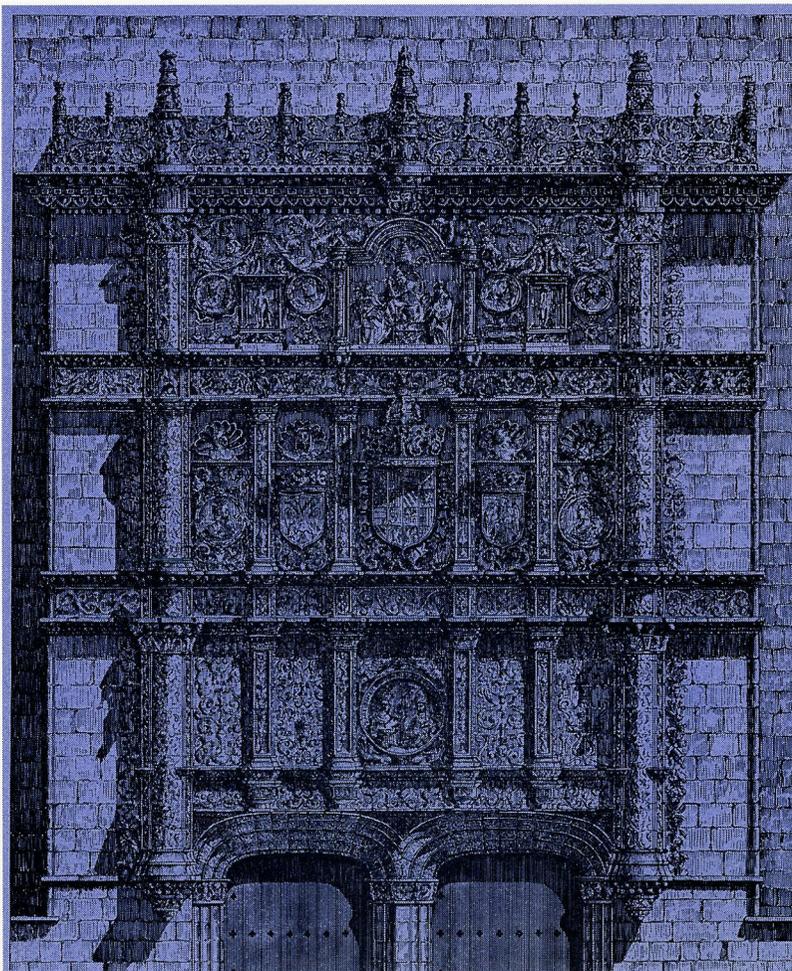


# INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BIOMÉDICAS. I

José Juan García Marín, M.<sup>a</sup> Ángeles Serrano García  
y M.<sup>a</sup> Dolores Rodríguez Martín (eds.)



JOSE JUAN GARCIA MARIN - M.<sup>a</sup> ANGELES SERRANO GARCIA  
y M.<sup>a</sup> DOLORES RODRIGUEZ MARTIN (eds.)

# INVESTIGACION EN CIENCIAS BIOMEDICAS. I.

Actas de las Reuniones de Investigación en Ciencias Fisiológicas  
celebradas en la Universidad de Salamanca durante 1989



SALAMANCA, 1991

ACTA SALMANTICENSIA  
BIBLIOTECA DE LAS CIENCIAS  
70

1.<sup>a</sup> edición, marzo 1991

© Ediciones Universidad de Salamanca

Para pedidos, información e intercambios dirigirse a:

**Servicio de Publicaciones**  
Apartado 325  
37080 SALAMANCA (España)

ISBN: 84-7481-636-X  
Depósito Legal: S. 212-1991

Imprime: GRAFICAS VARONA  
Rúa Mayor, 44. Teléf. 26 33 88. Salamanca

Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, total o parcialmente, almacenada o transmitida en manera alguna ni por ningún medio, sin permiso previo del editor.

