

Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VII. Changes in iron and copper enzymes and ascorbic acid during flower bud development and anthesis*

N. VASUDEVA, N. H. GOPAL**

COMPENDIO

Se llevaron a cabo estudios de los cambios progresivos en las actividades de las enzimas hierro-porfirina peroxidasa y catalasa, enzimas cobre-proteínas polifenol oxidasa y ácido ascórbico oxidasa (de la vitamina C) asociados con diferentes fases florales de plantas de Coffea arabica L. cv 'S 795' de 15 años de edad cultivadas en condiciones de campo en el Central Coffee Research Institute. Se describieron en detalle los cambios cuantitativos en estas actividades enzimáticas y el contenido de vitamina durante el desarrollo inicial, madurez, crecimiento muy poco visible de las yemas florales maduras (todas antes de las lluvias de floración) y durante la reiniciación del crecimiento de las yemas florales maduras (engrosamiento) y hasta la antesis (flores plenamente abiertas en el primer día de la floración). El posible papel de estos compuestos bioquímicos durante las diferentes fases florales se discute a luz del conocimiento existente sobre la floración en las plantas

Introduction

ONE OF the most fascinating aspects of coffee technology is the flowering process of the plant. The topic bears a valid relationship to physiological factors. However, many phenomena of floral phase in coffee plant are yet to be clearly understood. Therefore, detailed studies on floral physiology were initiated during 1970 at Central Coffee Research Institute, and the results obtained so far on some aspects of flowering were reported (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12).

Object of the present study

The presence of iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase, copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase as well as ascorbic acid (vi-

tamin C) in flower buds and flowers of many plants has been reported by several workers as reviewed by Chinoy *et al.* (2) and Nitich (19). Ascorbic acid has been recognised as a growth hormone by Italian scientists Tonzig and Marre (23). However, the role(s) of these enzymes and ascorbic acid in floral physiology is not yet clearly known (3, 14, 16). Therefore, a study has been carried out to find out the progressive quantitative changes in the activities of peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, ascorbic acid oxidase and ascorbic acid content associated with flower bud development, enlargement and anthesis, and their possible role(s), if any, in these reproductive phases, using arabica coffee plants.

Materials and Methods

The investigation was initiated during December 1972, when the flower buds were clearly visible on *Coffea arabica* L. cv. 'S 795' plants. The plants were 15 years old and grown under natural permanent shade with dadaps (*Erythrina lithosperma*) as temporary shade at "M block" of Central Coffee Research Institute. The plants were free from nutritional disorders, pests and

* Received for publication August 14th, 1976

** Assistant Plant Physiologist and Plant Physiologist, respectively, Division of Plant Physiology, Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station 577 117, Chikmagalur District, Karnataka, India

diseases. The situation, aspect and typical example of macroclimatological data of the farm area were previously reported (6, 24).

Three uniform plants were selected and eight secondary branches were labelled on each plant at random. At each time of sampling, the flower buds or flowers (at both the axils) present at the fourth node from the tip, were collected from one branch on each of the three plants. The experimental samples were assayed for their peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase activities (13, 20) and ascorbic acid content (22). Since there was not much difference between the values obtained in samples collected at 15 day intervals, the sampling of material was done only once in a month up to the receipt of blossom showers. After this and during the enlargement of flower buds the estimations were made once in two days, and the last assay was done in fully opened flowers on the first day of blossom.

Results

Iron-porphyrin enzymes

The two iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase behaved similarly during different growth phases of flower buds and until anthesis (Table 1). The activity of catalase was always higher than peroxidase at all the phases of floral development including flowers. The activities of both enzymes were higher during initial development (average of December and

January) and at maturity (February) than during very little visible growth phase of mature flower buds in March (Table 2). Two days after blossom showers (April 5, 1973), the activity of peroxidase and catalase increased by 228 and 50 per cent, respectively. After a decrease in the activities of both the enzymes (on April 7, 1973), they again increased (on April 9, 1973) and finally decreased in the fully opened flowers on the first day of blossom (April 11, 1973).

