

MORFOANATOMÍA FOLIAR DE DOS ECOTIPOS DE *ANANAS COMOSUS* (L.) MERR. DEL AMAZONAS VENEZOLANO: AMARILLA Y YÄRÄ KÄNÄ

Foliar morphoanatomy of two ecotypes of *Ananas comosus* (L.)
Merr. of the Venezuelan Amazon: Yellow and Yärä känä

Amalia BRITO¹, Héctor BLANCO¹, Marcia ESCALA²,
Edith VARGAS¹ y Eva de GARCIA^{1*}

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Instituto de Biología Experimental (IBE).

¹ Laboratorio de Biotecnología vegetal

² Laboratorio de Morfología y Anatomía Vegetal, Caracas 1041, Venezuela.

*Autor para correspondencia: evacrisga@hotmail.com

RESUMEN

Se analizó la morfoanatomía de los ecotipos amazónicos de *Ananas comosus*, Amarilla y Yärä känä. Para el análisis estructural, secciones de la parte media de hojas completamente expandidas, se fijaron en alcohol etílico al 70%. Morfológicamente, las hojas de ambos ecotipos se diferenciaron por la coloración verde claro y oscuro y la presencia o no de aguijones en los bordes de la lámina, respectivamente. En el aspecto estructural se observó: epidermis uniestratificada, con células de paredes sinuosas (o muy onduladas en “Yärä känä”) y presencia de cristales de sílice; hipodermis mecánica adaxial y abaxial, parénquima acuífero heterogéneo, clorénquima de células redondeadas con cloroplastos, arénquima en cámaras, haces vasculares colaterales y paquetes de fibras extravasculares, en mayor número en Yärä Känä. Las hojas de ambos ecotipos son anfiestomáticas, algo no usual en el género *Ananas*, con mayor densidad estomática en el envés.

Palabras clave: aguijones, cámara aerífera, escamas peltadas, fibras extravasculares, hoja anfiestomática

ISSN 0084-5906

Depósito Legal 196902DF68

Depósito Legal (Internet) ppi 201402DC4561

Recibido: 03/06/2015

Aceptado: 17/10/2016

ABSTRACT

Morphoanatomical analysis was conducted in two Amazonian ecotypes of *Ananas comosus*, Amarilla and Yärä känä. Cuts from medium sections of fully expanded leaves, were fixed in 70% ethyl alcohol for anatomical studies. Morphologically, the leaves of both were differentiated by the light green and dark coloration and the presence or not of stingers in the edges of the leaf, respectively. The structural analysis showed: monostratified epidermis cells with sinuous walls (or very undulated in Yärä Känä), and silica crystals; adaxial and abaxial mechanical hypodermis; heterogeneous aquifer parenchyma; chlorenchyma of rounded cells, aerenchym in chambers, collateral vascular bundles, and packages of extravascular fibers, in greater numbers in Yärä Känä. The leaves of both ecotypes are amphistomatic, somewhat unusual in the genus *Ananas*, with greater stomatal density on the underside.

Key words: aerenchyma chambers, amphistomatic leaf, extravascular fibers, peltate scales, stingers

INTRODUCCIÓN

La piña pertenece a la familia Bromeliaceae, subfamilia Bromelioideae y, según la clasificación propuesta por Coppens d'Eeckenbrugge & Leal (2003), todas se agrupan en el género *Ananas* con dos especies, *A. comosus* (L.) Merr. y *A. macrodontes* E. Morren, diferenciadas por presentar frutos con o sin corona y reproducción mediante brotes axilares, o estolones, respectivamente. Es uno de los cultivos frutícolas más importantes del mundo, representando un 23% de la cosecha mundial de frutas tropicales (FAO 2014) y su valor comercial radica en el fruto, el cual es utilizado como alimento fresco o procesado.

La piña comercial (*A. comosus* var. *comosus*) es utilizada como fruta fresca y procesada, se caracteriza por una infrutescencia grande y ovoide, soportada por un pedúnculo corto, ancho y fuerte, presentan entre 40-80 hojas con o sin agujones (Bonilla 1991), cuyos caracteres anatómicos se corresponden con los xerofíticos típicos de la familia Bromeliaceae, como lo son: succulencia, epidermis uniestratificada, recubierta por la cutícula, hipodermis, parénquima almacenador de agua, clorénquima homogéneo, haces vasculares colaterales, casquetes de fibras, canales de aireación y tricomas peltados (Tomlinson 1969; Benzing *et al.* 1976;

Aoyama & Sajo 2003; Batagin *et al.* 2009). Según Coppens d'Eeckenbrugge *et al.* (2011), la producción de semillas en la piña es escasa debido a su reducida fertilidad y su autoincompatibilidad como resultado de la domesticación, y existe una amplia diversidad de formas silvestres y cultivadas, en la zona norte del Amazonas (cuencas del río Orinoco y río Negro) donde se observa mayor variación morfológica con relación a las del sur (Paraguay, sur de Brasil), por lo que se cree que la primera es el centro de origen de las piñas.

Existen piñas silvestres que se han adaptado a determinados ambientes, siendo denominados ecotipos (Betancourt 2006; Gutiérrez *et al.* 2008). El estudio de estas formas silvestres constituye un aporte al conocimiento botánico, y adicionalmente ellas pudieran servir como material genético para programas de mejoramiento (Amaya & Leal 1986; Betancourt 2006; Leal *et al.* 2010; Coopens d'Eeckenbrugge & Leal 2011).

En Venezuela la demanda de piña fresca es cubierta en gran parte por el cultivar Española Roja, aunque otros ecotipos son producidos y comercializados a nivel local. En el estado Amazonas la etnia Piaroa de Betania de Topocho cultiva piñas autóctonas las cuales tienen un valor agrícola, social y etnobotánico pues varias comunidades de esa etnia utilizan el fruto como alimento o medicina y las hojas como fuente de fibra para la elaboración de chinchorros, telas y otros artículos de interés para la comunidad (Coppens d'Eeckenbrugge *et al.* 2011).

