

## Desarrollo del vástago vegetativo en *Coffea arábica* L. cv. bourbon Choussy. I Ontogenia del ápice de la plántula\*

Luis A. Fournier O.\*\*

(Recibido para su publicación el 4 de Noviembre de 1964)

Durante los últimos 25 años se han publicado numerosos estudios sobre el crecimiento y desarrollo del vástago vegetativo en plantas vasculares (5, 6, 10, 11, 12, 31). Como resultado de esta intensa actividad de investigación, el conocimiento sobre este importante aspecto de la anatomía del desarrollo se ha enriquecido mucho. Sin embargo, la mayoría de los trabajos han sido realizados con plantas de las zonas templadas, y muy pocos elementos de las ricas floras de los trópicos han sido investigados. Como JOHNSON y TOLBERT (15) muy acertadamente han indicado, antes que se pueda llegar a comprender mejor la filogenia de las angiospermas es necesario aumentar el conocimiento de la estructura y el desarrollo de los miles de especies de plantas leñosas y herbáceas de esas ricas, pero hasta cierto punto olvidadas regiones del mundo, los trópicos.

A pesar que el género *Coffea* L., y especialmente dos de las especies cultivadas (*Coffea arábica* y *Coffea canephora*) han sido investigadas repetidamente desde el punto de vista anatómico (1, 2, 8, 9, 20, 21, 30, 35), pocos estudios se han llevado a cabo sobre la anatomía del desarrollo. Los trabajos recientes de MOENS (23,24) en *Coffea canephora* son dignos de mencionar, ya que han aumentado notablemente el conocimiento sobre el desarrollo de los ápices florales y vegetativos, así como de los tejidos vasculares de esta especie de café.

En el presente trabajo se investigó el desarrollo ontogenético del ápice del vástago vegetativo de *Coffea arábica* L. cv. *bourbon* Choussy, tanto desde el punto de vista anatómico como histológico.

\* Este trabajo es parte de una tesis presentada ante la División Graduada de la Universidad de California como requisito parcial para la obtención del grado de "Doctor of Philosophy" en Botánica.

\*\* Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Letras, Universidad de Costa Rica.

## MATERIALES Y METODOS

Las plántulas de café utilizadas en esta investigación fueron desarrolladas en los invernaderos del Departamento de Botánica de la Universidad de California en Davis. Las semillas se recolectaron en Villa Colón, Costa Rica, en la cosecha de 1962-1963; fueron secadas a la sombra y enviadas a los Estados Unidos por avión. Antes de ser plantadas se remojaron por 24 horas en agua de grifo a la temperatura ambiente, con el fin de obtener una germinación más uniforme. Después de haber sido sometidas a dicho tratamiento, las semillas se pusieron a germinar en cajas de madera con vermiculita.

Cuando las plántulas alcanzaron una edad de 50 a 60 días, algunas de ellas se transfirieron a macetas de arcilla provistas de una mezcla de suelo (arcilla, arena y materia orgánica en la proporción de 5:4:2). Posteriormente, cuando ya los cotiledones se habían abierto, las plántulas recibieron aplicaciones periódicas de Ammos Phos (70 grs/galón de agua) y de Rapid Gro (1 libra/galón de agua).

Los ápices de los embriones adultos y de las plántulas en varios estados de desarrollo (30, 40, 50, 70, 80, 105, 120 y 200 días después de plantadas las semillas) se fijaron en F.A.A. (JOHANSEN, 14) y se deshidrataron con alcohol butílico terciario. Una vez finalizada la deshidratación los tejidos se infiltraron con "Tissuemat" (parafina de 55° de punto de fusión). Por lo menos cuatro ápices de cada estado de desarrollo se seccionaron en un micrótopo rotativo en cortes de 8-10 micras de espesor; los cortes fueron posteriormente teñidos con hematoxilina-safranina o con hematoxilina-safranina-verde rápido. Apices de ramas de plantas adultas recolectados y fijados en Costa Rica fueron también tratados en la forma anteriormente citada.

Para la determinación cualitativa del ácido ribonucleico se utilizó el método de la pironina Y, descrito por TEPPER y GIFFORD (34), y para el ácido desoxirribonucleico la reacción de Feulgen según CONN *et al.* (7); pero en este último método se suprimió la tinción de contraste.

## OBSERVACIONES

El ápice del vástago del embrión de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy consiste de una superficie elíptica ligeramente cóncava y desprovista de primordios foliares (Fig. 1). La capa más superficial, que contiene de 7-8 células, mide aproximadamente 135  $\mu$  a lo largo de un plano perpendicular al de los cotiledones. El citoplasma de las células de este meristema reacciona débilmente a los colorantes, mientras que los núcleos, que se encuentran muy contraídos, se tiñen intensamente.

En una plántula de 30 días el ápice del vástago presenta la forma de un promontorio aplastado que mide aproximadamente 225  $\mu$  (Fig. 2). En este estado de desarrollo las células del ápice se tiñen con mayor intensidad que en el embrión, especialmente las de las tres capas superiores. Las células centrales de estas capas muestran una menor intensidad de coloración citoplasmática, a

pesar de que contienen los nucléolos más grandes de todo el meristema. En la parte inferior del ápice se puede observar el inicio del meristema medular (MM). En ápices de este mismo estado de desarrollo, las pruebas histoquímicas para los ácidos nucleicos no muestran diferencias notables en cuanto a la distribución de estos ácidos en las diversas regiones de este meristema (Fig. 9 y 21).

