Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile

Anatomy of the photosynthetic tissue in ten taxa of *Opuntia* established to the mediterranean arid zone of Chile

HERMAN SILVA¹, EDMUNDO ACEVEDO¹ & PAOLA SILVA¹

¹ Laboratorio de Relación Suelo - Agua - Planta, Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile, e-mail: hsilva@abello.dic.uchile.cl

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la exposición de cladodios a la radiación en la anatomía del tejido fotosintético de 10 taxa de *Opuntia*, (plantas con metabolismo ácido crasuláceo, CAM) establecidos en el secano árido de la IV Región de Chile. A nivel del tejido epidérmico se evaluó el grosor de la cutícula, la densidad de estomas y las dimensiones de células oclusivas. En el tejido fotosintético, se evaluó las dimensiones celulares con el objeto de estimar la superficie de paredes celulares expuestas al intercambio gaseoso por unidad de tejido fotosintético, relación conocida como A^{mes}/A . Los resultados señalan grandes dimensiones celulares y baja densidad estomática, lo que determina un número reducido de estomas por unidad de superficie en relación a especies de otras vías metabólicas (C3 y C4). La comparación entre taxones, muestra diferencias significativas en la relación de áreas A^{mes}/A , parámetro estrechamente relacionado a la capacidad fotosintética. Estas características anatómicas y sus modificaciones en combinación con el metabolismo CAM, contribuyen a su adaptación a condiciones de pluviometría limitada.

Palabras clave: *Opuntia* spp, anatomía, cladodios, tejido fotosintético, relación de áreas.

ABSTRACT

The anatomy of the photosynthetic tissue and the effect of cladode exposure to radiation was studied in ten taxa of *Opuntia*, plants with crassulacean acid metabolism (CAM), established in the dry lands of the IV Region of Chile. At the epidermic level the cuticle thickness, stomatal frequency, and dimension of guard cells were evaluated. In the photosynthetic tissue, cell dimensions were determined in order to estimate the area of cell walls exposed to gaseous exchange per unit of photosynthetic tissue (A^{mes}/A). The results indicate large cell dimensions and low stomata frequency which results in a reduced number of stomata per unit area in relation to species with other metabolic pathways (C3 and C4). The comparison between taxa shows significant differences in the relation of A^{mes}/A areas, a parameter closely associated to the photosynthetic capacity and water use efficiency. The above anatomic characteristics of these plants in combination with pathway CAM contribute to their adaptation to limited rainfall conditions.

Key words: *Opuntia* spp, anatomy, cladodes, photosynthetic tissue, area relationship.

INTRODUCCIÓN

Existen especies que poseen características fisiológicas y morfológicas que les permiten sobrevivir y aún crecer en condiciones de déficit hídrico. En este grupo de plantas, las más conocidas son aquellas que tienen el metabolismo ácido crasuláceo (CAM), en particular las especies que pertenecen al género *Opuntia* (Tourn) Mill., (Gard.Dict.Abr.de.4.1754) sub-género *Platy-Opuntia* (Scheinvar, 1995). La mayoría de los estudios anátomo-morfológicos son eminentemen-

te descriptivos y hacen escasa mención a los aspectos funcionales del tejido fotosintético en especies de metabolismo ácido crasuláceo.

La anatomía del tejido fotosintético puede influir directamente en la captación del CO_2 por sus efectos en la resistencia difusiva (Nobel 1999). Diferentes estudios en plantas de cultivo se han orientado a definir caracteres anatómicos que podrían ser manipulados para aumentar la producción (Lee et al. 2000). Para condiciones de pluviometría limitada las especies han desarrollado ciertas características xerofíticas. La pérdida de agua es reducida por una baja transpiración

cuticular, reducido número de estomas por unidad de superficie (Buttery et al. 1993), por la presencia de pelos o tricomas (Van Rensburg et al. 1993), por la pérdida de hojas o la reducción de sus dimensiones, o bien por su disposición con respecto a la radiación incidente (Parvlevliet et al. 1991, Nobel 1995).

El grosor cuticular, su carácter glauco, la presencia de tricomas pueden influir significativamente sobre la temperatura foliar y/o aumentar la capa límite cercana a la hoja. La temperatura foliar afecta directamente la tasa transpiratoria a través de su influencia en la diferencia de concentración de vapor de agua entre la hoja y al aire externo (Smith & Nobel 1977). Después de los estomas, el sitio secundario de pérdida de agua por transpiración es la cutícula. La permeabilidad hidráulica de la cutícula está dada por las ceras embebidas en su matriz y por las ceras depositadas sobre la cutícula (Upadhyaya & Furness 1994). Se ha demostrado que la transpiración cuticular disminuye con el aumento de las ceras (O'Toole et al. 1979). Sin embargo, la cutícula puede además contribuir al balance energético por reducción de la radiación neta y aumento de la reflectancia.

Las variaciones en la anatomía del tejido fotosintético como su grosor, la pubescencia, las dimensiones celulares y la relación entre la superficie de las paredes celulares del clorénquima y la superficie exterior (A^{mes}/A) sirven a la planta como adaptaciones a medios calurosos y secos (Nobel et al. 1975, Nobel 1980, Silva & Acevedo 1984, Nobel 1988, Silva et al. 1999). Esta relación de la superficie del tejido fotosintético, representa la superficie efectiva de difusión para el CO_2 que influye sobre la fotosíntesis y sobre la eficiencia en el uso del agua (Nobel 1980, Patton & Jones 1989). A^{mes} representa la superficie total de las células del clorénquima expuesta a los espacios intercelulares mientras que A es la superficie fotosintética externa. La superficie de paredes celulares a través de la cual el CO_2 difunde es más grande que la superficie exterior (Turrell 1936, Nobel 1977). La temperatura, el nivel de radiación y el déficit hídrico son los principales factores que determinan esta relación.

