

La insulina promueve el crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis thaliana*

Edgar J. Pascual-Morales, Israel Arteaga-Tinoco, Ernesto García-Pineda, Ma. Elena Mellado-Rojas, Elda Beltrán-Peña 

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Laboratorio de Transducción de Señales. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas.

Resumen

En animales la insulina regula los niveles de glucosa en la sangre y activa las cascadas de señalización de las MAPK y PI3K/TOR, las cuales controlan la diferenciación celular y la expresión genética. En plantas se ha reportado que existen factores de crecimiento parecidos a la insulina, así como varios componentes de las vías de señalización antes mencionadas, lo que sugiere una conservación de dichas vías en organismos eucariontes. En el presente estudio se analizó el efecto de la insulina sobre el crecimiento de los pelos radiculares de plántulas de *Arabidopsis* Col-0 de 5 y 8 días de edad. La posible participación de las vías activadas por insulina en el crecimiento de los pelos radiculares fue determinada en las líneas: silvestre (Wt), de sobre expresión (OvMAPK3 y OvMAPK6), de baja expresión (RNAiMAPK3) y la mutante *mpk6*, y con los inhibidores de las cinasas PI3K y MAPKK, LY294002 y UO126 respectivamente. Los resultados obtenidos en la línea silvestre mostraron un aumento sobre el crecimiento de los pelos radiculares dosis dependiente de la insulina. La inhibición farmacológica de las cinasas PI3K y MAPKK disminuyó significativamente la longitud de los pelos estimulada por insulina. El efecto de la insulina en las líneas de sobre y baja expresión de MAPK3 (OvMAPK3 y RNAiMAPK3) fue el de estimular o disminuir el crecimiento de los pelos radiculares respectivamente, lo que sugiere que en el efecto promotor de la insulina sobre el crecimiento de estas estructuras, solamente estaría involucrada la cinasa MAPK3 y no la cinasa MAPK6, la cual no mostró ninguna diferencia en su línea de sobre expresión ni en su mutante.

Palabras clave: *Insulina, MAPK, PI3K, UO126, LY294002*

Introducción

Es bien sabido que la insulina en animales regula la entrada de glucosa a la célula, además de activar las rutas PI3K/TOR y MAPK (Olivares-Reyes y Arellano-Plancarte, 2008). Mientras que en plantas, se ha venido demostrando que dicha hormona también modula el desarrollo vegetal (Collip, 1923; Ellis y Eyster 1923; Khanna *et al.*, 1974; Sotelo *et al.*, 2010). Estudios moleculares en maíz mostraron que la insulina estimula el crecimiento, la germinación y la fosforilación de la proteína ribosomal S6 y, que dicha fosforilación disminuye en presencia de wortmanina y rapamicina, inhibidores de la cinasa PI3K y TOR respectivamente, lo cual sugirió una posible participación de la vía PI3K/TOR (Sánchez de Jiménez *et al.*, 1999). Recientemente ha sido aislado de maíz un péptido parecido a la insulina, denominado ZmIGF, que al igual que la insulina

Abstract

In animals insulin regulates the glucose levels in blood and activates the MAPK and PI3K/TOR signal transduction pathways which control cellular differentiation and genetic expression. In plants has been reported that exist insulin-like growth factors as well as several components of signaling pathways before mentioned, it suggests a conservation of these pathways in eukaryotic organisms. In the present study, insulin effect was analyzed on root hairs growth of 5 and 8 days old of *Arabidopsis* seedlings. The participation possible of insulin signaling pathways on root hairs growth was determined in *Arabidopsis* lines: wildtype (Wt), over expression (OvMAPK3 and OvMAPK6), low expression (RNAiMAPK3) and *mpk6* mutant, and with PI3K and MAPKK inhibitors, LY294002 and UO126 respectively. The results obtained in wild type line showed an increase insulin dose dependent on root hairs growth. The pharmacologic inhibition of PI3K and MAPKK kinases diminished the hairs length stimulated by insulin significantly. The insulin effect in over and low expression lines of MAPK3 (OvMAPK3 and RNAiMAPK3) was to stimulate or to diminish root hairs growth respectively, this suggests that in insulin promoted effect on the growing of these structures, would be only involved the MAPK3 kinase. MAPK6 kinase does not show any difference on its over expression line nor its mutant.

Key words: *Insulin, MAPK, PI3K, UO126, LY294002*

regula el crecimiento y la división celular en maíz (Rodríguez-López *et al.*, 2011). El efecto de la insulina sobre el crecimiento de *Arabidopsis*, fue reportado por Ortega-Domínguez (2007), observando que la hormona estimula en plántulas el crecimiento de la raíz primaria, el número y longitud de las raíces laterales, mientras que Rodríguez Andrade (2012) mostró que la insulina promueve también el desarrollo vegetativo y reproductivo de la planta.

