

Desarrollo del vástago vegetativo en *Coffea arabica* L. cv. bourbon Choussy. IV. Desarrollo del procambium y los tejidos vasculares de la hoja.

por

Luis A. Fournier O.**

(Recibido para su publicación el 18 de Agosto de 1965)

El desarrollo de los tejidos vasculares de la hoja ha sido estudiado relativamente poco, aunque en los últimos años el xilema ha recibido la atención de varios investigadores (FOSTER, 3, 4; PRAY 8, 9, 10, 11; SLADE 12, 13).

FOSTER (4) describió el origen y el desarrollo del retículo de procambium y del parénquima intervenoso en la lámina de la hoja de *Quina pteridophylla*, una planta del Brasil. PRAY (9, 10) ha llevado a cabo estudios similares en *Liriodendron tulipifera* y *Hosta caerulea*, y SLADE (12, 13) en *Cercis siliquastrum*, *Prunus serrulata* y *Liriodendron tulipifera*.

MOENS (7), en un artículo reciente, describió con bastante detalle algunos aspectos de desarrollo del procambium y del xilema en la hoja de *Coffea canephora*; ciertas observaciones de este trabajo serán consideradas más adelante.

El propósito de este trabajo es presentar algunas observaciones sobre el desarrollo de los tejidos vasculares en las venas central y subsidiarias de la lámina foliar de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy. El conocimiento de la ontogenia de estos tejidos de la hoja es importante para una mejor comprensión de muchos problemas, tanto taxonómicos como fisiológicos.

MATERIALES Y METODOS

Los primordios foliares y las hojas utilizadas en esta investigación fueron obtenidos de plántulas de café desarrolladas en los invernaderos del Departamento

* Este trabajo es parte de una tesis presentada a la División Graduada de la Universidad de California, para la obtención del grado de "Doctor of Philosophy" en Botánica.

** Departamento de Biología, Universidad de Costa Rica.

de Botánica de la Universidad de California en Davis, y de plantas adultas cultivadas en Villa Colón, Costa Rica.

Se fijó el material en FAA, según JOHANSEN (6), y luego se pasó a una solución del 50% de alcohol etílico. Parte de él se deshidrató en una serie de alcohol butílico terciario, y se infiltró con "Tissuemat" (parafina de 55° de punto de fusión). El material restante fue diafanizado de acuerdo con el método descrito por FOSTER (5), que permite estudiar el tejido vascular de los órganos vegetales sin seccionar. Sin embargo, en este caso no se hizo uso de ningún colorante, sino que las hojas se montaron tal como quedaron al final de la diafanización.

Del material infiltrado con parafina se hicieron cortes paradérmicos y longitudinales de un espesor de 8-10 μ , que fueron posteriormente teñidos con hematoxilina-safranina-verde rápido, y en algunos casos con ácido tánico y azul de anilina (1), para el estudio de las venas terminales.

OBSERVACIONES

En primordios foliares jóvenes, tales como los de las figuras 1 y 2 (297 y 450 μ de altura respectivamente), no se observa aún ninguna diferenciación de elementos de xilema. Sin embargo, en el más alto de los primordios (Fig. 2), se presenta ya un cordón continuo de floema.

En un primordio foliar más desarrollado que los anteriores (Fig. 3, 1040 μ de altura) sí es posible observar ya el primer "polo de diferenciación del xilema", que se compone de dos cordones interrumpidos. Parece ser que el cordón de xilema más cercano al floema (a), se originó antes que el otro (b), sin embargo ambos están, probablemente, diferenciándose tanto en forma acrópeta como basípeta.

En un corte paradérmico de un primordio foliar (Fig. 8), comparable al de la figura 3, se observa el procámbium diferenciado en forma continua en algunas de las venas secundarias de la lámina de la hoja (LV). Las venas secundarias en las que el procámbium se ha desarrollado más son aquellas que se encuentran a lo largo del tercio medio de la hoja, región en que se observó (Fig. 3) el primer "polo de diferenciación del xilema". En esta misma zona se han diferenciado ya las primeras venas marginales (Fig. 8, MV), las que junto con las secundarias sirven de límite a los campos intercostales (IF).

La diferenciación del procámbium en las venas marginales tiene lugar en forma acrópeta a partir de las venas secundarias inferiores de los campos intercostales, y en forma basípeta a partir de las venas secundarias superiores de estos campos.