El ápice del vástago en una plántula de 40 días tiene aún la forma de un promontorio aplastado, pero ligeramente más convexo que en el estado anterior (Fig. 3). La capa superior de células (que ahora incluye los esbozos foliares) comprende aproximadamente 27 células y mide  $295 \mu$  de ancho. Tanto en los cortes teñidos con hematoxilina-safranina-verde rápido, como en los tratados con pironina Y (Fig. 10), se nota una diferencia entre la intensidad de coloración del citoplasma de las células centrales del ápice y las de la periferia. Sin embargo, la reacción de Feulgen (Fig. 22) no muestra ninguna diferencia en cuanto a la concentración de ácido desoxirribonucleico en los núcleos de las células de estas dos regiones del ápice. La diferente coloración del citoplasma de las células del ápice del vástago vegetativo de café al inicio de los órganos foliares sugiere que en este estado el meristema apical consiste de dos zonas citohistológicas e histoquímicas: la Zona I incluye todas las células de la región central del ápice (porción central de la túnica, del corpus y el meristema medular) que se tiñen débilmente con hematoxilina-safranina-verde rápido y contiene una baja concentración de ácido ribonucleico en el citoplasma. Las células de las dos primeras capas de esta zona son de mayor tamaño que las restantes; lo mismo sucede con los nucléolos de las células de la segunda capa. En estas dos primeras capas las divisiones celulares ocurren siempre en forma anticlinal, pero las demás células de la zona central se dividen en diferentes planos. La Zona II incluye todas las células en la región periférica del ápice del vástago, que se tiñen intensamente con hematoxilina-safranina-verde rápido. Estas células contienen alta concentración de ácido ribonucleico citoplasmático y se dividen en forma periclinal y anticlinal, con excepción de las de la capa superior que se dividen sólo en forma anticlinal. Los nucléolos de estas células no son tan grandes como los de las células de la segunda capa de la zona I.

Desde el punto de vista topográfico el meristema apical del vástago de café se puede considerar como formado por una "túnica" de dos capas de células, un "corpus" de forma elíptica y un meristema medular. Sin embargo, esta organización tiende a ser enmascarada al inicio de los órganos foliares por las diferencias citohistológicas e histoquímicas de las células de las zonas central y periférica del ápice. En el caso del ápice de una plántula de 40 días (Fig. 3), la zona I incluye la región central de la túnica, las células iniciales del corpus y el meristema medular, mientras que la zona II comprende las células periféricas de la túnica y las derivadas de la región central del corpus.

En la Fig. 4 se observa el ápice del vástago de una plántula de 50 días en el estado de "área mínima" ( $72 \mu$  de ancho), es decir después después del inicio de los primordios foliares. Las zonas observadas en el estado anterior (Fig. 3) no están presentes ahora, ya que la región central del ápice constituye el meristema apical propiamente dicho y la zona II ha pasado a formar parte de los

primordios foliares. En la Fig. 11 se muestra un ápice comparable al de la Fig. 4 pero teñido con pironina Y. Las células de la túnica presentan una coloración citoplásmica mayor que la de las células iniciales del corpus y que la de las del meristema medular, pero no tan intensa como en los primordios foliares.

En las Figs. 5 y 12 se pueden observar dos ápices de plántulas de 50 días teñidas respectivamente con hematoxilina-safranina y pironina Y; ambos han sido seccionados en un plano perpendicular al de las anteriores figuras, dirección en que se originarán los próximos primordios foliares. En ambas figuras se nota una baja intensidad de coloración citoplásmica, pero los nucléolos de las células centrales de la túnica son un poco más grandes que los de las otras células.

Poco antes del inicio del segundo par de hojas (70 días después de plantadas las semillas), el ápice del vástago presenta un aumento notable en área y una distribución uniforme de la intensidad de coloración citoplásmica (Fig. 13). Sin embargo, cuando se presentan los esbozos foliares del segundo par de hojas (Figs. 6 y 14, ápices de plántulas de 80 días) el ápice del vástago, que ahora tiene la forma de una pequeña cúpula (205  $\mu$  de ancho), muestra como al inicio del primer par de hojas dos zonas citohistológicas e histoquímicas.

En esta misma época (inicio del segundo par de hojas) se puede observar en las axilas de los cotiledones el inicio de la diferenciación del primer par de yemas axilares. En muchas de las plántulas la reserva de sustancias nutritivas acumuladas en el endosperma se encuentra casi agotada, pero los restos del perisperma y del endocarpo cubren aún a los cotiledones. Esto constituye en algunos casos un obstáculo mecánico para la apertura total de estos órganos foliares.

Las figuras 7, 15 y 16 muestran tres estados durante el transcurso del segundo plastocrón. Los ápices de las figuras 7 y 15 corresponden aproximadamente al estado de "área mínima", mientras que el ápice representado en la Fig. 16 se encuentra en un estado muy cercano al inicio del tercer par de hojas. Nótese en esta figura la intensa coloración del citoplasma, lo mismo que la uniformidad de la tinción.

Al inicio del tercer par de hojas (Figs. 8 y 17) se pueden observar de nuevo las zonas citohistológicas e histoquímicas que se presentaron en el mismo estado de los plastocrones anteriores. Lo mismo sucede al inicio del quinto par de hojas (Fig. 18).

Sin embargo, en los ápices del vástago vegetativo de las plantas adultas no se observan estas zonas en ninguno de los estados de desarrollo (Figs. 19 y 20). Y como se observó al inicio del primer par de hojas (Fig. 22), la distribución del ácido desoxirribonucleico en los núcleos de las células de este meristema es también uniforme. (Figs. 23 y 24).

