

# ESTUDIO MORFOLOGICO ANATOMICO Y ULTRAESTRUCTURAL DEL FRUTO DE CAFE *Coffea arabica* L.

Melba Ruth Salazar-G\*, Néstor Miguel Riaño-Herrera\*\*,  
Jaime Arcila-Pulgarín\*\*, César Augusto Ponce-D.\*\*\*

## RESUMEN

**SALAZAR G., M.R.; RIAÑO, H., N.M.; ARCILA P., J.; PONCED., C.A. Estudio morfológico, anatómico y ultraestructural del fruto de café *Coffea arabica* L. Cenicafé(Colombia) 45(3): 93-105. 1994.**

Se estudiaron los cambios morfológicos, anatómicos y ultraestructurales del fruto de *Coffea arabica* L. var. Colombia, que ocurren desde su formación hasta la maduración, en periodos de 15 días. Los frutos presentaron el pericarpio bien desarrollado, con tres tipos de tejidos característicos correspondientes al exocarpio, mesocarpio y endocarpio. El exocarpio está constituido por una sola capa de células parenquimáticas interrumpida en intervalos regulares por estomas protuberantes, diferentes a los observados en hojas. El mesocarpio presenta varias capas de células parenquimáticas cuyo tamaño y número varía con el desarrollo. En este tejido fueron identificadas células aisladas o paquetes de células con inclusiones oscuras correspondientes a la acumulación de taninos, más abundantes en los primeros estados de desarrollo. Al interior del mesocarpio y limitando con el endocarpio se observó hacia los 210 días un tejido de 2-3 capas de células con características similares al tejido de empalizada del mesófilo de hojas. El endocarpio está formado por 5-7 capas de células esclerenquimáticas que recubren la semilla. En los tejidos estudiados se observaron cloroplastos hasta los 195 días de desarrollo. El pericarpio encierra un ovario bilocular. Los lóculos son ocupados por la semilla, la cual presenta un endosperma abundante y aparece recubierta por residuos del tegumento o película plateada. El endosperma está formado por células de forma irregular con paredes celulares muy delgadas y en su interior se observaron gran cantidad de amiloplastos. El embrión está ubicado en la parte basal del fruto y de la semilla. La presencia de cloroplastos, estomas y clorofila en el fruto sugiere actividad fotosintética en este órgano.

**Palabras Claves:** *Coffea arabica* L., fruto, morfología, anatomía, ultraestructura, estomas, cloroplastos.

## ABSTRACT

Ultrastructural, anatomical and morphological changes of *Coffea arabica* L. var Colombia fruits were evaluated from flowering until ripening, at fortnightly intervals. In all stages of development the fruits presented a characteristic developed pericarp which consisted of three well differentiated tissues: exocarp, mesocarp and endocarp. The exocarp had a single layer of parenchymatic cells interrupted at regular intervals by protuberant stomata which differ from those of leaves. The mesocarp consisted of several layers of parenchymatous cells which varied in number and size with fruit age. This tissue also contained dispersed isolated cells packed with tannins and which were more frequent at early stages of development. At the innermost part of this tissue there was also a section of 2-3 cell layers resembling the palisade tissue of leaves and responsible for mucilage formation. The endocarp is the innermost part of the pericarp and consists of 5-7 layers of sclerenchymatous cells which cover the seed. Chloroplasts were observed in all these tissues until 195 days after flowering. The pericarp envelops one bilocular ovary. Each locule is occupied by a seed with an abundant endosperm and covered by tegument residues commonly named silver skin. The endosperm cells are of irregular shape, thin walled and present high number of amiloplasts. TEM observations of chloroplasts revealed well developed grana and abundant starch grains thus suggesting photosynthetic activity in coffee fruits.

**Keywords:** *Coffea arabica* L., fruit, morphology, anatomy, ultrastructure, stomata, chloroplasts.

\* Licenciada en Biología. Universidad del Cauca. Fisiología Vegetal. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia.

\*\* Asistente de Investigación e Investigador Principal I, respectivamente. Fisiología Vegetal. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia.

\*\*\* Coordinador Unidad de Microscopía Electrónica. Universidad del Cauca. Popayán.

En frutos de café se han realizado observaciones anatómicas, principalmente en sus estados iniciales de desarrollo, en el saco embrionario (11) o en frutos completamente desarrollados; en los cuales se describe en forma esquemática el tipo y la disposición de los tejidos del pericarpio y la semilla (4,9,15). Muy poco se conoce sobre la ontogenia de sus tejidos (4,10,12,15).

La semilla ha sido ampliamente estudiada especialmente en el aspecto histoquímico (3,5,9). Dentan (5), realizó estudios histológicos e histoquímicos en granos maduros de las especies *Coffea canephora* c.v. robusta y *Coffea arabica* c.v. catuai amarillo. No encontró diferencias en su estructura anatómica. Según este autor la mayor parte del endosperma del grano está formado por células parenquimáticas de almacenamiento las cuales acumulan materiales, tanto en el citoplasma como en las paredes. Estas paredes son gruesas, parcialmente lignificadas, no presentan espacios intercelulares, son cruzadas por muchos plasmodesmas y exhiben una estructura nudosa característica.

El citoplasma contiene principalmente lípidos, proteínas, carbohidratos, cantidades apreciables de cafeína, ácidos clorogénicos y sales minerales. Las células de la epidermis se observaron más elongadas que las células del centro del endosperma.

Arcila y Orozco (1), estudiaron los diferentes estados de crecimiento del embrión y cuantificaron sus dimensiones externas a partir del estado globular, en las especies *C. arabica* var. Caturra y *C. canephora* y el híbrido entre ellas.

El propósito de este trabajo fue conocer la evolución de los tejidos del fruto a través del tiempo, desde de su formación hasta la madurez, en condiciones ambientales de una zona óptima para la producción de café en Colombia.

