

CARACTERISTICAS FOTOSINTETICAS DE LA YUCA *Manihot esculenta* Crantz. ANATOMIA FOLIAR, ULTRAESTRUCTURA DE CLOROPLASTOS, TASAS FOTOSINTETICAS Y PRODUCTOS INICIALES DE LA FIJACION DEL CO₂ CON ¹⁴C

Néstor M. Riaño*
James H. Cock**
Yamel López F.***

COMPENDIO

Se alimentaron hojas de yuca, frijol y maíz con ¹⁴CO₂ en luz y los productos primarios de la fotosíntesis se identificaron 5 y 10 segundos después de la asimilación. En maíz, aproximadamente tres cuartas partes del carbón marcado se incorporó en los ácidos C₄, en frijol alrededor de las dos terceras partes en PGA, en yuca aproximadamente el 40-60 o/o en ácidos C₃ con 30-50 o/o en PGA. Estos datos indican que la yuca posee el ciclo fotosintético C₄. La planta presenta una corona alrededor del haz vascular y diferenciación entre cloroplastos, pero la anatomía no es perfecta, por consiguiente una asimilación apreciable del carbono tiene lugar directamente a través de el ciclo de Calvin-Benson-Bassham.

ABSTRACT

Cassava, bean and maize leaves were fed with ¹⁴CO₂ in light and the primary products of photosynthesis identified 5 and 10 seconds after assimilation. In maize, approximately three quarters of the labelled carbon was incorporated in C₄ acids, in bean about two thirds in PGA, and in cassava approximately 40-60 o/o in C₃ acids with 30-50 o/o in PGA. These data indicate that cassava possesses the C₄ photosynthetic cycle. Plant present vascular bundle sheath and differentiation between chloroplast, but the anatomy is not perfect, consequently appreciable carbon assimilation takes place directly through the Calvin-Benson-Bassham cycle.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A.A. 6713 Cali, Colombia.

*** Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

1. INTRODUCCION

La yuca, **Manihot esculenta** Crantz, es una de las fuentes menos costosas de calorías, constituye la cuarta fuente energética producida y consumida en los trópicos (Cock, 7) y se estima que proporciona entre 200 y 1000 calorías por persona-día a más de 700 millones de personas en los países en desarrollo. La mayor parte de la producción de yuca proviene de suelos agrícolas marginales con prácticamente ninguna aplicación de fertilizantes e insecticidas. La alta productividad de la yuca, aún en condiciones adversas, hace necesario emprender estudios que permitan conocer las bases de su eficiencia en la producción de materia seca, paso necesario para la postulación de un conjunto de tecnologías que permitan aprovechar al máximo el potencial de la planta.

Las plantas vasculares no suculentas se dividen en dos grupos, plantas C_3 y C_4 , según sus mecanismos de incorporación del CO_2 . Cada grupo se diferencia por características bioquímicas, fisiológicas y ecológicas (Medina, De Bifano y Delgado, 15). La vía fotosintética C_3 se ha sugerido como precursor filogenético de la vía C_4 (Ogren y Chollet, 18); diversos géneros contienen plantas con características intermedias, más eficientes que las C_3 pero menos que las C_4 (Monson, Edwards y Ku, 17). La yuca presenta alta tasa de fotosíntesis, bajo punto de compensación de CO_2 , baja fotorespiración, alta eficiencia en el uso del agua y una anatomía que presenta células con cloroplastos alrededor del haz vascular (CIAT 4, 5 y 6).

Debido a que no existen informaciones en cuanto a la vía metabólica que se asocia con la fijación del CO_2 en la fotosíntesis de la yuca y puesto que existe gran variabilidad en la producción de los diferentes materiales los objetivos del trabajo fueron: determinar los metabolitos intermedios, principalmente ácidos orgánicos, asociados con las vías metabólicas C_3 ó C_4 ; estudiar los tejidos foliares para determinar la existencia de la anatomía Kranz; estudiar de la ultraestructura de los cloroplastos para detectar diferencias anatómicas que puedan estar asociadas con cambios funcionales. Y determinar las tasas fotosintéticas en los materiales utilizados.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los experimentos se llevaron a cabo en el CIAT y en el Instituto de Asuntos Nucleares (Bogotá). Los materiales de yuca (MCol 22 y CM 507- 37), maíz (CIMMYT 346 Swan-Laposta C48B) y frijol (GO 4494, Calima) se sembraron en pots (25 cm de diámetro y 25 cm de altura) con una mezcla suelo, arena y compost. Cada planta se fertilizó con 14 g de 15:15:15 al mes de la siembra.