En las venas terciarias (TV), la diferenciación del procámbium se inicia en las venas secundarias y en las marginales, y de ahí se continúa hacia el centro de los campos intercostales. Cuando dos venas terciarias se unen delimitan una areola (Fig. 8, A, una porción de un campo intercostal), especialmente cuando una de ellas proviene de una vena secundaria y la otra de una marginal. Sin embargo, existen casos en que la diferenciación casi simultánea del procám-

bium en dos venas terciarias, una proveniente de la secundaria superior y otra de la secundaria inferior determina, cuando las terciarias se unen, sólo uno de los límites de la areola.

Si se observa un primordio foliar en el que la actividad de los meristemas apicales ha cesado (Fig. 4, nótese el penacho de pelos en el extremo del primordio) se notarán aun sólo dos cordones de xilema (a y b) a lo largo de la nervadura central. El cordón de xilema más cercano al floema (a), se ha unido ya al xilema de la traza vascular (T), pero en el otro cordón (b), el xilema se está diferenciando aun en forma acrópeta y basípeta. El cordón de floema de este primordio ha sido sobrepasado en su desarrollo por el xilema (nótese la posición inferior que ocupaba el xilema con respecto al floema en la figura 3).

En un primordio foliar diafanizado de 2560 μ de altura (Fig. 5), se observan tres cordones de xilema bien diferenciados a lo largo de la nervadura central (a, b y c). Dos de estos cordones (a y b) son continuos casi hasta la base de algunos de los pelos del extremo superior del primordio, pero el otro (c), no alcanza más allá del tercio medio. A ambos lados de estos cordones de la nervadura central, se observan nuevos "polos de diferenciación de xilema" (OP). En la mitad izquierda de la figura se observa ya el inicio de la diferenciación del xilema en las venas secundarias. La manera en que se lleva a cabo la diferenciación del xilema en las venas secundarias es variable; en algunos casos los primeros elementos se presentan en forma perpendicular a la vena central (Fig. 10, D₁), pero a veces éstos se desarrollan en forma paralela a esta nervadura (Fig. 10, D₂). El mismo fenómeno fue observado por MOENS (7) en *Coffea canephora*.

Después de la aparición de los primeros elementos de xilema en las venas secundarias, la diferenciación del xilema continúa en forma acrópeta hacia el margen de la lámina, y basípeta hacia la vena central y a lo largo de ella.

En un corte paradérmico (Fig. 9) de un primordio de la misma altura del de la figura 5 se observa un aumento notable tanto en el número de capas de células de procámbium en las diferentes venas, como en el área de los campos intercostales y de las areolas. Algunas venas cuaternarias han comenzado a diferenciarse a partir de las terciarias, lo mismo que algunas venas intermedias a lo largo de la vena central.

De aquí en adelante se usará en las descripciones el término hoja joven, en lugar de primordio foliar. Es necesaria esta sustitución de términos, ya que la hoja en desarrollo presenta en este estado ontogenético algunos cambios notables, tales como aumento en tamaño de la lámina, inicio del desarrollo del xilema en las venas secundarias, y cese completo del crecimiento apical.

La vena central de una hoja joven de 5.612 μ de longitud (Fig. 6) contiene siete cordones de xilema más o menos diferenciados. Dos de ellos (a y b) son continuos desde la base de la hoja hasta su extremo superior; (c) es también continuo hasta la parte inferior del tercio medio de la hoja, en donde se desvía hacia una vena secundaria. Otro de los cordones de xilema de la nervadura central (d) está interrumpido en el tercio medio de la hoja, y como al anterior (c), se desvía hacia una vena secundaria en la parte inferior del tercio

superior. Dos de los tres cordones restantes (F y G) son continuos hasta el tercio medio de la hoja, mientras que el último (E) alcanza una altura un poco mayor que aquéllos, y luego se desvía hacia una vena secundaria.

En la misma figura 6 se observa que en muchas de las venas secundarias (LV) se ha diferenciado ya una buena cantidad de elementos de xilema, lo mismo que en algunas venas marginales (MV). La diferenciación del xilema en las venas marginales es bidireccional: acrópeta en las venas del tercio inferior y parte del medio y basípeta en la parte superior del tercio medio y en el tercio superior.

Dos venas marginales se diferencian a partir de cada secundaria; cuando la primera de ellas se diferencia en forma acrópeta, la diferenciación de la segunda será basípeta. El número de venas secundarias presentes en esta hoja (Fig. 6) es muy similar al que muestran las hojas adultas; este hecho sugiere que una vez que se alcanza este estado de desarrollo, son muy pocas las nuevas venas secundarias que se inician.

