

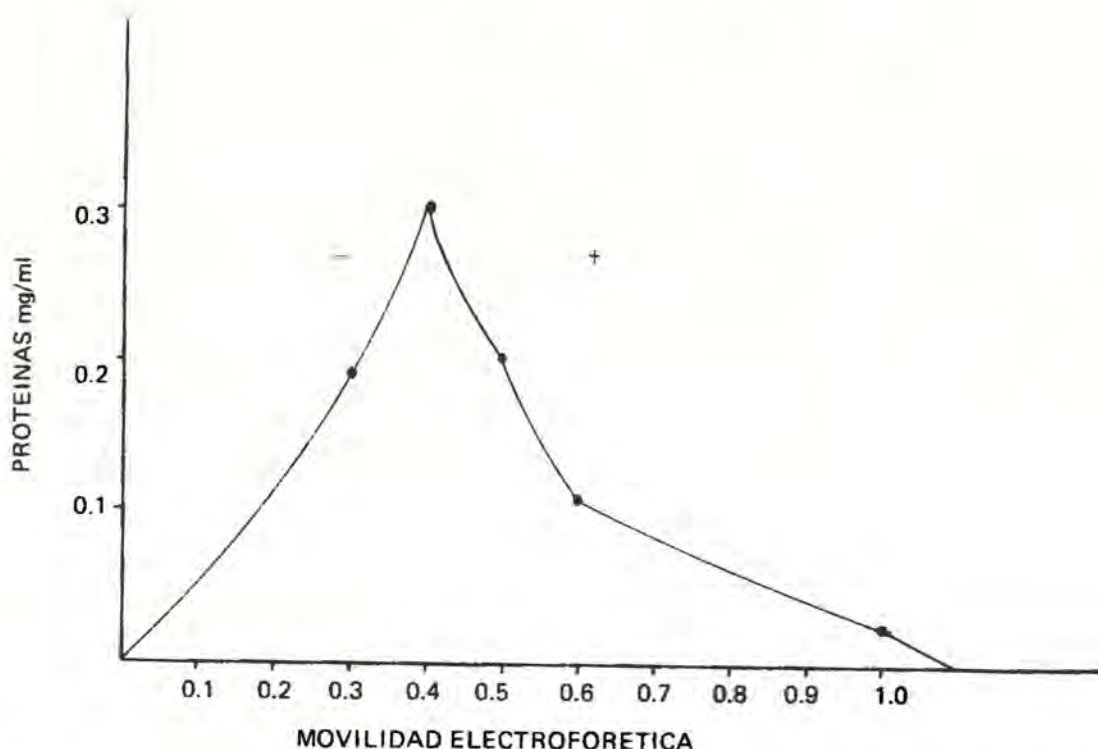


Figura 4. Recorrido densitométrico en gel de Disco con compuestos proteínicos de la fracción DEAE Celulosa IA y su relación con la movilidad electroforética y tamaño molecular.

ESTUDIO EN SEMILLAS Y PERICARPIO DE *MUCUNA PRURIENS* DE LAS PROTEÍNAS SOLUBLES EN VARIOS DISOLVENTES, APLICANDO ELECTROFORESIS DE DISCO EN GEL DE POLIACRILAMIDA

Prakash G. Kade¹
 Fabiola de Micheo¹
 Rosa María Martínez¹
 Tirso Madrid¹
 Julio E. Andrade¹
 José Antonio Recinos¹

En el laboratorio se extrajeron y fraccionaron las proteínas de las semillas y los pericarpios de los frutos de *Mucuna pruriens*, mediante la filtración en gel en Sephadex G-100. (El Sephadex se basa en la porosidad).

Se encontró, sin embargo, que es difícil obtener una información precisa concerniente al número de componentes de la proteína y su concentración. A menudo algunas proteínas son eluidas en el mismo pico durante la filtración en gel, lo cual provoca interpretaciones erróneas de los datos que se obtie-

nen, a menos que esta técnica se acompañe de otros estudios tales como la electroforesis.

