

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

FILIPPO ALBERGHINA, ERASMO MARRÈ

## Inibizione da glucosio della demolizione ossidativa dei Lipidi in Cotiledoni isolati da semi germinanti di ricino

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.2, p. 237-242.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1965\\_8\\_38\\_2\\_237\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_2_237_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Fisiologia vegetale.** — *Inibizione da glucosio della demolizione ossidativa dei Lipidi in Cotiledoni isolati da semi germinanti di ricino* (\*).  
Nota di FILIPPO ALBERGHINA ed ERASMO MARRÈ presentata (\*\*) dal Socio S. TONZIG.

#### INTRODUZIONE.

Nel seme di ricino germinante il livello in glucidi solubili è estremamente basso durante le prime 24-48 ore di germinazione e aumenta quindi gradualmente in seguito alla conversione a glucidi delle riserve lipidiche<sup>(1)</sup>. Nei cotiledoni, in particolare, tanto il saccarosio che gli zuccheri riduttori sono presenti solo come traccia per circa due giorni dall'inizio della germinazione. Il livello anormalmente basso dei glucidi nei cotiledoni in questo stadio, e la loro capacità di assorbire molto attivamente glucidi dal mezzo di incubazione permette di studiare in condizioni particolarmente favorevoli alcuni aspetti dell'importanza fisiologica della concentrazione dei glucidi nella cellula. Partendo da questa considerazione, ricerche condotte parallelamente a quella qui riferita hanno posto in evidenza come la somministrazione di glucidi a cotiledoni isolati acceleri nei cotiledoni la crescita per distensione<sup>(2)</sup> e lo sviluppo dell'attività di enzimi interessati al ricambio glucidico, quali esochinasi e fruttosiochinasi<sup>(3)</sup>. Inoltre, nei cotiledoni incubati in presenza di glucidi, il forte aumento dei glucidi solubili è accompagnato da un minore ma sempre notevole aumento non solo degli esosofosfati, ma anche di tutti i metaboliti intermedi della glicolisi, fino al piruvato<sup>(4)</sup>.

Il presente lavoro ha per scopo lo studio delle ripercussioni indotte dalla somministrazione di glucidi sul metabolismo respiratorio dei cotiledoni in questa particolare fase di sviluppo.

#### MATERIALI E METODI.

Il materiale è stato fornito da semi di *Ricinus communis* var. *sanguineus*, geneticamente omogenei e forniti in dono dalla Stazione sperimentale delle piante medicinali di Napoli. I semi, dopo rimossi i tegumenti, venivano posti a germinare in ampie capsule Petri, su 3 fogli di carta da filtro imbevuta d'acqua, in camera buia termostata a 27° C. Ai tempi

(\*) Lavoro eseguito nel laboratorio di Fisiologia vegetale dell'Istituto di Scienze Botaniche dell'Università di Milano. Centro di Studio del C.N.R. per le ossidoriduzioni nei vegetali.

(\*\*) Nella seduta del 13 febbraio 1965.

(1) L. KORNBERG and H. BEEVERS, « Bioch. Bioph. Acta », 26, 531 (1957).

(2) P. LADO e M. SCHWENDIMANN, « Giorn. Not. It. » (in corso di stampa).

(3) M. P. CORNAGGIA e E. MARRÈ, « Giorn. Bot. It. » (in corso di stampa).

(4) S. COCUCCI, « Giorn. Bot. It. » (in corso di stampa).

desiderati di germinazione i cotiledoni venivano delicatamente separati dall'endosperma e dal resto dell'embrione, e trasferiti, in gruppi di 6, per l'incubazione nelle soluzioni contenenti o meno glucidi alle concentrazioni desiderate. Le misure del consumo di ossigeno ( $Q_{O_2}$ ) e del quoziente respiratorio (Q.R.) venivano effettuate mediante respirometro di Warburg, secondo le tecniche convenzionali, e come descritto in un precedente lavoro (5). Nelle esperienze in cui si è studiata la dissimilazione a  $CO_2$  di glucosio marcato con  $^{14}C$ , la misura della radioattività e della attività specifica nelle soluzioni di incubazione e nella  $CO_2$  prodotta veniva eseguita secondo Gaur e Beevers (6).