En la figura 12 se muestra una porción del tercio medio de la lámina de una hoja joven de 1,91 cm de longitud; a lo largo de la vena central se indican sólo los cordones de xilema que están unidos a las venas secundarias. En esta figura se observa un marcado aumento en la longitud de las venas secundarias y marginales, además de una activa diferenciación del xilema en las venas terciarias e intermedias, lo mismo que en algunas cuaternarias.

La forma de diferenciación del xilema en las venas terciarias, con relación a las secundarias, es muy similar al modelo descrito para estas últimas en relación con la vena central (Fig. 11). Lo mismo se puede decir de la diferenciación del xilema en las venas cuaternarias y quinarias, pero en estas venas de menor rango, el área de contacto del xilema con el de la vena de rango superior es mucho menor que en las terciarias y secundarias (Fig. 12).

El área de las areolas se aumenta por medio de crecimiento intercalar; las areolas primarias (demarcadas por venas terciarias) llegan a dividirse con el sucesivo desarrollo de las venas de rangos menores, llegando al final del crecimiento de la hoja a presentar el aspecto de una intrincada red.

Muchas de las venas menores terminan ciegas dentro de los pequeños polígonos del retículo, y sus extremos están desprovistos de elementos de floema (Fig. 13).

DISCUSION

El modo de diferenciación del procámbium y del floema en la vena central de la hoja de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy, es muy similar al observado por MOENS (7) en *Coffea canephora*; en ambos casos la diferenciación es acrópeta y continua, a partir de la traza vascular de la hoja. Sin embargo, el xilema se inicia en forma aislada en el tercio medio del primordio.

La diferenciación de los tejidos vasculares en la lámina de la hoja sigue en términos generales el modelo descrito por PRAY (9) en *Liriodendron tulipifera*. En éste, las venas se originan en una sucesión bastante regular; primero las se-

cundarias, luego las terciarias, las cuaternarias y así sucesivamente. El resultado final de este proceso es la formación de un sistema complicado de areolas.

En café la diferenciación del procámbium de las venas secundarias ocurre primero en el tercio medio del primordio, lo que parece estar relacionado con el hecho de que es en esta área en donde se diferencia el primer xilema del nervio central.

La diferenciación interrumpida del xilema tanto en la vena central como en las otras es un hecho que ha sido observado por varios autores (2, 3, 9). DE SLOOVER (2) considera que estos cordones aislados de xilema no son centros de diferenciación, en que los elementos del xilema lleguen a unirse para formar un cordón, sino más bien niveles de menor diferenciación de los cordones más largos (que se están diferenciando ya sea en forma acrópeta o basípeta). Este mismo autor afirma que es muy difícil atribuir alguna dirección a la diferenciación de estos cordones aislados.

SLADE (12, 13) después de estudiar el desarrollo de la nervadura en la hoja de varias angiospermas, llegó a la conclusión que los cordones procambiales se rompen durante la maduración de la lámina foliar; aun en aquellas venas que ya poseen elementos de xilema diferenciados. En este estudio no se ha observado ninguna evidencia de este fenómeno. El autor considera que como las células procambiales son de carácter meristemático, y por lo tanto capaces de dividirse, es muy difícil que los cordones de procámbium tengan que romperse para crecer al mismo ritmo que el resto de la lámina.

RESUMEN

En este artículo se describen el origen y la diferenciación de los tejidos vasculares en la hoja de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy. La diferenciación del procámbium y del floema procede en forma continua y acrópeta en todas las venas, mientras que en el xilema se inicia en cordones aislados. Los primeros elementos del xilema aparecen en el tercio medio de la vena principal, la misma región en que el primer procámbium se diferencia en las venas secundarias. La diferenciación de las venas secundarias y las de rangos menores origina un complicado retículo venoso, en el cual todo aumento en área se debe a crecimiento intercalar. No se observaron elementos de floema en las terminaciones de las venas más pequeñas.

SUMMARY

The origin and differentiation of vascular tissues in the leaf of *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy is described. Procambium and phloem differentiate continuously and acropetally in all veins, whereas xylem differentiation begins in isolated strands. The first xylem elements appear in the middle third of the midvein, the same area in which first procambial strands differentiate in the secondary veins. Differentiation of secondary veins and those of lower ranks gives rise to a complicated vein network, in which all increase in size is due to intercalary growth. No phloem elements were observed in the endings of minor veins.