Aunque A^{mes}/A varía con las especies vegetales, para plantas mesófitas se estima entre 15 y 45; en tanto para las xerófitas, que se caracterizan por presentar un tejido en empalizada altamente desarrollado, la relación alcanza valores entre 20 y 70 (Nobel 1999). Por otro lado, Longstreht et al (1980) examinaron 12 plantas C3 y 6 plantas C4, en que esta relación para las C3 varió entre 17 y 41, en tanto para plantas C4 varió entre 10 y 19.

En *Agave deserti*, una planta CAM, Nobel (1980) estimó una relación de áreas de 176.

Otras características morfoanatómicas han sido asociadas con el desarrollo del tejido bajo condiciones de alta luminosidad comparada con hojas sombreadas sobre la misma planta (Nobel et al. 1975). Las plantas pueden responder a diferentes niveles de exposición a la radiación alterando la estructura interna del tejido fotosintético tales como la cantidad y distribución de los tejidos en empalizada y esponjoso como también su estructura externa. Recientemente, muchos de estos cambios estructurales han sido asociados con la regulación de la luz y del CO_2 al interior de la hoja y han propuesto que estos cambios estructurales están orientados a aumentar la eficiencia fotosintética (Parkhurst & Mott 1990, Vogelmann et al 1996). Específicamente las hojas expuestas al sol tienden a ser más gruesas, lo cual incrementa el área interna por unidad de área externa. Este aumento conduce a una disminución de la resistencia en fase líquida a la captación de CO_2 , resistencia del mesófilo, acompañada por un aumento de la fotosíntesis por unidad de área fotosintética.

La estructura del clorénquima puede ser una característica inalterable para un grupo de especies o puede ser fenotípicamente plástica. Por ejemplo la succulencia es más frecuente en especies xéricas que en las mészicas, lo cual permite asociar la succulencia como una adaptación para la sobrevivencia bajo condiciones de baja disponibilidad de agua. La vía fotosintética CAM, es generalmente asociada a especies suculentas que retienen el agua y muestran un crecimiento limitado. Las especies del género *Opuntia*, pertenecen a la familia Cactaceae. Ellas poseen características anatómicas y fisiológicas que les permiten una mejor utilización del agua en relación a las plantas C3 y C4 (Nobel 1988, Silva 1995) debido a su comportamiento estomático particular y a la fijación del CO_2 durante la noche (Black 1973, Silva 1995).

Este trabajo forma parte de un estudio de introducción y de adaptación de especies con valor económico en la zona árida mediterránea de la IV región de Chile, siendo uno de sus objetivos la selección de genotipos en base a sus características anatómicas - morfológicas y fisiológicas.

El objetivo de este trabajo fue determinar la anatomía del tejido fotosintético de 10 taxa de *Opuntia* con particular referencia al efecto de la radiación incidente sobre los cambios anatómo-morfológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó con material proveniente de la Estación Experimental Agronómica Las Cardas (EEALC), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la IV Región, Comuna de Coquimbo (30° 13' S, 71° 13' O).

Los taxa de *Opuntia*, fueron obtenidos a partir de semillas de origen mexicano (Universidad Antonio Narro, Saltillo Coahuila, México) y a partir de cladodios en el caso de *O. ficus indica* de plantaciones establecidas en la IV Región (Tabla 1).

Los cladodios utilizados para la medición de los diferentes parámetros fueron obtenidos a partir de plantas de tres años.

Anatomía del tejido fotosintético

El estudio anatómico del tejido fotosintético en las diversas especies y procedencias de *Opuntia* spp se realizó en ambas caras del cladodio, por lo cual los parámetros considerados están en relación con la exposición norte y con la exposición sur. Se realizaron cortes histológicos a mano y en micrótopo de congelación en tejido fresco. Se utilizaron trozos de 5 mm de tejido que luego fue congelado con gas carbónico. En estas condiciones se obtuvieron cortes de 25 µm de espesor montados en portaobjetos para la observación al microscopio fotónico. Se consideró esta técnica dada la gran cantidad de mucílagos que impiden la deshidratación e infiltración de parafina en el tejido al utilizar la técnica corriente (Johanssen 1969).

La longitud y el diámetro de las células fueron medidas en secciones transversales y tangenciales del tejido. El número de estomas por unidad de superficie y las dimensiones del estoma en ambos costados del cladodio fueron determinados en secciones tangenciales. Las secciones tangenciales o paradérmicas permiten la construcción de un modelo tridimensional para calcular A^{mes}/A .

