

ESTUDIO ANATÓMICO Y MORFOLÓGICO DE LA DIFERENCIACIÓN Y DESARROLLO DE LAS FLORES DEL CAFETO *Coffea arabica* L. VARIEDAD COLOMBIA¹

Gloria Cecilia Camayo- Vélez*, Jaime Arcila-Pulgarin **

RESUMEN

CAMAYO V., G. C.; ARCILA P., J. Estudio anatómico y morfológico de la diferenciación y desarrollo de las flores del cafeto *Coffea arabica* L. variedad Colombia. *Cenicafé* 47(3): 121-139. 1996.

Se estudió el crecimiento y desarrollo de las yemas de las axilas foliares en cafetos de la variedad Colombia (*Coffea arabica* L.). En condiciones ambientales de la zona cafetera central la inducción floral es temprana y permanente. Los nudos en sus estados iniciales de desarrollo mostraron yemas diferenciadas. Un mes después de la formación del nudo existen indicios de formación de yemas axilares que comienzan con la división en forma anticlinal y periclinal de células epidérmicas y subepidérmicas en la axila foliar. Dos meses después se observaron protuberancias por debajo de las estípulas, lo cual indica crecimiento de las yemas las cuales no muestran señales de diferenciación de estructuras florales porque están cubiertas por brácteas, pero al microscopio de barrido se encontraron botones con los verticilos florales en las fases de iniciación y diferenciación. Hacia el tercer mes se observaron yemas axilares en diferentes grados de desarrollo en el tercer nudo, resultando la yema próxima al tallo la más desarrollada. Estas yemas presentaron inicialmente las mismas características morfológicas que los ápices vegetativos de las ramas y no mostraron señales de diferenciación de estructuras florales. A los tres meses de edad empiezan a ser visibles los botones florales. Entre los 3 y 8 meses predomina su diferenciación y desarrollo, y la antesis fue consistente a partir de los 8 meses y más intensa hacia los 12 meses.

Palabras claves: Café, *Coffea arabica* L. variedad Colombia, yemas florales, diferenciación, anatomía, crecimiento y morfología.

ABSTRACT

The growth and flowering of the buds in the leaf axils on branches of *Coffea arabica* L. var. Colombia was studied. Histological analysis of node development suggests to that in the central coffee zone of Colombia, floral induction is early and permanent. The first stages of development of the node, possess in fact the differentiated buds when viewed under the microscope. About one month after the node's formation, the first signs of formation of axillary buds can be seen and this begins with a division in anticlinal and periclinal form of the epidermal cells and subepidermices of the leaf axil. After about two months, the first external signs of bud's growth can be seen as protuberances below the stipules. Externally these buds do not display signs of differentiation, but under the scanning electron microscope, buds with flowers in the very first stages of development can be seen and at three months, the presence of various axillary buds with different stages of development too, with the bud closest to the trunk being the most developed. These buds display initially the same morphological characteristics as the vegetative apices of the branches and show no signs of differentiation into floral structures. From three months old, the first floral buttons become visible, although their formation occurred before this time. Between three and eight months of age the differentiation and development of the floral buttons predominates. Anthesis is consistently found after eight months and reaches its maximum intensity around 12 months.

Keywords: Coffee, *Coffea arabica* L. var Colombia, floral buds, differentiation, anatomy, growth and morphology.

¹ Adaptación de la tesis "Estudio Anatómico de la diferenciación y desarrollo de las flores del cafeto *Coffea arabica* L. var. Colombia" para optar el título de Lic. Biología. Popayán, Cauca, Colombia.

* Investigador Joven. Convenio Cenicafé-Colciencias. Fisiología Vegetal. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia.

** Investigador principal I. Fisiología Vegetal. Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia.

En el cafeto se originan yemas axilares en una zona con actividad meristemática localizada en las axilas foliares, tanto en el tallo como en las ramas. Las divisiones celulares anticlinales y periclinales en esta región traen como resultado la formación de una serie de primordios yemales los cuales se pueden diferenciar en estructuras reproductivas formando las cimas inflorescenciales o en estructuras vegetativas como las ramas. Se conoce muy poco acerca de los factores exógenos y endógenos que controlan la actividad celular en esta región (4, 15, 17, 32).

La ontogenia, así como la morfología y anatomía de las yemas axilares han sido estudiadas en *C.canephora* (20,21), con énfasis en los cambios a nivel del domo apical y con base en esquemas descriptivos derivados de observaciones en estereoscopia y microscopio de trasluz. Deddeca (7) describió la anatomía de los tejidos de los diferentes órganos de *C. arabica* pero no incluyó observaciones detalladas de los estados iniciales e intermedios de las yemas axilares o de las cimas inflorescenciales. Fournier (12,13), estudió el desarrollo ontogénico del ápice del vástago vegetativo en embriones de plántulas en varios estados del desarrollo y de plantas adultas de *C. arabica* L. var. Borbón, desde el punto de vista anatómico e histoquímico.

Los diferentes autores que han estudiado el proceso de la floración del cafeto han sugerido que está constituido por las etapas de inducción, diferenciación, desarrollo, latencia y antesis (3, 23, 24, 32). La inducción es favorecida por fotoperíodos cortos (14, 22), pero debido a que en las regiones tropicales donde se cultiva el café ésta condición es permanente, se ha sugerido que factores diferentes al fotoperíodo como la temperatura, intervienen en la inducción floral (6, 19, 25, 26, 32). La diferenciación y desarrollo están controlados por la disponibilidad hídrica y energética, las hormonas y los nutrientes (19, 20, 32). En la latencia intervienen factores ambientales y hormonales, principalmente (1, 3, 4,

16, 19, 25, 26, 28, 32); mientras que la antesis está condicionada por la ocurrencia de una deficiencia hídrica previa a un período lluvioso (1, 15, 25, 26, 28). En general, los estudios sobre la floración del cafeto se han enfocado principalmente hacia los factores que controlan la última fase del proceso y la más corta denominada antesis (2, 6, 15, 17, 31).

El propósito de esta investigación fue el de profundizar en el conocimiento histológico y morfológico de las diferentes etapas del proceso de la floración en *C.arabica* L. variedad Colombia, bajo condiciones de Chinchiná-Caldas, en la zona Cafetera Central Colombiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El trabajo de campo se realizó en la Estación Central Naranjal de Cenicafé ubicada en la vertiente occidental de la Cordillera Central, departamento de Caldas, municipio de Chinchiná, latitud 4° 59' Norte, longitud 75° 39' oeste y altitud 1400 m.s.n.m.. Las características climáticas presentaron los siguientes promedios anuales: precipitación media 2711mm, temperatura media 20,7°C, temperatura máxima 26,8°C, temperatura mínima 16,3°C, brillo solar 1800 horas, humedad relativa 78% y evaporación 1284 mm (10).

Material Vegetal. Se utilizaron plantas de *C. arabica* L. var. Colombia de 39 meses de edad, sembradas a 1,6m x 1,6m. En el lote experimental se tomaron en forma aleatoria 156 árboles a los cuales se les marcó el primer par de ramas ubicado mas cerca del ápice del tallo. Semanalmente y durante el período Marzo 30/94-Marzo 30/95, se seleccionaron al azar 3 árboles para realizar las observaciones morfológicas e histológicas. En estas ramas se seleccionó el ápice del primer nudo como punto de iniciación de las evaluaciones. Semanalmente se cortaban

las dos ramas previamente marcadas, que luego eran trasladadas al laboratorio para realizar en ellas las evaluaciones morfológicas e histológicas mediante técnicas de Microscopía de Trasluz (MT) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

Observaciones morfológicas. Con relación a los nudos se hicieron observaciones durante el período de estudio, con el fin de determinar los cambios morfológicos de las diferentes etapas del desarrollo floral. Los nudos se evaluaron de acuerdo con la escala de calificación adaptada de Moens (20), como se aprecia en la Figura 1.

En cada una de las ramas recolectadas se calificó el estado del desarrollo de los nudos utilizando un estereoscopio para la disección y se removió la base del pecíolo de las hojas y las estípulas. Se midió la longitud de las yemas axilares y de los botones florales en milímetros, con un calibrador Mituoyo ($\pm 0,05$ mm) y se caracterizaron morfológicamente de acuerdo con la escala de la Figura 1.

