

Evolución de las proteínas en la maduración del fruto de la *Musa cavendishii*: Estudio por electroforesis e inmuno-electroforesis.

T. FERNANDEZ, M. FERNANDEZ y A. CHORDI*

EVOLUTION DES PROTEINES AU COURS DE LA MATURATION DU FRUIT DE LA *MUSA CAVENDISHII*.
ETUDE PAR ELECTROPHORESE et IMMUNOELECTROPHORESE.

T. FERNANDEZ, M. FERNANDEZ et A. CHORDI

Fruits, Oct. 1985, vol. 40, nº 10, p. 633-639

RESUME - On a étudié l'évolution des protéines pendant la maturation de la *Musa cavendishii* var. Naine qui est cultivée aux Canaries. Pendant ce processus on a observé un accroissement quantitatif du contenu de protéines de la pulpe des fruits : de 0,90 mg/ml dans les fruits pleins mais pas mûrs, il a augmenté jusqu'à 1,38 mg/ml dans les fruits mûrs.

Au point de vue qualitatif on a observé, par l'électrophorèse au Gel de polyacrylamide, un accroissement des bandes et, par l'immuno-électrophorèse, on a trouvé de grandes quantités des quatre protéines détectées, dans nos études antérieures, dans des échantillons de pulpe de fruits aux premiers stades de développement.

INTRODUCCION

En los vegetales, cuando el ovario está fecundado, éste empieza a diferenciarse para, progresivamente, ir dando paso al fruto que, a su vez, se va desarrollando y acaba por madurar. Esta última etapa es la más avanzada de la diferenciación y la cumbre del desarrollo. Uno de los hechos más curiosos del Reino Vegetal es que la maduración del fruto de la banana tiene lugar tanto cuando el racimo, la «piña», se encuentra en el árbol como si está fuera de él. Como no encontrábamos trabajos concretos sobre este aspecto, que aunque quepa la posibilidad de que este hecho sea un proceso meramente químico, independiente de las células, nosotros suponemos que se trata

de un programa biológico dirigido por las células vivas.

Si se demostrase un aumento en la cantidad y calidad de las proteínas durante la maduración, significaría que la actividad biológica y la síntesis proteica seguiría aconteciendo. Por esta razón, actualmente, se hacen muchos trabajos enfocados a la investigación sobre la continuación de la síntesis proteica en general y sobre la existencia, en particular, de algún incremento en uno o varios enzimas específicos requeridos por la propia maduración.

La literatura existente sobre los procesos de maduración nos conduce, en general, a que la maduración de los frutos envuelve un cuantioso incremento de la actividad de un gran número de enzimas (BRADY y col., 1970), a la vez que un importante cambio en la síntesis de ácidos nucleicos (RICHMOND y col., 1967).

Ahora bien, el estudio de las proteínas del fruto de la banana, al igual que el de otros frutos, se hace dificultoso

* - T. FERNANDEZ et M. FERNANDEZ - Centro de Edafología y Biología Aplicada de Tenerife, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Santa Cruz de Tenerife, Islas Canarias.
A. CHORDI - Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia de la Universidad de Salamanca. Salamanca.

para los investigadores ya que, como afirma CLEMENTS (CLEMENTS, 1965), la alta acidez y el gran contenido en compuestos polioxídicos y polifenólicos en la pulpa del fruto de la banana puede contribuir a una desnaturalización de las proteínas. Por otro lado, BRADY y col., (1970), en un trabajo sobre la síntesis proteica en la maduración de los frutos de la banana, concluyen diciendo que el bajo contenido en proteínas acompañado de su alta concentración en polisacáridos y la presencia de sustancias fenólicas complica el estudio del metabolismo de las proteínas durante la propia maduración.

