

DESCRIPCION HISTOLOGICA DEL EMBRION DE CAFE 1/

María Isabel Arcila Pulgarín*
Francisco Javier Orozco-Castaño**

RESUMEN

Como un complemento del estudio morfológico del embrión de café se midieron y describieron los tejidos internos del mismo, en las especies *C. arabica* variedad caturra, *C. canephora* y el híbrido entre ellos. Se describen y se dan las medidas de cada uno de los tejidos del hipocotilo (cutícula, epidermis, corteza, anillo vascular y médula) y de los cotiledones (cutícula, epidermis superior e inferior, mesófilo y haces vasculares) para las distintas fases y estados de crecimiento. El diámetro del hipocotilo es similar para ambas especies. Existen diferencias entre las especies en el diámetro de la médula siendo mayor en *C. canephora* y en el espesor de la corteza que es un poco mayor en Caturra. En embriones desarrollados los cotiledones de *C. canephora* son de mayor tamaño que los de *C. arabica* y su forma es circular, la lámina foliar es más angosta. Todos los tejidos internos del hipocotilo del híbrido tienen una disposición elipsoidal. Los tejidos internos del embrión siguen un proceso gradual de diferenciación, paralelo al desarrollo externo del mismo; la diferenciación ocurre primero en el hipocotilo y posteriormente en los cotiledones. De acuerdo con las observaciones morfológicas e histológicas se postula la edad probable en la cual se alcanzaría la madurez fisiológica de los embriones de las especies observadas.

SUMMARY

ARCILA P., M. I.; OROZCO C., F. J. Descripción histológica del embrión de Café. Cenicafé (Colombia) 38(1-4):79-93. 1987.

Complementary to the morphological study of the coffee embryo, the internal tissue of same were measured and described in the species *C. arabica* variety Caturra, *C. canephora*, and a hybrid between the two. A description and measurement are given of each one of the tissues of the hypocotyl (cuticle, epidermis, cortex, vascular ring, and medule) and of the cotyledons (cuticle, upper and lower epidermis, mesophyl, and vascular bundles in the different phases and stages of growth. The diameter of the hypocotyl is similar in both species. Differences exist between the species in the diameter of the medule as it is larger in *C. canephora* and in Caturra the cortex is thicker. In developed embryos, the cotyledons of *C. canephora* are larger than those of *C. arabica* and they are circular in form. The foliar sheet is narrower. All of the internal tissues of the embryo follow a gradual differentiation process, parallel to the external development of the same; the differentiation occurs first in the hypocotyl and later in the cotyledons. According to the morphological and histological observations, the probable age in wich physiological maturity would be reached is postulated in the embryos of the species observed.

1/ Adaptación de un fragmento de la tesis presentada por el autor principal para optar al título de Ingeniera Agrónoma de la Universidad de Caldas - Manizales.

* Dirección: Carrera 21 Nro. 62-44 - Manizales.

** Asistente de la Sección de Fitomejoramiento del Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia.

INTRODUCCION

Como complemento de los estudios morfológicos del embrión de café (1) se estudiaron sus tejidos internos desde recién diferenciados como embriones hasta que ocurrió la maduración del fruto.

Existe únicamente un trabajo que describe los tejidos internos de embriones diferenciados de la variedad Típica de *C. arabica* (2) y no se encontró ningún registro histológico sobre los distintos estados de desarrollo del embrión. Los exámenes histológicos de los embriones en desarrollo pueden dar un indicio del grado de madurez fisiológica en que se encuentren éstos.

En el presente trabajo se describen las características de cada uno de los tejidos constitutivos de los embriones de las especies *C. arabica* variedad Caturra y *C. canephora*, a partir del estado de embrión recién diferenciado.

MATERIALES Y METODOS

En la colección de especies y variedades de café de Cenicafé, Chinchiná, se seleccionaron en épocas de floración, ramas de árboles de *C. arabica* variedad Caturra y de *C. canephora* y de las cuales se eliminaron todas las estructuras con excepción de los botones florales desarrollados.

En el artículo anterior (1) se describieron las distintas etapas de desarrollo del embrión del café, las cuales se resumen en la figura 4 del mismo, en el cual se determinaron cuatro fases definidas durante el crecimiento. En este trabajo, para el estudio histológico se hicieron cortes transversales en el hipocotilo y los cotiledones de embriones en las fases III y IV, es decir, a partir de 120 y 150 días después de la antesis, para las variedades Caturra y para *C. canephora* respectivamente y hasta la maduración del fruto, tomando mensualmente entre 20 y 30 embriones de cada especie.

