

Evaluación morfoanatómica de hojas “D” de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) en respuesta a la implantación de dos sistemas de cultivo en Corrientes, Argentina

Morphoanatomical leaf “D” evaluation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) in response of two cropping systems in Corrientes, Argentina

Agustín Iván Ebel¹, Laura Itati Giménez¹, Ana María González¹⁻² y Paula Alayón Luaces^{1*}

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. ²Instituto de Botánica del Nordeste - IBONE (UNNE-CONICET)

*Autora para correspondencia: palayonluaces@yahoo.com

Rec.:10.05.2015 Acep.: 08.09.2015

Resumen

Una posibilidad concreta para cultivar especies de origen tropical en el subtrópico es compensar el problema de las bajas temperaturas con la utilización de coberturas plásticas, las cuales modifican el ambiente y las respuestas del cultivo. El objetivo del presente trabajo es evaluar morfoanatómicamente las hojas “D” de plantas de piña que crecen en diferentes condiciones de cultivo, vinculando aspectos de diferenciación en sus características morfológicas, anatómicas y ecofisiológicas en relación a las estaciones del año. Se evaluó durante las cuatro estaciones del año y en dos sistemas de cultivo, el área foliar, peso fresco y seco, espesor de lámina, capacidad de retención de agua, cantidad de espinas y el contenido de clorofila. En adición a lo anterior, se realizaron cortes histológicos para comparar las características morfoanatómicas. Se comprueba que las condiciones ambientales bajo cobertura aumentan el área foliar, peso seco y peso fresco de las hojas “D” durante y luego de las estaciones frías respecto de aquellas cultivadas a campo. Las hojas cultivadas bajo cobertura, presentan mayor densidad estomática, mayor cantidad de casquetes fibrosos pero menor espesor de lámina y menor espesor de parénquima acuífero y clorofiliano, respecto a aquellas que crecieron en condiciones de campo, indicando plasticidad fenotípica.

Palabras clave: Anatomía foliar, cortes histológicos, condiciones ambientales, invernadero, plasticidad fenotípica.

Abstract

A feasible possibility to cultivate tropical species in the subtropics is compensate the limitations of the low temperatures using plastic covers that modify the environment and the consequent crop response. The aim of this research was to evaluate in morphoanatomical terms, the “D” leaves of pineapple plants growing under different cropping conditions, linking some differentiations in their morphological, anatomical and ecophysiological characteristics in relation to the year seasons. Leaf area, fresh and dry weight, sheet thickness, water holding capacity, number of spines, chlorophyll content were measured and histological sections for morphoanatomical observations were carried out. In the present research, it was found that the environmental conditions under coverage, increased leaf area, dry weight and fresh weight of “D” leaves pineapple during and after the cold seasons, respect to those cropped under field conditions. Pineapple Leaves growing under greenhouse conditions, increased stomatal frequency, performed more fiber beans but thinner aquifers and chlorenchyma than those grown in field conditions, indicating phenotypic plasticity.

Keywords: Environmental conditions, foliar anatomy, greenhouse, histological cutting, phenotypic plasticity.

Introducción

Ananas comosus (L.) Merr. var. *comosus*, conocida comúnmente como ananá o piña; es una planta herbácea Liliopsida perenne tropical, de la familia de las Bromeliáceas. Desde el punto de vista económico, es la especie más importante de esta familia, por lo que se la cultiva en muchos países tropicales y subtropicales (Botella & Smith, 2008). Su fruto o infrutescencia, es consumido tanto en fresco como en forma de conservas.

El cultivo comercial de la piña, se realiza con gran eficiencia en los países de climas tropicales y subtropicales, debido a su condición de no tolerancia a las heladas, se convierte en el principal limitante de su propagación en el territorio Argentino.

El clima afecta la productividad y la calidad de la fruta de piña, por ello el desarrollo óptimo del cultivo, se presenta en aquellas zonas con temperaturas medias entre 18 a 45°C, siendo el óptimo entre 21-27°C. El crecimiento de la piña se retrasa, incluso se detiene (especialmente en algunos cultivares más susceptibles), entre los 10 y 16°C (Carvalho et al. 2005).

Derwiduee & González (2010), desarrollaron un estudio de la anatomía foliar de 31 Bromeliáceas nativas del NEA Argentino y Paraguay, donde además se incluyó la anatomía de *Ananas bracteatus* (Lindl.) Schult., pero no de la piña comercial *Ananas comosus*, y menos aún, bajo diferentes condiciones de cultivo.

Una posibilidad concreta para contrarrestar el problema de las bajas temperaturas, es producir piña bajo coberturas plásticas. Éstas modifican el ambiente del cultivo, es decir; las condiciones climáticas que suceden bajo la cobertura, se alteran por la presencia misma del plástico y estas modificaciones se traducen en un comportamiento diferencial del cultivo de la piña, afectando el crecimiento, desarrollo y características morfológicas de las plantas.

