

# MORFOLOGIA COMPARATIVA DE LAS FLORES DE *Theobroma cacao* L., *T. bicolor* Humb. & Bonpl., *T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. Y *Herrania* sp.

William Goltia<sup>1</sup> y Klaus Jaffé<sup>2</sup>

1.- Estación Experimental Miranda, FONAIAP, Caucagua, Estado Miranda, Venezuela.

2.- Departamento de Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000, Caracas 1080A, Venezuela.

Recibido: 19/09/95 ; Revisado: 29/01/97 ; Aceptado: 28/04/97

**RESUMEN:** Se describen morfológicamente las flores de *Theobroma cacao*, *Theobroma bicolor*, *Theobroma grandiflorum* y *Herrania* sp. Aunque las flores difieren en forma y tamaño, se encontraron varias estructuras, algunas de ellas de secreción, tales como tricomas glandulares y nectarios, que son similares en las especies estudiadas. Se comparan cualitativa y cuantitativamente estas estructuras y se discuten los resultados en relación a una posible doble función de las estructuras florales: atraer al insecto polinizador y repeler a otros insectos no polinizadores. **Palabras clave:** Sterculiaceae, morfología floral, *Theobroma cacao*, *Theobroma bicolor*, *Theobroma grandiflorum*, *Herrania*.

## COMPARATIVE MORPHOLOGY OF *Theobroma cacao* L., *T. bicolor* Humb. & Bonpl., *T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. AND *Herrania* sp. FLOWERS

**ABSTRACT:** We describe the morphology of the flowers of *Theobroma cacao*, *Theobroma bicolor*, *Theobroma grandiflorum* and a *Herrania* sp. Although the flowers differ in form and size, we found various structures, some of them secretory such as glandular trichomes and nectaries, which are similar among the species studied. We compared qualitatively the floral structures and discuss the results in relation to a possible double function, to attract the pollinating insects and to repel other nonpollinating insects. **Key Words:** Sterculiaceae, floral morphology, *Theobroma cacao*, *Theobroma bicolor*, *Theobroma grandiflorum*, *Herrania*.

## INTRODUCCION

Las flores de *Theobroma cacao* L., *T. bicolor* Humb. & Bonpl., *T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. y *Herrania* sp. emergen en las áreas desprovistas de hojas del tronco y ramas<sup>1</sup> sobre pequeñas protuberancias o cojinetes florales, rasgo denominado caulifloria, de forma que las flores son colgantes.

En cuanto a lo que se conoce sobre la morfología de las flores de *Theobroma*, Stejskal<sup>10</sup>, describió dos tipos de tricomas glandulares en flores de *T. cacao*: cilíndricos y cónicos. Los primeros, multicelulares y en forma de porra, se localizan en el pedicelo, en los sépalos, tanto en el haz como en el envés, y sobre el ovario. Las estructuras cónicas o papilas son unicelulares y se localizan en las líneas guías de las capuchas petalares y en la parte terminal de los estaminodios. Así mismo, Young *et al.*<sup>12</sup>, al utilizar el microscopio electrónico de barrido para estudiar con más detalle la superficie de estas estructuras florales en *T. cacao*, *T. speciosum* y *Herrania purpurea*, describen también nectarios tipo estoma en los pétalos de estas flores.

Las flores de *T. cacao* poseen mecanismos para atraer a sus polinizadores (dípteros) y a la vez repeler el acceso de hormigas<sup>3</sup>. Los mecanismos de atracción de polinizadores en *Theobroma* y *Herrania* aparentemente son muy específicos<sup>12</sup>, aunque sólo para *T. cacao* se han reportado insectos polinizadores, que pertenecen al género *Forcipomyza*<sup>7,11</sup>.

En cuanto a mecanismos de exclusión de insectos no polinizadores se ha postulado que tricomas en la superficie de estructuras florales podrían dificultar el acceso de los insectos caminadores al interior de las flores, dado que limitan la adhesión de ellos sobre la superficie vegetal<sup>2,9</sup>.

En este trabajo se realizaron cortes histológicos de flores de *T. cacao*, *T. bicolor*, *T. grandiflorum* y *Herrania* sp., para observar las estructuras, dimensiones y distribución de los tricomas glandulares y simples. La motivación del presente estudio fue la de conocer la disposición de los distintos tricomas de las flores para poder eventualmente inferir sobre su posible función y tratar de entender mejor las posibles interacciones entre la flor y los insectos, tanto polinizadores como otros.

