

RESISTENCIA DEL CAFETO A *Hemileia vastatrix*. II. VARIACIONES EN LA CONCENTRACION DE ESTERES FOLIARES¹/*

Elmer G. García*

ABSTRACT

Resistance to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. II. Variations in concentration of foliar esters. The abaxial surface of coffee leaves of cultivars "Catuaí Rojo" (susceptible) and "Catimor T-5298" (resistant) were inoculated by placing 8 drops of water containing uredospores of *Hemileia vastatrix*, the causal organism of coffee leaf rust. The drops were collected after 12, 24, and 48 h of inoculation. The composition of this drops was analyzed by thin layer chromatography. Two compounds were detected: an ester which disappeared as the time of infection progressed, but more rapidly in "Catuaí Rojo" than in "Catimor T-5298". This substance might be related with susceptibility to coffee leaf rust. The other substance, also an ester, increased in concentration between 12 and 48 h in both cultivars, but the concentration was higher in "Catimor T-5298". Presumably, this ester could be related with the resistance of "Catimor T-5298" to coffee leaf rust.

INTRODUCCION

Varios genes asociados con la resistencia del café (*Coffea* sp.) a la roya (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) han sido identificados (Kushalappa y Eskes, 1989), pero los mecanismos mediante los cuales estos se expresan, son poco conocidos. No obstante, la evidencia indica que la resistencia se desarrolla después del contacto entre el hongo y el hospedero (Martins *et al.*, 1986). Muchos factores pueden estar involucrados en la resistencia del café a la roya. Rijo y Rodríguez (1982) encontraron mayor acumulación de calosa y lignina en las paredes celulares de plantas resistentes que en susceptibles, lo que puede restringir el avance del parásito en los tejidos foliares. La resistencia también se ha asociado con la acumulación de fitoalexinas (Medeiros y Rodríguez, 1978).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la variación en la concentración de algunas sustancias foliares de café, luego de la inoculación con *H. vastatrix*, para establecer alguna relación con la resistencia o la susceptibilidad a la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Se tomaron hojas de café de los cultivares "Catimor T-5298" y "Catuaí Rojo" de los nudos 3 y 4, contados desde el ápice. Estas se lavaron con agua destilada y se secaron con papel absorbente. Posteriormente se colocaron con el haz hacia abajo en cajas de plástico cerradas, con papel absorbente húmedo. Con una pipeta Pasteur, se depositaron al azar sobre la cara abaxial 8 gotas de agua destilada (testigo) o de una suspensión acuosa de 20000 uredósporas/ml, para estimular la síntesis y difusión de sustancias hacia las gotas.

Se usó un diseño experimental de bloques al azar con arreglo factorial 2 X 2 X 3, con 5 repeticiones. El primer factor correspondió a los culti-

1/ Recibido para publicación el 4 de febrero de 1992.

* Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

vares, el segundo a la inoculación y el tercero a los períodos de infección, que fueron 12, 24 y 48 h posteriores a la inoculación.

Completados los períodos de infección, se recogieron las gotas, se juntaron las procedentes de la misma hoja y se centrifugó a 700 rpm/10 min, para eliminar restos de tejido vegetal y fúngal. La porción acuosa se particionó primero con hexano y después con Acetato de Etilo.

Para realizar cromatografía de capa fina a las fracciones de acetato de etilo, éstas se concentraron hasta un volumen de 0,5 ml, a 400°C, en un rotavapor a presión reducida. Posteriormente, se colocaron alícuotas de 20 microlitros sobre una placa de vidrio de 20 X 20 cm, cubierta con gel de sílice. Los cromatogramas se desarrollaron con una mezcla de cloroformo y metanol (95:5).

Los cromatogramas se secaron dentro de una cámara con aire caliente. Para detectar la mayor cantidad de sustancias, se procedió a revelar los cromatogramas con luz ultravioleta, vapores de yodo, amoníaco y vainillina al 5% en ácido fosfórico. Fue necesario repetir las separaciones para revelar unos cromatogramas con un reactivo y los restantes con otro.

Para estimar la concentración de las sustancias, se calculó el área de las manchas en los cromatogramas, con un planímetro. Las sustancias que variaron la concentración con el tratamiento, se purificaron por cromatografía preparativa en gel de sílice, eluyendo con cloroformo 95:metanol 5. Luego se les determinó los espectros de absorción en luz ultravioleta e infrarroja.

RESULTADOS Y DISCUSION

Del total de sustancias detectadas, únicamente 2 variaron en concentración, de acuerdo con el tratamiento. Los análisis espectroscópicos

indicaron que ambas poseen un éster en su estructura, por lo que se les denominó éster 1 y éster 2.

El éster 1 tendió a desaparecer en las hojas de las plantas inoculadas de ambos cultivares, pero más rápidamente en las de "Catuái Rojo" (Cuadro 1). Esta desaparición puede tener importancia en la interacción entre el hospedero y el parásito. Es muy probable que la presencia de dicha sustancia en la planta sirva para inhibir la acción de algún mecanismo disponible por el parásito para infectarla, por ejemplo alguna enzima. Si el hongo bloquea el efecto de ésta, probablemente se incrementa la susceptibilidad del hospedero y se favorece el progreso de la infección. Así, la desaparición del éster 1 puede ser provocada por el parásito, mediante el desarrollo de algún mecanismo bioquímico capaz de transformarla en otro compuesto, o incorporarla a alguna otra vía metabólica. De otros estudios se sabe que algunos parásitos pueden inducir la síntesis de enzimas que inhiben la acción de fitoalexinas; por ejemplo *Aspergillus nidulans*, que degrada la pisatina (VanEtten *et al.*, 1989).