Copper-protein enzymes

The progressive changes in the activities of the two copper protein enzymes, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase, were different from that of the two iron porphyrin enzymes during the various phases of flower bud development, enlargement and at anthesis (Table 1). There was not much difference between the activities of the two enzymes until the receipt of blossom showers. After blossom showers, the activity of ascorbic acid oxidase was higher than polyphenol oxidase in flower buds during their enlargement and until anthesis. The enzymes activities were higher during the initial development of flower buds, followed by a decrease in their activities in mature flower buds. During the phase of very little visible growth of mature flower buds the enzyme activities were slightly increased (Table 2).

Two days after the receipt of blossom showers, the activities of both the enzymes increased by 52 and 204 per cent respectively, as against the previous activities, decreased on the fifth day after blossom showers (on

Table 1—Peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase activities of flower buds or flowers during bud development and anthesis in arabica coffee S. 795 plants (Mean of three replications)

No	Period of observation	Different phases	Iron-porphyrin enzymes		Copper-protein enzymes	
			Peroxidase ^a	Catalase ^b	Polyphenol oxidase ^c	Ascorbic acid oxidase ^d
1	December 1972	A	2.1 ± 0.8	5.3 ± 0	2.2 ± 0.4	3.2 ± 0.3
2	January 1973		6.2 ± 1.3	21.2 ± 3.1	4.7 ± 0.8	3.5 ± 0.5
3	February 1973	B	6.8 ± 2.1	17.7 ± 3.5	2.2 ± 0.4	2.1 ± 0.3
4	March 1973	C	1.8 ± 0	10.6 ± 0	2.9 ± 0.3	2.6 ± 0.5
5	5 - 4 - 1973	D	5.9 ± 1.8	15.9 ± 0	4.4 ± 1.0	7.9 ± 1.0
6	7 - 4 - 1973		4.4 ± 0.5	10.6 ± 0	2.6 ± 0.5	4.4 ± 0.5
7	9 - 4 - 1973		11.7 ± 0.3	12.4 ± 1.8	1.2 ± 0.3	10.6 ± 0
8	11 - 4 - 1973	E	2.6 ± 1.0	10.6 ± 0	2.1 ± 0.8	4.4 ± 1.0

A : Initial developmental phase; B : Maturity phase; C : Very little visible growth of mature flower buds (before blossom showers); D : During active enlargement of mature flower buds after the receipt of blossom showers (blossom showers received on April 3, 1973); E : In fully opened flowers on the day of first blossom; a, c and d : Expressed in terms of mg ascorbic acid oxidized per g fresh wt in 30 min; b : Expressed in terms of mg hydrogen peroxide decomposed per g fresh wt in 5 min

Table 2.—Peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, ascorbic acid oxidase and ascorbic acid in flower buds during different phases of their development (until the receipt of blossom showers) in arabica coffee S. 795 plants *

Growth phase of flower buds	Peroxidase	Catalase	Polyphenol oxidase	Ascorbic acid oxidase	Ascorbic acid
Initial development** (December and January)	4.1	13.3	3.5	3.1	50.3
Maturity (February)	6.8	17.7	2.2	2.1	61.9
Very little visible growth of mature flower buds (March)	1.8	10.6	2.9	2.6	40.7

* For details of enzyme activities and ascorbic acid expressions refer Table 1 and Figure 1.

** Average values of December and January

April 7, 1973), again increased (on April 9, 1973) and finally decreased in fully opened flowers on the first day of blossom (Table 1).

Ascorbic acid

Ascorbic acid content was higher during initial development (average of December and January) and at maturity phase of flower buds, but decreased considerably during the phase of very little visible growth of mature flower buds (Table 2). With the advent of blossom showers, the vitamin content increased by 58 per cent (on April 5, 1973) on the previous value, later decreased considerably (on April 7, 1973) but again increased (on April 9, 1973), and finally it was 54.5 mg/g fresh wt in fully opened flowers on the first day of blossom (Fig. 1).

Discussion

In general, the activities of the two iron-porphyrin or haematin enzymes peroxidase and catalase were relatively higher during the initial development and at maturity phases of flower buds than during the phase of their very little visible growth. Whereas the activities of the two copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase were comparatively low in mature flower buds as well as during the phase of very little visible growth of mature flower buds than during their initial development. These results indicate that all the four enzymes play an important role in metabolic activities associated with the initial development of flower buds. It is interesting to note that mature flower buds contained relatively high activities of peroxidase and catalase, which may protect the buds from accumulation of hydrogen peroxide, which is known to be injurious to cells (14, 16).

