

## **Adaptaciones morfológicas foliares en tomate cultivado en bioespacio de techo retráctil con clima cálido\***

### **Morphological foliar leaf adaptations in tomato grown in retractable-roof bio-space in warm weather\***

**Jorge Berni Medina Medina<sup>1</sup>, José de Jesús Luna Ruíz<sup>1§</sup>, Joaquín Sosa Ramírez<sup>1</sup>, Onésimo Moreno Rico<sup>2</sup> y Catarino Perales Segovia<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940. Ciudad Universitaria, Aguascalientes, México. C. P. 20131. Tel. 01 449 1393248. Ext. 8107 (jberni@bernilabs.com), (jsosar@correo.uaa.mx). <sup>2</sup>Centro de Ciencias Básicas. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Tel. 01 449 9107400. Ext. 8118. (omoreno@correo.uaa.mx). <sup>3</sup>Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes. Carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, km 18. Aguascalientes, México. Tel. 01 449 9161251 (cperaless@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: jjluna@correo.uaa.mx.

#### **Resumen**

Se analizaron las condiciones microclimáticas y la morfología foliar de tomate indeterminado de dos bioespacios: invernadero de techo retráctil y casa sombra en Culiacán, Sinaloa, México; durante el periodo 2009 a 2010. Los resultados muestran que el invernadero de techo retráctil, genera condiciones más favorables para la fotosíntesis, como resultado de una menor fluctuación térmica al interior de este bioespacio, en comparación con el ambiente impuesto por la casa sombra. Las temperaturas extremas (máximas y mínimas) al interior del invernadero de techo retráctil, se mantuvieron en un rango significativamente menor y por lo tanto, más favorable para la producción y la estabilidad reproductiva de tomate en el clima cálido de Culiacán, en comparación con casa sombra. Lo anterior fue corroborado por la magnitud de las variables morfológicas foliares analizadas y las diferencias detectadas entre folíolos desarrollados en ambos casos. Los valores de índice de área foliar, grosor de hoja, longitud del parénquima en empalizada y presencia de doble parénquima empalizada, observados en plantas desarrolladas en invernadero de techo retráctil, superaron significativamente a los valores observados en casa sombra. Los resultados permiten concluir que los mayores

#### **Abstract**

Microclimatic conditions and indeterminate tomato leaf morphology in two bio-spaces were analyzed: retractable-roof greenhouse and shade-house in Culiacan, Sinaloa, Mexico, during the period 2009 - 2010. The results show that, the retractable-roof greenhouse generates more favorable conditions for photosynthesis, as a result of lower thermal fluctuation within this bio-space, compared with the environment imposed by the shade-house. Extreme temperatures (maximum and minimum) into the retractable-roof greenhouse remained in a range significantly smaller and therefore more favorable for the production and reproductive stability of tomato in the warm weather of Culiacan, compared to shade-house's. This was corroborated by the magnitude of leaf morphological variables analyzed and the differences detected between leaflets developed in both cases. The values of leaf area index, leaf thickness, length of palisade parenchyma and presence of double palisade parenchyma observed in plants grown under retractable-roof were significantly different than the values observed in the shade-house. The results suggested that higher tomato yields recently reported retractable-roof greenhouse in warm climates are due in

\* Recibido: mayo de 2011

Aceptado: noviembre de 2011

rendimientos de tomate reportados recientemente para invernadero de techo retráctil en climas cálidos, se deben en gran parte a la mayor eficiencia fotosintética, que resulta de las modificaciones y adaptaciones morfológicas foliares al microclima impuesto por el invernadero de techo retráctil. Estos resultados apoyan la visión del manejo agronómico innovador, para la búsqueda por acondicionar los espacios para la expresión de la vida. El concepto científico de bioespacio para la producción vegetal bajo sistemas de agricultura protegida, es fundamental para proponer medidas de adaptación ante el cambio climático.

**Palabras clave:** *Solanum lycopersicum*, casa-sombra, invernadero-sustentable, SAS.

## Introducción

La producción sostenible de tomate en sistemas de agricultura protegida, requiere de tecnología y conocimientos apropiados para lograr la máxima productividad, calidad y aprovechamiento racional de los recursos disponibles en el agroecosistema. Los esfuerzos tecnológicos se han encaminado preponderantemente al mejoramiento genético de variedades para condiciones de invernadero, a optimizar técnicas de nutrición y fertirriego, al uso de agroquímicos “de avanzada” (más amigables con el ambiente), a la incorporación de buenas prácticas de producción y poscosecha tales como el manejo integrado del cultivo y de poscosecha. El concepto de bioespacio en agricultura protegida, se entiende como aquella estructura construida por el hombre, para favorecer el desarrollo de plantas cultivadas en condiciones ambientales semirreguladas de humedad relativa, radiación y temperatura (Bustamante *et al.*, 1999).

Bajo un enfoque sistémico, el bioespacio tiene como objetivo alinear la estructura foliar con otros sistemas celulares y variables ambientales, de tal manera que cada hoja funcione como una interface física para el flujo de energía solar y el óptimo funcionamiento del sistema fotosintético de la planta. En un bioespacio las células del parénquima en empalizada y las cámaras estomáticas operan eficientemente para capturar energía lumínica y CO<sub>2</sub>, y mediante la evapotranspiración se favorece la disipación de calor y el movimiento de nutrientes (Laborit, 1973; Nobel *et al.*, 1975; Boardman, 1977; Björkman, 1981; Anderson, 1986; Baker y McKiernan, 1988; Cui *et*

big part to the higher photosynthetic efficiency, resulting from the amendments and foliar morphological adaptations imposed by the retractable-roof greenhouse’s microclimate. These results support the vision of innovative agricultural management to put the search space for the expression of life. The scientific concept of bio-space for crop production under protected agriculture systems is essential to propose adaptation measures to climate change.

**Key words:** *Solanum lycopersicum*, shade-house, sustainable glasshouse, SAS.

## Introduction

Sustainable production of tomatoes in protected agriculture systems requires appropriate knowledge and technology for maximum productivity, quality and rational use of available resources in the agro-ecosystem. Technological efforts have been directed predominantly to the genetic improvement of varieties for greenhouse conditions to optimize nutrition and fertigation techniques, the use of agrochemicals “advanced” (more environmentally friendly), the incorporation of good manufacturing practices and postharvest such as integrated crop management and postharvest. The concept of bio-space in protected agriculture is understood as man-made structure to encourage the growth of plants grown under semi-controlled ambient conditions of relative humidity, radiation and temperature (Bustamante *et al.*, 1999).

Under a systemic approach, bio-space aims to align leaf structure with other cellular and environmental variables, so that each leaf will function as a physical interface for the flow of solar energy and the optimal functioning of the photosynthetic system of the plant. In a bio-space, the palisade parenchyma cells and stomata cameras operate efficiently to capture light energy and CO<sub>2</sub>, and evapotranspiration is favored by heat dissipation and movement of nutrients (Laborit, 1973; Nobel *et al.*, 1975; Boardman 1977; Björkman, 1981; Anderson, 1986; Baker and McKiernan, 1988; Norman *et al.*, 1996; Cui *et al.*, 1991). A good leaf system allows: 1) to capture photosynthetically active light (PAR); 2) to capture heat during the cold season; and 3) the elimination of excessive heat during the hot season (Hare *et al.*, 1984; Cui *et al.*, 1991; Critten and Bailey, 2002; Taiz and Zieger, 2002; Kumar *et al.*, 2009).

*al.*, 1991; Norman *et al.*, 1996). Un buen sistema foliar permite: 1) la captura de la luz fotosintéticamente activa (PAR); 2) la captura de calor durante la temporada fría; y 3) la eliminación de calor excesivo durante la estación caliente (Hare *et al.*, 1984; Cui *et al.*, 1991; Critten y Bailey, 2002; Taiz y Zieger, 2002; Kumar *et al.*, 2009).