Entre los tipos de hojas en las que se clasifica la piña, la hoja "D", es la más joven entre las hojas adultas y la que fisiológicamente, se encuentra más activa. Adicionalmente, se utiliza para evaluar el crecimiento y el estado nutricional de la planta. No obstante, es ampliamente difundido el efecto que tiene el ambiente en las características morfológicas de las plantas, generando inclusive modificaciones fisiológicas, situación que ocurre en las Bromeliáceas. Más aún, la planta de piña presenta alta plasticidad morfológica y fisiológica, actuando facultativamente como C3 o CAM frente a variaciones en las condiciones ambientales (Aragón et al. 2012), lo cual incide directamente en el crecimiento, desarrollo y productividad de las plantas de piña.

El concepto conocido como plasticidad fenotípica, comprende los cambios expresados en el fenotipo por un genotipo en diferentes condiciones ambientales (Gratani, 2014). Estudios realizados en Bromeliáceas han demostrado que en términos generales, estas especies presentan cierta variabilidad cuando crecen en ambientes de condiciones contrastantes (Batagin et al. 2009; Cavallero et al. 2011).

El objetivo del presente estudio fue evaluar morfoanatómicamente las hojas "D" de las plantas de piña, creciendo en diferentes condiciones de cultivo y vinculando aspectos de diferenciación en sus características morfológicas, anatómicas y ecofisiológicas en relación a las estaciones del año.

Materiales y métodos

El material vegetal con el que se llevó a cabo las evaluaciones, fueron plantas de piña (*Ananas comosus*) del cv. Cayena lisa, implantadas en el mes de Septiembre de 2011, en el Campus de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), (Latitud Sur: 27° 28' 27", Longitud Oeste: 58° 47' 00"; 56 m.s.n.m.) Provincia de Corrientes, Argentina. El suelo del sitio experimental, ha sido clasificado como "Udiposament árgico mixto hipertérmico" (Arenosol). El relieve es suavemente ondulado con pendientes de 1 a 1,5%. El clima se caracteriza por presentar precipitaciones promedio de 1300 mm anuales, y una temperatura media anual de 21,6°C; con un período libre de heladas de 340 a 360 días. El régimen térmico, se caracteriza por presentar una temperatura media del mes más frío (julio) varía entre 13°C y 16°C y la media del mes más cálido (enero), entre 26° y 27°C. En la Tabla 1, se presentan las temperaturas y humedades relativas máximas y mínimas medias mensuales registradas en los lotes experimentales.

Se evaluaron dos lotes experimentales, uno bajo condiciones de campo y otro bajo cobertura plástica (invernadero), ambos lotes establecidos con sistema de riego por goteo. En cada lote experimental, las parcelas constaron de dos camas de siembra (a una distancia de siembra a 1.20m de centro a centro de las camas, de 15m de largo y con cuatro hileras de piña, cada una implantada a tres bolillos y espaciadas a 0.30m entre plantas). El invernadero utilizado fue tipo multicapilla de techo curvo con paredes laterales de 3m y una altura total de 4.5m, longitud de 25m y 8m de ancho y cobertura plástica de 100µ. La ventilación fue natural abriendo la misma cuando la temperatura del aire fue mayor que 23°C para mantener una temperatura mínima por encima de 0°C. En el campo, temperaturas mínimas fueron menores que en el invernadero,

Tabla 1. Medidas de temperaturas y humedades relativas máximas y mínimas medias mensuales durante el periodo de realización del experimento

	Temperatura (°C)				Humedad relativa (%)			
	Campo		Invernadero		Campo		Invernadero	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
Enero	36,41	21,46	38,50	23,05	88,41	34,74	91,66	42,93
Febrero	36,15	21,10	36,24	22,46	89,55	40,10	85,84	45,47
Marzo	32,73	18,59	37,60	19,13	92,13	36,10	79,58	28,40
Abril	28,13	16,68	38,57	17,00	94,30	37,46	96,67	35,04
Mayo	27,05	13,49	37,02	14,19	95,10	48,06	97,21	45,51
Junio	21,99	10,22	36,63	11,65	91,63	42,86	98,40	48,80
Julio	20,38	6,05	36,25	8,16	87,68	34,74	96,40	36,48
Agosto	25,81	8,57	34,98	12,87	89,58	36,26	89,44	37,99
Septiembre	29,09	10,77	37,81	13,83	98,23	36,60	91,24	35,98
Octubre	30,45	14,42	40,41	16,04	93,34	40,17	94,32	46,51
Noviembre	32,10	20,29	40,13	22,62	93,61	40,56	93,99	46,25
Diciembre	33,10	20,23	38,43	23,57	94,53	43,51	89,30	42,30

Fuente: Sistema de cultivo a Campo de la Estación Meteorológica del Campo Didáctico y Experimental facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional del Nordeste. Sistema de cultivo Invernadero: Temperature and humidity datalogger Schwyz DAT-20®.

con temperaturas mínimas absolutas de -2°C en junio, mientras que en el invernadero las temperaturas mínimas absolutas fueron siempre superiores a $2,5^{\circ}\text{C}$.

