

ESTUDIOS DE FISILOGIA VEGETAL. I

ACCION DE LA INSULINA SOBRE LA CELULA VEGETAL

Por FRANCISCO VILLAGRAN PRADO,
del Instituto de Biología.

La acción de algunos productos de origen animal sobre la célula vegetal ha sido objeto de varios estudios recientes, como desde hace tiempo se ha estudiado también la acción de ciertas sustancias vegetales, principalmente alcaloides y glucósidos, sobre los organismos animales.

El estudio de la acción de extractos totales, de extractos purificados y de hormonas aisladas de las glándulas endocrinas de los vertebrados sobre distintos tipos de células vegetales, ha recibido atención relativamente escasa como investigación de conjunto. En la mayoría de los trabajos relativos, por razones que no explican los autores, se ha dedicado atención mínima a la acción de la Insulina, exponiéndose los resultados en breves líneas sin detallar las condiciones de experimentación. Creemos, sin embargo, que el estudio de la acción de esta hormona sobre la célula vegetal puede proporcionar datos generales de interés acerca del mecanismo de su acción sobre el metabolismo de la glucosa, ya que ésta es alimento normal tanto de la célula vegetal como de la célula animal; y que es a menudo más fácil llevar a cabo una serie de trabajos experimentales con materiales vegetales de diversa índole.

Las experiencias que reseñamos en el presente trabajo pueden considerarse como de carácter general, derivándose de sus resultados orientaciones concretas para investigaciones posteriores.

A.—Acción de la Insulina sobre las semillas.

a). Su acción sobre el proceso de germinación:

Se pusieron a germinar en cajas de Petri con algodón y a la temperatura del laboratorio semillas de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L. var.) y semillas de trigo (*Triticum vulgare* Vill.), en tres lotes, humedeciéndolas directamente con soluciones de Insulina (°) sumamente diluídas, de la manera siguiente:

Lote No. 1.—Solución de Insulina al 1×1000 (2 u. \times lt.)Lote No. 2.—Solución de Insulina al 2×1000 (4 u. \times lt.)Lote No. 3.—Solución de Insulina al 3×1000 (6 u. \times lt.)

Lote No. 4.—Testigo.—Agua destilada.

Pudieron comprobarse en dichos lotes los resultados anotados en el cuadro adjunto.

LOTE N° 1	LOTE N° 2	LOTE N° 3	LOTE N° 4 Testigo
Después de 48 horas			
Trigo: Pocas semillas brotadas; radículas y gémulas poco desarrolladas.	Trigo: Brotes vigorosos en todas las semillas.	Trigo: Desarrollo mediano de radículas y gémulas.	Trigo: Ninguna modificación.
Frijol: Ninguna modificación.	Frijol: Pocas semillas brotadas; con radículas y gémulas poco desarrolladas.	Frijol: Brotes vigorosos; en algunas semillas gran desarrollo de radículas.	Frijol: Muy escaso desarrollo.
Después de 96 horas			
Trigo: Todas las semillas desarrolladas, con brotes hasta de 35 mm.	Trigo: Todas las semillas desarrolladas, con brotes de 25 mm.	Trigo: Todas las semillas desarrolladas, con brotes de 30 mm.	Trigo: Sólo han brotado 2/3 de las semillas. Brotes de 15 mm.
Frijol: Desarrollo moderado de algunas semillas, con brotes pequeños (15 mm.)	Frijol: Todas las semillas desarrolladas. Brotes de 35 mm.	Frijol: Todas las semillas desarrolladas, con brotes de 5 a 35 mm.	Frijol: Sólo han brotado 1/3 de las semillas. Brotes de 10 mm.

(°) Se usó en todos los casos Insulina Lilly U-20 (20 unidades por c.c.)

De estos datos se deduce:

1o. Que en dosis muy pequeñas la Insulina activa el proceso de germinación de las semillas.

2o. Que aun en dosis tan pequeñas como las usadas varía visiblemente el desarrollo según la concentración de insulina.

3o. Que la acción de la Insulina varía según la naturaleza de las células, como lo demuestra la distinta intensidad de su acción sobre el trigo y el frijol.

b). Sobre el desarrollo ulterior de las plantas que provienen de semillas humedecidas para su germinación con soluciones de Insulina:

Después de 96 horas de estar humedecidas con las concentraciones de Insulina ya citadas, las semillas que se emplearon en la experimentación de que se habla en líneas anteriores, fueron sembradas en tierra, quedando todas las de los distintos lotes, inclusive el lote testigo, en idénticas condiciones, aunque cuidadosamente separadas para poder identificar cada lote.