La bibliografía sobre este proceso de maduración del fruto de la banana es muy abundante; sin embargo, nos presenta una problemática contradictoria en tanto en cuanto se relaciona con la síntesis de proteínas. Unos autores mantienen que, durante la maduración de estos frutos, se produce un aumento cuantitativo en el contenido proteico, (LEWIS y col., 1965; HUME, 1958; ROWAN y col., 1958; RICHMOND y col., 1966 a y b y PALMER y BRADY, 1970); otros, en cambio, sostienen la evidencia de una disminución de las proteínas (SACHER, 1966). Para otros investigadores el contenido de estas macromoléculas permanece invariable (STRATTON y col., 1930 y STEWARD y col., 1960).

Con el presente trabajo tratábamos de estudiar la evolución de las proteínas durante la maduración del fruto de la *Musa cavendishii* var. enana cultivada en Canarias desde un punto de vista cuantitativo y, fundamentalmente, cualitativo. Como hipótesis suponemos que, durante la maduración del fruto, el contenido proteico de la pulpa aumenta tanto cuantitativa como cualitativamente, de manera similar a como ocurre en la diferenciación y especialización de las células animales.

MATERIAL Y METODOS

Se estudió la evolución de las proteínas en la pulpa del fruto de la *Musa cavendishii* var. enana cultivada en Canarias. Para ello se seleccionaron diversas muestras de frutos correspondientes, unas, al «período preclimático» (frutos llenos e inmaduros) de su desarrollo y, otras, al «posclimático» (frutos llenos y maduros). Se eligieron, también, frutos de plantas ubicadas en diferentes zonas climatológicas y edafológicas de las Islas. A los frutos en el «período preclimático» se les denominó E1, a los del «posclimático» E2 y, al resto de los mismos, P1, P2, P3, I1, I2 y C.

Con los antígenos obtenidos de las muestras seleccionadas, preparados según la pauta descrita por FERNANDEZ (FERNANDEZ y col., 1973), se inoculó a cuatro lotes de conejos (*Oryctolagus cuniculus*). A estos animales se les administró antígenos mezclados con Coadyuvante Incompleto de Freund, (CORRY, 1969), hasta que los inmunoseros procedentes de dichos animales inoculados alcanzaran el título óptimo en el nivel de anticuerpos, valorados

estos según la técnica de Doble Difusión en Gel de OUCHTERLONY (1958), y las modificaciones introducidas por CHORDI y col., (1962), CHORDI y KAGAN (1964) y TORMO y CHORDI (1965).

Las determinaciones cuantitativas se llevaron a cabo siguiendo el método de FOLIN-CIocalTEAU (LOWRY, 1951). Cualitativamente se efectuaron análisis por electroforesis simple (SANTA MARIA, 1967), por electroforesis en Gel de PoliAcrilamida, con geles de 7,5 % y 3 % y el gel muestra, a pH 8,5, (FERNANDEZ, 1975), y por inmunoelectroforesis (Microtécnica de SCHEIDEGGER (1955). Cuando los análisis inmunológicos directos se consideraron insuficientes, se recurrió a la sistemática Indirecta o de Absorción (FERNANDEZ, 1975).

RESULTADOS Y DISCUSION

Cuantitativamente, por el método de FOLIN-CIocalTEAU, se determinó que, durante la maduración de fruto de la *Musa cavendishii*, se producía un incremento en la concentración de proteínas en la pulpa de dichos frutos, pasando esta concentración desde 0,90 mg/ml, para los frutos en el «período Preclimático», a 1,38 mg/ml, para los del «posclimático». Estos resultados, que se exponen en la Tabla 1, coinciden con las estimaciones realizadas por BRADY y col., (1970), para los frutos de la Dwarf cavendishii, quien describió un aumento en el contenido proteico en el período inicial del «climático».