El diseño experimental establecido, fue diseño de bloques completamente al azar con 16 repeticiones en 4 momentos de muestreo; coincidentes con cada estación del año (verano, otoño, invierno y primavera) siendo la unidad de análisis, la planta de piña. En cada uno de los muestreos, se tomaron 16 hojas (una por planta), muestreando la hoja adulta totalmente desplegada más larga de la planta (hoja "D") y se evaluaron las siguientes características exomorfológicas:

Área foliar (AF)

Se evaluó el área foliar de cada hoja muestreada, utilizando medidor de área foliar Li-Cor 3000 A, con 1mm^2 de resolución.

Biomasa

Se determinó el peso fresco (PF) y seco (PS) de las hojas en gramos, posteriormente, fueron secadas en estufa a 70°C hasta peso constante.

Cantidad de espinas

Se contaron la totalidad de las espinas por hoja y se las expresó como espinas cm^{-1} lineal de lámina foliar.

Espesor de lámina

Con calibre digital, se midieron en mm, los espesores en la porción media de las hojas.

Contenido relativo de agua (CRA)

Se tomaron porciones de 2cm^2 de la parte media de las hojas "D". Se determinó el peso fresco (PF) y posteriormente, las porciones de hojas fueron sumergidas en agua durante ocho horas, para obtener peso turgente (PT). Se secaron a 70°C hasta peso constante para determinar el peso seco (PS). Los resultados se expresan en porcentajes (%). $\text{CRA} (\%) = (\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS}) \times 100$.

Contenido relativo de clorofila

Cada 20 días, se tomaron medidas en las hojas de 16 plantas por cada sistema de cultivo establecido y posteriormente, se realizaron 3 mediciones por hoja con medidor MCL502 Minolta SPAD 502® plus modelo estándar.

Análisis morfoanatómico

Se evaluaron las hojas "D" del material en estado vegetativo (mes de noviembre) de ambos sistemas de cultivo. La porción media de la lámina foliar, fue fijada en FAA (Alcohol 70° , Formol y Ac. Acético, 90:5:5), se realizaron cortes transversales a mano libre, de $15\text{-}25\mu\text{m}$ de espesor, los que fueron coloreados con safranina y Astra blue. En los transcortes, se midió el espesor de la lámina y del parénquima clorofiliano y acuífero. Adicionalmente, se determinó el área ocupada por casquetes esclerenquimáticos. Las mediciones se efectuaron en cinco hojas provenientes de cada sistema de cultivo.

Se realizó el recuento de estomas de la epidermis abaxial. Para ello, el material fue sometido a un proceso de maceración controlada, hirviéndose en ácido nítrico al 40% durante 3 minutos.

El mesófilo y los tricomas, fueron removidos con ayuda de lavado con hipoclorito de sodio al 50% y se coloreó con safranina diluida. La densidad estomática se calculó en 10 campos de 1.3mm² por hoja con aumento de 10x; el cálculo se realizó a partir de tres hojas de tres distintos lotes y de ambos sistemas de cultivo.

El análisis histológico se realizó con microscopios óptico y estereoscópico, ambos provistos de sistema digital de fotografía. Para realizar los recuentos estomáticos y mediciones se utilizó el programa ImageJ®.

Análisis estadístico

Las variables AF, PF, PS, cantidad de espinas, espesor medio de lámina foliar y CRA, se analizaron considerando un modelo mixto de medidas repetidas en el tiempo (Verbeke & Molenberghs, 2009), en arreglo factorial de dos factores: Sistema de cultivo con 2 niveles (condiciones de campo e invernadero) y Momento de muestreo con 4 niveles (verano, otoño, invierno y primavera). Los componentes aleatorios del modelo planteado fueron el momento del muestreo y la planta. Para el cumplimiento de los supuestos del análisis de la varianza, fue necesario la transformación logarítmica de las variables AF y PS y la transformación raíz cuadrada en la variable, cantidad de espinas. Los modelos fueron seleccionados teniendo en cuenta los criterios AIC y BIC. Para el análisis de las variables morfo anatómicas se comprobaron los supuestos de normalidad y se realizaron análisis de la varianza y prueba de Tukey ($p > 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat® (Di Rienzo *et al.* 2012).

Resultados y discusión

Los modelos seleccionados tuvieron diferencias en la estructura de correlación y/o de varianzas y covarianzas. En las variables AF, PS y espinas, la estructura de correlación fue autorregresiva de orden I con varianza residual diferente, aunque

respecto a las espinas, se presentó de manera homogénea. Para las variables Elm, PF, CRA la estructura de correlación fue de simetría compuesta con varianza residual homogénea aunque en CRA fue diferente. A partir de estos modelos se presentan los resultados y las significancias de cada uno de los factores para cada variable.