En el presente trabajo se desea presentar los datos obtenidos, concernientes a la composición de todas las fracciones obtenidas de las semillas, mediante extracciones sucesivas con: agua, solución acuosa de cloruro de sodio 0,2M, tamponada a un pH 7, etanol al 70 por ciento, ácido acético 0,05N; así también las

¹ Técnicos del Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial, (ICAITI).

fracciones individuales obtenidas por fraccionamiento adicional de las proteínas solubles en su respectivo solvente, mediante la filtración en gel en Sephadex G-100.

También se intenta relacionar el aspecto cuantitativo de los componentes protéicos con las movilidades electroforéticas y su tamaño molecular aproximado.

Los frutos de *Mucuna pruriens* se colectaron en los Departamentos de Santa Rosa, Jutiapa y Chiquimula, en la República de Guatemala, Centroamérica.

Las semillas y los pericarpios de los frutos se molieron individualmente y luego se extrajeron sucesivamente con agua, solución acuosa de cloruro de sodio 0,2M, etanol al 70 por ciento y ácido acético 0,05N. Después de la extracción, los extractos se dejaron a baja temperatura durante algunas horas, centrifugándolos luego a 2.000 x g, durante 30 minutos.

Se colectaron los sobrenadantes de los extractos provenientes de la homogenización sucesiva y se concentraron en frío a 4°C.

También se llevaron a cabo extracciones separadas de semillas y pericarpios con pirofosfato de sodio 0,01M y con urea 8M, conteniendo 0,1 por ciento de lauril sulfato de sodio.

Los extractos concentrados se analizaron a fin de determinar su contenido protéico, según el método de Lowry *et al*, sometiéndolos luego a electroforesis.

Similarmente se analizaron mediante electroforesis las fracciones de los picos obtenidos por la filtración en gel en Sephadex, de los extractos concentrados.

La electroforesis se realizó en un aparato vertical obtenido de la CANALCO Industrial Corporation.

Los geles de poliácridamida con un enlazamiento de 7,5 por ciento se prepararon según el método descrito en el boletín de la CANALCO, llevándose a cabo la electroforesis, según el método descrito por Ornstein y Davis. La electroforesis se completó después de 75 minutos y acto seguido los geles se colorearon con añilina azul-negro en ácido acético al 7 por ciento. El exceso de colorante se removió electroforéticamente. Los componentes protéicos se determinaron según su movilidad electroforética, considerándola del azul de bromofenol igual 1 y las concentraciones de los componentes protéicos se midieron por densitometría.

