CULTIVOS TROPICALES. VOL. 7, No. 3/SEPTIEMBRE 1985.
© INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRICOLAS.

Determinación de inhibidores en hojas de café (Coffea arábica L.)

Ma. MARGARITA DIAZ[1]

RESUMEN

Se realizó extracción de hormonas vegetales en hojas de cafeto en el período en que las yemas del mismos se encuentran dormantes; el método de Schreiber y col. utilizado se modificó debido a las impurezas acuo-solubles encontradas en el extracto. La fracción acídica del extracto se purificó; cromatografiándose en capa fina y realizándose bioensayos en plántulas de arroz variedad C-103 con la fracción fluorescente a la luz ultravioleta y cuyo Rf coindice con el del ácido abscísico; la misma presentó actividad inhibidora.

INTRODUCCION

Los cafetos de todas las especies pueden ser considerados como adaptados a los días cortos; la duración del día varía entre diez y media y trece horas y media en el Trópico; y siendo aproximadamente de doce horas en el Ecuador.

El Coffea arábica L. es capaz de florecer con una duración de catorce horas diarias, más allá de este límite no tiene lugar la formación de flores. En Cuba la floración de la variedad Caturra tiene lugar de enero a junio, la recolección de frutos de septiembre-octubre y de diciembre-enero; por lo que la floración ocurre en forma dispersa y por consiguiente también la fructificación.

La iniciación de la floración del café tiene lugar a partir de "nudos de yemas indiferenciadas", bajo la acción de complejos estímulos todavía pocos conocidos;

[1] Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana.

hormonas, iluminación, sequedad, alternancia estacionales marcadas, relación C/N entre otros.

El café se considera generalmente como de cierta tolerancia a la sequía, aún cuando se sabe que la cosecha se reduce de un modo marcado cuando el suministro de agua es inadecuado (Alvim, 1969).

Mess (1956) plantea que una carencia de agua es la que mantiene la yema floral en un estado latente y que cualquier tratamiento que disminuya esta tensión de agua dentro de la yema (particularmente la lluvia o el sumergir las yemas en agua) eliminaría el factor inhibitorio.

Gopal (1975), determinó cómo variaba la presencia de inhibidores y promotores en yemas de cafeto (Coffea arábica L.) inducidas en la fase de reposo y después que las mismas han experimentado el efecto de las lluvias hasta la apertura floral, teniendo como resultado que en diferentes fracciones (neutra, acuosa y ácida) la presencia de inhidores era notable cuando las yemas florales estaban en reposo en el período de sequía y que la concentración de los mismos disminuía a medida que iba aumentando la concentración de promotores.

Es obvio que hasta el momento se sabe que hay algo que mantiene las yemas de café (Coffea arábica L.) en reposo antes de la antesis floral, siendo objetivo de nuestro trabajo estabilizar las técnicas de determinación de inhibidores en hojas de café (Coffea arábica L.) cuando las yemas de las mismas están en período de dormancia, para así ayudar a esclarecer los mecanismos de la antesis floral, utilizando para ello, ensayos biológicos.