De acuerdo con Betancourt (2006), en el municipio Atures se han encontrado 11 ecotipos, algunos de ellos no caracterizados morfoanatómicamente, de los cuales seis son comercializables y cuatro han predominado en las áreas de siembra porque presentan características favorables como la ausencia de espinas en las hojas, precocidad de producción. Los ecotipos de piña cultivadas en Betania del Topocho tienen en general baja tasa de multiplicación en el campo (Betancourt 2006; Blanco *et al.* 2011) para la actividad agrícola por lo que el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la UCV ha desarrollado un proyecto que busca apoyar a la mencionada comunidad en la producción de material nativo mediante la propagación *in vitro*, suministrándoles plantas sanas, de mejor calidad y en mayor número en comparación a la multiplicación tradicional, las cuales pueden ser utilizadas para la producción de frutos destinados a la comercialización. Uno de los requisi-

tos previos antes de la micropropagación es la caracterización morfológica y anatómica foliar de las plantas madres (donadoras del explante), con el fin de detectar marcadores morfoanatómicos que permitan evaluar la homogeneidad de las plantas originadas de la micropropagación.

El presente trabajo tiene por objetivo la caracterización de la morfología y estructura foliar de otros ecotipos de piña del Amazonas venezolano, de importancia agrícola en la región, denominados Amarilla y Yärä känä (conocida como Brasilera), con el fin de aportar información a la comunidad científica sobre sus características específicas, las cuales podrían ser utilizadas como marcadores morfoanatómicos de esas piñas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron dos ecotipos de piña (*Ananas comosus*) cultivadas por la comunidad Piaroa de Betania del Topocho, estado Amazonas, cuyos nombres étnicos son: Amarilla y Yärä Känä (Santiago 1999; Betancourt 2006; Gutiérrez *et al.* 2008). Para realizar los estudios, se recolectaron plantas jóvenes de 15 a 20 cm de altura, en sembradíos, y se trasladaron al laboratorio, se transfirieron a bolsas con tierra abonada y luego se colocaron en un vivero con intensidad lumínica de $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ para su adaptación y desarrollo.

A los ocho meses se tomaron hojas de las plantas en estado vegetativo creciendo bajo las condiciones descritas para los estudios morfoanatómicos. Adicionalmente, algunas de ellas fueron transferidas luego a otro vivero con mayor intensidad lumínica ($912 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$), con el fin de observar la plasticidad fenotípica de los caracteres color y formación de aguijones en los bordes de las hojas.

Análisis morfoanatómico

Cada grupo de estudio estuvo conformado por cinco plantas adultas en estado vegetativo de cada ecotipo Amarilla y Yärä Känä. Se seleccionó para el estudio la más joven entre las hojas completamente desarrolladas. Se evaluaron los caracteres morfológicos: color y forma, presencia de aguijones en el borde, de cada hoja seleccionada.

Para los estudios anatómicos se tomó la porción media de cada una de las hojas seleccionadas, y se fijó en alcohol etílico al 70%, luego las muestras se utilizaron para las preparaciones epidérmicas, cortes transversales y cortes horizontales superficiales (paradérmicos) a mano alzada. Los mismos fueron teñidos con azul de toluidina (1% en solución acuosa, durante 1 min), montados en láminas semipermanentes con glicerina al 30% en solución acuosa, y sellados con esmalte transparente para uñas, para preservar la humedad. Las observaciones se hicieron en microscopios ópticos, ZEISS modelo KL1500 para luz polarizada y Nikon modelo H-III para luz blanca.

Se realizaron pruebas histoquímicas sobre cortes frescos para la determinación de almidones y compuestos fenólicos (utilizando lugol), celulosa (azul de toluidina), ceras y lípidos (Sudán III), y lignina (safranina) (Roth 1964). Los registros fotográficos se realizaron con una cámara digital Sony con una resolución de 5 megapíxeles, colocada sobre el ocular del microscopio.

Para determinar la densidad estomática se utilizaron cinco hojas de cada grupo de estudio (Amarilla y Yärä Känä); se tomó la sección basal, media y apical de cada una, y se rasparon suavemente con un bisturí las epidermis para eliminar las escamas. El número de estomas fue determinado por el método de impresión epidérmica (Rebolledo-Martínez *et al.* 2002) aplicando barniz transparente para uñas sobre ambas superficies de las hojas, al secar se retiró la capa con las impresiones, se colocaron en porta objetos con glicerina al 30%, y se observaron en un microscopio óptico, marca Nikon modelo H-III utilizando un aumento 400x. La densidad estomática (DE) se calculó mediante la fórmula: $DE = \text{número de estomas} \times \text{área (mm}^2\text{)}$. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el test de ANOVA de una vía con pruebas Tuckey Post Hoc, con diferencias significativas para valores de $p < 0,001$.

La medición del espesor de los tejidos (hipodermis adaxial y abaxial, parénquima acuífero y clorénquima, diámetro de fibras extravasculares, y medidas de haces vasculares se realizó en un microscopio (Nikon modelo H-III), calibrando una retícula ocular micrométrica mediante el uso de una de platina micrométrica. El procesamiento de las imágenes para tomar las medidas correspondientes de cada tejido se hizo mediante el programa ImageJ-1 (www.download366.info/ImageJ), donde para cada hoja evalua-

da se tomaron cinco medidas por tejido. Los datos fueron promediados, indicando su varianza. Como la epidermis inferior es ondulada las mediciones del clorénquima fueron realizadas desde la cresta (banda costal) de la epidermis inferior hasta el límite con el parénquima acuífero.

RESULTADOS

Morfología foliar

Las plantas de los dos ecotipos presentaron hojas suculentas dispuestas en roseta, la lámina foliar elongada, adaxialmente cóncavas, verde con la base blanca. En la piña Amarilla la cara adaxial se observó lisa, brillante, verde claro, y abaxialmente opaca, de color similar. En la piña Yärä känä la cara adaxial es lisa, brillante, verde intenso, con la cara abaxial opaca y verde.

Se observaron agujijones tipo antrorsos (Fig. 1) solamente en las hojas de la piña Amarilla (Tabla 1), donde las primeras 5-8 hojas apicales presentaban agujijones en todo el borde foliar con una distribución irregular. En el resto de las hojas los agujijones se observaron en la base, y en muy pocas hojas, se localizaban desde la porción media hasta la apical.



Fig. 1. Morfología general de las hojas de piña. **a, b.** Ecotipo Amarilla. **c, d.** Ecotipo Yärä känä. **a.** Márgenes con agujijones en la zona media-apical; **b.** En la base. **c.** Agujijones ausentes en la zona media-apical; **d.** En la zona basal. Escalas: a, c, d = 1 cm. b = 0,5 cm.