En cada embrión se midieron las longitudes del hipocotilo y de los cotiledones en milímetros, se realizaron cortes transversales en la zona media del hipocotilo y en la parte más ancha de los cotiledones (Figura 1) los cuales se tiñeron con acetocarmín durante 2 a 3 minutos y posteriormente se conservaron en glicerina al 20%. Se observaron a través del microscopio los tejidos internos del embrión y se describió la organización celular y la forma y disposición de las células; con una reglilla micrométrica incorporada al ocular del microscopio, en el hipocotilo se midió: el diámetro total del mismo, el espesor de la corteza,

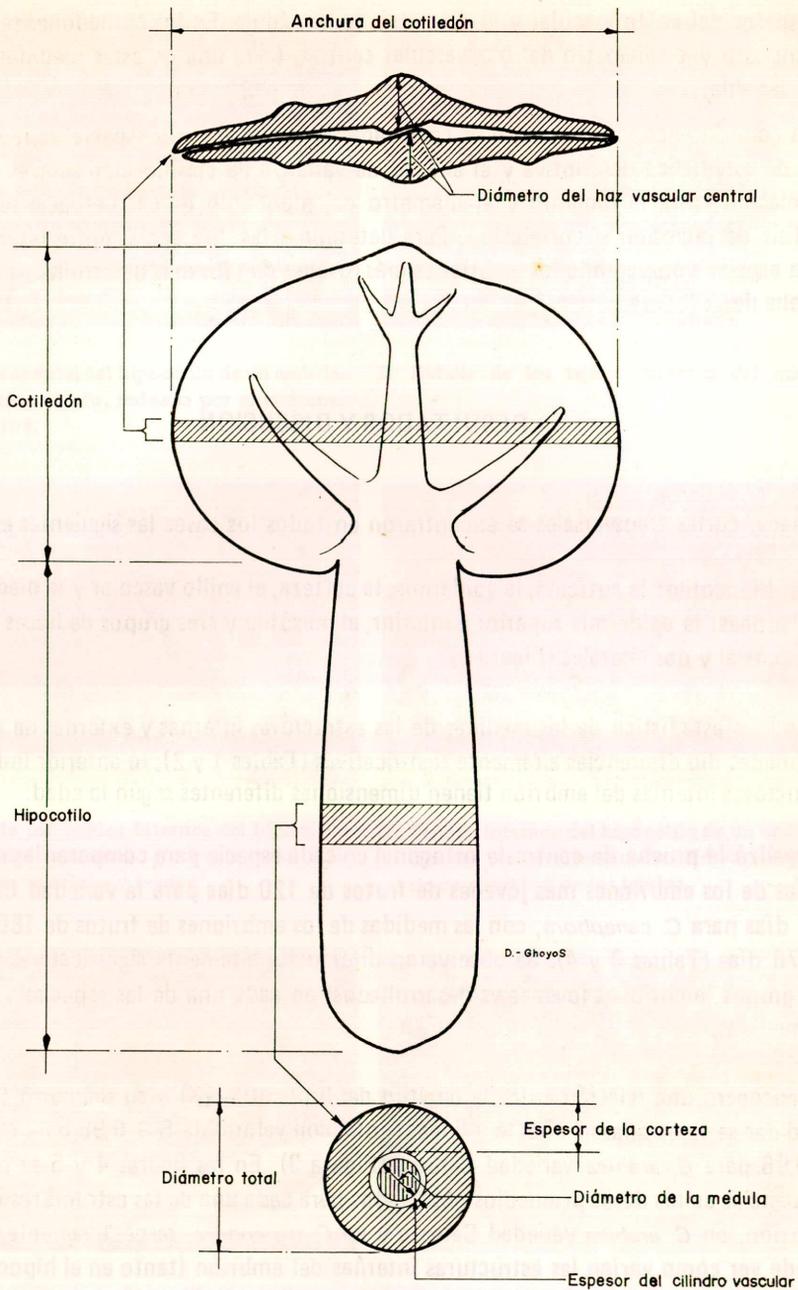


FIGURA 1. Esquema que muestra las dimensiones tomadas en el embrión y en los cortes transversales hechos en el hipocotilo y en los cotiledones.

el espesor del anillo vascular y el diámetro de la médula. En los cotiledones se determinó la anchura y el diámetro del haz vascular central. Cada una de estas medidas conformó una variable.

Para conocer el comportamiento de cada variable por edad y por especie, se realizó el análisis de estadística descriptiva y el análisis de varianza de clasificación simple. Para medir la relación entre la longitud y el diámetro del hipocotilo en cada especie se empleó el análisis de regresión y correlación. Para determinar las diferencias entre las variables de cada especie comparando los embriones más jóvenes con los más desarrollados se aplicó la prueba de "t".