Relación de áreas

Una vez obtenidos los cortes del tejido fotosintético, se realizó un total de 16 dibujos (8 en sección transversal y 8 en sección tangencial) por cada procedencia bajo microscopio con cámara lúcida. Para la determinación de áreas A^{mes}/A , el cálculo, se realizó de acuerdo a la ecuación original propuesta por Turrell (1936) y modificada por Nobel (1980) y Silva (1990) :

$$\frac{A^{mes}}{A} = \frac{n (l \cdot p) \text{ emp.} + 2 (i \cdot 4 \pi r^2)}{K2}$$

El área expuesta a los espacios intercelulares en el tejido en empalizada se determinó en base a la medida del perímetro de los espacios intercelulares (p), el cual es medido con un curvímetro. La longitud promedio de las células del tejido fotosintético (l) es medida en secciones transversales bajo microscopio fotónico. El producto (l · p) proporciona el área interna expuesta a los espacios intercelulares de las células del tejido fotosintético. El factor n representa el número de capas celulares del tejido, así por ejemplo *O. pumila* tiene un espesor de tejido fotosintético de

TABLA 1

Germoplasma de *Opuntia*, diferentes especies y procedencias de México, marzo 1982

Germoplasm of *Opuntia*, coming from Mexico, March 1982

Nombre científico	Nombre vulgar	Procedencia
<i>Opuntia</i> sp. ⁽¹⁾	Falso negrito	Salinas (P48)
<i>Opuntia</i> sp.	Nopal cardon	Salinas (49)
<i>Opuntia</i> sp.	Tuna-roja	San Elías (P86)
<i>O. hyptiacantha</i> Weber	Tuna blanca N.	de Guadalupe (P92)
<i>O. streptacantha</i> Lemaire	Tuna cardona	Monte Cardona (P93)
<i>O. pumila</i> sp.	Blanca chapeada	Salinas (P94)
<i>O. pumila</i>	Engelmann Cardella	Ejido Salinas (P97)
<i>O. pumila</i> sp.	Nopal isabelillo	S. Luis Potosi (P98)
<i>O. cochinillifera</i> Britton and Rose	Nopal cochinero S.	Luis Potosi (P99)
<i>O. ficus indica</i> L. Mill. ⁽²⁾	Tuna fundo	Gálvez

⁽¹⁾ Nombre científico y común, Universidad Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, Mexico

⁽²⁾ Plantas obtenidas por reproducción vegetativa

4.370 μm el cual es dividido por la longitud promedio de las células fotosintéticas de 132,9 μm proporcionando el número de capas celulares del tejido de la exposición norte.

El factor aditivo $2(i 4\pi r^2)$, representa el área de los terminales hemisféricos de las células cilíndricas donde i corresponde al número de veces que una célula esférica es contenida en una célula cilíndrica. El área de muestreo corresponde a $K2$, el cual es utilizado dado que se considera las superficies fotosintéticas de cada lado del cladodio por exposición. Todas las variables son expresadas en mm. Los datos fueron procesados a través de un análisis de varianza de dos vías (ANDEVA) y la prueba de comparación múltiple de Duncan (McIntosh 1983).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio de la anatomía interna de los cladodios en los diferentes taxos de *Opuntia*, demuestra que los factores del medio, especialmente la radiación afectan el grosor de la cutícula, las características epidérmicas y determinan los cambios en las dimensiones celulares del tejido fotosintético.

Cutícula y tejido epidérmico

De los 10 taxa analizados nueve desarrollaron espinas en la superficie del cladodio a excepción de *O. ficus indica* (Silva 1995). Generalmente carecen de tricomas, sin embargo uno de ellos *O. pumila* desarrolló tricomas en ambas superficies (Fig. 1). La superficie fotosintética en plantas CAM, se caracteriza por la disposición de grandes cantidades de cera (Fig. 2, 3 y 4) que contribuyen a aumentar los valores de resistencia estomática y cuticular a la pérdida de agua (entre 600 y 1000 seg cm^{-1}) de acuerdo a Ting & Szarek (1975). Esta particular disposición de la cutina es un mecanismo para disminuir las pérdidas de agua por evaporación directa. Es esta capa cuticular la que otorga el carácter glauco de la superficie de las platiopuntias. La cutícula blanca refeja gran parte de la radiación directa del sol y le permite mantener una temperatura más baja con respecto a su medio. La química y la estructura de la cutícula no puede ser digerida por micro-organismos impidiendo su entrada al cladodio (Gibson & Nobel 1986). La superficie de cladodios de exposición norte mostró un mayor grosor, alrededor de un 12 % más alto, con respecto a la exposición sur $209,5 \pm 0,7 \mu\text{m}$ y $142,7 \pm 1,1 \mu\text{m}$ respectivamente, siendo *O. pumila* y *O. cochinillifera* las que presentaron mayor y menor grosor de cutícula respectivamente (Tabla 2).

La longitud promedio de estomas varió entre 59 y 95 μm en exposición norte y entre 64 y 82 μm en exposición sur en *O. pumila* y *O. ficus indica*, respectivamente (Fig. 4 y 5). De manera similar se observó una tendencia a menor valor en el ancho de los estomas el que varió entre 54 y 73 μm y de 52 a 78 μm en las superficies expuestas al sur (Tabla 3). Las dimensiones de las células estomáticas representan el doble del valor observado en especies C3 (Silva et al. 1999) y hasta seis veces el valor observado en plantas C4. En un estudio realizado por Silva (1990), en incienso (*Flourensia thurifera*) y rumpiato (*Bridgesia incisifolia*) especies C3, nativas del secano árido de la IV Región de Chile, la longitud promedio varia entre 28 y 42 μm y el ancho de los estomas entre 19 y 30 μm . Silva & Acevedo (1984) reportan para sereno (*Atriplex repanda*) valores promedio de 10 y 7 μm para longitud y ancho de estomas, respectivamente.