En el cuadro N° 1 se presenta un resumen de la distribución cualitativa del ácido ribonucleico en el ápice del vástago vegetativo de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy en diferentes estados de desarrollo.

## CUADRO I

*Distribución del ácido ribonucleico en ápices del vástago en diferentes estados de desarrollo.*

Estado*	Ancho (micras)	Nº células**	Zona Central	Zona Periférica
30	127	12	+	+ ***
40 (primer plastocrón, área máxima)	280	28	++	(8) +++++
50 (área mínima)	90	9	+++	+++
70	70	9	++	++
80	127	17	+++	+++
80 (segundo plastocrón, área máxima)	175	24	++	(6) +++++
120 (área mínima)	93	9	++	++
120	125	14	+++	+++
120	133	19	++++	++++
120 (tercer plastocrón, área máxima)	190	23	++	(9) +++
200 (quinto plastocrón, área máxima)	233	30	++	(8) +++
Planta adulta (rama) área máxima, antes de la iniciación foliar	225	25	++	++
Planta adulta (rama) área mínima	126	10	+++	+++

\* días después de plantadas las semillas

\*\* número de células de la primera capa

\*\*\* número de células en la primera capa de la zona central

+ indican la intensidad de la Pironina en el citoplasma

## DISCUSION

La estructura del ápice del vástago del embrión ha sido descrita en términos de túnica y corpus por algunos autores (3, 18). Sin embargo, parece más conveniente restringir el uso de este concepto anatómico topográfico a aquellos estados de desarrollo en que estas dos regiones estén bien establecidas. Esto no significa que dicho concepto no se pueda utilizar en los casos de embriones que sí muestren una organización topográfica definida, con tal que el estudio de estados más avanzados de desarrollo demuestren la consistencia de estas dos regiones tal como se presentan en el embrión. En el caso del café, estas dos regiones llegan a diferenciarse aproximadamente a los 30 días de plantadas las semillas.

MOH (25) observó un aumento del número de plántulas de tipo "angustifolia" en poblaciones de *Coffea arabica* L. obtenidas de semillas irradiadas con rayos gamma. Como una explicación a este fenómeno dicho autor sugirió que esas plántulas podrían haberse originado de una sólo célula del ápice del embrión. Es muy difícil reconciliar las observaciones obtenidas en el presente estudio con la sugerencia de Moh, ya que parece ser que el aumento gradual del tamaño del ápice se debe al crecimiento conjunto de todas las células de este meristema. Sin embargo, es necesario tener mayor información antes que se pueda dar una respuesta satisfactoria a este fenómeno.

En esta investigación se ha demostrado claramente que los ápices del vástago de las plántulas de café presentan en los primeros plastocrones, al inicio de los órganos foliares, dos zonas citohistológicas e histoquímicas. Estas observaciones son bastante similares a las obtenidas por GIFFORD y TEPPER (13) en *Chenopodium album*, pero difieren de los descrito por TEPPER (33) en *Pinus ponderosa* ya que en esta especie las zonas son más evidentes en las plantas adultas.

R. Buvat y sus asociados en Francia, han propuesto una nueva teoría sobre la estructura y funcionamiento del ápice del vástago de las plantas vasculares, basados tanto en estudios citohistológicos como histoquímicos. De acuerdo a estos investigadores, con muy pocas excepciones, el ápice del vástago vegetativo es zonado durante toda su existencia. La región central del ápice, que ellos designan "mérístème d'attente" osea meristema en letargo, es casi inactiva durante la fase vegetativa ya que toda la actividad del ápice se localiza en la región periférica, el llamado "anneau initial" o anillo inicial, que se perpetúa a sí mismo. La zona central entra en actividad solamente en aquellas plantas que desarrollan una inflorescencia terminal. Según LANCE (19) y POUX (28) las células del "anillo inicial" presentan mitocondrios de tipo granular, vacuolos pequeños, alta concentración de ácido ribonucleico, nucléolos grandes, escasez de granos de almidón y una gran actividad mitótica. Por otro lado las células del meristema en letargo tienen un bajo contenido de ácido ribonucleico, vacuolos grandes, bajo contenido de proteínas de tipo SH y nucléolos pequeños (LANCE,

19). La frecuencia de divisiones celulares es muy baja en esta región del ápice, y según estos autores las pocas que ocurren no tienen mayor importancia morfo-genética (4, 17).

Las observaciones llevadas a cabo en la presente investigación no parecen favorecer la teoría de los investigadores franceses. Las diferencias citohistológicas e histoquímicas que se presentan en el ápice de las plántulas de café al inicio de los órganos foliares en los primeros plastocrones son transitorias, y no ocurren en plantas adultas. Parece ser que en café la zona central del ápice juega un papel morfogenético de importancia, ya que esta región una vez iniciados los primordios foliares llega a constituir el meristema apical en el estado de "área mínima". El gran tamaño de los nucléolos de las células de esta zona sugiere que estas contribuyen significativamente a los procesos de crecimiento y biosíntesis del vástago, ya que estos organelos juegan un papel de importancia en la síntesis de proteínas (36).