Con la evolución tecnológica en la agricultura protegida, se ha logrado eludir gran parte de la variación climática y algunos eventos meteorológicos adversos como lluvias torrenciales, granizo, vientos, temperaturas extremas, etc. El uso de estructuras estáticas de soporte y protección, materiales plásticos de cubierta y sistemas de enfriamiento y calentamiento, forman parte de la gama de bioespacios para la producción vegetal (Arellano *et al.*, 2006; Pascale y Marcellis, 2009). En invernaderos para latitudes mayores a 37° de latitud Norte, se han alcanzado niveles de productividad sobresalientes. Por ejemplo en Almería, España bajo casa sombra la producción de tomate es de 18 a 20 kg m<sup>2</sup>, y en Holanda la producción bajo invernadero es de 58 a 60 kg m<sup>2</sup>.

El manejo tecnológico en estas regiones se ha enfocado a variables como luminosidad, flujo forzado de carbono y fertirrigación (Verhaegh y De Groot, 2000). Transferir y adaptar el conocimiento ecofisiológico puede beneficiar a los productores de otras regiones, quienes siempre están buscando cómo lograr la máxima producción y cómo penetrar las ventanas de oportunidad del mercado, para colocar su producción de manera rentable y competitiva (Baille, 2001; Cook y Calvin, 2005). A principios de los 90's se generaron diversos diseños de invernaderos con movilidad de techos y paredes, destacando el invernadero de techo retráctil (ITR).

El ITR surge de una búsqueda, para favorecer el desarrollo y producción de plantas cultivadas en condiciones semicontroladas de humedad relativa, radiación y temperatura. El ITR, considerado un modelo de producción de agricultura protegida, supero en rendimiento la producción de tomate en casa sombra (CS) e invernadero para climas templados y fríos (Schuch, 2003; Giacomelli y Suárez, 2004; Rogoyski, 2004; Vollebregt, 2004; Bartok, 2005; Mathers *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2010; Vollebregt, 2010). Las experiencias con tomate en el Valle de Culiacán, México; durante los ciclos agrícolas otoño-invierno 2007-2008 y otoño-invierno 2008-2009, indican que los rendimientos en ITR fluctúan entre 13.8 y 16.3 kg m<sup>2</sup> y de 6.4 a 7.9 kg m<sup>2</sup> en CS (Figura 1).

With technological developments in protected agriculture, it's been managed to avoid much of the climatic variation and some adverse weather events such as torrential rain, hail, winds, temperatures, etc. The use of static structures of support and protection, plastic housing and heating and cooling systems are part of the range for crop production bio-spaces (Arellano *et al.*, 2006; Pascale and Marcellis, 2009). In greenhouses for latitudes higher than 37 ° north latitude, outstanding levels of productivity have been achieved. For example, in Almería, Spain under shade-house, tomato production moved from 18 to 20 kg m<sup>2</sup>, and in the Netherlands under greenhouse production is from 58 to 60 kg m<sup>2</sup>.

Technology management in these regions has been focused on variables such as light, forced carbon flow and fertigation (Verhaegh and De Groot, 2000). Transfer and adapt eco-physiological knowledge can benefit producers in other regions who are always looking to achieve maximum production and to penetrate the windows of market opportunities to find more profitable and competitive manners (Baille, 2001; Cook and Calvin, 2005). In the early 90's different designs of greenhouses were generated with roof and wall mobility, highlighting the retractable roof greenhouse (ITR).

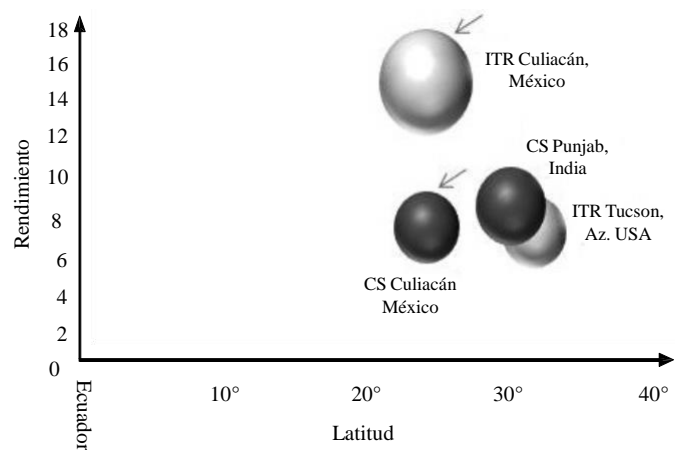
The ITR springs from a search, to encourage the development and production of plants grown under controlled conditions of relative humidity, radiation and temperature. The ITR is considered a production model of protected agriculture out-yielded tomato production in shade-house (SC) and greenhouse for temperate and cold climates (Schuch, 2003; Giacomelli and Suárez, 2004; Rogoyski, 2004; Vollebregt, 2004; Bartok, 2005; Mathers *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2010; Vollebregt, 2010). Experiences with tomatoes in the Valley of Culiacán, México, during the autumn-winter growing seasons 2007-2008 and fall-winter 2008-2009, indicated that ITR yields fluctuate between 13.8 and 16.3 m<sup>2</sup> and 6.4 kg to 7.9 kg m<sup>2</sup> SC (Figure 1).

Despite the advantages in performance and production observed with the ITR, the process of assimilation of this technological innovation has been slow in its different stages, mock-attack-acceptance (Kuhn, 1996). This is probably due to the lack of scientific basis to help to explaining the increases in yield detected in ITR. The higher yields observed with tomato ITR could be explained by changes in leaf morphology and anatomy, under the influence of microclimate imposed by the ITR mainly under the influence of temperature fluctuations relative to other bio-spaces and to the environment as well.

A pesar de las ventajas en rendimiento y producción observadas con el ITR, el proceso de asimilación de esta innovación tecnológica ha sido lento en sus diferentes etapas -burla-ataque-aceptación (Kuhn, 1996). Lo anterior posiblemente se debe a la falta de fundamentos científicos, que ayuden a explicar los incrementos en rendimiento detectados en ITR. Los mayores rendimientos observados con tomate en ITR, podrían ser explicados por modificaciones en la morfología y anatomía foliar, bajo la influencia del microclima impuesto por el ITR, principalmente por la influencia de menores oscilaciones térmicas con respecto a otros bioespacios y al ambiente exterior.

Las modificaciones morfológicas y anatómicas en tejido foliar en respuesta al ambiente tienen relación directa con eficiencia fotosintética y por lo tanto, con los procesos de crecimiento, desarrollo, reproducción y rendimiento. El ambiente operacional del ITR está centrado en el funcionamiento óptimo de la planta; el ITR opera mediante techos y paredes retractiles, que actúan como una máquina-herramienta que establecen ciclos microclimáticos de retroalimentación positiva y restrictiva (Salisbury y Ross, 1992; Connor y McDermott, 1998), mediante el cierre y apertura de techos y paredes durante lapsos cortos de tiempo, programables en minutos, de tal forma que es posible dispersar la luz, reducir las cargas térmicas, mejorar las condiciones de crecimiento y desarrollo, regular la condición y estructura del dosel, así como del conjunto de plantas bajo cultivo, que conduce a una mejor consistencia de hojas y frutos (Zhang *et al.*, 2010), y una mejora de vida de anaquel (Roberts, 2000; Mathers *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2010).