Como muchos investigadores (STRATTON y col., 1930; STEWARD y col., 1960 y SACHER, 1967), sostienen que, durante la maduración del fruto de la banana, el nitrógeno total permanece constante en la pulpa, nosotros, apoyándonos en muestras apreciaciones cuantitativas, pensamos que podría ocurrir que gran parte del nitrógeno no proteico se transformara, durante la maduración, en nitrógeno proteico. Al tener en cuenta que PALMER (1969), señaló muchos cambios bioquímicos de aminos y, fundamentalmente, de ácidos orgánicos en macromoléculas proteicas durante la maduración del fruto de la banana y que HULME (1958), citó, como característica notable en la maduración de Triploides de la serie *Eumusa*, la concentración anormalmente alta que se producía de l-histidina, se podría deducir que el nitrógeno total puede permanecer constante y que lo que efectivamente sucedería es que, durante la maduración del fruto de la *Musa*, exista una transformación de compuestos nitrogenados no proteicos en proteínas.

Por otra parte, HULME (1958), detectó la presencia de diecinueve aminoácidos libres, en concentraciones bajas, en distintas partes de la planta en el proceso de maduración de los Triploides de la *Eumusa*. FRENKEL y col., (FRENKEL y col., 1969) y BRADY y col. (1970), manifestaron que la maduración de los frutos, en general, envuelve la síntesis directa de nuevos enzimas requeridos por la propia maduración. Estos estudios, aunque no están

TABLA 1 - Resultados de los análisis cuantitativos y cualitativos de las muestras representativas del período «preclimático» y «posclimático» en la maduración del fruto de la *Musa cavendishii*.

	contenido proteico		poliacrilamida	bandas inmunolectroforesis
	mg/ml	desviación standard		
preclimático	0,90	0,01	18	35 (12+ 23)
posclimático	1,38	0,006	20	44 (35+ 9)

directamente relacionados con nuestro tema, nos ayudan, de manera indirecta, a deducir la concordancia existente entre el aumento de la cualidad de los ácidos nucleicos y el incremento paralelo de la cualidad de las proteínas detectadas para este proceso.

Los resultados obtenidos en el análisis electroforético en Gel de Poliacrilamida se exponen en la Figura 1. Se observa que, en el proceso de maduración del fruto de la *Musa cavendishii*, se producía un incremento en el número de bandas reveladas por estas técnicas electroforéticas: desde dieciocho bandas para las muestras de los frutos en el «período preclimático» se llegó a veinte bandas para las muestras correspondientes al «período posclimático» (Tabla 1), de modo que todas las bandas aparecidas en las muestras de frutos inmaduros (dieciocho) se evidenciaron en las muestras de los frutos maduros. Con este resultado coincidimos con BRADY y col., que detectaron (también por electroforesis en Gel de Poliacrilamida, trabajando a pH 8,3 y con un 7,5 % en poliacrilamida) un aumento en el número de bandas durante la maduración de frutos de la Dwarf cavendish.

Utilizando las técnicas inmunolectroforéticas tratábamos de determinar los componentes antigénicos diferentes, antígenos «maior», existentes en las dos fases elegidas de la maduración del fruto de la *Musa*. Las inmunolectroforesis se efectuaron enfrentando las soluciones extraídas y concentradas con los inmunosueros homólogos, obtenidos de los animales inoculados con la mezcla antigénica correspondiente, que tuviesen el título óptimo en la tasa de anticuerpos. En la Figura 2 se representan las bandas de precipitación existentes en las distintas preparaciones, estando definidas estas bandas por sus respectivas movilidades electroforéticas relativas a la albúmina del suero humano normal (SHN).

La mezcla antigénica obtenida a partir de los frutos de la banana en el estadio diferenciado pero inmaduro, es decir, en el «período preclimático» de su maduración, mostró directamente la presencia de doce proteínas antigénicas, las cuales presentaron bandas de precipitación que, por el valor de sus movilidades, se pudieron agrupar en dos zonas: una negativa y otra extendida en el campo de los antígenos definidos por movilidades comprendidas entre 60 y 78. El primer grupo de estas bandas (Figura 2) se caracterizaba porque eran asimétricas, a excepción de la de movilidad electroforética 15, siendo todas ellas largas, nítidas e intensas. Las pertenecientes al segundo