## MATERIALES Y METODOS

**Colección de muestras.** Se colectaron flores de *T. cacao*, *T. grandiflorum*, *T. bicolor* y *Herrania* sp., entre Enero y Diciembre de 1989, en la Estación Experimental Miranda, del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP), Caucagua, Edo. Miranda, y en Capibara, San Carlos de Río Negro, Coyowateri y Culebra en el Edo. Amazonas, Venezuela.

**Preparación de las muestras.** La técnica histológica empleada es el producto de la combinación de la metodología utilizada por Sass<sup>8</sup> y Johansen<sup>6</sup>. Las flo-

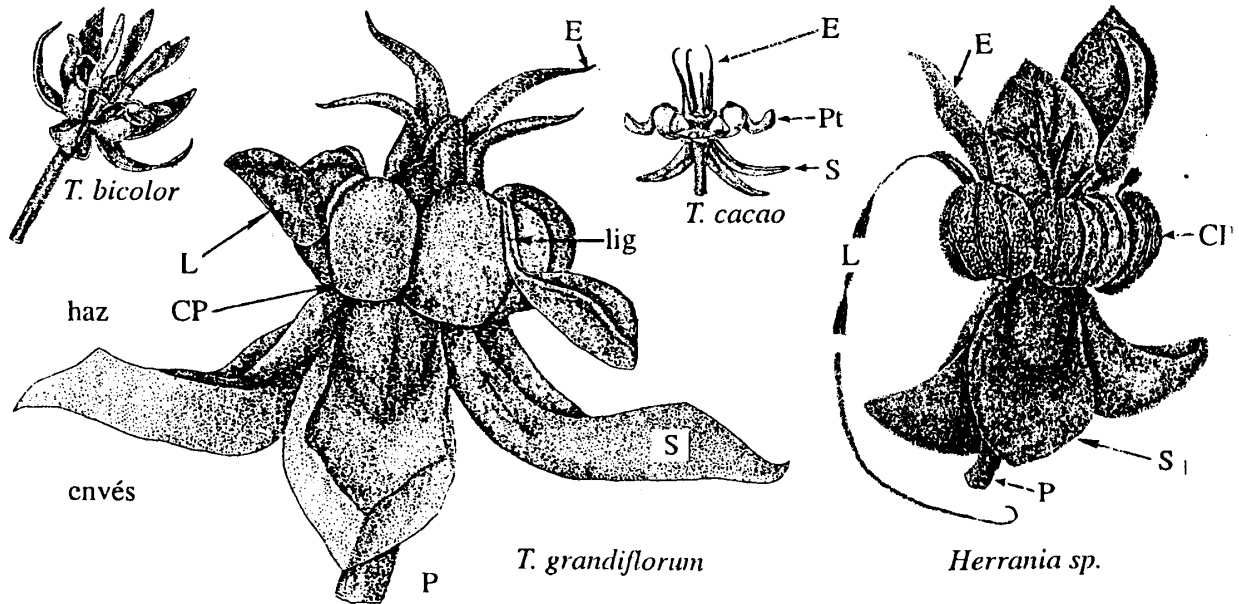


Figura 1. Estructuras florales en tres especies de *Theobroma* y una de *Herrania*. ( $\times 3$ ) P: pedicelo; S: sépalo; Pt: pétalo; E: estaminodio; CP: cogulla o capuchón petalario; lig: ligula petalar; L: limbo petalar.

res se recolectaron en las primeras horas de la mañana (6:00 a 7:00 a.m.) e inmediatamente se introducían en el fijador vegetal FAA. Las flores fijadas se colocaron en bolsas de tul dentro de un recipiente con agua corriente durante 30 min, para eliminar el exceso de fijador. Luego se sumergieron en una serie de tres alcoholes de concentración creciente, permaneciendo 45 min en cada una de las proporciones, para su deshidratación. Después de deshidratado el tejido se sumergió consecutivamente, durante 1 h cada vez, en tres soluciones de butanol con proporciones crecientes de Paraplast (3:1, 1:1, 1:3), colocándolos en recipientes cerrados dentro de una estufa a 59°C.