RESULTADOS Y DISCUSION

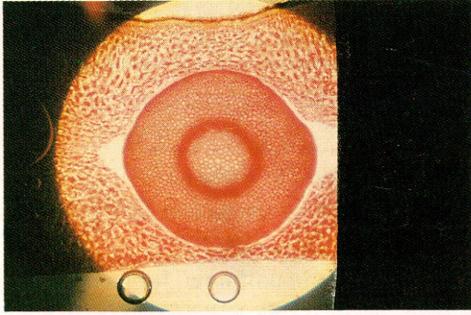
Al hacer cortes transversales se encontraron en todos los casos las siguientes estructuras:

En el hipocotilo: la cutícula, la epidermis, la corteza, el anillo vascular y la médula; en los cotiledones: la epidermis superior e inferior, el mesófilo y tres grupos de haces vasculares, uno central y dos laterales (Figura 2).

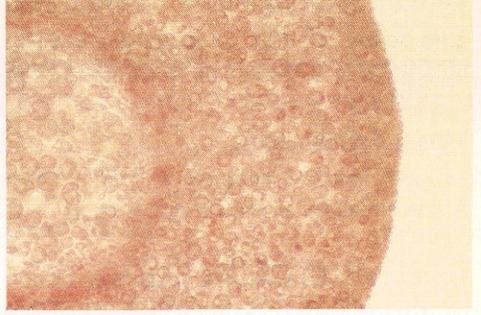
El análisis estadístico de las medidas de las estructuras internas y externas de las especies estudiadas dio diferencias altamente significativas (Tablas 1 y 2); lo anterior indica que las estructuras internas del embrión tienen dimensiones diferentes según la edad.

Se realizó la prueba de contraste ortogonal en cada especie para comparar las medidas internas de los embriones más jóvenes de frutos de 120 días para la variedad Caturra y de 150 días para *C. canephora*, con las medidas de los embriones de frutos de 180, 210, 240 y 270 días (Tablas 3 y 4). Se observaron diferencias altamente significativas entre estos dos grupos (embriones jóvenes vs desarrollados) en cada una de las especies y para todas las medidas.

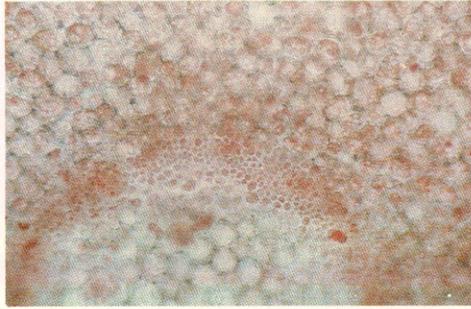
Se encontró una relación entre la longitud del hipocotilo (X) y su diámetro (Y) y ambas medidas se relacionaron directa y linealmente, con valores de $R = 0,98$ para *C. canephora* y $0,96$ para *C. arabica* variedad Caturra (Figura 3). En las figuras 4 y 5 se observan las tendencias de los datos promedios observados para cada una de las estructuras internas del embrión, en *C. arabica* variedad Caturra y en *C. canephora*, respectivamente; en ellas se puede ver como varían las estructuras internas del embrión (tanto en el hipocotilo como en los cotiledones) según la edad. Para ambas especies se observó que todas las dimensiones internas son más pequeñas en los embriones recién diferenciados (fase III) que en los embriones completamente diferenciados (fase IV) en los cuales las medidas se mantienen



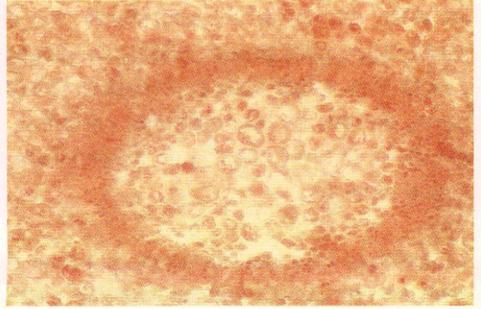
A: Corte transversal del hipocotilo de un embrión recién diferenciado, rodeado por el endosperma. Caturra.



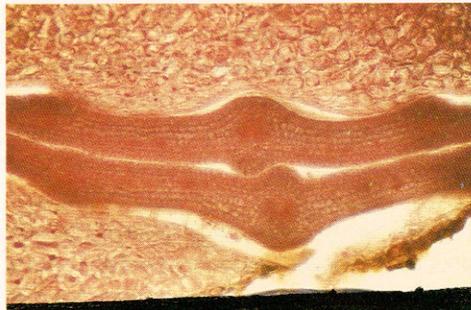
B: Detalle de los tejidos internos del mismo.



