
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

RENATO BIANCHETTI

Sul meccanismo del controllo respiratorio. - II Variazioni nel livello di intermediati glicolitici nell'attivazione di fettine di tubero di patata

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.1-2, p. 107-112.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_41_1-2_107_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. — *Sul meccanismo del controllo respiratorio.* — II. *Variazioni nel livello di intermediati glicolitici nell'attivazione di fettine di tubero di patata* (*). Nota (**) di RENATO BIANCHETTI, presentata dal Socio S. TONZIG.

SUMMARY. — The changes in the concentration of respiratory intermediates in potato tuber slices during the transition from quiescence to physiological activity, characterized by a strong rise in respiratory metabolism, have been investigated, in order to study the mechanism of respiratory activation.

The initial concentrations of glucose-1-phosphate, glucose-6-phosphate and fructose-6-phosphate are, respectively, 4×10^{-6} M, 8×10^{-5} M and $1,5 \times 10^{-5}$ M; these do not show any marked change during the respiratory activation. The same is true for inorganic phosphate.

Pyruvate concentration decreases slowly from the initial value, 5×10^{-5} M, to $2,5 \times 10^{-5}$ M at the end of the incubation of the slices (8 hours).

Sucrose level initially decreases in connection with the increase of fructose and glucose; then the concentration of these metabolites reaches a constant value.

These results show a remarkable constancy of the concentration of all glycolytic intermediates measured.

The occurrence and the nature of mechanisms controlling the flow rate of glycolysis is discussed.

It seems possible, on the basis of the observations reported, that the changes in the concentration ratios of ATP, ADP and AMP might operate as a control mechanism at different sites of the glycolytic pathway.

INTRODUZIONE.

È noto che fettine di organi di riserva, tra cui tipico il tubero di patata, mostrano nel periodo successivo alla preparazione un rapido risveglio del loro metabolismo, evidenziabile attraverso una serie di fenomeni quali *a*) un incremento del consumo di ossigeno fino a valori quattro o cinque volte maggiori di quello iniziale; *b*) un aumento della capacità di assorbire ioni e zuccheri (1); *c*) l'instaurarsi di una intensa sintesi proteica [2] [3].

Tra tutti questi fenomeni, che indicano chiaramente il passaggio del tessuto da uno stato di quiete ad uno di intensa attività fisiologica, il punto iniziale sembra essere costituito dalla risalita del metabolismo ossidativo. A questo proposito ricerche precedenti [4] [5] avevano mostrato come la respirazione, soprattutto all'inizio del risveglio metabolico, sia limitata a livello mitocondriale dalla carenza di accettori di P (ADP). Tale conclusione venne tratta dalla rapida ed evidente risposta respiratoria al DNP.

(*) Laboratorio di Fisiologia Vegetale dell'Istituto di Scienze Botaniche dell'Università di Milano. Centro di studi del C.N.R. per le ossido-riduzioni nei vegetali.

(**) Pervenuta all'Accademia il 29 luglio 1966.

In questo lavoro il problema di individuare quale sia e come agisca il meccanismo di blocco e di sblocco della respirazione è stato affrontato mediante l'analisi delle variazioni di concentrazione dei metaboliti respiratori nel passaggio dallo stato di quiescenza allo stato di attivazione respiratoria del tubero.

MATERIALI E METODI.

Le esperienze sono state condotte su tuberi di patata, varietà « Bianca bolognese », conservate al buio in camera termostata a 8°C: da essi venivano ricavate fettine di 1,2 cm di diametro e di 0,8 mm di spessore. Le fettine, ripetutamente lavate, venivano incubate in H₂O distillata a 25°C mantenendo un rapporto di 1 grammo di tessuto per 2,5 cc di liquido, e poste su un agitatore.

Lo sviluppo della respirazione era seguito manometricamente. Glucosio-1-fosfato, glucosio-6-P, fruttosio-6-P e piruvato sono stati determinati enzimaticamente come in precedenti lavori [6].

Le concentrazioni dei glucidi riduttori non fosforilati e del saccarosio sono determinati secondo Marrè [7].