Una vez solidificados los tacos, se procedió a cortar el tejido en el micrótopo a un espesor de 5  $\mu\text{m}$ . Los cortes se dejaron en un baño de agua a 46-48°C colocando el lado menos brillante del corte hacia el agua. Se preparó un adherente de la siguiente manera: en 100 ml de agua destilada se agregó 0,5 g de albúmina seca en polvo fino (Merck), homogeneizando con una mezcladora imantada (Corning PC-353). Luego se filtró el adherente para eliminar grumos no disueltos. La finalidad del adherente fue la de formar una capa de mayor sustentación sobre el cubre objeto, dónde se fijaría el corte. Luego de adherir los cortes sobre los porta objetos se dejaron secar y posteriormente se sumergieron en una batería de solventes para teñir los tejidos utilizando Xilol, Alcohol, Hematoxilina, Eosina, Carboxileno (Fenol/Xilol: 1/4), entre otros.

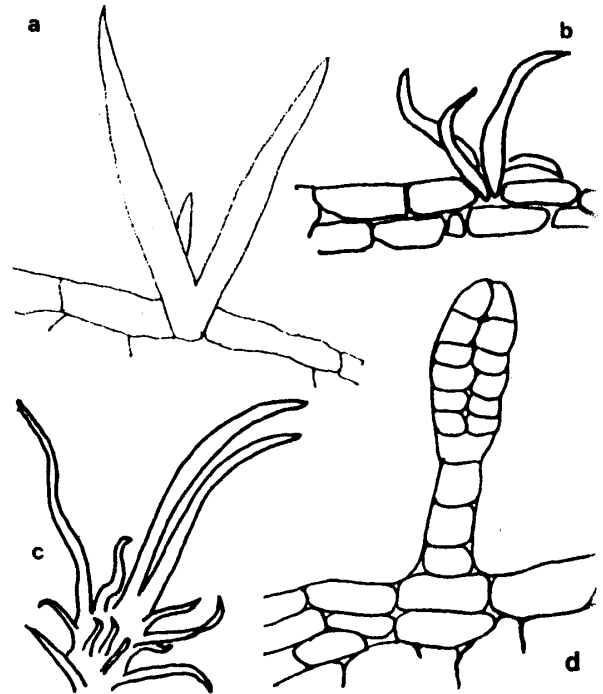


Figura 2. Tricomas del pedicelo, a-c: tricomas estrellados: a: *T. cacao* ( $\times 400$ ); b: *T. bicolor* ( $\times 400$ ); c: *T. grandiflorum* ( $\times 60$ ); d: Tricoma glandular tipo porra en *T. cacao* ( $\times 400$ ).

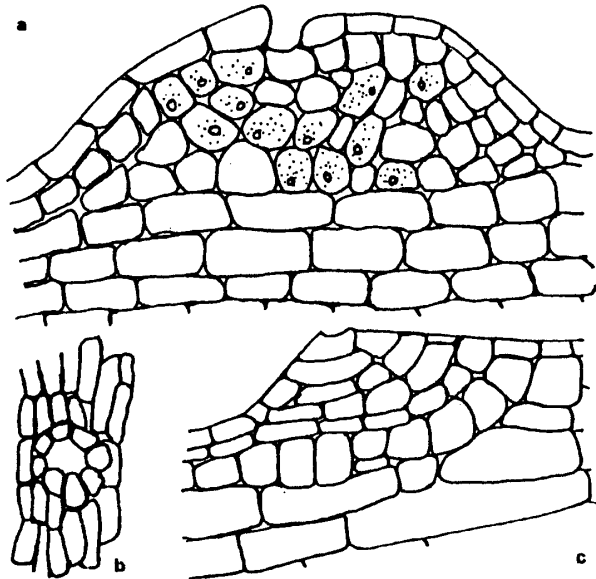


Figura 3. Nectarios tipo estoma en el pedicelo ( $\times 400$ ): a: *T. cacao*; b: *T. bicolor*; c: *Herrania* sp.