La anatomía foliar se estudió según la técnica de Roth (19) y la microscopía electrónica se adelantó según lo descrito por Mercer y Birbeck (16).

Las tasas fotosintéticas se midieron según la metodología descrita por Cock, Porto y El-Sharkawy (8).

Con el fin de alimentar la planta con $^{14}\text{CO}_2$, una cámara (26 x 26 x 8 cm) fue construída con dos pequeños ventiladores. La cámara se conectó a un frasco conteniendo ácido ortofosfórico al cual se le inyectaron 3 ml de bicarbonato de sodio marcado con una actividad de 50 microcuries por ml, con el fin de liberar el $^{14}\text{CO}_2$ para luego hacerlo pasar por la cámara, por la acción de una bomba. Hojas de cada material se expusieron al carbono radioactivo por períodos de cinco y diez segundos.

Luego del período de exposición, las hojas se colocaron en etanol de 80 o/o a 80°C, con el fin de detener la actividad enzimática.

La extracción se realizó de acuerdo con el método descrito por Kennedy y Laetsch (11); los ácidos orgánicos se separaron sobre papel, según la técnica de Korstschack, Hartt y Burr (12), y sobre cromatoplacas de celulosa.

Las manchas correspondientes a los ácidos orgánicos de interés se colocaron en frascos de borosilicato que contenían 1 ml de KOH 1M, por un período de 24 horas. Al adicionar 6 ml de líquido universal de centelleo se determinó su actividad en cuentas por minuto CPM (Beckman LS 7500). La atenuación se determinó para cada muestra y los resultados se convirtieron a desintegraciones por minuto DPM.

3. RESULTADOS

3.1. Anatomía de la hoja.

Los cortes transversales de los materiales MCol 22 y CM 507-37 presentan las mismas características morfológicas.

La epidermis superior es una cubierta de células de una sola capa, cuya cara inferior, aunque de forma irregular, puede asemejarse a un cuadrado o a un rectángulo, que puede subtender cada una entre 4 y 8 células del parénquima de empalizada.

El parénquima de empalizada se presenta como una capa unicelular, cuyos elementos tienen la apariencia de un cilindro alargado de aproximadamente 60 a 70 micras, constituyendo alrededor del 70 o/o del grosor de la hoja, y con un diámetro entre 6 y 8 micras. Los cilindros se arreglan en agru-

paciones en forma de embudo, si se les observa en un solo plano, embudo que puede contar con alrededor de 40 células. Esta misma característica fue referenciada, en 1884 por Haberlandt (10) en hojas de *Moricandia arvensis*, *Scabiosa ucrainica* y *Turgenia latifolia*. *Moricandia arvensis* presenta las vías fotosintéticas C_3 y C_4 (Bauwe, 1; Monson, Edwards y Ku, 17).

Los haces vasculares se encuentran rodeados por varias células, que dan la apariencia de una corona (CIAT, 5), con células más grandes que las del parénquima esponjoso circundante y con grandes cloroplastos en posición centrifuga. Esta capa o collar está conectada al parénquima de empalizada en su parte media superior, formando una especie de receptáculo del sistema de embudo.

El parénquima esponjoso está formado por células más o menos circulares, de tamaño menor que las células del collar del haz vascular, presentándose grandes espacios intercelulares, que forman especie de cámaras subestomáticas de gran dimensión.

La epidermis inferior es mucho más compleja que la superior, presentando gran profusión de tricomas.

En plantas monocotiledoneas C_4 , como maíz, y dicotiledoneas, como bledo, se presentan monoestratificadas las epidermis superior e inferior; las dicotiledóneas tienen mesófilo con parénquima de empalizada con células pequeñas, pero en el centro se observan los haces vasculares, rodeados de grandes células, con cloroplastos de gran tamaño, dando la apariencia de una corona y denominada por Haberlandt (10) como anatomía Kranz.

En una planta típica C_3 , como el frijol, se presentan las epidermis, un parénquima de empalizada triestratificado, ocupando aproximadamente el 50 o/o del tejido foliar, y un parénquima esponjoso con gran profusión de células pequeñas y bastantes espacios intercelulares; además, alrededor de algunos haces vasculares se observa una corona de células que la rodean pero estas no presentan cloroplastos.