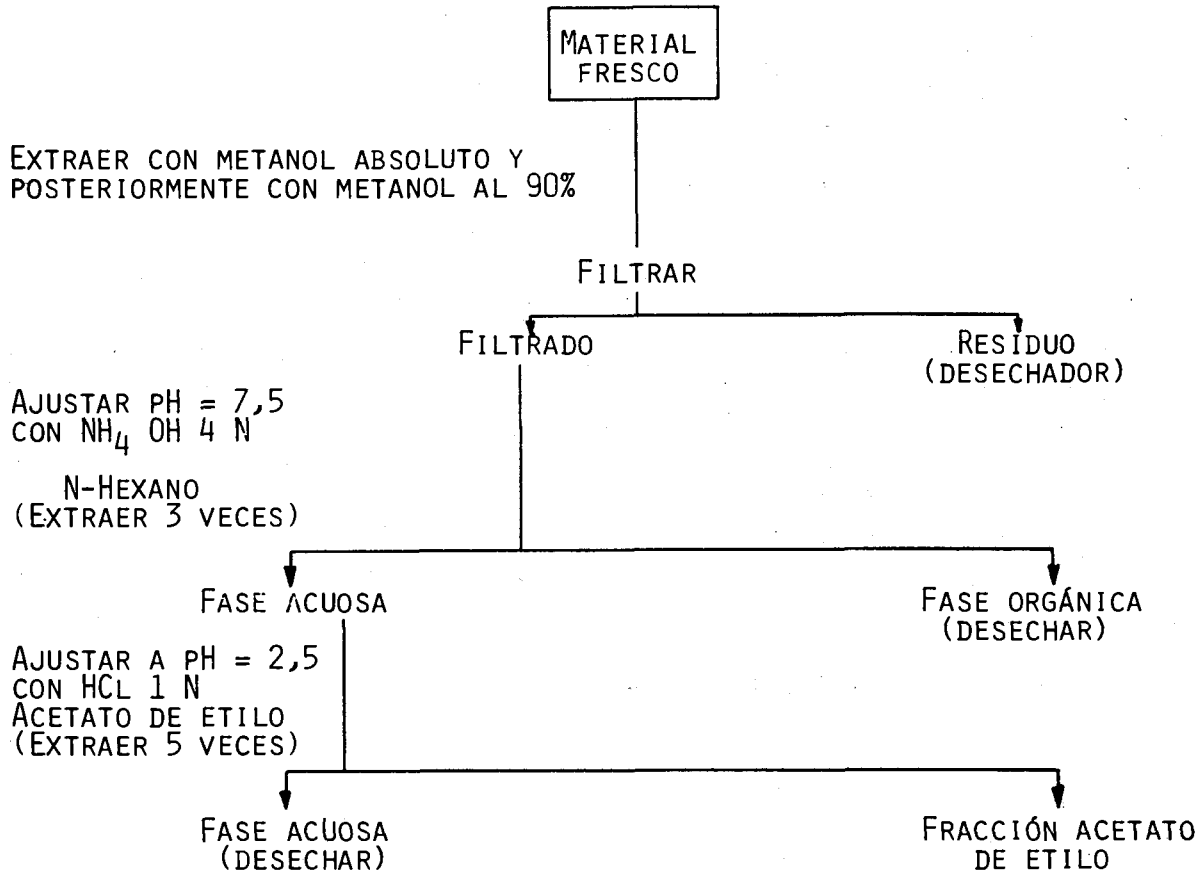
MATERIALES Y METODOS

Las muestras fueron tomadas de plantas de Coffea arábica L. var. Caturra mantenidas a plena exposición solar, en áreas de producción municipio Boyeros, recolectándose hojas adultas de peso fresco: 342 g, 162 g y 274 g, procesándose según el diagrama de Schreiber y col. (1970), Figura 1.

Debido a las impurezas acuosolubles encontradas en el extracto de acetato de etilo final, se procede a la purificación de la muestra en la siguiente forma:

1. Se le añade a la muestra [illegible]0 ml de agua.
2. Se ajusta el pH aproximadamente entre 3-4 HCl (dil).
3. Se extrae con cloroformo (30 ml) tres veces.
4. La disolución orgánica se evapora y posteriormente se le añade 2 ml de acetato de etilo.

FIGURA 1: MÉTODO DE SCHREIBER Y COL. (1970).



Una vez purificada de esa forma la muestra se cromatografía en placa fina de sílica Gel HF-254 mm en el sistema de solvente; benceno-ácido acético-acetato de etilo (50: 2: 5) el cual fue corrido tres veces y la banda que fluorece a la luz ultravioleta de 254 mm y de RF = 0,2; se separa de la placa y recomatografía de nuevo en placa fina de sílica Gel HF 254 mm n-propanol,n-butanol, NH_4OH (6:2:12) según Lenton y col. (1968).

Para determinar la actividad biológica de las muestras se realizan bioensayos con la fracción fluorescente a la luz ultravioleta del cromatógrafo benceno-ácido acético-acetato de etilo (50:2-5), la que se disuelve en acetato de etilo, se filtra para eliminar la sílica gel, se evapora y se le añade 12 ml de acetona.

A continuación se toman alícuotas de 0,1 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml y 4 ml los cuales se evaporan a sequedad y al residuo disuelto en agua se le realiza el siguiente bioensayo:

Se colocan en una cámara saturada de humedad a luminocidad constante con una temperatura de

25 ± 1 °C durante 5 días semillas de arroz variedad C-103 con 72 horas de germinadas y con 2 mm de longitud del coleoptilo en vlales que contienen las alícuotas de la muestra antes mencionada disueltas en agua.

Conjuntamente con las muestras se sitúan en la cámara saturada de humedad patrones de ácido abscísico (ABA) de concentración 10^{-4}M, 10^{-5}M, 10^{-6}M y 10^{-7}M.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de las pruebas biológicas se observan en la Tabla 1.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en las disoluciones del inhibidor ácido abscísico Tabla 2.