Varios investigadores han tratado de explicar la baja coloración del citoplasma de las células de la región central del ápice y la poca frecuencia de divisiones celulares como el resultado de gradientes de difusión de varios compuestos metabólicos de importancia para las células (29, 33, 37, 38). TEPPER (33) sugirió la posibilidad de que las sustancias reguladoras del crecimiento que son responsables de las divisiones celulares no alcanzan la zona central del ápice en cantidades suficientes para promover una alta frecuencia de divisiones celulares. ROMBERG (31) considera que las células centrales del ápice, lo mismo que otras células que se dividen, tienen un efecto sobre el comportamiento del ápice, y que las diferencias en las condiciones ambientales (suministro de oxígeno, gradientes de difusión de productos metabólicos) tienen gran importancia en el comportamiento diferente de las diversas regiones o grupos de células. En su opinión las células centrales del ápice se comportan tal como lo hacen debido a que las condiciones ambientales han permitido la manifestación de diferentes segmentos del "fondo total" de información codificada en el material nuclear de todas las células. El mismo autor sugirió la posibilidad de que los sistemas que regulan la síntesis del ácido desoxirribonucleico y la multiplicación de los cromosomas no sean los mismos que los que controlan las divisiones celulares.

En el caso de las plántulas de café puede ser que las células de la zona central del ápice del vástago se encuentren en el estado de "área máxima" (inicio de los primordios foliares) un tanto alejadas de los tejidos que sintetizan los factores de crecimiento y otros productos metabólicos de importancia para la división celular y los procesos de biosíntesis. Este hecho puede motivar una reducción temporal en la actividad de estas células. En el estado de "área mínima" el número de células que componen el ápice del vástago es mucho menor que al inicio de los órganos foliares, de tal forma que la cantidad de factores de crecimiento (fitoquininas, auxinas etc.) que recibe cada célula no es muy diferente de lo que podía haber sido en el estado anterior. En esta forma los procesos de biosíntesis, aumento en tamaño de las células y de división celular se estimulan, y las células aumentan también su capacidad de síntesis y de crecimiento.

Recientemente se ha determinado que las fitoquininas promueven un aumento en la frecuencia de las divisiones celulares (22); aumento en tamaño de las células (16) y cambios en el contenido de proteínas y de ácidos nucleicos (27).

Cuando el ápice se aproxima de nuevo al estado de "área máxima", es muy probable que las células de las regiones periféricas se vuelvan más activas debido a la posición de "privilegio" que ocupan con respecto a las de la región central del ápice; ya que reciben más sustancias de crecimiento. MOTHES (26) encontró que las fitoquininas favorecen la capacidad de las células para acumular solutos, incluyendo compuestos tales como el ácido indolacético, y también su capacidad para competir por nutrientes y sustancias metabólicas que indirectamente promueven el crecimiento. SMOOG y MILLER (32) observaron que en algunos tejidos (hojas y coleóptilos), la quinina promueve las divisiones celulares solamente en presencia de auxinas. Así que la reducción en la frecuencia de divisiones celulares en la zona central del ápice se puede deber a un desequilibrio en la relación de estos factores.

El hecho que las zonas citohistológicas e histoquímicas del ápice desaparecen gradualmente conforme las plántulas aumentan en edad, sugiere que el estado nutritivo de la plántula cambia con su ontogenia. En otras palabras, conforme la planta aumenta su área fotosintética y de absorción, la capacidad metabólica de todo el sistema también aumenta. En los ápices de plantas adultas no se observa una disminución en la intensidad de coloración del citoplasma de las células de la región central; pero estas células se dividen menos que las de la periferia. Esto podría deberse a cierto grado de competencia entre las células de estas dos zonas, pero no tan crítica como la que ocurre en los ápices de plántulas jóvenes.

Sería interesante determinar en futuros estudios, si los ápices de ramas de café afectadas por deficiencias minerales o con muchos frutos presentan zonas similares a las de los ápices de plántulas jóvenes. Las deficiencias de zinc y boro afectan marcadamente el crecimiento del vástago.

## AGRADECIMIENTO

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

## RESUMEN

En el presente trabajo se discute la ontogenia del ápice del vástago de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy. Se estudiaron los ápices de embriones, de plántulas en varios estados de desarrollo y de plantas adultas.

Al inicio del primer par de hojas (35-40 días después de plantadas las semillas) las células de la zona periférica del ápice presenta una intensa coloración citoplasmática, que contrasta con la baja coloración de las células de la región central de este meristema. Esto se debe en parte a una baja concentración del ácido ribonucleico en el citoplasma de estas células. Parece ser que el ápice del vástago



en plántulas jóvenes de café consiste de dos zonas citohistológicas e histoquímicas: I, la zona central, que incluye parte de la túnica, las células iniciales del corpus y el meristema medular y II, la zona periférica que consiste de las células periféricas de la túnica y las células derivadas del corpus. Estas dos zonas se presentan en el estado del "área máxima" de los primeros plastocrones, pero no ocurren en los ápices de las plantas adultas. Se sugiere que la competencia entre las células del ápice por algunas sustancias metabólicas puede ser una de las causas de la presencia de estas zonas en las plántulas jóvenes.

### SUMMARY

This paper discusses the ontogeny of the vegetative shoot apex in *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy.

The shoot apices of mature embryos, of seedlings in various developmental stages, and of adult plants were studied. With the initiation of the first leaf pair (35-40 days after planting) the cells of the peripheral region of the apex display a high cytoplasmic staining, which contrasts with the lightly stained cells of the axial zone. This is partially due to a low cytoplasmic concentration of R N A. It appears that the shoot apex of a young coffee seedling consists of two cytohistological and histochemical zones: I, the axial zone, which includes the axial cells of the tunica, corpus initials and rib meristem and II, the peripheral zone which consists of the peripheral cells of the tunica and corpus derivatives. The apices of young seedlings become zonate at the stage of maximal area in the first plastochrons; however, no significant zonation was observed in the shoot apices of older plants. The competition among cells for certain metabolites is suggested as one of the possible causes of the zonate appearance of the apices of young seedlings.