Los pelos radiculares son proyecciones de las células epidérmicas de la raíz que juegan un papel crítico en la toma de agua y nutrientes y en el anclaje de la planta al suelo. Los pelos radiculares han sido usados como modelo para el descubrimiento de los elementos moleculares que subyacen al crecimiento en punta de las plantas. Los estudios en este modelo han permitido identificar algunos elementos de la maquinaria del crecimiento en punta en las plantas. Sin embargo nuestros conocimientos sobre la red de señalización involucrada en el crecimiento vegetal en punta es incompleta (Lee *et al.*, 2008b). Lee *et al.* (2008a) reportaron que al inhibir a PI3K con LY294002, los

✉ **Autor de correspondencia:** Elda Beltrán Peña. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Laboratorio de Transducción de Señales. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Email: eldabelt@umich.mx

pelos radiculares reducían su longitud de una manera dosis dependiente de la concentración y tiempo de exposición al inhibidor. Otra ruta que ha sido implicada en el desarrollo vegetal es la de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), la cual además de participar en varias respuestas a estrés biótico y abiótico, también está comprendida en los procesos de división y desarrollo celulares (Nakagami *et al.*, 2006).

El modelo básico de la ruta de las MAPKs está integrado por tres elementos consecutivos: MAPKKK, MAPKK y MAPK; su secuencia indica el orden en que los componentes se van activando mediante reacciones de fosforilación. Se ha reportado para *Arabidopsis thaliana* que su genoma codifica para 80 MAPKKKs, 10 MAPKKs y 20 MAPKs (Rodríguez *et al.*, 2010). De estas últimas cinasas, las más estudiadas incluyen a las MAPK 3, 4 y 6 (Mishra *et al.*, 2006). Samaj *et al.* (2002) analizaron la función de un homólogo a la AtMAPK6 de alfalfa (SIMK) durante el desarrollo de los pelos radiculares. Los autores observaron que en células epidermales, SIMK está predominantemente en el núcleo y que durante la formación de los pelos radiculares se activa y redistribuye al citoplasma, localizándose en los extremos del crecimiento de pelos radiculares. Ahí, SIMK se ensambla a la red de F-actina y la inhibición de la función de SIMK en el extremo de los pelos radiculares (en presencia de UO126, inhibidor específico de la cinasa MAPKK), resultó en la formación de pelos radiculares aberrantes. En contraste, la sobreexpresión de SIMK indujo un crecimiento rápido en las puntas de los pelos radiculares; con estos datos los autores sugirieron que SIMK juega un papel crucial en este proceso.

Como ha sido mostrado, varios componentes de las vías de señalización de insulina están presentes en plantas y han sido implicados en el crecimiento de los pelos radiculares. En la presente investigación se determinó el efecto de la insulina sobre la estimulación y el crecimiento de estas estructuras a través de la vía MAPK y/o la activación de PI3K.

Materiales y métodos

Se utilizaron semillas de *A. thaliana* silvestres (Wt) variedad Columbia y de líneas de sobre expresión OvMAPK3 y OvMAPK6, de baja expresión RNAi MAPK3 y la mutante *mapk6*, las cuales fueron donadas amablemente por el Dr. Ángel Guevara del Instituto de Biotecnología de la UNAM. El medio Murashige y Skoog (MS), insulina porcina, fitoagar, tiamina, piridoxina y ácido nicotínico utilizados fueron marca Sigma, la sacarosa de Bioxon y los inhibidores LY294002 y UO 126 de LC Laboratories. Los disolventes etanol y DMSO fueron marca Baker.

Desinfección, siembra e incubación de las semillas de *Arabidopsis*

Las semillas se desinfectaron con etanol absoluto, y con una solución de cloro al 5% y dodecil sulfato de sodio (SDS) al 1% y agitación vigorosa durante 5 min. Se eliminó la solución desinfectante y se realizaron siete lavados con agua destilada estéril. Las semillas se incubaron en un ml de agua estéril durante 2 días a 4 °C. El medio de cultivo se preparó con 0.2X de sales MS, 2% de sacarosa, 0.8 g/l de fitoagar a pH 5.7. Una vez esterilizado, al medio tibio se le agregó 0, 1.23 y 12.3 nM de insulina porcina

(respectivamente) y 200 µl/l de una solución stock de vitaminas (tiamina 1mg/ml, piridoxina 5 mg/ml y ácido nicotínico 5mg/ml). Los medios con inhibidores fueron suplementados con 30 µM de LY294002 y 10 µM de UO126, además de la insulina. Se sembraron 20 semillas por caja de Petri que contenían el medio de cultivo suplementado con y sin insulina y se incubaron durante 5 y 8 días. Para las plántulas tratadas con inhibidores se sembraron 20 semillas por caja con medios suplementados con 0, 1.23 y 12.3 nM de insulina. Después de 4 y 7 días de crecimiento, el material se trasplantó a medios que contenían insulina más 30 µM de LY294002 o bien 10 µM de UO126 y se incubaron 24 h más. Las cajas se colocaron en posición vertical en una cámara de crecimiento con fotoperiodo de 16h luz/8h oscuridad a 22 °C.