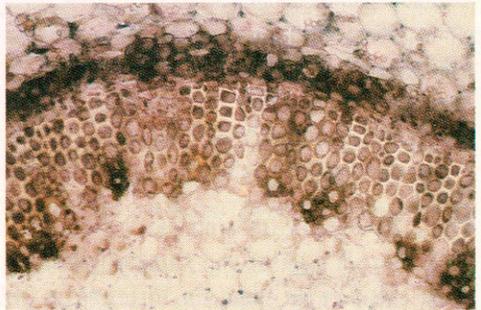
C: Detalle de los tejidos internos del hipocotilo de un embrión maduro. Nótese la mejor diferenciación de células y tejidos.



D: Tejidos internos del hipocotilo de un embrión híbrido recién diferenciado. Nótese la disposición elipsoidal de los tejidos.



E: Corte transversal de los cotiledones diferenciados de *C. arabica*.



F: Corte transversal del tallo primario de una plántula cotiledonar, con mayor organización de los tejidos.

FIGURA 2. TEJIDOS INTERNOS DEL EMBRION DE *C. arabica*, DE *C. canephora* Y DEL HIBRIDO ENTRE ESTAS DOS ESPECIES.

con muy pocas variaciones; en *C. arabica* a partir de los 150 días y en *C. canephora* después de los 180 días. La longitud y la anchura de los cotiledones muestran dimensiones similares, lo cual indica que su forma es circular.

Tejidos del hipocotilo.

A continuación se describen las características de cada uno de los tejidos del hipocotilo.

La cutícula: Es una capa delgada de células hialinas de tamaño uniforme, forma rectangular y paredes muy delgadas. Es visible en embriones de frutos de 120 días en la variedad Caturra y de 150 días en *C. canephora*; desde estas edades hasta la maduración de los frutos no se observan modificaciones en esta estructura.

La epidermis: Es una capa de células ubicada en la parte interna de la cutícula. Las células están dispuestas uniformemente, son de forma poligonal regular en su sección transversal, de paredes gruesas, altamente vacuoladas y de mayor tamaño que las de la cutícula. Las características de la epidermis son similares en todos los estados diferenciados del embrión, aunque en los embriones extraídos de frutos que se acercan a la madurez, la epidermis se observa claramente diferenciada dentro de los demás tejidos del hipocotilo, en ambas especies.

La corteza: Está compuesta de una serie de capas de células de paredes delgadas con núcleos visibles. En *C. arabica* variedad Caturra, en los embriones provenientes de frutos de 120 días de edad, la corteza y la epidermis tienen un espesor promedio de 0,19 mm y están constituidas por 8 a 10 capas de células de forma redondeada, altamente vacuoladas y no dejan ver espacios intercelulares. En embriones de frutos de 150 días la corteza está formada por 12 a 13 capas de células con espesor promedio de 0,26 mm, altamente vacuoladas, con espacios entre las células. En frutos de 180 y 210 días los hipocotilos tienen una corteza de 0,28 mm de espesor (Tabla 1), la forma de las células es más definida, tienen paredes delgadas y forma poligonal, con núcleo notorio, altamente vacuoladas y con espacios intercelulares (Figuras 2A y 2B).

En *C. canephora* los embriones extraídos de frutos de 150 días tienen una corteza de 0,15 mm de espesor con características similares a las descritas para la variedad Caturra a los 120 días de edad. En frutos entre 180 y 370 días, la corteza tiene un espesor entre 0,22 y 0,25 mm. Está formada por 12 a 14 capas de células que con la madurez del embrión adquieren una forma poligonal más definida, de paredes delgadas, altamente vacuoladas y con núcleos visibles.

TABLA 1. MEDIDAS EXTERNAS E INTERNAS DEL EMBRION DE *Coffea arabica* VARIEDAD CATURRA DE DIFERENTES EDADES.

Edad del fruto (Días)	H i p o c o t i l o (mm)					C o t i l e d ó n (mm)		
	Longitud	Diámetro total	Espesor de la corteza	Espesor del anillo vascular	Diámetro de la médula	Longitud	Anchura	Diámetro del haz vascular central
120								
\bar{X}	1,76	0,65	0,19	0,04	0,19	0,74	0,92	0,19
C.V.	11,42	8,10	9,48	12,11	7,77	17,67	12,42	9,69
150								
\bar{X}	2,89	0,84	0,26	0,04	0,22	1,92	1,67	0,22
C.V.	5,19	7,25	15,32	13,44	6,47	10,76	12,85	17,54
180								
\bar{X}	2,80	0,86	0,29	0,03	0,23	1,79	1,65	0,22
C.V.	7,62	5,44	10,80	23,53	9,88	10,45	12,27	9,39
210								
\bar{X}	2,67	0,88	0,28	0,04	0,23	1,73	1,69	0,22
C.V.	7,65	3,61	6,37	9,66	8,33	14,65	11,31	9,47