En cada una de las ramas se seleccionaron yemas axilares y botones florales en sus diferentes estados del desarrollo, para determinar los cambios morfológicos e histológicos durante su diferenciación y desarrollo. Estos se evaluaron de acuerdo a la escala de calificación de Wormer y Gituanja (32), modificada por Camayo (5), que se presenta en la Figura 2.

Para los diferentes estados de desarrollo de las yemas axilares se determinó el número, tamaño y color de los botones florales, así como la presencia de mucílago. Las yemas axilares reproductivas fueron fotografiadas con el fin de identificar los cambios y determinar las etapas de diferenciación.

Observaciones histológicas. Microscopio de trasluz. Con el fin de realizar un seguimiento del desarrollo del ápice de las ramas, de las yemas axilares y de los botones florales forma-

dos durante el desarrollo del nudo, cada 8 días se tomaron dos ramas por árbol y estas estructuras fueron fijadas e incluidas en resina Spurr, tal como se explica a continuación:

Procesamiento de muestras en resina Spurr.

Se partió del protocolo de inclusión utilizado para el estudio de hojas jóvenes (18), adaptado para café; las muestras se fijaron en una solución de Karnowsky al 1% (paraformaldehído 8%, buffer cacodilato 0,1M, glutaraldehído 70%, en relación 12:33:2) a 4 °C. Las muestras fijadas fueron lavadas con buffer fosfato 0,1M, y se fijaron en tetraóxido de osmio 1%; luego se lavaron con buffer cacodilato 0,1M, y posteriormente se deshidrataron en series ascendentes de alcohol en concentraciones de 25, 50, 75 y 95% y acetona al 100%. Se hizo imbibición previa de las muestras en acetona-resina (1:3, 3:3 y 3:1) y luego se imbibieron en resina spurr 100%. Finalmente fueron polimerizadas durante 48 horas a una temperatura entre 60 y 70°C. A las muestras así preparadas se les realizaron cortes semifinos de un espesor de (0,5 μ m-1 μ m) al ultramicrotomo LKB con una cuchilla de vidrio, luego fueron teñidos con azul de toluidina y observados en el Microscopio óptico de trasluz.

Microscopía Electrónica de Barrido. Las muestras de nudos y yemas axilares en los diferentes estados de desarrollo se fijaron en glutaraldehído 3% con buffer fosfato 0,1M, pH de 7,2 a 4 °C. Las muestras fijadas fueron lavadas con buffer fosfato 0,1M, fijadas en tetraóxido de osmio 1% y luego se deshidrataron en series ascendentes de alcohol en concentraciones de 30,50,70,80,90,95 y 100%. Posteriormente se secaron bajo CO₂ líquido en secador de punto crítico, se cubrieron con oro y se examinaron en MEB. Esta técnica fue de utilidad para observar las estructuras y la organización de las yemas axilares y botones florales con respecto al nudo (11). Las observaciones se hicieron en un microscopio electrónico de barrido HITACHI S-510.

| ESTADOS | ASPECTO | CARACTERISTICAS DE NUDOS Y YEMAS |
|---------|---|--|
| E 1 |  | <p>NUDO INDIFERENCIADO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estípulas pegadas sobre la rama . - No hay engrosamiento en la axila foliar . |
| E 2 |  | <p>NUDO CON ESTIPULAS ENGROSADAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ensanchamiento de la axila foliar . |
| E 3 |  | <p>NUDOS CON YEMAS QUE SOBREPASAN LAS ESTIPULAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - La s primeras inflorescencias sobresalen de la estípula . |
| E 4 |  | <p>NUDO CON YEMAS VERDES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Yema menor de 1 cm . - En el glomérulo, las estípulas se abren dejando aparecer botones verdes diferenciados. |
| E 5 |  | <p>NUDOS CON YEMAS MAYORES DE 1 cm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Botones blancuzcos . - Flores en estado de desarrollo avanzado . |

Basado en Moens, 1968.

Diagramación y fotografía: GhoyoS

Figura 1. Escala de Calificación de la organografía del nudo. Adaptada de Moens (20).

| ESTADO | ASPECTO | CARACTERÍSTICAS DE LOS BOTONES FLORALES |
|--------|---|--|
| B 1 |  | Tamaño: 2 mm Color verde, cubiertas por las estipulas. Presencia de mucilago de color ámbar. Botones florales indiferenciados. |
| B 2 |  | Tamaño: 2,6 mm Sobresalen por debajo de las estipulas. Botón floral en desarrollo. |
| B 3 |  | Tamaño: 4,4 mm. Color verde y botón desarrollado en estado latente. |
| B 4 |  | Tamaño: 6 a 10 mm. Color blanco. Botones florales definidos próximos a abrir. |
| B 5 |  | Botones florales en antesis. |

Basado en Wormer y Gituanja, 1970

Fotografía: GhoyoS

Figura 2. Escala de Calificación de botones florales. Adaptada de Wormer y Gituanja (32).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Observaciones morfológicas e histológicas en nudos. En *C.arabica* L., las yemas florales se forman predominantemente en las axilas foliares de los nudos de las ramas plagiotrópicas y con menor frecuencia en los nudos de las ramas ortotrópicas. Cada nudo presenta dos axilas foliares opuestas (20, 21).

En cada rama y en los nudos se presentaron diferentes estados de desarrollo de las yemas axilares y de los botones florales de cada yema a través del tiempo. Con base en la morfología externa de los nudos se identificaron cinco estados de desarrollo. A continuación se presenta una descripción de las principales características morfológicas y anatómicas de estos estados:

Estado E1: Nudos indiferenciados. Los nudos indiferenciados (E1) correspondieron generalmente al primer o segundo nudo a partir del ápice de la rama. Se presentó una etapa inicial en la que no hubo engrosamiento de la axila foliar ni se observaron señales de desarrollo de yemas axilares. Al realizar cortes transversales en estos nudos no se observaron yemas axilares (Figuras 3a y 3b).

En las observaciones histológicas de cortes longitudinales de estos nudos en estado E1 a nivel del ápice de la rama, los nudos 1 y 2 aparecieron indiferenciados (Figura 3c). El nudo 1 (n1), próximo al domo apical, se caracterizó por estar cubierto por estípulas, presentar primordios foliares y poca cantidad de tricomas. El nudo 2 (n2) presentó gran cantidad de tricomas en la superficie interna de las estípulas. En la base de la axila foliar, inmediatamente debajo de la epidermis, se observó una pequeña zona de 3 a 4 capas de células donde ocurría división celular, lo cual insinuó el comienzo de la formación de las yemas axilares (Figura 3d). En el nudo 3 (n3), el cual no presentaba señales externas de diferenciación, se observó la formación de dos yemas axilares (y1, y2); cada una de ellas

tenía la apariencia de tallo en miniatura con un ápice cónico rodeado por primordios bracteales y por estípulas; estas últimas con muchas células con alto contenido de taninos, similares a las observadas en frutos por Salazar (27), (Figura 3e).

Los cortes longitudinales de yemas axilares observadas al microscopio de trasluz mostraron un domo cónico y prominente, diferenciándose dos zonas de acuerdo al tipo de organización celular predominante: la túnica, conformada por una o dos capas de células que se dividen anticlinalmente, y el corpus, compuesto por 3 ó 4 capas de células que se dividen en varios planos (Figuras 3d y 3e). Este tipo de organización es característico en las angiospermas (8,9,30). La Microscopía electrónica de barrido (MEB) permitió confirmar la formación de yemas axilares en nudos E1 (Figuras 3f y 3g).

Estado E2 : Nudos con estípulas engrosadas. Se observó un engrosamiento de la axila foliar hacia el nudo número 6 (n6), causado por la presencia de yemas axilares (Figura 4a), en ramas de 4 meses de edad que tenían un promedio de 8 nudos. Los cortes transversales efectuados mostraron la presencia de dos yemas ubicadas entre el pecíolo y el tallo (Figura 4b).