Tabla 1. Caracteres morfoanatómicos de dos plantas de piña nativas del Amazonas venezolano.

	Carácter	Material examinado	
		Ecotipo Amarilla	Ecotipo Yära Känä
Lámina	Borde con agujones	+	-
	Color rojo intenso (en toda la lámina, en todas las hojas)	-	+
Mesofilo	Dorsiventral	+	+
	Almidón en clorénquima	+	+
Epidermis	Cutícula delgada	+	+
	Hoja anfiestomática	+	+
	Estomas semiemergentes	+	+
	Cristales de sílice	+	+
	Superficie abaxial suavemente ondulada. Bandas costales poco prominentes	+	-
	Superficie abaxial muy ondulada. Bandas costales conspicuas	-	+
Hipodermis	Mecánica	+	+
	Lignificada	+	+
	Presente en ambas caras (adaxial y abaxial)	+	+
Parénquima acuífero	Heterogéneo	+	+
	Presencia de cristales tipo rafidios	+	+
Aerénquima	En cámaras	+	+
Haces vasculares	De dos tamaños diferentes-Alternos	+	+
	Con casquetes de fibras lignificadas	+	+
Fibras extravasculares	Sólo en clorénquima	+	+
	Nº de filas	2 a 3	3 a 5

Adicionalmente, se observó que al transferir plantas de ambos ecotipos de piña desde una intensidad luz solar de $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ a la de $912 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$, después de tres meses, las hojas de Yära Känä desarrollaron trazos de color rojo intenso en la cara adaxial, y las hojas piña Amarilla mostraron unos trazos de color rojo pálido hacia la zona media y apical, incluyendo la base de los agujones. En la piña Amarilla en estas condiciones de mayor intensidad lumínica, se observó un incremento del número de agujones en las zonas media y apical de la hoja.

Anatomía foliar

La distribución de los tejidos fue similar en ambos tipos de piña, con una epidermis superior e inferior con escamas peltadas. El mesofilo con distribución dorsiventral y con células del parénquima acuífero hacia la haz de la hoja, y hacia el envés, células del parénquima esponjoso con cloroplastos en la zona central de la hoja (Fig. 2), y distribución homogénea (clorénquima) en los bordes de la misma. La epidermis en ambas caras era uniestratificada, de paredes no lignificadas, revestida de una cutícula delgada (Fig. 2). En sección transversal las células epidérmicas presentaron un lumen reducido y sus paredes laterales e inferiores eran marcadamente engrosadas (Fig. 3). En sección paradérmica las células epidérmicas se observaron rectangulares con paredes sinuosas, dentro de cada célula se observaron cuerpos esféricos de sílice abarcando gran parte del protoplasto (Fig. 4).

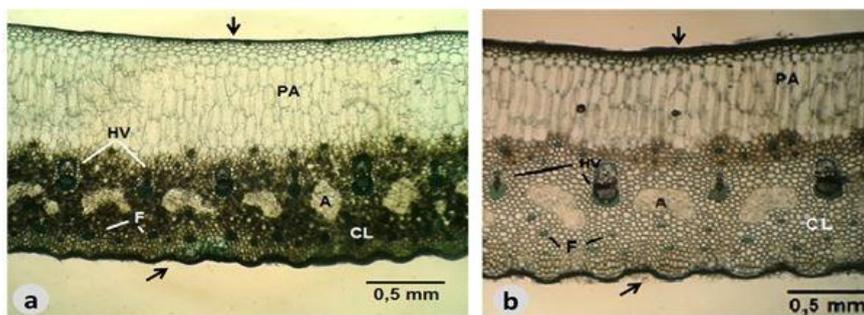


Fig. 2. Secciones transversales de hoja de los ecotipos de piña. **a.** Amarilla. **b.** Yärä känä. ↓ = Superficie adaxial de la epidermis lisa; ↗ = Epidermis inferior sinuosa; A = Aerénquima en cámaras; CL = Clorénquima; F = Paquetes de fibras extravasculares; HV = Haces vasculares; PA = Parénquima acuífero formado.

Los estomas de tipo semiemergentes con 28 a 29 μm de ancho, incluyendo las células oclusivas y el ostiolo (Tabla 2), se disponían en las zonas de hundimiento de la epidermis, y se ubican debajo de las escamas, por lo que en cortes paradérmicos su observación sólo fue posible al eliminar las mismas (Fig. 5). En ambos ecotipos se observó que las hojas son anfiestomáticas, excepto en el extremo basal, donde los estomas están ubicados únicamente en la cara abaxial.

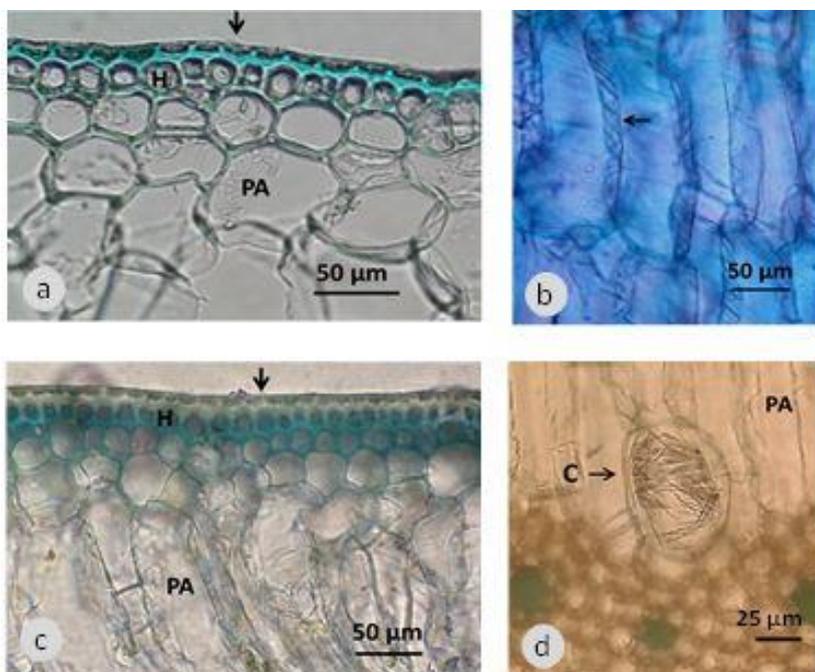


Fig. 3. Secciones transversales de hoja de los ecotipos de piña. **a, b.** Amarilla. **c, d.** Yará kãnä. ↓ = Epidermis superior; ← = Paredes anticlinales; C = Paquetes de cristales; H = Hipodermis; PA = Células del parénquima acuífero heterogéneo formado por células redondeadas y alargadas.