El anillo vascular: Está formado por una serie de tubos de conducción dispuestos alrededor de la médula. En *C. arabica* var. Caturra, en los embriones de frutos de 120 días de edad, este anillo se presenta continuo y en él no se diferencia ningún tipo de haces (Figura 2B); para embriones de frutos de 150, 180 y 210 días el anillo tiene un espesor aproximado de 0.04 mm, son más diferenciados y se observan pequeños grupos de células que empiezan a definir los verdaderos haces. En frutos de 180 días de edad los embriones presentan el anillo con haces más definidos. En los embriones de frutos maduros se observa la formación de los haces vasculares con conductos de paredes delgadas, dispuestos en grupos a lo largo del anillo, rodeados por otros conductos de paredes gruesas y de mayor tamaño (Figura 2C). No obstante los haces vasculares no están definidos como en las plántulas cotiledonares (Figura 2F).

En *C. canephora* los embriones provenientes de frutos de 150 días de edad tienen el cilindro vascular de apariencia similar a los de la variedad caturra. El espesor del anillo vascular en embriones de cualquier edad fluctuó entre 0.03 y 0.04 mm, en ambas especies (Tablas 1 y 2).

TABLA 2. MEDIDAS EXTERNAS E INTERNAS DEL EMBRION DE *Coffea canephora* DE DIFERENTES EDADES.

Edad del fruto (Días)	Hipocotilo (mm)					Cotiledón (mm)		
	Longitud	Diámetro total	Espesor de la corteza	Espesor del anillo vascular	Diámetro de la médula	Longitud	Anchura	Diámetro del haz vascular central
150								
\bar{X}	1,82	0,58	0,15	0,03	0,20	0,68	0,64	0,11
C.V.	24,28	12,23	12,10	12,85	17,67	26,39	20,76	52,02
180								
\bar{X}	3,10	0,81	0,22	0,04	0,27	1,99	1,95	0,20
C.V.	4,49	6,15	12,77	34,18	10,50	8,85	15,42	16,06
210								
\bar{X}	3,25	0,85	0,24	0,03	0,28	2,27	2,18	0,23
C.V.	7,95	5,47	8,09	29,36	8,29	10,27	11,10	14,80
240								
\bar{X}	3,39	0,83	0,23	0,03	0,29	2,20	2,12	0,23
C.V.	11,07	6,06	9,60	25,44	5,48	12,22	9,87	11,70
270								
\bar{X}	3,36	0,88	0,25	0,04	0,29	2,32	2,32	0,22
C.V.	10,85	4,92	7,39	14,57	9,14	8,34	7,49	5,57

La médula: La constituye el tejido central del hipocotilo; consta de 5 a 6 capas de células sin espacios entre sí; en la periferia está formada por células muy pequeñas de forma irregular y en el centro por células más definidas, grandes, de paredes gruesas y de forma poligonal. (Figuras 2B y 2C). En la variedad Caturra los embriones de los frutos de 150 días de edad tienen la médula con diámetro de 0,19 mm; las células no presentan vacuolas ni núcleos visibles. En frutos de 150, 180 y 210 días de edad, de la misma variedad, los embriones tienen una médula de 0,23 mm de diámetro y células altamente vacuoladas y sin núcleos visibles (Tabla 1).

En *C. canephora* la médula tiene las mismas características anteriores, sólo que en los frutos de 150 días de edad no presenta vacuolas visibles y tuvieron un diámetro promedio de 0,2 mm. En frutos de 180, 210, 240 y 270 días de edad tienen un diámetro entre 0,27 mm y 0,29 mm y sus células son altamente vacuoladas (Tabla 2).

TABLA 3. ANALISIS DE VARIANZA DE LAS MEDIDAS EXTERNAS E INTERNAS DEL EMBRION DE *C. arabica* VARIEDAD CATURRA.

F. de V.	G. L.	Hipocotilo (mm)					Cotiledón (mm)		
		Longitud	Diámetro total	Espesor de la corteza	Espesor del anillo vascular	Diámetro de la médula	Longitud	Anchura	Diámetro del haz vascular central
		CM							
Edades	3	5,48**	0,23**	0,04**	0,001**	0,007**	5,84**	2,80**	0,04**
120 vs resto	1	15,96**	0,67**	0,10**	0,00004**	0,20**	17,17**	8,39**	0,01**
Residuo	2	0,25**	0,007	0,006**	0,0016**	0,00002	0,18**	0,0005	0,50**
Error	76	0,03	0,003	0,0008	0,00003	0,003	0,03	0,03	0,007
TOTAL	79								

** Altamente significativo.

TABLA 4. ANALISIS DE VARIANZA DE LAS MEDIDAS EXTERNAS E INTERNAS DEL EMBRION DE *C. canephora*.