Por otra parte, el ambiente operacional del bioespacio CS; no obstante, que parece no restringir la fotosíntesis, se asocia a un elevado crecimiento vegetativo con una aparente restricción durante la etapa de formación de frutos y crecimiento de los mismos (Smith *et al.*, 1984; Bustamante *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2010). El carbono es el principal elemento constitutivo de la planta, representa 45% del peso seco (Salisbury y Ross, 1992), por lo que es esencial en plantas C4 mantener elevada la concentración y la disponibilidad de CO<sub>2</sub>, tanto en la cámara estomática como en el cloroplasto; de ahí que la adaptabilidad y plasticidad de las estructuras morfológicas foliares del mesófilo, involucradas en la penetración de la luz y en la asimilación del CO<sub>2</sub>, representan por su arreglo arquitectónico, formas y espacios críticos al interior de la hoja, para maximizar el proceso fotosintético en ambientes de agricultura protegida.



**Figura 1. Comparación promedio de rendimientos en kg m<sup>-2</sup> del cultivo de tomate por latitud, país y bioespacio** (Cheema *et al.*, 2004; Vollebregt, 2010).

**Figure 1. Comparison of average yields in kg m<sup>-2</sup> on tomato by latitude, country and bio-space** (Cheema *et al.*, 2004; Vollebregt, 2010).

The morphological and anatomical leaf tissues in response to the environment are directly related to the photosynthetic efficiency and, therefore the processes of growth, development, reproduction and yield. The operational environment of the ITR is focused on the optimal functioning of the plant, the ITR operates through retractable roofs and walls, which act as a machine tool which provide positive feedback cycles microclimatic and restrictive (Salisbury and Ross, 1992; Connor and McDermott, 1998), by closing and opening walls and ceilings for short periods of time, programmable in minutes, so that the light can be scattered, reducing thermal loads, improving growth and development, to regulate the condition and canopy structure and assembly plants under cultivation, which leads to improved consistency of leaves and fruits (Zhang *et al.*, 2010), and improved shelf-life as well (Roberts, 2000; Mathers *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2010).

Moreover, the operational environment of bio-space CS; however, appears not to restrict the photosynthesis, is associated with a high vegetative growth with a restriction apparent during the stage of formation of the fruits and their growth (Smith *et al.*, 1984; Bustamante *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2010). Carbon is the main constituent of the plant, representing 45% of dry weight (Salisbury and Ross, 1992), which is essential in C4 plants maintain high concentration and the availability of CO<sub>2</sub>, for both in the stomata as in the chloroplast, hence the adaptability and plasticity of foliar morphological structures of the mesophyll, involved in

En agricultura protegida la eficiencia en el manejo de los insumos para la planta, no solo se deriva del flujo coheso-transpiratorio del agua y nutrientes provenientes del suelo ó sustrato, sino que también de la eficiencia con que se secuestre y se fije el carbono del aire, a través del propio arreglo y disposición estructural de las células al interior de la cámara estomática (Spomer, 1973; Stanhill, 1979; Hart, 1982; Nobel, 1983; Strohmman, 1997; Philip, 2004; Terashima *et al.*, 2006). Evaluar los atributos del ITR y su impacto en el desarrollo y producción vegetal, contribuye a definir el contenido innovador de este modelo tecnológico ante la búsqueda de sistemas sustentables de agricultura protegida, altamente productivos y de bajo consumo energético en regiones cálidas (Hare *et al.*, 1984; Baille, 2001).

De ahí que los objetivos de este trabajo se centraron en: 1) determinar si los incrementos en rendimiento detectados a favor del ITR en el Valle de Culiacán, Sinaloa; pueden ser explicados por cambios favorables en el microclima al interior de cada bioespacio; y 2) determinar si las características morfológicas foliares: índice de área foliar (IAF), grosor de hoja (GH), longitud del parénquima empalizada (LPE) y doble parénquima empalizada (DPE) de plantas producidas bajo ITR, difieren favorablemente con respecto a CS. Las posible diferencias microclimáticas y en morfología foliar, podrían ayudar a explicar las diferencias en rendimiento de tomate reportadas recientemente a favor del ITR en el Valle de Culiacán.

## Materiales y métodos

**Variables microclimáticas.** Para el primer objetivo se identificaron y evaluaron las condiciones de microclima, específicamente temperatura máxima (Tmax) y temperatura mínima (Tmin) al interior del ITR y CS para el periodo 2009 a 2010. Los registros del interior de cada bioespacio, fueron comparados con los registros del exterior para el mismo periodo y las diferencias medias (Di) del ITR, fueron contrastadas con las de CS mediante pruebas basadas en t de Student para diferencias. Los datos diarios de Tmax y Tmin del interior de cada bioespacio, fueron registrados y almacenados por sensores automáticos, en tanto que los datos de Tmin y Tmax del exterior para el mismo periodo, fueron extraídos de la base de datos diarios de la estación meteorológica automática del INIFAP más cercana a cada bioespacio. Para el ITR los datos microclimáticos provienen de la estación localizada en el Campo Experimental

penetration of light and CO<sub>2</sub> assimilation, represented by its architectural arrangement, forms and critical spaces inside the leaf, to maximize the photosynthetic process in environments for protected agriculture.

In protected agriculture, the efficiency in the management of inputs for the plant, not only stems from the flow-stress-coheso transpiration of water and nutrients from the soil or substrate, but also the efficiency within which the seizure and fixing of carbon from the air, through the proper arrangement and structural arrangement of cells into the stomatal chamber (Spomer, 1973; Stanhill, 1979; Hart, 1982; Nobel, 1983; Strohmman, 1997; Philip, 2004; Terashima *et al.*, 2006). Evaluating the attributes of ITR and its impact on the development and production of the plant helps to define the content of this innovative technology model to the search for sustainable protected farming systems, highly productive and energy efficient in the warm regions (Hare *et al.*, 1984; Baille, 2001).

Hence, the objectives of this study were focused on: 1) to determine whether the increases in yield detected for the ITR in the Valley of Culiacán, Sinaloa, can be explained by favorable changes in the microclimate within each bio-space, and 2) to determine whether the leaf morphology: leaf area index (LAI), leaf thickness (GH), palisade parenchyma length (LPE) and double palisade parenchyma (DPE) of plants produced under ITR differ favorably with respect to CS. The possible differences in microclimate and leaf morphology may help to explain differences in tomato yield recently reported for ITR in the Culiacán Valley.

## Materials and methods

**Microclimatic variables.** For the first objective were identified and assessed microclimate conditions, specifically temperature (Tmax) and minimum temperature (Tmin) within the ITR and CS for the period 2009 to 2010. The records within each bio-space were compared with records from abroad for the same period and the mean differences (Di) of the ITR were contrasted with those of CS-based testing using Student's t test for differences. The data daily Tmax and Tmin bio-space within each were recorded and stored by automatic sensors, while data outside Tmin and Tmax for the same period were extracted from the database daily automatic weather station INIFAP closest to each bio-space. For the ITR microclimatic data come from the

Culiacán (24° 38' 02.44" latitud norte y 107° 26' 19.21" longitud oeste), y para CS los datos provienen del Campo La Primavera (24° 29' 54.82" latitud norte y 107° 27' 49.75" longitud oeste).

**Variabes morfológicas foliares.** Para el segundo objetivo se analizaron variables de morfología foliar, provenientes de muestras de plantas de tomate indeterminado variedad Moctezuma, cultivadas en ITR y CS, ambos con manejo convencional. Las determinaciones de morfología foliar se realizaron con microscopio óptico y electrónico de barrido (JMS-35<sup>®</sup>) en el laboratorio de Biología, Departamento de Biología, Centro de Ciencias Básicas de la UAA. Para ello se colectaron hojas completamente desarrolladas tanto en ITR como en CS a los 160 días de trasplante. Cada planta muestreada se dividió en tres secciones: superior, media e inferior. En cada sección los folíolos fueron desprendidos del tallo principal y colocados en bolsas de plástico, etiquetadas, empacadas y almacenadas en un cuarto frío.