En cortes longitudinales del nudo 9 (contado a partir del ápice de la rama de 8 meses de edad), se destacó la formación de tres yemas axilares altamente diferenciadas y dispuestas en forma lineal (Figuras 4c y 4d). La yema interna (y3), fue la más desarrollada y presentó brácteas y gran cantidad de depósitos oscuros, probablemente de taninos en las células epidermales; igualmente se pueden apreciar las células del procambium que dan origen al tejido vascular primario (metaxilema y metafloema). La yema menos desarrollada (y1) es la más externa o más alejada del tallo. Cada una de ellas presentó un ápice cónico rodeado de estípulas, primordios foliares y gran cantidad de tricomas, en el cual se diferenciaron la túnica y el corpus. De acuerdo

con Moens (21), las yemas axilares seriadas de las ramas plagiótropas en *C. canephora* están dispuestas en posición rectilínea. Las observaciones realizadas en este trabajo en *C. arábica* muestran inicialmente que las yemas axilares se organizan en forma lineal, pero en un estado de desarrollo más avanzado se pierde esta linealidad (Figuras 4c y 4d).

En una de las yemas axilares (y4), (Figura 4e), la cual se encuentra cubierta por brácteas y con gran cantidad de depósitos oscuros probablemente de taninos, se observaron inicios de diferenciación de las brácteas de un segundo nudo, que se encontraron como protuberancias hacia los lados del domo. Además, se observó un cordón procambial bien diferenciado rodeando un cuerpo central de células isodiamétricas parenquimáticas, de las cuales se originará posteriormente el tejido vascular. Por encima del domo se observaron numerosos tricomas (Figuras 4f y 4g).

Estado E3 : Nudos con yemas axilares que sobrepasan las estípulas . En las ramas de 6 meses de edad que poseen un promedio de 13 nudos, se observó, hacia el nudo número 6, la presencia de yemas que sobrepasaban a las estípulas y estaban cubiertas por un mucílago de color ámbar (Figura 5a). En cortes longitudinales de éste nudo se puede encontrar una disposición lineal de las yemas axilares; la yema interna fue la más desarrollada y en ella se pudo apreciar la formación de los primeros rudimentos de botones florales (Figura 5b).

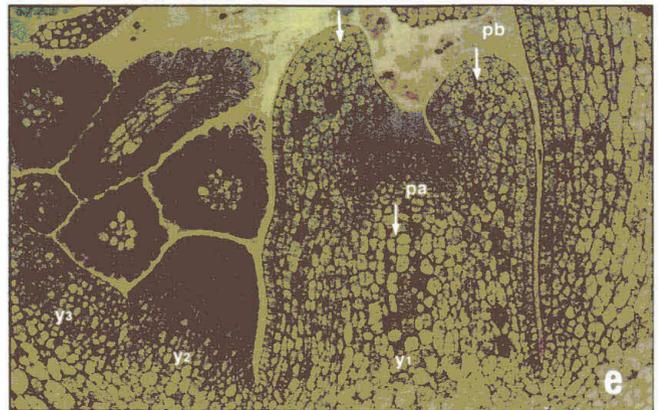
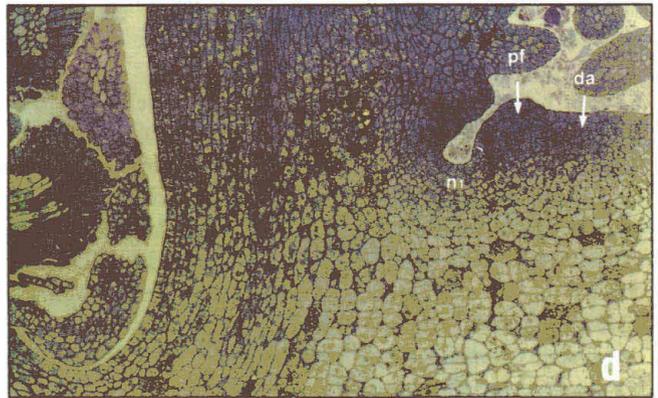
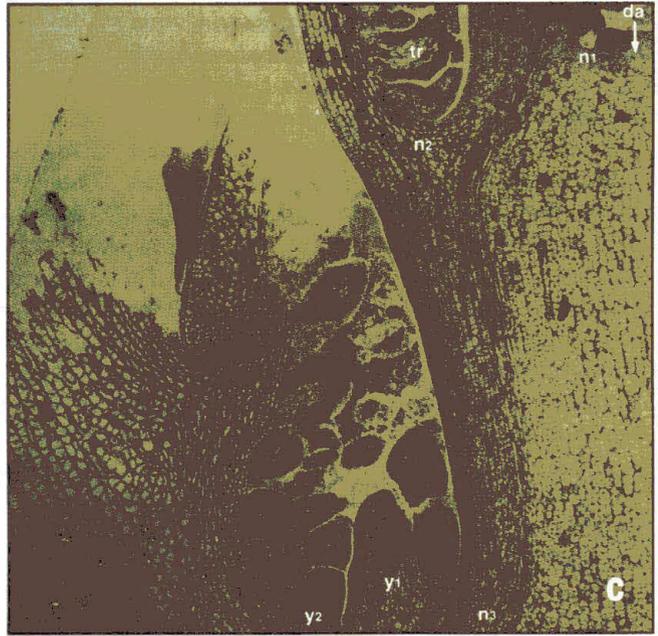
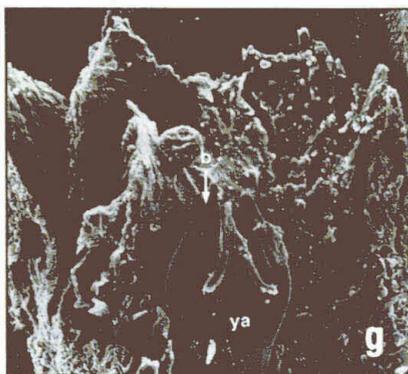
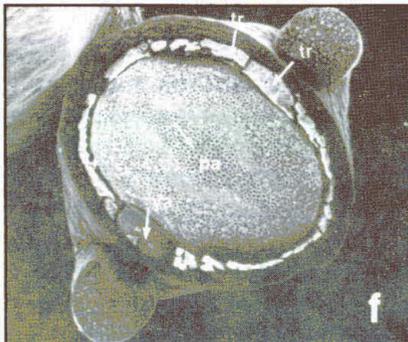
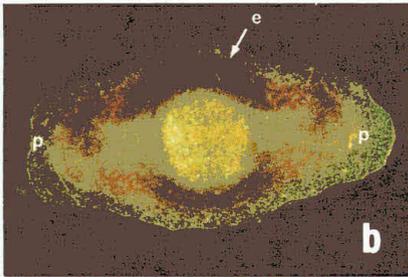
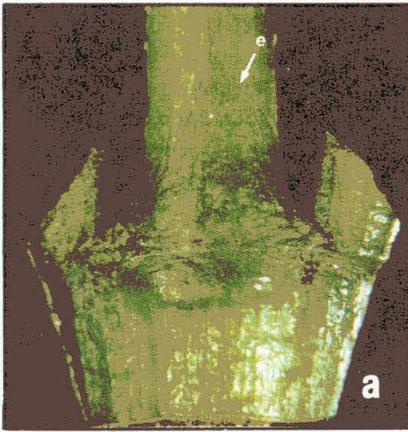
En el nudo 8, en las ramas de 8 y 11 meses de edad, se realizaron cortes longitudinales y se observó la formación de 2 yemas axilares. La más interna de ellas (y2) presentó diferenciación de los primeros rudimentos de sépalos los cuales van a constituir finalmente el cáliz floral. En la parte central del domo apical de esta yema se observó un alargamiento por encima de los primordios bracteales que va a originar el pedúnculo o receptáculo del botón floral (Figura

5c). En la formación del botón floral ocurre inicialmente un alargamiento del domo para formar lo que será el cuerpo del pedúnculo de la flor; se observó además la formación de rudimentos de sépalos que van a constituir un cáliz rudimentario y hacia el interior y por encima del domo, se presentó la corola en forma de 5 pétalos (Figura 5d). El procambium se originó como una extensión independiente del tejido vascular de la rama, hacia la yema (Figura 5e). Hacia el centro del domo de la yema se observó gran cantidad de células con alta actividad de división celular; en esta región se formará posiblemente el ovario con su estilo y estigma (Figura 5f), lo cual está de acuerdo con la observación de Sterling (29).