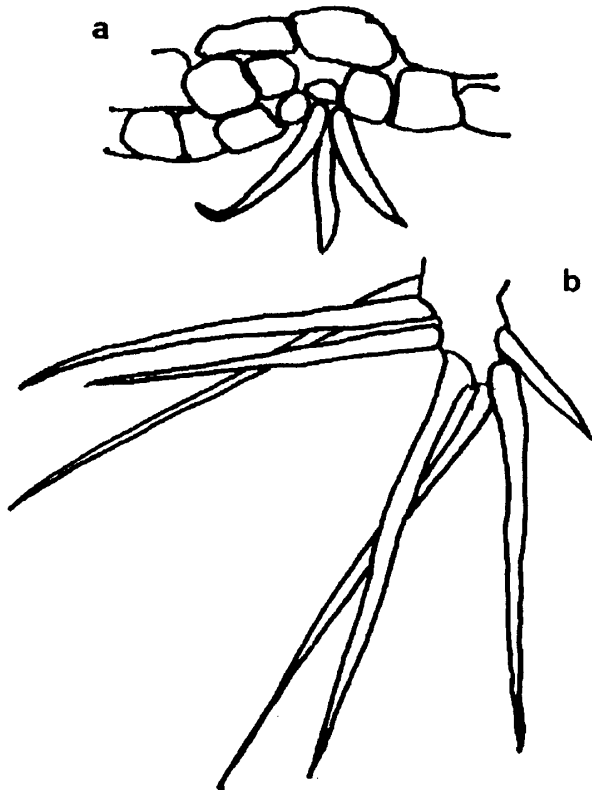


Figura 4. Tricomas estrellados sobre el envés de los sépalos: a: *T. bicolor* ( $\times 400$ ); b: *Herrania* sp. ( $\times 60$ ).

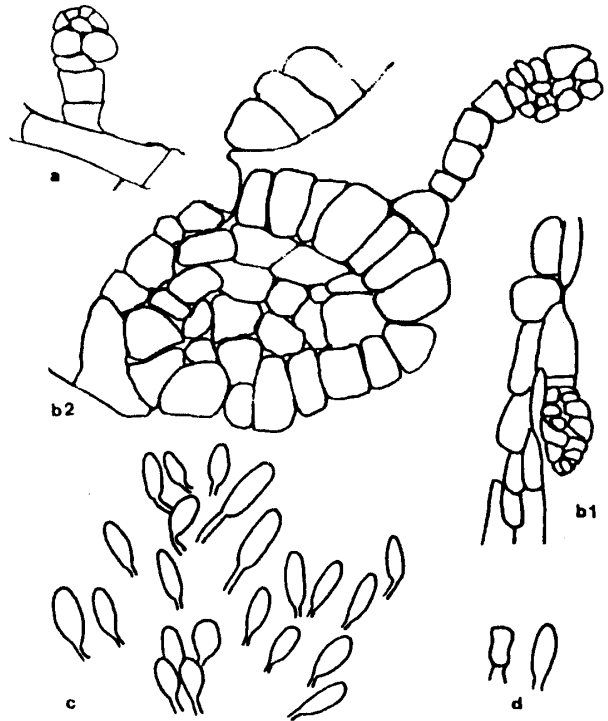


Figura 5. Tricomas glandulares tipo porra sobre el haz de los sépalos: a: *T. cacao* ( $\times 400$ ); b: *T. bicolor* ( $\times 400$ ); b1: dispersos por toda la superficie; b2: en la base; c: *T. grandiflorum* ( $\times 60$ ); d: *Herrania* sp. ( $\times 60$ ).

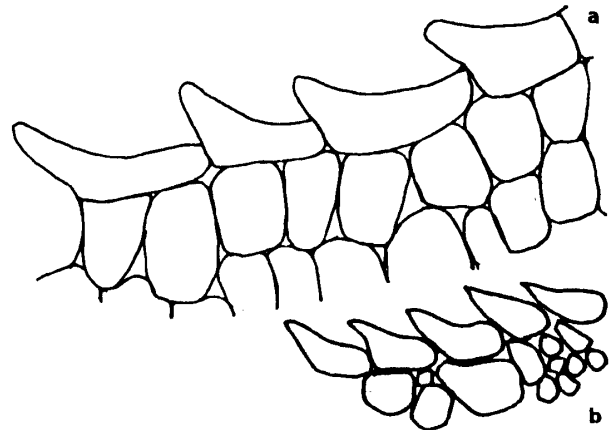


Figura 6. Papilas o tricomas glandulares unicelulares sobre la superficie de los pétalos (capuchón o cogulla) ( $\times 400$ ): a: *T. cacao*; b: *T. bicolor*.