El trabajo de campo se realizó en la Estación Central Naranjal de Cenicafe, ubicada en la Vertiente Occidental de la Cordillera Central, Departamento de Caldas, Municipio de Chinchiná, con Latitud 04° 58' Norte, Longitud 75° 42' oeste y altitud de 1.400 m.s.n.m.

Las características climáticas promedias anuales son las siguientes: precipitación 2612 mm, temperatura media 20,7 °C, temperatura máxima 26,8 °C, temperatura mínima 16,3 C, humedad relativa 78%, brillo solar 1820 horas, suelos Typic Distrandepts de origen volcánico y epipedom úmbrico (7).

Se utilizaron plantas de *Coffea arabica* L. var. Colombia, de 21 meses de edad. En el lote se escogieron al azar 80 árboles para realizar las observaciones.

El tiempo entre la floración y la maduración del fruto, es de aproximadamente 32 semanas (7). Con base en esta información, se registró la floración más importante en el mes de febrero de 1992, que fue el punto de partida del trabajo y se marcaron las ramas de los nudos 6 y 7 a partir de la base del tallo de cada una de las 80 plantas, 4 ramas por planta, para un total de 320 ramas. Luego, durante 32 semanas, se recolectaron frutos cada 15 días en las ramas de 5 árboles escogidos al azar entre los 80.

De la población de frutos recolectada en cada muestreo se tomaron 20 frutos completamente al azar, para llevar a cabo las observaciones histológicas y morfológicas al microscopio óptico de transluz y electrónico de transmisión.

**Procesamiento de muestras para observación en microscopía de luz.** Con el fin de estandarizar el procedimiento para la observación histológica del fruto de café a través del microscopio de luz, se realizaron inclusiones en parafina y en resina "Spurr".

**Procesamiento en Parafina.** De la muestra recolectada para las respectivas evaluaciones se tomaron 10 frutos en igualdad de condiciones en cuanto a su aspecto y tamaño. A cinco de ellos se les realizó un corte transversal y a otros cinco un corte longitudinal con el fin de fijar una mitad del fruto en formaldehído, ácido acético, alcohol (FAA 3:3:1), para iniciar de esta forma el procesamiento en parafina. La otra mitad se utilizó para el procesamiento en resina "Spurr".

Para el procesamiento en parafina se trabajó con base al protocolo establecido en Cenicafé para realizar los estudios histológicos del tallo del cafeto, al cual se le realizaron algunas modificaciones en el paso de la deshidratación, según la edad del fruto, como aparece en la Tabla 1.

Para las inclusiones se utilizó un procesador rotatorio de tejidos Tissue Tek II y un dispensador de parafina LKB. Luego de incluidos los frutos en la parafina, se realizaron cortes entre 8 y 10  $\mu\text{m}$  con un micrótopo manual rotatorio, los cuales se colocaron en láminas portaobjetos. Luego se les realizó tinción con safranina y se llevaron las placas al microscopio óptico de transluz para observar la disposición, cantidad y tamaño de células constitutivas de cada tejido existente en determinado estado de desarrollo del fruto.

Se estableció que el tratamiento adecuado para el procesamiento en parafina de los tejidos durante su desarrollo es el que se presenta en la Tabla 1 (14).

**Procesamiento de muestras en resina "Spurr".** Se partió del protocolo utilizado para el estudio de hojas de Yuca (13) que se resume en la tabla 2. La mitad del fruto se expuso en fijador Karnowsky al 1% (Paraformaldehído al 8%; Cacodilato Buffer 0.1 M; Glutaraldehído al 70%, en relación de volumen 12:33:2), con el fin de garantizar la preservación de la muestra

**TABLA 1. Protocolo para la preparación de muestras, que permiten inclusión en parafina de frutos *C. arabica* L. var. Colombia.**

Etapa	Tratamiento	Nº Veces	Tiempo Horas
Fijación	FAA	1	
Deshidratación	Alcohol 50%	1	2
	Alcohol 60%	1	2
	Alcohol 70%	1	2
	Alcohol 80%	1	2
	Alcohol 85%	1	2
	Alcohol 90%	1	2
	Alcohol 90%	1	2
	Alcohol 100%	1	2
	Xilol-Alcohol 1:1	1	2
Xilol	1	2	
Imbibición	Parafina	1	12
Inclusión	Parafina		

**TABLA 2. Protocolo para la preparación de muestras que permiten la inclusión en resina "Spurr" para fruto de café. *C. arabica* L. var. Colombia.**

Etapa	Tratamiento	Nº Cambios	Tiempo (Horas)
Fijación	Karnowsky	1	
Lavado	Cacod. buffer 0.1 M	1	
Postfijación	Tetraox. de Osmio 1%	2	
Lavado	Cacod. buffer 0.1 M	3	5 min
Deshidratación	Alcohol 25%	3	5 min
	Alcohol 50%	3	5 min
	Alcohol 75%	3	5 min
	Alcohol 75%	3	5 min
	Alcohol 95%	5	5 min
	Alcohol absoluto	3	10 min
	Acetona	1	15 min
	Acetona	1	30 min
Preinbibición	Resina + acetona	3:7	1
	Acetona + resina	7:3	1
Imbibición	Resina 100%		1
Inclusión	Resina 100%		
Polimerización			48

y se inició así la preparación del tejido de acuerdo con el protocolo de la Tabla 2, para la posterior observación a los microscopios óptico y electrónico de acuerdo.

Se hicieron cortes semifinos de 0,5 a 1 micrómetros de espesor al ultramicrotomo LKB con una cuchilla de vidrio, y luego fueron teñidos con el colorante azul de toluidina durante un minuto lo cual permitió un buen contraste, que indicó que los frutos respondían satisfactoriamente en las diferentes edades a esta metodología.