Two days after blossom showers and during the resumption in growth (enlargement) of flowers buds, due to increased water in buds (6, 9), all the four

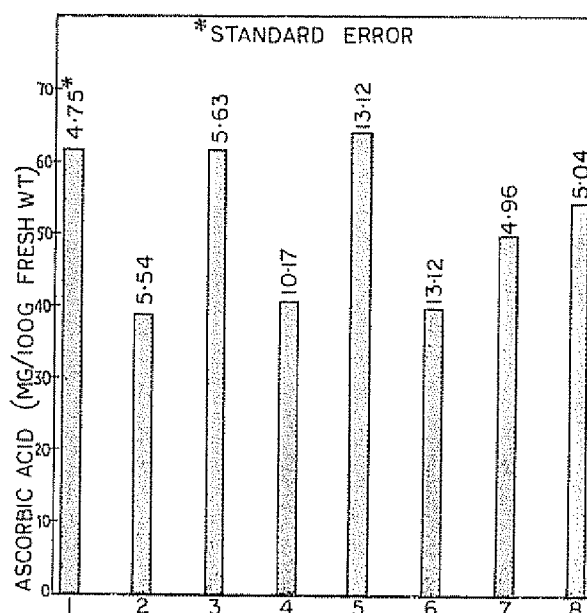


Fig. 1.—Changes in ascorbic acid content of flower buds during their initial development, maturity (before blossom showers), enlargement and anthesis (after blossom showers) in arabica coffee 'S.795' plants. For details of different floral phases (1 to 8) refer Table 1.

enzymes showed a sudden increase in their activities as against the previous activities (during very little visible growth of mature flower buds). Later in fully opened flowers on the first day of blossom, the activities of all the four enzymes more or less reduced to the level found progressive quantitative changes in the enzyme activities show that all the four enzymes involved in some way in metabolic processes associated with the active enlargement of mature flower buds and until

their anthesis, after the receipt of blossom showers. The role of peroxidase and catalase in energy transfer mechanisms during reproductive phases in plants was discussed by Chinoy (1) and Chinoy *et al.* (2). Even though the two copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase are well known to play fundamental role in terminal respiratory oxidase system (15), in the absence of data on CO₂ released as also on the various substrates involved in respiration it is very difficult to offer a suitable explanation for their participation, if any, in respiratory path-ways during different phases of floral physiology studied in the present work.

Ascorbic acid content was fairly high during the initial development and maturity phases of floral process, which may be required for the formation, development and maturity of flowers buds. However, the vitamin content decreased during the phase of very little visible growth of mature flower buds, and this might be due to the lower water content in the plants as a whole as well as in flower buds during this phase in March (6, 9). But, the vitamin content increased substantially in two days after the receipt of blossom showers, which was associated with increase in water content of flower buds (6, 9). Chinoy *et al.* (2) also noted similar changes in ascorbic acid content in plant parts during water stress and rewatering. However, four days after blossom showers the vitamin content decreased, but again resynthesized to some extent during the later phases of flower bud enlargement and in the fully opened flowers on the first day of blossom. In spite of this, the quantity of the vitamin was still lower than the amount found in the flower buds during their initial development and maturity.

The function of ascorbic acid in plants is documented in detail (18). It was shown (1, 2) that ascorbic acid play a vital role as growth hormone in the physiology of flowering in plants by participating in energy releasing metabolic processes which aid in differentiation of floral primordia as well as maturity of flower buds. More or less similar observations were also reported on the role of ascorbic acid in the physiology of coffee flowering, particularly during the resumption in growth of mature flower buds (enlargement) and until their anthesis (21). In the present study, the progressive quantitative changes in ascorbic acid during the different floral phases indicate that the vitamin appears to play an important role in the flowering process of coffee including the formation of flower buds, their maturity and in later floral phases until anthesis.

Summary

Studies were carried out on the progressive changes in the activities of iron-porphyrin enzymes peroxidase and catalase, copper-protein enzymes polyphenol oxidase and ascorbic acid oxidase and ascorbic acid (vitamin C) associated with different floral phases of 15 years old *Coffea arabica* L. cv. 'S.795' plants grown under field conditions at the Central Coffee Research Institute. The quantitative changes in these enzyme activities and the vitamin content during initial development, maturity,

very little visible growth of mature flower buds (all before blossom showers) and during resumption in growth of mature flower buds (enlargement) and until anthesis (fully opened flowers on the first day of blossom) were described in detail. The possible role(s) of these biochemical compounds during the different floral phases including blossom are discussed in the light of the existing knowledge on flowering in plants.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. G. I. D'Souza, Director of Research, Central Coffee Research Institute, for encouragement in these studies.