### REFERENCIAS

1. ACCORZI, W. R.  
1949. Características morfológicas, anatómicas e citológicas da epiderme inferior da fôlha das Rubiacæ. *Ann. Esc. Sup. Agr. Luiz de Queros, Brasil*, 6: 23-51.
2. BEILLE, L.  
1947. Anatomie comparée du genre *Coffea* et de quelques Rubiacées Ixorées. *Encyc. Biol. (A. Chevalier)*, 3: 23, 28 y 33.
3. BUVAT, R.  
1951. Evolution histo'ogique du point végétatif de *Myosurus minimus*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 232: 1011-1013.
4. BUVAT, R.  
1953. L'apex de *Triticum vulgare*; modalités de reprises des mitoses lors de la germination et du fonctionnement végétatif. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 236: 1989-1991.
5. BUVAT, R.  
1955. Le méristème apical de la tige. *Année Biol.*, 31: 595-656.

6. CLOWES, F. A. L.  
1961. *Apical meristems*. Botanical Monographs. F. A. Davis Co., Vol. II, 217 pp.
7. CONN, H. J., M. A. DARROW & V. M. EMMEL  
1960. *Staining Procedures*. 2<sup>a</sup> ed., The Williams and Wilkins Co., 289 pp.
8. DEDECCA, D. M.  
1957. Anatomia e desenvolvimiento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer. *Bragantia*, 16: 315-366.
9. FABER, F. C. VON  
1912. Morphologisch-physiologische Untersuchungen an Blüten von Coffea-arten. *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, 25: 59-160.
10. FOSTER, A. S.  
1939. Problems of structure growth and evolution in the shoot apex of seed plants. *Bot. Rev.*, 5: 554-570.
11. GIFFORD, E. M. JR.  
1954. The shoot apex in angiosperms. *Bot. Rev.*, 10: 477-529.
12. GIFFORD, E. M. JR.  
1963. Developmental studies of vegetative and floral meristems. *Meristems and differentiation*. *Brookhaven Symposia in Biology*, 16: 126-137.
13. GIFFORD, E. M., JR. & B. H. TEPPER  
1962. Ontogenetical and histochemical changes in the vegetative shoot tip of *Chenopodium album*. *Am. J. Bot.*, 49: 902-911.
14. JOHANSEN, D. A.  
1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., 523 pp.
15. JOHNSON, M. A. & R. J. TOLBERT  
1960. The shoot apex in *Bombax*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 87: 173-186.
16. KURAIISHI, S.  
1959. Effect of kinetin analogs on leaf growth. *Sci. Paper, Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo*, 9: 67-104.
17. LANCE, A.  
1953. Sur la variation nyctémérale de l'activité mitotique dans l'apex de *Vicia faba*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 236: 844-846.
18. LANCE, A.  
1954. Evolution histologique de l'apex d'*Aster sinensis*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 238: 1142-1444.
19. LANCE, A.  
1957. Recherches cytologiques sur l'évolution de quelques méristèmes apicaux et sur ses variations provoquées par des traitements photoperiodiques. *Ann. Sci. Nat., Bot., 11e Ser.*, 18: 91-421.

20. MARCHAND, L.  
1864. *Recherques organographiques et organogénétiques sur le Coffea arabica L.* Paris, J. B. Baillièere et fils. 47 pp.
21. MARIANI, J.  
1908. *Les cafeiers. Structure anatomique de la feuille.* Lons-le Saunier, L. Declume. 140 pp.
22. MILLER, C. O. F. SKOOG, V. M. H. SALTZA, & F. M. STRONG  
1955. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. Am. Chem. Soc.*, 77: 1392.
23. MOENS, P.  
1963a. Les bourgeons végétatifs et génératifs de *Coffea canephora* Pierre. Etude morphologique et morphogénétique. *La Cellule*, 63: 165-244.
24. MOENS, P.  
1963b. La vascularization de l'embryon et de la plantule de *Coffea canephora* Pierre. *La Cellule*, 64: 71-126.
25. MOH, C. C.  
1961. ¿Desarrolla una planta de café de una célula inicial en el ápice caulinar de un embrión? *Turrialba*, 11: 163-164.
26. MOTHES, K.  
1961. Der Beitrag der Kinetinforschung zum Verständnis Pflanzliches Korrelations. *Deut. Bot. Gesell., Ber.*, 74: 24-41.
27. OSBORNE, D. J.  
1962. Effect of kinetin on protein and nucleic acid in *Xanthium* leaves during senescence. *Plant Physiol.* 37: 595-602.
28. POUX, N.  
1960. Variations de la repartition des ribonucleoproteins dans l'apex d'un Blé de Printemps. (*Triticum vulgare* Vill). *Comp. Rend. Acad. Sci., Paris*, 250: 585-587.
29. PRIESTLEY, J. H.  
1929. Cell growth and cell division in the shoot of flowering plants. *New Phytol.*, 28: 54-81.
30. RAVECHAULT, H.  
1954. Etude anatomique comparée des organes végétatifs des cafeiers de Côte d'Ivoire; *Trav. Centre Rech. Agr., Sect. Agr. Trop., Bull. Sci.*, 5: 151-177.
31. ROMBERG, J. A.  
1963. *Meristems, growth and development in woody plants.* U.S.D.A Forest Service, Tech. Bull. 1293. 214 pp.
32. SKOOG, F., & C. O. MILLER  
1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues culture in vitro. *Symp. Soc. Exptl. Biol.*, 11: 118-131.