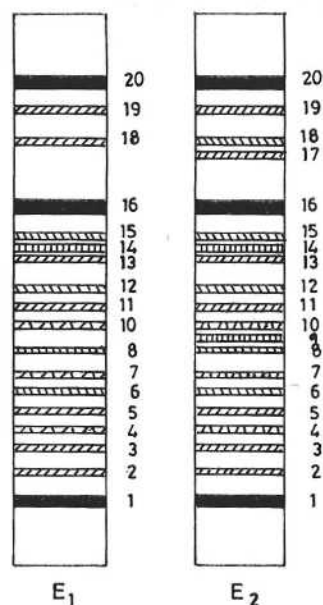


Figura 1 - Bandas, detectadas por electroforesis en Gel de Poliacrilamida, de las muestras representativas del fruto de la *Musa cavendishii* en los períodos «preclimático» y «posclimático» de su maduración.

grupo eran más desiguales entre sí.

Para la mezcla antigénica de las muestras de frutos de bananas en el «período posclimático» se evidenció, también directamente, la presencia de treinta y cinco bandas de precipitación, lo que se traducía en treinta y cinco compuestos antigénicos diferentes. Estos componentes poseían movilidades electroforéticas comprendidas entre -12 y 125 y, debido a la gran complejidad presentada por este pool de frutos maduros, se separó su estudio según las distintas muestras tomadas. En general, estos patrones antigénicos se caracterizaban por la existencia de cuatro agrupamientos de bandas distribuidos a lo largo de toda la zona electroforética de movilidades citadas (Figura 2).

Siguiendo la sistemática de Absorción del inmunosero con los antígenos homólogos o heterólogos, según convi-

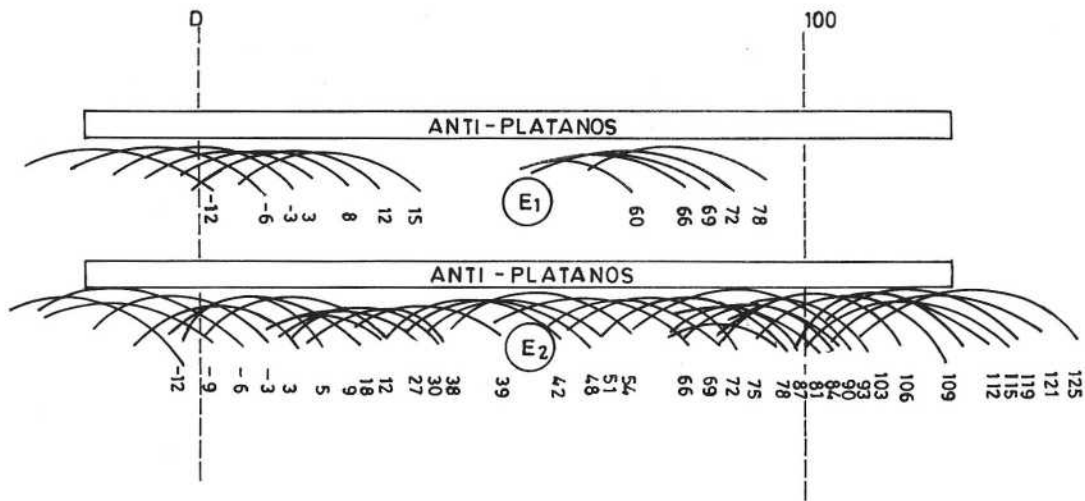


Figura 2 - Patrones inmunolectroforéticos de las bandas de precipitación detectadas de manera directa. En el canal central se ponía el inmunosuero antiplátanos ; en los pocillos cada una de las muestras antigénicas representativas de los períodos «preclimático» y «posclimático» de la maduración del fruto de la *Musa cavendishii*.

niera, se detectaron los antígenos «minor» presentes en las diferentes muestras. Para las muestras de los frutos inmaduros se localizaron veintitres antígenos «minor» y para las de los frutos maduros, indirectamente, se determinó la existencia de nueve de estos antígenos.