**Mediciones.** En los cortes realizados, tanto en parafina como en resina, se observaron cuidadosamente los diferentes tejidos del fruto buscando la presencia de cloroplastos y otros organelos, que pudieran estar asociados con la actividad fotosintética. Además se midió el diámetro de las células constitutivas de los diferentes tejidos, para lo cual se tomaron 5 placas por edad y en cada una se evaluaron 10 células.

**Microscopía electrónica.** Para la observación al microscopio electrónico de transmisión, se utilizó el material incluido en resina "Spurr" y procesado de acuerdo al protocolo de la Tabla 2. Se realizaron cortes ultra finos en el ultramicrotomo, con un espesor de 600-700 micrómetros y se observaron los cloroplastos presentes en los tejidos. Para esto se utilizó el Microscopio Electrónico de Transmisión (JEOL 1200 EX), de la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad del Cauca.

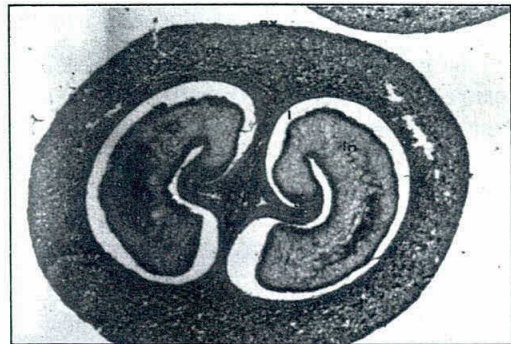
**Presencia de estomas.** Para determinar la presencia de estomas se tomaron 10 frutos al azar entre los 20 tomados inicialmente, se realizó una impresión con esmalte transparente de la superficie del exocarpio de frutos de diferentes edades. Con esta metodología se extrajo una película muy delgada la cual se montó en láminas portaobjeto, para ser observada al microscopio y por medio de un retículo de 1 mm<sup>2</sup> se obtuvo la densidad estomática. Se observa-

ron 10 campos por edad para cortar los estomas. También se hicieron impresiones de estomas de hojas del cuarto par, para comparar su estructura con la de los frutos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

**Observaciones anatómicas.** El fruto, desde joven, presenta en su estructura los siguientes tejidos: un pericarpio o corteza que encierra un ovario generalmente bilocular y en cada lóculo se encuentra un tegumento rodeando el saco embrionario. Al desarrollarse la semilla el tegumento queda reducido a una capa de células esclerenquimatosas transparentes, que recubren el endosperma y que se denomina "película plateada". En el saco embrionario se desarrollará la semilla de café formada en su mayor parte, por el endosperma y que posee un embrión muy pequeño en el extremo (figura 1).

**Pericarpio o corteza (pe).** Se encontró claramente diferenciado desde el comienzo de las observaciones. En él se distinguen tres partes: el exocarpio (**ex**), el mesocarpio (**m**) y el endocarpio (**en**). Se estudió la estructura de cada una de estas encontrándose las siguientes características:



**Figura 1.** Estructura de un fruto joven de café *Coffea arabica* L. var. Colombia: exocarpio (ex), mesocarpio (m), endocarpio (en), integumento (in), endosperma (e). 4XT. Fruto de 75 días.

**Exocarpio o epidermis (ex).** Es el tejido más externo y aparece formado por una capa continua de células parenquimatosas, compactas, isodiamétricas. Presenta regularmente pequeñas aperturas protuberantes correspondientes a estomas. Durante el transcurso de su ontogenia estas células presentan un tamaño constante (15µm, en promedio), su crecimiento se da por división celular, su pared externa es gruesa y las internas más delgadas; adosadas a éstas se encuentra un número variable de cloroplastos, figuras 2a y 2d.

**Mesocarpio (m).** Está formado por más de 20 capas de células, de tamaño variable, generalmente mayores (30-70µm) que las del exocarpio y de forma oval o redondeada, con paredes celulares gruesas. Las células que lo conforman contienen cloroplastos en mayor número que las del exocarpio, figura 2a.

A los 45 días en las células del mesocarpio se observó crecimiento más activo caracterizado por una alta división y expansión celular. A los 60 días las células siguen presentando divisiones radiales, figura 2c.

A los 90 días se observa una baja apreciable en la actividad mitótica la cual se suspende casi por completo, ya que no se observaron divisiones celulares en tejidos de frutos de mayor edad (105-240 días).

Entre 105 y 120 días las células continúan su crecimiento. Se observaron células individuales o en paquetes dispersos y llenas de una sustancia oscura, que al ser tratada con dicromato de potasio toma un color pardo, reacción específica de compuestos tánicos y por tanto se concluye que corresponde a la acumulación de taninos.

Estas células son más abundantes en edades tempranas del fruto, figura 2b y disminuyen notablemente con la maduración, figura 3a.