Análisis de datos

Se tomaron fotografías en la zona de diferenciación de pelos radiculares en plántulas de 5 y 8 días de edad con una cámara acoplada a un microscopio estereoscópico Leica MZ6/L2, a dos aumentos 1X y 2X. Mediante el programa IMAGEJ se midió la longitud de los pelos radiculares (LPR) en las plántulas de los diferentes tratamientos, una vez obtenidos los datos se procesaron con el programa STATISTICA 8 mediante un análisis de ANOVA y con un post hoc de Fisher se determinó el valor en la significancia de los resultados

Resultados

Efecto de la insulina sobre el crecimiento de los pelos radiculares

Para analizar el efecto de la hormona sobre el desarrollo de los pelos radiculares de *Arabidopsis* se evaluó la longitud de los pelos a dos tiempos de crecimiento; 5 y 8 días en presencia de 0, 1.23 y 12.3 nM de insulina. Como se observa en la **figura 1**, la insulina estimuló el crecimiento de los pelos radiculares de manera dosis dependiente a los dos tiempos evaluados. El incremento en la longitud de los pelos radiculares fue en promedio de alrededor de 33% para la concentración de 1.23 y cerca de un 70% en los tratamientos con 12.3 nM de insulina a los dos tiempos evaluados.

Efecto del inhibidor LY294002 sobre el crecimiento de los pelos radiculares estimulado por la insulina

Debido a que los resultados anteriores mostraron que la insulina estimuló el crecimiento de los pelos, decidimos evaluar si dicho efecto estaría mediado por la activación de la cinasa PI3K. Para probar lo anterior, se sembraron semillas Wt de *Arabidopsis* en los medios suplementados con insulina más 30 µM del inhibidor específico de la cinasa PI3K (LY294002) (**Fig. 2**). Aquí se puede observar que la insulina estimuló el crecimiento de los pelos radiculares y que el inhibidor LY294002 lo disminuyó un 80% en las plántulas evaluadas a los 5 días de edad. Mientras que las de 8 días solo presentaron una disminución de aproximadamente 47%, lo que muestra que la actividad de la cinasa PI3K varía dependiendo del estado fisiológico de la plántula, siendo más pronunciado el efecto del inhibidor sobre el crecimiento de los pelos en plántulas más jóvenes.

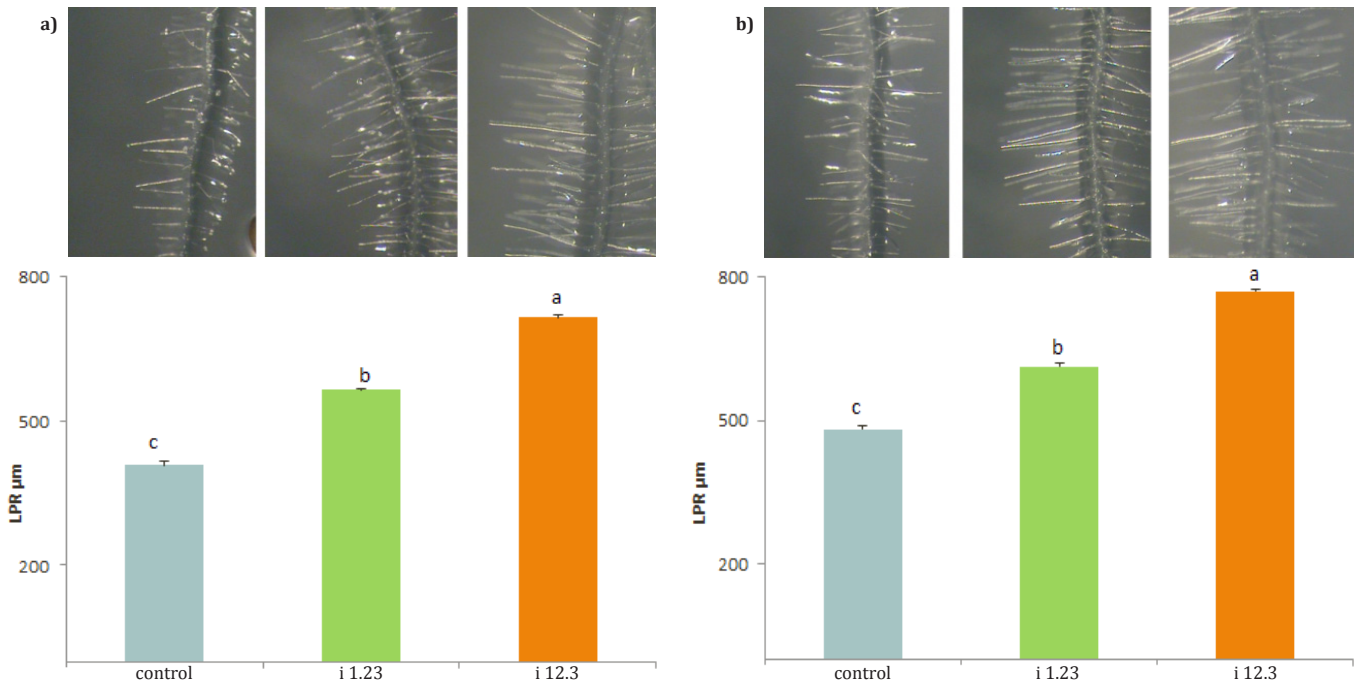


Figura 1. Efecto de la insulina sobre el crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis thaliana*. Fotografías representativas de los pelos radiculares de plántulas crecidas en los tratamientos control (control), insulina 1.23 (i 1.23) y 12.3 nM (i 12.3 nM). La longitud de los pelos radiculares se determinó en plántulas de a) 5 días y b) 8 días de edad. Las mediciones de 300 pelos radiculares se realizaron por medio del programa IMAGEJ. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa STATISTICA 8, con el cual se efectuó una prueba de ANOVA. La prueba de Fisher determinó la significancia de cada tratamiento. Las letras representan la diferencia significativa entre los tratamientos.