Área Foliar

En la Tabla 2, se presenta el área foliar de las hojas "D" de ambos sistemas de cultivo de piña establecidos, donde se encontraron valores que van desde 79.59 a 153.71cm² a medida que avanzaron las estaciones del año. Al inicio de las determinaciones, período de verano (90 días después de implantada la piña), las hojas de las plantas de piña cultivadas a condiciones de campo, presentaron un AF de 61.04cm² con diferencias significativas de aquellas que se cultivaron bajo cobertura, las cuales tuvieron un 13.5% más de AF. Esta diferencia no se manifestó 3 meses después, en el otoño, cuando el AF de las plantas cultivadas en ambos sistemas de cultivo rondó los 80 cm². La igualdad observada en este período pudo deberse a que las plantas que crecieron bajo cobertura estuvieron sometidas a condiciones de altas temperaturas durante el verano lo que pudo haber generado un nivel de estrés que detuvo su crecimiento. Lo contrario, se manifestó durante las estaciones de invierno y primavera, debido a que en ambos periodos, el AF de las hojas que crecieron bajo cobertura plástica, fueron superiores a las que crecieron en condiciones de campo, llegando en la estación de primavera a una diferencia de un 49.46% en relación al AF en el sistema establecido en invernadero. El aumento de AF promedio durante las cuatro estaciones anuales, fue de 68.5%, mientras que las provenientes del sistema de invernadero, aumentaron en 121.6% en promedio; este comportamiento estaría asociado con las condiciones ambientales que se sucedieron bajo cobertura plástica, permitiendo la continuidad del crecimiento de las plantas de piña aún en los meses más fríos, debido a que la mayor parte del

Tabla 2. Análisis exomorfológicos de hojas "D" de *Ananas comosus* cultivadas en dos sistemas de cultivo, a campo (C) e invernadero (I) en las cuatro estaciones del año.

	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	C	I	C	I	C	I	C	I
AF	61.04 f	69.35 e	79.59 d	83.80 d	89.63 c	108.77 b	102.84 b	153.71 a
PF	11.37 c	9.07 d	14.84 b	15.58 b	15.20 b	16.75 b	16.00 b	22.37 a
PS	1.89 d	1.58 e	2.13 c	2.40 b	2.17 c	2.53 b	2.54 b	4.00 a
ELM (mm)	1.09 a	0.97 b	0.88 c	0.65 d	0.87 c	0.81 c	1.03 a	0.99 b
CRA	81.35 c	80.53 c	92.49 a	90.94 a	91.93 a	89.99 a	85.95 b	79.55 c
ESP (espinas por cm ⁻¹)	0.9 b	0.26 c	1.16 b	1.79 a	1.72 a	1.74 a	1.24 b	1.05 b

Área foliar (AF), Peso fresco (PF), Peso seco (PS), Espesor medio de la lámina (ELM), Contenido relativo de agua (CRA) y número de espinas por cm de lámina foliar. Valores en las filas seguidos de letras iguales, no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

tiempo, superan la temperatura base del cultivo (Carvalho *et al.* 2005).

Peso Fresco (PF) y Peso Seco (PS)

Durante el ciclo evaluado, el comportamiento de PF y PS de las hojas "D" de piña, fue similar en ambos sistemas de cultivo establecidos (Tabla 2). Tanto el PF como el PS de las hojas "D", que crecieron en el sistema de invernadero, fueron menores respecto a aquellas que crecieron en condiciones de campo en la medición realizada en la estación de verano, indicando que las condiciones para acumulación de materia seca (MS) fueron más favorables a campo en los primeros meses de cultivo. En las estaciones frías (otoño e invierno) no se observaron diferencias en el PF de las hojas entre sistemas de cultivo, sin embargo la diferencia se presentó en la acumulación de materia seca ya que el PS de las hojas del invernadero fue un 12.67% y 16.59% más elevado en el invernadero que en el campo en otoño e invierno respectivamente. Llegando a una diferencia de un 57.48% más de acumulación de MS en las hojas de plantas que crecieron bajo cobertura plástica luego de 12 meses de cultivo (primavera).

La piña detiene su crecimiento por debajo de los 15.8°C, considerada como temperatura base del cultivo por Carvalho *et al.* (2005). En los lotes experimentales de campo en los meses de julio y agosto se registraron temperaturas mínimas medias mensuales de 6.05°C y 8.57°C respectivamente, con mínimas absolutas de hasta -2°C en el mes de junio. Esta incidencia de temperaturas fue diferente para aquellas plantas que crecieron bajo cobertura ya que en este sistema las mínimas medias mensuales fueron de 8.16°C y 12.87°C en los meses de julio y agosto respectivamente, registrándose una mínima absoluta de 0.9°C en junio. Es probable que las diferencias de temperaturas expliquen en parte el aumento en el PS del cultivo de invernadero y el estacionamiento del mismo en condiciones de campo.