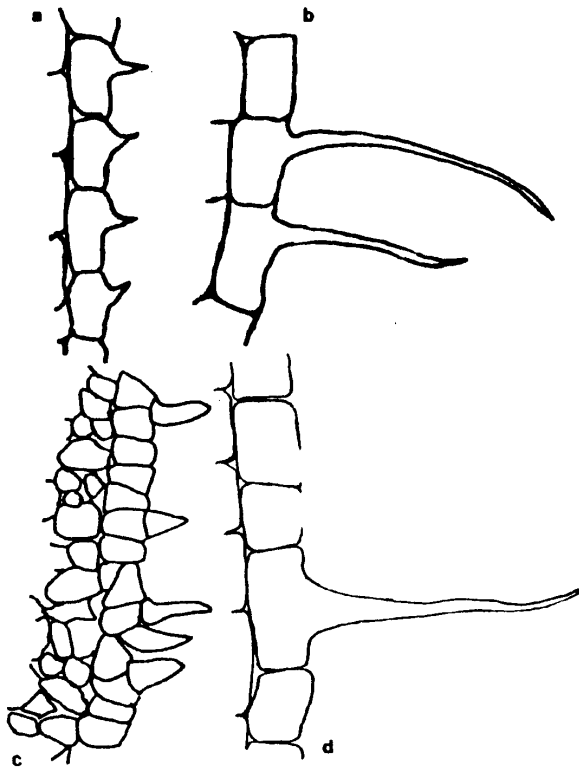


Figura 7. Tricomas sobre la superficie de los estaminodios ( $\times 400$ ): a: *T. cacao* (papillar); b: *T. cacao* (trícoma simple filiforme); c: *T. bicolor* (papillar); d: *T. grandiflorum* (trícoma simple filiforme).

## RESULTADOS

**Morfología floral.** Las flores de las cuatro especies estudiadas están representadas en la Figura 1, donde se observa la diferencia en tamaño entre las flores de las especies estudiadas y también las similitudes morfológicas entre ellas.

**Pedicelo.** Las flores de las especies estudiadas poseen en el pedicelo (Figura 1) tricomas estrellados, es decir estructuras con varias prolongaciones filiformes que emergen desde un punto central (Figuras 2a-c). En el caso de *T. grandiflorum* y *Herrania sp.*, estos tricomas pueden alcanzar una mayor longitud que en las flores de las otras dos especies (Tabla 1). En los pedicelos de *T. cacao*, *T. grandiflorum* y *Herrania* se localizaron además tricomas glandulares tipo porra o cilíndricos (Figura 2d), encontrándose un mayor rango de longitud en el caso de *T. cacao* (Tabla 1). Los tricomas glandulares de las otras especies se disponen por debajo de los ápices de los tricomas estrellados, mientras que en *T. cacao* ocurre lo contrario. En el pedicelo de las flores de las cuatro especies también se encontraron nectarios tipo estoma, esto es, una formación en montículo con un orificio apical. Las células que lo conforman poseen un citoplasma granuloso (Figuras 3a-c).

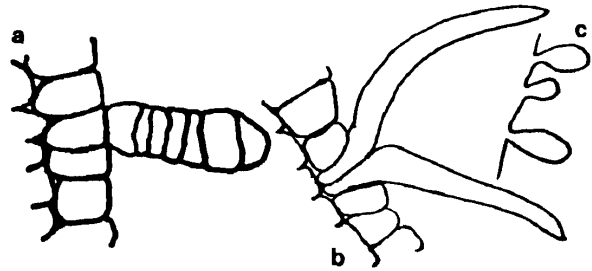


Figura 8. Tricomas sobre la superficie del ovario ( $\times 400$ ): a: *T. cacao* (trícoma glandular tipo porra); b: *T. bicolor* (trícoma estrellado); c: *Herrania sp.* (trícoma glandular unicelular).