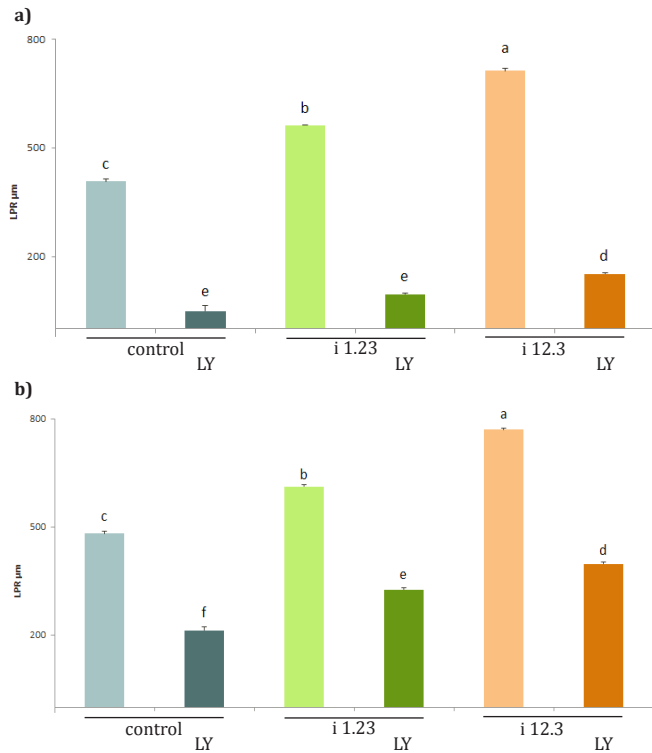


Figura 2. LY294002 inhibe el crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis* estimulado por insulina. Las gráficas muestran las longitudes promedio de los pelos radiculares de las plántulas crecidas en medios suplementados con 0, 1.12 y 12.3 nM de insulina y los mismos medios más 30 μM de LY294002 evaluadas a los a) 5 d y b) 8 d a partir de la siembra. Las gráficas se realizaron mediante mediciones de 300 pelos radiculares de las imágenes representativas con el programa IMAGEJ. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa STATISTICA 8 con el cual se efectuó una prueba de ANOVA. La prueba de Fisher determinó la significancia de cada tratamiento. Las letras representan la diferencia significativa entre los tratamientos.

Participación de la cascada MAPK en el crecimiento de los pelos radiculares estimulado por insulina

En mamíferos, la otra vía de señalización activada por insulina es la MAPK (Saltiel y Khan., 2001), y como en alfalfa fue implicada la proteína SIMK (homóloga de AtMAPK6) en el crecimiento de los pelos radiculares (Samaj *et al.*, 2002), decidimos determinar si en la estimulación del crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis* por insulina estaría participando la cascada MAPK. Para probar lo anterior utilizamos dos estrategias experimentales: una farmacológica con el uso del inhibidor específico para la MAPKK, UO126 y otra genética donde analizamos el comportamiento de las líneas de sobre, baja expresión y KO de algunos de los componentes de la cascada MAPK. Los resultados de la primera aproximación se pueden observar en la **figura 3**, donde la presencia de 10 μM de UO126 en plántulas de 5 días disminuyó la longitud de los pelos en un 60%, mientras que a los 8 días la inhibición fue de aproximadamente un 80%. Estos resultados muestran que al igual que con la cinasa PI3K, la actividad de la cascada MAPK varía respecto al estado fisiológico de la planta, observándose que la activación de la cinasa PI3K está implicada en el crecimiento de los pelos radiculares en edades más tempranas, mientras que la vía MAPK parece estar involucrada en etapas tardías del desarrollo.

Análisis genético de la participación de la cascada MAPK en la estimulación del crecimiento de los pelos radiculares inducido por insulina

Respecto a la estrategia genética para evaluar la participación de la cascada MAPK, en el efecto promotor sobre el crecimiento de los pelos radiculares por la insulina analizamos las líneas de baja