El desarrollo del aparato vegetativo tanto de las plantas de trigo como de las de frijol no mostró ninguna alteración notable en los diversos lotes. Sólo al llegar la época de la floración y fructificación pudieron apreciarse diferencias de interés, pues los trigos se desarrollaron y fructificaron normalmente, tanto los tratados con diversas concentraciones de Insulina (sin que pudiera establecerse diferencia alguna entre los distintos lotes), como los del lote testigo. Por lo que respecta al frijol, aunque el desarrollo del aparato vegetativo fué normal y semejante, como ya se dijo, en las plantas de los distintos lotes, ninguna de las provenientes de semillas tratadas por Insulina durante el proceso de germinación llegó a florecer, en tanto que en el lote testigo todas las matas de frijol florecieron y fructificaron normalmente.

Estos hechos nos hacen pensar en la posibilidad de que la Insulina de las soluciones con las que fueron humedecidas las semillas del frijol para provocar su germinación, haya determinado modificaciones de carácter fisicoquímico en las células meristemáticas embrionarias, cuya naturaleza se nos escapa, aunque seguramente no fueron de tal intensidad que impidieran el desarrollo y multiplicación ulteriores de las células de los tejidos meristemáticos, puesto que no sólo germinaron las semillas tratadas con soluciones de Insulina, sino que, una vez sembradas, formaron raíces, tallos y hojas normales, cuando menos en apariencia. Es de recordarse aquí que aún no conocemos de manera integral el determinismo de la floración y fructificación, pues si bien es cierto que se ha precisado la acción de algu-

nos agentes físicos sobre estos procesos (temperatura, duración de los períodos de iluminación y obscuridad, etc.), también se ha hablado a últimas fechas de la posibilidad de una acción de tipo hormonal, provocada por un producto especial elaborado por células meristemáticas, como otras hormonas vegetales. Cabe pensar, pues, que la Insulina haya determinado alguna modificación duradera en el metabolismo de las células meristemáticas impidiendo la formación o quizá solamente la difusión normal de las hormonas de floración.

B.—Acción de la Insulina sobre el desarrollo de bacterias y levaduras.

Con el propósito de poder apreciar mejor la acción de la Insulina, pensamos hacer una serie de trabajos con organismos unicelulares vegetales, principalmente bacterias y levaduras, escogiendo para ello las del aguamiel, (1) que están siendo estudiadas en la Sección de Criptogamia del Instituto. Como trabajos preliminares de orientación, llevamos a cabo dos series de experiencias: una, en conjunto, con todos los microorganismos que se encuentran en el aguamiel recién extraído; y otra con cepas duras de algunas levaduras de este líquido cultivadas en medios líquidos y sólidos.

En el primer caso se pusieron tubos de ensaye con 2 c.c. de aguamiel recientemente extraído, agregándose soluciones de Insulina de la siguiente manera:

Lote No. 1.—2 c.c. de aguamiel y 1 c.c. de Sol. de I. al 1^o/₁₀₀.

Lote No. 2.—2 c.c. de aguamiel y 1 c.c. de Sol. de I. al 2^o/₁₀₀.

Lote No. 3.—2 c.c. de aguamiel y 1 c.c. de Sol. de I. al 3^o/₁₀₀.

Lote No. 4.—2 c.c. de aguamiel solamente (testigo).

Dejando el material de estudio a la temperatura del laboratorio, pudo comprobarse después de 12 días, que el desarrollo de los microorganismos del aguamiel había sido notablemente mayor en los tubos de ensaye del lote No. 3, es decir, a los que se agregó solución de Insulina al 3^o/₁₀₀. En los lotes 1 y 2 el desarrollo fué semejante al observado en los tubos del lote testigo, lo cual concuerda en parte con los resultados obtenidos en experiencias semejantes por Weber.

(1) Líquido extraído del maquey (*Agave atrovirens* Karw. y otras especies), cuya fermentación origina el pulque.

En otras experiencias usamos el mismo material pero agregando a cada tubo de ensaye con 2 c.c. de aguamiel recién extraído, tres gotas de Insulina pura (de 20 unidades por c.c.) obteniendo en todos los tubos un desarrollo un poco mayor de bacterias y levaduras que en los testigos.