Literature cited

1. CHINYOY, J. J. A new concept of flowering on the basis of molecular and submolecular events occurring in the shoot apex and the leaf of wheat. *Indian Journal of Plant Physiology* 12:67-80. 1969.
2. ———— *et al.* Some aspects of the physiological role of ascorbic acid in plants. *Indian Agriculture* 15: 33-48. 1971.
3. GAUCH, H. G. *Inorganic Plant Nutrition*. Stroudsburg, Pennsylvania. Dowden, Hutchinson and Ross. 1972, 488 p.
4. GOPAL, N. H. Some aspects of hormonal balance in coffee. *Indian Coffee* 38: 168-175. 1974.
5. ———— Some physiological factors to be considered for stabilization of arabica coffee production in South India. *Indian Coffee* 38: 217-221. 1974.
6. ———— and VASUDEVA, N. Physiological studies on flowering in arabica coffee under South Indian conditions. I. Growth of flower buds and flowering. *Turrialba* 23: 146-153. 1973.
7. ———— and VENKATARAMANAN, D. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. V. Growth-substance content during flower bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 26: 74-79. 1976.
8. ———— and VISHVESHVARA, S. Flowering of coffee under South Indian conditions. *Indian Coffee* 35:142-143, 154. 1971.
9. ————, VENKATARAMANAN, D. and RAJU, K. I. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. II. Changes in water content, growth rate, respiration and carbohydrate metabolism of flower buds during bud enlargement and anthesis. *Turrialba* 25: 29-36. 1975.
10. ————, RAJU, K. I., VENKATARAMANAN, D. and JANARDHAN, K. V. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. III. Flowering in relation to foliage and wood starch. *Turrialba* 25:239-242. 1975.
11. ————, VENKATARAMANAN, D. and RAJATHNA, N. G. N. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. IV. Some physical properties and chromatographic assay of a gum-like substance exuded by flower buds. *Turrialba* 25:410-413. 1975.
12. ———— and RAJU, K. I. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VIII. Number of flower buds in relations to wood starch of cropping branches. *Turrialba* 28; 1978 (Under publication).

- 13 GOPALCHARI, N C Changes in the activities of certain oxidizing enzymes during germination and seedling development of *Phaseolus mungo* and *Sorghum vulgare*. Indian Journal of Experimental Biology 1:98-100 1963.
- 14 HARIREE, E. F. Haematin compounds. In "Modern Methods of Plant Analysis" (K. Peach and M. V. Tracey, eds.), Vol IV Berlin, Springer-Verlag, 1955 pp 197-215.
- 15 HEWITT, E. J. The role of the mineral elements in plant nutrition. Annual Review of Plant Physiology 2:25-52 1951.
- 16 ——— The role of mineral elements in the activity of plant enzyme systems. In Encyclopedia of Plant physiology (W. Ruhland, ed.) Berlin, Springer. IV vol., 1958 pp 427-481.
- 17 JANARDHAN, K V, RAJU, K I. and GOPAL, N.H. Physiological studies on flowering in coffee under South Indian conditions. VI. Changes in growth rate, indoleacetic acid and carbohydrate metabolism during flower bud development and anthesis. Turrialba 27: 29-35 1977.
- 18 MAPSON, L W. Metabolism of ascorbic acid in plants: Part I. Function. Annual Review of Plant Physiology 9: 119-150 1958.
- 19 NIISCH, J. P. Physiology of flower and fruit development. In "Encyclopedia of Plant Physiology" (W. Ruhland, ed) Vol XV/1 Berlin. Springer 1965 pp 1537-1647.
- 20 POVOLOTSKAYA, K. I. and SEDENKO, D. M. A method for collective determination of ascorbic acid oxidase, polyphenol oxidase and peroxidase activities. Biokhimiya, (Leningrad) 21: 133-136. 1956.
- 21 RAMAIAH, P. K. et al. Studies on the physiology of flowering and fruit growth in coffee (*Coffea arabica* L.); ascorbic acid content in relation to the flower opening. Paper presented at the First session of the FAO Technical Working Party for Coffee Production and Protection, Rio de Janeiro, Brazil 1965 4 p.
- 22 ROE, J. H. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic and diketogluonic acids. In "Methods of Biochemical Analysis" (D. Glick, ed.) New York. Interscience Vol I 1954. pp 115-139.
- 23 TONZIG, S. and MARRE, E. Ascorbic acid as growth hormone. In Plant Growth Regulation (R. M. Klein, Chairman, Editorial Committee) Fourth International Conference on Plant Growth Regulation Ames Iowa State University Press, 1961 pp 725-734.
- 24 VASUDEVA, N. and GOPAL, N. H. Studies on leaf growth. V. The life-span of coffee leaves in South India. Indian Coffee 39: 171-174 1975.