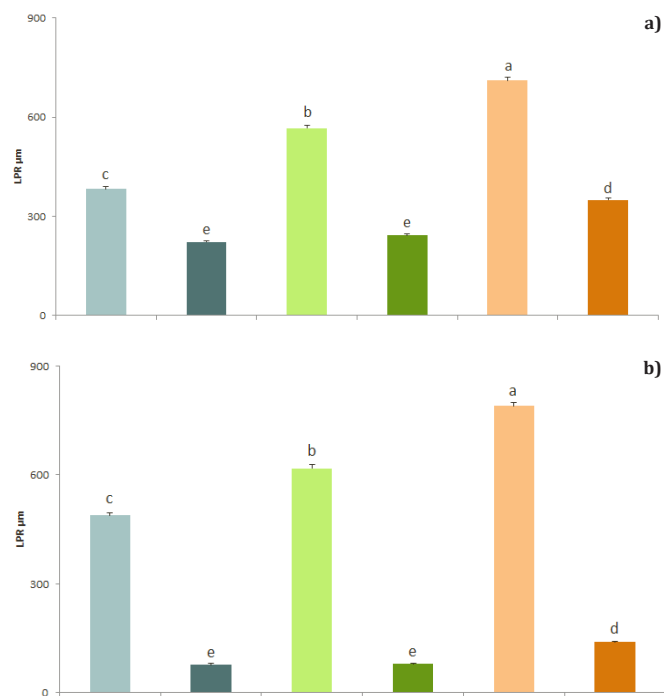


Figura 3. La vía MAPK participa en la estimulación del crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis thaliana* por insulina. Las gráficas muestran las longitudes promedio de los pelos radiculares de plántulas crecidas en medios de cultivo suplementados con 0, 1.12 y 12.3 nM de insulina y los mismos medios más 10 µM de U0126 evaluada a los **a)** 5 d y **b)** 8 d a partir de la siembra. Las gráficas se realizaron mediante mediciones de los pelos radiculares de las imágenes representativas, por medio el programa IMAGEJ. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa STATISTICA 8, con el cual se efectuó una prueba de ANOVA. La prueba de Fisher determinó la significancia de cada tratamiento. Las letras representan la diferencia significativa entre los tratamientos.

y sobreexpresión del gen *MAPK3*: RNAiMPK3, OvMAPK3, respectivamente (**Fig. 4**). Los resultados de la **figura 4**, sugieren que la cinasa MAPK3 podría estar participando en el crecimiento de los pelos radiculares en plántulas de 5 días de edad; lo anterior se infiere por la tendencia de aumento en la longitud de los pelos de manera dependiente de la concentración de insulina en la línea OvMAPK3 (**Fig. 4A**), mientras que en las plántulas de baja expresión RNAiMPK3 observamos un efecto contrastante, es decir, una disminución en el crecimiento de los pelos radiculares. Dichos resultados parecen depender de la edad de la plántula debido a que lo antes mencionado solo se observó, en las plántulas evaluadas a los 5 días y no en las de 8 días de edad.

Por otra parte, como ha sido reportado que las cinasas MAPK3 y MAPK6 actúan en conjunto en varias respuestas involucradas en estreses abióticos y bióticos (Ichimura *et al.*, 2000; Yuasa *et al.*, 2001; Matsuoka *et al.*, 2002; Wan *et al.*, 2004; Beckers *et al.*, 2009) y que la línea de baja expresión SIMK LOF (homóloga de AtMAPK6) presentaba pelos radiculares cortos respecto a la línea silvestre de tabaco (Samaj *et al.*, en 2002), decidimos evaluar el efecto de la insulina sobre el crecimiento de los pelos radiculares en las líneas de sobreexpresión y KO para el gen *MAPK6*. Como se puede observar en la **figura 5**, la línea de sobreexpresión OvMAPK6 no presentó aumento en el crecimiento de los pelos radiculares al suplementar el medio con insulina a diferencia de la OvMAPK3, mientras que en la mutante *mapk6* el crecimiento no se alteró por la presencia de insulina. Los resultados anteriores sugieren que en el crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis* estimulado por la insulina no participaría la cinasa MAPK6.

