

ANATOMIA DEL EMBRION Y DEL VASTAGO DE LA PLANTULA DE *Gymnocladus dioica* (L.) Koch (1)

Por: José I. Santa (2)

RESUMEN

Este trabajo incluye secciones de diferentes estructuras de la plántula, a saber: Cuerpo primario del tallo, cotiledones, folíolos y meristema apical. También se incluye el desarrollo de los primordios de yemas laterales que observaron por primera vez Martín y Featherly (1928). El haz vascular cotiledonar es inicialmente doble, luego es triple y a un nivel más alto se forman cinco trazas. El tejido vascular tiene forma cilíndrica a nivel epicotiledonar y en el pecíolo de las hojas verdaderas. Hay una yema cotiledonar en estado durmiente. Se presentan de 4 a 8 pares de primordios de yemas laterales entre las yemas axilares de los cotiledones y las primeras hojas verdaderas. Las yemas citadas permanecen sin desarrollarse bajo condiciones normales. Se establece una laguna parenquimatosa entre el córtex y la médula en la región opuesta a cada primordio de yema lateral. El meristema apical del tallo tiene una túnica uniseriada o biseriada. Los folíolos en sección transversal muestran el mesófilo de empalizada y el mesófilo esponjoso bien delimitados. La vena media del folíolo está cubierta por una vaina esclerenquimatosa. En la vena media el xilema es adaxial y el floema es abaxial. No se presentan células subsidiarias.

INTRODUCCION

¿De dónde le viene el nombre a la planta? El género *Gymnocladus* está incluido en la familia Leguminosae, subfamilia Caesalpinoideae.

Dardene y Casimir (1972) incluyen 2 especies en el género: *Gymnocladus dioica* (L.) Koch y *Gymnocladus chinensis* Baill. Hutchinson (1964) incluye una especie más: *Gymnocladus burmanicus* C.E. Parkinson.

El nombre científico y algunos nombres vulgares son explicados por Thomas (1949). *Gymnocladus* viene del griego y significa rama, este nombre probablemente se refiere al hecho de que hay ramitas rígidas regadas a intervalos largos en las ramas de mayor tamaño; *dioica* se refiere a los tipos de flor. El nombre común "Kentucky coffee tree" (árbol del café de Kentucky) se debe a que las semillas eran usadas

como un sustituto del café por los pioneros y por la gente en los estados del sur de Los Estados Unidos durante la guerra civil. Metcalfe y Chalk (1965) identifican el árbol del café de Kentucky con *Gymnocladus canadensis* Lam. Este último nombre es un sinónimo y así lo considera el "Index Kewensis" (1946). "American Mahogany" (caobo americano) o "Kentucky Mahogany" (caobo de Kentucky) se relacionan con el hecho de que la madera ha sido usada algunas veces en trabajo de carpintería y cuando se colorea se parece al caobo tropical.

Distribución de la planta. La figura 1 muestra la distribución del árbol del café de Kentucky, basada en los trabajos de Barkenbus y Zimmerman (1927), Pohl (1955), Sargent (1922), Thomas (1949) y Freeman (1944). La planta crece en el centro y noreste de EE.UU. y al sureste de Canadá, no es abundante, pero donde se encuentra el suelo es rico y la tierra baja y húmeda.

(1) Esta investigación fue ejecutada en Southern Illinois University at Carbondale; es parte de la tesis presentada por el autor como un requisito para optar el título de Master of Arts.

(2) Profesor del Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

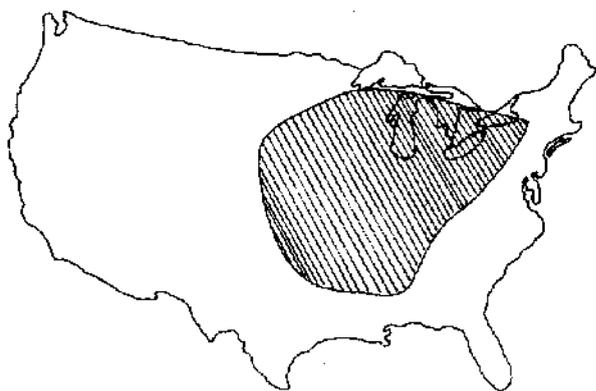


Figura 1.
Distribución de *Gymnocladus dioica* (L.) Koch.

Semilla. De acuerdo a Freeman (1944), las legumbres cuelgan sin abrirse de las ramas del árbol durante el invierno. Las vainas tienen de 8 a 15 cm. de longitud (Barkenbus y Zimmerman, 1927). El pericarpio se compone de dos partes: La porción externa y dura y la porción interna, la cual en su estado inmaduro es celular y firme. El pericarpio juega un papel primordial en el secado uniforme de la semilla. El material mucilaginoso y dulce de las legumbres es considerado como venenoso por algunos (Barkenbus y Zimmerman, 1927). Chesnut (1911) informa sobre citisina en las hojas y en el material mucilaginoso de las legumbres. En las semillas se han reportado una saponina y una taxalbumina. Stone y Test (1893) encontraron glucosa y sacarosa en grandes cantidades en el material mucilaginoso (Barkenbus y Zimmermann, 1927). La parte insoluble de dicho material se denominó provisionalmente Gluco-araban.

Cada legumbre contiene de 3 a 6 semillas (Freeman, 1944) incluidos en el material mucilaginoso. El peso promedio de cada semilla es 2.5 gramos (Barkenbus y Zimmerman, 1927).

Las semillas son de consistencia muy dura, ovoides o en forma de botón, de color café oscuro, con una superficie externa suave y opaca, varían de 1.5 a 2.5 cm de longitud por 0.3 a 0.5 cm de espesor (Sayed y Beal, 1958). En la circunferencia de la semilla hay una depresión oval que marca la posición del micrópilo y del hilum (Sayed y Beal, 1958). En algunas semillas se observa el rafe. Metcalfe y Chalk (1965) reportan las semillas como comestibles.

La constitución histológica de la semilla ha sido estudiada por Raleigh (1930) y Sayed y Beal (1958). De afuera hacia adentro la semilla consta de las siguientes partes:

1. **Epidermis o capa malpighiana.** Formada por células en empalizada que varían de 18.5 a 23.0 micras en longi-

tud por 0.9 a 1.2 micras en espesor, tienen una pared celulósica y están cubiertas por una cutícula espesa. Las células en vista superficial tienen apariencia poligonal con un Lumen circular. El tejido epidérmico está marcado por una línea horizontal la cual aparece a unos 6.5 micras del ápice. Esta línea se forma debido a la diferencia en el índice de refracción de la pared celular en esta área particular.