Finalmente, llevamos a cabo con la bondadosa ayuda del Sr. Prof. Manuel Ruiz Oronoz, de la Sección de Criptogamia, una nueva prueba semejante a las dos anteriores, pero usando en este caso levaduras provenientes de cepas puras: **Saccharomyces carbajali** Ruiz (1938); **Torulopsis hydromelitis** Ruiz (1940) y **Pichia barragani** Ruiz (1939), las cuales fueron sembradas en tubos de ensaye con 5 c.c. de aguamiel bi-esterilizado, con pH de 5, agregándose 3 gotas de Insulina por tubo, y puestos para su desarrollo junto con los testigos en la estufa a 25° C. Diez días después pudo observarse un crecimiento ligeramente mayor en las colonias de los tubos con Insulina, correspondientes a las tres levaduras sembradas; pero treinta días después de iniciado el trabajo se comprobó que este aumento de desarrollo con relación a los testigos respectivos, no se había sostenido sino en **Pichia barragani**, en tanto que las otras dos levaduras presentaban en los tubos con Insulina y en los testigos un crecimiento análogo

Conclusiones

De los hechos observados en las experiencias que anteceden, podemos deducir que la Insulina tiene una acción clara sobre la célula vegetal, modificando el ritmo de su metabolismo y acelerando, cuando se usa en dosis adecuadas, su multiplicación. Es de notarse, separadamente, la acción particular que ejerció en las semillas de frijol que fueron tratadas con soluciones de esta hormona en los primeros días de su proceso germinativo, dando por resultado la falta completa de floración en las plantas a que estas semillas dieron origen.

Nos proponemos continuar experimentando la acción de la Insulina sobre distintos tipos de células vegetales, con objeto de ver si es posible determinar su modo de obrar sobre ellas y establecer la acción particular de diferentes dosis.

SUMMARY

The present paper deals with some studies of the action of Insulin on plant cells. Using Lilly's Insulin, 20 units per c.c., in doses of three drops, pure; and in water solutions of one, two and three parts per thousand, the results obtained were:

- a). A marked activation on the germination process of seeds of *Triticum vulgare* Vill. and *Phaseolus vulgaris* L. var.
- b). An increase in the development of bacteria and yeasts from the "aguamiel" (liquid produced by different species of *Agave*, from which a fermented beverage "pulque", is made), observed both in the case of mixed and pure cultures.
- c). The complete absence of flowers on the plants of *Phaseolus vulgaris* L. var., otherwise normal, originated from seeds soaked in an Insulin solution for 96 hours, previous to planting.

From these facts the general conclusion is reached that Insulin affects the metabolism of plant cells, favoring their division and development, and that its action may be so important as to destroy the flowering of some plants.

Further studies will be undertaken with the purpose of trying to establish the mode of action on different plant cells and the effect of varying doses of Insulin.

BIBLIOGRAFIA

- BUDINGTON, R. A.—The influence of certain ductless-gland substances on the growth of plant tissues.—*Biol. Bull. of Marine Biol. Lab. Woods Hole*. 37, 188 (1919).
- CASTAN, R. & CHOUARD, P.—Action of various hormones on the growth of plant seedlings and the development of their roots.—*Compt. Rend. Soc. Biol.* 125, 751-4 (1937).—*Chem. Abstr.* 31, 7934 (1937).
- DELLEPIANE, G. & GIOELLI, F.—Ricerche sull'influenza esercitata da estratti di glandole a secrezione interna sull'accrescimento dei vegetali.—*Lavori del R. Istituto Botanico di Palermo*, 1, 152 (1930).
- GRAINGER, J.—Metabolism and flowering.—*Ann. Appl. Biol.* 27, 311-22 (1940).—*Chem. Abstr.* 34, 7431 (1940).
- KHOLODNYI, N. G.—Is there a bloom-producing hormone?—*Chem. Zentr.*, 1, 1783-4 (1939).—*Chem. Abstr.* 34, 7341 (1940).
- PAL, N. L. & CHATTERJI, U. N.—Effect of Insulin on plant respiration.—*Nature*, 137, 535-6 (1936).—*Chem. Abstr.* 30, 3859 (1936).
- SEOMARA DA COSTA, P.—Action du progynon sur la germination et l'allongement des racines.—*Boletim da Soc. Broteriana*, XI (1935).
- Action du progynon sur la croissance des végétaux.—*Arq. da Univ. de Lisboa, Trab. do Inst. Bot.* 1-2, (1934).
- WEBER, A. P.—Effect of crystalline hormones on the growth of yeasts.—*Ann. fermentations* 3, 15-29 (1937).—*Chem. Abstr.* 32, 6283 (1938).