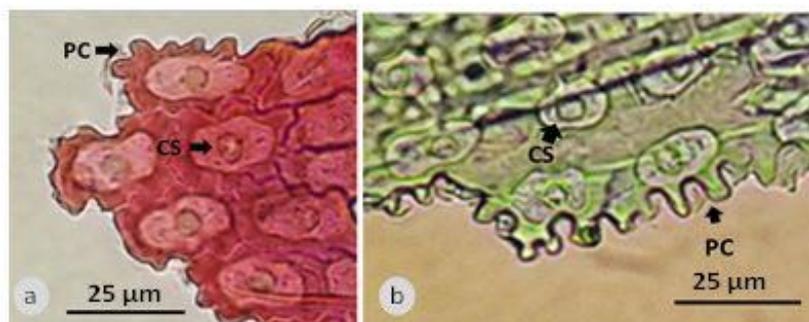


Fig. 4. Preparación paradérmica de la epidermis inferior de los ecotipos de piña. **a.** Amarilla. **b.** Yará kãnä. CS = Cuerpos de sílice esféricos en el interior de la célula; PC = Paredes celulares sinuosas.

Tabla 2. Medidas (en μm) de parámetros anatómicos en dos ecotipos de piñas.

Piña	Grosor hipodermis superior	Grosor hipodermis inferior	Grosor parénquima acuífero	Grosor clorénquima	Diámetro paquetes de fibras extravasculares	Distancia entre haces vasculares	Altura haces vasculares grandes	Altura haces vasculares pequeños	Ancho estomas
Amarilla	$39,5 \pm 7$	$56 \pm 16,9$	$541 \pm 41,6$	$840 \pm 26,5$	$65 \pm 15,4$	$343 \pm 61,3$	$244 \pm 29,2$	$162 \pm 22,9$	$28 \pm 2,1$
Yärä känä	$29 \pm 4,7$	$25 \pm 6,6$	$630,5 \pm 85,9$	$674,8 \pm 70,7$	$43,3 \pm 9,9$	$328,4 \pm 65,3$	$302 \pm 7,7$	$161 \pm 31,7$	$29 \pm 2,6$

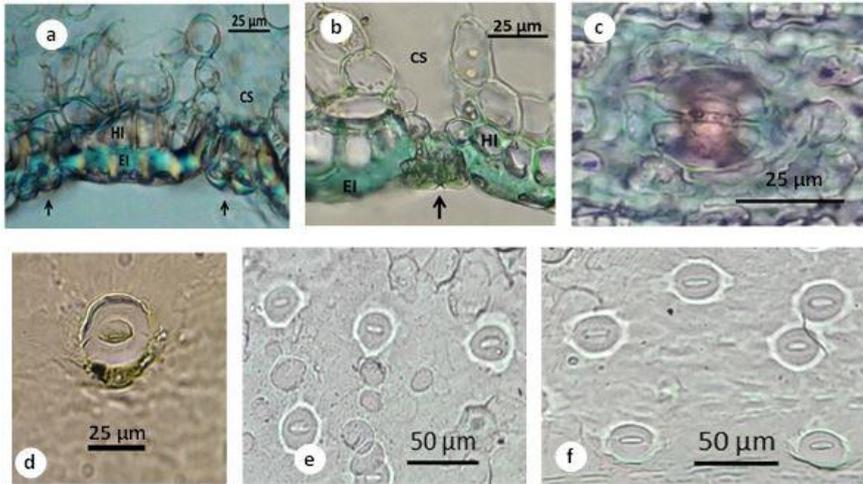


Fig. 5. Estomas en hojas de piña. **a, d, f.** Amarilla. **b, c, e.** Yarä känä. **c.** Detalle de estoma en vista superficial, ubicado en la cara adaxial de la hoja. **d.** Detalle de la impresión de un estoma ubicado en la cara adaxial impreso en barniz de uña. **e, f.** Impresión de la cara abaxial de la hoja mostrando grupo de estomas. \uparrow = Estomas semiemergentes; CS = Cámara subestomática. EI = Epidermis inferior; HI = Hipodermis inferior.

Al comparar la densidad estomática en la cara inferior de la epidermis en las zonas basal, media y apical de las hojas de los dos ecotipos, la piña Amarilla mostró un valor de densidad estomática significativamente mayor de 65,35 y 68,21 estomas/mm² en las zonas media y apical, respectivamente; la piña Yärä känä presentó valores de 53,02 y 59,62 estomas/mm² en las zonas media y apical, respectivamente. En la zona basal de las hojas se encontraron los menores valores de densidad estomática, sin mostrar diferencias significativas entre los dos ecotipos (Fig. 6). En ambos casos se observó que en la cara adaxial la mayor cantidad de estomas se ubicó hacia los márgenes de la hoja.

En corte transversal también se observó una hipodermis de tipo mecánica, con células esclerenquimáticas, de paredes engrosadas y lignificadas, de forma poligonal. Hacia la cara adaxial este tejido está formado por una o dos capas de células, las más cercanas a la epidermis presentaban paredes gruesas, y las más próximas al parénquima acuífero las tenían más delgadas (Fig.7c). La hipodermis abaxial se observó constituida por dos capas de células, diferenciadas de las células del

clorénquima por su menor tamaño y la ausencia de cloroplastos (Fig.7d), la continuidad de este tejido se observaba interrumpida por las cámaras subestomáticas (Fig. 5). En la piña Amarilla el grosor de la hipodermis superior fue de $39,5 \pm 7 \mu\text{m}$ y la hipodermis inferior de $56 \pm 16,9 \mu\text{m}$, mientras que en la piña Yärä känä se presentaba menores valores tanto en la hipodermis superior ($29 \pm 4,7 \mu\text{m}$) como en la inferior ($25 \pm 6,6 \mu\text{m}$ de grosor) (Tabla 2).