En un estudio realizado por Conde (1975), citado por Pimienta et al. (1992)¹, sobre el tamaño de estomas en especies de nopal tunero, encontró que este varía entre 43 y 57 μm y también una

TABLA 2

Grosor de la cutícula (en μm) en exposición norte y sur de cladodios de *Opuntia*. Valor promedio, $n = 40$

Width of cuticle (in μm) with northern and southern exposure in <i>Opuntia</i> cladodes. Mean value, $n = 40$			
Especie o procedencia	Exposición		
	Norte	Sur	
P86	203,8	b ¹ A ²	178,9 c B
P94	207,3	b A	180,8 b B
P98	188,6	c A	169,6 e B
P48	171,9	f A	162,0 h B
P49	207,0	b A	163,2 g B
<i>O. pumila</i>	209,1	a A	205,4 a A
<i>O. streptacantha</i>	188,5	c A	167,3 f B
<i>O. hyptiacantha</i>	176,0	d A	151,2 i B
<i>N. cochinillifera</i>	146,1	e A	142,7 j B
<i>O. ficus indica</i>	200,0	b A	175,0 d B
Promedio	189,8		169,6

¹ Los valores promedios seguidos por la misma letra minúscula no son diferentes estadísticamente ($P \leq 0,05$).

² Por exposición (norte y sur), los valores promedio seguidos por la misma letra mayúscula no son diferentes. ($P \leq 0,05$).

For given exposure (northern, southern), the average followed by the capital letter are not statistically different and the averages followed by the same lower case letter are not different ($P \leq 0,05$).

relación positiva directa entre el tamaño de los estomas y el número de cromosomas. Estudios citogenéticos en diversas especies han revelado una tendencia similar, reportándose diferentes niveles de ploidía. La poliploidía ha sido el principal proceso que ha influido en la evolución de las plantas superiores. Una consecuencia consistente de la poliploidía es el incremento en tamaño celular. Lo anterior sugiere que la longitud de estomas puede ser utilizado como un indicador de

niveles de ploidía en miembros del subgénero *Opuntia*, al igual que en otras especies (Harris et al. 1993). Otro aspecto que llama la atención es que los 10 taxa estudiados todos presentan tamaños superiores a 50 μm (Fig. 5), lo cual constituye una evidencia de la poliploidía característica del sub-género *Platyopuntia* y es probable que haya contribuido en la evolución de miembros de este subgénero, ya que ésta es considerada como un modo de especiación instantánea simpátrica, la

Fig. 1-4: (1) Microfotografía al microscopio electrónico de barrido (MEB) de la superficie de cladodios mostrando tricomas en *Opuntia pumila* E. (1200x); (2) y (3) mostrando la distribución de las capas de cutina y localización de estomas en *Opuntia ficus indica* (140x y 600x respectivamente); (4) localización de estomas on epidermis y distribución de cutina in *O. ficus indica* (1200x).

Scanning electron microscopy (SEM). (1) Surface micrograph of cladodes showing trichomes in *Opuntia pumila* E. (1200x); (2) and (3) showing the distribution of the prolific layers of wax on the cuticle and stomata in *O. ficus indica* (140x and 600x respectively); (4) situation of stomata on epidermis and distribution of cutin in *O. ficus indica* (1200x).

¹ PIMIENTA-BARRIOS E, MM LOERA & L LÓPEZ-AMESCUA (1992) Estudio anatómico comparativo en morfoespecies del sub-género *Opuntia*. Actas II Congreso Internacional de la tuna y cochinilla, septiembre 22-25, Santiago, Chile: 30-39.

TABLA 3

Número de estomas por unidad de superficie y longitud - diámetro promedio de células oclusivas por exposición norte y sur del cladodio de *Opuntia*. Valor promedio, n = 40

Number of stomata per unit area and lenght - diameter of occlusive cells in relation to northern and southern exposure in *Opuntia* spp. cladodes. Mean value, n = 40

Especie o procedencia	Número de estomas		Longitud (µm)		Diámetro (µm)	
	norte	sur	norte	sur	norte	sur
P86	13 c ¹ A ²	16 d B	69,3 e A	66,9 de B	63,1 a A	62,5 a A
P94	20 b A	23 c A	74,6 c A	69,1 d B	69,5 b A	66,1 b B
P98	22 bc A	30 c B	69,3 e A	70,2 c B	66,0 c A	66,3 b A
P48	16 bc A	17 cd A	78,2 b A	69,3 d B	68,8 b A	67,8 b A
P49	45 a A	53 b B	69,2 f A	67,1 e B	65,9 c A	65,0 b A
<i>O. pumila</i>	18 b A	24 c B	59,0 g A	64,0 f B	54,4 d A	52,5 c B
<i>O. streptacantha</i>	24 b A	25 c A	80,1 b A	79,1 b A	73,4 e A	77,8 ed B
<i>O. hyptiacantha</i>	26 b A	28 c A	77,3 b A	79,6 b B	72,3 e A	77,0 d B
<i>N. cochinillifera</i>	25 b A	27 c A	71,1 d A	69,9 c A	66,7 bc A	62,7 a B
<i>O. ficus indica</i>	54 A	62 a B	95,6 a A	82,2 a B	73,5 e A	78,9 e B
Promedio	26	30	74,4	71,7	67,4	67,6

¹ Los valores promedios seguidos por la misma letra minúscula no son diferentes estadísticamente ($P \leq 0,05$)

² Por exposición (norte y sur), los valores promedio seguidos por la misma letra mayúscula no son diferentes. ($P \leq 0,05$)
For given exposure (northern, southern), the average followed by the capital letter are not statistically different and the averages followed by the same lower case letter are not different ($P \leq 0,05$)

cual ha jugado un papel importante en la diferenciación de especies (Pimienta et al. 1992).