F. de V.	G.L.	Hipocotilo (mm)					Cotiledón (mm)		
		Longitud	Diámetro total	Espesor de la corteza	Espesor del anillo vascular CM	Diámetro de la médula	Longitud	Anchura	Diámetro del haz vascular central
Edades	4	8,73**	0,29**	0,03**	0,0004**	0,03**	9,51**	9,42**	0,0042**
150 vs resto	1	33,92**	1,11**	0,12**	0,0002	0,12**	36,72**	36,31**	0,054**
Residuo	3	0,34	0,01**	0,0015	0,0005**	0,002	0,449**	0,429**	0,014**
Error	95	0,11	0,002	0,0005	0,0001	0,0007	0,045	0,04	0,0008
TOTAL	99								

** Altamente significativo.

Diámetro del hipocotilo
(mm)

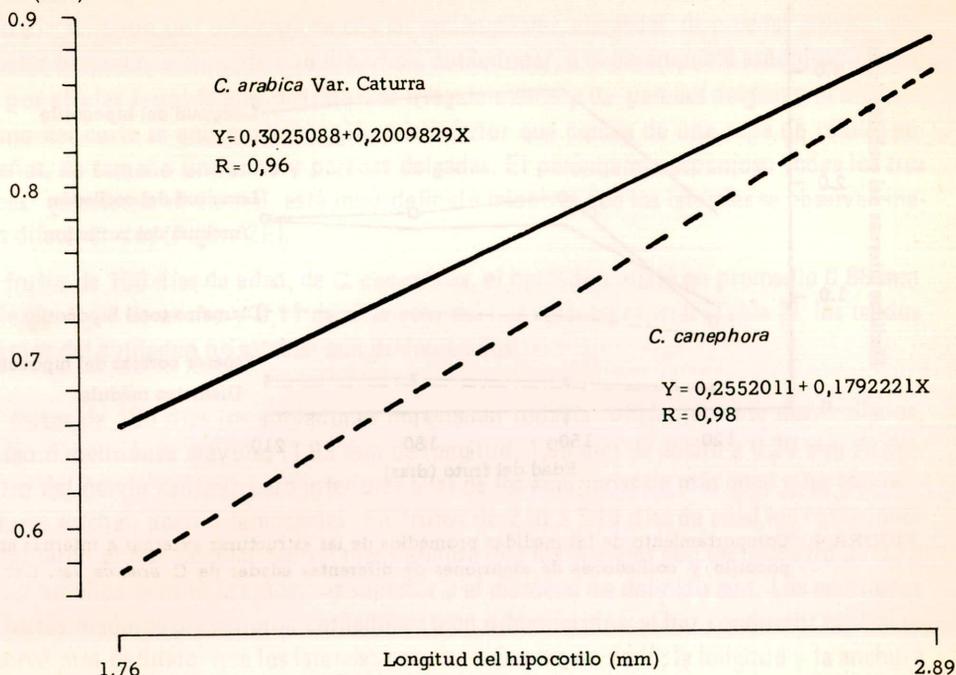


FIGURA 3. Relación entre las medidas del hipocotilo para *C. arabica* var. Caturra y *C. canephora*

Tejidos de los cotiledones

Los cotiledones presentan la siguiente constitución:

En *C. arabica* variedad Caturra, en los frutos de 120 días de edad los cotiledones tienen tres grupos de haces vasculares (nervaduras), aunque sus tejidos internos no se diferencian. La longitud y la anchura promedio de los cotiledones fueron de 0,74 y 0,92 mm, respectivamente y el diámetro del haz vascular central fué de 0,19 mm (Tabla 1).

En frutos de 150, 180 y 210 días de edad, los cotiledones tienen las siguientes dimensiones promedio: 1,81 mm de longitud, 1,66 mm de anchura y 0,22 mm de diámetro del nervio central. Los embriones provenientes de frutos maduros (210 días) presentan los cotiledones con tejidos diferenciados, una cutícula hialina muy definida formada por célu-