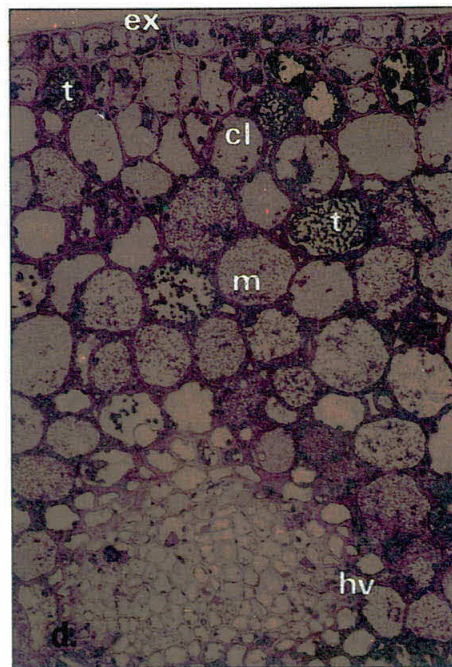
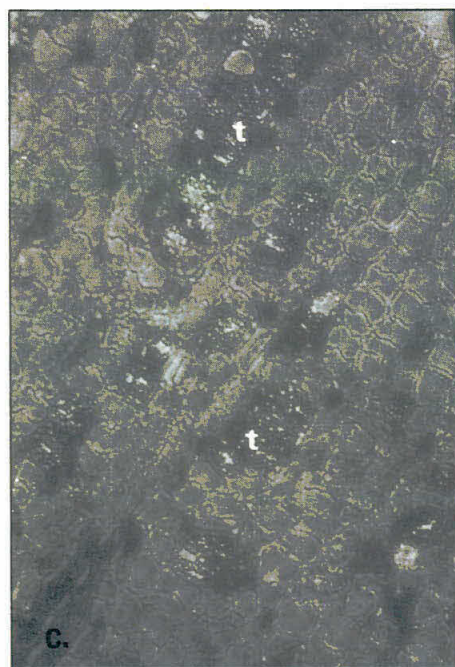
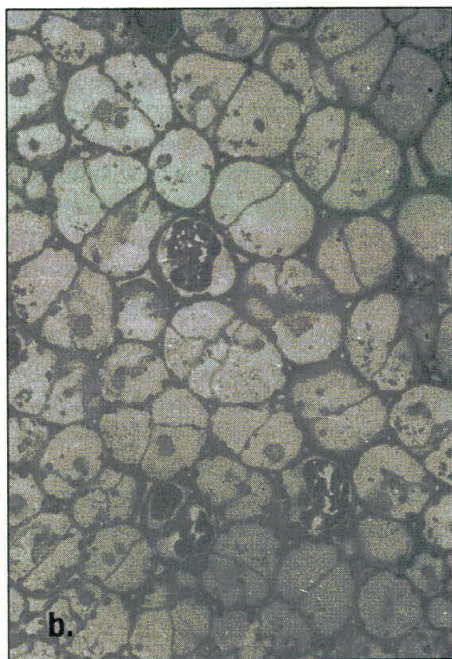
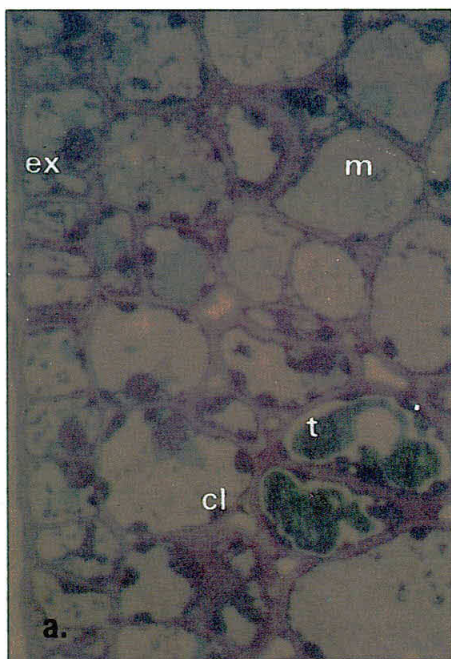
Dedecca (4), también registra la presencia de estas células y señala que los taninos asociados con agua, azúcares, gomas y mucílagos son los responsables de la succulencia del fruto en la madurez.

Se observó en el mesocarpio la presencia de haces vasculares inmersos y dispuestos circularmente, conformados por xilema al interior y floema al exterior, los cuales surten respectivamente de agua y compuestos fotosintetizados al fruto, figura 2d.

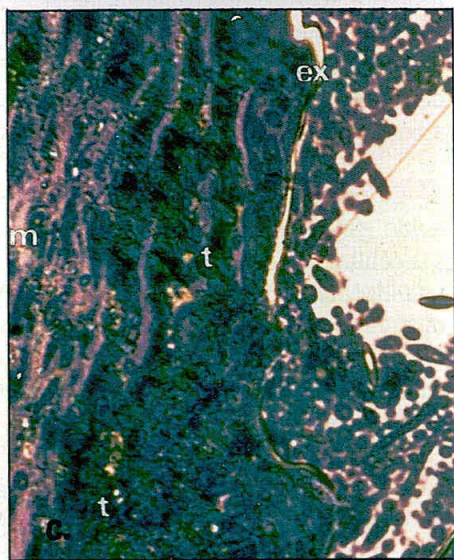
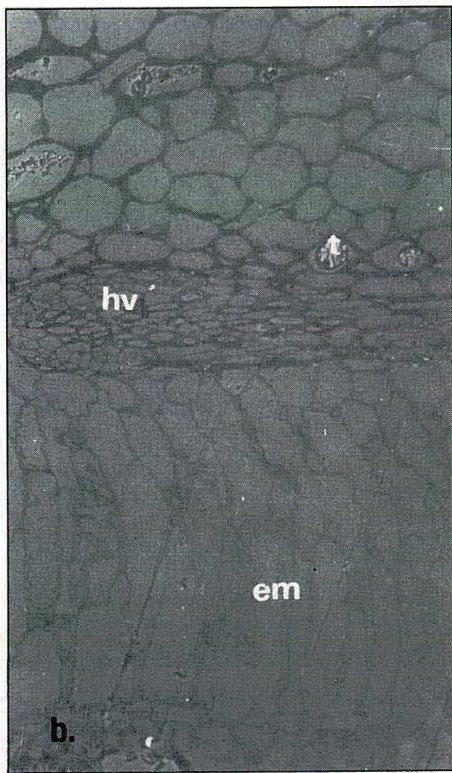
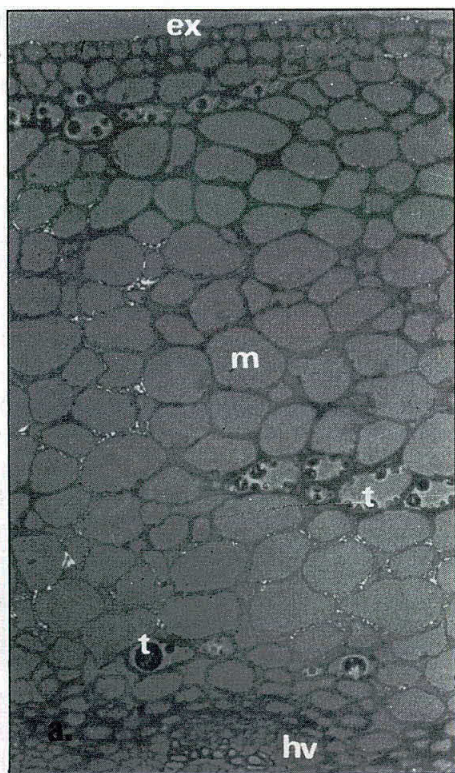
En el exocarpio y el mesocarpio se encontraron cloroplastos aproximadamente hasta los 180 - 195 días, los cuales se observaron en mayor cantidad en los primeros estados de desarrollo. A esta edad el diámetro promedio de las células del mesocarpio aumenta a 61 µm, Tabla 3. Las células son más redondeadas.