Los resultados demuestran que no hay diferencias significativas por efecto de la exposición a la radiación en el número de estomas por unidad de superficie, a excepción de *O. ficus indica*, *O. pumila* y P49. Sin embargo, la cantidad de estomas en la superficie expuesta al sur fue más elevada en comparación a la superficie expuesta al norte con una variación entre 4 y 23 % (Tabla 4). El número de estomas por mm² varía entre 13 y 54 en exposición norte y de 16 a 62 en exposición sur en la taxa P86 y *O. ficus indica* respectivamente (Tabla 3). En comparación a las especies C3 y C4, los diferentes taxas de *Opuntia* sp. tienen un número de estomas 10 a 20 veces inferior. Por ejemplo en el caso de *Atriplex triangularis*, especie C4 la densidad por unidad de superficie es de 380 por mm² (Bjorkman et al. 1972), para *Atriplex repanda*, se señala una densidad promedio 115 por mm² (Silva 1982). En *Eucaliptus globulus* y *E. camaldulensis*, especies C3 la frecuencia estomática alcanza aproximadamente a 300 por mm² (Pereira & Kozlowski 1976). El número promedio en 15 especies CAM, indica una frecuencia de alrededor de 27 por mm² (Kluge & Ting 1978) El mayor o menor número de estomas por unidad de superficie influye directamente en la resistencia al flujo gaseoso de CO₂ y H₂O. Las diferencias observadas en la conductancia estomática de especies CAM, C3 y C4, no sólo es

la consecuencia directa de la frecuencia estomática como lo afirma Osmond (1980), sino también de las características de la superficie fotosintética (Fig. 2, 3 y 4) que en el caso de *Opuntia* spp. corresponde al tallo fotosintético.

Lo anterior permite sugerir que la combinación del metabolismo fotosintético CAM de las plati*Opuntias* estudiadas (Silva 1995) y densidad baja de estomas, forma parte de la estrategia de estas plantas para generar un balance positivo en la economía hídrica. Esto probablemente explique su alta eficiencia en el uso del agua y elevada producción de biomasa aún en condiciones de déficit hídrico (Acevedo et al. 1983, García de Cortazar & Nobel 1986, Silva & Acevedo 1995).

Al relacionar la tasa transpiratoria, obtenida por Silva & Acevedo (1995) trabajando en las mismas procedencias, con el grosor cuticular el coeficiente de determinación fue de 0,77 y con el número de estomas dicho valor alcanzó a 0,69.

Tejido fotosintético

Se ha demostrado la influencia del nivel de radiación sobre el crecimiento y la productividad de las plati*Opuntias* (Acevedo et al. 1983, García de Cortazar & Nobel 1986, Doussouline et al. 1989, Nobel 1995). Los fundamentos de esta afirmación se explican en los cambios observados en las dimensiones celulares y del clorénquima por efec-

to de la exposición de cladodios a la radiación. Así, se observó que en cladodios de exposición norte normalmente expuesto a mayor radiación en comparación a la exposición sur, el grosor del tejido fotosintético varió entre 33 y 48 mm y en la exposición sur entre 28 y 38 mm, o sea entre 8 y 32 % más alto que en exposición sur.

En tanto que el tejido no fotosintético varió entre 5 y 13 mm de grosor entre los diferentes taxas, proporcionalmente es el más importante y que caracteriza a las plantas CAM. Las células que constituyen este tejido son isodiamétricas con una gran vacuola central, cuya función es la acumulación de mucílagos y agua, a medida que se avanza hacia el centro de parénquima se pierde la estructura y las paredes celulares son más delgadas. Los mucílagos constituyen aproximadamente el 14 % del peso seco de los cladodios, podrían retener más del 30 % del total de agua a nivel del parénquima de reserva (Goldstein et al. 1991). La polimerización de los azúcares, la elasticidad de las células del parénquima del parénquima de reserva y el mucílago con alta capacidad de retención de agua contribuyen a explicar la alta resistencia a la sequía de estas plantas. La Fig. 8 muestra el tejido xilemático en sección longitudinal con la disposición escaleriforme del engrosamiento de sus paredes celulares.

La anatomía interna del clorénquima de las *Platyopuntia* revela sólo disposición de las células en empalizada y ausencia de tejido esponjoso

predominando la longitud sobre el diámetro celular (Fig. 6). Las células cercanas a la epidermis son más pequeñas en comparación a aquellas cercanas al tejido no asimilador las que aumentan en tamaño, con una gran vacuola conteniendo drusas formadas por cristales de oxalato de calcio (Fig. 7) y cloroplastos en la periferia celular, con espacios intercelulares que varían en frecuencia y tamaño dependiendo de la especie. El gran volumen vacuolar esta asociado a la acumulación de ácidos orgánicos, en particular de málico (Medina 1977, Nobel 1988). La Tabla 4 muestra la longitud de las células fotosintéticas las que variaron entre $126,1 \pm 0,24 \mu\text{m}$ y $217,1 \pm 3,0 \mu\text{m}$ de *O. pumila* y la taxa 48 respectivamente. El tamaño de las células en exposición sur fué 10 % más elevado con respecto a la exposición norte lo que determina un mayor número de capas celulares del clorénquima en exposición norte, lo cual explica su mayor grosor. El diámetro promedio de las células clorénquimáticas fue de $82,8 \mu\text{m}$ en exposición norte y de $105,6$ en exposición sur (Tabla 4).