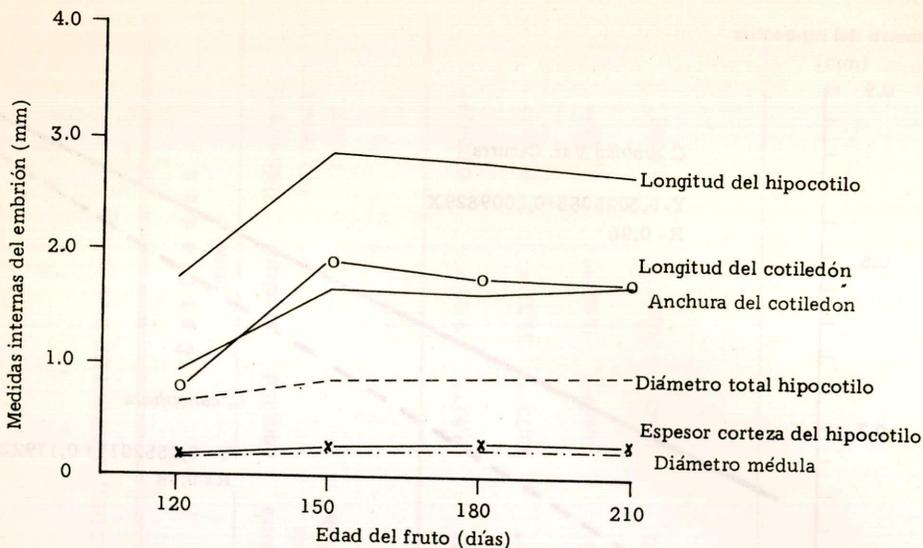


FIGURA 4. Comportamiento de las medidas promedio de las estructuras externas e internas en hipocotilo y cotiledones de embriones de diferentes edades de *C. arabica* var. Caturra.

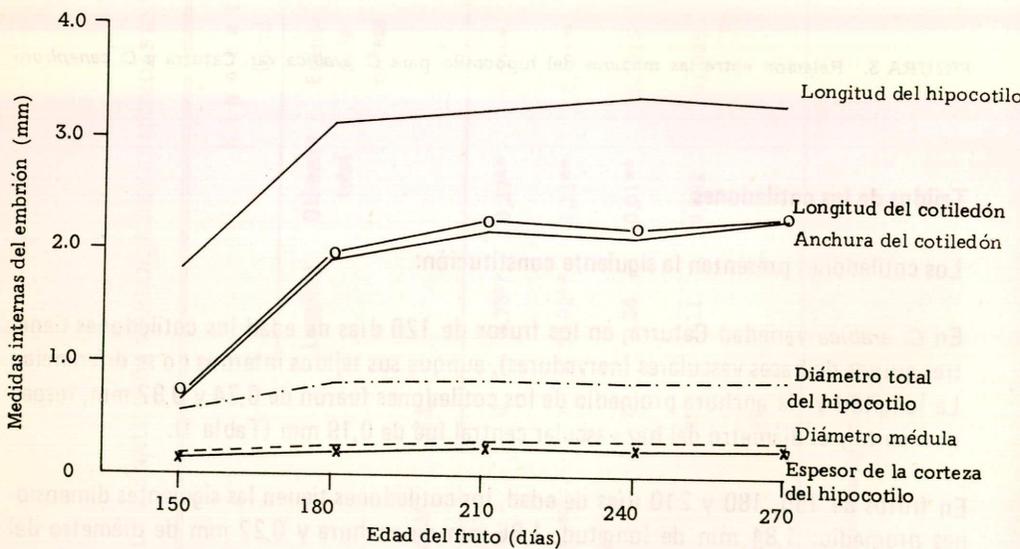


FIGURA 5. Comportamiento de las medidas promedio de las estructuras externas e internas en hipocotilo y cotiledones de embriones de diferentes edades de *C. canephora*.

las rectangulares y la epidermis superior formada por una serie de células de tamaño regular de paredes gruesas; luego se encuentra el mesófilo con sus partes, el parénquima de empalizada formado por una capa de células rectangulares, alargadas, de paredes gruesas, dispuestas perpendicularmente a la superficie cotiledonar, y el parénquima esponjoso formado por células redondeadas distribuidas irregularmente y de paredes delgadas; al otro extremo del corte se encuentra la epidermis inferior que consta de una capa de células pequeñas, de tamaño uniforme y paredes delgadas. El parénquima esponjoso rodea los tres haces vasculares: el central, está muy definido mientras que los laterales se observan menos diferenciados (Figura 2E).

En frutos de 150 días de edad, de *C. canephora*, el cotiledón midió en promedio 0,68 mm de largo, 0,64 de ancho y 0,11 de diámetro del haz vascular central (Tabla 2); los tejidos internos del cotiledón no estaban aún diferenciados.