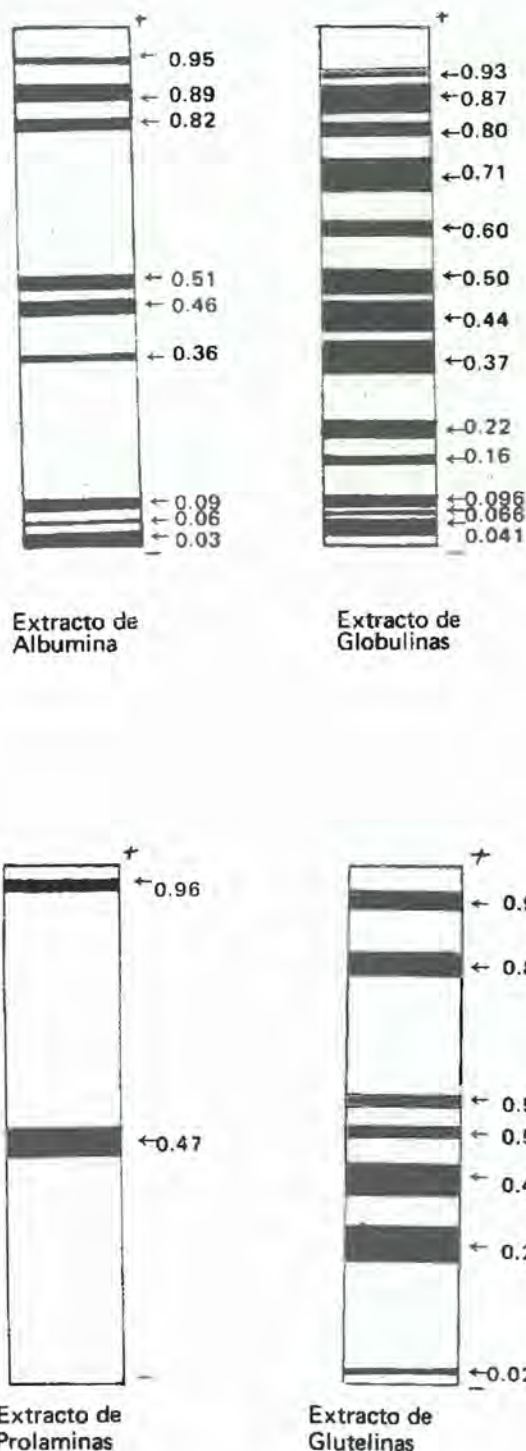


Figura 1. Electroforesis en gel de disco con Poliácridamida de albúmina, globulina, prolaminas y glutelinas de semilla.

La Figura 1 muestra los modelos de los componentes proteicos obtenidos de la electroforesis de los extractos de las semillas, tales como: albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas.

Se encontraron 31 componentes, de los cuales 9 pertenecen a las albúminas, 13 a las globulinas, 2 a las prolaminas y 7 a las glutelinas. Los componentes *protéicos de la albúmina* están constituidos por tres componentes catódicos de movimiento lento, tres de movimiento intermedio y tres componentes de movimiento rápido de tipo anódico.

La Figura 2 muestra que la concentración tanto de los componentes anódicos como la de los componentes

protéicos intermedios fue considerablemente mayor que la de los componentes protéicos de tipo catódico.

Los componentes protéicos de las *globulinas* (Fig. 1) se determinó que están constituidos en su mayoría, por aquéllos de tipo anódico e intermedio, y su concentración fue relativamente mayor que la de los cinco componentes protéicos catódicos de movimiento lento.

Las *prolaminas* mostraron estar compuestas principalmente de dos bandas, de las cuales una es de naturaleza intermedia y la otra del tipo anódico de movimiento rápido. La concentración del componente protéico intermedio fue considerablemente mayor