2. **Hipodermis o capa de Osteoscleridas.** Consta de una capa de células que tienen forma de botella de cuello corto, con paredes celulósicas espesas y Lumen estrecho el cual se amplía en ambos extremos de la célula: tomando formas irregulares, triangulares. Hay espacios intercelulares amplios de contorno oval. La altura es 4.9 a 5.6 micras y el ancho es 1.7 a 2.3 micras (en la parte más amplia) y 0.6 a 0.9 micras (en el cuello). En vista superficial aparecen como circulares u ovals con Lumen estelar.
3. **Tejido parenquimatoso intermedio**—Lo componen de 9-12 capas de células isodiamétricas o tangencialmente elongadas con paredes celulósicas espesas y espacios triangulares angostos. Estas células tienen un contenido granular amorfo, el cual reacciona para proteínas tomando color amarillo con ácido pírico y café con la prueba de la solución de yodo.
4. **Epidermis interna.** Formada por una fila de células rectangulares, seguida por otra capa de células parenquimatosas colapsadas las cuales se colorean de azul con la solución de yodo y H_2SO_4 lo que indica su naturaleza celulósica.
5. **Epidermis del endospermo.** Consta de células poligonales que contienen numerosos y diminutos gránulos de aleurona, las cuales están libres de cualquier inclusión.
6. **Resto del Endospermo.** Formado por células elongadas axialmente, con paredes celulósicas y Lumen irregular.
7. **Embrión.** Los cotiledones circulares y grandes ocupan la mayor parte de su volumen. Hacia el micropilo se dirige una pequeña radícula. La longitud del embrión, excluyendo los cotiledones, es 0.5 mm. El embrión tiene 2 canales, cada uno se extiende del cotiledón a la plúmula. Cada canal lleva de 5 a 8 primordios de yemas laterales, de organización alterna a opuesta. Martín y Featherly (1928) suponen que los primordios de yemas laterales son yemas laterales durmientes o el vestigio de algún órgano anterior. Cuando se desarrolla la plántula joven, una sección transversal del epicotilo muestra que hay una laguna asociada con cada primordio de yema lateral, entre el cortex y la medula. A ninguna otra planta se le conocen estos primordios de yemas laterales. Las capas 3, 4 y 5 forman la capa nutritiva o endospermo según Raleigh.

(1930). En condiciones secas la dura cubierta de la semilla (capas 1 y 2) está estrechamente adherida al córneo endospermo

Cuando las semillas se hierven o se escarifican y se introducen en agua, el embrión y sus cubiertas se ablandan y el córneo endospermo se expande enormemente tornándose claro y gelatinoso (Pohl, 1955).

Barkenbus y Zimmerman (1927) encontraron que el contenido de aceite en la semilla es:

Acido oleico: 37.41 o/o

Acido linoleico: 56.37 o/o

Acidos saturados (Estéarico, palmítico, con pequeñas cantidades de ácido araquídico): 5.08o/o.

Material no saponificable: 1.28o/o.

El almidón es abundante en los cotiledones en el estado inmaduro y durante la germinación (Raleigh, 1930). En los cotiledones el máximo contenido de aceite se alcanza en la madurez, cuando el almidón alcanza el mínimo. Sayed y Beal (1958) no encontraron almidón en la cubierta de la semilla ni en el endospermo.

Dardene y Casimir (1972) encontraron dos estereoisómeros del aminoácido β hidroxil - γ metil glutámico en las semillas. La configuración absoluta de estos aminoácidos fue publicada por Dardene et al. en 1972.

Larson y Smith (1955) encontraron 20o/o y 80o/o de galactosa y manosa respectivamente. Estos carbohidratos se aislaron de la cubierta interna vítrea y dura, con alcali. Una forma importante de almacenamiento en las semillas es en la de azúcares no reductores. Los azúcares no reductores están ausentes en el estado maduro y durante la germinación. Los materiales pécticos insolubles juegan un papel importante en la exclusión de agua por la capa de Malpighio (Raleigh, 1930). En las células de la semilla las paredes no están lignificadas. La epidermis del endospermo contiene gránulos de aleurona. Las otras células del endospermo contienen mucilago (Sayed y Beal, 1958).

Se ha tratado de romper el estado durmiente impuesto por la cubierta de la semilla mediante el uso de varios métodos:

1. Remojando las semillas en alcohol por 72 horas y luego en agua. Este método fue empleado por Barton en 1947. También fue empleado por Pohl en 1955, pero con resultados completamente negativos.
2. Escarificación mecánica. Martín y Featherly (1928) y Rivera, Popp y Dow (1937) obtuvieron 90o/o de germinación utilizando este método.
3. Escarificación con H_2SO_4 concentrado. Este proceso fue ensayado por Pohl (1955) y Wiesehuegel (1935). Los mejores resultados (86o/o de germinación) se lo-

graron al remojar las semillas por 120 minutos en H_2SO_4 concentrado y luego en agua por 24 horas.

4. Calentamiento. Al calentar las semillas a 50oC por 5 a 20 minutos indujo en algo la germinación (Rivera, Popp y Dow; 1937).
5. Presión (Rivera, Popp y Dow; 1937). Calentando las semillas a 50oC por 1 a 20 minutos y aplicándoles 1.000 Lbs/pulgada cuadrada se induce del 60 al 90o/o de germinación.

La esterilización superficial no es muy importante para el porcentaje de germinación, pero sí para la supervivencia de las plántulas. Yo he obtenido un 86o/o de germinación colocando las semillas a 22oC (constante). Con temperaturas diurnas y nocturnas alternas de 15 y 5oC respectivamente se ha obtenido un 3o/o de germinación. Al colocar semillas a germinar bajo luz de diferente cualidad, los mejores resultados se obtuvieron con luz azul. La oscuridad es mejor para la germinación que la luz roja y/o la presencia de benzilamino-purina. Las semillas tratadas con citoquinina y colocadas bajo condiciones de luz roja germinaron en porcentajes más altos que otras colocadas bajo luz roja solamente. En mis experimentos el GA₃, el ácido indolacético, el NaCl y el manitol mostraron efecto inhibitorio en la germinación de las semillas, pero la Kinetina mostró un efecto positivo. El etileno ha mostrado efecto negativo en la germinación de semillas escarificadas. El ácido indol-acético promueve la elongación de la radícula.

Plántula. En la raíz el patrón de diferenciación del Xilema primario es exarco. Por encima del nudo del cotiledón, en el eje principal están localizados los canales descritos por Martín y Featherly (1928). Estos canales llevan los primordios de las yemas laterales. Martín y Featherly notaron que después de la decapitación los dos pares superiores de yemas empezaban a desarrollarse, pero después de una semana sólo el primer par se desarrollaba y el segundo par suspendía su desarrollo. Yo decapité plantas a diferentes niveles entre el cotiledón y la plúmula. En todos los casos obtuve desarrollo del par superior de primordios de yemas laterales. Aproximadamente 2 semanas después de la decapitación la dominancia apical era reestablecida por uno de los primordios de yemas laterales. Las hojas pinadamente compuestas de la planta joven fueron reportadas inicialmente por Pohl (1955). Atchison (1949) determinó el número de cromosomas ($2N=14$) por coloración de células foliares con acetoorceína.

Algunos compuestos aislados de las hojas por Abramson (1973) son n. nonacosano, oleato de metilo, linoleato de metilo, 1 heptacosano y el esteroil 5α -Stigmast 8 (14), 22 dien-3 β -ol. El árbol no es atacado por insectos y sus hojas han sido usadas en la elaboración de insecticidas (Dardene y Cosimir, 1972). La presencia de aminoácidos no proteicos tales como ácido α , γ diamino butírico e indospicina se anota como la causa de las propiedades venenosas de la hoja. Sin embargo, Dardene y Casimir (1972) no detec-

taron amino ácidos tóxicos ni en las hojas ni en las legumbres.

Rotting (1971) encontró que el N,N' dinitro etilén — diamino en concentraciones de 500 y 1.000 ppm estimulaban el crecimiento de las plántulas.

Cuando yo coloqué plántulas de 20 días de edad y de la misma apariencia bajo luz de diferente cualidad a 26°C, la mayor cantidad de antocianinas se produjo bajo condiciones de luz verde.