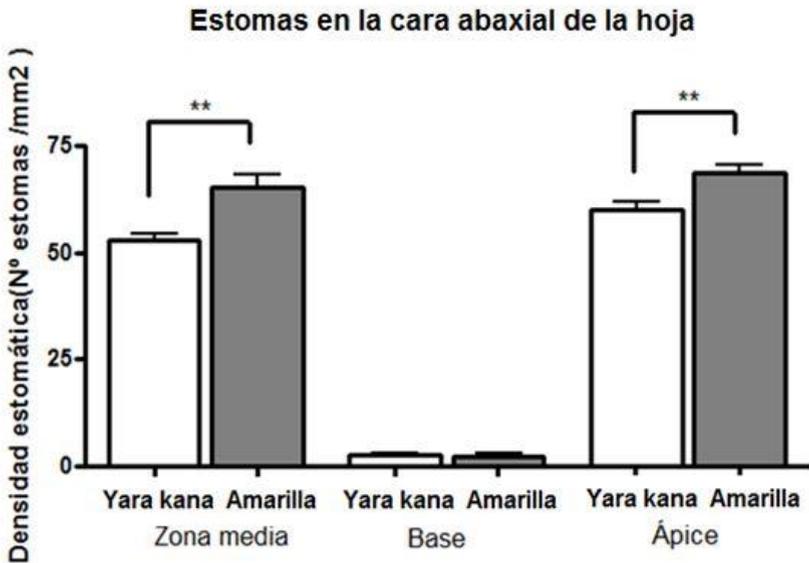


Fig. 6. Estomas en la hoja de los ecotipos Amarilla y Yärä känä en la parte basal, media y apical de la cara abaxial. ANOVA de una vía con pruebas Tuckey Post Hoc, con diferencias significativas para valores de $p < 0,001$ (*), barras \pm error estándar.

El parénquima acuífero se observó de tipo heterogéneo, con células redondeadas (2-3 capas) y células alargadas (3-4 capas), todas con paredes delgadas, no lignificadas, sin espacios intercelulares (Fig. 7e); en algunos casos se observaron rafidios en el interior de las células (Fig. 3d). Este tejido no se observó hacia los márgenes de la hoja. En la piña Amarilla el grosor del parénquima acuífero respecto al clorénquima fue de $541 \pm 41,6 \mu\text{m}$ (37% del mesofilo) y en Yärä känä de $630,5 \pm 85,9 \mu\text{m}$ (46% del mesofilo) (Tabla 2).

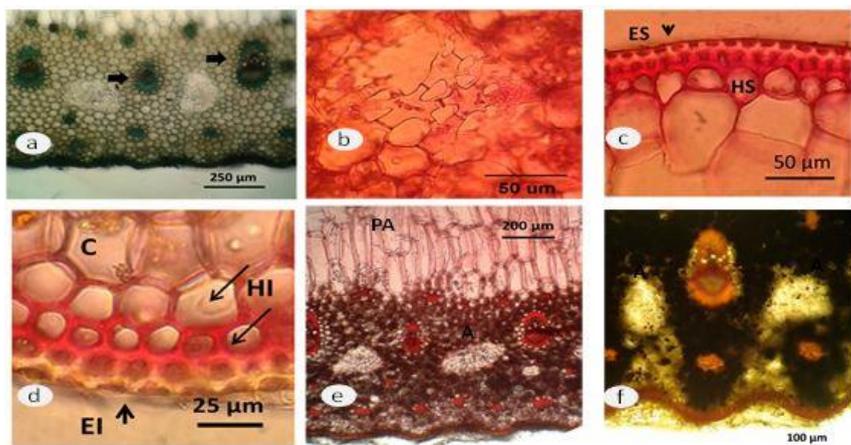


Fig. 7. Corte transversal de la hoja de los ecotipos. **a, b, d, f.** Yärä känä. **c, e.** Amarilla. **a.** Haces vasculares de diferentes tamaños. **b.** Células estrelladas del aerénquima. **c, d.** Material teñido con safranina. **f.** Secciones teñidas con lugol, mostrando almidones en el clorénquima (oscuro), los almidones están ausentes en el parénquima acuífero y el aerénquima. A = Aerénquima; EI = Epidermis inferior poco lignificada; ES = Células de la epidermis superior; HS = Hipodermis superior con paredes lignificadas; HI = Hipodermis inferior con paredes lignificadas; PA = Parénquima acuífero.

El grosor del clorénquima fue de $840 \pm 26,5 \mu\text{m}$ en la piña Amarilla y $674,8 \pm 70,7 \mu\text{m}$ en la piña Yärä känä (Tabla 2) lo cual representa, respectivamente, 56,8 % y 49,6 % del grosor de sus mesofilos. Este tejido se observó formado por células redondeadas, de paredes delgadas y con un alto contenido de cloroplastos y amiloplastos (Fig. 2a, b). El aerénquima en sección transversal se observó en cámaras únicas o dobles, alternando con los haces vasculares, con células de forma irregular o estrellada de brazos cortos, con cloroplastos (Fig. 7b). Al realizar la prueba histoquímica con lugol se evidenció la presencia de amiloplastos en el clorénquima, con una distribución no homogénea (Fig. 7f); en el arénquima y en el tejido que bordea las cámaras subestomáticas se observó una menor presencia de amiloplastos, de acuerdo con la prueba histoquímica.

El sistema vascular de ambos ecotipos está formado por haces colaterales cerrados de dos tamaños (Tabla 2), ubicados alternadamente, y rodeados por células del clorénquima de forma concéntrica (Fig. 7a). Cada haz presentó casquetes de fibras lignificadas, observables también

de forma extravascular, dispuestas de 2 a 4 hileras y distribuidas en forma alterna con relación a los haces vasculares, en todo el clorénquima, nunca en el parénquima acuífero. En la piña Yärä känä se observó mayor número de fibras extravasculares con relación a la Amarilla (Tabla 1).

Las pruebas histoquímicas evidenciaron que las paredes de las células de la hipodermis y las fibras, tanto de los casquetes como las extravasculares, estaban lignificadas en ambos tipos de piña. Los amiloplastos se observaron mayormente en el clorénquima, el contenido de almidón era escaso en el aerénquima y en las células que estaban alrededor de la cámara subestomática.