Para observar las yemas axilares en el microscopio electrónico de barrido se disecó la estípula del nudo 9 de una rama de 11 meses de edad y se encontraron 4 yemas axilares dispuestas en forma sucesiva de mayor a menor, de acuerdo con su estado de desarrollo (Figura 5g).

Estado E4 : Nudos con yemas y botones florales verdes. Se encontraron en cada axila foliar del nudo número 11 en ramas de 6 meses de edad estípulas abiertas, y de 4 a 6 yemas de color verde y de tamaño inferior a 1 cm; las ramas tenían en promedio, 13 nudos. En cada yema o glomérulo se observaron dos pares de brácteas opuestas. Algunas yemas se abren dejando expuestos los primeros botones florales, mientras que en otras el desarrollo de botones no es manifiesto. En este estado de desarrollo no se observa la presencia de mucílago sobre las yemas (Figura 6).

Estado E5 : Nudos con yemas mayores a 1 cm y botones florales (preantesis). Este Estado se encontró en cada axila foliar del nudo 15 de ramas de 8 meses de edad y con un promedio de 20 nudos por rama. Se observaron las estípulas abiertas y con botones florales blancos en estado de desarrollo avanzado y de 6 a 10 mm de tamaño. (Figura 7).



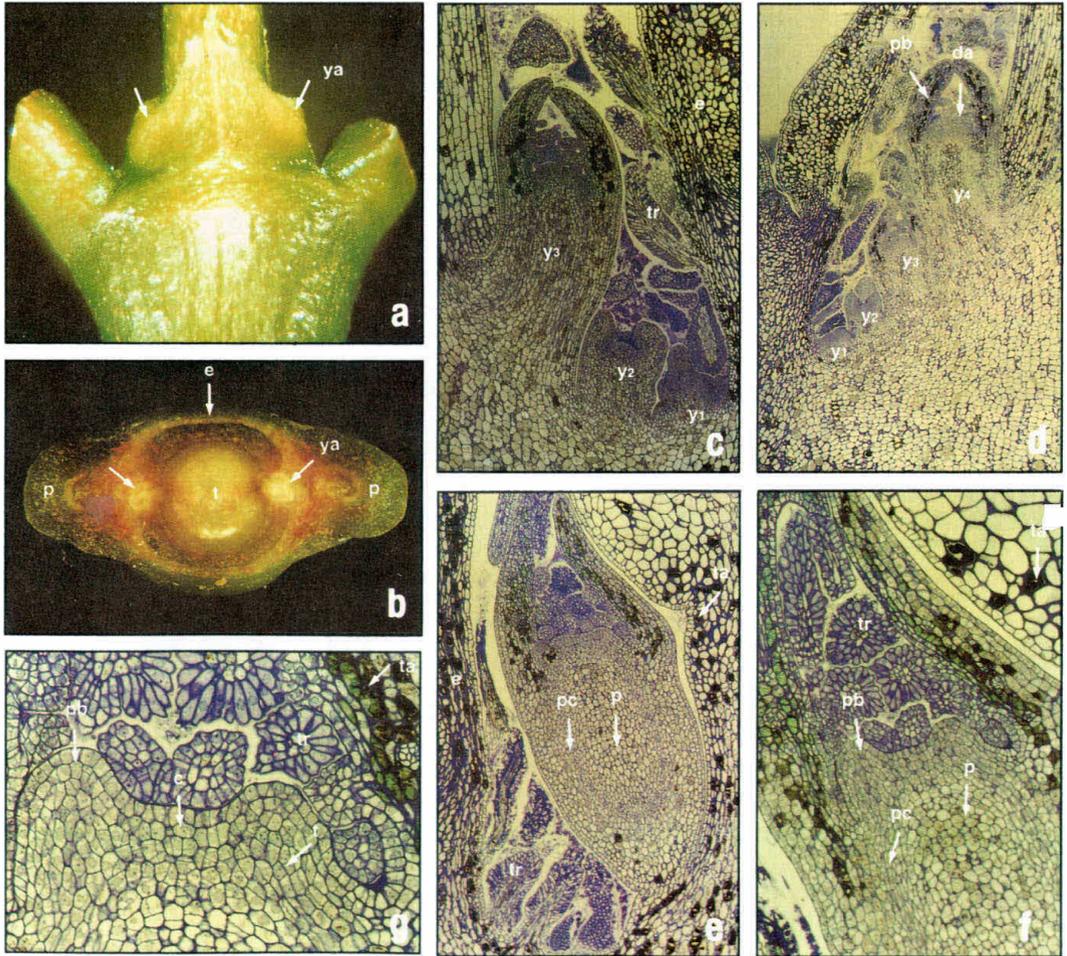


Figura 4. Nudo con estípulas engrosadas (E2). **a).** Ensanchamiento de la axila foliar, por presencia de yemas axilares (ya). **b).** Corte transversal: yemas axilares (ya), estípulas (e), peciolo (p), tallo (t); nudo 6 de rama de 4 meses de edad, 6X. **c).** Corte longitudinal: estípulas (e), tricomas (tr) y tres yemas axilares (y1,y2,y3); nudo 9 de rama de 8 meses de edad, 10X. **d).** Yemas axilares (y1,y2,y3,y4); formación del domo apical de las yemas axilares (da), rodeado de primordios de brácteas (pb), y tricomas (tr); nudo 9 de rama de 8 meses de edad, 5X. **e y f).** Se destaca estípula (e), yema axilar (ya), procambiun (pc), parénquima (pa), pigmentos (taninos) (ta) y tricomas (tr); nudo 8 de rama de 11 meses de edad, 5X, 20X. **g)** Corte longitudinal del domo apical (da) de la yema axilar formada en nudo con estípulas engrosadas (E2); se destacan la formación de los primordios bracteales (pb), taninos (ta), tricomas (tr), corpus (c) y túnica (t); nudo 8 de rama de 11 meses de edad, 40X.

Figura 3. Nudo Indiferenciado (E1) **a).** Estípulas adheridas al tallo (e). **b).** Corte transversal del nudo: se observan estípulas (e), peciolo (p); no hay presencia de yemas axilares; observaciones realizadas en el nudo 8 de una rama de 4 meses de edad, 6X. **c).** Corte longitudinal de nudos sin formación de yemas axilares (n1,n2,n3); nudo 10 de rama de 8 meses de edad, 10X. **d).** Corte longitudinal del n1; formación de domo apical (da) y primordio foliar (pf); en la axila foliar del n2 se observa comienzos de diferenciación de yema; nudo 10 de rama de 8 meses de edad 20X. **e).** Corte longitudinal de yemas axilares (y1,y2,y3) formadas en nudo externamente indiferenciado (E1); se destaca en y1 la formación de primordios bracteales (pb), zona corpus (c) y zona túnica (t); nudo 10 de rama de 8 meses de edad, 20X. **f).** Microscopía Electrónica de Barrido (MEB); brácteas (b), yema axilar (ya). **g).** Corte transversal del nudo indiferenciado, yema axilar (ya), tricomas (tr) y parénquima en el tallo (pa); nudo 15 de ápice de rama de 11 meses de edad.