**Índice de área foliar (IAF).** Se obtuvo por diferencia entre la superficie cubierta por los folíolos de cada sección, en una superficie conocida de papel milimétrico de 3 000 cm<sup>2</sup>. El área foliar por planta (AFP) fue obtenida sumando las áreas foliares de las tres secciones de cada planta. El área foliar por m<sup>2</sup> (AFM) se obtuvo multiplicando AFP por la cantidad de plantas en 1 m<sup>2</sup> de bioespacio (tres plantas). El IAF equivale al valor de AFM expresado en m<sup>2</sup>.

**Grosor de hoja (GH).** Esta variable se obtuvo de dos maneras: 1) mediante la preparación de cortes transversales de 10 hojas frescas de cada sección, preservadas en formol-alcohol-ácido acético (FAA), con montaje en parafina y corte con micrótopo tipo rotatorio; cada corte fue inspeccionado al microscopio y fotografiado a 20x; las mediciones de GH se realizaron con un software especializado para manejo y caracterización de tomas microscópicas; 2) mediante preparaciones derivadas de cortes transversales de 10 hojas frescas de cada sección preservadas en oro y observadas en dos campos con microscopía electrónica de barrido a 120x, 200x y 350x; las mediciones de GH en cada campo fueron registradas en micras desde el borde superior del corte de hoja (lamina) hasta el borde inferior (envés), ambos extremos delimitados por la cutícula.

**Longitud del parénquima en empalizada (LPE).** Se realizaron montajes en parafina a partir de muestras de tejido foliar de las tres secciones de la planta y estas fueron fijadas en FAA; de cada montaje se realizaron tres cortes

station located in the Experimental Field Culiacán (24° 38' 02.44" north latitude and 107° 26' 19.2" west longitude), and CS data from the Field La Primavera (24° 29' 54.82" North latitude and 107° 27' 49.75" West longitude).

**Leaf morphological variables.** For the second objective, the variables were analyzed: leaf morphology, plant samples from indeterminate tomato variety Moctezuma, grown in ITR and CS, both with conventional management. Measurements of leaf morphology were performed using optical microscopy and scanning electron (JMS-35<sup>®</sup>) in the Biology Laboratory, Department of Biology Center for Basic Sciences of the UAA. This fully developed leaves were collected in both CS and ITR at 160 days of transplantation. Each sampled plant was divided into three sections: upper, middle and bottom. In each section the leaflets were detached from the main stem and placed in plastic bags, labeled, packaged and stored in a cold room.

**Leaf area index (LAI).** Obtained by differences between the areas covered by the leaflets of each section in a known area of graph paper of 3000 cm<sup>2</sup>. The leaf area per plant (AFP) was obtained by summing the leaf areas of the three sections of each plant. The leaf area per m<sup>2</sup> (AFM) was obtained by multiplying the amount of AFP by plants in 1 m<sup>2</sup> of bio-space (three plants). The IAF is equivalent to the value expressed in m<sup>2</sup> AFM.

**Leaf thickness (GH).** This variable was obtained in two ways: 1) by preparing cross-sections of 10 fresh leaves of each section, preserved in formalin-alcohol-acetic acid (FAA), mounted in paraffin and cut with rotary microtome type, each cut was inspected under a microscope and photographed at 20x; GH measurements were performed using specialized software for management and microscopic characterization of shots, 2) using cross sections derived preparations of 10 fresh leaves of each section preserved in gold and observed in two fields scanning electron microscopy 120x, 200x and 350x; GH measurements were recorded in each field in micrometers from the upper edge of the cut leaf (layer) to the bottom edge (back), both ends defined by the cuticle.

**Length of palisade parenchyma (LPE).** Mounts were made from paraffin samples of leaf tissue of the three sections of the plant and these were fixed in FAA, each assembly there were three cross sections, and each ten samples were cut with microtome. The samples were processed in histoquinet T/P 8000 for 12 h, and then fix them in paraffin blocks. The

transversales, y de cada corte se obtuvieron diez muestras con microtomo. Las muestras se procesaron en histoquinet T/P 8 000 durante 12 h, para después fijarlas en bloques de parafina. Los cortes histológicos se realizaron en un micrótopo rotatorio LEICA RM2125RT a un grosor de 10 micras; los tejidos de cada corte con micrótopo se colorearon con la técnica de Hematoxilina y Eosina (HE) (Curtis, 1968) y se fotografiaron; la medición de LPE fue realizada con el software Image-Pro Plus a 20x. La LPE también fue estimada con un microscopio electrónico de barrido modelo JFOLJSM-35C (JEOL LTD, Tokio, Japón) en la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Para ello se prepararon cortes transversales de hoja procedentes de cada bioespacio y se observaron en una secuencia de resolución a 120x, 200x y 350x.

**Doble parénquima en empalizada (DPE).** Esta variable se obtuvo a partir de los cortes histológicos, realizados para estimar LPE en las tres secciones de las plantas muestreadas en ITR y CS (superior, media, inferior). Se registró la frecuencia de campos con DPE mediante observaciones al microscopio óptico a 20X. Los datos se organizaron por sección para determinar la frecuencia de muestras con DPE en cada sección de la planta. Los cortes histológicos que mostraron al menos tres campos con DPE, fueron considerados positivos para esta variable.

**Análisis estadístico.** Los datos de variables microclimáticas y de morfología foliar procedentes del ITR y CS, fueron organizados en diferentes bases de datos y analizados con el programa STATISTICA Ver. 8.0 (Stat Soft Inc. 1984-2007).

## Resultados y discusión

### VARIABLES MICROCLIMÁTICAS

Los resultados del análisis microclimático se muestran en los cuadros 1 y 2. El análisis de temperaturas extremas indica que las condiciones al interior del ITR, fueron más estables que en CS a pesar que la condición de temperaturas externas del ITR fueron más extremas que en CS.

**Temperatura máxima (T<sub>max</sub>).** Los resultados para T<sub>max</sub> se presentan en el Cuadro 1, el cual muestra los valores medios de T<sub>max</sub> registrados al interior y exterior del ITR y CS. También se presentan las diferencias medias observadas para T<sub>max</sub> al interior y exterior de cada bioespacio y la

histological sections were performed on a rotary microtome LEICARM2125RT to a thickness of 10 microns; the tissues of each cut with microtome were stained with hematoxylin and eosin technique (HE) (Curtis, 1968) and photographed, the measurement of LPE was performed with the software Image-Pro Plus to 20x. The LPE was also estimated with a scanning electron microscope model JSM-35C JFOL (JEOL LTD, Tokyo, Japan) at the Universidad Autónoma de Aguascalientes. For this cross sections were prepared from each bio-space leaf and observed in a sequence of resolution to 120x, 200x and 350x.

**Double palisade parenchyma (DPE).** This variable was obtained from histological sections, performed to estimate LPE in the three sections of the plants sampled in ITR and CS (upper, middle, bottom). We recorded the frequency of fields with DPE by optical microscope observations 20X. Data were organized by section to determine the sampling frequency with DPE in each section of the plant. The histological sections showed at least three fields with DPE, were considered positive for this variable.

**Statistical analysis.** Microclimatic data variables and leaf morphology from the ITR and CS were organized into different databases and analyzed using the STATISTICA Ver 8.0 (Stat Soft Inc. 1984-2007).

## Results and discussion

### Microclimatic variables

Microclimatic analysis results are shown in Tables 1 and 2. The analysis indicates that extreme temperature conditions within the ITR were more stable than CS despite the condition of external temperatures of the ITR were more extreme than in CS.