TABLA 3. Diámetro promedio de las células constitutivas de los diferentes tejidos en frutos de café, *C. arabica* L. var. Colombia.

Edad (días)	Diámetro celular (micrómetros, corte transversal)					
	Exocarpio		Mesocarpio		Endocarpio	
	$\bar{X}$	DS	$\bar{X}$	DS	$\bar{X}$	DS
15	15,00	0,00	31,75	0,23	16,00	0,08
30	15,00	0,00	31,75	0,23	15,00	0,24
45	15,25	0,05	32,5	0,24	14,00	0,08
60	15,25	0,05	45,0	0,27	8,00	0,04
75	15,00	0,00	46,0	0,10	7,75	0,03
90	15,00	0,00	48,5	0,19	7,75	0,03
105	15,25	0,05	49,5	0,07	--	--
120	15,00	0,00	55,0	0,02	--	--
135	15,00	0,00	57,0	0,26	--	--
150	15,00	0,00	58,5	0,26	--	--
165	15,00	0,00	59,0	0,24	--	--
180	15,00	0,00	60,5	0,26	--	--
195	15,25	0,05	61,5	0,3	--	--
210	15,00	0,00	62,5	0,28	--	--
225	15,00	0,00	69,0	0,25	--	--
240	15,00	0,00	69,5	0,16	--	--



**Figura 2.** Características del exocarpio y mesocarpio del fruto de café en diferentes estados de desarrollo. (a). Fruto de 15 días, 20X. exocarpio (ex), mesocarpio (m), taninos (t), cloroplastos (cl). (b). Fruto de 45 días 10X. Células con inclusiones de taninos (t). (c). Fruto de 60 días 20 X. Las flechas indican células del mesocarpio en división. (d). Células del exocarpio (ex), mesocarpio (m), haz vascular (hv), taninos (t), cloroplastos (cl). 10X.



**Figura 3.** Características del mesocarpio y endocarpio en estados avanzados de desarrollo del fruto (195-270 días). (a). Células con mayor contenido de taninos (t), exocarpio (ex), mesocarpio (m), haz vascular (hv) 10X. (b). Tejido de empalizada (em), haz vascular (hv), taninos (t) 10X. (c). Esclereidas del endocarpio 20X. (d). Células del exocarpio y mesocarpio en descomposición (270 días).

También se observó en la parte mas externa del mesocarpio y en el límite con el endocarpio, un tejido formado por 2-3 capas de células columnares, con aspecto parecido al tejido de empalizada del mesófilo de la hoja. Este se detectó en el fruto joven hasta los 60 días. Posteriormente sus células se comprimen por el desarrollo del endosperma y se hace visible nuevamente a los 210 días causando aparentemente el aumento en tamaño del fruto por hidratación. Este tejido ya había sido registrado en frutos maduros pero no en frutos jóvenes, por varios autores (4,12,15) quienes además afirman que este es el origen de la capa mucilaginosa que recubre la semilla recién cosechada.

A los 195 días se observó cambio de color del fruto, que pasó de verde intenso a amarillo verdoso, lo que indica el comienzo de la maduración. A esta edad el pericarpio presentó pocos cloroplastos figura 3a, y en el mesocarpio se notó una disminución en la cantidad de taninos.

A partir de este tiempo y hasta los 240 días, el pericarpio aumenta rápidamente de espesor, fenómeno que parece asociado al aumento de tamaño de las células de empalizada que rodean el endocarpio, figura 3b.

A los 270 días los frutos se encuentran en estado de sobremaduración y los tejidos del mesocarpio se presentan totalmente deteriorados. Se observan restos de tejido celular y una marcada contaminación con hongos y otros organismos, figura 3d, lo cual significa que si los frutos no se cosechan oportunamente pueden entrar en un proceso de deterioro con posibles pérdidas en la calidad y el peso.

**Endocarpio (en).** Formado por 3-7 capas de células esclerenquimatosas, de forma irregular, de menor tamaño (14-15µm promedio) que las del mesocarpio; presentan pocos cloroplastos. Este tejido constituirá más adelante, la cubierta de la semilla o pergamino. Estas células inician su endurecimiento alrededor de los 90 días,

donde se observa la formación de esclereidas de forma y dimensiones variables, figura 3c. La transformación de las células en esclereidas coincide según lo citado por León y Fournier (10) con el desarrollo del endosperma.

**Estructura de la semilla.** La semilla se forma en el lóculo ovárico, el cual está ocupado por el tegumento y el saco embrionario, figura 1.

Según Méndes (11), en la fecundación, uno de los núcleos espermáticos del grano de polen se fusiona con la ovocélula del saco embrionario para formar el cigoto o embrión, mientras que el otro lo hace con los dos núcleos polares, para formar un núcleo triploide, el cual se divide para dar origen al endospermo.