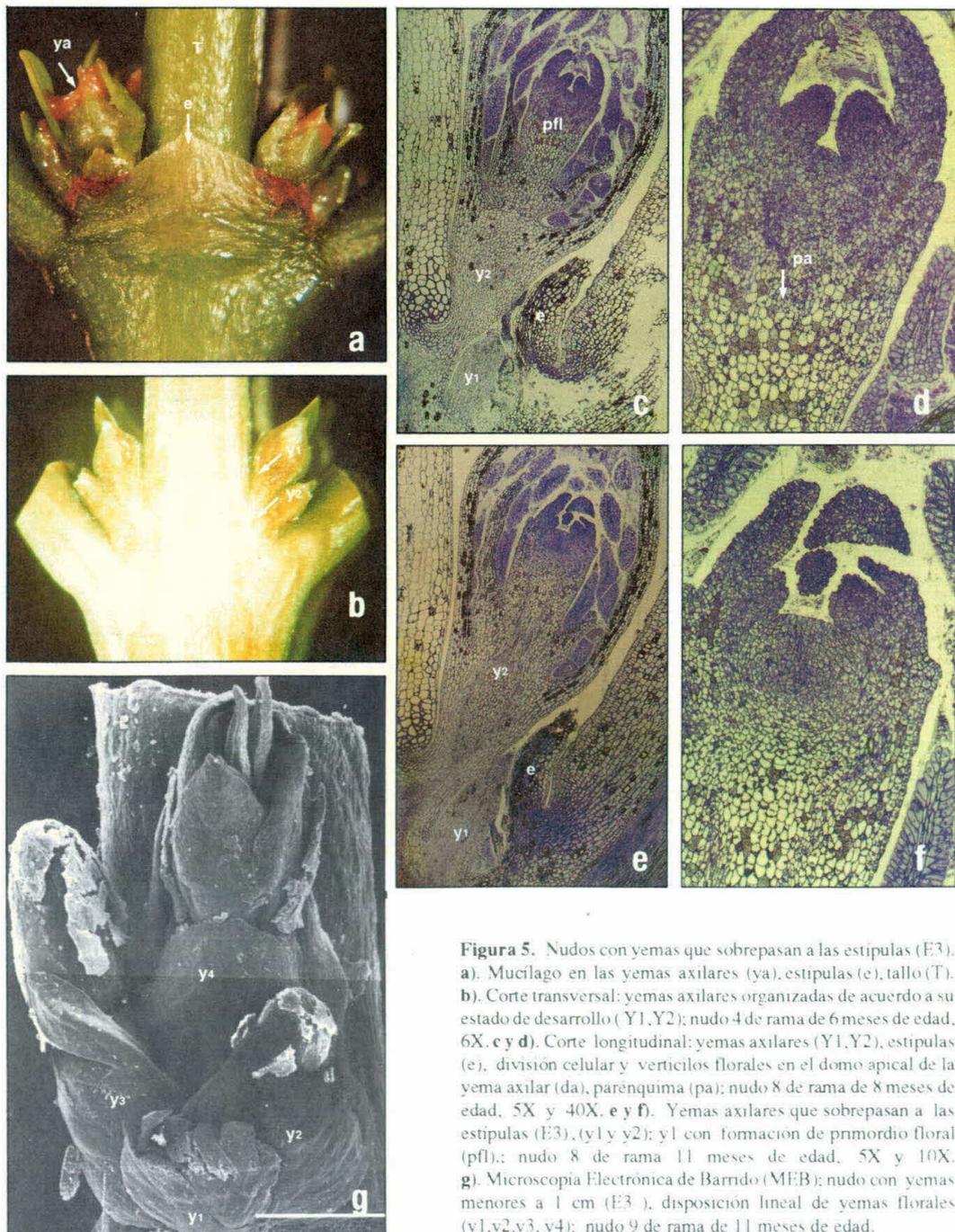


Figura 5. Nudos con yemas que sobrepasan a las estipulas (E3). **a).** Mucilago en las yemas axilares (ya), estipulas (e), tallo (T). **b).** Corte transversal: yemas axilares organizadas de acuerdo a su estado de desarrollo (Y1, Y2); nudo 4 de rama de 6 meses de edad, 6X. **c y d).** Corte longitudinal: yemas axilares (Y1, Y2), estipulas (e), división celular y verticilos florales en el domo apical de la yema axilar (da), parénquima (pa); nudo 8 de rama de 8 meses de edad, 5X y 40X. **e y f).** Yemas axilares que sobrepasan a las estipulas (E3), (y1 y y2); y1 con formación de primordio floral (pfl); nudo 8 de rama 11 meses de edad, 5X y 10X. **g).** Microscopía Electrónica de Barrido (MEB): nudo con yemas menores a 1 cm (E3), disposición lineal de yemas florales (y1, y2, y3, y4); nudo 9 de rama de 11 meses de edad.



Figura 6. Nudo con primera inflorescencia que sobrepasa a las estípulas (E4); mucílago sobre las inflorescencias (i), estípulas (e), mucílago (m). Nudo 2 de rama de 6 meses de edad, (6X).



Figura 7. Nudos con yemas mayores a 1 cm (E5), botones florales en estado de desarrollo avanzado (bf). Nudo de rama de 8 meses de edad, (6X).

Dinámica de la formación de yemas axilares.

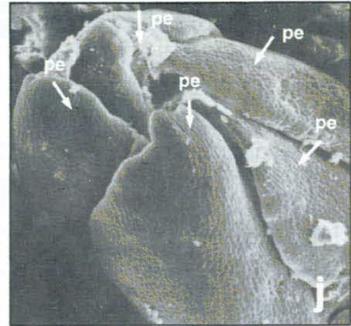
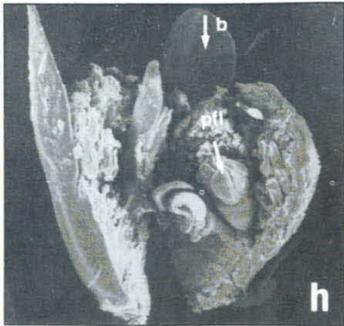
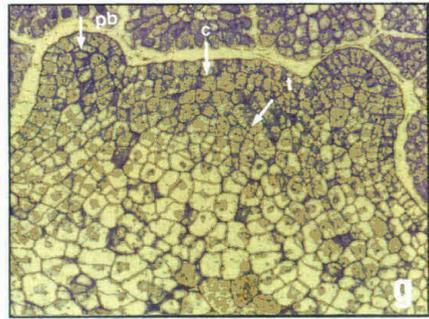
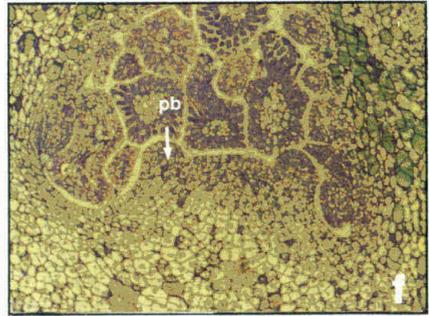
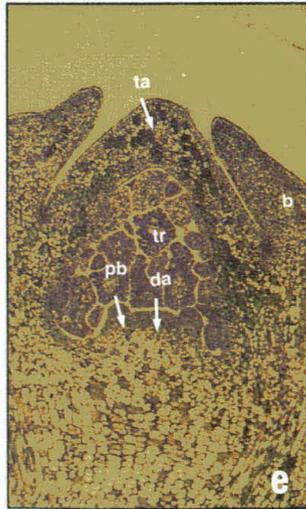
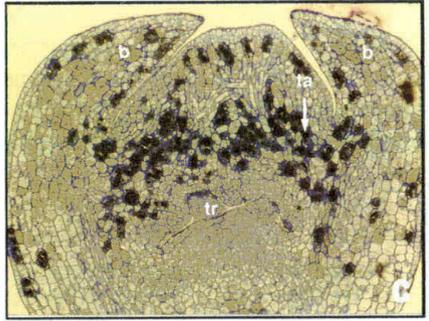
Del análisis histológico de los diferentes estados del desarrollo del nudo se deduce que por cada axila foliar se forman 4 yemas en promedio, las cuales se originan en forma sucesiva sobre la base de esta, en dirección al tallo y presentan tamaño irregular. Aproximadamente un mes después de su formación, cuando el entrenudo se ha alargado, se presentan los primeros indicios de formación de yemas axilares que comienzan con la división en forma anticlinal y periclinal de células epidérmicas y subepidérmicas en la axila foliar. Hacia el tercer mes ya se puede observar en el tercer nudo la presencia de varias yemas axilares, con diferentes grados de desarrollo, siendo más avanzada la yema próxima al tallo. Estas yemas presentan inicialmente las mismas características morfológicas que un ápice vegetativo de ramas y sin señales de diferenciación de estructuras florales. Hacia los dos meses de edad, se observan los primeros síntomas externos de presencia de yemas axilares en forma de protuberancias por debajo de las estípulas, lo cual indica crecimiento de la yema. Externamente estas yemas no muestran señales de diferenciación de estructuras florales porque están cubiertas por brácteas, y al examinarlas al MEB se pudieron encontrar botones florales en sus primeros estados de desarrollo, es decir, ya había tenido lugar la iniciación y la diferenciación. Entre los dos y tres meses las yemas eran más visibles porque sobrepasaban las estípulas y mostraban evidencias más claras de diferenciación floral, como la presencia de primordios de botones; una vez formadas las

yemas, algunas completan su diferenciación y crecimiento al parecer debido a la presencia de déficit hídrico de intensidad moderada.