33. TEPPER, H. B.  
1962. *Studies on the vegetative shoot apex of Pinus ponderosa*. Ph.D. Thesis, Univ. California, 135 pp.
34. TEPPER, H. B., & E. M. GIFFORD, JR.  
1962. Detection of ribonucleic acid with Pyronin. *Stain Tech.*, 37: 52-53.
35. VAROSSIEAU, W. W.  
1940. *On the development of the stem and the formation of leaves in Coffea species*. Tesis, Leiden, Brille, Holanda. 88 pp.
36. VINCENT, W. S.  
1955. Structure and chemistry of nucleoli. *Intern. Rev. Cytol.*, 4: 269-289.
37. WARDLAW, C. W.  
1952. Experimental and analytical studies of pteridophyts. XVIII. The nutritional status of the apex and morphogenesis. *Ann. Bot., N. S.*, 16: 207-218.
38. WARDLAW, C. W.  
1957. On the organization and reactivity of the shoot apex in vascular plants. *Am. J. Bot.*, 44: 176-185

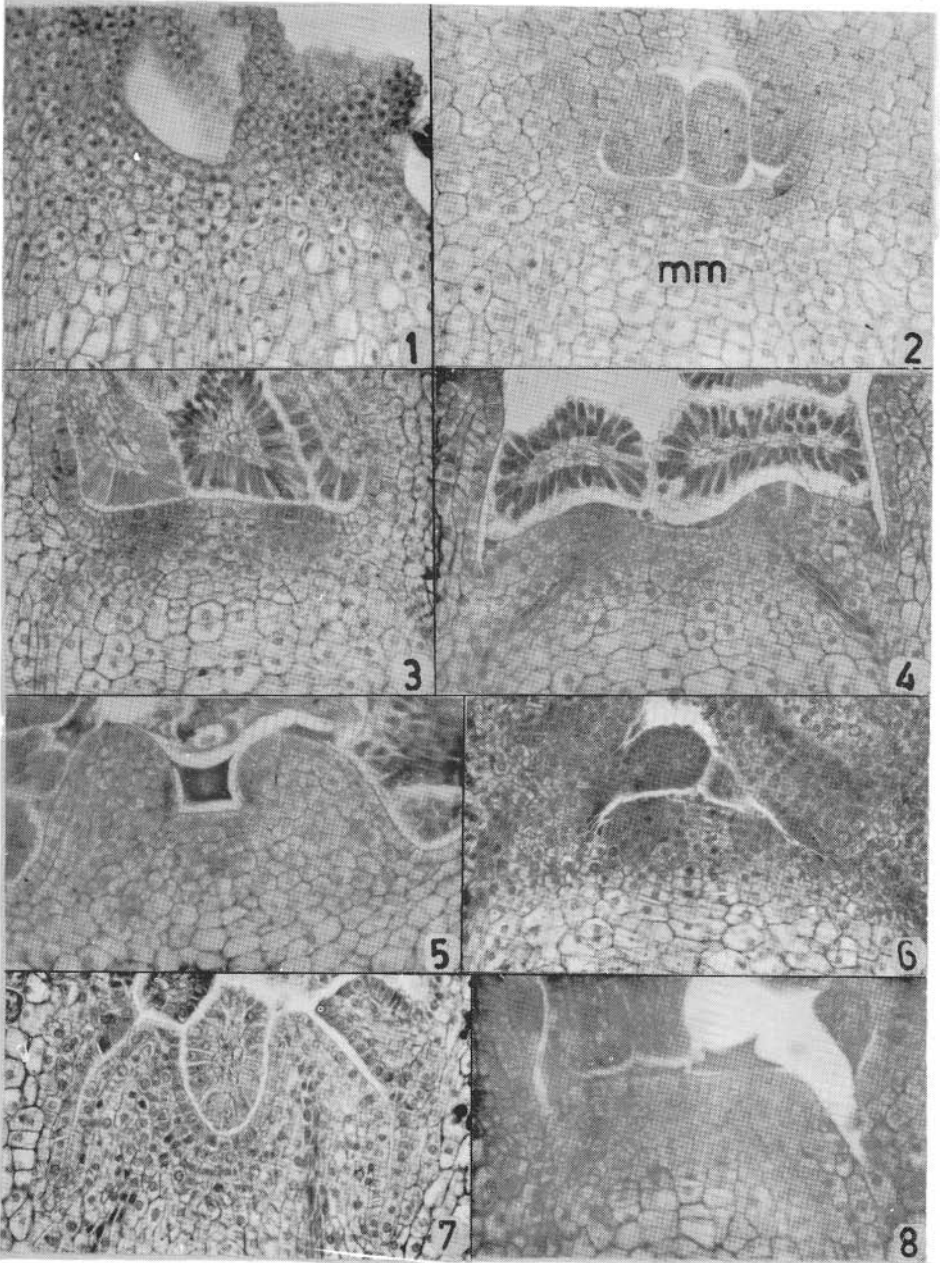
Figs. 1-8. Cortes longitudinales medios de ápices del vástago vegetativo del embrión y de plántulas de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy en varios estados de desarrollo.

Figuras 1, 4, 5 y 6. Cortes teñidos con Hematoxilina-safranina. Figuras 2, 3, 7 y 8. Cortes teñidos con Hematoxilina-safranina-verde rápido, 175X.