Relación de áreas A^{mes}/A

La superficie de paredes celulares expuesta a espacios intercelulares por exposición de cladodios se observa en la Tabla 5. En promedio, la superficie calculada en exposición norte fue más grande que la superficie en exposición sur,

TABLA 4

Longitud y diámetro de células del clorénquima de especies y procedencias de *Opuntia* spp. en exposición norte y sur. Valor promedio $n = 40$

Lenght and diameter *Opuntia* spp. chlorenchyma cells with northern and southern exposure. Mean value $n = 40$

Especie o procedencia	Longitud (μm)		Longitud (μm)	
	Norte	Sur	Norte	Sur
P86	193,6 a ¹ A ²	195,5 a A	98,8 a A	130,5 b B
P94	144,6 b A	162,5 b B	88,1 c A	105,5 c B
P98	161,3 c A	178,2 c A	71,5 e A	93,0 d B
P48	217,2 d A	229,2 d B	93,7 bc A	132,3 b B
P49	138,6 b A	157,7 b B	122,6 a A	157,7 a B
<i>O. pumila</i>	126,1 e A	132,9 e B	67,0 f A	76,6 e B
<i>O. streptacantha</i>	173,7 e A	191,3 a B	78,1 d A	99,0 c B
<i>O. hyptiacantha</i>	165,9 c A	179,5 c B	71,4 de A	76,6 e A
<i>N. cochinillifera</i>	153,2 c A	180,3 c B	63,3 f A	86,9 cd B
<i>O. ficus indica</i>	183,6 a A	209,9 e B	74,0 d A	97,6 c B
Promedio	165,8	181,7	82,8	105,6

¹ Los valores promedios seguidos por la misma letra minúscula no son diferentes estadísticamente ($P \leq 0,05$)

² Por exposición (norte y sur), los valores promedio seguidos por la misma letra mayúscula no son diferentes ($P \leq 0,05$)
For given exposure (northern, southern), the average followed by the capital letter are not statistically different and the averages followed by the same lower case letter are not different ($P \leq 0,05$)

salvo en tres casos (procedencias 49, 97 y 93), sin embargo esto se compensa por el mayor número de capas celulares. En estas condiciones el número de capas celulares que varía entre 33 (*O. pumila*) y 20 (*O. ficus indica*) se observa en el tejido expuesto al norte, en tanto que en exposición sur varió entre 14 y 30. *O. pumila* presentó el mayor número de capas celulares en ambas exposiciones.

El tamaño celular influye en la relación de áreas, esta en la eficiencia fotosintética y por lo tanto, en la mayor o menor eficiencia en el uso del

agua. Trabajos realizados en las mismas especies y procedencias, determinan valores de EUA en base a materia seca cercanos a 65 mg por g de agua transpirada en *O. pumila* de acuerdo a la tabla anterior esta procedencia presentó el menor tamaño celular en ambas exposiciones. Además, la procedencia 49 presentó el valor más bajo de EUA (Silva & Acevedo 1995) y a la vez sus células clorenquimáticas fueron las de mayor tamaño.

Fig. 5-8: (5) Vista en MEB del estoma de *Opuntia* sp. (P48; 1200x). (6) Sección longitudinal del cladodio of *O. ficus indica* mostrando células parenquimáticas y espacios intercelulares (150x). (7) Célula parenquimática con cristales de oxalato de calcio (1200x). (8) Aspecto general del xilema en sección longitudinal y engrosamiento escaleriforme de sus paredes (1200 x).

(5) SEM of stomata in *Opuntia* sp. (P48; 1200x). (6) Micrographs of cladode longitudinal section of *O. ficus indica* showing parenchymatic cells and intercellular spaces (150x). (7) Parenchymatic cells with crystals of calcium oxalate (1200x). (8) General view of xylem in longitudinal section showing vessel with scalleriform lignified cell-wall thickenings (1200x).

En la Tabla 5, se observa la relación de superficies (A^{mes}/A) por exposición de cladodios. El tejido fotosintético en exposición norte tiene una mayor relación de superficies A^{mes}/A . Así, *O. streptacantha* registra entre ambos lados del cladodio el valor más elevado de la relación de áreas en comparación a la P48 en la cual se observa el menor valor. El menor o mayor valor de esta relación influye en la resistencia en fase líquida del flujo de CO_2 hasta los sitios de carboxilación (Nobel 1999).

El valor más elevado de la relación de superficies expuestas al norte, se explica esencialmente por las dimensiones celulares. Los valores observados en estas plantas CAM están estrechamente asociados a la ausencia de tejido esponjoso y a la mayor dimensión de las células de la empalizada expuestas a la mayor radiación incidente. La naturaleza columnar de las células de la empalizada causa una reflexión interna que permite mayor penetración de la luz (Vogelmann 1993). Cuando el nivel de radiación es elevado, la relación de superficies aumenta. Si esta relación aumenta, la

difusión de CO_2 aumenta cuantitativamente al igual que la tasa de fotosíntesis, lo cual conduce a una eficiencia de utilización del agua más alta. Sin embargo, los cladodios expuestos al sur alcanzan solamente al 50 % de este valor.

En estas condiciones en las *Platyopuntia* estudiadas, es posible constatar una estrecha relación entre la exposición de cladodios, la radiación recibida y las características anatómicas, la capacidad fotosintética, la eficiencia en el uso del agua y la producción de materia seca total (Silva & Acevedo 1995).

CONCLUSIONES

Los resultados permiten demostrar la plasticidad fenotípica de las *Platyopuntia* analizadas en función de la radiación incidente.