#### ESPERIENZE E RISULTATI.

##### I) *Effetto dei glucidi su $Q_{O_2}$ e Q.R.*

I risultati riferiti nella Tabella I indicano che:

a) nei cotiledoni il valore del  $Q_{O_2}$ , determinato subito dopo l'isolamento aumenta progressivamente coll'aumentare del tempo di germinazione da 24 a 48 ore. Inoltre, e nelle 7 ore di incubazione, il  $Q_{O_2}$  aumenta anche per i cotiledoni isolati; anzi, per quelli isolati da semi germinanti da 36 ore, l'aumento è nettamente più rapido che per i cotiledoni lasciati a svilupparsi normalmente, nel seme. Questa maggior rapidità dell'aumento nei cotiledoni isolati è forse imputabile ad un acceleramento dei processi di attivazione, determinato dall'esposizione diretta all'ossigeno atmosferico;

b) il quoziente respiratorio dei cotiledoni appena isolati è quello caratteristico di tessuti che ossidino pressoché esclusivamente grassi: e, di fatto, nei cotiledoni a questo stadio i glucidi sono pressoché assenti, mentre rimane ancora una frazione notevole delle riserve lipidiche presenti nel seme maturo. Dopo 7 ore di incubazione in acqua il Q.R. scende a valori ancora più bassi, indici, secondo ogni evidenza, di un inizio di conversione di lipidi in glucidi (1);

c) la presenza degli zuccheri nel mezzo di incubazione non altera mai sensibilmente il valore del consumo di ossigeno. Per contro, sia il glucosio che il saccarosio non solo impediscono la caduta del Q.R., ma lo innalzano a valori nettamente superiori a quelli iniziali, e molto sensibilmente vicini all'unità; cioè a quello di tessuti che utilizzino essenzialmente glucidi quali materiali respiratori.

##### II) *Dissimilazione a $CO_2$ di glucosio marcato con $^{14}C$ .*

Le interpretazioni più semplici dell'effetto di glucosio nell'innalzare il Q.R. a valori molto vicini a 1 sono: a) che parte del glucosio assorbito venga degradato ad alcool e  $CO_2$  con conseguente aumento del  $Q_{CO_2}$ , senza spostamenti del  $Q_{O_2}$ ; b) che i glucidi si sostituiscano pressoché totalmente ai lipidi quali materiali respiratori. Una simile alternativa può essere risolta da esperienze con glucosio marcato, che permettono di seguire il destino del glucosio assorbito dai cotiledoni.

(5) F. ALBERGHINA, « Giorn. Bot. It. » (in corso di stampa).

(6) B. GAUR e H. BEEVERS, « Plant. Physiol. », 30, 343 (1955).

TABELLA I.

*Effetto del glucosio e del saccarosio sul  $Q_{O_2}$  (in  $\mu\text{l}/\text{ora}/\text{cotiledone}$ ) di cotiledoni isolati.*

The effect of glucose and sucrose on  $Q_{O_2}$  and R.Q. of cotyledons isolated from seeds at various germination times, and incubated 0 and 7 h in water or in sugar solutions.

Tempo e mezzo di incubazione dei cotiledoni isolati	Cotiledoni ottenuti da semi in germinazione da:							
	24 ore		36 ore		42 ore		48 ore	
	$Q_{O_2}$	Q.R.	$Q_{O_2}$	Q.R.	$Q_{O_2}$	Q.R.	$Q_{O_2}$	Q.R.
Appena isolati . . . . .	5,2	—	10	0,70	18	0,76	25	0,64
7 ore in $H_2O$ . . . . .	8,3	—	24	0,67	29	0,54	33	0,52
7 ore in glucosio 0,1 M . . . . .	9,0	—	23	0,95	31	0,90	31	1,02
7 ore in saccarosio 0,1 M . . . . .	8,2	—	22	1,00	29	0,93	32	1,00

I valori delle Tabelle rappresentano medie di due esperienze.