3.2. Ultraestructura de cloroplastos.

En yuca, los cloroplastos del parénquima de empalizada se encontraron en grandes cantidades, muy cercanos a la pared celular, presentando granas muy característicos en forma de libros a lo largo del cloroplasto; además, se pueden observar algunas inclusiones de almidón. Esta misma característica la presentan los cloroplastos situados en el parénquima esponjoso.

Los cloroplastos que se encuentran en las células que rodean el haz vascular, presentan granas difusos y muy dispersos por toda la matriz del cloroplasto, sin formar estructuras características. La descripción se asemeja a la de los cloroplastos presentes en este mismo tipo de tejido, en especies de las familias Cyperaceae y Chenopodiaceae (Carolin, et al, 2 y 3). No se observaron inclusiones de almidón, debido tal vez a que las muestras se tomaron en tempranas horas de la mañana.

En plantas de maíz se observaron dos tipos de cloroplastos: los del mesofilo, que presentan granas bien diferenciadas y con pocas inclusiones de almidón, y los de las células que rodean el haz vascular, que son de gran tamaño, no presentan granas y están repletos de almidón. La observación de estos organelos concuerda con lo descrito por Laetsch (13).

En frijol los cloroplastos son iguales para todos los tejidos, presentaron granas bien desarrollados y las estructuras características. Además, presentaron grandes cantidades de almidón.

3.3. Fotosíntesis.

La fotosíntesis aparente de las hojas antes de la marcación con el $^{14}\text{CO}_2$ (Cuadro 1) fue de 32 para el frijol, luego se situaron las variedades de yuca con tasas de 49 (CM507-37) y 71 (MCol 22), mientras que en maíz se obtuvieron las tasas más altas (122). Los resultados demuestran que las hojas estaban fotosintetizando activamente en el momento de la medición, y corroboran las altas tasas fotosintéticas en la planta de yuca, mayores que en plantas C_3 pero menores que en plantas C_4 (CIAT, 5; Cock, Porto y El-Sharkawy, 8; El-Sharkawy y Cock, 9).

3.4. Compuestos radioactivos.

Luego de cinco y diez segundos de exposición de las hojas al $^{14}\text{CO}_2$, la actividad de los extractos aumenta significativamente (Cuadro 2), lo cual indica un comportamiento adecuado de las plantas en el momento de la marcación. Los materiales de yuca continúan presentando valores intermedios respecto a las plantas típicas C_3 y C_4 .

Después de cortos períodos de exposición al $^{14}\text{CO}_2$, la planta de frijol presenta el 70 o/o de la actividad total en el ácido fosfoglicérico (PGA); mientras que el maíz presenta la mayor actividad, cercana al 70 o/o, en ácidos pertenecientes a la vía C_4 como son el málico, aspártico y oxalacético (Cuadro 3). En los materiales de yuca alrededor del 40 o/o de la actividad total se encuentra en los compuestos pertenecientes a la vía C_4 .

Cuadro 1

Tasas fotosintéticas de los materiales utilizados en la investigación

Material	CO ₂	Area foliar dm ²	Fotosíntesis aparente mgCO ₂ dm ⁻² hr ⁻¹
Frijol	25.0	0.65	32
CM 507-37	12.5	0.21	49
MCol 22	19.0	0.22	71
Maíz	65.0	0.44	122

Cuadro 2

Actividad de los extractos, de los diferentes materiales luego de 5 y 10 segundos de exposición al ¹⁴CO₂ y su relación con la fotosíntesis aparente

Material	Fotosíntesis aparente mgCO ₂ dm ⁻² hr ⁻¹	Actividad del extracto (Desintegraciones por minuto-DPM)	
		5 seg.	10 seg.
Frijol	32	120	249
CM 507-37	49	350	454
MCol 22	71	343	508
Maíz	122	700	1349

Cuadro 3

Incorporación de ^{14}C en los diferentes compuestos, luego de cinco y diez segundos de exposición foliar al $^{14}\text{CO}_2$

Material	Actividad total Extracto (DPM)	Malico o/o	Aspartico o/o	Oxalac. o/o	PGA o/o	Otros o/o
5 segundos						
Frijol	120	1 - 2	1	1	68 - 71	26 - 28
CM 507 - 37	350	17 - 20	13 - 15	6 - 9	43 - 48	21 - 22
MCol 22	343	31 - 35	8 - 10	5 - 8	31 - 37	22 - 25
Maíz	700	49 - 54	15 - 16	10 - 12	21 - 22	5 - 6
10 segundos						
Frijol	249	1 - 2	1	1 - 2	70 - 74	28 - 32
CM 507 - 37	454	35 - 37	18 - 24	4 - 9	28 - 31	13 - 20
MCol 22	509	26 - 29	5 - 7	6	33 - 34	27 - 32
Maíz	1349	43 - 47	18 - 22	6 - 7	17 - 21	16 - 24

Hay que anotar que no se midieron gran cantidad de compuestos intermedios por lo que sus actividades se reúnen en el dato denominado otros componentes, las cuales pueden pertenecer tanto a la vía C_3 como a la C_4 .