**Maximum temperature (T<sub>max</sub>).** The results for T<sub>max</sub> presented in Table 1 shows the mean values of T<sub>max</sub> recorded inside and outside the ITR and CS. It also presents the mean differences for T<sub>max</sub> observed inside and outside of each bio-space and the comparison to see if there is any significant difference between the two differences between the temperature inside the bio-space on the outside, not the same for ITR and CS. In this regard, the reduction of temperature in the ITR was 8.9 °C (47.6 °C to 38.7 °C) equivalent to 18.6% with respect to the outside temperature.

comparación para saber si hay diferencia significativa entre ambas diferencias, entre la temperatura al interior del bioespacio con respecto al exterior, no es igual para ITR y CS. En este sentido, la reducción de temperatura en el ITR fue de 8.9 °C (47.6°C a 38.7 °C) equivalente a 18.6% con respecto a la temperatura exterior. La CS redujo la temperatura en 2.1 °C (de 40.3 °C a 38.2 °C), equivalente al 5.1% respecto a la temperatura exterior. Los cambios en temperatura impuestos por el ITR, son significativamente diferentes a los cambios impuestos por la CS al interior de cada bioespacio (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Temperaturas máximas externas e internas de cada bioespacio y sus diferencias para el período del estudio.**

**Table 1. External and internal maximum temperatures of each bio-space and its differences for the study period.**

| Bioespacio | n | Temperatura máxima (°C) |          |            |
|------------|---|-------------------------|----------|------------|
|            |   | Exterior                | Interior | Diferencia |
| ITR        | 3 | 47.6*                   | 38.7     | -8.9 a     |
| CS         | 3 | 40.3 ns                 | 38.2     | -2.1 b     |

\*= diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre temperaturas máximas dentro del mismo

**Temperatura mínima (Tmin).** Los valores de Tmin exterior e interior para ambos bioespacios y sus diferencias se presentan en el Cuadro 2. La interacción del sistema helioarquitectónico de cada bioespacio con el clima circundante, provoca diferencias de temperatura al interior de cada bioespacio en relación con la condición temperatura del exterior (Arellano *et al.*, 2006). Al interior del bioespacio ITR se incrementó de manera favorable 9.5 °C la Tmin a promediar 17.3 °C al interior, contra 7.8 °C del exterior, diferencia equivalente a 54.9%. Esta diferencia no ocurrió en el bioespacio CS donde la Tmin del interior (13.6°C), fue prácticamente igual que en el exterior (13.5 °C).

**Variabes morfológicas foliares**

Los resultados del análisis de la morfología foliar se muestran del Cuadros 3 al Cuadro 6; Figuras 2 y Figura 3. Para cada variable se presentan las diferencias observadas entre ITR y CS y la significancia estadística.

**Índice de área foliar (IAF).** En el Cuadro 3 se puede observar que a 158 días del trasplante, el IAF en el bioespacio ITR presenta diferencia significativa superior 61%, contra

The CS reduced temperature of 2.1 °C (40.3 °C to 38.2 °C), equivalent to 5.1% on the outside temperature. Changes in temperature imposed by the ITR are significantly different from the changes imposed by the CS within each bio-space (Table 1).

**Minimum temperature (Tmin).** Tmin values for both exterior and interior bio-spaces and their differences are presented in Table 2. The interaction of helium-architectural system of each bio-space with the surrounding climate causes temperature differences within each bio-space in relation to the outdoor temperature condition (Arellano *et al.*, 2006). Within the ITR bio-space favorably increased 9.5 ° the Tmin to average 17.3 °C inside, against 7.8 °C outside, equivalent to 54.9% difference. This difference did not occur in the CS where Tmin bio-space inside (13.6 °C) was virtually unchanged from abroad (13.5 °C).

**Cuadro 2. Temperatura mínima exterior e interior de bioespacios ITR y CS y su diferencia.**

**Table 2. Biospaces ITR and CS exterior and interior minimum temperature their difference.**

| Bioespacio | n | Temperatura mínima (°C) |          |            |
|------------|---|-------------------------|----------|------------|
|            |   | Exterior                | Interior | Diferencia |
| ITR        | 3 | 7.8                     | 17.3**   | 9.5 a      |
| CS         | 3 | 13.5                    | 13.6 ns  | 0.1 b      |

\*\*= diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre temperaturas mínimas al interior y exterior del mismo bioespacio. Valores con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Leaf morphological variables**

The leaf morphology analysis results are displayed from Table 3 to Table 6, Figure 2 and Figure 3. For each variable shows the differences observed between ITR and CS and statistical significance.

**Leaf area index (LAI).** The Table 3 shows that at 158 days of transplantation, IAF has in the RTI bio-space significant difference in 61% higher against the bio-space CS. Whereas this difference in the IAF is in a stage of their phenological cycle with lower elasticity of biological time, due to wearing and aging of the microenvironmental tissue conditions imposed by the bio-space in CS (Bradford and Trewavas, 1994; Hatstrup *et al.*, 2007).



el bioespacio CS. Considerando que esta diferencia en el IAF, se encuentra en una etapa de su ciclo fenológico con menor elasticidad de tiempo biológico, debido al desgaste y envejecimiento de tejidos impuestos por las condiciones microambientales del bioespacio en CS (Bradford y Trewavas, 1994; Hattrup *et al.*, 2007).

Generalmente es aceptado que la cantidad de sustancias orgánicas que una plantación produce, está en función de: 1) la superficie de la hoja; 2) la estructura y desarrollo fotosintético, entre lo que estructuralmente destaca la conformación del parénquima en empalizada; y 3) índice de área foliar (IAF), es decir del área de los limbos foliares sobre la unidad de superficie del suelo (Fogg, 1967; Gómez *et al.*, 1999); esto resulta particularmente importante en el cultivo de tomate, en variedades de crecimiento indeterminado y especialmente en agricultura bajo cubierta, ya que el manejo agronómico de las diferentes etapas de crecimiento, desarrollo y fructificación, se manipula en base a una serie de podas sistemáticas que se realizan, conforme el crecimiento del tallo y la estructura foliar que en su conjunto avanza y se va soportando sobre líneas cargadoras de la biomasa de la planta en su conjunto: tallo, foliolos y frutos en diferentes etapas.

El IAF en el bioespacio CS mostró valores inferiores respecto del ITR, debido probablemente a las bajas intensidades luminosas características de este bioespacio, y en parte también porque las hojas inferiores entran en senescencia más rápido e inactivan en consecuencia, su capacidad fotosintética (Cayón, 1992).

**Grosor de hoja (GH).** En las hojas del bioespacio ITR, las mediciones realizadas mostraron 28% de mayor grosor comparativamente contra el bioespacio CS. El comportamiento registrado en esta variable resultó de gran importancia para explicar las diferencias en producción de los dos bioespacios estudiados, ya que las hojas del tercio superior del bioespacio ITR fueron 77.7% más gruesas que las hojas del mismo tercio en el bioespacio CS). Esta diferencia significativa de GH en el tercio superior de las plantas de tomate del bioespacio ITR (Cuadro 4), concuerda con los estudios realizados en espinaca por Cui *et al.* (1991) y por Taiz y Zeiger (2002), donde se confirma que el grosor y arreglo de la estructura interna de la hoja, crean una condición que optimiza el aprovechamiento de: 1) la radiación fotosintéticamente activa (PAR); y 2) de la difusión de CO<sub>2</sub> al interior de la hoja a través de cámaras estomáticas mejor conformadas (Salisbury y Ross, 1992).

### Cuadro 3. Comparación del índice de área foliar (IAF) en dos bioespacios ITR y CS.

**Table 3. Comparison of leaf area index (LAI) in two bio-spaces ITR and CS.**

| Bioespacio | n | Media    |
|------------|---|----------|
| ITR        | 6 | 1.2565 a |
| CS         | 6 | 0.7801 b |

Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

It is generally accepted that, the amount of organic substances which produce a plantation is a function of: 1) the leaf surface; 2) the photosynthetic structure and development, among which highlights the formation of structurally palisade parenchyma; and 3) leaf area index (LAI), i.e. the area of leaf laminae on the drive surface (Fogg, 1967; Gómez *et al.*, 1999), this is particularly important in growing tomatoes, growing varieties indeterminate and especially in agriculture under cover, because the agronomic management of the different growing stages, development and fruiting, manipulated based on a series of systematic pruning is done as the growth of the stem and leaf structure in its set progresses and goes on line loaders supporting biomass of the plant as a whole: stem, leaflets and fruits at different stages.