Cantidad de espinas

La variedad Cayena Lisa, deriva su nombre de la característica de los márgenes de sus hojas que son "lisas" sin espinas. Sin embargo, la misma se caracteriza por presentar espinas en los extremos distales de la mayoría de las hojas y espinas ocasionales en varios puntos a lo largo de los márgenes de algunas de ellas. La separación en la presencia de espinas, esta atribuida al cese y reanudación del crecimiento de las hojas. Cuando ocurre un período con alguna situación de estrés, se produce un cese en el crecimiento de la hoja que al reanudarse viene acompañado de la formación de espinas. Esto explica los grupos dispersos de uno o más espinas a diversos

intervalos a lo largo de los márgenes de las hojas totalmente desarrollada. La cantidad de espinas, expresadas número de espinas por cm de hoja, en las hojas de las plantas que crecieron en el invernadero fue mayor en otoño e invierno que en las estaciones de verano y primavera para ambos sistemas de cultivo (Tabla 2). El comportamiento de esta variable a campo, solo presentó diferencias en el invierno respecto a los demás períodos del año, encontrándose en el invierno los valores más elevados superiores a 1.7 espinas. cm⁻¹. Sin embargo, en condiciones de invernadero el comportamiento en los ciclos de otoño e invierno respecto al verano difiere sustancialmente, ya que la cantidad de espinas llegan a septuplicarse en las temporadas de frío en relación al período cálido. La presencia de espinas en las hojas de ananá se asocia a la variedad y la exposición de la planta a situaciones de estrés. Por ello, se presume que este aumento en la cantidad de espinas en el invernadero estaría relacionado con las condiciones de estrés térmico a la que estuvieron expuestas las hojas durante el periodo de verano.

Espesor de lámina en la porción media de la hoja

En ambos sistemas de cultivo los mayores espesores de lámina foliar, se reflejaron en los períodos de verano y primavera con diferencias significativas claras en ambos momentos a favor del sistema de cultivo a campo (Tabla 2). Los valores más bajos se encontraron en los meses de otoño e invierno, siendo significativo el menor espesor en las hojas de las plantas que crecieron en invernadero en el periodo de otoño, las cuales apenas superaron los 0.80mm de espesor de lámina.

Contenido relativo de agua

Prácticamente no se detectaron diferencias significativas asociadas al sistema de cultivo, las mismas solo se encontraron en primavera a favor del sistema del cultivo a campo (Tabla 2). Este parámetro manifestó un aumento durante los periodos de otoño e invierno y una disminución en la primavera y verano en ambos sistemas de cultivo. Este comportamiento se debe a que en las estaciones más cálidas disminuye el CRA de las hojas debido a un mayor requerimiento por parte del cultivo.

Contenido relativo de clorofila

Estudios previos establecen la correlación positiva entre el índice SPAD y el contenido foliar de N ratificando el uso del clorofilómetro como forma para analizar el estado nutricional de N en hojas de piña (Leonardo *et al.* 2013). El comportamiento del contenido relativo de clorofila en las hojas

"D" de las plantas fue similar en ambos sistemas de cultivo (Figura 1). Sin embargo, aquellas que fueron cultivadas en el invernadero presentaron un 36%, 49%, 13% y 52% más de unidades SPAD, promedio en primavera, verano, otoño e invierno respectivamente de aquellas que crecieron en condiciones de campo. La variación en el comportamiento de los niveles de clorofila es el esperable para esta especie, aumento a fines de verano y otoño y disminución en los meses más fríos, coincidente con lo citado por Rebolledo *et al.* (2002). Estos autores establecen que los niveles de clorofila para la variedad en estudio rondan las 60 unidades SPAD, valores que fueron alcanzados en ambos sistemas de cultivo únicamente en el otoño.

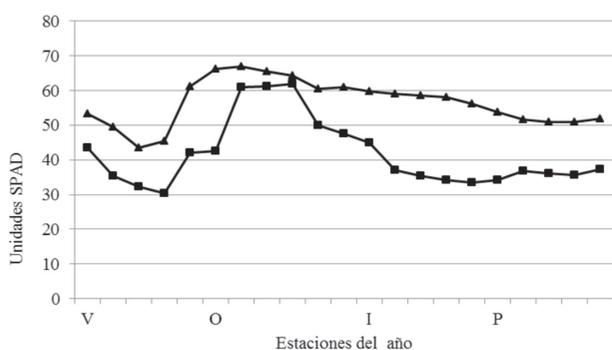


Figura 1. Contenido relativo de clorofila en hojas "D" de *Ananas comosus* cultivadas en dos sistemas de cultivo, a campo (■) e invernadero (▲) en las cuatro estaciones del año, verano (V), otoño (O), invierno (I) y primavera (P).