Por tanto, los análisis inmunológicos e inmunolectroforéticos evidenciaron la presencia de un total de treinta y cinco componentes antigénicos distintos para las muestras de fruto en el «período preclimático» y un total de cuarenta y cuatro para las muestras de los frutos en el «posclimático» (Tabla 2).

Por otra parte, tratábamos de hacer un estudio separado y, a la vez, comparativo de las diferentes muestras de frutos de la *Musa* en el período «posclimático», pero tomadas estas muestras de frutos de bananas ubicadas en diferentes zonas climatológicas y edafológicas de las Islas Canarias, a fin de determinar los componentes antígeno - proteico que fueran constantes en todas las muestras consideradas e independientes de las condiciones ambientales de su cultivo.

De los resultados de estas experiencias se deduce que, en estos casos, de las cuarenta y cuatro proteínas localizadas para los frutos llenos y maduros, trece de ellas disminuían o desaparecían en algunas de las seis muestras estudiadas ; a estas trece proteínas antigénicas (detectadas por la sistemática de Absorción) se les denominó proteínas «variables», las cuales se identificaron por sus movilidades electroforéticas (9, 36, 54, 60, 69, 72, 75, 84, 87, 99, 112, 119 y 125) y se relacionaron con las diferencias fenotípicas motivadas por los distintos ambientes ecológicos en los que se cultivaron las plantas. Por el contrario, treinta y una proteínas antigénicas se encontraban cons-

tantes en todas las muestras estudiadas (Tabla 2).

Ahora bien, haciendo uso,

- por un lado, de los resultados obtenidos en el análisis de la evolución de las proteínas en el «desarrollo» de la pulpa de los frutos de la *Musa cavendishii* var. enana, realizado por FERNANDEZ y col., (1985), en el que se muestra que :

- dieciseis proteínas (de movilidades relativas a la albúmina del SHN : -6, 6, 15, 24, 27, 33, 39, 42, 51, 57, 78, 81, 90, 96, 103 y 121) aparecían en todos y cada uno de los distintos estadios de la diferenciación y desarrollo de la pulpa del fruto de la *Musa*, por lo que se les llamó «constitutivas» y que

- quince de las cuarenta y cuatro proteínas anteriormente citadas (de movilidades -12, -9, -3, 3, 12, 18, 21, 30, 48, 63, 66, 93, 106, 109 y 115), distintas de las proteínas «constitutivas», se iban manifestando progresivamente a medida que avanzaba el proceso de diferenciación y desarrollo (proteínas «diferenciadas»), de las cuales, las de movilidades -3, 3, 12 y 30 se localizaron por primera vez en pulpas de frutos que estaban ya en el período «preclimático», por lo que se les denominó «protoformadas».

- y, por otro lado, de los resultados logrados para muestras de frutos en el período «posclimático», en los que se evidencia la presencia de cuatro de esas proteínas «diferenciadas», pero existentes únicamente en este último estadio de la maduración del fruto de la *Musa*, cuyas movilidades eran 18, 48, 109 y 115 y que, por hacer su aparición en esta fase en la que el fruto de la banana estaba

TABLA 2 - Resultados de las inmunolectroforesis de las muestras de frutos de la *Musa cavendishii* en los «períodos preclimático y posclimático» de su maduración. El signo + indica la presencia de los antígenos correspondientes en la pulpa de los frutos : «d» para los detectados directamente, «i» para los localizados por la sistemática de Absorción. El signo - expresa la carencia de los respectivos componentes antigénicos.

Movilidad electroforética relativa a la albúmina del SHN	E1	E2
- 12	+ d	+ d
- 9	+ i	+ d
- 6	+ d	+ d
- 3	+ d	+ d
3	+ d	+ d
6	+ d	+ d
9	-	+ d
12	+ d	+ d
15	+ d	+ i
18	-	+ d
21	+ i	+ i
24	+ i	+ i
27	+ i	+ d
30	+ i	+ d
33	+ i	+ i
36	+ i	+ d
39	+ i	+ d
42	+ i	+ d
48	-	+ d
51	+ i	+ d
54	+ i	+ d
57	+ i	+ i
60	+ i	+ i
63	+ i	+ i
66	+ d	+ d
69	+ d	+ d
72	-	+ d
75	+ d	+ d
78	+ d	+ d
81	+ i	+ d
84	+ i	+ d
87	+ i	+ d
90	+ i	+ d
93	+ i	+ d
96	+ i	+ i
99	+ i	+ i
103	+ i	+ d
106	+ i	+ d
109	-	+ d
112	-	+ d
115	-	+ d
119	-	+ d
121	+ i	+ d
125	-	+ d