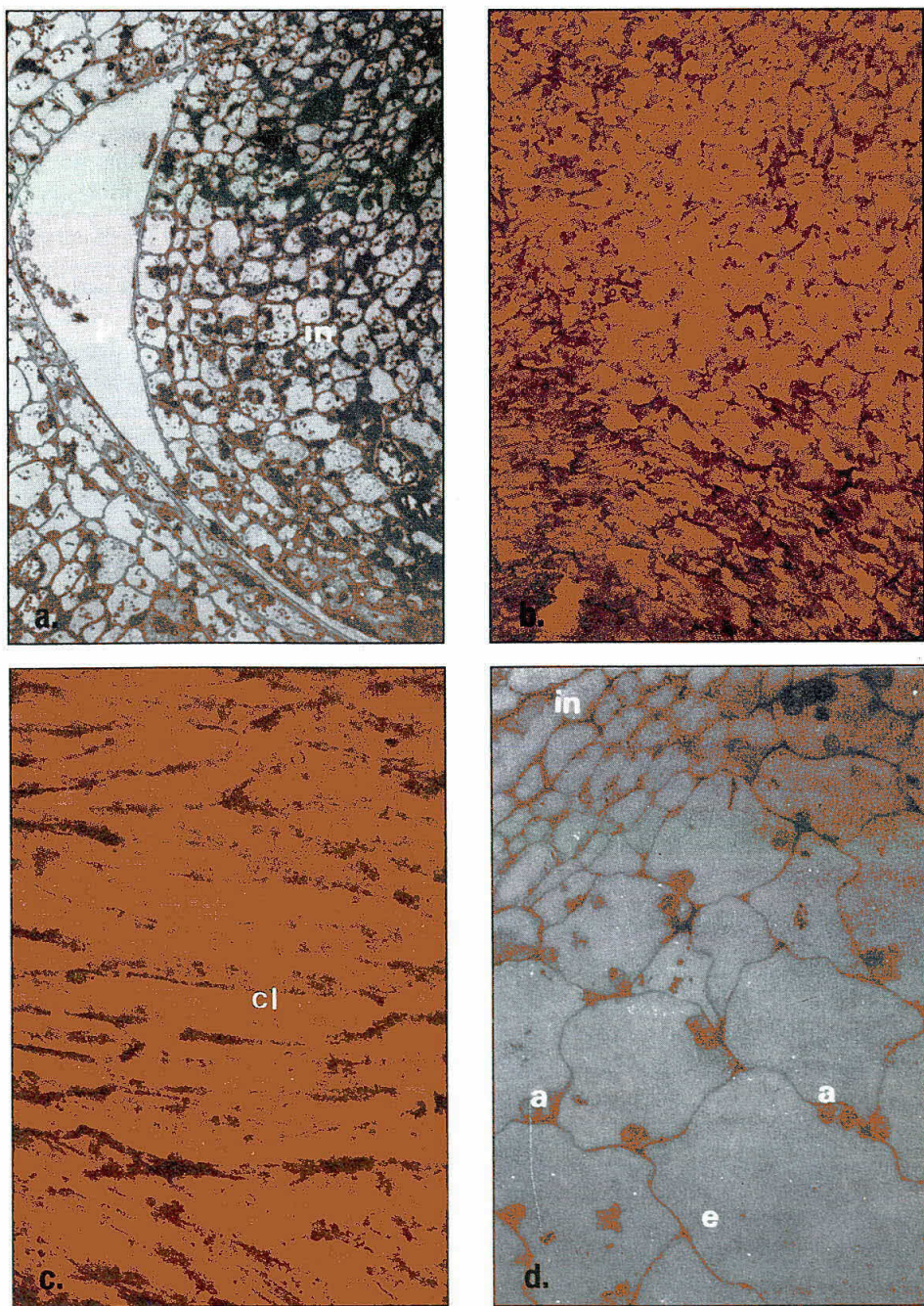
El desarrollo de los tejidos de la semilla transcurrió de la siguiente forma:

**Integumento.** En sus primeros estados de desarrollo, el saco embrionario donde se desarrollará la semilla, es de consistencia gelatinosa y está conformado por una nucela tenue, el cigoto y el tegumento. A partir del núcleo triploide, se desarrollará el endosperma y al terminar el desarrollo de éste, el tegumento queda reducido a una película delgada que recubre la semilla.

La figura 4a, muestra el integumento y el tejido endospermico en sus primeros estados; sus células de forma poliédrica ocupan casi la totalidad del lóculo y contiene cloroplastos. A medida que se desarrolla el endosperma, el integumento queda reducido a una delgada capa de células esclerenquimatosas conocida como la película plateada figura 4d.

En ensayos preliminares se confirmó la presencia de clorofila en el integumento, lo cual coincide con lo registrado por Wormer (16). Gibson (6) también registró presencia de clorofila en el integumento de los granos de café y concluye que los contenidos de clorofila en este tejido presentan una correlación





**Figura 4.** Características del integumento (in) y endosperma del fruto de café: (a). Vista parcial del lóbulo (l), en el cual se observa integumento (in) 10X. (b). Integumento (in) y endosperma (e), con amiloplastos (a) 20 X. (c). División celular del endospermo 10X. (d). Presencia de cloroplastos en el integumento 10 X.