Al comparar el efecto del déficit hídrico sobre la anatomía de las hojas en las plantas C3 y C4 (Silva 1990) con el efecto de la radiación sobre las superficies fotosintéticas de cladodios de las plantas CAM estudiadas, los cambios a nivel celular y a nivel de tejidos son similares. En efecto, para superficies expuestas al norte (mayor radiación incidente) se observó: (a) un aumento del grosor de la cutícula, (b) una reducción de las dimensiones celulares del clorénquima asociada a la disminución del número de estomas por unidad de superficie, y (c) un aumento del espesor del tejido fotosintético que tiene por consecuencia un aumento de la superficie de paredes celulares expuestas al intercambio gaseoso.

Los resultados de este estudio muestran que los taxa de *Opuntia* tienen grandes dimensiones celulares en comparación a las especies C3 y C4, característica distintiva en las *Platyopuntia* que otorga a estos tejidos una gran capacidad de reserva de agua.

Se demuestra que las superficies expuestas a mayor radiación presentan mayor cantidad de tejido fotosintético, en estas condiciones el área interna por unidad de área también es mayor. Este aumento conduce a una disminución de la resistencia en fase líquida a la captación de CO_2 , resistencia del mesófilo, acompañada por un aumento de la fotosíntesis por unidad de área fotosintética.

La anatomía del tejido fotosintético está en estrecha relación con la capacidad fotosintética. En efecto se constata que la relación A^{mes}/A se correlaciona positivamente con la capacidad fotosintética ($r^2 = 0,67$); con la eficiencia en el uso del agua (EUA) ($r^2 = 0,78$), y en consecuencia a la producción de materia seca ($r^2 = 0,75$) (Silva & Acevedo 1995).

TABLA 5

Relación de superficies A^{mes}/A por exposición de cladodios en *Opuntia* spp.
Valor promedio, $n = 6$

Ratio of A^{mes}/A areas in relation to cladode exposure and mean value of ten taxa of *Opuntia*. Mean value, $n = 6$

Especie o procedencia	A^{mes}/A	
	Norte	Sur
P86	220,5 a ¹ A ²	171,0 ab B
P94	181,1 b A	168,8 ab A
P98	167,9 b A	156,9 ab A
P48	134,7 c A	174,4 a B
P49	185,0 b A	146,6 bc B
<i>O. pumila</i>	208,4 ab A	169,8 a B
<i>O. streptacantha</i>	187,8 b A	157,1 abc B
<i>O. hyptiacantha</i>	233,8 a A	131,1 c B
<i>N. cochinillifera</i>	197,3 ab A	156,6 ab B
<i>O. ficus indica</i>	205,9 a A	169,7 ab B
Promedio	191,8	160,2

¹ Entre procedencias los valores promedios seguidos por la misma letra minúscula no son diferentes estadísticamente ($P \leq 0,05$)

² Por exposición (norte y sur), los valores promedio seguidos por la misma letra mayúscula no son diferentes ($P \leq 0,05$)

For given exposure (northern, southern), the average followed by the capital letter are not statistically different and the averages followed by the same lower case letter are not different ($P \leq 0.05$)

Es interesante señalar un aspecto estructural cuantitativo-bioquímico de la A^{mes}/A en relación a la capacidad fotosintética. Esta relación está ligada al número de células, al número de cloroplastos, a las unidades fotosintéticas e igualmente a la cantidad de enzimas carboxilantes por unidad de superficie foliar. Según Heskett et al. (1983), el papel de estas superficies sobre las resistencias al flujo interno es multiplicado por el valor de A^{mes}/A .