Las plántulas colocadas bajo condiciones de días de 8 horas no producen más hojas y sus yemas apicales mueren. Hay una relación directa entre foto período y el aumento total en la longitud de la plántula. La misma relación se observa en el número de hojas formadas y en la razón de peso de la hoja a su área.

La cantidad de clorofila disminuye con el aumento en la longitud del día, de 14 a 20 horas.

Hay un aumento sigmoidal en la longitud de los entrenudos entre los primordios de las yemas laterales, empezando a nivel de los cotiledones hacia la primera hoja. Otra característica del desarrollo es la disminución continua en la longitud de los entrenudos de la primera hoja hacia arriba, hasta el 4o entrenudo, luego los entrenudos empiezan a aumentar de longitud de nuevo.

En el meristema apical hay una alta producción de ácido indol-acético el cual previene el desarrollo de los primordios de yemas laterales o axilares. La eliminación de la dominancia apical no fue posible mediante el uso de soluciones acuosas de Kinetina (50 ppm) y IAA (5 ppm), o Kinetina (50 ppm) y G A₃ (5 ppm).

El desarrollo de los primordios de las yemas laterales puede, sin embargo impedirse por decapitación y aplicación de IAA al 10/o en lanolina sobre la incisión.

La Brassina líquida aplicada al meristema apical inhibe el crecimiento total en longitud de las plántulas; también inhibe el crecimiento en longitud del tercer entrenudo cuando se aplica al mismo como una pasta.

Se aplicaron diferentes concentraciones de I AA hasta 10/o en lanolina a epicótilos decapitados. Luego se colocaron en agua destilada por un mes. Después de este período no se observó producción de raíces.

Tampoco se logró producción de raíces mediante la aplicación de una solución formada por 500 ppm de I AA en etanol por 5 segundos a epicótilos decapitados y luego colocados en agua destilada por 1 mes.

Se probó el efecto de G A₃ (1 ppm), Kinetina (5 ppm) e I AA (1 ppm) en el retardo de la desintegración de la clorofi-

la en plántulas jóvenes y en plántulas en estado juvenil, tanto para hojas viejas como para hojas jóvenes.

En hojas viejas se observó que las hormonas retardaban la desintegración de la clorofila según el siguiente orden: G A₃ > Kinetina > I AA. En hojas jóvenes el I AA previene la desintegración de la clorofila, pero la Kinetina y el G A₃ la promueven.

También se trabajó con algunos inhibidores como: ABA (10⁻³ M), P C I B (10⁻⁴ M) y el 531 (10⁻³ M). Se observó que ninguno inducía la desintegración de la clorofila.

Apariencia de la Planta Madura.

El árbol maduro tiene una altura de 25 metros (Sayed y Beal, 1958; Freeman, 1944) con un tronco de cerca de 1 metro de diámetro, dividiéndose a una altura de 3 a 5 metros en 3 ó 4 tallos principales. El árbol forma una copa estrecha o las ramas pueden dirigirse hacia arriba por 20 metros o más (Sargent, 1922). Algunas veces la planta forma una colonia a su alrededor debido a la producción de varias plantas hijas a partir de yemas radicales.

Las hojas aparecen tarde en la primavera (Freeman, 1944) y son bipinadas (Smith, 1934; Sayed y Beal, 1958; Thomas, 1949), obovadas, con 0.3 a 1.0 metro de largo por 0.45 a 0.65 metros de ancho, son 5-9 pinadas y C/pina tiene de 6 a 14 folíolos. Los folíolos son ovados a ovales con 2.0 a 0.7 cm de longitud. En muchas hojas las 2 ó 4 primeras pinas están reemplazadas por folíolos. Las hojas son las más largas de cualquier árbol del norte, con la posible excepción del "Little Hercules Club" (Thomas, 1949).

Sargent (1922) describe estípulas, pero Hutchinson (1964) anota ausencia de ellas. En los especímenes que yo observé no encontré estípulas. Según Romberger (1963) al final de mayo, como una regla, las yemas superiores perecen y sólo las inferiores crecen y la parte superior del tallo muere. El crecimiento apical de cada vástago es determinado, pero el crecimiento de todo el sistema es indeterminado. El primer paso en el aborto de las yemas superiores no es necrosis tisular sino suspensión del crecimiento. En los estadios finales ocurre la desintegración celular y el cambium del corcho se forma a través del eje, justamente por encima del par de yemas laterales más superiores. Smith (1934) no encontró evidencia de formación foliar antes de febrero. En marzo, cada folíolo de la hoja bipinada consta de áreas provasculares y regiones intervenosas de usualmente 5 filas de células pequeñas, homogéneas, en forma de ladrillo.

Flores. Las plantas son dioicas (Freeman, 1944), alcanzando la antesis durante mayo o junio (Fernald, 1950). En septiembre u octubre del mismo año las semillas maduran dentro de la vaina y permanecen en el árbol hasta la siguiente primavera (Freeman, 1944).

Las flores se organizan en racimos terminales (Hutchinson, 1964; Sayed y Beal, 1958). La inflorescencia del árbol esta-

minado tiene 7.5 a 10.0 cms de longitud; las ramas inferiores usualmente tienen 3 ó 5 flores. La inflorescencia del árbol pistilado tiene 25 a 30 cms de longitud; las flores están en pedúnculos rígidos, 2 a 5 veces tan largos como aquellos de la flor estaminada. Ocasionalmente se encuentran flores perfectas (Thomas 1949).

Las brácteas y bracteolas están ausentes (Hutchinson, 1964). El cáliz tiene 1.7 cms de longitud, cubierto en la superficie externa con pelos pálidos y en la superficie interna con un tomento canoso. El cáliz se compone de 5 segmentos, estrechos, subiguales, abiertos en yema (Hutchinson, 1964). Hay 4 ó 5 pétalos blancuzcos en quilla, vellosos en la parte de atrás, ligeramente acanalados, tomentosos en la superficie interna. La flor masculina tiene los estambres, libres, más cortos que la corola. Los filamentos son ligeramente vellosos. Las anteras son brillantes, anaranjadas y uniformes. El ovario en la flor masculina es rudimentario, diminuto o ausente; en la flor bisexual o en la femenina es sécil. Los óvulos son numerosos; el estilo está comprimido hacia arriba; el estigma es espeso y oblicuo (Hutchinson, 1964).

Madera. La cáscara de la madera posee escamas sueltas, duras y rizadas (Freeman, 1944; Thomas, 1949). El floema secundario frecuentemente contiene fibras (Metcalf y Chalk, 1965). Las divisiones anticlinales en las iniciales del floema son infrecuentes (Esau, 1955).

Pansin y de Zeeuv (1970) y Metcalfe y Chalk (1965) estudiaron la anatomía de la madera. Según ellos, la albura es blanca amarillosa y estrecha; el duramen es rojo claro a café rojizo; la madera no tiene olor o sabor característico, sus elementos están extractificados en forma recta. La madera es pesada (granedad específica 0.5 cuando verde) y dura.