Con base en las observaciones anteriores realizadas en las condiciones de Chinchiná, zona cafetera central donde se observó la formación permanente de nudos, se concluye que existe presencia continua de las diferentes fases de desarrollo de los nudos (E1, E2, E3, E4 y E5), aunque con mayor frecuencia de ciertos estados en determinadas épocas del año. Al comienzo de las observaciones, en abril, el 100% se calificaron como indiferenciados; después de 30 días se tenía el 62% de nudos indiferenciados, valor que permaneció relativamente constante durante el resto del período observado, es decir, se presenta a través del tiempo una proporción de nudos con indiferenciación floral debido al crecimiento vegetativo continuo de la planta. Esto sugiere que para las condiciones climáticas de Chinchiná la inducción floral ocurre permanentemente durante el año.

Observaciones Morfológicas e Histológicas en yemas axilares. Con base en lo reportado por Wormer y Gituanja (32), fueron analizados cinco estados de desarrollo de las yemas axilares que comprenden desde las etapas iniciales del proceso de diferenciación de los botones florales hasta la formación de todas las estructuras que conforman la flor. En cada axila foliar se observaron entre 4 ó 5 yemas (y1, y2, y3, y4, y5) dispuestas en forma lineal (Figura 8a). Aunque éstas yemas evolucionan predominantemente

Figura 8. a. Estados de desarrollo de las yemas axilares en una de las axilas foliares, observadas entre 4-5 yemas, dispuestas inicialmente en forma lineal (y1,y2,y3,y4); nudo 15 en E4 de rama de 1 año de edad, 6X. **b.** Yema axilar menor a 2 mm (y1), forma achatada, cubierta por estípulas y presencia de brácteas (b). **c.** Corte longitudinal de yema axilar no diferenciada (y1), brácteas (b), domo apical (da), taninos (ta), tricomas (tr); nudo 13 de rama de 12 meses de edad, 20X. **d.** Desarrollo morfológico de la yema axilar reproductiva (y1), aumento de volumen y presencia de mucilago (m); nudo 16 en E3 de rama de 1 año de edad, 6X. **e.** Corte longitudinal de yema menor a 2 mm (y2) en nudo que presenta engrosamiento de la axila foliar (E2); se observa domo apical alargado y achatado (da), primordios bracteales (pb), tricomas (tr) y taninos (ta); nudo 10 de rama de 11 meses de edad, 5X. **f y g.** Corte longitudinal de yema menor a 2 mm (y2) en nudo que presenta engrosamiento de la axila foliar (E2), primordios bracteales (pb), corpus (c) y túnica (t); nudo 10 de rama de 10 meses de edad, 20X y 40X. **h.** Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), yema con tamaño menor a 4 mm (y3), primordios de botones florales (pfl), tricomas (tr), brácteas (b), primordio floral con corona de 5 pétalos (pe) y 5 sépalos rudimentarios (s); nudo 14 de rama de 11 meses de edad, 20x, 80x y 150x.



hacia un estado reproductivo algunas de ellas permanecen en estado vegetativo.

De acuerdo con Moens (21) las yemas axilares evolucionan vegetativamente cuando persiste la forma cónica del domo mientras que las divisiones continúan sin orientación en el corpus; las divisiones periclinales lo hacen aparecer como un domo sobreelevado. En los flancos de éste, las células subepidérmicas sufren divisiones periclinales que dan origen a los primordios foliares. Las yemas evolucionan reproductivamente cuando en el domo las células de la región central y lateral presentan divisiones periclinales repetidas que traen como resultado el alargamiento de la base y achatamiento de la superficie externa del domo. No se conocen los mecanismos de regulación fisiológica a este nivel (20, 21).

Morfológicamente la yema (y1) de rama de 12 meses de edad fue considerada vegetativa cuando se presentaba en forma achatada y con un par de primordios foliares (Figura 8b). En cortes longitudinales se caracterizó por presentar un ápice cónico y ancho, ubicado entre los primordios bracteales, tricomas y pigmentos que revelan la presencia de taninos (Figura 8c).

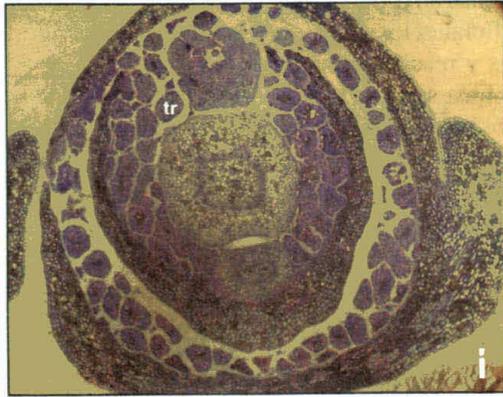
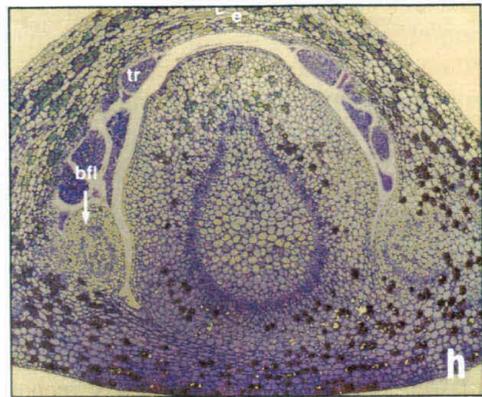
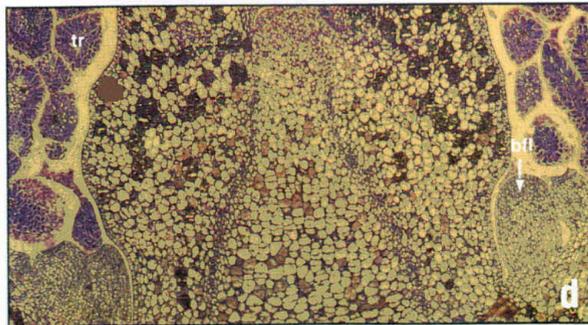
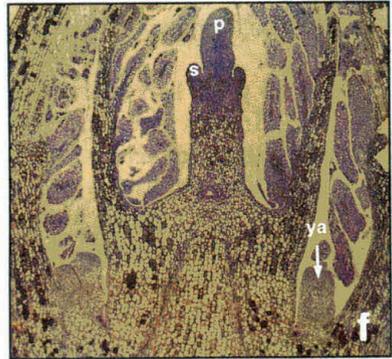
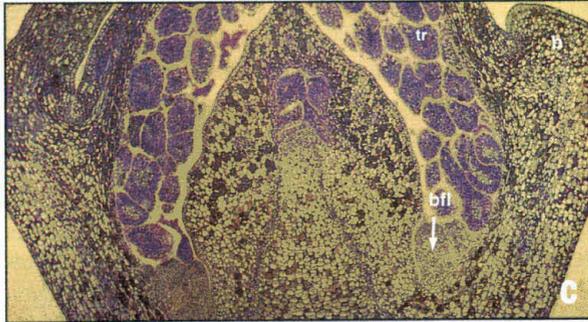
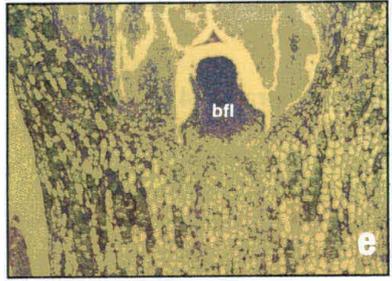
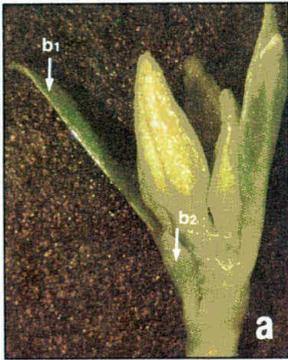
El desarrollo reproductivo en la yema axilar (y2), está indicado por el engrosamiento en la cara opuesta a las brácteas a la altura de la axila foliar, debido a que las células central y lateral del corpus sufren repetidas divisiones periclinales que traen como resultado el alargamiento de la base y el achatamiento de la superficie externa del domo, lo cual se puede apreciar en la Figura 8d. En cortes longitudinales se observó que la

