los cortes en la preparación, con glicerina o ácido láctico, se determinó según la estructura foliar de la especie.

Las preparaciones fueron observadas en un microscopio Olympus modelo CHA-LB para determinar la presencia o ausencia de la anatomía foliar Kranz y fotografiadas en un microscopio Nikon HFM optiphot con película diapositiva a color Agfachrome 100 profesional.

*Abreviaturas.* PS II=fotosistema II

## RESULTADOS Y DISCUSION

Utilizando la metodología anteriormente descrita, se determinó la presencia de anatomía foliar Kranz en cuatro especies no citadas como  $C_4$ .

En *Sporobolus pungens* (Schreber) Kunth (Fig. 1), es posible observar dos capas de células fotosintéticas que rodean a los haces vasculares. En la capa más interna, formada por células de la vaina, destaca la distribución centripeta de los cloroplastos. La capa más externa está compuesta por las células del mesófilo. Se trata, por consiguiente, de una especie que presenta una típica anatomía foliar Kranz (MOSER, 1934). Por otro lado, por ser una monocotiledónea que presenta cloroplastos centrípetos en las células de la vaina se podría clasificar dentro del subtipo NAD-ME (GUTIÉRREZ & al., 1974).

*Spartina densiflora* Broung (Fig. 2) muestra una vaina de células parenquimáticas con cloroplastos, que no rodean totalmente a los tejidos vasculares, variante del modelo general de anatomía Kranz (MAYNE & al., 1977) presente en otras especies  $C_4$  como las del género *Uniola* (GIL & al., 1982). Estrechamente asociada a la vaina se observa una capa de células igualmente fotosintéticas, de menor tamaño, que son las células del mesófilo.

*Cyperus capitatus* Vandelli (Figs. 3 y 4), posee una vaina formada por dos capas de células; una más externa, mestoma, y otra, parenquimática, con cloroplastos en contacto con el haz vascular. Esta capa de células incoloras

de separación con el mesófilo es una variante típica de la tribu *Ciperea* (JOHNSON, 1964, SHOMER-ILLAN & al., 1975).

Finalmente *Salsola vermiculata* L. (Figs. 5 y 6), exhibe una estructura semejante a *Salsola kali* L., especie ampliamente considerada como C<sub>4</sub> (DOWNTON, 1971, KRENZER & al., 1975, ELMORE & al., 1983), en la que se diferencian dos tipos celulares que originan dos coronas fotosintéticas concéntricas, no estructuradas, alrededor de los haces vasculares (SHOMER-ILLAN & al., 1975).

### CONCLUSIONES

Las cuatro especies estudiadas muestran una anatomía foliar Kranz, por lo que podrían ser incluidas como nuevas especies C<sub>4</sub> dentro de los catálogos mundiales.

**Agradecimientos.** Este trabajo ha sido realizado con cargo al proyecto 2857 de la CAICYT.

### BIBLIOGRAFIA

- BLACK, C. C. & H. H. MOLLENHAUER (1971) Structure and distribution of chloroplasts and other organelles in leaves with various rates of photosynthesis. *Plant Physiol.* **47**: 15-23.
- \_\_\_\_\_, W. H. CAMPBELL, T. M. CHEN & P. DITTRICH (1973) The monocotyledons: their evolution and comparative biology III. Pathways of carbon metabolism related to net carbon dioxide assimilation by monocotyledons. *Quart. Rev. Bio.* **48**: 299-313.
- BROWN, W. V. (1975) Variations in anatomy associations and origins of Kranz tissue. *Amer. J. Bot.* **62**: 395-402.
- CHEN, T. M., P. DITTRICH, W. H. CAMPBELL & C. C. BLACK (1974) Metabolism of epidermal tissues mesophyll cells and bundle sheath strands resolved from mature mitsedge leaves. *Arch. Biochem. Biophys.* **163**: 246-262.
- DE WINTER, B. (1975) The South Adrican Stipae and Aristideae (Graminae). An anatomical, cytological and taxonomic study. *Bothalia* **8**: 201-399.
- DOWNTON, W. J. S. (1970) Preferential C<sub>4</sub>-dicarboxylic acid synthesis, the postillumination CO<sub>2</sub> burst, carboxil transfer step and grana configuration in plants with C<sub>4</sub> photosynthesis. *Can. J. Bot.* **48**: 1795-1800.
- \_\_\_\_\_ (1971) Check list of C<sub>4</sub> species. *En Photosynthesis and Photorespiration* (M. D. HATCH, C. B. OSMOND & R. O SLATER, eds.), 554-558. Wiley Interscience. New York.
- EDWARDS, G. E. & C. C. BLACK (1971) Isolation of mesophyll cells and bundle sheath cells from *Digitaria sanguinalis* L. Scop. leaves and scanning microscopy study of the internal leaf cell morphology. *Plant Physiol.* **47**: 149-156.
- \_\_\_\_\_ & S. C. HUBER (1981) The C<sub>4</sub> pathway. *En Biochemistry of plants*, Vol. 8 (M. D. HATCH & N. K. BOARDMAN, eds.), 237-281. Academic Press. New York, San Francisco, London.