Estructura anatómica

En la Figura 2, las hojas "D" de piña, poseen contorno curvado, la cara adaxial es de superficie lisa y la cara abaxial posee crestas. Ambas superficies están cubiertas por escamas peltadas, más abundantes en el envés. En transcurso, ambas epidermis son uniestratas, una hipodermis, formada por células de paredes fuertemente esclerificadas, se ubica por debajo de ambas epidermis. Los estomas están restringidos a la epidermis abaxial. El mesófilo es dorsiventral, con dos zonas claramente diferenciadas: hacia la cara adaxial presenta un área clara compuesta por parénquima acuífero y hacia la cara abaxial una zona formada por parénquima clorofiliano compacto. El parénquima acuífero es heterogéneo: posee células redondeadas y pequeñas en contacto con la hipodermis y alargadas hacia el interior del mesófilo. En la zona clorofiliana se distribuyen los haces vasculares, son colaterales, de dos tamaños que se ubican alternadamente; los haces grandes poseen casquetes fibrosos perifloemáticos y perixilemáticos, éstos últimos están ausentes en los haces pequeños. Alternando con los haces, ligeramente desplazados hacia el envés se presentan cámaras aeríferas, formadas

por células estrelladas de brazos cortos. En el límite entre parénquima acuífero y clorofiliano se encuentran paquetes de fibras extraxilares, no asociados a los tejidos vasculares, están formados por fibras de paredes lignificadas y lumen totalmente ocluido. Entre los haces vasculares y la epidermis abaxial puede existir una o dos hileras de estos mismos paquetes fibrosos, en general las hojas provenientes de campo presentaron dos filas de paquetes fibrosos, mientras que las provenientes del sistema de cultivo bajo cobertura solo presentaron una línea de paquetes fibrosos dispuestos aproximadamente al mismo nivel, aunque esta distribución no es constante. Esta disposición de los paquetes fibrosos coincide con lo encontrado por Pineda *et al.* (2012), en plantas que crecieron *in vitro* respecto a aquellas *ex vitro*, quienes sugieren que la reducción de las fibras extra y perivasculares, es explicado por las condiciones de cultivo: alta humedad ambiental y baja intensidad de luz a las que están sometidas las plantas de piña cultivadas *in vitro*.

La densidad estomática de las hojas de las plantas de piña establecidas en condiciones de campo e invernadero, fue de 96 y 117 estomas/mm², respectivamente. Estudios previos en *Ananas comosus* expuestas al 100% de luz, mostraron una densidad de 33-45 estomas/mm² y 41-47 estomas/mm² en relación a las que crecieron con solo 50% de luz (Pacheco de Oliveira *et al.* 2008; Batagin *et al.* 2009). El mayor número de estomas por área foliar es una característica usual en hojas que crecen en un ambiente sombreado. Dentro del invernadero la radiación fotosintéticamente activa en el periodo estudiado fue un 40.2% promedio menor que fuera del mismo, lo cual explica la mayor densidad estomática encontrada en el sistema de cultivo bajo cobertura.

Los análisis morfo-anatómicos mostraron que el espesor de la lámina de las hojas que crecieron a campo presentaron diferencias respecto de aquellas cultivadas en invernadero, ya que las hojas de las plantas que crecieron bajo cobertura alcanzaron el 84.9% del grosor de aquellas provenientes del campo (Tabla 3). La diferencia también se presenta en la distribución del parénquima clorofiliano (PC, zona verde) y parénquima acuífero (PA, zona clara) ya que a campo la distribución fue de 43.46% de zona clara y 56.54% de zona fotosintetizadora, mientras que en los cortes histológicos de las hojas provenientes bajo invernadero un 63.12% es la zona compuesta por PC mientras que un 36.87% corresponde a PA. Relacionando la distribución de ambos tipos de parénquimas las hojas provenientes de campo presentan una relación PC/PA= 1.3 mientras que aquellas cultivadas en invernadero la misma asciende a 1.71. Esta relación indica una mayor proporción de tejido fotosintéticamente activo en