Los anillos de crecimiento son conspicuos y la madera es porosa en anillos. Los poros de la madera temprana son grandes, se observan a simple vista y forman una banda de 3 a 6 poros de anchura. Hay una transición abrupta de madera temprana a madera tardía. Los poros de madera tardía son pequeños y visibles con lentes. En la madera tardía externa hay grupos de elementos como nidos que ocasionalmente se unen. Los vasos son muy pocos a moderadamente numerosos y los de mayor tamaño son grandes a muy grandes. Las placas de perforación son simples. En los vasos pequeños de la madera tardía hay engrosamientos en espiral. Las punteaduras son alternas orbiculares a ovales, revestidas (Metcalf y Chalk, 1965; Pansin y de Zeeuv, 1970; Scurfield, Silva e Ingle, 1970) con 5 - 9 micras en diámetro. Según Scurfield, Silva e Ingle los vasos tienen una superficie interna lisa; pero Cote y Day, citados por ellos, reportaron paredes internas verrucosas. El parénquima es paratraqueal vasocéntrico, paratraqueal confluyente y marginal. Hay fibras libriformes que son de pared delgada o gruesa. En los rayos las células son historiada, es decir, están arregladas uniformemente. Los rayos son homocelulares y 1 - 7 (principalmente 3 - 5) seriados. Los rayos más largos tienen menos de 1,200 micras de altura a través de una extractifica-

ción del xilema. La punteadura de rayo a vaso es similar a aquella que hay entre dos vasos.

MATERIALES Y METODOS.

Las semillas se esterilizaron remojándolas en etanol al 95o/o por 10 minutos, y luego con clórox por otros 10 minutos. Luego se lavaron tres veces consecutivas con agua estéril desmineralizada. La siembra de las semillas se hizo en materas que contenían una mezcla estéril de suelo regular (1/3) y de mezcla jiffy (2/3)

Las muestras para el estudio de primordios de yemas laterales se fijaron en el siguiente orden:

1. Embriones (sin cotiledones) del primero al cuarto día después del día de la siembra
2. Epicótilos del quinto al décimo quinto día. El último día las plántulas fueron decapitadas y
3. Se fijaron epicótilos del día décimo sexto al vigésimo cuarto.

El material para el estudio anatómico del cotiledón, el cuerpo primario del tallo, el pecíolo, el meristema apical y la hoja se fijó de plántulas jóvenes

El material se fijó en FAA compuesto por:

Alcohol etílico al 50o/o	90 mls.
Acido acético glacial	5 mls.
Formol	5 mls

Las muestras se aspiraron y se dejaron en la solución fijadora por un tiempo mínimo de 24 horas. La deshidratación se llevó a cabo, un paso cada 24 horas, utilizando las siguientes soluciones:

1. Paso del 50o/o (50 mls de agua destilada, 40 mls de etanol al 95o/o, 10 mls de ATB absoluto).
2. Paso del 70o/o (30 mls de agua destilada, 50 mls de etanol al 95o/o, 20 mls de ATB).
3. Paso de 85o/o (15 mls de agua, 50 mls de etanol al 95o/o, 35 mls de ATB).
4. Paso del 95o/o (45 mls de etanol al 95o/o, 55 mls de ATB).
5. Paso del 100o/o (25 mls de etanol al 100o/o, 75 mls de ATB).
6. Paso del 100o/o (25 mls de etanol al 100o/o, 75 mls de ATB, safranina).
7. ATB absoluto.
8. ATB absoluto.

Para la infiltración del material se utilizó parafina de un punto de fusión próximo a los 56 grados centígrados.

La inclusión se hizo por medio de cápsulas de porcelana y placa de doble temperatura. Las secciones se elaboraron con un micrótomoto rotatorio y cada sección tenía un espesor de 9 micras. El extendido se efectuó en portaobjetos a los cuales se les había colocado adhesivo de Haupt y formol al 40/o. Los portaobjetos se limpiaron con etanol al 300/o. Para la coloración se utilizó el programa de la safranina y el fast green. Para el montaje de las placas permanentes se siguió el siguiente proceso:

1. Lavado de los cubreobjetos en etanol al 300/o y secado de los mismos.
2. Colocación de una gota de resina sintética Harleco sobre las secciones coloreadas y colocación del cubreobjetos.
3. Las secciones se dejaron en el calentador de láminas por una semana.
4. Una vez secas las preparaciones se limpiaron con alcohol al 700/o y con cuchillas de afeitar. Luego se almacenaron las placas para posterior examen microscópico. Las fotos se tomaron a través de un equipo automático Leitz Wetzlar Orthomat.

RESULTADOS

List (1963) reportó el haz vascular triple a nivel del pecíolo del cotiledón (ver las figuras 2 y 8). Dicho haz tiene un patrón de maduración endarco. En la plántula joven una sección transversal del tallo (figura 3) muestra la siguiente organización: Una capa epidérmica cubierta tangencialmente por una delgada cutícula. La parte externa del córtex primario, según Metcalfe y Chalk (1965) es colenquimatoso. Se han reportado células pétreas en el córtex. El córtex se continúa con una capa de esclerénquima. Luego se observan los grupos de células de floema primario organizadas en un anillo e interceptadas por parénquima. Hacia la parte inter-

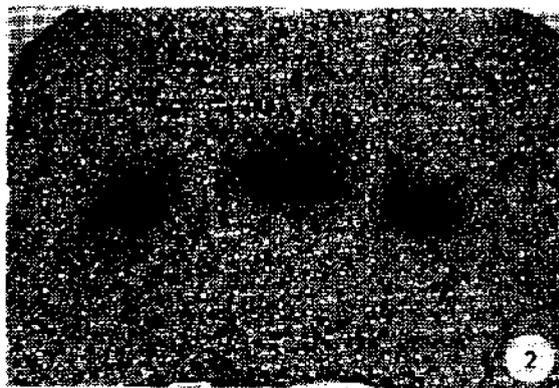


FIGURA 2.
Sección transversal del pecíolo cotiledonar (x 20).

na del floema primario hay varios grupos de células del xilema primario organizadas circularmente. El tallo joven tiene una medula prominente. En el cuerpo secundario del tallo joven hay células de corcho aplanadas y de pared gruesa.

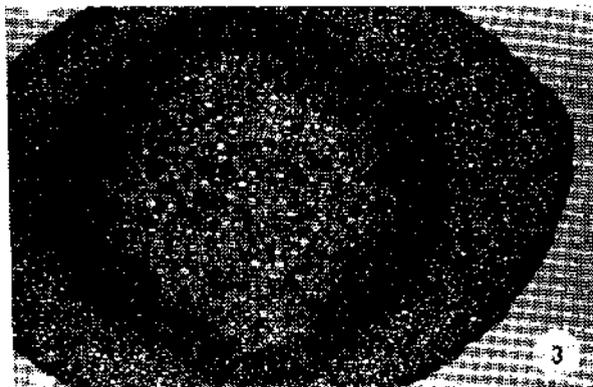


FIGURA 3.
Sección transversal del tallo primario (x 31).

El pecíolo de la hoja en sección transversal (figura 4) tiene una organización similar a la del cuerpo primario del tallo. El haz vascular principal es cilíndrico (Metcalf y Chalk, 1965). En el patrón estomático de la hoja (figura 5), las células subsidiarias están ausentes. Un folíolo en sección transversal muestra una vena media (figura 6) rodeada por una vaina de esclerénquima. El xilema es adaxial y el floema es abaxial. El parénquima de empalizada (ver figura 7) está compuesto por células elongadas, las cuales forman una capa simple. *Phyllosticta gymnocladi* Tehon and Daniels n. p. (Tehon y Daniels, 1927), un hongo reportado, crece en la capa de parénquima de empalizada. El mesófilo esponjoso ocupa la mitad del área de la hoja en sección transversal (ver figura 7). Hay venas más pequeñas embebidas en el mesófilo (Metcalf y Chalk, 1965). La filotaxia de la plántula joven, tal como yo la observé, es 2/5.