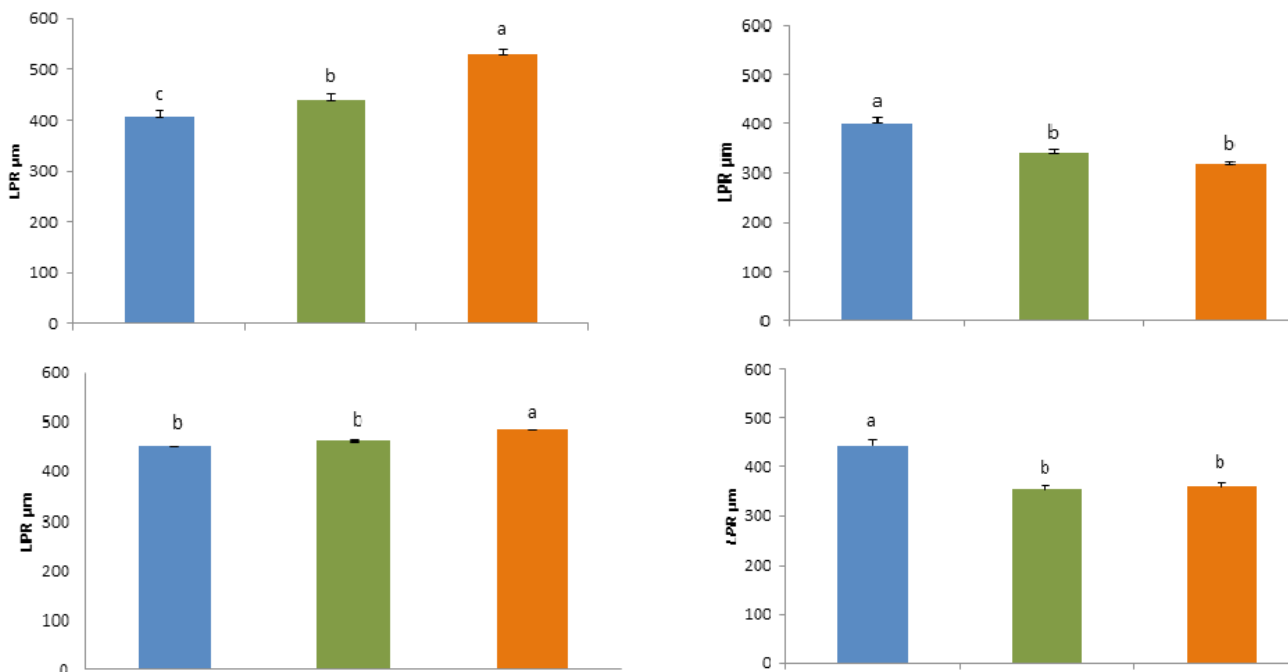


Figura 4. Participación de la cinasa MAPK3 en el crecimiento de los pelos radiculares de *A. thaliana* inducido por insulina. La evaluación de los pelos radiculares en la línea de sobreexpresión OvMAPK3 se realizó en plántulas a los **a)** 5 y **b)** 8 días a partir de la siembra y crecidas en medios con diferentes concentraciones de insulina. En la línea de baja expresión RNAiMPK3, el crecimiento de los pelos radiculares se evaluó a los **c)** 5 y **d)** 8 días a partir de la siembra. Las gráficas se obtuvieron mediante mediciones de los pelos radiculares de las imágenes representativas, mediante el programa IMAGEJ. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa STATISTICA 8 con el cual se efectuó una prueba de ANOVA. La prueba de Fisher determinó la significancia de cada tratamiento. Las letras representan la diferencia significativa entre los tratamientos.

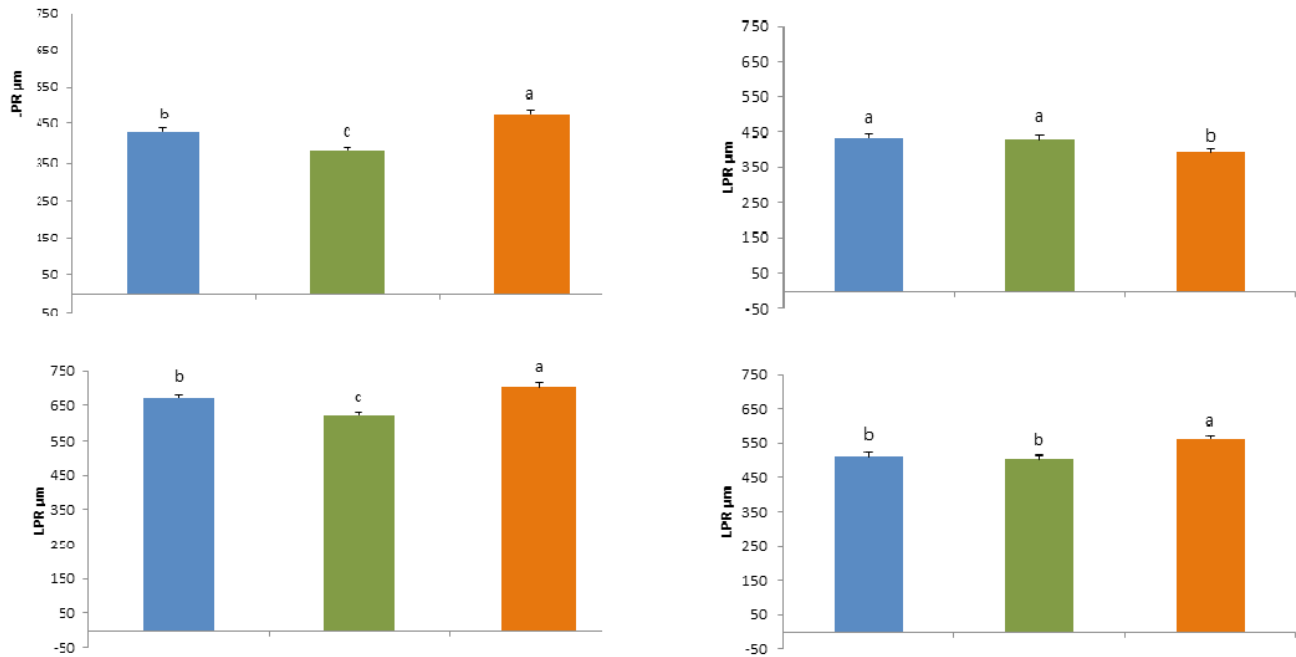


Figura 5. Participación de la cinasa MAPK6 en el crecimiento de los pelos radicales de *A. thaliana* estimulado por insulina. En las gráficas se muestra el efecto de la insulina en las líneas OvMAPK6 a los **a)** 5 y **b)** 8 días de edad, así como en la línea mutante *mapk6* evaluada a los **c)** 5 y **d)** 8 días de crecimiento (D). Las gráficas se realizaron mediante mediciones de los pelos radicales de las imágenes representativas, con el programa IMAGEJ. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa STATISTICA 8, con el cual se efectuó una prueba de ANOVA. La prueba de Fisher determinó la significancia de cada tratamiento. Las letras representan la diferencia significativa entre los tratamientos.