**Sépalos.** Los tricomas estrellados también se presentan en la parte externa o envés del sépalo de las cuatro especies, similares a los presentes en el pedicelo (Figuras 4a-b). En el caso de *Herrania sp.* alcanzan una mayor longitud en comparación con el resto de las flores (Tabla 1), presentándose erectos y agudos (Figura 4b). En el haz de los sépalos, hacia la región basal, existen tricomas glandulares en las cuatro especies estudiadas (Figuras 5a-d). Con la excepción de *T. cacao*, los tricomas se distribuyen también en el extremo proximal rodeando la base de los pétalos, formando un anillo alrededor y por debajo de ellos. En *T. cacao*, *T. grandiflorum* y *Herrania sp.* se ubicaron además pequeños tricomas glandulares dispersos en la superficie adaxial o haz de los sépalos. Los tricomas glandulares alcanzan mayores tamaños en *T. grandiflorum*, seguida de *Herrania sp.*, *T. bicolor* y *T. cacao* (Tabla 1). Los otros tipos de apéndices presentes en el haz de los sépalos son tricomas simples en *T. grandiflorum* y *Herrania sp.* y tricomas estrellados con longitudes similares a los del pedicelo en *T. bicolor* y *T. cacao*.

**Pétalos.** A excepción de *Herrania sp.*, en el haz de la cogulla petalar (Figura 1) se encuentran líneas o áreas pigmentadas, donde se localizaron papilas o tricomas glandulares unicelulares (Figuras 6a-b) que apenas se proyectan levemente de la superficie y sus ápices apuntan en dirección al saco polínico. En el caso de *Herrania sp.* se localizaron cinco líneas prominentes con protuberancias a lo largo de toda la cogulla petalar hasta finalizar en el área donde se origina la lígula o unión entre el limbo y la cogulla petalar, cuya superficie proximal presentó pequeñas protuberancias. La superficie externa o envés de la cogulla petalar de las especies *T. cacao* y *T. bicolor*, presentaron pequeños tricomas simples mientras que *T. grandiflorum* posee además tricomas estrellados y *T. bicolor* presenta nectarios. En el caso de *Herrania sp.* se presentaron varias bandas de protuberancias (cinco bandas menos anchas más profundas e intensas en color intercaladas con filas de protuberancias más angostas) y nectarios tipo estoma (Tabla 1). El limbo petalar de las tres especies de *Theobroma* estudiadas presentó tricomas simples en toda su superficie. En *Herrania sp.* se observaron protuberancias que poseen en su ápice un orificio que hace pensar en una estructura glandular tipo estoma, aunque el contenido citoplasmático de las células no es granuloso, como

## Morfología de las flores de cacao

Tabla 1. Tricomas en las distintas partes florales de *T. cacao*, *T. bicolor*, *T. grandiflorum* y *Herrania sp.*

Especie	Estructura	Parte floral		Sépalo long	Sépalo long	Envés dens	Cogulla haz long	Petalar envés long	Limbo long	Estaminodio long	Ovario long
		Pedicelo long	dens								
<i>T. cacao</i>	te	60-120	17	60-120	100-160	58	-	-	-	-	-
	tg	60-320	3,4	40-100	-	-	-	-	-	100-240	20-100
	ts	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	nle	+	-	-	-	-	-	-	-	20-120	-
	pap	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-
<i>T. bicolor</i>	te	60-100	108	60-100	40-100	81	-	-	-	-	60-140
	tg	-	-	100-140	-	-	-	-	-	+?	-
	ts	-	-	-	-	-	-	120-240	104	80-140	-
	nle	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	pap	-	-	-	-	-	20	-	-	20-120	-
<i>T. grandiflorum</i>	te	500-666	29	-	240	37	-	140-280	-	-	-
	tg	133-300	-	433-699	229	-	-	-	-	-	80-180
	ts	-	-	100-200	-	-	-	+	213	240-440	440-680
	nle	+	-	-	-	-	-	-	-	20	-
	pap	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-
<i>Herrania sp.</i>	te	400-1032	17	-	510	22	-	-	-	-	300-400
	tg	67-100	35	200-599	-	-	-	-	-	-	33-200
	ts	-	-	266-733	-	-	-	-	-	-	-
	nle	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	pap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protub	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-

te: tricoma estrellado; tg: t. glandular tipo porra; ts: t. simple; nle: nectario; pap: papilas; protub: protuberancia; long: longitud ( $\mu\text{m}$ ); dens: densidad (tricomas/ $\text{mm}^2$ ); (+): indica presencia; (-): ausencia.

se presenta en la mayoría de estas protuberancias.