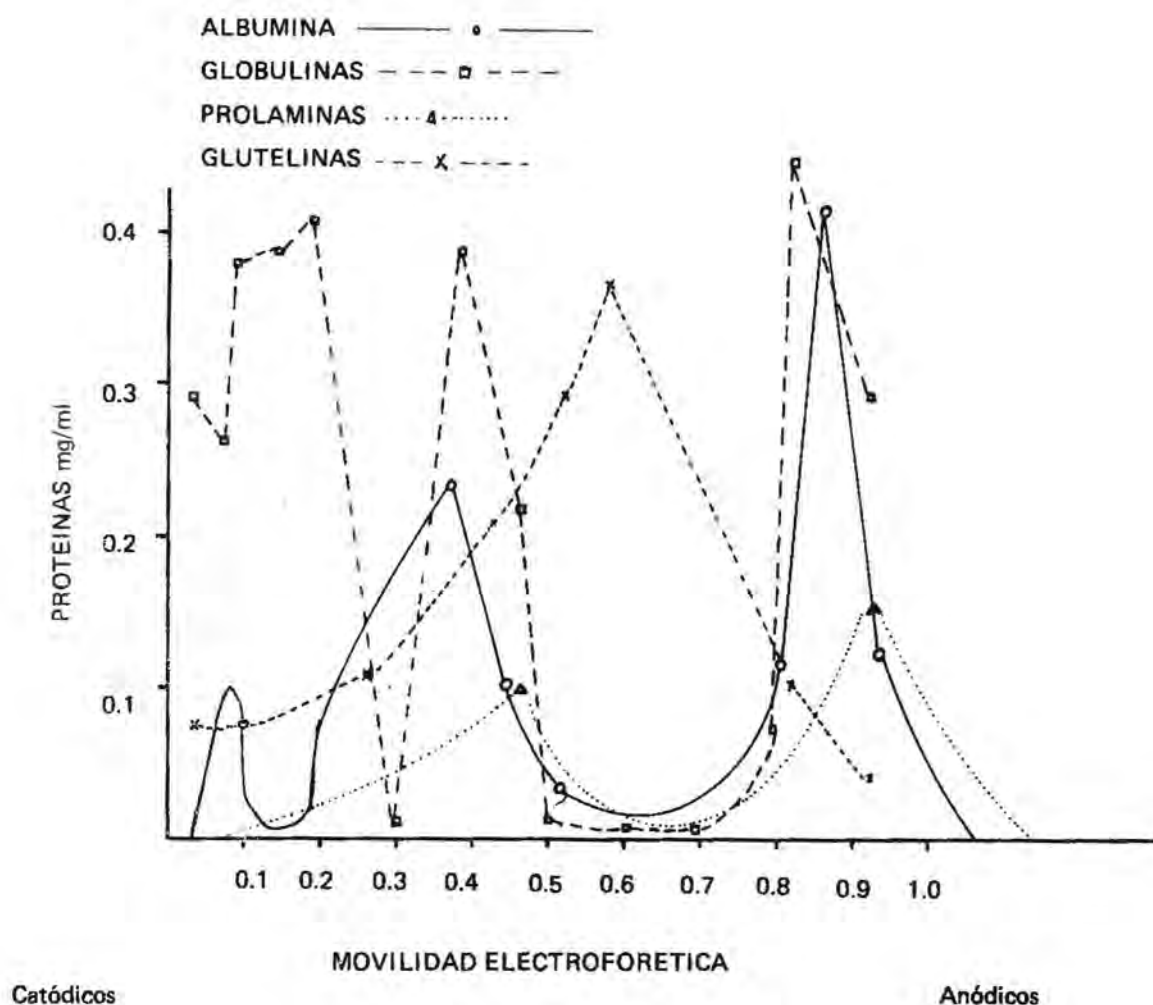


Figura 2. Recorrido densitométrico en gel con los compuestos de Albúmina, Globulinas, Prolaminas, y Glutelinas y su relación con la movilidad electroforética.

que la del componente anódico de movimiento rápido.

Las *glutelinas* muestran un cuadro algo diferente, en el sentido que presentan tres componentes catódicos, los cuales tienen una concentración más alta que la de los componentes intermedios y anódicos.

En la Figura 3 se muestran las bandas electroforéticas correspondientes a las fracciones de los picos obtenidos después de someter a filtración en gel el extracto de albúmina.

Se muestra en la misma figura, cómo en un pico prematuro de una fracción, el número y la concentración de las bandas catódicas de movimiento lento, fueron más altos que las bandas anódicas de movimiento rápido. Es sabido que las *bandas catódicas* de movimiento lento corresponden a las *proteínas de tamaño molecular mayor*, mientras que las *bandas anódicas* de movimiento rápido corresponden a las *proteínas de tamaño molecular menor*. Como se puede apreciar en la Figura 3, las fracciones de picos retardados van mostrando cada vez menos el número y la concentración de las bandas catódicas.