Notas y Comentarios

Fungicidas para enfermedades originadas en el suelo

Los fungicidas sistémicos son transportados dentro de las plantas por el xilema, de manera que muy rara vez van del follaje a la raíz. Por eso, ha despertado interés el anuncio de que se ha descubierto una nueva familia de fungicidas eficaces contra enfermedades originadas en el suelo. El anuncio se hizo en la British Crop Protection de 1977, celebrada en Brighton, Inglaterra, en la que se dieron a conocer otros dos nuevos desarrollos fitopatológicos, de los que damos cuenta en este número de *Turrialba* (Véase p 376).

Las enfermedades originadas en el suelo tales como el oidio de las gramíneas (*Erysiphe graminis*), que hizo daños a la cosecha británica de cebada en 1977, por un valor de 45 millones de dólares, son inmunes a fungicidas sistémicos, que son eficaces en otras condiciones, debido a que estas sustancias se mueven sólo hacia arriba cuando están dentro de las plantas. Los ensayos de campo, conducidos por D. J. Williams de la firma May and Baker Ltd, con una amplia variedad de cultivos tropicales y templados, han indicado que un nuevo producto comercial, puesto a la venta con el nombre de Aliette, que puede ser transportado hacia abajo, a las raíces. Estos fungicidas ofrecen un potencial enorme en la lucha para controlar al grupo de patógenos fomicetos como *Phytophthora*, *Pezizomora* que producen podredumbres radicales y *oidios* en cultivos como cítricos, lechuga, pimientos, papas y lúpulo.

Aplicación comercial de la ingeniería genética

Genentech, una pequeña compañía californiana, es casi cierto que será la primera firma industrial que explotará comercialmente la ingeniería genética. A mediados de 1978 espera estar fabricando la pequeña hormona somatostatina para su venta a organismos de investigación y compañías farmacéuticas. Una meta aún más ambiciosa es la fabricación rutinaria de insulina antes de que termine 1978. Sobre lo que ahora se denomina ingeniería genética hemos informado en varias ocasiones a nuestros lectores, desde los primeros ensayos de fusión de cromosomas de distintas especies (Cf *Turrialba* 20: 139) hasta la alarma que produjo las posibles consecuencias de manipular el material hereditario de las células (Vol 24: 347).

La compañía Genentech tiene contactos estrechos con Herbert Boyer, investigador de San Francisco, que encabeza el equipo que recientemente insertó un gen de somatostatina, sintetizado artificialmente, en una bacteria. El gen artificial fue producido exitosamente por la maquinaria molecular de la bacteria, la que produjo somatostatina relativamente pura. Esto fue la primera vez que una proteína específica había sido manufacturada por una tecnología de ingeniería genética (Cf *New Scientist*, 10 de noviembre 1977, p. 333).

La somatostatina se hace actualmente ensartando sus 14 aminoácidos químicamente, un proceso que rinde un producto que cuesta US\$ 50 000 por gramo. La nueva tecnología, según un vocero de Genentech, (New Scientist Vol. 76, p. 619) podría cortar sustancialmente este costo. La hormona, que tiene muchas acciones fisiológicas, actúa principalmente como regulador del crecimiento.

La manufactura de insulina mediante técnicas de ingeniería genética es mucho más complicada porque es 10 veces más grande que la primera hormona y está compuesta de dos cadenas separadas de aminoácidos.