## INDICE DE CONTENIDOS

### Comunicaciones

#### AREA DE BIOLOGIA VEGETAL

- $\beta$ -GALACTOSIDASAS DE PARED CELULAR DE *Cicer arietinum* L.  
SU RELACION CON EL CRECIMIENTO.**  
\* Dopico B. y Labrador, E...... 19
- EL ACIDO ABCISICO Y LA TEMPERATURA MODIFICAN LOS  
NIVELES DE CALMODULINA EN EJES EMBRIONARIOS DE  
*Cicer arietinum* L.**  
Hernández Nistal, J...... 21
- ACTIVIDAD PEROXIDASICA EN PAREDES CELULARES DE  
EPICOTILOS DE *Cicer arietinum*. POSIBLE REGULACION POR  
CALMODULINA.**  
Sánchez, O.J. y Labrador, E...... 25

#### AREA DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

- TRANSPORTE DE L-LACTATO EN VESICULAS DE MEMBRANA  
APICAL DE TROFOBLASTO DE PLACENTA DE RATA**  
Alonso de la Torre, S., Serrano, M.A. y Medina, J.M...... 29
- EFFECTO DEL VALPROATO SOBRE LA UTILIZACION  
DE LACTATO, GLUCOSA, 3-HIDROXIBUTIRATO Y  
ACETATO EN CEREBRO DE NEONATO DE RATA.**  
Bolaños, J.P. y Medina, J.M...... 33
- ACTIVIDADES ENZIMATICAS LISOSOMICAS EN LA OBESIDAD  
HUMANA**  
Corral, J., Villar, E., Cabezas, J.A., García Pascual, I.J., García Díez, L.C.,  
Corrales, J.J. y Miralles, J.M...... 37

(\*) El nombre subrayado corresponde a la persona que presentó la comunicación o revisión

**AREA DE BIOLOGIA VEGETAL**

## **$\beta$ -GALACTOSIDASAS DE PARED CELULAR DE *Cicer arietinum*. SU RELACION CON EL CRECIMIENTO.**

DOPICO, B. y LABRADOR, E.

Departamento de Biología Vegetal.

Facultad de Biología.

Universidad de Salamanca.

### *Antecedentes*

La pared celular primaria es una estructura semirrígida que rodea a las células vegetales que presentan capacidad de crecimiento. Es una pared de naturaleza fibrilar formada por un 90% de polisacáridos y un 10% de proteínas, fundamentalmente glicoproteínas, que se encuentran enlazadas entre sí formando una compleja estructura. En el crecimiento vegetal están implicados dos procesos: división celular y elongación celular. En la elongación celular se produce en primer lugar una serie de modificaciones estructurales en los polímeros de la pared celular, hidrolizándose los enlaces entre los polímeros que la componen, lo que tiene como resultado una pared celular extensible y relajada, que por acción de la presión de turgencia se alarga dando lugar a una pared extendida. Se piensa que son las enzimas glicanhidrolíticas de la propia pared celular las responsables de la relajación de la misma, aunque todavía no se conoce con exactitud qué enlaces son los que se hidrolizan en este proceso.

### *Métodos*

Para estudiar esta ruptura de enlaces que ocurre en la relajación de la pared celular, paso previo al crecimiento en extensión de las células vegetales, se ha utilizado como sistema "in vitro", el proceso de autólisis. Este es un proceso por el cual paredes celulares aisladas de diferentes materiales, colocadas en un medio de incubación adecuado, son capaces por sí mismas de liberar parte de sus propios componentes estructurales. En organismos inferiores y monocotiledóneas, la autólisis se ha mostrado como un proceso relacionado con el crecimiento y la diferenciación celular, mientras que en dicotiledóneas este proceso ha sido menos estudiado y no se conoce si puede existir dicha relación. En nuestro departamento se ha profundizado en los últimos años en el estudio de la autólisis de paredes celulares en dicotiledóneas. Labrador y Nicolás indicaron que las enzimas extraídas de la pared celular con LiCl 3M son las responsables de este proceso en el que se libera fundamentalmente galactosa y arabinosa, junto con pequeñas cantidades de xilosa y glucosa, por lo que puede estar mediado por diferentes enzimas de la pared celular. En nuestro trabajo, nos planteamos caracterizar la enzima o enzimas responsables del proceso autolítico. Para ello purificamos parcialmente el extracto enzimático obtenido de paredes celulares de garbanzo con LiCl 3M y estudiamos la capacidad que presentaban las diferentes fracciones enzimáticas obtenidas, para hidrolizar paredes celulares aisladas, comparando estas hidrólisis con el proceso autolítico. En primer lugar estudiamos las actividades enzimáticas que presenta el extracto crudo proteico obtenido de paredes celulares de epicotilos de *Cicer arietinum* de 4 días.