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su más profundo agradecimiento al Dr. Ernest M. Gifford, Jr. por sus valiosas sugerencias durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. CHEADLE, V. I., E. M. GIFFORD, JR., & KATHERINE ESAU.
1953. A staining combination of phloem and contiguous tissues. *Stain Tech.*, 28: 49-53.
2. DE SLOOVER, J.
1958. Le sens longitudinal de la differentiation du procambium et du phloem chez *Coleus*, *Ligustrum*, *Anagallis* et *Taxus*. *La Cellule*, 59: 53-202.
3. FOSTER, A. S.
1950. Morphology and venation of the leaf in *Quina acutangula* Ducke. *Am. J. Bot.*, 37: 159-171.

Figs. 1-7. Dibujos en cámara lúcida de cortes longitudinales de primordios foliares y de hojas diafanizadas de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy.

* Figs. 1-3. Cortes longitudinales de primordios foliares teñidos con hematoxilina-safranina-verde rápido $\times 80$.

Fig. 1 Un primordio de 297 μ de altura, que muestra un cordón procambial continuo.

Fig. 2. Primordio de 450 μ de altura, en el que se observa la diferenciación acrópeta y continua del floema.

Fig. 3. Primordio de 1040 μ , que muestra el primer polo de diferenciación del xilema (el contorno de los dibujos corresponde a la sección media del primordio, pero los tejidos vasculares fueron reconstruidos utilizando varias secciones).

Figs. 4-7. Primordios foliares diafanizados.

Fig. 4. Primordio de 2 mm, que muestra el desarrollo de los tejidos vasculares $\times 80$.

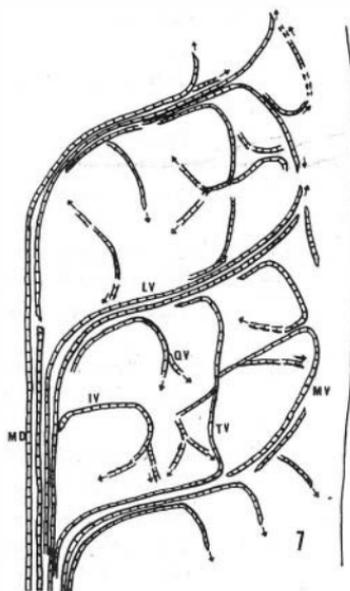
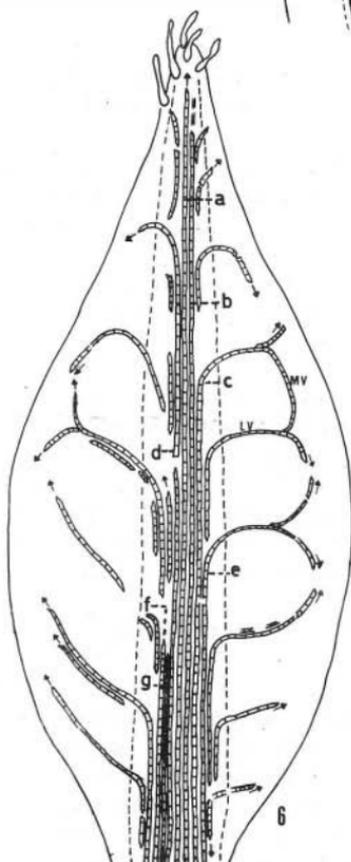
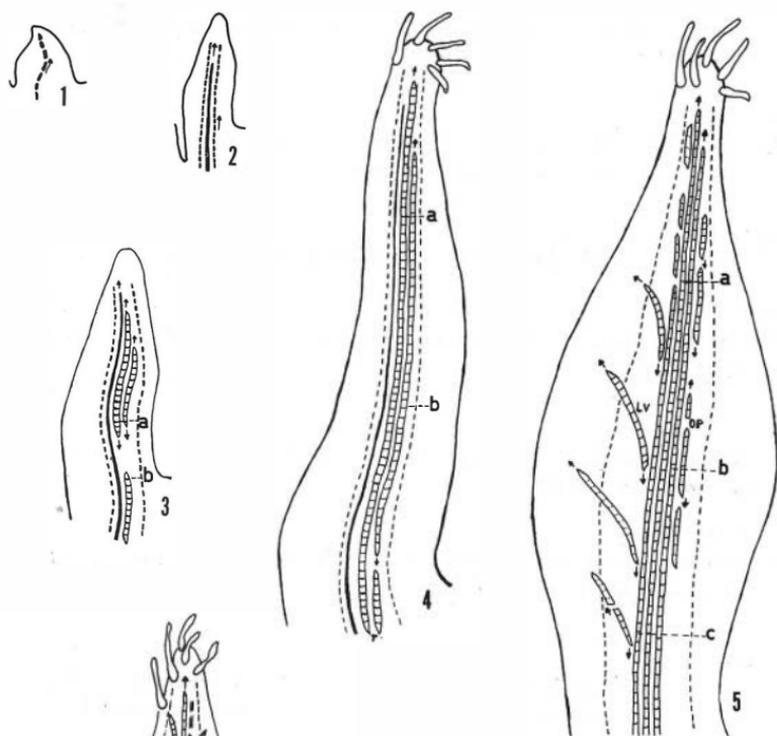
Fig. 5. Primordio de 2,58 mm, que muestra la diferenciación del xilema en las venas secundarias.