DISCUSIÓN

La presencia de agujijones fue uno de los caracteres que diferenció los dos ecotipos ya que solo se presentaron en la piña Amarilla. Las observaciones realizadas en el material vegetal crecido en el vivero con intensidad lumínica de $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ (plantas en las que se realizó todo el estudio morfoanatómico), los agujijones en la piña Amarilla están distribuidos diferencialmente en las hojas más jóvenes (las primeras 8), en todo el margen de la lámina, mientras que en el resto de las hojas se observaron sólo en la base. Algunas hojas maduras de la piña Amarilla presentaron estas estructuras en la zona media y apical de la lámina. Según Collins & Kernes (1946, en Leal *et al.* 2010), la presencia de agujijones es un carácter genético que está determinado por varios tipos de genes, entre ellos los denominados “S” y “P”. Los bordes donde ellos se presentan están relacionados al alelo recesivo “s”, su existencia solo en la punta de la hoja está determinada por la presencia del alelo S, dominante sobre s. Los bordes totalmente lisos, como los de Yärä Känä, se deben a la presencia del gen “Se”, otro alelo de la serie, el cual es dominante sobre S y s. El carácter de presencia de agujijones en los márgenes de hojas de piña ha constituido un elemento importante en la elaboración de claves de identificación taxonómica, como por ejemplo, Clave para la identificación de algunos cultivares de piña cultivadas en Venezuela (Leal & Antoni 1981), Clave para las especies y variedades botánicas (Coppens d’Eeckenbrugge & Leal 2003).

Para conocer la plasticidad del carácter presencia de agujijones, algunas plantas de ambos ecotipos fueron trasladadas a un vivero de

mayor intensidad lumínica y se notó un aumento cualitativo en el número de agujijones presentes en las hojas de la piña Amarilla, mientras que en Yärä känä estaban ausentes. Coppens d'Eeckenbrugge *et al.* (2011) señalan que la presencia de ellos está determinada por un conjunto de genes, sin embargo, su expresión está relacionada con el estrés hídrico u otros factores ambientales lo que podría explicar la aparición diferencial de los mismos en la piña Amarilla. Ebel *et al.* (2016), en estudios realizados sobre la evaluación de caracteres morfoanatómicos de variedades de piña en diferentes ambientes, refieren que la aparición ocasional de agujijones está asociada al cese y reanudación del crecimiento de la hoja, el cese se produce en condición de estrés y el nuevo crecimiento es acompañado de la formación de los mismos. Esto puede explicar su aparición en mayor cantidad para plantas de piña Amarilla, las cuales al someterlas a las condiciones de luz de mayor intensidad, responden a ese estrés producido por esa nueva condición ambiental.

La coloración de la hoja también tuvo una variación respecto al ambiente ya que en ambos ecotipos de piña la lámina foliar cambió de color al ser sometidas a mayor intensidad lumínica ($912 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$). En Yärä känä la coloración roja era acentuada y cubría casi toda la lámina foliar, mientras que en Amarilla ese color fue menos intenso y sólo cubría la zona media y apical de la hoja. Este cambio es producto de la síntesis de antocianinas como un mecanismo de protección del aparato fotosintético ante altas intensidades de luz (Tomlinson 1969; Guiral 1978; Coppens d'Eeckenbrugge *et al.* 2011).

La estructura de las hojas de piñas Amarilla y Yärä känä es, en general, la reportada para el género *Ananas*, familia Bromeliaceae (Tomlinson 1969; Derwidueé & González 2010). Estos ecotipos se caracterizan por poseer adaptaciones xeromórficas, tales como la disposición de las hojas en una roseta, asociada a la acumulación de agua y los nutrientes disueltos en ella, epidermis e hipodermis con paredes engrosadas, tejido acuífero bien desarrollado y estomas semiemergentes. Estas plantas además presentan caracteres de ambientes húmedos tales como el aerénquima; las combinaciones de estos atributos permiten diferenciar las subfamilias, e incluso los géneros de la subfamilia Bromelioideae (Derwidueé & González 2010).

En las hojas de piñas Amarilla y Yärä känä las escamas estuvieron presentes en ambas caras, lo que podría aumentar la eficiencia para la captación del agua depositada en forma de rocío o de otras fuentes, en especial en ambientes secos. Kakani *et al.* (2003) proponen que la importancia de los los tricomas (escamas peltadas) en hojas de piña se debe a que son estructuras altamente especializadas para absorber agua de lluvia o rocío; adicionalmente, evitan la transpiración excesiva por la manera de incrustarse en la epidermis, originando superficies húmedas que ayudan a disminuir la difusión de gases.

En las hojas de las piñas estudiadas se observó mayor densidad de escamas en la cara abaxial, éstas presentaban un escudo más ancho respecto las de la cara adaxial, los cuales cubrían estomas. Proença & Sajo (2007) y Quintana *et al.* (2012) explican que las escamas peltadas evitan la transpiración excesiva al cubrir los estomas con la porción alada. Esta función de protección a los estomas podría explicar, en el caso de las piñas, la mayor densidad de escamas en el envés, donde se localiza la mayor densidad estomática evitando la excesiva transpiración (Dos Santos *et al.* 2007).

Las células de la epidermis uniestratificada se observaron con paredes sinuosas cuya función, de acuerdo a Proença & Sajo (2007), sería aumentar la superficie de contacto entre las células confiriendo mayor resistencia mecánica al tejido epidérmico ante los cambios de turgencia de la hoja, y podría aumentar la eficiencia de las hojas para captar la luz hacia el interior de la lámina.

Los cuerpos esféricos presentes dentro de las células epidérmicas de las piñas estudiadas se han observado para otras bromelias, como fue señalado por Proença & Sajo (2007) en piñas de Sao Paulo (Brasil), y por Pineda *et al.* (2012) en la Española Roja y se reportaron como cuerpos de sílice, los cuales se han asociado con la resistencia de la planta al ataque de hongos o la herbivoría, así como a la reducción de la transpiración por ser altamente refractivas (Aoyama & Sajo 2003; Proença & Sajo 2007).