En frutos de 180 días los cotiledones no estaban todavía suficientemente desarrollados, tenían dimensiones mayores (1,99 mm de longitud, 1,95 mm de ancho y 0,20 mm de diámetro del nervio central) pero inferiores a las de los embriones de más edad y las tres nervaduras estaban poco diferenciadas. En frutos de 210 a 240 días de edad los cotiledones presentaron el haz vascular central más definido que los laterales con un diámetro de 0.23 mm y en ellos se notó la epidermis superior y el mesófilo no definido aún. Los embriones de frutos maduros presentaron cotiledones bien diferenciados; el haz conductor central se observó más definido que los laterales pero su diámetro no varió; la longitud y la anchura fueron iguales (2.32 mm) y externamente están rodeados por la cutícula que es una capa hialina y delgada; por la epidermis superior formada por una capa de células regulares de tamaño mediano y de paredes gruesas, por el mesófilo en el que se distinguen el parénquima de empalizada y esponjoso con características similares a las descritas en la variedad Caturra; la epidermis inferior está formada por una capa de células de tamaño menor a las de la epidermis superior y de paredes delgadas.

En general, en *C. arabica* var. Caturra y en *C. canephora*, los cotiledones se desarrollan más lentamente que el hipocotilo. En embriones de *C. arabica* de 150 días los tejidos internos del hipocotilo están bien diferenciados, en tanto que en los cotiledones apenas están empezando su diferenciación.

Comparación de las estructuras internas del embrión, entre especies

En embriones con edades relativamente iguales, el diámetro total del hipocotilo es similar, 0,6 mm para embriones jóvenes y 0,9 mm para embriones maduros de ambas especies.

Existen diferencias entre las especies en: el diámetro de la médula que mide 0,3 mm en *C. canephora* en promedio para todas las edades y 0,2 mm en *C. arabica* variedad Caturra,

y el espesor de la corteza es un poco mayor en los embriones desarrollados en *C. canephora* y además de forma circular. El haz vascular central tiene un diámetro similar en las dos especies pero la lámina foliar es más angosta en *C. canephora*.

Descripción histológica del embrión del híbrido

La sección transversal del hipocotilo es de forma elipsoidal (Figura 2D). Todos los tejidos presentaron esta disposición y es especialmente notoria en el anillo de los haces vasculares.

El desarrollo de los tejidos internos del hipocotilo sigue un patrón similar al de los progenitores y alcanza la madurez alrededor de los 180 días.

El desarrollo de los cotiledones es irregular y lento en los primeros estados, antes de los 180 días de edad de los frutos. Cuando han alcanzado algún grado de madurez los tejidos internos son similares a los de los progenitores, con algunas irregularidades en la distribución celular y la forma de los cotiledones (Figura 5A (1)).

Dedecca (2) afirmó que los embriones bien desarrollados externamente presentaban sus tejidos internos poco diferenciados. Los resultados del presente estudio permiten concluir que los tejidos internos del embrión siguen un proceso gradual de diferenciación, paralelo al desarrollo externo del mismo, sin alcanzar, claro está, la organización de las células y tejidos de una plántula recién germinada (Figura 2F). El hipocotilo se diferencia antes que los cotiledones.

Las observaciones de los tejidos internos del embrión en complemento con el comportamiento morfológico del mismo (1), indican que los embriones en el inicio de la fase IV, a pesar de tener una morfología y tamaño que llevarán hasta la maduración, poseen tejidos internos no aptos aún para originar una planta por los métodos convencionales, no están maduros morfológicamente y especialmente es muy notorio el escaso desarrollo de los tejidos internos del cotiledón en comparación con los del hipocotilo. Después de la mitad de esta última fase podría encontrarse la madurez fisiológica del embrión de café, para *C. arabica* variedad Caturra en embriones con aproximadamente 180 días y en *C. canephora* en embriones con 240 días, es decir, un mes o mes y medio antes de la maduración de los frutos respectivamente.

CONCLUSIONES

La evolución y las dimensiones internas del embrión están directamente relacionadas con las fases de desarrollo del embrión descritas por Arcila y Orozco (1).

- Los tejidos internos del hipocotilo del embrión de las dos especies estudiadas, están en disposición circular y los del híbrido en disposición elipsoidal.
- Se corrobora al observar los tejidos internos en la fase IV que el desarrollo del embrión termina antes que la maduración del fruto, por tanto la madurez fisiológica del embrión ocurre antes de la maduración del fruto.

BIBLIOGRAFIA

1. ARCILA P., M. I.; OROZCO C., F. J. Estudio morfológico del desarrollo del embrión en café. Cenicafé (Colombia) 38(1-4): 77 - 93. 1987.
2. DEDECCA, D. M. Anatomía e desenvolvimiento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. Bragantia (Brasil) 16(23):315-366. 1957.