Ahora que la tecnología de la ingeniería genética ha entrado en el campo comercial, el difícil problema de la protección de las patentes se verá incrementado. Tanto Herbert Boyer como Genentech tienen patentes de algunos aspectos de la tecnología y es seguro de que, antes de que pase mucho tiempo, estarán llenando nuevas solicitudes de patentes, que cubran pasos cruciales en este enfoque revolucionario en la manufactura de proteínas.

Nueva era para los antibióticos

La industria farmacéutica internacional está en camino hacia una nueva era de innovación. Se han desarrollado dos dramáticos nuevos productos, ambos por compañías norteamericanas. Uno es la primera droga eficaz contra los virus, y el otro es un antibiótico, contra el cual las bacterias no adquieren resistencia (*The Economist*, October 1st, 1977, página 92).

Actualmente, los que sufren enfermedades viróticas son abandonados a los mecanismos de sus propios cuerpos, que consisten en la elaboración de anticuerpos y de interferón, ambos extremadamente eficaces, pero lentos (a veces dema-

siado tarde para curar al paciente). Los normalmente cautelosos Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos han aclamado a Vira-A, la nueva droga anti-virus, como la rotura de frente más grande desde la penicilina.

Los primeros ensayos se hicieron con pacientes con encefalitis. Antes de que la droga esté disponible para todos, se necesitarán más pruebas, pero a la firma Warner Lambert, que la fabrica, se le han dado seguridades de que la Food and Drug Administration, cuyas demoras son objeto de críticas de parte de la industria, hará todo lo posible para acelerar su aprobación.

El segundo producto fue descubierto primero por Merck, Sharp and Dohme al final de los novecientos sesenta, una indicación de las demoras de que se quejan las compañías. Esta nueva droga está sólo ahora en las últimas etapas de conseguir aprobación. Es un antibiótico llamado Cefoxitina, que no sólo mata las bacterias que se han vuelto resistentes a la penicilina, sino también a algunos tipos de bacterias contra las que las penicilinas nunca fueron muy eficaces. Es también resistente a las enzimas que destruyen a los antibióticos.

La Cefoxitina es hecha por bacterias, mientras que la mayoría de los antibióticos son producidos por hongos. En realidad, hay ya otros antibióticos basados en bacterias, como las estreptomycinas y las aureomicinas. Desafortunadamente, las bacterias pueden cambiar material genético con sus vecinos por simple contacto (como si tropezarse con Mahomed Alí lo hiciera fuerte a uno). Pero hasta ahora ninguna enzima bacteriana conocida puede destruir la Cefoxitina.

Por su parte, Vira-A está basada en un hongo, encontrado originalmente en un suelo de Italia, pero después se ha visto que vive en esponjas del Caribe; un signo más de que los organismos marinos presentan un gran potencial de material no explotado para el desarrollo de antibióticos (*The Economist*, August 13th, p. 83).

Cuarta Conferencia Mundial sobre Producción Animal

La Cuarta Conferencia Mundial sobre Producción Animal se realizará en Buenos Aires, Argentina, del 20 al 26 de agosto de 1978. El evento está auspiciado y organizado por la Asociación Argentina de Producción Animal (AAPA) y la World Association for Animal Production.

Los principales objetivos de la Conferencia serán analizar los factores que determinan la creación y aplicación del conocimiento científico y discutir dentro de este contexto el impacto y relevancia de los avances recientes en la investigación para aumentar la eficacia de los sistemas de producción animal. Los temas que se tratarán para acercarse a estos objetivos abarcan sistemas bioeconómicos, la construcción, desarrollo, identificación y descripción de sistemas de producción animal; la disponibilidad de alimentos; el papel de los animales disponibles, el control de enfermedades; las variables socioeconómicas, la elaboración de modelos.

Para mayores detalles, se puede escribir al Secretario General, Congresos Internacionales S.A., Reconquista 533, 6º piso, Buenos Aires 1005.

Publicaciones

Notes du GEREI. El Grupo de Estudio de las Relaciones Económicas Internacionales (GEREI) del Institut National de la Recherche Agronomique, de Francia, está publicando desde mediados de 1977, *Notes du GEREI* destinado a publicar los trabajos, comentarios, críticas, de los miembros del grupo. Sus temas de estudio abarcan los sistemas agroalimenticios de los países de la América Latina, la evolución de los proyectos económicos, y las relaciones económicas internas e internacionales de los países de América Latina. El segundo número contiene artículos sobre el plan Carter sobre la inmigración mexicana, la conferencia de trabajadores del azúcar en Trinidad, el congreso de la Federación Rural del Uruguay y un trabajo largo sobre el trigo en Brasil. La dirección es 6, Passage Tenaille, 75014 París, Francia.