En la superficie de los canales de embriones disectados, pude observar los primordios de yemas laterales. En cada canal conté de 4 a 8 primordios. Usualmente el embrión

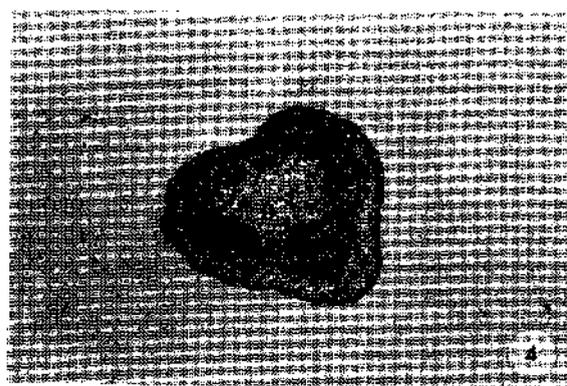


FIGURA 4.
Sección transversal del pecíolo foliar de una plántula (x 20).

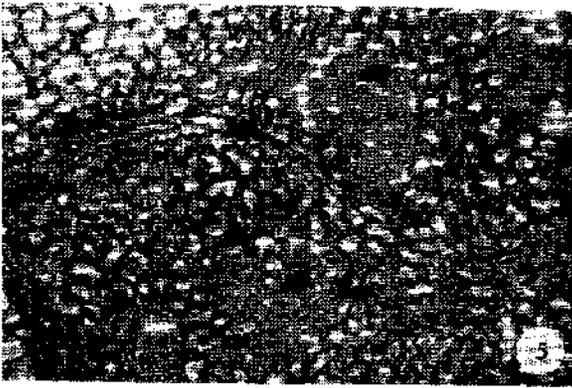


FIGURA 5.
Sección paradermal de un folíolo de la plántula (x 20).

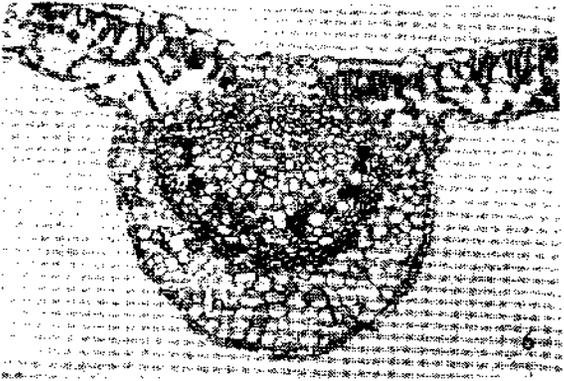


FIGURA 6.
Sección transversal de un folíolo mostrando la vena media (x 83).

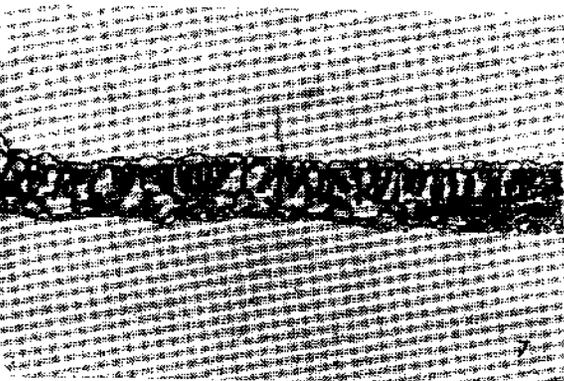


FIGURA 7.
Sección transversal de un folíolo mostrando la estructura de la lámina (x 83).

tiene el mismo número de primordios en cada canal. Los primordios están organizados en un patrón opuesto o subopuesto. La primera hoja verdadera de la plántula está a unos 45 grados de cada canal.

La longitud promedio del eje del embrión es de unos 5 milímetros. La figura 9 representa una sección media longitudinal, hecha a través de los canales, de un embrión fijado a los 2 días después de su siembra. El embrión de la figura 9

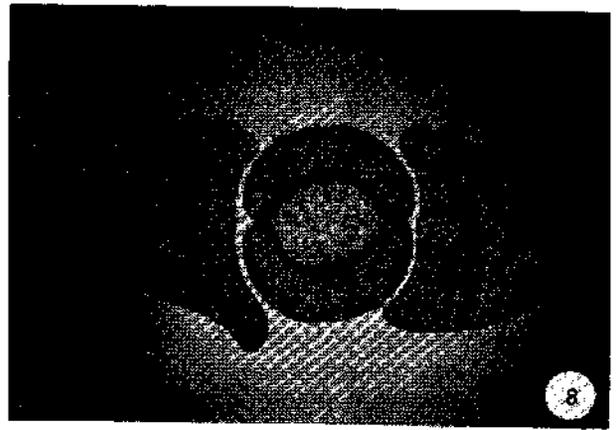


FIGURA 8.
Sección transversal por encima de la unión de los cotiledones al eje de la planta, se nota el haz vascular triple (x 8).

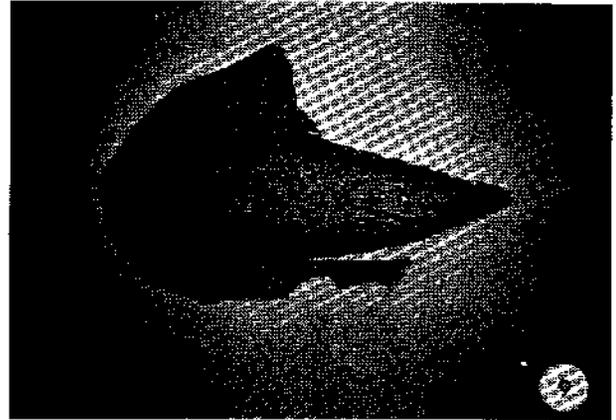


FIGURA 9.
Sección media longitudinal de un embrión de dos días (x 8).

tienen unos 6 milímetros de longitud, sin incluir los cotiledones los cuales fueron cortados y eliminados antes de la fijación. En este estado el embrión parece tener 4 hojas. El meristema apical, en el epicótilo, muestra una túnica uniseriada. Debajo de la túnica puede observarse un grupo de células madres centrales. La radícula está empezando a crecer. A cada lado de la sección mostrada en la figura 9 se observan 6 ángulos pequeños, cinco de los cuales representan las posiciones de los primordios de yemas laterales. En este estado de desarrollo la planta en su totalidad tiene un carácter menistemático con mayor intensidad de divisiones celulares en unas zonas que en otras. El cordón de procambium es cilíndrico con interrupciones en la región opuesta a cada primordio de yema lateral. Dicho cordón es continuo de epicótilo a hipocótilo y se ramifica a nivel de cada cotiledón. La medula muestra células claras y oscuras. El córtex es estrecho, tiene cerca de 15 hileras verticales de células en la parte más amplia. La mayoría de las células de procambium tienen una orientación vertical para su eje más largo y son más estrechas que aquellas del tejido del córtex. Las células corticales tienen su eje más largo orientado horizontalmente, y colorean de un tono un poco más claro que las células procambiales. La epidermis consta de una capa de células en empalizada. Una delgada cutícula rodea la capa epidérmica.