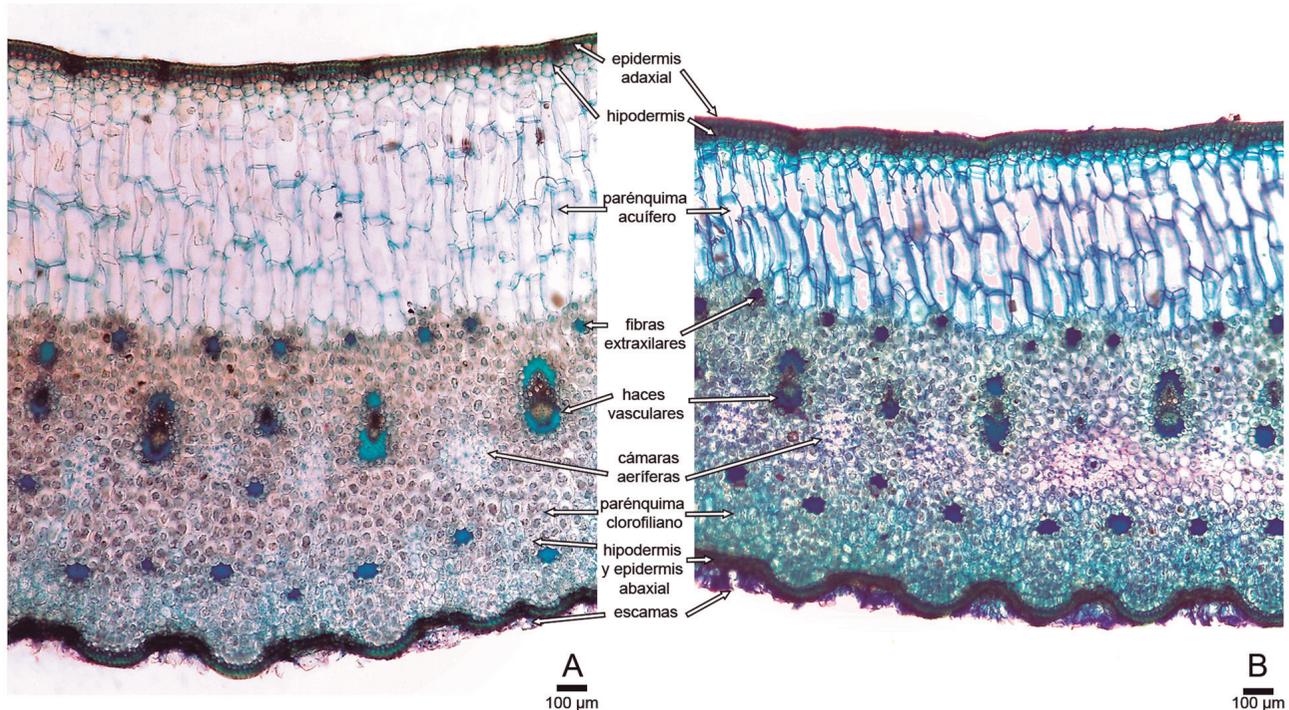


Figura 2. Cortes transversales de hoja "D" de Ananá. A: hoja de planta cultivada a campo, B: hoja de planta cultivada en invernadero.

Tabla 3. Variables morfoanatómicas de hojas "D" de *Ananas comosus* cultivadas en dos sistemas de cultivo, a campo e invernadero cosechadas en primavera.

Variable	Campo	Invernadero
Estomas (mm^2) ⁻¹	96,27 a	117 b
Espesor de lámina (mm)	1.93 b	1.64 a
Espesor parénquima clorofiliano (mm)	1.09 b (56.54%)	1.03 a (63.12%)
Espesor parénquima acuífero (mm)	0.84 b (43.46%)	0.60 a (36.87%)
Casquetes esclerenquimáticos (mm^2) ⁻¹	0.012 a	0.014 b

Valores seguidos de letras iguales en las filas, no difieren entre sí según test de Tukey, a 5% de probabilidad. Los valores entre paréntesis son los porcentajes de tejido parenquimático en cada sistema de cultivo, considerando como 100% al espesor de la lámina.

el invernadero respecto a campo lo cual estaría asociado con la mayor acumulación de materia seca que se observó en este sistema de cultivo y a su vez la mayor proporción de PA en las hojas provenientes del campo estaría revelando condiciones climáticas más adversas en relación a la humedad relativa ambiente la cual se refleja en una mayor proporción de tejido de reserva de agua. Estos resultados coinciden con los citados por Benzing (2000), quien observó que las Bromeliáceas que son sometidas a estrés hídrico o que viven en ambientes de elevada luminosidad es frecuente un aumento en la succulencia y en el espesor de la lámina foliar.

Las hojas de piña cultivadas en condiciones de campo, presentaron menor contenido de casquetes fibrosos (casquetes esclerenquimáticos)

que aquellas cultivadas bajo cobertura plástica. Al analizar el área de corte transversal (expresada en mm^2) ocupada por estos casquetes fibrosos, se encontró que las hojas "D" provenientes de campo, presentan un promedio de 0.012mm^2 de casquetes fibrosos/ mm^2 de lámina foliar; mientras que en hojas de plantas de piña cultivadas bajo cobertura, la relación es de 0.014mm^2 . Estos resultados coinciden con lo citado por Pacheco de Oliveira *et al.* (2008), quienes compararon las características anatómicas y cantidad de fibras foliares de plantas de "curauá" (*Ananas comosus* var. *erectifolius*), sometidas a diferentes intensidades de radiación fotosintéticamente activa y comprobaron que la cantidad de paquetes fibrosos aumentaba cuando las condiciones de cultivos presentaban más sombrío. No obstante, difieren con lo reportado por Barboza *et al.* (2006), quienes realizaron un estudio anatómico comparativo en plantas de piña micropropagadas *in vitro* y sometidas a un adecuada aclimatación. Estos investigadores, no encontraron diferencias significativas en la estructura anatómica básica, solo pequeñas variaciones morfoanatómicas a nivel de densidad estomática y espesor de cutícula.

