

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL
CATEDRA DE FISIOLOGIA VEGETAL

PROF. DR. L. RECALDE

Ars Pharm. VIII, 1-2 (1967)

Algunos aspectos de la relación existente entre el
metabolismo y el crecimiento. (*)

por

A. Carlos Blesa Rodríguez

Estudiamos algunos aspectos de la relación existente entre metabolismo y el crecimiento de secciones aisladas de coleoptilos de avena.

Nuestro estudio, se centró sobre aquellos metabolitos que posiblemente intervenían en la fosforilación oxidativa, fuente indudable de energía para el crecimiento. Por lo tanto, nuestra atención se centró en la acción de los metabolitos ensayados sobre el crecimiento de secciones aisladas de coleoptilos de avena; es decir, usando la frase clásica "estudiamos el interior midiendo el exterior".

En nuestras investigaciones seguimos la clásica técnica de Bentley de 1950 eludiendo las causas de error del método que ha dado lugar a conclusiones contradictorias de los investigadores.

Unas de estas limitaciones, es la inconstancia, desde el punto de vista del estado fisiológico o metabólico del material empleado, ya que resulta prácticamente imposible obtener, aún por el mismo investigador, coleoptilos de la misma respuesta en experiencias

sucesivas. Con objeto de conocer en todo momento la respuesta del material en que trabajábamos, se estudió esta frente a una solución control de ácido indolacético (AIA) un miligramo/litro y glucosa al 2 %. Las secciones más sensibles, o de mayor respuesta, eran las que procedían de coleoptilos más jóvenes, ya que naturalmente en el mismo tamaño de sección existen un número mayor de células y mayor cantidad de protoplasma activo, por no encontrarse elongadas como sucede con las secciones obtenidas de coleoptilos más viejos.

La segunda limitación, es el tamaño más adecuado de las secciones ya que los investigadores habían utilizado secciones de 5,75 y 10 mm. Nosotros llevamos a cabo un estudio previo de los diferentes tamaños con secciones de sensibilidad distinta y con respecto a la variabilidad. Esta fue siempre menor con secciones de 10 mm., que fueron las que utilizamos, por esta razón, en todos nuestros ensayos.

La tercera limitación, la constituye el intervalo más adecuado de concen-

(*) Resumen de la Tesis Doctoral que fue leída en la Facultad de Farmacia de Granada, siendo calificada con Sobresaliente Cum Laude y posteriormente Premio Extraordinario.

tración del metabolismo a ensayar, ya que sabemos que, dependiendo de la concentración, una misma sustancia se puede comportar como activadora, sin efecto o inhibidora del crecimiento.

La última limitación la constituye el hecho de que muchas veces la acción de un metabolito sobre el crecimiento depende de la presencia de otro, por lo que es necesario el estudio de las posibles interacciones.

Nuestros resultados, los explicamos a través de un esquema en el que aparece que el crecimiento depende: 1.º—Del aporte energético de la respiración; es decir, de la disponibilidad de ATP, lo cual dependerá de la intensidad respiratoria y del aporte de sustrato, procedente de la glicólisis, y del aporte de fosfatos; 2.º—De que la glicólisis proporcione sustrato para el crecimiento; y 3.º—De la acción directa del AIA sobre el crecimiento.

Vamos a pasar a continuación a tratar de las conclusiones obtenidas al ensayar los diferentes metabolitos que utilizamos en nuestras experiencias.

1.º—Estudiamos la acción de los ácidos orgánicos málico y cítrico. THIMANN y colaboradores basándose en la inhibición del 10 % de la respiración por el ácido iodo-acético y por el arsénito sódico que inhibían totalmente el crecimiento, llegaron a la conclusión de que una parte de la respiración estaba asociada directamente al crecimiento. THIMANN explica esta inhibición sobre la base de la existencia de un enzima de crecimiento con un grupo -SH que utiliza como sustrato los ácidos orgánicos del ciclo de Krebs. Nosotros explicamos la acción de los ácidos orgánicos por la intervención del ciclo de Krebs en la respiración que proporciona energía para el crecimiento.

2.º—Glutation y crecimiento.—Se venía defendiendo, como hemos indicado, la existencia de un enzima de crecimiento con grupo-SH basándose en que prácticamente todos los inhibidores de ese grupo inhibían el crecimiento. La intervención de este enzima se explicaba de dos maneras: por la intervención de las deshidrogenasas

en el metabolismo oxidativo que proporcionaba materia o energía para el crecimiento; o teniendo en cuenta la teoría de MUIR y HANCH (1951) de la bifuncionalidad de la molécula de auxina. Según esta teoría la auxina se une por dos puntos a una proteína, a través de los grupos cisteínicos de la misma, y es este complejo auxina-proteína quien es activo sobre el crecimiento.