4. DISCUSION

Es hoy bien conocida la relación existente entre las características morfológicas y las vías fotosintéticas de los diferentes tipos de plantas, lo cual permite tener plantas típicas que sirven como referencia para el estudio de otras. La planta de yuca, de acuerdo con varios de los aspectos aquí estudiados, presenta características que la diferencian de plantas típicas C_3 (frijol) y C_4 (maíz).

La característica anatómica de una hoja de yuca no presenta muchas diferencias con las de plantas dicotiledoneas C_3 . Sin embargo, la estructura de embudo formada por el parénquima de empalizada y la presencia de una corona de células más grandes que las del parénquima esponjoso circundante que presentan cloroplastos en posición centrifuga, haciendo similitud con la anatomía Kranz típica de las C_4 , ha sido informada únicamente para plantas intermediarias como *Moricandia arvensis*, *Flaveria* sp. y otras (Haberlandt, 10; Monson, Edwards y Ku, 17).

La diferenciación ultraestructural de los cloroplastos, aunque no muy clara aún, presenta una evidencia sobre la posible funcionalidad de la corona alrededor del haz vascular, dando posibles explicaciones al comportamiento bioquímico y fotosintético de la planta.

La fotosíntesis aparente de los materiales de yuca indica un comportamiento intermedio entre C_3 y C_4 , característica sustentada por el hecho de que la planta presenta alrededor del 40 o/o de la incorporación del CO_2 atmosférico mediante el metabolismo C_4 , debido a que los metabolitos intermedios de ésta vía resultan marcados en cortos periodos de exposición. Este dato sugiere que la yuca necesariamente posee el sistema enzimático para fijar el CO_2 por las dos vías, ya que el porcentaje de PGA marcado en cortos periodos también es de alrededor del 40 o/o. De acuerdo a estos datos se podría esperar que las enzimas involucradas en el proceso de captación y fijación en la vía C_4 como lo son la PEP-C, la piruvato di-kinasa, la malato dehidrogenasa y otras, presenten actividades razonablemente altas para esta especie.

Las tasas fotosintéticas intermedias, debidas probablemente al hecho de presentar pérdidas por fotorespiración, presentándose a la vez puntos intermedios de compensación del CO_2 , hacen pensar que a pesar de presentarse el conjunto de enzimas necesarias para la captación y fijación del CO_2 , la

anatomía imperfecta impide una buena refijación del CO₂ fotorespirado, habiendo pérdidas considerables.

Hasta el momento, tal vez la explicación a la existencia de los dos ciclos fotosintéticos en la planta de yuca, se cimienta en el trabajo realizado por El-Sharkawy *et al* (9), en el cual se informa sobre un comportamiento de respuesta de toma de CO₂ diferente, cuando la planta se expone a temperatura entre 27 y 35°C ó más altas.

Por estudios enzimáticos es bien sabido que la actividad de una enzima en particular está muy ligada a la temperatura dentro de unos rangos muy precisos. El hecho de salirse del rango implica su inactivación. También es bien sabido que hay enzimas que presentan máxima actividad a temperaturas más elevadas que otras.

Probablemente en la yuca, entre 18 y 20°C la actividad de la RUBISCO llega a su máximo, mientras la de la PEP-C es mínimo; pero al ir variando la temperatura, hacia 25 o 30°C, se inhibiría la actividad de la RUBISCO y llegaría a su pico máximo la de la PEP-C. Lo cual explicaría los valores intermedios del punto de compensación de CO₂, fotorespiración y fotosíntesis, cuando se han determinado entre 20 y 25°C, probablemente debido al funcionamiento de las dos vías fotosintéticas, pero con preponderancia de la vía C₃ (Mahon, Lowe y Hunt, 14).