Mosca predatora de ranas en Nicaragua

Un caso extraño de relación simbiótica entre larvas de rana y de moscas se ha descubierto en Nicaragua por Jaime Villa de la Universidad de Cornell, New York. Encontró que una especie no descrita de *Drosophila* (afín a la mosca de la fruta tan apreciada por los genetistas) pone sus huevos cerca de los huevos de una rana arbórea centralenida, *Centrolenella fleishmanni*. Los huevos de las ranas son víctimas de muchas especies de vertebrados e invertebrados, particularmente aquellas especies que ponen sus huevos en el agua. Sin embargo, muy pocos anfibios son objeto de ataques por dípteros (la excepción más notable son las moscas verdes que frecuentan las cavidades nasales de los sapos) (*Journal of Herpetology* Vol. 2, N° 3).

La rana arbórea de Nicaragua pone su masa de huevos en las hojas, y las observaciones de Villa suministran el primer ejemplo de un animal completamente especializado en explotar este recurso. Villa también llevó a cabo experimentos con las larvas del complejo "rana-mosca". Encontró que las larvas de la mosca se alimentaban de los huevos y que si los zigotes se quitaban y las larvas comían únicamente la "gelatina" de la masa de la postura, pronto se morían. También inoculó las masas de huevos de otras cuatro especies de ranas arbóreas con los huevos de *Drosophila* y encontró que los gusanos podían infestar con éxito *Agalychnis callidryas*, *Centrolenella pulcherrata* e *Hyla ebriocata*.

La mayor parte de las larvas de *Drosophila* se alimentan de frutas caídas y otras materias vegetales, pero unas pocas especies se alimentan en las cámaras de las agallas de los cangrejos de tierra y otras se alimentan de las larvas acuáticas de las moscas simuladas. Villa encontró también por lo menos ocho especies de moscas (pertenecientes a varias familias) en las que las larvas se desarrollan dentro de las masas de huevos de anfibios.

Multiplicación de papas por cultivos de tejidos

La Facultad de Ciencias de d'Orsay ha desarrollado un método para producir semilla de papa bajo techo haciendo crecer secciones de brotes en un medio artificial, lo que podría reducir el costo y mejorar la calidad. El método está más allá de la etapa de laboratorio y se está probando en 1977 por las dos firmas más grandes productoras de semilla de papa en Francia. Entre las dos venden suficiente semilla para unas 14.000 hectáreas. Usando el nuevo método, se necesitarían sólo 425 papas para producir la misma cantidad de plantas.

La operación se inicia haciendo germinar los tubérculos a 18°C en oscuridad total. Los brotes que se producen se seccionan entonces en fragmentos de 1 cm., que se plantan en tubos que contienen un medio de cultivo de agar-agar (el medio estándar para el cultivo de bacterias), sacarosa y minerales. Estos tubos se mantienen a 19°C y se exponen a la luz por 12 horas cada día.

Las yemas que resultan se seccionan de nuevo y todo el proceso se repite dos a cinco veces, dependiendo de la variedad de papa original. El siguiente paso es poner las plántulas en recipientes de plástico llenos de tierra y humus. Se guardan en un invernadero por un mes y entonces se plantan en campo abierto. Aquí crecen normalmente, y se calcula que un tubérculo puede producir plantas para cubrir no menos de 40 hectáreas, reemplazando 30 toneladas de semilla de papa. Puede ser posible producir dos millones de plantas por año.

Esta aplicación de los métodos de cultivo de tejidos a la multiplicación de plantas (Cf. *Turrialba* 18:6; 19:154; 26:7) es bien conocida, pero ésta parece ser la primera vez que se ha usado en escala comercial para papas. Particularmente importante será para multiplicar rápidamente nuevos clones. El método normal de producir semilla de papa, multiplicando en el suelo las papas básicas puede demorar hasta cuatro años para producir una cantidad equivalente de semilla. Además, las plantas están expuestas a la infección por virus y bacterias que causan enfermedades en la papa, lo que no es el caso en el método de laboratorio.