Se había demostrado la intervención en el crecimiento no sólo de sustancias portadoras del grupo-SH, sino también del glutation, aunque de una manera indirecta al ensayarlos sobre diversos procesos vegetales en los que el crecimiento interviene de una manera fundamental. Sin embargo, MARRE y ARRIGONI (1957) nos muestran al glutation como un inhibidor del crecimiento de secciones aisladas de coleóptilos de avena. Nosotros encontramos que el glutation, contrariamente a las conclusiones de los autores italianos, estimulaba el crecimiento. Nuestros resultados no contradicen aquellos de MARRE y ARRIGONI, pues los autores italianos no tuvieron en cuenta las limitaciones del método, en lo que se refiere al intervalo de concentración más adecuado y utilizaron siempre concentraciones superiores a 10^{-3} M, que de acuerdo con nuestros resultados también son inhibidoras.

La interacción del glutation con el AIA, la explicamos sobre la base de que si no existe en el medio AIA entonces el factor limitante del crecimiento es el ATP (energía); al añadir AIA se establece entonces una competencia entre respiración y crecimiento por el sustrato (materia).

La acción del glutation sobre el crecimiento se puede explicar fácilmente por su intervención en la cadena de transportadores de electrones.

3.º—Acido ascórbico y crecimiento.—Igualmente parecía ilógico, que a pesar de que de una manera indirecta se había demostrado la intervención de ácido ascórbico (AA) en el crecimiento MARRE y ARRIGONI (1957) nos lo muestren como un intenso inhibidor del crecimiento en secciones aisladas de coleóptilos de avena y elabo-

raron toda una teoría en la que nos muestran que el ácido ascórbico inhibe el crecimiento por su oxidación a ácido dehidroascórbico (ADA) que es el verdadero inhibidor.

Nuestros resultados nos muestran que el ácido ascórbico estimula el crecimiento, pero solo en un intervalo muy estrecho de concentraciones ($1/3 \times 10^{-3}$ M y $1,5 \times 10^{-3}$ M) y siempre dependiendo de la sensibilidad del material, hechos ignorados por autores citados, que ni tuvieron en cuenta la sensibilidad del material por una parte, y por otra utilizaron siempre concentraciones superiores a 10^{-3} M que de acuerdo con nuestros resultados son también inhibitoras.

Es perfectamente lógico el hecho observado por nosotros, de que al aumentar la sensibilidad del material aumente la concentración óptima, ya que las secciones más sensibles contienen mayor número de células y están dotadas de una mayor actividad metabólica.

La interacción con el AIA la ensayamos con secciones de sensibilidad alta y baja. En el primer caso la concentración AIA 10 mg/l, al aumentar la concentración de AA se produce un aumento del crecimiento para luego disminuir; la primera acción debido a un aumento de la respiración, y la segunda por establecerse una competencia entre respiración y crecimiento por el sustrato. Los mismos hechos se observan con las concentraciones de AIA 1 mg/l, y 0,5 mg/l; aunque aquí, como es lógico, los crecimientos máximos son menores por haber menos AIA, así como las concentraciones óptimas de AA son mayores, pues al haber menos crecimiento hay una menor competencia por el sustrato entre la respiración y el crecimiento.

Con las concentraciones de AIA 0,1 mg/l y 0 mg/l, el óptimo de AA disminuye. Aquí el factor limitante son los fosfatos, ya que al haber poco crecimiento hay poca utilización de ATP y los fosfatos se acumulan en esta forma orgánica. Con sensibilidad baja, se observan la primera parte de los hechos, pero no la segunda, debida

al déficit en fosfatos, probablemente por tratarse de tejidos más viejos y menor cantidad de protoplasma activo.

4.º—Fosfatos y crecimiento.—La intervención de los fosfatos en el metabolismo es de todos conocida, por estar involucrado en las transacciones energéticas que tienen lugar en el mismo. Su intervención en el crecimiento sería a través de su participación en la síntesis de ATP, que es utilizado por el crecimiento como fuente de energía.

Como era de esperar, los fosfatos estimularon el crecimiento de las secciones aisladas de coleóptilos de avena, aumentando la concentración óptima al aumentar la sensibilidad de las mismas, ya que cuanto más sensibles muestran mayor actividad.