llo y maduro, o lo que es lo mismo, por haber sido detectadas en la fase más diferenciada del fruto, se les reconoció con el nombre de proteínas «especializadas»,

se puede deducir que, durante la maduración del fruto de la *Musa cavendishii*, se manifiesta la presencia de cuatro

proteínas («especializadas»), lo cual es un índice claro de la continuidad de la síntesis proteica. Estas cuatro proteínas podrían ser cuatro de los enzimas específicos requeridos por la propia maduración. No obstante, no cerramos la posibilidad de que estas cuatro proteínas se encontrasen en las fases iniciales del desarrollo del plátano, pero, en el

TABLA 3 - Resultados de las inmunolectroforesis de las muestras de frutos de la *Musa cavendishii* ubicadas en diferentes nichos ecológicos de Las Islas Canarias. El signo + indica la presencia de los antígenos correspondientes en la pulpa de los frutos : «d» para los detectados directamente, «i» para los localizados por la sistemática de Absorción. El signo - expresa la carencia de los respectivos componentes antigénicos.

Movilidad electroforética	P1	P2	P3	I1	I2	C
- 12	+ d	+ i	+ d	+ d	+ i	+ d
- 9	+ d	+ d	+ i	+ d	+ d	+ d
- 6	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
- 3	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
3	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
6	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
9	+ d	+ d	+ d	+ d	-	+ d
12	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
15	+ d	+ d	+ d	+ i	+ d	+ i
18	+ i	+ i	+ i	+ d	+ i	+ d
21	+ i	+ d	+ d	+ i	+ d	+ i
24	+ i	+ i	+ d	+ i	+ i	+ i
27	+ d	+ d	+ i	+ d	+ i	+ i
30	+ d	+ i	+ i	+ d	+ i	+ i
33	+ i	+ i	+ i	+ i	+ d	+ d
36	+ i	+ i	+ i	+ d	-	+ d
39	+ d	+ i	+ i	+ d	+ d	+ i
42	+ i	+ i	+ i	+ d	+ i	+ d
48	+ i	+ i	+ i	+ d	+ i	+ i
51	+ d	+ i	+ i	+ d	+ d	+ d
54	-	+ i	+ d	+ d	+ i	+ i
57	+ d	+ i	+ i	+ i	+ i	+ i
60	-	-	-	+ i	+ i	+ d
63	+ d	+ i	+ i	+ i	+ i	+ i
66	+ d	+ i	+ i	+ d	+ d	+ d
69	-	+ d	+ d	+ d	-	+ i
72	-	+ d	+ d	+ d	+ i	-
75	-	-	-	+ d	+ d	+ d
78	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d	+ d
81	+ d	+ i	+ i	+ d	+ i	+ d
84	+ d	-	-	+ d	+ i	+ d
87	+ d	-	+ d	+ d	+ i	+ d
90	+ d	+ i	+ d	+ d	+ i	+ i
93	+ i	+ d	+ i	+ d	+ i	+ d
96	+ i	+ i	+ d	+ i	+ i	+ i
99	+ i	+ i	+ i	+ i	-	+ d
103	+ d	+ d	+ d	+ d	+ i	+ d
106	+ d	+ d	+ i	+ d	+ i	+ i
109	+ d	+ i	+ d	+ d	+ d	+ d
112	+ d	+ i	+ i	+ d	-	+ d
115	+ d	+ d	+ d	+ d	+ i	+ d
119	+ d	-	+ d	+ d	+ d	+ d
121	+ d	+ i	+ i	+ d	+ i	+ d
125	+ d	-	-	+ i	-	+ i

caso positivo de que estuvieran presentes en los primeros estadios del desarrollo, sería en cantidades tan insuficientes que fue imposible su identificación. Posiblemente estos sean los enzimas a los que, de manera intuitiva, hace referencia STEWARD y PALMER.