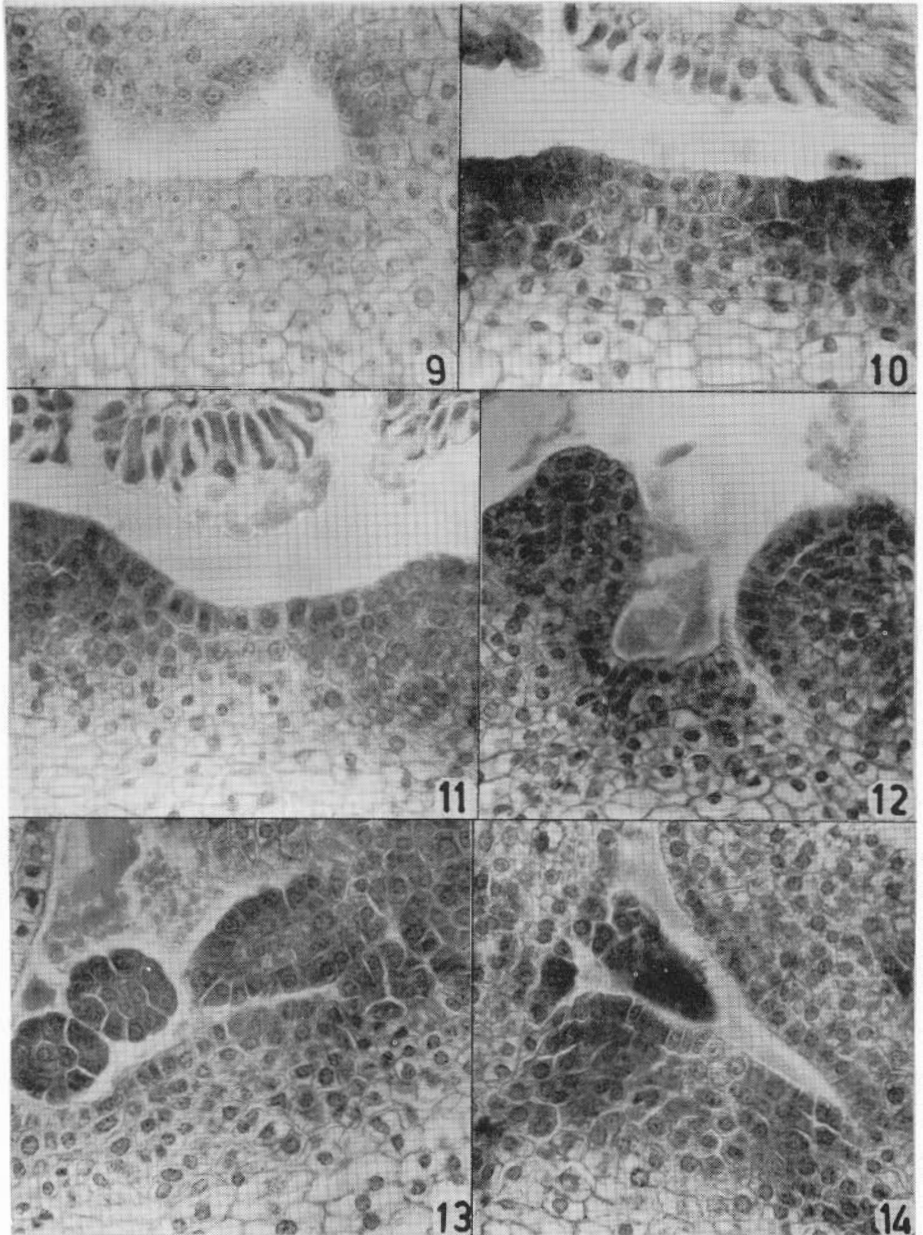
Figura 1. Embrión. Figura 2. Plántula de 30 días. Figura 3. Plántula de 40 días se notan dos zonas citohistológicas al inicio del primer par de hojas.

Figura 4. Plántula de 50 días. Estado de área mínima. Figura 5. Plántula de 70 días; ápice seccionado en forma paralela a los primordios de las estípulas (plano perpendicular al de los cortes anteriores).

Figura 6. Plántula de 80 días; ápice seccionado como el de la figura anterior. Las dos zonas citohistológicas se presentan de nuevo al inicio del segundo par de hojas. Figura 7. Plántula de 105 días; ápice de área mínima. Figura 8. Plántula de 120 días al inicio del tercer par de hojas. MM, meristema medular.