Nelle esperienze riferite nella Tabella II i cotiledoni isolati sono stati incubati prima per 4 ore in glucosio non marcato (per permettere che si instaurasse la fisionomia di alto Q.R.), quindi trasferiti in vaschette di Warburg contenenti ancora glucosio 0,1 M, ma pesantemente marcato con glucosio- $2-^{14}C$ .

La  $CO_2$  evoluta nel successivo intervallo di tre ore veniva per alcuni lotti di cotiledoni determinata manometricamente; e per altri fissata da 0,2 ml. di KOH 6N presenti nel pozzetto centrale della vaschetta, prelevata, trasformata in carbonato di bario, e preparata per la misura della radioattività a spessore infinito. Al termine dell'esperienza i cotiledoni e il liquido contenuto nella vaschetta venivano utilizzati per la separazione del materiale distillabile in corrente di vapore, ottenendo così una frazione contenente l'eventuale alcool etilico prodotto dal tessuto. Risulta chiaro dalla Tabella II che la frazione passata ad alcool della radioattività somministrata come glucosio è assolutamente trascurabile: il che esclude quindi la possibilità che il glucosio sposti il Q.R. instaurando una fermentazione alcolica. Per contro la radioattività della  $CO_2$  non solamente è alta in valore assoluto, ma è vicinissima, come attività specifica (cpm/ $\mu$  atomo di carbonio) a quella del glucosio somministrato. I dati della Tabella II sembrano quindi imporre la conclusione che il glucide somministrato dall'esterno viene rapidamente e pressoché totalmente a sostituire i lipidi (ed altri eventuali substrati) endogeni quali materiali respiratori.

TABELLA II.

*Dissimilazione a CO<sub>2</sub> di glucosio-2-<sup>14</sup>C assunto da cotiledoni isolati incubati in glucosio 0,1 M.*

Dissimilation to CO<sub>2</sub> of glucose-2-<sup>14</sup>C taken up by isolated cotyledons incubated in 0,1 M glucose.

Espe- rienza	Radioattività iniziale nel mezzo di incubazione		CO <sub>2</sub> evoluta ( $\mu$ moli)	Attività nella CO <sub>2</sub>		Attività nell'etanolo e frazione volatile
	totale (cpm)	specifica (cpm/ $\mu$ atomo C)		totale (cpm)	specifica (cpm/ $\mu$ atomo C)	
I	2.275.000	3.380	21,3	70.295	3.300	tracce
II	2.100.000	3.380	18,0	57.245	3.180	tracce
III	2.190.000	3.380	23,7	78.450	3.130	tracce

I valori si riferiscono alla CO<sub>2</sub> emessa in 3 ore da gruppi di 4 cotiledoni (ottenuti da semi germinanti da 48 ore) incubati prima per 4 ore in glucosio freddo 0,1 M e poi trasferiti in glucosio 0,1 M contenente glucosio-2-<sup>14</sup>C.

Q<sub>CO<sub>2</sub></sub> and CO<sub>2</sub> values are for groups of 4 cotyledons, in the period from 5 to 8 h of incubation, radioactive glucose being added at the 4th hour.

### III) Effetto del 2,4-dinitrofenolo sul Q<sub>O<sub>2</sub></sub> e sul Q.R. di cotiledoni isolati.

L'effetto dei glucidi sul Q.R. e i risultati delle esperienze con glucosio marcato portano a concludere per un tipo di metabolismo respiratorio nettamente diverso per i cotiledoni incubati rispettivamente con glucidi oppure in acqua. Il fatto che la profonda trasformazione di fisionomia respiratoria indotta dalla somministrazione di glucidi non sia accompagnata da alcuna sensibile variazione del consumo di ossigeno (vedi Tabella I) sembra degno di attenta considerazione. Esso suggerisce che nelle due condizioni, pur così diverse, il consumo di ossigeno sia limitato in modo notevolmente rigoroso da un unico fattore limitante comune. Tra i possibili fattori cui si potrebbe attribuire una simile funzione, due sembrano, in prima analisi, i più probabili: *a*) la capacità dei sistemi ossidasici terminali (con particolare interesse per la citocromo ossidasi mitocondriale); *b*) la disponibilità di accettori di fosfato altamente energetico e di fosfato inorganico, a sua volta condizionata dalla intensità del lavoro metabolico cellulare.