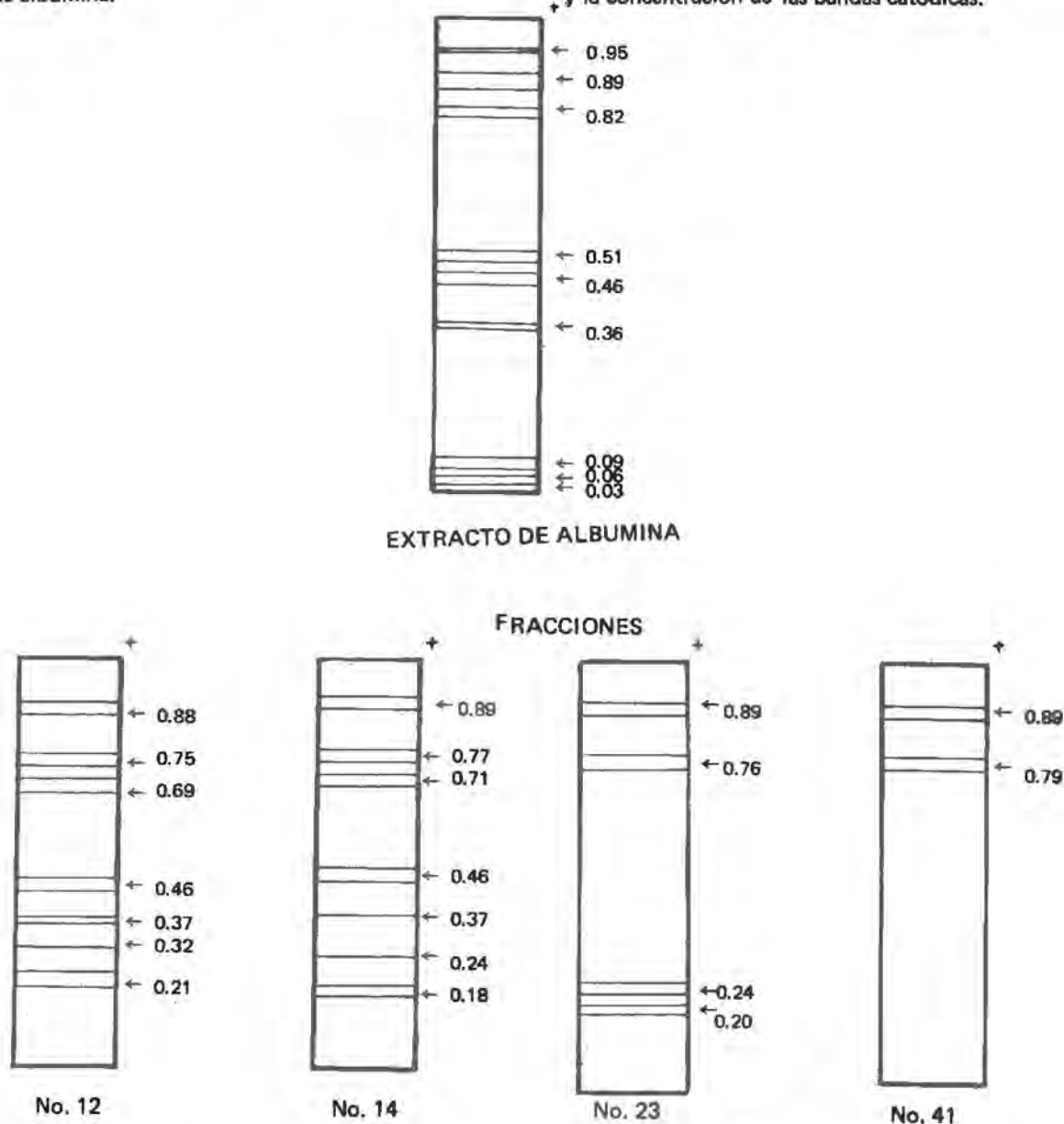
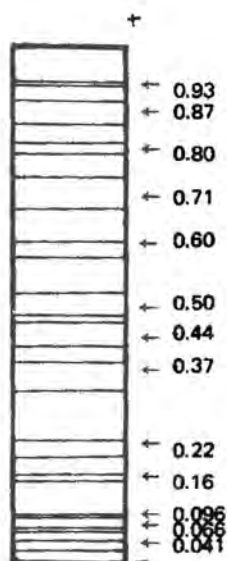
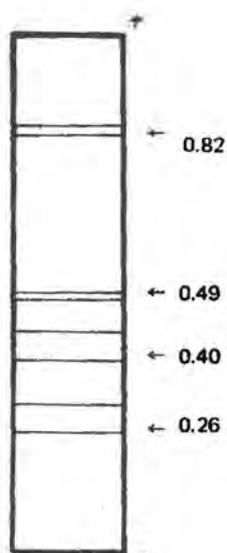


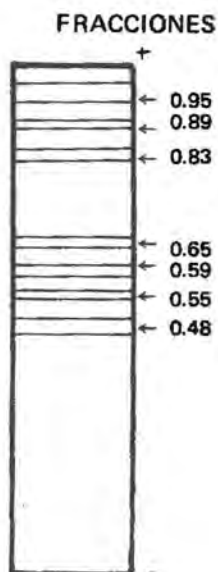
Figura 3. Electroforesis en gel de disco con poliacrilamida de fracciones máximas de albúmina del experimento de filtración gel.