La figura 10 representa los dos primordios izquierdos superiores de yemas laterales, en la misma sección de la figura 9. El córtex y la medula están conectados por células parenquimatosas en las regiones opuestas a los primordios de yemas laterales (como lagunas rameales). Las células en la medula están alineadas verticalmente, como un resultado de las divisiones periclinales; el eje más largo de las células está orientado horizontalmente debido a que no se ha presentado elongación en mucho grado. La actividad mitótica podría ser el factor involucrado en la mayor densidad de coloración de algunas células de la medula.

La figura 11 muestra la conexión parenquimatosa entre córtex y medula. Esta figura representa una sección transversal a través del primer primordio de yema lateral de un embrión de 2 días. Las células localizadas por debajo de la capa superficial del primordio de yema lateral se colorean densamente. Tal capa superficial de células puede ser considerada como la túnica y las células por debajo de esta capa como el grupo de células madres centrales. El primordio de yema lateral en este estadio tiene una forma aplanada y sus flancos muestran la continuación de los canales del embrión.



FIGURA 10.
La misma sección de la figura 9, pero mostrando los dos primordios de yemas laterales izquierdos más superiores (x 83).

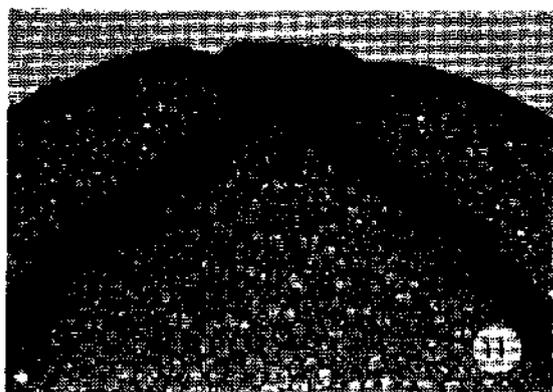


FIGURA 11.
Sección transversal de un embrión de 2 días a través del primer par de primordios de yemas laterales (x 83).

La figura 12 representa una sección media longitudinal a través de los canales de un embrión de 5 días. La mayoría de las células de la medula y del córtex tienen su eje mayor orientado verticalmente. El meristema apical muestra una túnica que parece ser biseriada. El cordón de procambium penetra a las hojas. Este procambium se dobla hacia la porción abaxial de cada primordio de yema lateral. Las células epidérmicas se elongan radialmente. Todavía no se observan elementos de metaxilema diferenciados.



FIGURA 12.
Sección longitudinal a través de los primordios de yemas laterales de un embrión de 5 días (x 20).

La figura 13 es una sección ligeramente oblicua (casi transversal) de un embrión de 5 días, a través de 2 primordios de yemas laterales. Los primordios son aplanados. El córtex y la medula muestran sus células como si fueran isodiamétricas. Por dentro del cordón de procambium se organizan varios grupos de protoxilema. Las figuras 14, 15 y 16 corresponden a embriones de 8 días. Las figuras 14 y 16 son longitudinales y la figura 14 muestra 2 primordios laterales de la región izquierda de la sección. En esta última sección se notan algunos elementos de vaso con engrosamientos en espiral, por debajo del segundo primordio. La figura 15 corresponde a una sección transversal a través del primer par de primordios de yemas laterales. Las yemas son cóncavas, lo cual indica el principio del desarrollo foliar.

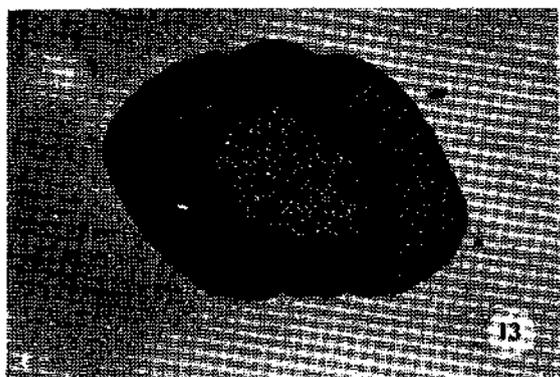


FIGURA 13.
Sección transversal de un embrión de 5 días a través del primer par de primordios de yemas laterales (x 31).

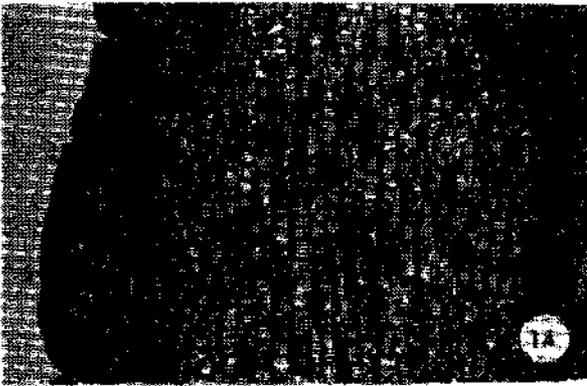


FIGURA 14.
Sección longitudinal de un embrión de 8 días mostrando uno de los primordios de yemas laterales más superiores (x 83).

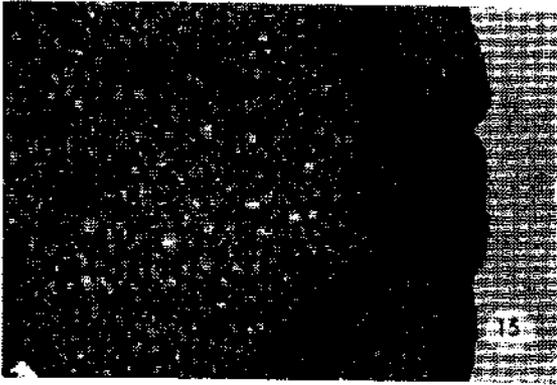


FIGURA 15.
Sección transversal de un embrión de 8 días, a través del par superior de primordios de yemas laterales (x 83).

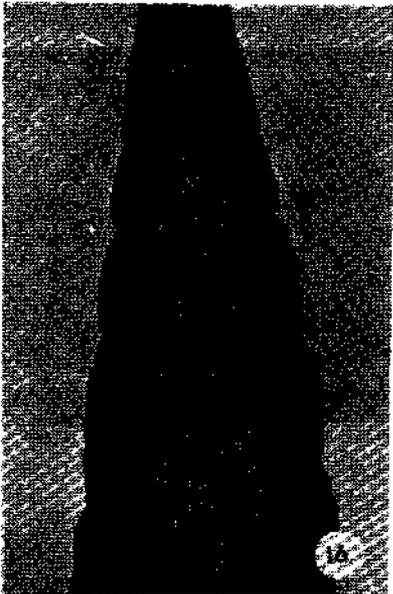


FIGURA 16.
Sección longitudinal a través de los primordios de yemas laterales de un embrión de 8 días (x 20).

Las figuras 17, 18 y 19 corresponden a embriones de 11 días (realmente son plántulas, las semillas germinan en una semana) Las figuras 17 y 18 muestran un estado de desarrollo similar a aquel de un embrión de 8 días, pero la figura 19 incluye un estado de mayor desarrollo. Cada primordio de yema lateral opuesta ha desarrollado una hoja. Los primordios de yemas laterales son prominentes y se extienden más allá del contorno del tallo. Las células de la región procambial se alinean radialmente. Se han diferenciado varios grupos de células del metaxilema. Las células parenquimatosas son más largas en la medula que en el córtex, en sección transversal parecen isodiamétricas. Hay espacios intercelulares triangulares. La epidermis está formada por células en empalizada y la cutícula es delgada.