Informazioni interessanti, anche se non definitive, sulla natura dei fattori limitanti il consumo di ossigeno in un tessuto possono ottenersi da esperienze in cui la somministrazione di un composto capace di dissociare le ossidazioni mitocondriali dalle fosforilazioni, quali il 2,4-dinitrofenolo (DNP), liberi l'attività ossidativa mitocondriale dal freno imposto da un eventuale basso livello di accettori di fosfato.

I risultati della Tabella III dimostrano come il DNP stimoli nettamente il consumo di  $O_2$  nei cotiledoni, e come lo stimolo sia dello stesso ordine in presenza come in assenza di glucosio nel mezzo. Tale comportamento suggerisce (sia pure con le solite riserve circa l'interpretazione degli effetti di inibitori *in vivo*) che nei cotiledoni il consumo di ossigeno sia limitato dalla disponibilità di accettori di fosfato, più che dalla concentrazione e dal tipo di substrati, o dalla potenzialità dei sistemi ossidasici terminali.

TABELLA III.

*Effetto del 2,4-dinitrofenolo (DNP)  $5 \times 10^{-5}$  M, a pH 5, sul  $Q_{O_2}$  (in  $\mu l/h/cotiledone$ ) e sul Q.R. di cotiledoni isolati da semi germinanti da 48 ore e incubati in acqua e glucosio 0,1 M.*

The effects of 2,4-dinitrophenol (DNP) on  $Q_{O_2}$  and R.Q. of cotyledons from seeds germinated 48 h. Isolated cotyledons were incubated in water or 0,1 M glucose;  $5 \times 10^{-5}$  M DNP was added after 4 h incubation, pH adjusted to a value of 5.  $Q_{O_2}$  and R.Q. values are those of the period from 2 to 4 h. after the addition of DNP.

Condizioni di incubazione	$Q_{O_2}$			Q.R.	
	— DNP	+ DNP	aumento da DNP	— DNP	+ DNP
H <sub>2</sub> O . . . . .	30	46	+ 53%	0,67	0,87
Glucosio 0,1 M . . .	30	49	+ 62%	1,0	1,0

Il DNP veniva aggiunto al mezzo dopo 4 ore di incubazione dei cotiledoni in presenza o assenza di glucosio. Le misure del  $Q_{O_2}$  e del Q.R. si riferiscono al periodo tra 2 e 4 ore dopo l'aggiunta del DNP.

## CONCLUSIONI.

I risultati della presente ricerca indicano che, in materiali quali il cotiledone di Ricino, la somministrazione di glucidi dall'esterno ha per effetto il blocco pressoché totale dell'utilizzazione dei lipidi quali substrati respiratori, e la loro sostituzione con i glucidi assorbiti.

Da un punto di vista fisiologico generale la dimostrazione di un antagonismo tra utilizzazione dei grassi e utilizzazione dei glucidi appare di notevole interesse. Un tale antagonismo richiama quello analogo noto per gli animali, in cui la capacità di utilizzare le riserve lipidiche è notoriamente controllata dalla disponibilità di glucidi.

I dati riferiti in questa Nota si limitano alla constatazione di uno stretto rapporto di regolazione reciproca tra metabolismo lipidico e metabolismo glucidico nelle piante, senza affrontare il problema del meccanismo. Ipotesi molto diverse possono essere formulate in proposito: dalla competizione per substrati o cofattori chiave (quali i piridinnucleotidi, il coenzima A, etc.) all'azione specificamente inibente o stimolante di metaboliti su passaggi critici dell'una o dell'altra via metabolica (fenomeni di *feed back*), o ancora ad effetti di induzione o repressione della sintesi di enzimi.

Lo studio di queste diverse possibilità appare del più alto interesse non solo ai fini del problema specifico del rapporto tra metabolismo glucidico e metabolismo lipidico nelle piante, ma anche e soprattutto a quelli del problema più vasto della regolazione e coordinazione delle attività metaboliche negli organismi superiori.