yema axilar es un tallo en miniatura que presenta nudos, primordios bracteales con tricomas y primordios de botones florales en las yemas que se forman en la axila bracteal. Además, se observó el alargamiento de la base y achatamiento de la superficie superior del domo los cuales constituyen las primeras alteraciones histológicas visibles que identifican las yemas (y2), inducidas para la fase reproductiva (Figura 8e). Hacia las regiones laterales se observaron dos áreas de proliferación celular donde predominan divisiones periclinales. Estas áreas dan origen al segundo par de brácteas o segundo nudo de la inflorescencia, (Figura 8 f y 8g). Además, se observó con frecuencia en el ápice de las yemas un mucílago de color ámbar (Figura 8d), el cual es posiblemente secretado por los tricomas presentes en forma abundante en las diferentes estructuras foliares adyacentes a la flor.

Al observar en MEB y disecar el ápice de la yema axilar (y2), se observaron los primordios de botones florales constituidos por una corona de 5 sépalos rudimentarios y 5 pétalos rodeados de brácteas y tricomas, como se aprecia en las Figuras 8h, 8i y 8 j.

Al hacer las observaciones morfológicas en las yemas y3 (nudo 9 de la rama de 10 meses de edad) se encontró en la axila foliar el surgimiento de un segundo par de brácteas en posición opuesta a las ya existentes y se destacó la etapa siguiente de desarrollo reproductivo del glomérulo. A partir de este momento se presentó un mayor crecimiento y desarrollo de los botones florales apicales (Figura 9a), destacándose también el desarrollo de botones florales en el nudo del segundo par de brácteas. De

Figura 9. a). Yema con botones florales en desarrollo y surgimiento de un segundo par de brácteas opuestas a las ya existentes (b1, b2). **b).** Inflorescencia de *C. arabica* completamente desarrollada (Y3), botones florales (bfl) en estado de latencia; nudo 15 en E4 de rama de 1 año de edad, 6X. **c y d).** Corte longitudinal de yema con botón floral en desarrollo (bfl), tricomas (tr), brácteas (b); nudo 11 de rama de 10 meses de edad, 10X. **e, f y g).** Botón floral en desarrollo (bfl), (s) sépalos, (p) pétalos, observados en el n 2; en el n1 formación de yemas axilares (ya); nudo 11 de rama de 10 meses de edad, 20X. **h).** Corte transversal de yemas con primordios de botones florales en desarrollo (pfl), estípulas (e), tricomas (tr) y trazas foliares (tf); nudo 9 de rama de 11 meses de edad, 10X.



esta manera se forma la inflorescencia típica del cafeto (Figura 9b).

Se encontraron 4 botones florales por inflorescencia en promedio, observándose un alargamiento del eje central en el domo apical de la yema y3 y la diferenciación de las zonas meristemáticas laterales, donde se destaca la formación de primordios de botones florales en la axila bracteal del nudo inferior de la cima de la inflorescencia (Figuras 9c y 9d).

En el estado y4, de las yemas del nudo 11 de una rama de 11 meses de edad, se observó el alargamiento en la región del ápice y la aparición de los primeros primordios de verticilos florales, (Figura 9e). Además, se diferenciaron en el ápice de la yema axilar reproductiva regiones meristemáticas que forman los primordios de sépalos y pétalos, (Figuras 9f y 9g). En cortes transversales se observó la estructura del eje central de la yema, caracterizado por los tejidos típicos del tallo (epidermis, corteza, cilindro vascular y cilindro central), rodeado en forma suelta por brácteas dispuestas en forma decusada, por tricomas y la formación de los primordios de botones florales, (Figuras 9h y 9i).

Se realizaron observaciones en MEB de una yema axilar (glomérulo) la cual presentaba 3 primordios de botones florales de diferente estado de desarrollo, (Figura 10a). Las inflorescencias presentaron pedúnculos cortos entre 3 y 4 botones florales, los cuales están adheridos unos con otros y recubiertos por dos pares de brácteas. También se realizaron observaciones externas de los botones florales a los cuales se les retiró la corola, (Figura 10b y 10c). Se observa claramente cómo cada glomérulo está compuesto por cuatro botones florales que más adelante constituirán los frutos.

Observaciones Morfológicas en botones florales. En yemas axilares con botones florales indiferenciados (B1) no se presenta desarrollo

de verticilos florales. Los botones florales en desarrollo (B2) presentaron un tamaño promedio de 2,6 mm, coloración verde y estaban recubiertos por una capa delgada de mucílago de color ámbar. Los botones florales completamente desarrollados (B3), presentan un tamaño promedio de 4,4 mm y coloración verde. Los botones florales en estado de preantesis (B4) están próximos a abrir, son blancos, y miden entre 6 y 10 mm. Durante la etapa de antesis los botones florales abren completamente (B5) dejando expuestos el pistilo y las anteras.

Dinámica del desarrollo de los botones florales. En este estudio se ilustró en detalle la anatomía de las yemas axilares (cimas inflorescenciales en *C. arabica* L. variedad Colombia. Estas yemas se caracterizaron por la presencia de un domo apical en el cual se distinguen la túnica y el corpus, similares a las observadas corrientemente en los ápices de tallos y ramas de la mayoría de angiospermas (8, 9). Estas yemas no presentan signos visibles de formación de primordios florales. Los autores que han estudiado el proceso de la floración del cafeto (20, 32) sugieren que hasta este momento no se conoce en qué sentido evolucionará el desarrollo de la yema axilar. Sin embargo, las observaciones de campo realizadas permiten sugerir que cuando estas yemas se desarrollan a partir de tejido de menos de un año de edad, es decir, en el primer ciclo reproductivo del árbol tienen tendencia a producir estructuras reproductivas. Dado la presencia de un gradiente de desarrollo, es probable que el crecimiento de algunas de las yemas florales jóvenes se vea afectado por la transformación en frutos de las yemas más avanzadas o por algún factor ambiental desfavorable que las induce a permanecer en estado de latencia.

También es probable que por estos mismos factores se disminuya la actividad del meristema apical de la rama y por consiguiente se inicie la producción de brotes vegetativos. Este último tipo de yemas axilares "retrasadas" general-

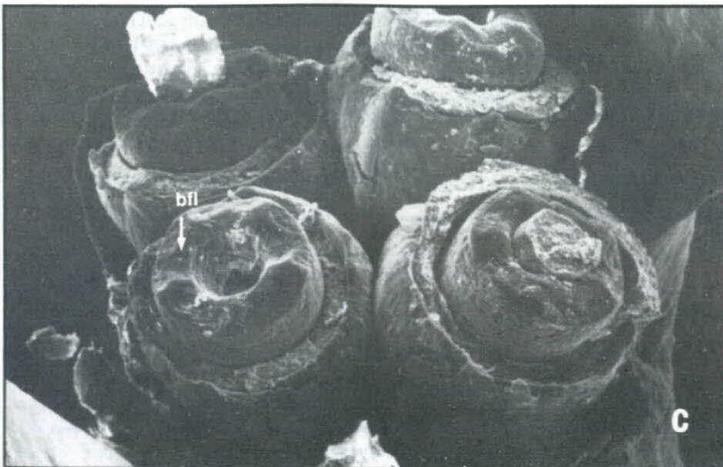
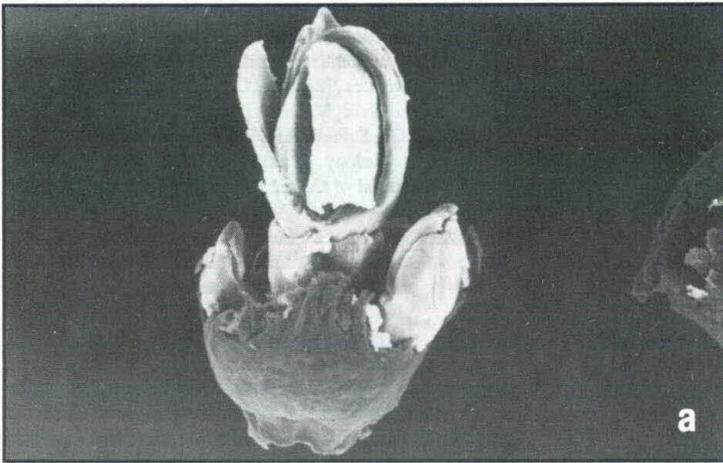


Figura 10. a). Microscopía Electrónica de Barrido (MEB); primordios florales organizados en forma decusada y de acuerdo al estado de desarrollo; nudo 14 de rama de 11 meses de edad. **b y c).** Microscopía Electrónica de Barrido (MEB); glomérulo mas botones florales (bfl), brácteas (b); nudo 12 de rama de 11 meses de edad, (20x y 60x).

mente están solitarias y se ubican en nudos que ya cumplieron su primer ciclo productivo. En este estudio no se evaluó esta última situación.