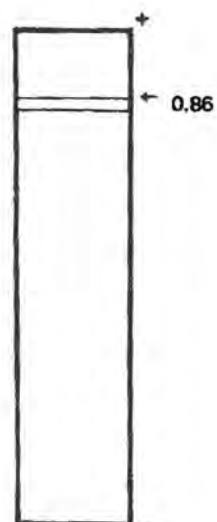
EXTRACTO DE GLOBULINAS



No. 16



No. 25



No. 39

Figura 4. Electroforesis en gel de disco con poliacrilamida de fracciones máxima de globulina del experimento de filtración gel.

En otras palabras, la movilidad electroforética de los componentes proteicos *depende de la carga y del tamaño molecular de los mismos*. Este es precisamente el caso con la técnica de la filtración en gel, en la cual las partículas proteicas de tamaño molecular y peso mayor eluyeron en las primeras fracciones, mientras que las de peso a tamaño molecular menor, eluyeron en las fracciones finales.

Las Figuras 4 y 5 presentan un tipo de resultados similar a los presentados en la Figura 3, excepto que el número de bandas fue mayor.

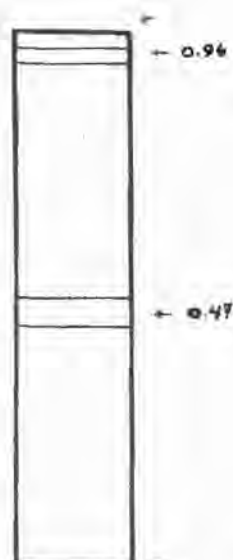
El extracto proteico con pirofosfato de sodio mostró un gran número de bandas anódicas y unas pocas bandas intermediarias; no se detectaron bandas catódicas. Un gran número de bandas anódicas apoyan el trabajo anterior, o sea el fraccionamiento del extracto proteico de pirofosfato de sodio en columnas por filtración en gel; en la que las fracciones retardadas mostraron picos pronunciados.

El número de bandas anódicas en el extracto proteico con urea fue también mayor que el de las catódicas. Sólo una banda catódica apareció en dicho extracto y fue de rápida movilidad.

La ausencia de bandas catódicas de escasa movilidad y la presencia de un gran número de pequeñas bandas anódicas sugieren alguna disociación de proteína de alto peso molecular en la solución de urea 8M durante el proceso de extracción.

Finalmente, sería conveniente puntualizar la relación de la movilidad electroforética de las bandas con su concentración de componentes proteicos (Cuadro 1). Una mayor movilidad electroforética de las bandas corresponde a las moléculas de menor tamaño molecular y viceversa.

Según puede deducirse del Cuadro 1, los componentes proteicos de mayor peso molecular, como las *prolaminas, globulinas y albúminas* y que determinan los máximos en la separación cromatográfica, corresponden a los de baja movilidad catódica. Y en general, la concentración de compuestos proteicos de rápida movilidad catódica, muy cercana a la de los intermedios, se encontró que es proporcional al tamaño de los máximos graficados. De tal manera que por este método no sólo es posible conocer el número de componentes proteicos de cada fracción, sino también su fuerza relativa o concentración.