Fig. 6. Hoja de 5,612 mm de longitud en la que se observa el desarrollo del xilema en las venas secundarias y marginales, así como un aumento bastante en el número de cordones de xilema en la vena central.

Fig. 7. Porción de una hoja diafanizada de 1,195 cm de longitud que muestra la diferenciación del xilema en las venas terciarias y en las intermedias, lo mismo que un mayor desarrollo de este tejido en las secundarias (las figuras 5-7 han sido aumentadas 50 veces).

LV, venas secundarias; OP, polos de diferenciación; MV, venas marginales; IV, venas intermedias; TV, venas terciarias; QV, venas cuaternarias; MD, vena central; T, traza foliar.

La línea interrumpida representa el procambium, la negra continua el floema y la doble con barras el xilema.



4. FOSTER, A. S.
1952. Foliar venation in angiosperms from an ontogenetical standpoint. *Am. J. Bot.*, 39: 752-766.
5. FOSTER, A. S.
1953. Techniques for the study of venation patterns in the leaves of angiosperms. *Proc. 7th. Int. Bot. Congress.* (Stockholm 1950), pp. 586-587.
6. JOHANSEN, D. A.
1940. *Plant microtechniques*. McGraw-Hill Book Co. 523 pp.
7. MOENS, P.
1963. La vascularization de l'embryon et de la plantule de *Coffea canephora* Pierre. *La Cellule*. 64: 71-126.
8. PRAY, T. R.
1954. Foliar venation of angiosperms. I. Mature venation of *Liriodendron*. *Am. J. Bot.*, 41: 663-670.
9. PRAY, T. R.
1955. Foliar venation of angiosperms. II. Histogenesis of the venation of *Liriodendron*. *Am. J. Bot.*, 42: 18-27.

Figs. 8-13. Cortes paradérmicos y porciones de primordios y de hojas diafanizadas de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy.

Figs. 8-9 Cortes paradérmicos de primordios foliares teñidos con hematoxilina-safranina-verde rápido $\times 175$.

Fig. 8. Primordio comparable al de la figura 3, que muestra la diferenciación del procambium en las venas secundarias, marginales y terciarias.