LITERATURA CITADA

- ACEVEDO E, I BADILLA & PS NOBEL (1983) Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- BJORKMAN O, NK BOARDMAN, JM ANDERSON, SW THORPE, DJ GOODCHILD & NA PYLIOTES (1972) Effect of light intensity during growth of *Atriplex patula*. Structure and distribution of chloroplasts and other organelles in leaves with various rate of photosynthesis. *Carnegie Institute of Washington Yearbook* 71: 115-135.
- BLACK CC (1973) Photosynthetic carbon fixation in relation to net CO₂ uptake. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 253-286.
- BUTTERY BR, CS TAN, IR BUZZELL, JD GAYNOR & DC McTAVISH (1993) Stomatal numbers of soybean a response to water stress. *Plant and Soil* 143: 283-288.
- DOUSSOULINE E, E ACEVEDO & V GARCÍA DE CORTÁZAR (1989) Arquitectura, intercepción de radiación y producción en tuna *Opuntia ficus indica* (L) Mill. *IDESIA* 11: 7-17.
- GARCÍA DE CORTÁZAR V & PS NOBEL (1986) Modeling of PAR interception and productivity of a prickly pear cactus *Opuntia ficus indica* L., at various spacings. *Agronomy Journal* 78: 80-85.
- GIBSON A & PS NOBEL (1986) The cactus primer. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 208 pp.
- GOLDSTEIN G, JL ANDRADE & PS NOBEL (1991) Differences in water relations parameters for the chlorenchyma and the parenchyma of *Opuntia ficus indica* under wet versus dry conditions. *Australian Journal of Plant Physiology* 18: 95-107.
- HARRIS FS, M ELOISE, B CARTER & CE MARTIN (1993) Relationship between ploidal level and CAM in five species of *Talinum* (Portulacaceae). *American Journal of Botany* 80: 533-536.
- HESKETH JD, EM LARSON, AJ GORDON & DB PETERS (1983) Internal factors influencing photosynthesis and respiration. En: Dale JE & FL Milthorpe (eds) The growth and functioning of leaves: 381-411. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom.
- JOHANSEN D (1969) Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York, New York. 525 pp.
- KLUGE M & IP TING (1978) Crassulacean acid metabolism analysis of an ecological adaptation. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 209 pp.
- LEE DW, S OBERBAUER, P JOHNSON, B KISHNAPILAY, M MANZOR, H MOHAMAD & SK YAP (2000) Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany* 87: 445-455.
- LONGSTRETH DJ, TL HARTSOCK & PS NOBEL (1980) Mesophyll cell properties for some C3 and C4 species with high photosynthetic rates. *Physiology Plantarum* 48: 494-498.
- MCINTOSH MS (1983) Análisis of combined experiments. *Agronomy Journal* 75: 153-155.
- MEDINA E (1977) Introducción a la ecofisiología vegetal. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela. 48 pp.
- NOBEL PS, LJ ZARAGOZA & WK SMITH (1975) Relations between mesophyll surface area, photosynthesis rate and illumination level during development for leaves of *Plectranthus parviflorus* H. *Plant Physiology* 55: 1067-1070.
- NOBEL PS (1977) Internal area and cellular CO₂ resistance. Photosynthetic implications of variation with growth conditions and plants species. *Physiology Plantarum* 40: 137-144.
- NOBEL PS (1980) Leaf anatomy and water use efficiency. En: Turner NC & PJ Kramer (eds) Adaptations of plant to water and high temperature stress: 43-55. John Wiley and Sons, New York, New York.
- NOBEL PS (1988) Biology of agaves and cacti. Cambridge University Press, New York, New York. 270 pp.
- NOBEL PS (1995) Environmental biology. En: Barbera G, P Inglese, E Pimienta-Barrios & EJ Arias-Jiménez (eds) Plant Production and protection paper. Agroecology, cultivation and uses of cactus pear: 36-57. Publication Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- NOBEL PS (1999) Physicochemical and environmental. plant physiology. Academic Press, New York, New York. 608 pp.
- OSMOND CB, O BJORKMAN & DJ ANDERSON (1980) Physiological processes in plant ecology. Toward a synthesis with *Atriplex*. Springer Verlag, Berlin, Germany. 468 pp.
- O'TOOLE JC, RT CRUZ & JB SEIBER (1979) Epicuticular wax and cuticular resistance in rice. *Physiology Plantarum* 47: 239-244.
- PARLEVLIET J, A HAAN & J SCHELLEKENS (1991) Drought tolerance research: possibilities and constraints. Department of Plant Breeding, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 44 pp.
- PARKHURST DF & KA MOTT (1990) Intercellular diffusion limits to CO₂ uptake in leaves: studies in air and helox. *Plant Physiology* 94: 1024-1032.
- PATTON L & MB JONES (1989) Some relationships between leaf anatomy and photosynthetic characteristics of willows. *New Phytologist* 111: 657-661.
- PEREIRA JS & TT KOZLOSWKI (1976) Leaf anatomy and water relations of *Eucalyptus camaldulensis* and *E. globulus* seedlings. *Canadian Journal of Botany* 54: 36-43.

- SCHEINVAR L (1995) Taxonomy of utilized Opuntias. En: FAO (ed) Plant Production and protection paper . Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear: 20-27. Publication Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations Viale delle Terme di Caracalla, Rome, Italy.
- SILVA H (1982) Acondicionamiento a la sequia. Crecimiento y eficiencia en el uso del agua en *Atriplex repanda* Phil. Tesis Magister en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 197 pp.
- SILVA H (1990) Efficacite de l'utilisation de l'eau chez des especes natives et introduites de la region aride mediterraneenne du Chili. These Doctorat, Universite de Montpellier II, Montpellier, France. 207 pp.
- SILVA H & E ACEVEDO (1984) Adaptaciones anatómo-morfológicas al déficit hídrico en *Atriplex repanda* Phil. Revista Chilena de Historia Natural 57: 69-78.
- SILVA H & E ACEVEDO (1993) Relaciones hídricas de *Atriplex repanda* Phil., a dos niveles de disponibilidad de agua. Revista Chilena de Historia Natural 66: 467-477.
- SILVA H & E ACEVEDO (1995) Eficiencia en el uso del agua en diez taxa de *Opuntia* introducidas en la region arida mediterranea de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 68: 271-282.
- SILVA H, JP MARTÍNEZ, C BAGINSKY & M PINTO (1999) Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Chilena de Historia Natural 72: 219-235.
- SMITH WK & PS NOBEL (1977) Influence of seasonal changes in leaf morphology on water use efficiency for three desert broadleaf shrubs. Ecology 58: 1033-1043.
- TING IP & SR SZAREK (1975) Drought adaptation in crassulacean acid metabolism plants. En: Halley N (ed) Environmental physiology of desert organisms: 1-358. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- TURREL F (1936) The area of the internal exposed surface of dicotyledon leaves. American Journal of Botany 23: 255-264.
- UPADHAYAYA MK & NH FURNESS (1994) Influence of light intensity and water stress on leaf surface characteristics of *Cynoglossum officinale*, *Centaurea* spp. and *Tragopogon* spp. Canadian Journal of Botany 72: 1379-1386.
- VAN RENSBURG L, GHJ KRUGER & H KRUGER (1993) Assessing the drought-resistance adaptative advantage of some anatomical and physiological features in *Nicotiana tabacum*. Canadian Journal of Botany 72: 1445-1454.
- VOGELMANN TC (1993) Plant tissue optics. Plant Molecular Biology 44: 231-251.
- VOGELMANN TC, JN NISHIO & WK SMITH (1996) Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. Trends in Plant Science 1: 65-70.

Editor Asociado: G. Montenegro

Recibido el 10 de junio de 1999; aceptado el 15 de julio de 2000