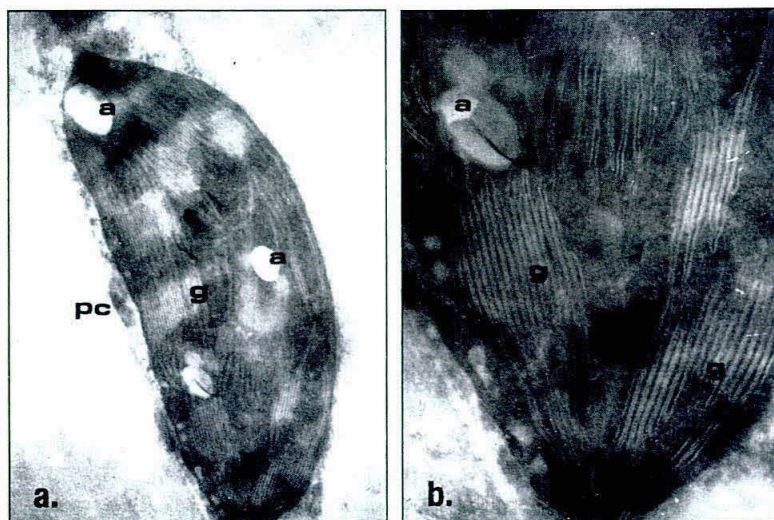
estrecha con la intensidad del color verde del grano de café. La presencia de clorofila en frutos verdes y semillas en desarrollo es una característica registrada para una amplia gama de especies, Blanke y Lenz (2).

**Endosperma.** Desde los 15 y hasta los 150 días el endosperma se desarrolla en el lóculo ovárico ocupando paulatinamente el espacio que llenaba el integumento. A los 30 días de edad se observa gran actividad en el crecimiento de las diferentes regiones del saco embrionario, caracterizado por la alta presencia de células en división, correspondiente al desarrollo del endosperma, figura 4c. Aproximadamente a los 75 días se observa que en el interior del endosperma hay granos de almidón y cloroplastos. A partir de los 120 días el endosperma ya ocupa todo el espacio que antes ocupaba el integumento y este queda limitado a la película que recubre el fruto en su madurez, confirmando lo observado por Wormer (16) quien registra que el integumento se suprime gradualmente por el crecimiento del endosperma, quedando reducido a una capa de esclereidas; este tejido es conocido como película plateada y está compuesto por fibras orientadas en varias direcciones, figura 4d.

A los 165 días el endospermo inicia su endurecimiento; esto pudo apreciarse claramente en la dificultad que presentaba el corte en el momento de la fijación; en esta edad se observaron paredes celulares delgadas y de ahí en adelante la semilla no presentó mayor alteración en su morfología, figura 4b.

**El embrión.** Se presenta en la parte basal del fruto y dentro del pliegue del endosperma; se hace visible entre los 90 y 105 días de desarrollo. Arcila y Orozco (1), en su estudio sobre el crecimiento del embrión en la especie *C. arabica* var. Caturra, *C. canephora* y el híbrido entre ellas hicieron una descripción detallada de sus partes y de su desarrollo, por lo cual no se hicieron observaciones adicionales en este estudio.

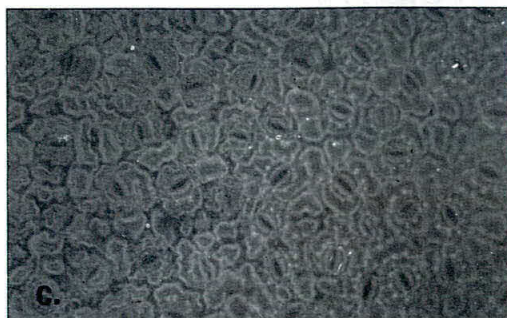
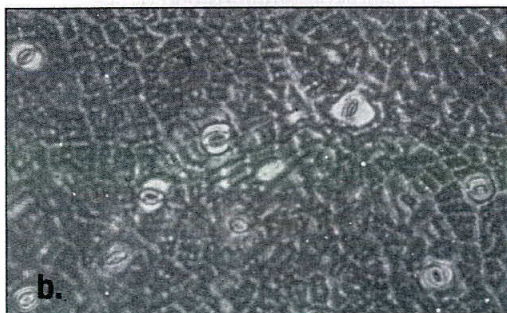
**Ultraestructura de Cloroplastos.** A escala ultraestructural se estudiaron los cloroplastos, figura 5a, los cuales presentan en su interior granas bien desarrolladas donde se disponen tilacoides paralelamente, figura 5b; además se observaron abundantes acumulaciones de almidón y algunas inclusiones lipídicas.



**Figura 5.** Ultraestructura de cloroplastos del mesocarpio en frutos de café en el cual se distinguen granas (g), almidón (a), pared celular (pc). Fruto de 45 días.

**Estomas.** En el exocarpio de los frutos de café se observaron estomas durante todo el período de desarrollo. Estos presentan diferencias con los estomas de las hojas.

En los frutos los estomas son protuberantes, sus células guardas son ovaladas y las células subsidiarias tienen forma de media luna y aspecto diferente a las del resto del tejido epidermal, Figura 6a.



**Figura 6.** Características de estomas de hojas y frutos de café. (a) estomas protuberantes de frutos de café de 60 días. (b) estomas en fruto maduro 240 días. (c) estomas en hoja madura (4° par)

En las hojas, los estomas están a nivel de la superficie del tejido epidermal, presentan células grandes redondeadas con engrosamientos en los extremos del poro y células subsidiarias con paredes cristadas.

Se calculó la densidad estomática por mm<sup>2</sup> (Tabla 4) y se observó que a medida que el fruto se desarrolla esta densidad disminuye.

Al parecer el número de estomas por unidad de superficie viene previamente establecido desde el inicio de la formación del fruto (2). La densidad estomática del fruto joven o maduro, figura 6a y 6b, comparada con la densidad estomática de una hoja del cuarto par (madura), figura 6c, es menor; la de hojas oscila alrededor de 240 estomas por mm<sup>2</sup>; en frutos jóvenes es de 137 estomas por mm<sup>2</sup> y en maduros alrededor de 44 estomas por mm<sup>2</sup>.

**Tabla 4.** Densidad estomática en frutos de café. *C. arabica* L. var. Colombia.

Edad	Estomas/mm <sup>2</sup>
15	-
30	-
45	114
60	136
75	152
90	168
105	152
120	96
135	76
150	80
165	88
180	84
195	80
210	56
225	40
240	44

La evaluación de las diferentes características morfológicas, anatómicas y ultraestructurales del fruto de café muestra varios aspectos de interés que a pesar de haber sido identificados algunos (taninos, estomas, tejido de empalizada) desde hace varios años y corroborados en este estudio, su papel a través del desarrollo del fruto no ha sido esclarecido.