Los estomas en las hojas de las piñas Amarilla y Yärä känä se encontraron tanto en la haz como en el envés de las hojas, ubicados en los surcos o zonas intercostales y siempre debajo de las escamas peltadas. La base de la hoja presenta los menores valores con relación a las zonas

base de la hoja presenta los menores valores con relación a las zonas media y apical. Esto podría estar relacionado con la ausencia del clorénquima en la base de la hoja, donde existe solo parénquima acuífero cuya función es almacenar agua para superar la sequía; por consiguiente, el proceso de fotosíntesis no se lleva a cabo y la presencia de estomas no es indispensable para el intercambio gaseoso.

El carácter anfiestomático de las hojas de estos ecotipos difiere de lo reportado en la bibliografía consultada sobre la disposición de los estomas en la hoja de plantas del género *Ananas*, la cual se describe como hipoestomática, esto se ha demostrado en *A. ananasoides* (Proença & Sajo 2007), *A. comosus* cv. 'Cayena Lisa' (Rebolledo *et al.* 2002), *A. comosus* cv. 'Perola' (Santa Cruz *et al.* 2006), *A. comosus* 'Gomo de Mel' (Batagin *et al.* 2009), *A. bracteatus* (Derwidueé & González 2010), *A. comosus* cv. 'Española Roja' (Quintana *et al.* 2012; Pineda *et al.* 2012), ecotipo Täbe Känä (Pineda *et al.* 2014) y ecotipo I'ttimo recuäsä (Blanco 2015), entre otras.

Con relación a la condición anfiestomática, Proença & Sajo (2007) señalaron que los estomas en ambas caras de la hoja favorecen la conductancia de CO₂ en el mesofilo pero que es una característica más frecuente para plantas epífitas del género *Tillandsia* que viven en ambientes extremos, que para especies del género *Ananas*, ambos de la familia Bromeliaceae.

La hipodermis de tipo mecánica presente en las hojas de piñas Amarilla y Yärä känä puede formar, junto con la epidermis engrosada, un complejo mecánico que evitaría el colapso de las células por marchitamiento. Esta hipodermis, de acuerdo con Batagin *et al.* (2009), está igualmente implicada en la reducción del calor en el mesofilo, en especial en plantas con metabolismo CAM. En el presente análisis se encontró que la hipodermis (superior e inferior) ocupa 6,46% del mesofilo foliar de la piña Amarilla, y 4,0% en la piña Yärä känä, donde el grosor de la hipodermis inferior es 2 veces mayor que la de la piña Amarilla; la hipodermis superior de la piña Amarilla es 1,3 veces mayor que la de Yärä känä.

En los ecotipos estudiados el parénquima está formado por células redondeadas y alargadas, lo cual ha sido reportado para las subfamilias Bromelioideae y Pitcairnioideae (Derwidueé & González 2010). De acuer-

do a Batagin *et al.* (2009) y Quintana *et al.* (2012), este tejido es importante en la reserva de agua y aporta succulencia. Todas las hojas estudiadas presentaron aerénquima dispuesto en cámaras, cuya función está relacionada a mayor circulación de gases en el interior del mesofilo, lo cual puede ser evidente al observar la cercanía de este tejido a las cámaras subestomáticas. El aerénquima está formado por células estrelladas que dejan espacios aéreos entre ellas, le pueden conferir mayor flexibilidad y facilitar el intercambio gaseoso en las hojas (Aoyama & Sajo 2003; Proença & Sajo 2007; Derwidueé & González 2010).

Las fibras extravasculares de las hojas estudiadas tienen paredes lignificadas y se disponen en varias hileras a lo ancho de la hoja, restringidas a la región del clorénquima, lo cual es típico del género *Ananas* (Tomlinson 1969; Coppens d'Eeckenbrugge *et al.* 2011). En vista transversal, las hojas de piña de Yärä Känä mostraron entre 3 a 5 filas de fibras extravasculares, número mayor respecto a Amarilla que presentó entre 2 a 3 filas. De acuerdo con Tomlinson (1969), Barboza *et al.* (2006), Derwidueé & González (2010), estas estructuras tienen función de soporte mecánico y han sido reportadas para otros grupos de Bromeliaceae, pero su distribución en el mesofilo o grado de lignificación pueden variar, siendo un carácter útil para separar subfamilias e incluso géneros.

CONCLUSIONES

El estudio morfoanatómico foliar de los ecotipos del Amazonas venezolano Amarilla y Yärä Känä permitió identificar características propias de cada uno de ellos.

1.- Los caracteres morfológicos de las hojas aportan información importante para diferenciar los dos ecotipos: La presencia de aguijones en el borde de lámina foliar, la coloración verde claro en ambas superficies en plantas crecidas a $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ de intensidad lumínica solar, y la aparición de trazos de color rojo claro en la superficie adaxial de la hoja después de tres meses de exposición a $912 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ de intensidad lumínica solar caracterizaron a las hojas del ecotipo Amarilla. El borde liso, la coloración verde oscura en ambas superficies foliares en plantas

crecidas a $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ de intensidad lumínica solar, y el desarrollo de una coloración rojo intenso después de tres meses de exposición a $912 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{seg}$ de intensidad lumínica de luz solar, caracterizaron al ecotipo Yärä känä.

A pesar de la plasticidad fenotípica del carácter relacionado con la presencia de agujijones, el mismo es hereditario y constituye un factor importante en los estudios taxonómicos de piña. En este estudio es un carácter importante para diferenciar morfológicamente los dos ecotipos.

2.- En los dos ecotipos el carácter anfiestomático de las hojas constituye una condición nada común en el género *Ananas*. Se observaron diferencias en las características estructurales que permiten diferenciar los dos ecotipos: la lámina de la piña Amarilla es de mayor espesor que la de Yärä känä, el mesofilo de la primera fue $123 \mu\text{m}$ más grueso que el de la segunda. La hipodermis (superior e inferior) representa 6,46% del mesofilo foliar de la piña Amarilla, y 4,0% en la piña Yärä känä. El número de filas de fibras difiere en los dos ecotipos, la piña Yärä känä presenta de 3 a 5 filas de fibra, y la piña Amarilla de 2 a 3 filas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Fundación para el Desarrollo de las Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales (FUDECI), al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV), proyecto PSU-03-7617-2009/1y2, así como al FONACIT Proyecto PEII contrato 201201031, por las ayudas institucionales y financiamientos a esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Amaya, L. & F. Leal. 1986. Piñas silvestres en el Oriente de Venezuela. *Agron. Trop.* 36(1-3): 43-54.
- Aoyama, E. & M. Sajo. 2003. Estructura foliar de especies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Bot. Brasil.* 18(2): 319-331.
- Barboza, S., D. Graciano-Ribeiro, J. Teixeira, T. Portes & L. Souza. 2006. Anatomía foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesq. Agropecu. Brasil.* 41: 185-194.