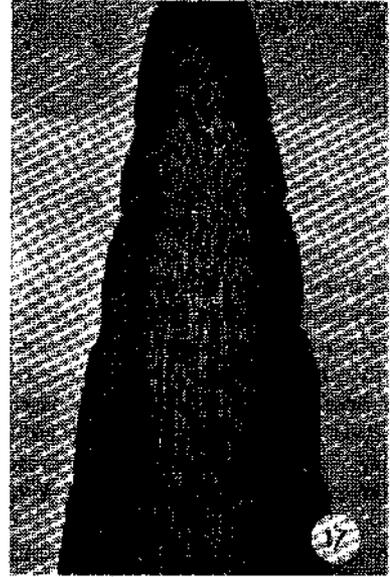


FIGURA 17.
Sección longitudinal a través de los primordios de yemas laterales de un embrión de 11 días (x 20).

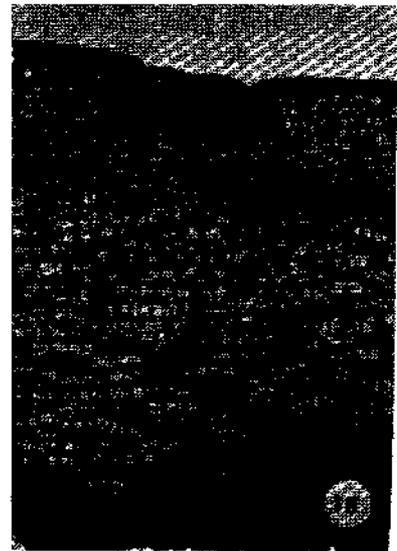


FIGURA 18.
Lo mismo que en la figura 17, pero mostrando los primordios de yemas laterales más superiores (x 83).

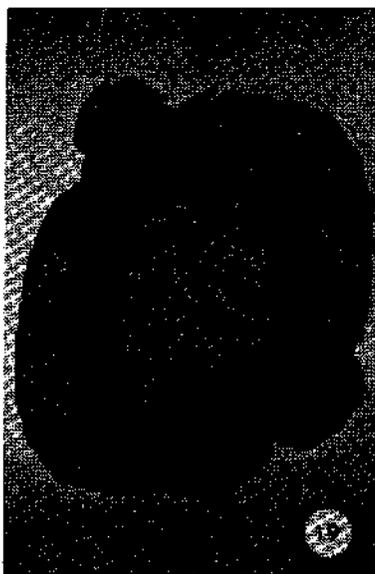


FIGURA 19.
Sección transversal de un embrión de 11 días, a través del par más superior de primordios de yemas laterales (x 31).

La figura 20 muestra una sección media longitudinal a través del primer primordio de yema lateral de un embrión de 14 días. A este nivel de desarrollo predomina el crecimiento por elongación. El cordón procambial se extiende continuamente a la hoja inferior dejando una laguna rameal por encima. El ápice del primordio de yema lateral tiene forma de domo. Hay una túnica uniseriada y se presentan tricomas simples que convergen hacia la superficie de la hoja.

Se decapitaron embriones de 15 días (plántulas), para observar otros estados de desarrollo de los primordios de yemas laterales.

La túnica parece ser biseriada en algunas secciones transversales a través del primer primordio de yema lateral (ver figuras 22 y 23). Por debajo de la túnica se observa el corpus. En la figura 24 también se observa una túnica biseriada.

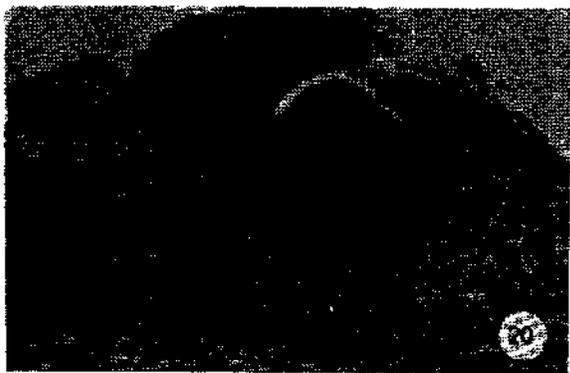


FIGURA 20.
Sección longitudinal de un embrión de 14 días. Se observa uno de los primordios de yemas laterales más superiores (x 83).



FIGURA 21.
Sección transversal de un embrión de 14 días. La foto muestra uno de los primordios foliares más superiores (x 83).

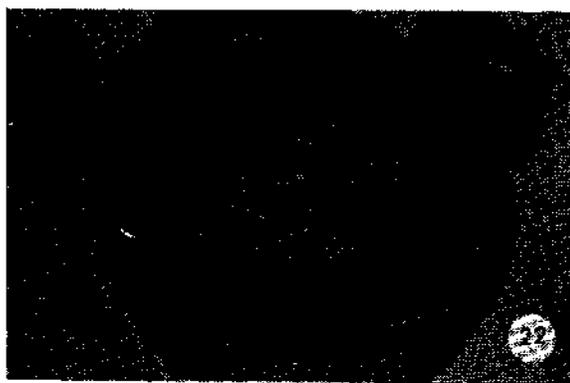


FIGURA 22.
(x 31) y 23 (x 83). Muestran una sección transversal de un embrión de 17 días a través del primordio de yema lateral más superior.



FIGURA 23.

Una plántula de una edad próxima a los 20 días (un embrión de 30 días) muestra una túnica biseriada (ver figura 25). El corpus se compone de pocas células.

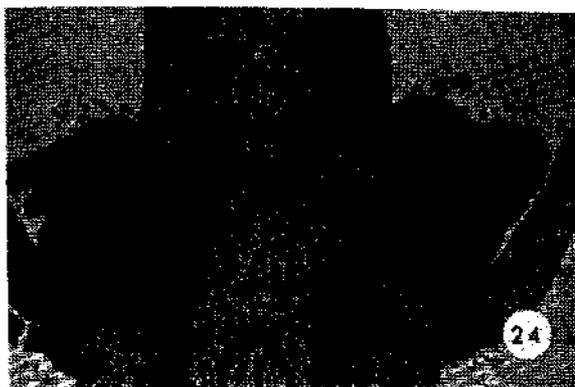


FIGURA 24.
Sección longitudinal de un embrión de 20 días, a través de los primordios de yemas laterales más altos (x 31).



FIGURA 25.
Sección media longitudinal del meristema apical del tallo de una plántula (x 83).

DISCUSION

La raíz principal en la plántula del árbol del café de Kentucky es tetrarca. De los cuatro, dos haces vasculares opuestos se dirigen a los cotiledones, por esa razón los denominaremos haces radículo-cotiledonares. Cada haz vascular radículo-cotiledonar se bifurca, por consiguiente en cada cotiledón hay inicialmente dos trazas. Al conjunto de una traza cotiledonar y el haz vascular al cual converge se le puede considerar como un simpodio, aunque el último término fue acuñado para gimnospermas (Namboodiri y Beck, 1968). Como en el sistema simpodial, la conexión del eje de la planta con el cotiledón carece de una laguna foliar parenquimatosa.

I.W. Bailey (1956) observó la doble naturaleza del haz vascular del cotiledón en algunas dicotiledóneas y el árbol del café de Kentucky no es una excepción a este hallazgo. Luego este haz vascular es triple y más arriba posee cinco trazas. Los haces vasculares que alternan con los haces radicu-

lo-cotiledonares sufren numerosas divisiones originando varias trazas por encima de los cotiledones. En el tallo el patrón de maduración del xilema es endarco.