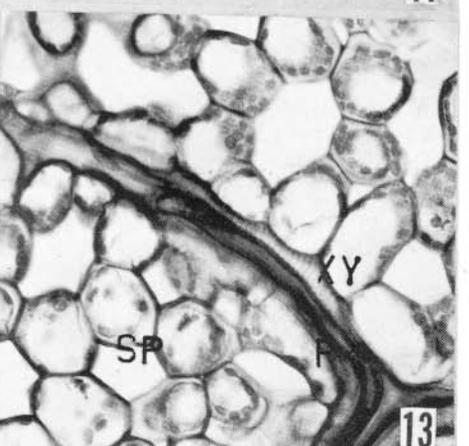
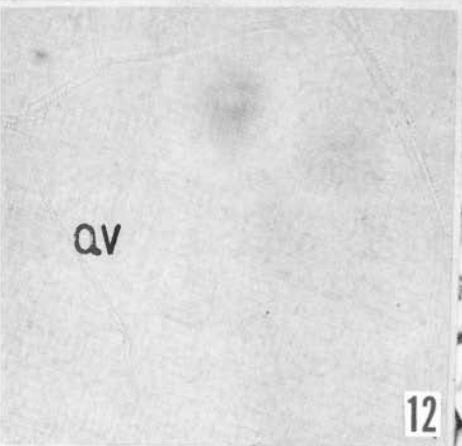
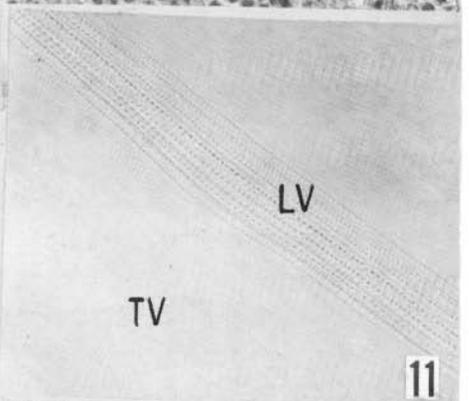
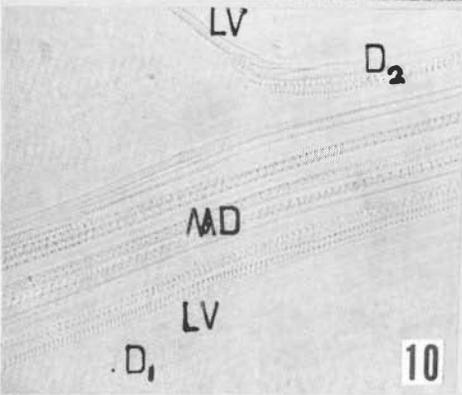
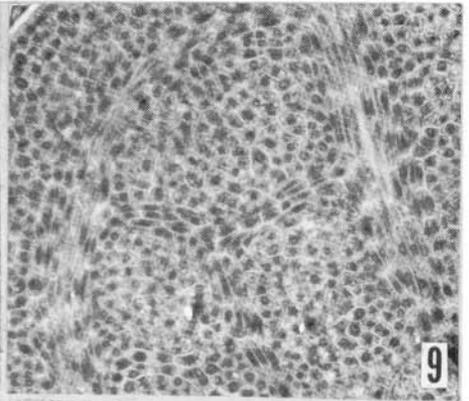
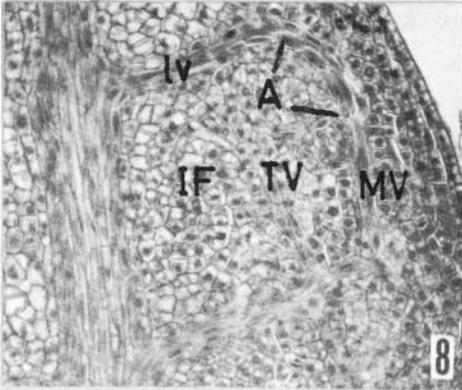
Fig. 9. Primordio comparable al de la figura 5, que muestra una mayor diferenciación del procambium en todas las venas así como la formación de areolas.

Fig. 10-12. Porciones de hojas jóvenes diafanizadas, $\times 175$.

Fig. 10. Muestra la forma en que se diferencian las venas secundarias en relación con la vena principal o media.

Fig. 11-12. El mismo fenómeno, pero en las venas terciarias y cuaternarias respectivamente.

Fig. 13. Corte paradémico de la lámina de una hoja madura, teñido con ácido tánico-cloruro de hierro-azul de anilina. En esta figura se observan los extremos de las venas menores desprovistos de floema. $\times 350$. MD, vena media; LV, vena lateral; MV, vena marginal; TV, vena terciaria; IF, campo intercostal; A, areola; IV, vena intermedia; QV, vena cuaternaria; XY, xilema; F, fibras; D₁ y D₂ formas de diferenciación del xilema. (Consúltese el texto para mayores detalles).



10. PRAY, T. R.
1955. Foliar venation of angiosperms. III. Pattern and histology of the venation of *Hosta*. *Am. J. Bot.* 42: 611-618.
11. PRAY, T. R.
1955. Foliar venation of angiosperms. IV. Histogenesis of the venation of *Hosta*. *Am. J. Bot.* 42: 698-706.
12. SLADE, B. F.
1957. Leaf development in relation to venation, as shown in *Cercis siliquastrum*, *Prunus serrulata* and *Acer pseudoplatanus*. *New Phytol.*, 56: 281-300.
13. SLADE, B. F.
1959. The mode of origin of vein-endings in the leaf of *Liriodendron tulipifera* L. *New Phytol.*, 58: 299-305.