- Batagin, K., C. Vieira, F. Ossamu & M. de Almeida. 2009. Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiros cv. IAC. "Gomo-de-mel" micropropagados e aclimatizados em diferentes condições de luminosidade. *Acta Bot. Brasil.* 23(1): 85-92.
- Benzing, D.H., K. Henderson, B. Kessel & J. Sulak. 1976. The absorptive capacities of bromeliad trichomes. *Amer. J. Bot.* 63: 1009-1014.
- Betancourt, D. 2006. Diversidad y producción de la piña en el municipio Atures del estado Amazonas. *INIA Divulga* 8: 33-36.
- Blanco, H. 2015. Regeneración *in vitro* de plantas de dos ecotipos amazónicos de *Ananas comosus* (L.) Merr., vía embriogénesis somática y organogénesis: Estudios morfo-histológicos. Análisis de estabilidad estructural y genética de las plantas obtenidas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Blanco, H., T. Vargas & E. de García. 2011. Micropropagación clonal de tres variedades de piña nativas de la región Amazónica mediante cultivo de yemas axilares y apicales. *Interciencia* 36(6): 437-443.
- Bonilla, L. 1991. Cultivo de piña. Boletín Técnico N° 11. Fundación de Desarrollo Agropecuario, INC. Santo Domingo, República Dominicana.
- Coppens d'Eeckenbrugge, G. & F. Leal. 2003. Morphology, anatomy and taxonomy. In: Bartholomew, D.P., R.E. Paull & K.G. Rohrbach (eds.). *The Pineapple: Botany, production and uses*, pp. 13-32. CABI Publishing. Wallingford, United Kingdom.
- Coppens d'Eeckenbrugge, G., G.M. Sanewski., M.K. Smith., M.F Duval & F. Leal. 2011. *Ananas*. In: Kole, C. (ed.). *Wild crop relatives: Genomic and breeding resources, Tropical and Subtropical Fruits*, pp. 21-41. Springer. Heidelberg, Germany.
- Derwidueè, F. & A. González. 2010. Anatomía foliar en Bromeliaceae del nordeste Argentino y Paraguay. *Bonplandia* 19(2): 153-173.

- Dos Santos, L., M. Cortizo & L. Da Silva. 2007. Anatomía foliar de *Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição (Bromeliaceae). *Revista Brasil. Biociênc.* 5(1): 825-827.
- Ebel, A.I., L.I. Giménez, A.M. González & P.A. Luaces. 2016. Evaluación morfoanatómica de hojas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) en respuesta a la implantación de dos sistemas de cultivo en Corrientes, Argentina. *Acta Agron.* 65(4): 1-24.
- FAO. 2014. La producción mundial de fruta tropical alcanzará 82 millones de toneladas en 2014: AGRO Noticias. <http://www.fao.org/agronoticias/agronoticias/detalle/es/c/159358/>
- Guiral, M. 1978. Biosíntesis de pigmentos antocianícos y clorofílicos en relación con la intensidad luminosa y la nutrición mineral. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Sección de Químicas. Universidad de Zaragoza. Zaragoza, España.
- Gutiérrez Mulas, M., D. Pérez, A. Romero & D. Rivas. 2008. Segundo Informe Nacional. Conservación y utilización sostenible para la agricultura y la Alimentación. In: Venezuela. El estado de los recursos fitogenéticos. Editorial Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Maracay. Estado Aragua. Venezuela.
- Kanani, V., K. Reddy, D. Zhao & A. Mohamed. 2003. Effects of ultraviolet-B radiation on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), morphology and anatomy. *Ann. Bot.* 91: 817-826.
- Leal, F., M.G. Antoni. 1981. Descripción y clave de variedades de piña cultivadas en Venezuela. *Revista Fac. Agron.* (Maracay) *Alcance* 29: 51-79.
- Leal, F., G. Coppens d'Eeckenbrugge, L. Avilán & E. Medina. 2010. *La piña de América o Ananás*. Ediciones Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. UCV. Caracas, Venezuela.
- Pineda, A., T. Vargas, M. Escala & E. de García. 2012. Organogénesis *in vitro* en piña “Española Roja” y morfoanatomía foliar de las plantas obtenidas en el proceso. *Bioagro* 24(3): 175-186.

- Pineda, A., T. Vargas & E. de García. 2014. Regeneración de *Ananas comosus* (L.) Merr, ecotipo Tabë Känä, mediante organogénesis indirecta. *Bioagro* 26(3): 135-142.
- Proença, S. & M. Sajo. 2007. Anatomía foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Bot. Brasil.* 21(3): 657-673.
- Quintana, C., M. Sanabria, M. Ojeda & R. Valera. 2012. Efecto de la salinidad sobre la anatomía foliar y radical de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) *Pittieria* 36: 87-108.
- Rebolledo-Martínez, A., L. Ruiz-Posadas, A. Becerril-Román, R. Mosqueda-Vázquez, A. Castillo-Morales, L. Rebolledo-Martínez & D. Uriza-Ávila. 2002. Algunas características fisiológicas de tres cultivares de piña en dos sistemas de producción. *Revista Chapingo, Ser. Hort.* 8(2): 235-249.
- Roth, I. 1964. *Microtecnia Vegetal*. Ediciones de la Biblioteca. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Santa Cruz, S., D. Graciano-Ribeiro, J. Batista, T. Aquino & L. Copati. 2006. Anatomía foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesq. Agropecu. Brasil.* 41(2): 185-194.
- Santiago, M. 1999. Diferentes variedades de piña (*Ananas comosus*) cultivadas por las etnias Piaroa y Curripaco en los alrededores de Puerto Ayacucho y la Cuenca del Sipapo, estado Amazonas Venezuela. *Memorias del Instituto de Biología Experimental* 2: 89-92.
- Tomlinson, P.B. 1969. Comelinales-Zingiberales. In: Metcalfe, C.R. (ed.). *Anatomy of the monocotyledons* Vol. III, pp. 193-294. Oxford University Press. London, United Kingdom.