Conclusiones

Las condiciones ambientales bajo cobertura, inducen el aumento del área foliar, peso seco y peso fresco de las hojas "D" de las plantas de piña. La capacidad de retención de agua y presencia

de espinas, no están asociadas a las estaciones del año.

Las hojas de piña cultivadas bajo cobertura plástica, presentan mayor densidad estomática y mayor cantidad de casquetes fibrosos, pero menor espesor de lámina foliar y menor espesor del parénquima acuífero y clorofiliano, respecto a aquellas que crecieron en condiciones de campo. La plasticidad fenotípica encontrada en hojas de piña que crecen en el sistema de invernadero, se asocia a la menor luminosidad y alta humedad relativa que se presenta en este ambiente de cultivo.

Agradecimientos

A la Secretaria General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes- Argentina.

Referencias

- Aragón. C. Carvalho. L. González. J. Escalona. M. Amancio. S. (2012). The physiology of *ex vitro* pineapple (*Ananas comosus* L. Merr. var MD-2) as CAM or C3 is regulated by environmental conditions: proteomic and transcriptomic profiles. *Plant Cell Rep*, 31, 757-769. doi: 10.1007/s00299-013-1493-3.
- Barboza. S.B.S.C. Graciano-Ribeiro. D. Teixeira. J.B. Aquino Portes. T. Copati Souza. L.A. (2006). Anatomía foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesqui Agropecu Bras*, 41 (2), 185-194. doi:10.1590/S0100-204X2006000200002.
- Batagin. K.D. Almeida. C.V.D. Tanaka. F.A.O. Almeida. M.D. (2009). Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiros cv. IAC "Gomo-de-mel" micropropagados e aclimatizados em diferentes condições de luminosidade. *Acta Bot Bras*, 23, 85-92. doi: 10.1590/S0102-33062009000100011.
- Benzing. D.H. (2000). Bromeliaceae. Profile of an Adaptive Radiation. Cambridge: Cambridge University Press. 708 p.
- Carvalho. S.L.C. De. Neves. C.S.V.J. Bürkle. R. Marur. C.J. (2005). Épocas de indução floral e soma térmica do período do florescimento à colheita de abacaxi Smooth cayenne. *Rev Bras Frutic*, 27(3), 430-433. doi: 10.1590/S0100-29452005000300022.
- Botella. J.R. Smith. M. (2008). Genomics of pineapple, crowning the king of tropical fruits. In: Moore PC-X, Ming R (Eds.) *Plant genetics/genomics: genomics of tropical crop plants*. Springer, USA, pp. 441-451.
- Cavallero. L. Galetti. L. López. D. McCargo. J. Barberi. I.M. (2011). Morphological variation of the leaves of *Aechmea distichantha* Lem, plants from contrasting habitats of a Chaco forest: a trade-off between leaf area and mechanical support. *R Bras Bioci*, 9 (4), 455-464.
- Derwidueé. F.S. González. A.M. (2010). Anatomía foliar en Bromeliaceae del Nordeste Argentino y Paraguay. *Bonplandia*, 19 (2), 153-173.
- Di Rienzo. J.A. Casanoves. F. Balzarini. M.G. González. L. Tablada. M. Robledo. C.W. (2012). InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.06.03.2015.
- Gratani. L. (2014). Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Adv Bot*, 2014(4), 1-17. doi:10.1155/2014/208747.
- Leonardo. F. de A.P. Pereira. W.E. Silva. S. de M. Pereira Da Costa. J. (2013). Teor de clorofila e Índice Spad no Abacaxizeiro cv. Vitória em função da adubação nitrogenada. *Rev Bras Frutic*, 35 (2), 377-383. doi: 10.1590/S0100-29452013000200006.
- Pacheco de Oliveira. E.C. Alves Lameira. O. Borges de Sousa. F.I. Ferreira Silva. R.J. (2008). Estrutura foliar de curauá em diferentes intensidades de radiação fotossinteticamente ativa. *Pesqui Agropecu Bras*, 43(2), 163-169. doi: 10.1590/S0100-204X2008000200002.
- Pineda A. Vargas. T.E. Escala. M. García. E. (2012). Organogénesis *in vitro* en piña española roja y morfoanatomía foliar de las plantas obtenidas en el proceso. *Bioagro*, 24 (3), 175-186.
- Rebolledo-Martinez. A. M. Ruiz-Posadas. L. Becerri-Román. A. E. Mosqueda-Vázquez. R. Castillo-Morales. A. Rebolledo-Martínez. L. Uriza-Ávila. D. (2002). Algunas características fisiológicas de tres cultivares de piña en dos sistemas de producción. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 8(2), 235-249.
- Verbeke. G. Molenberghs. G. (2009). Linear mixed models for longitudinal data. Editorial Springer Science & Business Media. 554 p.