**Estaminodios.** Los estaminodios de las especies de *Theobroma* presentaron pequeñas papilas o tricomas glandulares unicelulares (Figuras 7a y c), tanto en el haz como en el envés. En el caso de *T. bicolor* éstos alcanzan una menor longitud hacia el ápice (20-60  $\mu\text{m}$ ) respecto a los que se encuentran más próximos al ovario (80-120  $\mu\text{m}$ ) (Tabla 1). También se encuentran en toda la superficie del estaminodio en las flores de estas especies, tricomas simples (Figuras 7b y d), aunque son más abundantes hacia el ápice y bordes distales. La especie de *Herrania* estudiada posee pequeñas protuberancias en toda la superficie de los estaminodios.

**Ovario.** Las flores de *T. cacao*, *T. grandiflorum* y *Herrania sp.* presentaron sobre la superficie del ovario tricomas glandulares tipo porra (Figuras 8a y c), en tanto que en *T. bicolor* sólo se localizaron tricomas estrellados (Figura 8b). En el caso de *T. grandiflorum* la diferencia en la disposición de los tricomas simples y de los glandulares permite que estos últimos se encuentren despejados sobre la superficie del tercio apical del ovario. Por el contrario, en *Herrania sp.* los tricomas glandulares están cubiertos por tricomas estrellados y no se observaron tricomas simples. En *T. cacao* estos tricomas glandulares están presentes hasta aproximadamente el primer tercio proximal del estilo y no se presentan tricomas simples ni estrellados.

## DISCUSION

Los resultados para *T. cacao*, aunque muy parecidos, no concuerdan totalmente por lo reportado por Stejskal<sup>10</sup>. Por ejemplo, él reporta tricomas en el envés del sépalo y nosotros no. Ello podría indicar cierta variabilidad en la

morfología floral dependiendo de las variedades utilizadas. Las flores de las plantas estudiadas: *T. cacao*, *T. bicolor*, *T. grandiflorum* y *Herrania sp.*, presentan sobre la superficie de sus diferentes partes, tricomas simples, estrellados y glandulares. Todas estas flores poseen tricomas estrellados recubriendo la superficie del pedicelo. Las flores de *T. grandiflorum*, *T. cacao* y *Herrania sp.* poseen además tricomas glandulares sobre toda la superficie del pedicelo. En *T. cacao* estos tricomas secretan una sustancia pegajosa que no parece ser atractiva para las hormigas, ni es consumida por otros insectos<sup>3</sup>. Estos tricomas podrían dificultar el acceso de los insectos caminadores al interior de las flores, aunque no tengamos evidencias directas para ello. Estos dos tipos de tricomas podrían estar actuando como una doble barrera complementaria para restringir o dificultar el acceso de insectos caminadores a las flores. Esta posible barrera difiere entre las especies. En el caso de *T. cacao* los tricomas glandulares son mucho más largos que los tricomas estrellados y lo contrario ocurre en el caso de *Herrania sp.*

Los tricomas simples y estrellados se presentan también en el envés del sépalo. En el caso de *Herrania sp.* los tricomas estrellados son relativamente más largos, erectos y agudos. La accesibilidad de los insectos a partes florales no sólo es afectada por el tamaño de los tricomas sino también por la densidad de éstos sobre la superficie floral, que limitan el acceso de los insectos caminadores al interior de la flor. En nuestro caso, aunque las flores de *T. bicolor* no poseen tricomas glandulares en el pedicelo sí tienen una mayor densidad de tricomas estrellados respecto a las otras flores estudiadas. Por ejemplo, se ha reportado que pequeños insectos (Colembola), de 0,2 a 0,4 mm de longitud, son menos abundantes sobre plantas

con pubescencia más densa<sup>7</sup>.

En el interior de las cogullas de las especies de *Theobroma* estudiadas, se encuentran unas papilas, que en el caso de *T. bicolor* y *T. cacao* se ubican en una y tres franjas respectivamente, conformando "líneas guías". Los ápices de estas papilas son similares a las que se presentan en el estaminodio y apuntan hacia el interior del pétalo que cubre los sacos polínicos. Dado que las flores de estas dos especies generalmente cuelgan, esta superficie podría proporcionarle a los insectos polinizadores puntos de apoyo y facilitar el caminar de éstos hacia la base de las anteras<sup>12</sup>.