Todo ello parece demostrar que la maduración es un proceso más dentro del desarrollo del fruto, aunque ésta se lleve a cabo fuera de la planta, y que sucede según un patrón predeterminado, dirigido genéticamente por las

células, que conduce al incremento del contenido proteico y a la síntesis de nuevas proteínas, posiblemente específicas de esta fase.

NOTA : La nomenclatura «período preclimático y posclimático» usada ha sido tomada de SIMMONDS (1973).

BIBLIOGRAFIA

- BRADY (C.J.), PALMER (J.K.), O'CONNELL (P.B.) y SMILLIE (R.M.).
Phytochem., 9, 103, 1970.
- CLEMENTS (R.L.).
Anal. Biochem., 13, 390, 1965.
- CORRY (G.) y STONE (S.S.).
Immunochemistry, 6, 632, 1969.
- CHORDI (A.) y KAGAN (I.G.).
J. Immunol., 93, 439, 1964.
- CHORDI (A.), GONZALEZ-CASTRO (F.), TORMO (J.) y DIAZ (R.).
Rev. Med. E.G. Navarra, VI, 27, 1962.
- FERNANDEZ (T.), PEREZ (R.) y CHORDI (A.).
An. Edaf. Agrobio., XXXII, 11-12, 1143, 1973.
- FERNANDEZ FALCON (T.).
Tesis doctoral, Universidad de La Laguna, 1975.
- FERNANDEZ (T.), FERNANDEZ (M.) y CHORDI (A.).
Evolución de las proteínas en el desarrollo de la pulpa del fruto de la *Musa cavendishii*; estudio por electroforesis o inmuno-electroforesis.
Fruits, Sep. 1985, 40 (9), 543-547.
- FRENKEL (C.), KLEIN (I.) y DILLEY (D.R.).
Plant. Physiol., 43, 1146, 1969.
- HULME (A.C.).
Advanc. Food Res., 8, 297, 1958.
- LOWRY (O.M.), ROSEBROUG (N.J.), FARR (A.L.) y RANDALL (R.J.J.).
Biol. Chem., 193, 265, 1951.
- OUCHTERLONY (O.).
Progress in Allergy, V, 1-ss, Ed. Kallosp, 1958.
- PALMER (J.K.).
Plant Physiol., 38, 508, 1963.
- PALMER (J.K.) y Mc GLASSON (W.B.).
Aust. J. Bio. Sci., 22, 87, 1969.
- RICHMOND (A.) y BIALE (J.B.).
Arch. Biochem. Biophys., 115, 211, 1966a.
- RICHMOND (A.) y BIALE (J.B.).
Arch. Biochem. Biophys., 41, 1247, 1966b.
- ROWAN (K.S.), PRAT (H.K.) y ROBERTSON (R.N.).
Aust. J. Biol. Sci., 11, 329, 1958.
- SACHER (J.A.).
Plant Physiol., 41, 701, 1966.
- SANTA MARIA (P.).
Tesis doctoral, Universidad de Navarra, 1967.
- SCHEIDEGGER (J.J.).
In. Arch. Allergy, 7, 163, 1955.
- SIMMONDS (N.W.).
Los plátanos.
Ed. BLUME, Barcelona, 1973.
- STEWART (F.C.), FREIBERG (S.R.), HULME (A.C.), HEGARTY (M.P.), BARR (R.A.) y RABSON (E.).
Ann. Bot. N.S., 24, 117, 1960.
- STRATTON (F.C.) y LOESECKE (H.) von.
Pl. Physiol., Lancaster, 6, 361, 1930.
- TORMO (J.) y CHORDI (A.).
Nature, 205, 983, 1965.