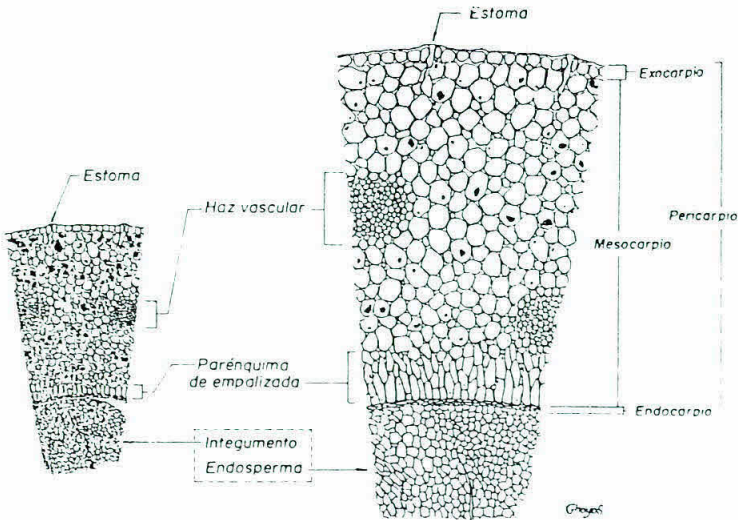
Un primer aspecto es la presencia de gran cantidad de compuestos de naturaleza tánica en el pericarpio y en el endosperma, desde los primeros estados de su desarrollo hasta el comienzo de la maduración, cuando desaparecen casi completamente. La naturaleza temporal de estos compuestos, indica que se trata de un grupo de taninos altamente hidrolizables (8). No se conoce si estos compuestos juegan un papel de defensa contra plagas del fruto o si tienen algún efecto en la calidad del grano, por ejemplo, la astringencia.

Un segundo aspecto es la presencia del tejido de empalizada, el cual de acuerdo a varios autores (4, 12, 15) es el origen de la capa

de mucílago que recubre la semilla pero que todavía está por demostrarse su verdadero papel en el desarrollo del fruto.

Otro aspecto destacable es la presencia de estomas en el exocarpio, de cloroplastos y clorofila en el exocarpio, mesocarpio e integumento y la observación ultraestructural de granos de almidón en los cloroplastos, lo que permite sugerir actividad fotosintética en este órgano. Aunque varios autores (4,6,10) han registrado éstas características o han sugerido alguna capacidad de asimilación en el fruto de café (3) hasta el momento no se ha cuantificado este último aspecto y se desconoce la contribución al peso seco de la planta entera, del fruto o del grano.

La alta cantidad de cloroplastos y por consiguiente clorofila en el residuo del integumento (película plateada) se ha correlacionado con la intensidad del color verde del grano (6); sin embargo debe explorarse su papel en otros aspectos de la calidad del grano.



**Figura 7.** Esquema de la estructura del fruto de café *Coffea arabica* L. var. Colombia. A los 15 y 240 días después de la floración.

## LITERATURA CITADA

1. ARCILA, P.M.I.; OROZCO, C.F.J. Estudio morfológico del desarrollo del embrión de café. *Cenicafé* (Colombia) 38(1-4):77-93. 1987.
2. BLANKE, M.M.; LENZ, F. Fruit photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 12, 31-46. 1987.
3. CANNELL, M.G.R. Factors affecting arabica coffee bean size in Kenya. *Kenya Coffee* (Kenya) 342-351. 1974.
4. DEDDECCA, D.M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. *Bragantia* (Brasil) 16:315-368. 1957.
5. DENTAN, E. The microscopic structure of the coffee bean. In Clifford M.N. Wilson K.C. *Coffee Botany, Biochemistry and production of beans and beverage*. AVI publishing company INC. 1985. p 284-304.
6. GIBSON, A. Photochemical aspects of drying East African Arabica coffees. The importance of integument pigmentation. ASIC, 5eme Colloque, Lisbonne. Portugal. 1971. 246-250.
7. GOMEZ, G.L. Influencia de los factores climáticos sobre la periodicidad del crecimiento del café. *Cenicafé* (Colombia) 28:3-17. 1977.
8. HARBORNE, J.B. *Phytochemical Methods. A guide to modern Techniques of Plant Analysis*. 2nd ed. Chapman and Hall, London, 1984. 288p.
9. HUXLEY, P.A. The structure of the coffee fruit and bean. *Kenya Coffee* (Kenya) 34:364-366. 1969.
10. LEON, J.; FOURNIER, L. Crecimiento y desarrollo del fruto de café *Coffea arabica* L. Turrialba (Costa Rica) 12: 65-74 1962.
11. MENDES, A.J.T. Observações citológicas em *Coffea arabica* L. *Bragantia* (Brasil) 2: 115-128. 1942.
12. OLIVEIRA, DOS S.A. Cinco estudos sobre café. IV. Estudo de uma cereja de café arabica. *Revista do café*. Portugues (Portugal) 123:77-81. 1959.
13. RIAÑO, N.M. Contribución al estudio de la fisiología de la producción fotosintética de la yuca *Manihot esculenta* Crantz. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 1986. 108p. (Tesis Ing. Agrónomo).
14. SALAZAR, G.M.R. Estudio anatómico y fisiológico del fruto de café *Coffea arabica* L. Var. Colombia. Universidad del Cauca. Popayán (Colombia) 1993. 98p (Tesis).
15. TOLEDO, A. P. de. Estructura anatomica do fruto de café. *Bragantia* (Brasil) 20:LIII-LXI. 1961.
16. WORMER, T.M. The growth of coffee berry. *Annals of Botany* (Inglaterra) 28(1):47-55. 1964.