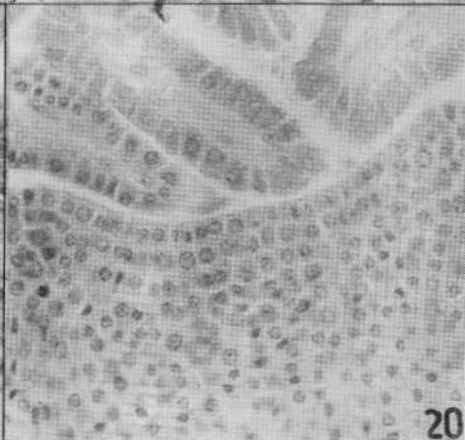
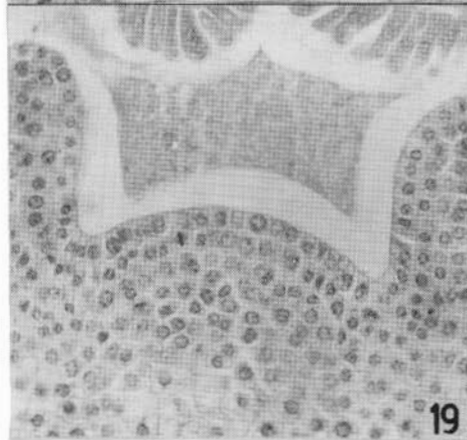
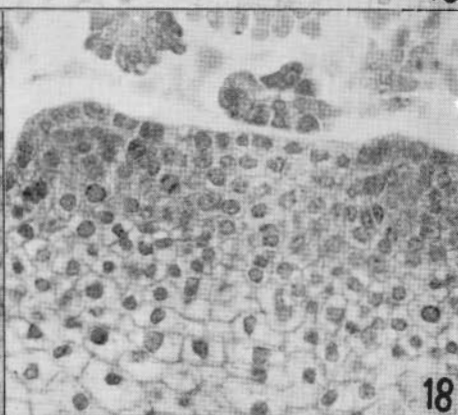
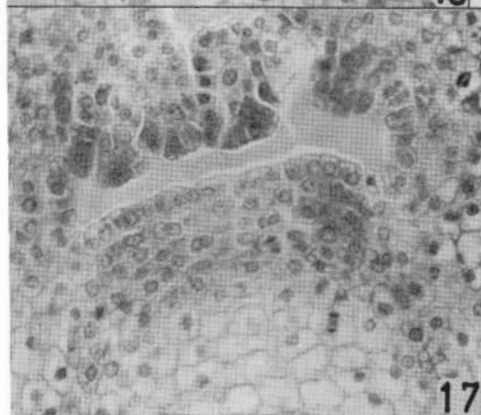
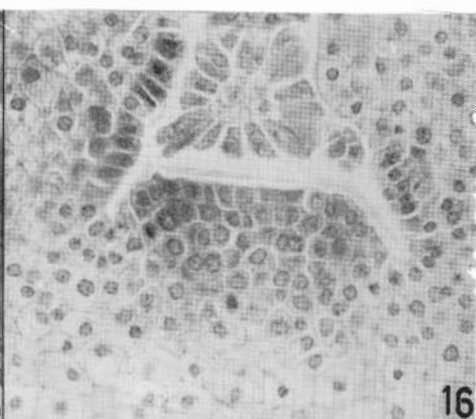
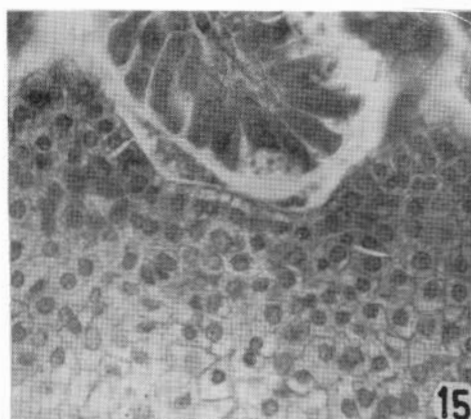


- Figs. 9-14. Cortes longitudinales medios de ápices del vástago vegetativo de plántulas de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy teñidos con Pironina Y para revelar la presencia del ácido ribonucleico, 350X.
- Figuras 9-11. Cortes en un plano perpendicular al de los cotiledones. Figura 9. Plántula de 30 días; los nucléolos se ven intensamente coloreados. Figura 10. Plántula de 40 días al inicio del primer par de hojas. Las células de la zona central del ápice presentan en este estado menos afinidad por la Pironina Y que las de la zona periférica. Figura 11. Plántula 50 días. Figura 12. Plántula de 70 días; corte paralelo a los primordios de las estípulas. Figuras 13-14. Plántulas de 80 días; cortes como en la figura anterior. Figura 13. Un ápice antes del inicio del segundo par de hojas. Figura 14. Apice al inicio del segundo par de hojas. De nuevo se observa una disminución en la concentración citoplasmática del ácido ribonucleico en las células de la zona central.



- Figs. 15-20.** Cortes longitudinales medios de ápices del vástago vegetativo de plántulas en varios estados de desarrollo y de ramas de plantas adultas de *Coffea arabica* L. cv. Bourbon Choussy. Todos los cortes fueron teñidos con Pironina Y para revelar la presencia del ácido ribonucleico, 350X.
- Figs. 15-17. Apices del vástago de plántulas de 120 días seccionados en forma de paralela al primer par de estípulas. Fig. 15. Estado de área mínima. Fig. 16. Poco antes del inicio del tercer par de hojas. Nótese la uniformidad en cuanto a la concentración del ácido ribonucleico. Figura 17. Inicio del tercer par de hojas; se observa de nuevo una disminución en la concentración del ácido ribonucleico en el citoplasma de las células de la zona central. Figura 18. Plántula de 200 días, poco después del inicio del quinto par de hojas (corte perpendicular al plano de los primordios foliares). Figuras 19-20. Apices de ramas de plantas adultas. Figura 19. Al inicio de un par de hojas. Figura 20. Estado de área mínima. Nótese la ausencia de zonas citohistológicas e histoquímicas en la Figura 19.





**Figs. 21-24.** Cortes longitudinales medios del ápice del vástago vegetativo de plántulas en diferentes estados de desarrollo y de ramas de plantas adultas de *Coffea arabica* L. cv. *bourbon* Choussy. Todos los cortes fueron tratados con la reacción Feulgen para revelar la presencia del ácido desoxirribonucleico, 300X.

Figuras 21-22. Apices del vástago de plántulas seccionadas entre los cotiledones. Figura 21. Plántula de 30 días. Figura 22. Plántula de 40 días. Figuras 23-24. Apices de ramas de plantas adultas en dos estados plastocrónicos.