- \_\_\_\_ & D. A. WALKER (1983)  $C_3$  y  $C_4$ : Mechanism cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell Scient. Publ., Oxford.
- ELMORE, C. D. & R. V. PAUL (1983) Composite list of  $C_4$  wedds. *Weed Science* **31**: 686-692.
- GIL, F. (1986) Origin of CAM as alternative photosynthetic carbon fixation pathway. *Photosynthetica* **20**: 494-507.
- \_\_\_\_, J. IRIARTE & M. S. JIMÉNEZ (1982) *La fotosíntesis  $C_4$  (Revisión del síndrome Kranz)*. Colección Maior. N° 1. Secretariado de publicaciones. Universidad de la Laguna.
- GUTIÉRREZ, M., V. E. GRACEN & G. E. EDWARDS (1974) Biochemical and cytological relationships in  $C_4$  plants. *Planta* **119**: 279-300.
- HABERLANDT, G. (1884) *Physiological plant anatomy*. Traslation of the 4th Ed. Mac Millan. 1914. London.
- JIMÉNEZ, M. S., A. CABALLERO-RUANO & F. GIL (1981) *Atriplex glauca*, a new plant with Kranz syndrome. *Photosynthetica* **15**: 28-35.
- JOHNSON, S. C. (1964) *An electron microscope study of the photosynthetic apparatus in plants with special reference to the Gramineae*. Ph. D. Thesis N° 64-8013. Universidad Texas. Austin.
- KARPILOV, Y. S. (1970) Cooperation photosynthesis in xerophytes. *Proc. Mold. Inst. Irrigation Vegetable. Res.* **11**: 3-66.
- KRENZER, E. G., D. N. MOSS & R. K. CROOKSTON (1975) Carbon dioxide compensation points of flowering plants. *Plant Physiol.* **56**: 194-206.
- KU, S. B. M., GUTIÉRREZ, R., KANAI & G. E. EDWARDS (1974) Photosynthesis in mesophyll protoplasts and bundle sheath cells of various types of  $C_4$  plants II. Chlorophyll and Hill reaction studies. *Z. Pflanzenphysiol.* **72**: 320-337.
- LAETSCH, W. M. (1968) Chloroplasts specialization in dicotyledons possessing the  $C_4$ -dicarboxylic acid pathway of photosynthetic  $CO_2$  fixation. *Amer. J. Bot.* **55**: 875-883.
- \_\_\_\_ (1974) The  $C_4$  syndrome: a structural analysis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 27-52.
- LERMAN, J. C. & J. RAYNAL (1972) La teneur en isotopes stables du carbone chez les Cypéracées: sa valeur taxonomique. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **275**: 1391-1394.
- MAYNE, B. C., A. M. DEE & G. E. EDWARDS (1974) Photosynthesis in mesophyll protoplasts and bundle sheath cells of various types of  $C_4$  plants. III. Fluorescence emission spectra, delayed light emission and  $P_{700}$  content. *Z. Pflanzenphysiol.* **74**: 275-291.
- \_\_\_\_, T. B. RAY & C. C. BLACK (1977) *Proc. Natl. Aca. Sci. USA.*
- MOSER, H. (1934) Untersuchugen über die blattstrukture von *Atriplex*. *Beith. Bot. Zentralbl.* **52**: 378-388.
- ROSADO-ALBERIO, J., T. E. WETER & C. R. STOCKING (1968) Continuity of the chloroplasts membrane system in *Zea mays* L. *Plant Physiol.* **43**: 1325-1331.
- SHOMER-ILAN, A., S. BEER & Y. WAISEL (1975) *Suaeda monoica*, a  $C_4$  plant without typical bundle sheaths. *Plant Physiol.* **56**: 676-679.
- \_\_\_\_, R. NEWMAN & Y. WAISEL (1979) Biochemical specialization of photosynthetic cell layers and carbon flow paths in *Suaeda monoica*. *Plant. Physiol.* **64**: 963-965.
- SHUMWAY, L. K. & T. WEIER (1967) The chloroplast structure of iojap maize. *Amer. J. Bot.* **54**: 773-780.
- WELKIE, G. W. & M. CALDWELL (1970) Leaf anatomy of species in some dicotyledon families as related to the  $C_3$  and  $C_4$  pathways of carbon fixation. *Can. J. Bot.* **48**: 2135-2146.