EXTRACTO DE PROLAMINAS

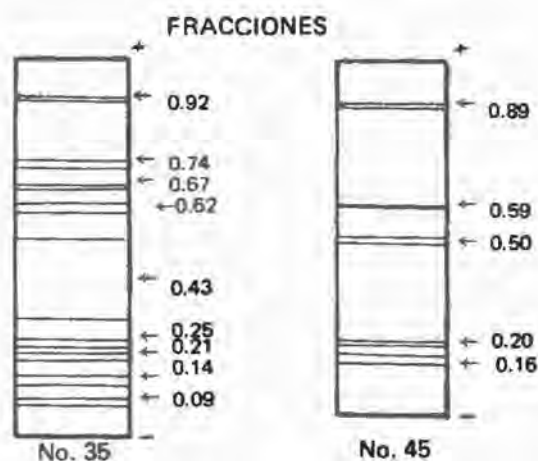


Figura 5. Electroforesis en gel de disco con poliacrilamida de fracciones máximas de prolamina del experimento de filtración gel.

Cuadro 1. Relación de la movilidad electroforética de los componentes protéicos de los máximos, con su concentración y tamaño molecular.

Muestra	Fracción No.	Movilidad Electroforética	Concentración	Peso Molecular
Albúminas	12	0.88	0.003	80,000 - 90,000
		0.75	0.002	
		0.69	0.020	
		0.46	0.001	
		0.37	0.003	
		0.32	0.060	
		0.21	0.001	
Albúminas	14	0.89	0.050	50,000 - 60,000
		0.77	0.020	
		0.71	0.060	
		0.46	0.078	
		0.37	0.120	
		0.24	0.060	
		0.20	0.040	
Albúminas	23	0.89	0.110	10,000 - 20,000
		0.76	0.001	
		0.24	0.001	
		0.20	0.012	
Albúminas	41	0.88	0.035	3,000
		0.77	0.040	
Globulinas	16	0.82	0.085	40,000 - 50,000
		0.49	0.160	
		0.46	0.120	
		0.26	0.180	
Globulinas	25	0.95	0.030	10,000 - 20,000
		0.89	0.105	
		0.83	0.070	
		0.65	0.185	
		0.59	0.240	
		0.55	0.145	
		0.48	0.145	
Globulinas	39	0.86	0.280	~ 2,200
Prolaminas	35	0.92	0.003	
		0.74	0.260	
		0.67	0.003	
		0.62	0.020	
		0.43	0.093	
		0.25	0.040	

Cuadro 1. (continuación)

Muestra	Fracción No.	Movilidad Electroforética	Concentración	Peso Molecular
		0.21	0.070	
		0.14	0.090	
		0.09	0.105	~ 3,250
Prolaminas	45	0.89	0.340	
		0.59	0.110	
		0.50	0.105	
		0.20	0.090	
		0.16	0.120	
Glutelinas	1	0.97	0.068	
Glutelinas	15	0.94	0.120	
		0.51	0.050	
		0.37	0.020	
Glutelinas	29	0.98	0.058	
		0.68	0.012	
		0.59	0.008	

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EPOCAS DE SIEMBRA EN FRIJOL EN EL VALLE DE SIRIA, HONDURAS

Juan Parodi Valverde¹

José Montenegro Barahona²

INTRODUCCION

En el Valle de Siria, Honduras, se observa que los agricultores efectúan las siembras de frijol de postrera durante los meses de octubre y noviembre, dando por resultado que muchos de ellos pierden su cosecha por exceso o escasez de humedad durante el crecimiento del cultivo.

Esta situación nos indujo a realizar varios experimentos en diferentes localidades, para determinar el periodo más apropiado en que los agricultores deben realizar su siembras y proporcionarles en esta forma, un margen de seguridad de que obtendrán buenas cosechas.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron tres zonas representativas del valle, para sembrar igual número de ensayos de fechas de siembra. Cada ensayo comprendía cinco fechas de siembra, con 10 días de intervalo entre ellas, realizando la primera el día 26 de setiembre y la quinta el 5 de noviembre. Cada fecha de siembra se hizo con tres variedades, dos rojas: Zamorano y Desarrural, y una negra: Porrillo. Para cada variedad se usaron cuatro repeticiones con dos tratamientos cada una.

¹ Director Programa de Desarrollo Granos Básicos.

² Jefe de Extensión Agrícola de DESARRURAL y Asesor Técnico del Programa de Desarrollo Granos Básicos.