Discusión

En plantas se ha reportado la presencia de sustancias parecidas a la insulina (Collip, 1923; Ellis y Eyster 1923; Khanna *et al.*, 1974; Sotelo *et al.*, 2010) y se ha propuesto que dichas proteínas activan vías de señalización en forma similar a la insulina en animales. En el presente estudio se evaluó el efecto de la insulina sobre el crecimiento de los pelos radicales en plántulas de 5 y 8 días de edad, donde se observó un incremento del 33% para la concentración de 1.23 y cerca de un 70% con 12.3 nM de insulina (**Fig. 1**), lo que muestra que la insulina también presenta un efecto estimulante sobre el desarrollo de *Arabidopsis* al igual que en maíz (Sánchez de Jiménez *et al.*, 1999) y frijol (Oliveira *et al.*, 2004). Como se ha mencionado, la insulina en mamíferos activa a la cinasa PI3K y a la cascada MAPK (Saltiel y Khan, 2001) y en plantas ambas vías han sido implicadas en el crecimiento de los pelos radicales (Lee *et al.*, 2008a; Samaj *et al.*, 2002).

En este trabajo, se decidió evaluar si el crecimiento de los pelos estimulado por insulina en *Arabidopsis* se debía a la activación de la cinasa PI3K, para probar esta hipótesis se utilizó el inhibidor específico de la PI3K, el LY294002 (**Fig. 2**). Los resultados obtenidos sugieren que el crecimiento de los pelos estimulado por la insulina podría deberse a la activación de PI3K, ya que al inhibirse dicha cinasa, el crecimiento de los pelos de las plántulas a los 5 días de edad disminuyó alrededor del 80%. Los resultados fueron similares a los reportados por Lee *et al.*, 2008a, quienes encontraron que la inhibición de dicha cinasa afectaba el crecimiento de los pelos pero no su iniciación y propusieron que tal efecto podría deberse a la inhibición del envío de la NADPH oxidasa (NOX) hacia la punta de crecimiento del pelo radicular, la cual está

mediada por la activación de PI3K a través de la generación de ROS (Leshem *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008a). De la misma manera, se podría especular que la insulina estimula la activación de PI3K, provocando con ello la localización de NOX en la punta del pelo y la producción de ROS incrementando dicho crecimiento. En plántulas evaluadas a los 8 días, la inhibición fue solamente de un 50%, lo que indica que la cinasa PI3K no participa de la misma manera en el crecimiento en plántulas de 5 y 8 días.

Por otra parte, también se ha implicado a la vía MAPK en el desarrollo vegetal (Ichimura *et al.*, 2000; Yuasa *et al.*, 2001; Matsuoka *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2010) y específicamente en el crecimiento de los pelos radicales (Samaj *et al.*, 2002). Utilizando el UO126, inhibidor específico de MAPK, evaluamos la posible participación de la vía MAPK en el crecimiento de los pelos inducido por insulina (**Fig. 3**). Los resultados obtenidos mostraron que UO126 disminuyó en alrededor de 60% el crecimiento de los pelos radicales de plántulas de 5 días de edad, mientras que a los 8 días la inhibición fue de aproximadamente un 80%, lo que contrastó con la inhibición por LY294002 (**Fig. 2**). Esta inhibición del crecimiento de los pelos radicales con UO126 fue similar a la reportada por Samaj *et al.*, 2002. Interesantemente, observamos que en las dos etapas del crecimiento de LPR evaluadas, se obtuvieron porcentajes de inhibición distintos, lo que sugeriría que la vía MAPK estaría involucrada en la regulación a los 8 días, y que la actividad de PI3K regularía el crecimiento en mayor medida en etapas más tempranas de desarrollo (5 días). Asimismo, se probó el efecto de la insulina en las líneas de OvMAPK3, OvMAPK6, de baja expresión RNAiMAPK3 y la mutante *mapk6*, encontrando que la hormona estimuló el crecimiento de los pelos radicales

en las plántulas OvMAPK3 a los 5 días, mientras que la línea RNAiMAPK3 no mostró este efecto (**Fig. 4**), lo anterior sugiere que MAPK3 estaría implicada en el crecimiento de los pelos.

Otro componente de la vía de señalización MAPK analizado fue la cinasa MAPK6; se ha reportado que MAPK3 y MAPK6 regulan procesos fisiológicos en conjunto (Ichimura *et al.*, 2000; Yuasa *et al.*, 2001 Matsuoka *et al.*, 2002. Samaj *et al.*, 2002). En la línea OvMAPK6 el efecto estimulante sobre la LPR por insulina no se observó y la mutante *mapk6* tampoco mostró una disminución en el crecimiento de los pelos en ninguno de los tiempos evaluados (**Fig. 5**), de estos resultados se desprende que dicha cinasa no participa en el crecimiento de los pelos radiculares. En presencia del inhibidor U0126, se observó una fuerte inhibición del crecimiento (LPR) en la línea Wt a los 8 días de edad (**Fig. 3**), mientras que en las líneas de sobre y baja expresión del gen MAPK3 el efecto contrastante de la insulina se presentó a los 5 días (**Fig. 4**). Esta diferencia entre ambas estrategias experimentales (farmacológica y genética) quizá se deba a que el crecimiento de los pelos podría estar regulado por más de una MAPK. Samaj *et al.*, 2002 observaron que la sobre y baja expresión de SIMK (análoga a AtMAPK6) aumenta y disminuye respectivamente la LPR en plántulas de tabaco, este comportamiento no se observó en *Arabidopsis*, donde posiblemente otra MAPK pudiera estar implicada en dicho crecimiento.