En *T. bicolor*, las papilas de los estaminodios se hacen más largas hacia la proximidades del ovario cuya superficie carece de tricomas glandulares. Esto sugiere que los tricomas y/o papilas de los estaminodios que rodean al ovario podrían secretar néctar, reemplazando en su función a los tricomas glandulares del ovario observados en otras especies.

Este estudio puede aportar a la discusión iniciada por Jantzen<sup>5</sup>, sobre por qué las hormigas, en general, se encuentran raramente sobre las flores. El pedicelo de *T. grandiflorum* posee tricomas estrellados en una baja densidad; además la flor de esta especie es bastante más grande que las de *T. cacao* y *T. bicolor* y su ovario posee mayor densidad de tricomas glandulares por unidad de á-

rea que las otras especies estudiadas. Por otra parte, sabemos que *T. cacao* tiene mecanismos que repelen las hormigas de la flor<sup>3</sup>. Nuestros resultados permiten entonces hacer predicciones experimentalmente comprobables. Si asumimos que la flor de *T. grandiflorum* posee pocos mecanismos morfológicos que la protejan de insectos no polinizadores (especialmente hormigas colectoras de néctar) en comparación con *T. cacao*, podemos predecir que cuenta probablemente con una serie de mecanismos de protección química para repeler insectos caminadores; o que la competencia por los mecanismos de polinización por insectos sea de menor importancia en esta especie, pudiendo la flor ser polinizada por varias especies de insectos, y la ocurrencia de hormigas en la flor será mayor que en *T. cacao*, como ocurre en otras flores<sup>4</sup>. Por otra parte, debido a las diferencias relativas entre las flores de *Theobroma spp.* y *Herrania sp.*, se puede suponer que esta última es polinizada por insectos diferentes a los que polinizan a las especies de *Theobroma* estudiadas.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Pedro Sánchez, la Dra. Glays Muñoz y a dos árbitros anónimos por sugerencias y críticas constructivas al trabajo.

#### REFERENCIAS

1. Alvim, P., Machado, A. y Vello F. Respuestas Fisiológicas del Cacao a los Factores Ambientales. *El Colombiano* 17: 27-52. Traducido de *Theobroma*, CEPEC Ilheus, Brasil 4(4): 3-25, 1981.
2. Duffey, S.S. Plant glandular trichomes: their partial role in defence against insects. En: *Insects and the Plant Surface*, B.E. Juniper y T.R.E. Southwood (Eds.), Edward Arnold, London, 1986. pp. 151-172.
3. Goitia, W., Bosque, C. y Jaffe K. Interacción polinizador - hormiga en cacao. *Turrialba* 42: 178-186, 1992.
4. Jaffe, K., Pavis, C., Vansuyt, H. and Kermarrec. A. Extrafloral nectaries on flowers of the orchid *Spathoglottis plicata*. *Blume Biotropica* 21: 278-279, 1989.
5. Janzen, D. Why don't ants visit flowers? *Biotropica* 9: 4, 1977.
6. Johansen, D. *Plant Microtechnique*. Mc. Graw-Hill, N.Y. y Londres, 1940. pp. XI+523.
7. Sánchez, P. y Reyes L. Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela. FONAIAP: Boletín 11, 1979. 56 p.
8. Sass, J.E. *Botanical Microtechnique*. The Iowa State University Press, USA, 1958. pp. 228.
9. Southwood T.R.E. Plant surface and insects —an overview. En: *Insects and the Plant Surface*, B.E. Juniper y T.R.E. Southwood (Eds.), Edward Arnold, London, 1986. pp. 1-22.
10. Stejskal, M. Néctar y aroma de la flor de cacao. *Oriente Agropecuario (Venezuela)* 1(2): 75-92, 1970.
11. Winder, J.A. Field observations on Ceratopogonidae and other Diptera: Nematocera associated with cocoa flowers in Brazil. *Bull. Entomol. Res.* 67: 57-63, 1977.
12. Young, A.M., Schaller, M. and Strand, M. Floral nectaries and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae). *Amer. J. Bot.* 71(4): 466-480, 1984.