La concentración del éster 2 se elevó tanto en un cultivar como en el otro, a medida que se prolongó el período de infección (Cuadro 2). Si se compara el porcentaje de incremento de concentración entre 12 y 48 h en las hojas inoculadas, se obtiene que es mayor en "Catuái Rojo" (285,7%) que en "Catimor T-5298" (259,5%). No obstante, en los 3 períodos la concentración fue mayor en "Catimor T-5298" que en "Catuái Rojo". Lo cual podría tener alguna relación con la mayor resistencia de "Catimor T-5298" a la roya. El incremento de la concentración del éster 2, de acuerdo con el tiempo de infección, podría indicar que se trata de una sustancia con acción de fitoalexina. Como ya se ha señalado previamente (Rodríguez *et al.*, 1975), las fitoalexinas pueden inhibir el desarrollo del micelio del parásito dentro del tejido

Cuadro 1. Disminución de la concentración del éster 1 después de la inoculación con *H. vastatrix*.

Período de infección (h)	Área en mm ² de la mancha en los cromatogramas			
	Catuái Rojo testigo	Catimor T5298 Inoculado	Testigo	Inoculado
12	68,00aA	32,55bA	72,50aA	72,00aA
24	70,00aA	03,00cB	68,75baA	59,50bB
48	69,00aA	00,00cB	72,75aA	55,50bB

Medias acompañadas por letras minúsculas iguales en cada fila y mayúsculas en cada columna, no difieren ($p < 0,05$) Según la prueba de Tuckey.

Cuadro 2. Incremento de la concentración del éster 2, después de la inoculación con *H. vastatrix*.

Período de infección (h)	Area en mm ² de la mancha en los cromatogramas			
	Catuaí Rojo		Catimor T-5298	
	Testigo	Inoculado	Testigo	Inoculado
12	02,00bA	05,25bB	00,00bB	10,50aB
24	01,00cA	14,50bA	00,00cB	29,00aAB
48	03,50cA	20,25bA	04,50cA	37,75aA

Medias acompañadas por letras minúsculas iguales en cada fila y mayúsculas en cada columna, no difieren ($p < 0,05$) según la prueba de Tuckey.

do foliar. Si las plantas de "Catimor T-5298" tienen la capacidad de sintetizar más rápidamente el éster 1 y acumularlo en mayor concentración que las de "Catuaí Rojo", se pueden reducir las posibilidades del parásito para provocar la infección. Si la concentración de esa sustancia es baja y la acumulación tardía, el parásito tendría mayor oportunidad para desarrollarse.

Los resultados sugieren la existencia de 2 situaciones diferentes involucradas en la interacción entre *Coffea* y *H. vastatrix*. Por un lado, mediante la acción del parásito se puede estimular el aumento de la susceptibilidad en un tipo de planta, como en "Catuaí Rojo", y por otro lado, la presencia de éste puede inducir la síntesis y acumulación de fitoalexinas. No obstante, este sistema de interacción es muy complejo, por lo que para entender mejor la función de los ésteres detectados, es necesario estudiar más sus propiedades y características.

RESUMEN

Sobre la superficie abaxial de hojas de cafeto de los cultivares "Catimor T-5298" y "Catuaí Rojo", resistente y susceptible, respectivamente, a la mayoría de las razas de *Hemileia vastatrix*. se depositaron gotas de agua destilada con uredósporas de ese parásito. Las gotas se recolectaron a las 12, 24 y 48 h después de la inoculación y se analizaron por cromatografía de capa fina. El análisis permitió detectar 2 ésteres: uno que desapareció luego de la inoculación, pero más rápidamente en "Catuaí Rojo", lo cual podría favorecer el estable-

cimiento de la infección en cultivares susceptibles a la roya. Acerca del otro éster, se encontró que su concentración aumentó con el período de infección en ambos cultivares, pero ésta fue mayor en "Catimor T-5298", lo cual es probable que contribuya a la resistencia mostrada por las plantas de este cultivar a la enfermedad en mención.

LITERATURA CITADA

- KUSHALAPPA, A.C.; ESQUES, A.B.; 1989. Advances in coffee rust research. Annual Review of Phytopathology 27:503-531.
- MARTINS, E.M.; DE MARIA, A.; GRUNEWALDT, G.; MORAES, W.B.C. 1985. Histological studies of compatible interaction of coffee leaves and *Hemileia vastatrix*. Fitopatologia Brasileira 10(3):627-636.
- MARTINS, E.M.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C., 1986. Elicitation of stress metabolites in coffee leaves by a nonpathogen. Fitopatologia Brasileira 11(3):683-694.
- MEDEIROS, E.; RODRIGUES, C.J. 1978. Producao de substancias do tipo das fitoalexinas em folhas de *Coffea arabica* L. inoculadas com ferrugens nao patogênicas para o cafeeiro. Garcia de Orta, Série Estudos Agronômicos 5(1-2):15-18.
- RUIO, L.; MEDEIROS, E.; RODRIGUES, C.J. 1982. Immunity on coffee-orange rust association: Histopathological aspects. Garcia de Orta, Série Estudos Agronômicos 9(1-2):101-103.
- VANETTEN, H.D.; MATTEHEUS, D.E.; MATTHEUS, P.S. 1989. Phytoalexin detoxification: Importance for pathogenecity and practical implications. Annual Review of Phytopathology 27:143-164.