Sería muy arriesgado, con base en estos resultados, explicar otros posibles mecanismos que hacen de la yuca una planta que presenta producciones relativamente altas de materia orgánica, en condiciones muy desfavorables para otros cultivos; sin antes conocer la actividad de las enzimas presentes y su sitio de acción en el tejido foliar, además de un estudio más detallado acerca de aquellos organelos citoplasmáticos, como mitocondrias y peroxisomas, participes en conjunto con los cloroplastos, de los mecanismos de intercambio gaseoso en la hoja.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. La planta de yuca presenta una anatomía intermedia entre plantas típicas C₃ y C₄.
- 4.2. Los cloroplastos del mesófilo se diferencian de los de células de la corona del haz vascular, fundamentalmente en la estructura granar.
- 4.3. El hecho de que en periodos cortos de exposición a ¹⁴CO₂, la planta incorpore alrededor del 40 o/o del ¹⁴C en metabolitos como malato,

aspartato y oxalacetato, indica que están presentes las enzimas necesarias para la captación y fijación del CO_2 ambiental por medio de la vía C_4 . Pero el hecho de presentar una anatomía imperfecta o tal vez aún en evolución, sugiere que la planta no tiene la capacidad de utilizar y aprovechar al máximo dicha característica, presentándose hasta hoy como una planta intermedia entre C_3 y C_4 , para características anatómicas y algunas de intercambio gaseoso.

5. BIBLIOGRAFIA

1. BAUWE, H. Photosynthetic enzyme activities in C_3 and C_3 - C_4 intermediate species of *Moricandia* sp. and in *Panicum milioides*. *Photosynthetica*. v. 18, n. 2, p. 201-209. 1984.
2. CAROLIN, R. C.; JACOBS, S. W. L.; VESK, M. The ultrastructure of Kranz cells in the family Cyperaceae. *Bot. Gaz.* v. 138, n. 4, p. 413-419. 1977.
3. —————. Kranz cells and mesophyll in Chenopodiales. *Aust. J. Bot.* v. 26 p. 683-698. 1978.
4. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Cassava program. Annual Report, 1981.
—————. Cassava program. Annual Report, 1982-1983.
6. —————. Cassava program. Annual Report, 1984.
7. COCK, J. H. Cassava, new potential for a neglected crop. USA, Westview Press, 1985. p. 3-12.
8. COCK, J. H.; PORTO, M. C. M.; EL-SHARKAWY, M. A. Water use efficiency of cassava. III influence of air humidity and water stress on gas exchange of field grown cassava. *Crop Sci.* v. 25, p. 265-272. 1985.
9. EL-SHARKAWY, M. A.; COCK, J. H. Water use efficiency of cassava. I. Effects of air humidity and water stress on stomatal conductance. *Crop Sci.* v. 24, p. 497-502. 1984.
10. HABERLANDT, G. Physiological plant anatomy. MONTAGU, B. A. 4a. reimpression de: *Physiologische Pflanzenanatomie*, 1884. New Delhi, Today and Tomorrow Book, 1965. p. 261-300.
11. KENNEDY, R. A.; LAETSCH, W. M. Relationship between leaf development and primary photosynthetic products in the C_4 *Portulaca oleraceae*. *Planta*. v. 115, p. 113-124. 1973.

12. KORTSCHAK, H. P.; HARTT, C. E.; BURR, G. O. Carbon dioxide fixation in sugarcane leaves. *Plant Physiol.* v. 40, n. 2, p. 209-213. 1965.
13. LAETSCH, W. M. Chloroplast specialization in dicotyledons possessing the C₄ dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. *Am. J. Bot.* v. 55, n. 8, p. 875-883. 1978.
14. MAHON, J. P.; LOWE, S. B.; HUNT, L. A. Variation in the rate of photosynthesis CO₂ uptake in cassava cultivars related species of manihot. *Photosynthetica.* v. 11, p. 131-138. 1977.
15. MEDINA, E.; DE BIFANO, T.; DELGADO, M. Diferenciación fotosintética en plantas superiores. *Interciencia.* v. 1, n. 2, p. 128-134. 1976.
16. MERCER, E. H.; BIRBECK, M. S. C. Manual de microscopía electrónica para biólogos. Madrid, Blume, 1974.
17. MONSON, R. K.; EDWARDS, G. E.; KU, M.S.B. C₃-C₄ intermediate photosynthesis in plants. *Bioscience.* v. 34, n. 9, p. 563-574. 1984.
18. OGREN, W. L.; CHOLLET, R. Photorespiration. En: GOVINDGE. Development, carbon metabolism and plant productivity. New York, Academic Press, 1982.
19. ROTH, I. Microtécnica vegetal. Universidad Central de Venezuela, 1964. 87 p.