Los primeros indicios de formación de yemas axilares se observaron en nudos de 1 mes de edad, en forma de divisiones anticlinales y periclinales de células epidérmicas y subepidérmicas en la axila foliar. Mediante cortes histológicos de nudos de 2 meses de edad se observó la presencia de yemas axilares con diferentes estados de desarrollo, siendo más avanzada la más próxima al tallo. A los 3 meses de edad se presentaron los primeros indicios externos de diferenciación de yemas en forma de protuberancias en la axila foliar. A partir de los 3 meses de edad empiezan a ser visibles los primeros botones florales, aunque su formación parece ocurrir antes de este tiempo; entre los 3 y 8 meses predomina la diferenciación y desarrollo de las yemas axilares y botones florales.

Los resultados aquí descritos revelan importantes aspectos de la diferenciación y desarrollo de las flores del cafeto los cuales deberán ser tenidos en cuenta para estudios posteriores acerca de la regulación de este proceso en las condiciones de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Ramiro Fonnegra y al Sr. Alveiro Acevedo, por la colaboración y asesoría en el manejo del Microscopio Electrónico de Barrido de la Universidad de Antioquia.

LITERATURA CITADA

1. ALVIM, P. de T. Fisiología del crecimiento y de la floración del cafeto. *Café* 2 (6): 57-64. 1960.
2. ARCILA, P., J.; JARAMILLO, R., A.; BALDION, R., J. V.; BUSTILLO, P., A. E. La floración del cafeto y su relación con el control de la broca. *Avances Técnicos Cenicafé* N° 193, 6p. 1993.
3. BARROS, S. R.; MAESTRÍA, M.; COONS, M. P. The Physiology of flowering in Coffee; a Review. *Journal of Coffee Research* 8 (2-3): 29-73. 1978.
4. BROWNING, G. Flower bud dormancy in *Coffea arabica* L. I. studies of gibberellin in flower buds and xylem sap and abscisic acid in flower in relation to dormancy release. *J. Hort. Sci.* 48: 29-41, 1973.
5. CAMAYO, V. G. C. Estudio anatómico y fisiológico de la diferenciación y desarrollo de las flores del cafeto *C. arabica* L. var. Colombia. Popayán Universidad del Cauca, 1995. 180p (Tesis: Biología).
6. CANNELL, M. G. R. Physiology of the coffee crop. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K. C. eds. *Coffee botany biochemistry and production of beans and beverage.* London, Croom Helm, 1985. p. 108-134.
7. DEDDECCA, D. M. Anatomía e desenvolvimiento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. *Bragantia* 16: 315-368. 1957.
8. ESAU, K. *Anatomy of Seed Plants.* 2ª ed. New York, John Wiley and Sons, 1977. p. 550.
9. FAHN, A. *Plant Anatomy.* 4ª ed. Jerusalén. Pergamon, Press, 1977. p. 588.
10. FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE. Cenicafé. Anuario Meteorológico 1991. Chinchiná, Cenicafé, 1992. 369 p.
11. FONNEGRA, G. R. Prácticas de Laboratorio y manejo de equipo para Microscopía Electrónica de Rastreo. Medellín, Universidad de Antioquia 1988. 61p.
12. FOURNIER, O. L. A. Desarrollo del vástago vegetativo en *Coffea arabica* L. cv. Bourbon Choussy. I. Ontogenia del ápice de la plántula. *Rev. Biol. Trop.* 12(2):237-255. 1964.
13. FOURNIER, O. L. A. Desarrollo del vástago vegetativo en *Coffea arabica* L. cv. Bourbon Choussy. II. Cambios plastocromónicos en vástagos plagiotrópico (ramas). *Rev. Biol. Trop.* 12 (2):257-273. 1964.

14. FRANCO, C.M. Fotoperiodismo em Cafeeiro *Coffea arabica* L. Revista do Instituto de Cafe. 27 (164):1586-1542.1940.
15. FREDERICO, D.; MAESTRI, M. Ciclo de crecimiento dos botoes florais *C. arabica* L. Rev. Ceres 17 (92): 172-181. 1970.
16. GOPAL, N.H.; VASUDEVA, N. Physiological studies of flowering in arabica coffee under South Indian conditions. I. Growth of flower buds and flowering. Turrialba 23 (2): 146-153. 1973.
17. GOUVEIA, N. Estudo da diferenciação e crescimento de gemas florais de *Coffea arabica* L. Observações sobre antese e maturação dos frutos. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia, 1984. 221p. (Tese Mestre em Ciências).
18. MERCER, E.H.; BIRBERK, H.S.C. Manual de Microscopia Electrónica para Biólogos, Madrid, Blume, 1974. 85 p.
19. MES, M.G. Studies on the flowering of *Coffea arabica* L. Portugaliae Acta Biológica 4 (4):328-356. 1957
20. MOENS, P. Investigaciones morfológicas, ecológicas y fisiológicas sobre cafetos. Turrialba 18(3):209-233. 1968.
21. MOENS, P. Etude ecologique du developpement generatif et vegetatif des bourgeons de *Coffea canephora* Pierre(L'initiation florale). Bruselas, Institut Nacional pour L'etude Agronomique du Congo (INEAC), 1962. 103 p. (Serie Scientifique N° 96).
22. PIRINGER, A.A.; BORTHWICK, H.A. Photoperiodic responses of coffee. Turrialba 5 (3): 72-77. 1955.
23. RAYNER, R.W. Growth and bearing habits of *Coffea arabica* in Kenya and in Southern India. The East African Agricultural Journal 11(4):251-255.1946.
24. RAYNER, R.W. A progress report of investigations on flowering in coffee. Coffee Board of Kenya. Monthly Bulletin 7:42-44.1942.
25. RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do Cafeiro. In: SIMPOSIO sobre fatores que afetam a produtividade do cafeeiro. Pocos de Caldas 5-9 de Novembro de 1984. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1984. Vol. 2. p. 1- 87.
26. RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. Informe agropecuario 11 (126): 26-40. 1985.
27. SALAZAR, G.M.R. Estudio anatómico y fisiológico del fruto del café *Coffea arabica* L. Var. Colombia. Popayán, Universidad del Cauca. 1993. 98p (Tesis de Licenciada en Biología).
28. SCHUCH, U.K.; FUCHIGAMI, L.H. Flowering Ethylene Production and Ion Leakage of Coffee in Response to Water Stress and Giberellic Acid. J. Am. Hort. Sci. 117 (1): 158-163. 1992.
29. STERLING, C. The primary body of the shoot of *Dianthera americana*. Am.J. Bot. 36(184-193). 1948.
30. SUSSEX, M., HUALA, E. Determination and Cell Interactions in Reproductive Meristems. The plant Cell 5: 1157-1165. 1993
31. VASUDEVA, N.; RAMAIAH, P. K. The growth and development of arabica coffee under South Indian conditions. Journal Coffee Research 9 (2): 35-45. 1979.
32. WORMERT, T.M., GITUANJA, J. Floral initiation and flowering of *C. arabica* L. in Kenya. Exp. Agri 6:157-170 1970.