En general se puede concluir que la insulina en plantas al igual que en mamíferos, estimula las vías de señalización MAPK y la cinasa PI3K, las cuales al ser activadas estimulan el crecimiento de los pelos radiculares de *Arabidopsis*. Cabe destacar que la activación de PI3K y de la vía MAPK en el crecimiento de dichas estructuras depende del estado fisiológico de la plántula.

Agradecimientos

A la CIC de la UMSNH por el apoyo al presente proyecto.

Referencias

- Beckers GJ, Jaskiewicz MLY, Underwood WR, He SY, Zhang S y Conrath U (2009) Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 21: 944–953.
- Collip JB (1923) Glucokinin: A new hormone present in plant tissue. *Preliminary paper. Journal of Biological Chemistry* 56:513–543.
- Ellis MM y Eyster WH (1923) Some effects of insulin and glucokinin on maize seedlings. *Science* 58: 541–542.
- Ichimura K, Mizoguchi T, Yoshida R, Yuasa T y Shinozaki K (2000) Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinase AtMPK4 and AtMPK6. *Plant Journal* 24:655–665
- Khanna P, Nag TN, Jain SC y Mohan S (1974) *Extraction of insulin from a plant source*. 3rd International Congress on Plant Tissue and Cell Cultures. 21–26th July. Leicester. UK.
- Lee Y, Bak G, Choi Y, Chuang W-I, Cho H-T y Lee Y (2008a) Roles of phosphatidylinositol 3-kinase in root hair growth. *Plant Physiology* 147:624–635.
- Lee Y, Kim E-S, Choi Y, Hwang I, Staiger CJ, Chung Y-Y y Lee Y (2008b) The *Arabidopsis* phosphatidylinositol-3-kinase is essential for pollen development. *Plant Physiology* 147:1886–1897.
- Leshem Y, Seri L, y Levine A (2007) Induction of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance. *Plant Journal* 51:185–197.
- Mishra N, Tuteja R y Tuteja N (2006) Signaling through MAP kinase networks in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 452: 55–68.
- Matsuoka D, Nanmori T, Sato K, Fukami Y, Kikawa U y Yasuda T (2002) Activation of AtMEK1, an *Arabidopsis* mitogen activated protein kinase kinase, in vitro and in vivo: Analysis of active mutants expressed in *E. Coli* and generation of the active form in stress response in seedlings. *Plant Journal* 29: 637–647.
- Nakagami H, Soukupova H, Schikora A, Zarsky V y Hirt H (2006) A Mitogen-activated protein kinase kinase mediates reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry* 281:38697–38704.
- Oliveira AEA, Ribeiro ES, da Cunha M, Gomes VM, Fernandes KVS y Xavier-Filho J (2004) Insulin accelerates seedling growth of *Canavalia ensiformis* (Jack bean). *Plant Growth Regulation* 43:57–62.
- Olivares-Reyes JA y Arellano-Plancarte A (2008) Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB* 27: 9–18.
- Ortega Domínguez B (2007) *Efecto de la insulina sobre la raíz de Arabidopsis thaliana*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Químico Farmacobiología. U. M. S. N. H.
- Rodríguez Andrade E (2012) *Estudio del desarrollo vegetativo y reproductivo de Arabidopsis thaliana por efecto de la insulina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Químico Farmacobiología. U. M. S. N. H.
- Rodríguez-López C D, Rodríguez-Romero A, Aguilar R y Sánchez de Jiménez E (2011) Biochemical Characterization of a New Maize (*Zea mays* L.) Peptide Growth Factor. *Protein Peptide. Letters* 18: 1–8.
- Rodríguez MC, Petersen M y Mundy J (2010) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annual Review Plant Biology* 61: 621–649.
- Saltiel RA y Khan R (2001) Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414: 799–806.
- Samaj J, Ovecka M, Hlavacka A, Lecourieux F, Meskiene I, Lichtscheidl I, Lenart P, Salaj J, Volkman D, Brögre L, Baluska F y Hirt H (2002) Involvement of the mitogen-activated protein kinase SIMK in regulation of root hair tip growth. *European Molecular Biology Organization Journal* 21: 3296–3306.
- Sánchez de Jiménez E, Beltrán-Peña E y Ortiz-López A (1999) Insulin stimulated ribosomal protein synthesis in maize embryonic axes during germination. *Physiologia. Plantarum* 105:148–154.
- Sotelo R, Garrocho-Villegas V, Aguilar R, Calderón ME y Sánchez de Jiménez E (2010) Coordination of cell growth and cell division in maize (*Zea mays* L.) relevance of the conserved TOR signal transduction pathway. *Cellular & Developmental Biology* 46:578–586.
- Wan J, Zhang S y Stacey G (2004) Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway in *Arabidopsis* by chitin. *Molecular Plant Pathology* 5:125–135.
- Wang P, Du Y, Li Y, Ren D y Song CP (2010) Hydrogen peroxide-mediated activation of MAP Kinase 6 modulates nitric biosynthesis and transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 2981–2998.
- Yuasa T, Ichimura K, Mizoguchi T y Shinozaki K (2001) Oxidative stress activates ATMPK6, an *Arabidopsis* homologue of MAP kinase. *Plant Cell Physiology* 42: 1012–1016.