## Resultados y Discusión

Encontramos que predomina la actividad  $\beta$ -glucosidásica seguido de la  $\alpha$ -galactosidásica y la  $\beta$ -galactosidásica. Este extracto crudo proteico se purificó por cromatografía de intercambio iónico en SP-Sephadex seguida por cromatografía de gel-filtración en Bio-Gel P-150. Analizamos la capacidad para hidrolizar la pared celular que presentaban todas las fracciones enzimáticas obtenidas tras el segundo paso de purificación. Encontramos que únicamente una  $\beta$ -galactosidasa de aproximadamente 48 Kd es capaz de hidrolizar la pared celular, liberando azúcares en cantidad y composición similares al proceso autolítico. Esta enzima es capaz de liberar mayoritariamente (entre un 70 y un 80%) azúcares en forma de monosacáridos, siendo la galactosa el principal azúcar liberado como monómero e hidroliza también de forma minoritaria un componente polisacárido, formado principalmente por arabinosa y glucosa. Esto nos indica que puede actuar sobre la pared celular en forma endo- y en forma exo-. El resto de las fracciones enzimáticas no son capaces de hidrolizar la pared celular de forma considerable, liberando pequeñas cantidades de azúcares, sólo ligeramente superiores a un control de paredes celulares hervidas. Además a diferencia de lo que ocurre en la autólisis y en la hidrólisis por la  $\beta$ -galactosidasa, procesos en los que se libera fundamentalmente galactosa, el resto de las fracciones enzimáticas de la pared celular y el control hidrolizan glucosa como azúcar mayoritario. De estos resultados se puede concluir que sólo una fracción enzimática de la pared celular con actividad  $\beta$ -galactosidásica es la principal responsable de la ruptura de enlaces que tiene lugar durante el proceso autolítico de paredes celulares de epicotilos de *Cicer arietinum* y actúa sobre la pared celular liberando principalmente galactosa de forma exo-.

Por otra parte, estudiamos las enzimas de la pared celular a lo largo del crecimiento para comprobar la posible relación entre la autólisis y la capacidad de extensión de estas paredes. Encontramos que en el extracto crudo de proteínas de paredes celulares de epicotilos de garbanzo de distinta edad, la actividad  $\beta$ -glucosidásica y la  $\beta$ -galactosidásica aumentan desde el 3º al 7º día de germinación. Purificamos los extractos de epicotilos de diferente edad a través de una columna de intercambio iónico en SP-Sephadex. Encontramos que la  $\beta$ -galactosidasa responsable del proceso autolítico apenas existe a los 3 días de germinación, momento en que los epicotilos presentan un crecimiento muy lento y aumenta de forma muy marcada a los 4 días, momento en que comienza la fase exponencial de crecimiento de los epicotilos. Este aumento de la actividad  $\beta$ -galactosidásica se mantiene hasta los 6 días, momento en que empieza a estabilizarse.

## INDICE DE AUTORES

- Alonso de la Torre, S. 29  
Alvarez Alonso, M.C. 53  
Berbel, G. 43  
Bolaños, J.P. 33  
Boyd, C.A.R. 67  
Cabezas, J.A. 37  
Carrón, R. 47  
Coleman, R. 77  
Corral, J. 37  
Corrales, J.J. 37  
Criado, J.M. 55  
Dopico, B. 19  
Dumont, M. 85  
Eleno Balboa, N. 59, 63, 67  
El-Mir, Y.M. 63, 67  
Erlinger, S. 85  
Esquerro, E. 43  
Fernández Ruiz, A.. 43  
Fuente de la, A. 55  
García, M.V. 103  
García Díez, L.C. 37  
García Marín, J.J. 63, 67, 73,  
85, 129
- García Pascual, I.J. 37  
Hernández Nistal, J. 21  
Herrerros, M. 73  
Kan, K.S. 77  
Labrador, E. 19, 25  
Martín, M.L. 49  
Martín-Barrientos, J. 103  
Mateos, P. 91  
Medina, J.M. 29, 33, 103, 115  
Miralles, J.M. 37  
Monte, M.J. 77  
Nicolas, G. 97  
Patino, A. 81  
Pérez Barriocanal, F. 73, 85  
Riolobos, A.S. 55, 81  
Rodríguez, F.D. 39  
Rodríguez, R.E. 39  
Sánchez, O.J. 25  
Serrano, M.A. 29, 63, 67  
Vicario, C. 103  
Villanueva, G.R. 73  
Villar, E. 37  
Yajeya, J. 55, 81



EDICIONES  
UNIVERSIDAD  
SALAMANCA