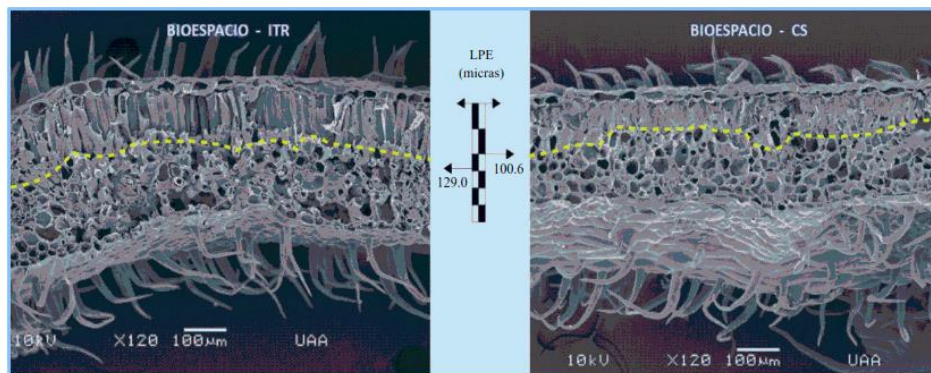
The IAF in the bio-space CS showed lower values with respect to the ITR, probably due to low light intensities bio-space features of this, and partly because the lower leaves senesce faster and therefore inactivate, photosynthetic capacity (Cayón, 1992).

**Leaf thickness (GH).** In ITR bio-space leaves, measurements showed 28% thicker bio-space comparatively against CS. The behavior recorded in this variable was of great importance in explaining the differences in production of the two bio-spaces studied, since the leaves of the upper RTIs were 77.7% bio-space thicker than the leaves of the same third in bio-space CS). This significant difference of GH in the upper third of the tomato plants bio-space ITR (Table 4), consistent with studies in spinach by Cui *et al.* (1991) and by Taiz and Zeiger (2002), which confirms that, the thickness and arrangement of the internal structure of the leaf, creates a condition that optimizes the use of: 1) photosynthetically active radiation (PAR); and 2) the diffusion of CO<sub>2</sub> into the leaf through the better formed stomata chamber (Salisbury and Ross, 1992).

Lo anterior es una respuesta estructural adaptativa ante una mayor exposición a la radiación solar directa y que, como lo indica Müller *et al.* (2001), al ser la luz el parámetro ambiental desde el que las plantas han evolucionado en numerosos caminos bioquímicos y en respuestas morfológicas adaptativas a las intensidades y calidades lumínicas, se optimiza el proceso fotosintético y se incrementa el rendimiento.

#### Longitud de parénquima en empalizada (LPE).

Las estructuras de parénquima en empalizada, que se desarrollaron tanto en el bioespacio ITR, como en CS, corresponden con diferentes adaptaciones morfológicas, en los ambientes: regulado flexible de sol y sombra (ITR) y de sombra persistente (CS) descritas anteriormente, las cuales en el bioespacio ITR muestran una longitud promedio del parénquima en empalizada de 129 micras, considerando los tres tercios del follaje evaluados, la cual es ligeramente superior a la región de máximo aprovechamiento de la luz ubicada entre las 100 a 120 micras, para este grupo de células especializadas del parénquima en empalizada. El promedio de LPE del bioespacio de CS fue de 100.3 micras para los tres tercios del follaje evaluados (Figura 2 y Cuadro 5).



**Figura 2. Comparación de la longitud promedio del parénquima en empalizada (LPE) de tomate cultivado en bioespacios ITR y CS. Micrografía a 120x.**

**Figure 2. Comparison of average palisade parenchyma length (LPE) on tomato grown in bio-spaces, ITR and CS. Micrograph at 120x.**

Los resultados del análisis morfológico confirman que las células del parénquima en empalizada del tomate corresponden a plantas C3. Las células del parénquima se organizan perpendicularmente al ángulo de incidencia de la luz. La mayor elongación y alta concentración de cloroplastos en este tejido son cruciales para la fotosíntesis; plantas y hojas con estas características pueden alcanzar hasta 90% de eficiencia fotosintética, si la radiación es captada por cloroplastos funcionales

#### Cuadro 4. Comparación de grosor de hoja en dos bioespacios ITR y CS para tres secciones de la planta (µm). Table 4. Comparison of leaf thickness in two bio-spaces, ITR and CS for three plant sections (µm).

| Bioespacio | n  | Sección  |        |          |
|------------|----|----------|--------|----------|
|            |    | Superior | Media  | Inferior |
| ITR        | 20 | 1102 a   | 1034 a | 894 a    |
| CS         | 20 | 620 b    | 1026 a | 848 a    |

Medias con igual letra dentro de la misma sección no son significativamente diferente ( $p < 0.05$ ).

This is an adaptive structural response to increased exposure to sunlight and, as indicated by Müller *et al.* (2001), when an ambient light parameter from which the plants have evolved in many biochemical pathways and the morphological adaptive responses to the luminous intensity and quality, optimizing the photosynthetic process and increases its yield.

**Length of palisade parenchyma (LPE).** The structures of palisade parenchyma, developed both bio-space ITR, as in CS, correspond to different morphological adaptations in

environments: regulated flexible sun (ITR) and persistent shade (CS) described above, the which in the ITR bio-space show an average length of the palisade parenchyma of 129 microns, whereas the three thirds of the foliage tested which is slightly above the region of maximum use of light located between 100 to 120 microns, for this group specialized cells of the palisade parenchyma. The average bio-space LPE of CS was 100.3 microns for the three thirds of the foliage evaluated (Figure 2 and Table 5).

localizados a unos 100-120 micras de la cutícula foliar (Nobel *et al.*, 1975; Boardman, 1977; Björkman, 1981; Anderson, 1986; Baker y McKiernan, 1988 citados por Cui *et al.*, 1991).

Las condiciones de sol y sombra impuestas por el ITR y de sombra persistente en CS, conducen al desarrollo de diferentes adaptaciones morfológicas foliares, y en consecuencia a diferentes LPE (Cui *et al.*, 1991; Stern, 1994; Taiz y Zeiger, 2002). Asimismo, las plantas expuestas a la luz directa, desarrollan hojas más gruesas y con superficies foliares mayores al interior del mesófilo esponjoso (Figura 2). Estas adaptaciones morfológicas foliares mejoran substancialmente la conductancia estomatal e intercambio gaseoso ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$  y vapor de agua) durante los procesos de fotosíntesis, transpiración y respiración.

Lo anterior conlleva un incremento en la tasa de fijación de carbono, sobre todo cuando se considera que esta superficie interna de exposición al intercambio gaseoso es de 10 a 40 veces mayor que la superficie externa de la hoja (Nobel, 1983), lo cual afecta positivamente la captura de  $\text{CO}_2$ , y por consecuencia directa la generación de fotoasimilados y acumulación de biomasa. Una alta frecuencia de hojas provenientes de CS también mostraron el típico “síndrome de hoja de papel” (shade avoidance syndrome, SAS) descritas por Whitlam *et al.* (2004); Hattrup *et al.* (2007). Las hojas con SAS provenientes de CS presentaron gran fragilidad estructural, durante su manipulación y preparación de muestras para microscopía. La fragilidad detectada durante el manejo de folíolos provenientes de CS, coincidió con los datos morfológicos y las microfotografías provenientes del análisis.