L'ortofosfato inorganico è stato determinato in estratti perclorici secondo Taussky e Shorr [8].

ESPERIENZE E RISULTATI.

A) *Attivazione respiratoria.*

Nella fig. 1 è riportato l'andamento nel tempo dell'aumento respiratorio che segue alla preparazione delle fettine: la curva risultante, che è una tipica sigmoide, mostra l'inizio della zona in cui si ha il massimo incremento alla quarta ora, ed il flesso superiore in corrispondenza dell'ottava ora di incubazione, ora in cui il consumo di ossigeno raggiunge il suo massimo valore. Pertanto le determinazioni del livello dei metaboliti presi in esame sono state eseguite nel tubero quiescente (tempo 0) ed alla prima, quarta ed ottava ora di incubazione delle fettine.

B) *Esosommonofosfati e fosfato inorganico.*

Nella fig. 2 sono riportate le concentrazioni iniziali apparenti del glucosio-1-P, del glucosio-6-P e del Fruttosio-6-P e le loro variazioni durante il periodo di incubazione. Esse risultano rispettivamente dell'ordine di 4×10^{-6} , 8×10^{-5} e $1,5 \times 10^{-5}$ M, con rapporti tra di loro non lontani da quelli teorici dell'equilibrio. L'osservazione più interessante appare quella che la concentrazione di questi metaboliti, dopo un lieve aumento iniziale, si mantiene costante nel tempo, nonostante contemporaneamente si verifichi il cospicuo incremento di attività respiratoria.

Comportamento analogo a quello degli esosommonofosfati, dopo una lieve caduta iniziale, viene mostrato dal Pi.

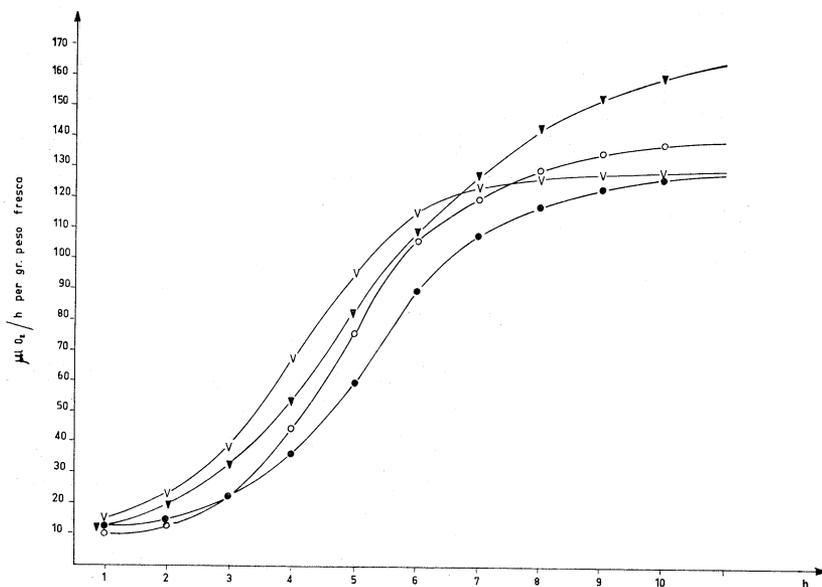


Fig. 1. - Curve di attivazione respiratoria in fette di patata.

Condizioni sperimentali: vedi MATERIALI E METODI.