Podemos observar, en primer lugar, que la mayor inhibición del crecimiento del coleóptilo de semillas de arroz variedad C-103 corresponde a mayor concentración de ABA, siendo la concentración óptima para utilizar con efectividad este bioensayo la que se encuentra entre 10^{-4}M y 10^{-5}M, o sea la mayor sensibilidad se encuentra en el rango 2,6-26 mg/ml.

Tabla 1: RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLEOPTILOS DE ARROZ VARIEDAD C-103 EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SUSTANCIAS INHIBIDORAS.

H_2O	0,1	1	2	3	4
5,46 cm	5,8 cm	3,7 cm	0	0	0
4,8	4,08	1,68	1,56	1,5	0
6,11	4,95	4,73	4,73	1,57	1,8

Tabla 2: RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLEOPTILOS DE ARROZ VARIEDAD C-103 EN DISOLUCIONES DE ACIDO ABSCISICO.

H_2O	10^{-4}M	10^{-5}M	10^{-6}M	10^{-7}M
4,9 cm	0	1,32 cm	4,74 cm	5,38 cm
5,4	0	1,24	4,22	5,84
5,8	0	0,8	4,3	Contaminación por hongo

Por los resultados obtenidos en la Tabla 1 podiéramos señalar que posiblemente la sustancia inhibidora del crecimiento de coleóptilos de arroz determinada en la muestra, sea ácido abscísico, ya que se observa actividad inhibidora en cuatro de las alícuotas de muestra tomada; pero además la banda correspondiente al cromatograma benceno-ácido acético-acetato de etilo (50:2,5) fluoresce en Sílica Gel HF-254 nm al igual que el ácido abscísico coincidiendo además con un RF = 0,2 similar a ambos, al cambiar hacia un sistema de solvente más polar de nuevo aparece una banda fluorescente coincidiendo con el ABA de Rf = 0,5, lo cual corrobora lo planteado por Lenton y col. (1968).

Podemos concluir que los niveles de ABA son suficientemente altos para ser detectados por este método en muestras de hojas de cafeto del orden de 100 g tanto en invierno, período seco, de días cortos y bajas temperaturas en los meses de enero y febrero, como en el mes de mayo que se corresponde con período de lluvia, días largos y temperaturas altas, además se logra estabilizar los bioensayos de coleóptilos de arroz variedad C-103 en nuestro país ya que los utilizados hasta el momento (coleóptilos de avena y trigo) son difíciles de realizar por las condiciones climáticas de nuestro país, por otra parte se introduce una modificación al método de Schreiber y col. (1970), aplicando una variante al mismo para eliminar los compuestos acuo-solubles que impurifican el extracto.

REFERENCIAS

ALVIM, P.T. (1969): Recientes progresos en nuestros conocimientos del árbol del café. 1 Fisiología. Serie Agrícola. Academia de Ciencias de Cuba. La Habana. 11:11-42

GOPAL, N.H.; K.V. JANARDHAN and K.I. RAJO (1977): Physiological Studies on Flowering in Coffea under South Indian Condition. VI. Changes in Growth Rate, Indole Acetic Acid and Carbohydrate Metabolism during Flower bud Development and Anthesis. Turrialba.27:64-69.

LENTON, J.R. y M.R. ROWEN (1968): Detection of ABA in the Xilem Sap of Willow (salix vininales) by G.L.C. Nature 220:86.

MESS, M.G. (1956): Studies on the Flowering of Coffea arábica L. II. Breaking the Dormancy of Coffea Flower buds. Portugaliae Acta Biología. Serie Agrícola. 4:342-354.

SCHREIBER, K.; J. WEILAND and G. SEMBDNER(1970): Isolie rung von gibberellin A8-0 (3)-BD glucopyrannosid, aus früchten von phasiolus coccineus. Phytochemistry. 9:189-198.

ABSTRACT

DETERMINATION OF INHIBITORS IN COFFEE (Coffea arabica L.) LEAVES.

Crop hormones were extrected from coffee leaves when its buds were dormant, using Schereiber's et al. method, which was modified due to some aquo-soluble impurities found in this extract. Its acidity fraction was purified and tested in a thin-layer chromatography. Bioessays were performed in rice seedlings, C-103 variety, by means of a flourescent fraction to ultraviolet light, whose Rf coincides with that of abscisic acid; it showed an inhibiting activity.

Manuscrito recibido el 27/III/84.