**Doble parénquima en empalizada (DPE).** Los resultados para esta variable se muestran en el Cuadro 6, Cuadro 7 y Figura 3. De los 84 campos microscópicos observados en hojas provenientes de ITR, 44 (53%) mostraron DPE. Esta característica no fue observada en CS, ya que ninguno de los 87 campos microscópicos observados en folíolos de éste bioespacio mostró DPE. La presencia de DPE en ITR apareció en todos los 25 campos observados de la sección superior de la planta y en 19 de los 30 campos de la sección media. Ninguno de los 29 campos inspeccionados de la sección inferior en ITR mostro DPE.

**Cuadro 5. Longitud del parénquima ( $\mu\text{m}$ ) en empalizada de hojas de tomate en dos bioespacios ITR y CS de tres secciones del follaje.**

**Table 5. Parenchyma length (microns) in tomato leaves palisade in two ITR and CS bio-spaces, three foliage sections.**

| Bioespacio | Sección  |         |          |
|------------|----------|---------|----------|
|            | Superior | Media   | Inferior |
| ITR        | 114.5 a  | 143.3 a | 129.5 a  |
| CS         | 81.1 b   | 107.1 b | 114.1 b  |

Medias con igual letra en la misma columna no son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

The results on morphological analysis confirmed the palisade parenchyma cells of tomato plants are C3. Parenchymal cells are arranged perpendicularly to the angle of incidence of light. The greatest elongation and high concentration of chloroplasts in this tissue are crucial for photosynthesis, plants and leaves of this type may be up to 90% of photosynthetic efficiency, if radiation is detected by functional chloroplasts located about 100-120 microns of the cuticle leaf (Nobel *et al.*, 1975; Boardman 1977; Björkman, 1981; Anderson, 1986; Baker and McKiernan, 1988 cited by Cui *et al.*, 1991).

The sun conditions imposed by the ITR and persistent shadow CS, leading to the development of different leaf morphological adaptations, and consequently different LPE (Cui *et al.*, 1991; Stern, 1994; Taiz and Zeiger, 2002). Also, the plants exposed to a direct sunlight, the leaves developed thicker and larger on foliar surfaces inside the spongy mesophyll (Figure 2). These morphological adaptations substantially improve leaf stomatal conductance and gas exchange ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$  and water vapor) during the processes of photosynthesis, transpiration and respiration.

This entails an increase in the rate of carbon fixation, especially when considering that this inner surface of exposure to gas exchange is 10 to 40 times greater than the outer surface of the leaf (Nobel, 1983), which affects positively  $\text{CO}_2$  capture, and have direct consequence on the photo-assimilates generation and accumulation of biomass. A high frequency of leaves from CS also showed the typical “paper syndrome” (shade avoidance syndrome, SAS) described by Whitlam *et al.* (2004); Hattrup *et al.* (2007). Leaves with SAS from CS showed structural fragility, during handling and

### Cuadro 6. Muestras observadas totales y por sección de la planta para la variable DPE en dos bioespacios.

Table 6. Total observed and samples section of the plant for the variable in two bio-spaces DPE.

| Bioespacio | N <sub>Total</sub> | DPE <sub>Total</sub> | Observaciones/sección |       |          |
|------------|--------------------|----------------------|-----------------------|-------|----------|
|            |                    |                      | Superior              | Media | Inferior |
| ITR        | 84                 | 44                   | 25                    | 30    | 29       |
| CS         | 87                 | 0                    | 30                    | 28    | 29       |

### Cuadro 7. Frecuencia de muestras con DPE en tres secciones de la planta y dos bioespacios.

Table 7. DPE frequency samples in three sections of the plant and two bio-spaces.

| Bioespacio | N <sub>Total</sub> | DPE <sub>Total</sub> | DPE/sección |       |          |
|------------|--------------------|----------------------|-------------|-------|----------|
|            |                    |                      | Superior    | Media | Inferior |
| ITR        | 84                 | 44                   | 25          | 19    | 0        |
| CS         | 87                 | 0                    | 0           | 0     | 0        |

Estos resultados indican que las condiciones microclimáticas del ITR promueven el desarrollo de DPE en las hojas medias y superiores de la planta. La presencia de DPE es indicativa de mayores tasas y eficiencia fotosintética (Salisbury and Ross, 1992; Taiz and Zeiger, 2002).

## Conclusiones

Los resultados del presente estudio, permiten concluir que los mayores rendimientos de tomate reportados recientemente para ITR en climas cálidos, se deben en gran parte a la mayor eficiencia fotosintética, que resulta de las modificaciones y adaptaciones morfológicas foliares al microclima más favorable que impone el ITR. Estos resultados apoyan la visión del manejo agronómico innovador, para la búsqueda por acondicionar los espacios para la mejor expresión de la vida. El concepto científico de bioespacio para la producción vegetal bajo sistemas de agricultura protegida, es fundamental para proponer medidas de adaptación ante el cambio climático.

## Literatura citada

Anderson, J. M. 1986. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37:93-136.

sample preparation for microscopy. The fragility detected during handling of leaflets from CS coincided with morphological data and photomicrographs from the analysis.

**Double palisade parenchyma (DPE).** The results for this variable are shown in Table 6, Table 7 and Figure 3. Out of the 84 microscopic fields observed in leaves from ITR, 44 (53%) showed DPE. This feature was not observed in CS, as none of the 87 microscopic fields observed in this bio-space leaflets showed DPE. DPE in the presence of ITR appeared in all the 25 fields observed in the upper section of the plant and in 19 out of 30 fields of the midsection. None of the 29 fields inspected from the bottom section ITR showed DPE.

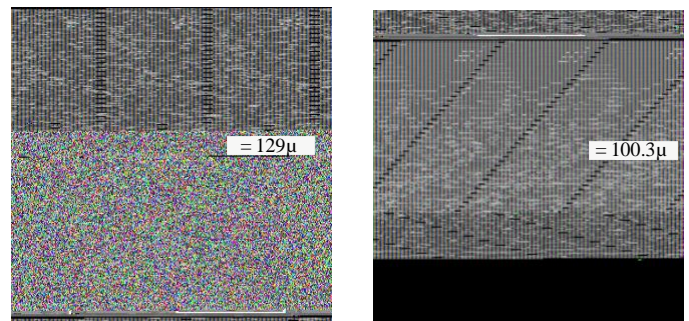


Figura 3. Corte típico de hoja de tomate en bioespacios ITR y CS observado al microscopio óptico (20x). A) LPE  $x=129\mu$  y presencia de doble parénquima en empalizada en bioespacio ITR, B) LPE  $x=100.3\mu$  y estructura característica del síndrome de hoja de papel en bioespacio CS.

Figure 3. Typical cut tomato leaf bio-spaces ITR and CS observed by optical microscopy (20x). A) LPE  $x=129\mu$  and presence of double palisade parenchyma in bio-space ITR, B) LPE  $x=100.3\mu$  and structure characteristic of the shade avoidance syndrome bio-space in CS.

These results from the study indicate that ITR microclimatic conditions promote the development of DPE in the middle and upper leaves of the plant. The presence of DPE is indicative of higher rates and photosynthetic efficiency (Salisbury and Ross, 1992; Taiz and Zeiger, 2002).