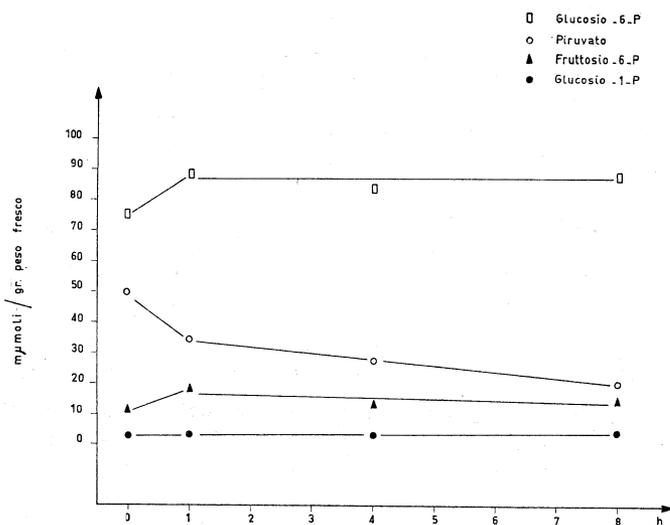


Fig. 2. - Andamento della concentrazione di alcuni intermediati glicolitici durante l'attivazione respiratoria in fette di patata.

C) *Piruvato.*

Il piruvato, anch'esso riportato nella fig. 2, appare inizialmente presente nel tessuto del tubero in concentrazione dell'ordine di 5×10^{-5} : esso tende successivamente a diminuire lentamente, fino a portarsi ad un valore di $2,5 \times 10^{-5}$ all'ottava ora di incubazione.

D) *Glucidi solubili.*

Sono state determinate le concentrazioni del saccarosio, del fruttosio e del glucosio. Le variazioni maggiori appaiono nei primi tempi di incubazione quando il livello di saccarosio scende, e sale in corrispondenza quello del fruttosio e del glucosio. Successivamente il saccarosio risale e la concentrazione dei tre glucidi si stabilisce su valori costanti.

DISCUSSIONE.

L'aspetto più interessante dei dati ottenuti è la constatazione di una sorprendente sostanziale stabilità di concentrazione degli intermedi glicolitici, e in particolare degli esosomono-fosfati. Accanto all'aumento di parecchie volte della respirazione, che si verifica tra il tempo zero e le otto ore di incuba-

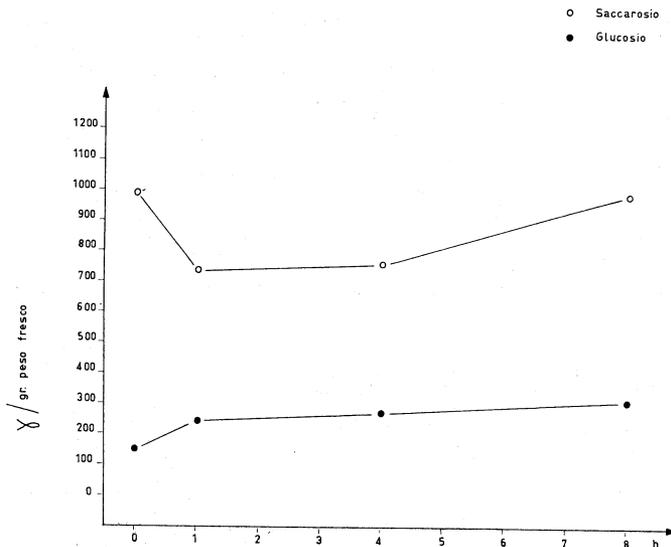


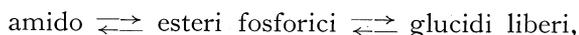
Fig. 3. - Andamento della concentrazione del saccarosio e del glucosio durante l'attivazione respiratoria in fettine di patata.

zione, si hanno solo aumenti lievi e limitati alla prima ora per gli esosomono-fosfati, ed una continua ma moderata diminuzione per il piruvato. Questa diminuzione, che indica un aumento nella richiesta di piruvato da parte dei sistemi mitocondriali, risulta in accordo con l'ipotesi, suggerita dalle esperienze con DNP precedentemente ricordate, di un freno posto alle ossidazioni mitocondriali dalla scarsa disponibilità di ADP. Tuttavia, se il blocco metabolico nel tubero coincidesse con un blocco a livello mitocondriale, dovremmo constatare nel tubero quiescente un accumulo di tutti i substrati respiratori a monte del mitocondrio stesso, ed in particolare di quelli glicolitici, mentre