Las yemas axilares de los cotiledones no se desarrollan bajo condiciones normales. Martin y Featherly (1928) observaron por primera vez los primordios de yemas laterales. Yo no encontré referencia alguna donde se indique la existencia de estos primordios en otra planta. Bajo condiciones normales los primordios de yemas laterales se desarrollan ligeramente, pero más tarde son inhibidas por el meristema apical del tallo.

Cuando se decapita la plántula el par superior de primordios de yemas laterales empieza su desarrollo, pero después de dos semanas una yema restablece la dominancia apical. Los vástagos originados por el desarrollo de primordios de yemas laterales son más delgados y más cortos que los desarrollados a partir del ápice del embrión.

A través de este trabajo se siguió el desarrollo de los primordios de yemas laterales durante varios estadíos mediante la observación de secciones transversales y longitudinales. La forma de los meristemas apicales desarrollados a partir de los primordios de yemas laterales es muy similar a aquella del meristema apical embrionario, excepto que sus primeras hojas son simples.

El ápice de la planta muestra una túnica que puede ser uniseriada o biseriada y un corpus está presente por debajo de ella. Las células de la túnica se dividen anticlinalmente mientras que las células del corpus se dividen en todos los planos (Clowes, 1961). El número de células iniciales no ha sido determinado para *Gymnocladus dioica* (L.) Kock. La similitud entre dos estadíos de desarrollo en embriones fijados en diferentes días después de su siembra es una indicación de la diferencia en la rata de desarrollo de cada planta individualmente. La plántula parece que permanece en un estadío con cuatro hojas hasta que algún factor determina mayor proliferación foliar.

Los primordios de yemas laterales podrían ser yemas auxiliares que han perdido las hojas que las subtendían, a través de algún mecanismo evolutivo; pero no hay evidencia anatómica para sustentar esta hipótesis.

AGRADECIMIENTOS

El autor presenta sus agradecimientos al doctor Lawrence C. Matten por la sugerencia del problema y por su guía y asistencia durante la investigación y durante la escritura del presente artículo. La valiosa ayuda proporcionada por Mr. Robert Castaldo en la elaboración de las fotografías se aprecia grandemente. El autor también expresa su gratitud a Mr. John A. Richardson por su colaboración con el laboratorio de fotografía, y a los doctores John Yopp y Robert H. Mohlenbrock por sus sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Abranson, H. N. 1973. Hydrocarbon and steroidal constituents of *Gymnocladus dioica*. *Phytochem.* 12: 951-952.
- Atchison, E. 1949. Studies in the Leguminosae. IV Chromosome Numbers and Geographical Relationships of Miscellaneous Leguminosae. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 65: 118-122.
- Bailey, I. W. 1956. Nodal anatomy in Retrospect. *J. Arnold Arb.* 37: 269-287.
- Barkenbus, C., and A. J. Zimmerman. 1927. Kentucky Coffee Nut Tree Seed Oil. *J. Amer. Chem. Soc.* 49: 2061-2064.
- Clowes, F. A. L. 1961. Apical Meristems. F. A. Davis Company, Philadelphia, Vol. 2, 217 pp.
- Darnede, G. A., and J. Casimir. 1972. Two stereoisomers of β Hidroxy- δ -methyl glutamic acid from seeds off *Gymnocladus dioicus*. *Phytochem.* 11: 787-790.
- Dardene, G. A., et al. 1972. Absolute configuration of β Hidroxy δ Methyl glutamic acids from *Gymnocladus dioicus*. *Phytochem.* 11: 791-797.
- Esau, K., and V. I. Cheadle. 1955. Significance of cell divisions in differentiating secondary phloem. *Acta Bot. Neerl.* 4: 348-357.
- Fernald, M. L. 1950. Gray's Manual of Botany. Eighth (centennial) edition. American Book Company, New York, pp. 884.
- Freeman, E. 1944. The Kentucky coffee tree (*Gymnocladus dioica*). *Back to Eden.* 10: 6.
- Hooker, J.D., and B. D. Jackson. 1946. Index Kewensis. Oxford University Press, London, England. Tomus 1 . Pg. 1076.
- Hutchinson, J. 1964. The genera of flowering plants. Oxford University Press, London, England. Vol. 1, 516 pp.
- Jensen, W. A. 1962. Botanical Histochemistry. W. H. Freeman and Co., San Francisco. 408 pp.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill Book Col. New York, 523 pp.
- Larson, E. B., and F. Smith. 1955. The constitution of the galactomannan of the seeds of the Kentucky coffee bean (*Gymnocladus dioica*). *Amer. Chem. Soc. J.* 77: 429-432.
- Martin, J. N., and H. I. Featherly. 1928. Lateral bud primordia in the embryo of *Gymnocladus dioica*. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 7: 120-122.
- Metcalf, C.R., and Chalk. 1965. Anatomy of the Dicotyledons. Oxford at the Clarendon Press. Vol. 1, 724 pp.
- Namboodiri, K. K., and C. B. Beck, 1968. A comparative study of the primary vascular system of conifers. *A. J. Bot.* 55: 447-472.
- Pansin, A. J., and C. de Zeeuw. 1970. Textbook of wood technology. Third Ed. McGraw-Hill Book Company, New York. Vol. 1. 594-595.
- Pohl, R. W. 1955. An endospermous dicotyledon seed for botanical instruction. *Proc. Iowa Acad. Sci.* 62: 150-151.
- Raleigh, G. J. 1930. Chemical conditions in maturation, dormancy, and germination of seeds of *Gymnocladus dioica*. *Bot. Gaz.* 89: 273-294.
- Rivera, R., H. W. Popp, and R. B. Dow. 1937. The effect of high hydrostatic pressures upon seed germination. *A. J. Bot.* 24: 508-513.
- Romberger, J. A. 1963. Meristems, Growth, and Development in woody plants. Technical Bulletin N. 1293, U.S. D. A. Forest Service p. 62.

- Rotting, B. A. 1971. N. N. dinitroethylenediamine stimulates height growth of Kentucky coffee tree. *Forest Sci.* 17:313.
- Sargent, C. S. 1922. *Manual of the trees of North America*. Second Ed. Riverside press, Cambridge. 910 pp.
- Santa, José I. 1977. La transición de Raíz a tallo en *Gymnocladus dioica* (L.) Koch. *Act. Biol.* 5:70-79.
- Sayed, M. D., and J. L. Beal. 1956. A histological study of some mucilaginous seeds. *Amer. Pharm. Assoc. J. Sci. Ed.* 47:544-547.
- Scurfield, G., S. R. Silva, and H. D. Ingle. 1970. Vessel Wall structure: An investigation using scanning electron microscopy. *Austral. J. Bot.* 18: 301-312.
- Smith, G. H. 1934. Anatomy of the embryonic leaf. *A. J. Bot.* 21: 194-209.
- Stone and Test. 1893. *Am. Chem. J.* 15: 660.
- Tehon, L. R., and E. Y. Daniels. 1927. Notes on the parasitic fungi of Illinois, III - *Mycologia*, 19: 110-129.
- Thomas, E. S. 1949. "Mahogany in Ohio" *Ohio Conserv. B.* 13:5.
- Wieschuegel, E. G. 1935. Germinating Kentucky coffee tree. *J. Forest.* 33:533-534.