## Conclusions

Results of this study support the conclusion that higher tomato yields recently reported in warm ITR climates are due in big part to the higher photosynthetic efficiency, resulting from the amendments and foliar morphological

- Arellano, G. M.; Valera, M. D.; Urrestarazu, G. M.; García, G. S.; Sánchez, S. S. y Soria, R. J. 2006. Estudio microclimático en dos subtipos de invernaderos almería. *Agric. Téc. Méx.* 32(2):225-234.
- Baille, A. 2001. Trends in greenhouse technology for improved climate control in mild winter climates. *ISHS. Acta Hort.* 559:161-168.
- Baker, N. R. and Mckiernan, M. 1988. Modifications of the photosynthetic apparatus of higher plants in response to changes in the light environment. *Biol. J. Linnean Soc.* 34:203.
- Bartok, J. W. 2005. Retractable roof greenhouse and shadehouses. *USDA Forest Service Proceedings. U. S. Department of Agriculture.* 73-75 pp.
- Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. *Encyclopedia of plant physiology.* (Ed. Lange, O. L.; Nobel, P. S. and Ziegler, H.). New Series, Springer-Verlan, Berlin. 12:57-106.
- Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Plant Physiol.* 28:355-377.
- Bradford, K. J. and Trewavas, A. J. 1994. Sensitivity thresholds and variable time scales in plant hormone action. *Plant Physiol.* 105:1029-1036.
- Bustamante, O. J.; Gonzáles, H. V.; Livera, M. M. y Zavaleta, M. E. 1999. Cambios fisiológicos y microclimáticos inducidos en jitomate por una cubierta flotante. *Agrociencia.* 33:31-39.
- Cayón, G. 1992. Fotosíntesis y productividad de cultivos. *Revista Comalfi.* 19:23-31.
- Cheema, D. S.; Kaur, P. and Kaur S. 2004. Off-season cultivation of tomato under net house conditions. *ISHS. Acta Hort.* 659:177-181.
- Cook, R. and Calvin, L. 2005. Greenhouse tomatoes change the dynamics of the North American fresh tomato industry. *USDA United States Department of Agriculture. Economic Research Report Number 2.* 68 p.
- Connor, J. y McDermott, I. 1998. Introducción al pensamiento sistémico. Recursos esenciales para la creatividad y la resolución de problemas. Ediciones Urbano. Argentina. 302 p.
- Critten, D. L. and Bailey, B. J. 2002. A review of greenhouse engineering developments during the 1990's. Elsevier. *Agric. Forest Meteorol.* 112:1-22 pp.
- Cui, M.; Vogelmann, T. C. and Smith, W. K. 1991. Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. *Plant Cell Environ.* 14:493-500.
- adaptations more favorable microclimate imposed by the ITR. These results support the vision of innovative agricultural management to put the search spaces for the best expression of life. The scientific concept of bio-space for crop production under protected agriculture systems is essential to propose adaptation measures to climate change.

*End of the English version*



- Curtis, P. J. 1968. Manual de técnicas histológicas y citológicas. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, Estado de México. 94 p.
- Fogg, G. E. 1967. El crecimiento de las plantas. Editorial Universitaria de Buenos Aires. 327 p.
- Giacomelli, G. and Suárez, R. A. 2004. Environmental and plant growth experiences in a retractable roof greenhouse under semi-arid conditions. *ISHS International Symposium on Protected Culture in a Mild-Winter Climate. FL, USA.* 23-27 pp.
- Gómez, C. C.; Buitrago, M.; Cante y Huertas, B. 1999. Ecofisiología de la papa (*Solanum tuberosum*) utilizada para consumo fresco y para la industria. *Revista Comalfi.* 26:42-55.
- Hare, J. G.; Norton, B. and Probert, S. D. 1984. Design of greenhouses: thermal aspects. *Appl. Energy.* 18:49-82.
- Hart, D. R. 1982. Agroecosistemas, conceptos básicos. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 2-50 pp.
- Hattrup, E.; Neilson, A. K.; Breci, L. and Haynes, A. P. 2007. Proteomic analysis of shade-avoidance response in tomato leaf. *Agric. Food Chem.* 55:8310-8318.
- Kuhn, T. S. 1996. The structure of scientific revolutions. 3<sup>th</sup> edition. University of Chicago Press. USA. Kumar, K. S.; Tiwari, K. N. and Madan, K. J. 2009. Design and technology for greenhouse cooling in tropical and subtropical regions: a review. *Energy and Buildings.* 41:1269-1275.
- Laborit, H. 1973. Del sol al hombre. 4<sup>ta</sup> edición. Editorial Labor S. A. Barcelona. 154 p.
- Mathers, H.; Case, L. and Rivera, D. 2007. An ace up your sleeve. *American Nurseryman.* 36-46 pp.
- Müller, P.; Xiao, P. L. and Niyogi, K. K. 2001. Non-photochemical quenching a response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125:1558-1566.
- Nobel, P. S. 1983. Biophysical Plant Physiol. Ecol. Freeman, USA. 608 p.

- Nobel, P. S.; Zaragoza, L. J. and Smith, W. K. 1975. Relationship between mesophyll surface area, photosynthetic rate, and illumination level during development of leaves of *Plectranthus parviflorus*. Henekel. *Plant Physiol.* 55:1067-1070.
- Norman, W. D.; Worman, F. D.; Siebert, J. D. y Modiakgotla, E. 1996. El enfoque de sistemas agropecuarios para el desarrollo y la generación de tecnología apropiada. FAO. Núm. 10. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 51-94 pp.
- Pascale, S. D. and Marcellis, M. F. 2009. Crop management in greenhouses: adapting the growth conditions to the plant needs or adapting the plant to the growth conditions? *Acta Hortic.* 807:163-173.
- Philip, N. 2004. Física biológica, energía, información y vida. Reverte. México. 631 p.
- Roberts, J. W. 2000. Greenhouse technology - open roof design. Rutgers University, New Brunswick, ASP. USA.
- Roberts, J. W.; Mears, D. R.; Reiss, E. and Both, A. J. 2010. Open-roof greenhouse design and operation. bioresource engineering. Department of Plant Biology and Pathology, Rutgers University. 12 p.
- Rogoyski, M. 2004. Production of container-grown cliff rose plants in three environments using several irrigation methods. 5 p.
- Salisbury, B. F. and Ross, C. W. 1992. 4<sup>th</sup> edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California. *Plant Physiol.* 682 p.
- Schuch, U. K. 2003. Forcing containerized roses in a retractable roof greenhouse and outdoors in a semi-arid climate. Plant Sciences Department. University of Arizona, Tucson. 6 p.
- Smith, I. E.; Savage, M. J. and Mills, P. 1984. Shading effects on greenhouse tomatoes and cucumbers. *Int. Soc. Hortic. Sci.* 148:491-500.
- Spomer, G. G. 1973. The concepts of "interaction" and "operational environment" in environmental analyses. *Ecology.* 54(1):200-204.
- Stanhill, G. 1979. The energy cost of protected cropping: a comparison of six systems of tomato production. *J. Agric. Eng. Res.* 25:145-154.
- Stern, R. K. 1994. Introductory plant biology. 6<sup>th</sup> edition. WCB. USA. 94 p.
- Strohman, R. C. 1997. Epigenesis and complexity, the coming kuhnian revolution in biology. *Nature Biotechnology.* 15:194-200.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. *Plant Physiol.* 3<sup>th</sup> edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts. USA. 175 p.
- Terashima, I.; Hanba, T. Y.; Tazoe, Y.; Vyas, P. and Yano, S. 2006. Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO<sub>2</sub>. *J. Exp. Bot.* 57:343-354.
- Verhaegh, A. P. and de Groot, N. S. 2000. Chain production costs of fruits vegetables: a comparison between Spain and the Netherlands. *Acta Hortic.* 524:177-180.
- Vollebregt, R. 2010. Retractable roof greenhouse. 2010. Re-writing the guidelines for greenhouse design and crop management. Cravo Canada. 91 p.
- Vollebregt, R. 2004. The potential of retractable roof greenhouses to dominate greenhouse designs in the future. *ISHS. Acta Hortic.* 633:43-49.
- Whitelam, G. C. and Franklin, K. A. 2004. Light signals, phytochromes and crosstalk with other environmental cues. *J. Exp. Bot.* 55:271-276.
- Zhang, L.; Hao, X. M.; Li, Y. G. and Jiang, G. M. 2010. Response of greenhouse tomato to varied low pre-night temperatures at the same daily integrated temperature. *HortScience.* 45(11):1654-1661.