invece, sia il piruvato che gli esosomonofosfati, appaiono presenti in concentrazioni molto basse, e tali concentrazioni non vengono sostanzialmente modificate dalla risalita respiratoria. È possibile pensare, sulla base di altri lavori [9] [10] [11], che una scarsa disponibilità di ADP rallenti sia la reazione piruvico-chinasica che quella gliceraldeide-fosfato deidrogenasica, e che il corrispondente alto livello di ATP inibisca la reazione fosfo-fruttochinasica [12]; ciò potrebbe spiegare il mancato accumulo di piruvato nel tubero quiescente. Tuttavia resta da spiegare il mancato accumulo degli esosomonofosfati e questo potrebbe spiegarsi in due modi:

a) un rapporto $Pi/G1-1-P$ a livello del sito d'azione della fosforilasi vicino all'equilibrio;

b) un controllo, del tipo «*feed back*» sull'attività della fosforilasi e degli altri enzimi coinvolti nell'interconversione



tale da mantenere il livello di glucidi fosforilati costante e largamente indipendente dall'intensità di utilizzazione respiratoria dei medesimi.

Numerosi dati, al momento attuale, sembrano favorire la seconda ipotesi.

In conclusione la quiescenza respiratoria del tubero può essere spiegata solo ammettendo l'esistenza di più punti di controllo metabolico, di cui uno deve operare a livello del sistema di interconversione tra amido ed esosomonofosfati. È da notare che un unico meccanismo, e cioè il netto spostamento del rapporto ADP/ATP a favore di quest'ultimo può spiegare sia la scarsa attività ossidativa dei mitocondri sia il rallentato flusso glicolitico al disotto della reazione fosfofruttochinasica; lo stesso meccanismo potrebbe operare il blocco a livello della fosforilasi dell'amido. Se risultasse vera quest'ultima ipotesi, che viene confortata anche dall'esistenza di dati [13] [14] [15] riguardanti la capacità di regolazione allosterica da AMP e da ATP, oltre che da glucosio-6-P e da Pi, della fosforilasi del glicogeno, il controllo metabolico sarebbe operato da un solo meccanismo capace di agire a più livelli. Tale meccanismo sarebbe costituito dalle variazioni di rapporto tra i composti del sistema dell'adenilico AMP, ADP e ATP.

Tuttavia l'esistenza e l'operatività di questo o di altri meccanismi di controllo della fosforilasi del tubero di patata o di altri tessuti vegetali non sono state dimostrate e costituiranno pertanto l'oggetto di ulteriori ricerche.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] B. C. LOUGHMAN, « *Plant Phys.* » 35, 418 (1960).
- [2] K. T. THIMANN e G. H. LOOS, « *Plant Phys.* », 31, 247 (1957).
- [3] R. CLICK e P. HACKETT, « *P.N.A.S.* », 50, 243 (1963).
- [4] D. P. HACKETT, D. W. HAAS, S. K. GRIFFITHS e D. J. NIEDERPRUEM, « *Plant Phys.* », 35, 8, (1961).
- [5] F. ALBERGHINA ed E. MARRÈ, « *Giorn. Bot. It.* », 70, 311 (1963).

- [6] E. MARRÈ, R. BIANCHETTI, «Giorn. Bot. It.», 68, 285 (1961).
- [7] E. MARRÈ, «N. Giorn. Bot. It.» LX, 4, 914 (1953).
- [8] H. H. TAUSSKY ed E. SHORR, «J. Biol. Ch.», 202, 675 (1957).
- [9] H. BEEVERS, «Amer. J. of Bot.», 40, 91 (1953).
- [10] BIANCHETTI e MARRÈ, «Giornale di Biochimica», XI, 167 (1962).
- [11] R. BIANCHETTI, M. P. CORNAGGIA e M. L. SARTIRANA (in stampa).
- [12] MARRÈ, BIANCHETTI e COCUCCI (Atti VII Giornate Biochimiche Latine, 1963).
- [13] E. HELMREICH E. e C. P. CORI, «Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.», 51, 131 (1964).
- [14] N. B. MADSEN, «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 15, 390 (1964).
- [15] A. PARMEGGIANI e H. E. MORGAN, «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 9, 252 (1962).