Cuando ensayamos la interacción de los fosfatos con el AIA, observamos que el óptimo de fosfatos es mayor en ausencia que en presencia de AIA. Esto es perfectamente lógico si tenemos en cuenta que al haber AIA hay mayor crecimiento y mayor utilización, por lo tanto, de ATP que pasa a ADP y fosfato inorgánico, con lo que aumentará el contenido endógeno de fosfatos, por lo que se necesita un menor aporte exógeno.

Los resultados de la interacción de los fosfatos con el AA se explica debido a que en unos casos el factor limitante del crecimiento sea ATP (energía) y en otros el sustrato (materia); sin fosfato el factor limitante es el ATP y entonces al aumentar el AA aumenta el crecimiento. Al añadir fosfatos aumenta la formación de ATP que deja de ser limitante del crecimiento, estableciéndose entonces una competencia por el sustrato entre la respiración y el crecimiento.

5.º—Arseniato, 2,4-Dinitrofenol (2,4-DNF).—Ensayamos los dos más característicos inhibidores de la fosforilación, que nos mostraron la relación estrecha entre el metabolismo y el crecimiento.

El arseniato inhibe la fosforilación por competencia con el fosfato en la oxidación del sustrato; mientras que el 2,4-DNF al desacoplar la fosforila-

ción oxidativa inhibe la síntesis de ATP. Con ambas sustancias obtuvimos la inhibición del crecimiento de secciones aisladas de coleoptílos de avena.

Sin embargo, el AA revierte las inhibiciones producidas, así como protege a las secciones de coleoptílos de la acción inhibitoria de ambos metabolitos. Si la reversión de las inhibiciones con ambos metabolitos que se logra con la adición de fosfatos se ha explicado por la intervención del fosfato en la fosforilación; igualmente, la reversión de las inhibiciones por el AA se puede explicar por la misma causa que para el fosfato.

6.º—Inhibidores del sistema ascórbico oxidasa y crecimiento.—Si como hemos venido defendiendo la oxidación enzimática del AA interviene en el crecimiento de secciones aisladas de coleoptílos de avena, resulta perfectamente lógico que al ensayar nosotros diversos inhibidores del sistema ascórbico oxidasa se obtuviera una inhibición del crecimiento en todos los casos.

Sin embargo, la intensidad de la in-

hibición producida por los diversos inhibidores ensayados dependía de la especificidad del inhibidor. Es decir, cuando el inhibidor formaba mayor cantidad de complejos estables con metales en condiciones biológicas, o sea que era más inespecífico con respecto al sistema ascórbico oxidasa, mayor era la inhibición del crecimiento. Esto nos indica la intervención en el crecimiento de secciones aisladas de coleoptílos de avena de otros sistemas enzimáticos además del sistema ascórbico oxidasa.

Este aumento de la intensidad de la inhibición al aumentar la inespecificidad del inhibidor queda puesto de manifiesto al ordenar, en una escala, las inhibiciones obtenidas con los inhibidores, usados a la concentración de 10^{-3} M:

Dietilditiocarbamato de sodio < Cianuro < Xantogenato < Oxiquinoleína.

En la Tesis Doctoral los resultados aparecen expuestos en 60 tablas, 23 figuras y 2 esquemas. Igualmente aparecen 88 referencias.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Prof. Dr. D. Luis Recalde Martínez, Catedrático de Fisiología Vegetal de la Facultad de Farmacia de Granada, su dirección y sabios consejos imprescindibles para llevar a cabo nuestro trabajo.

Al Consejo Superior de Investigaciones Científicas y al ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Almería las Becas concedidas.

BIBLIOGRAFIA

- BENTLEY, J. A. (1959).—An examination of a method of auxin assay using the growth of sections of avena coleoptiles in test solutions.—*J. of Exp. Bot.* I, 201.
- MARRE, E. y ARRIGONI, O. (1957).—Metabolic reactions to auxin. II. The effects of supra optimal auxin concentration in glutathione, ascorbic acid high energy phosphate bonds in isolated plant parts.—*Rend. Acc. Naz. Lince.* 22, 85.
- MUIR, R. M. y HANSCH, C. (1951).—The relationship of structured and plant growth activity of substituted benzoic and phenoxyacetic acids.—*Plant Physiol.* 26, 369.
- THIMANN, K. V. y Col. (1951).—Changes in metabolism during growth and its inhibition (plant Growth Substances.—Ed. F. Scoog. Univ. Wisconsin Press).

Granada (España), Enero 1967