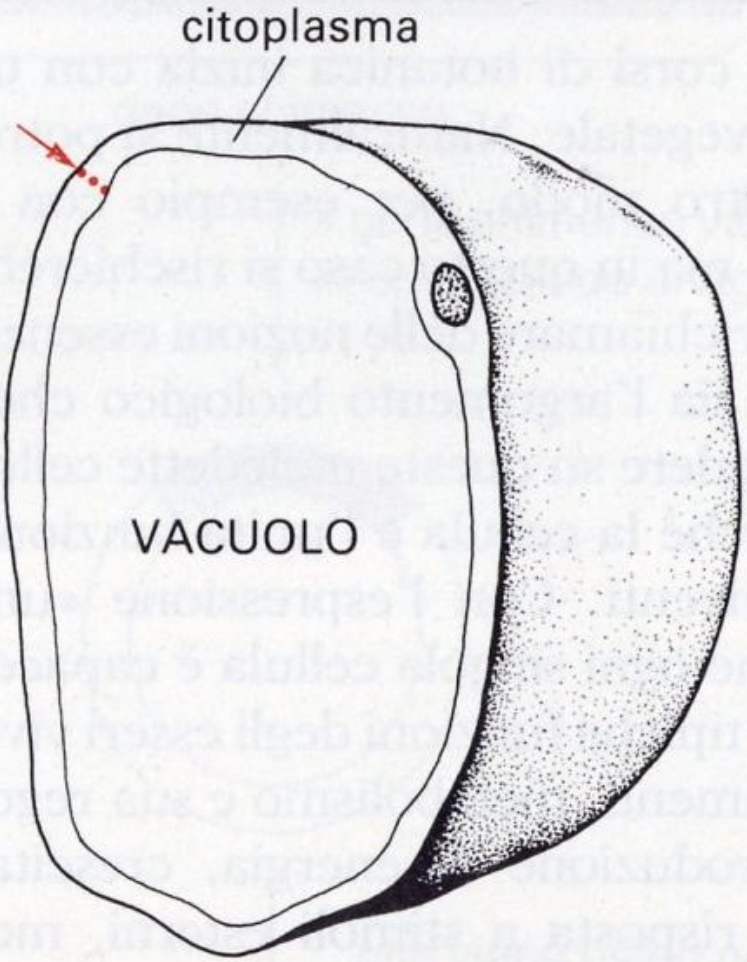

VACUOLO

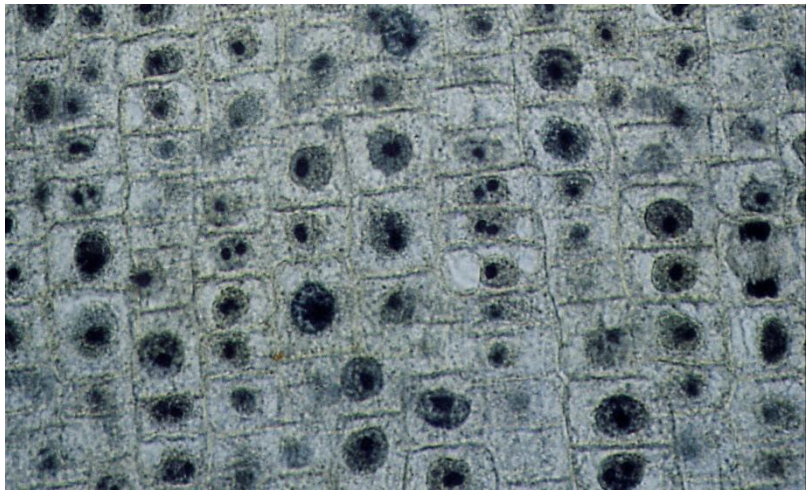


Cellula con grande cavità interna piena d'acqua (vacuolo).

- ***Vacuum***
- **Incluso nel sistema di endomembrane**
- **Tonoplasto**, con limitato pasaggio di protoni ma permeabilità agli ioni > della mb. plasmatica
- **Compartimento specializzato e dinamico**
- **Numerosi in cellule non differenziate → fusione (membrane RE) → unico vacuolo in cellule differenziate**
- **Succo vacuolare** pH 5,0-5,5

Una cellula vegetale può contenere più vacuoli con differenti caratteristiche, il più imponente per dimensioni è il cosiddetto **VACUOLO VEGETATIVO**.

stadio finale di un processo di formazione: cellula meristematica (in attiva divisione cellulare) → vescicolazione, coalescenza e accrescimento del sistema di membrane.

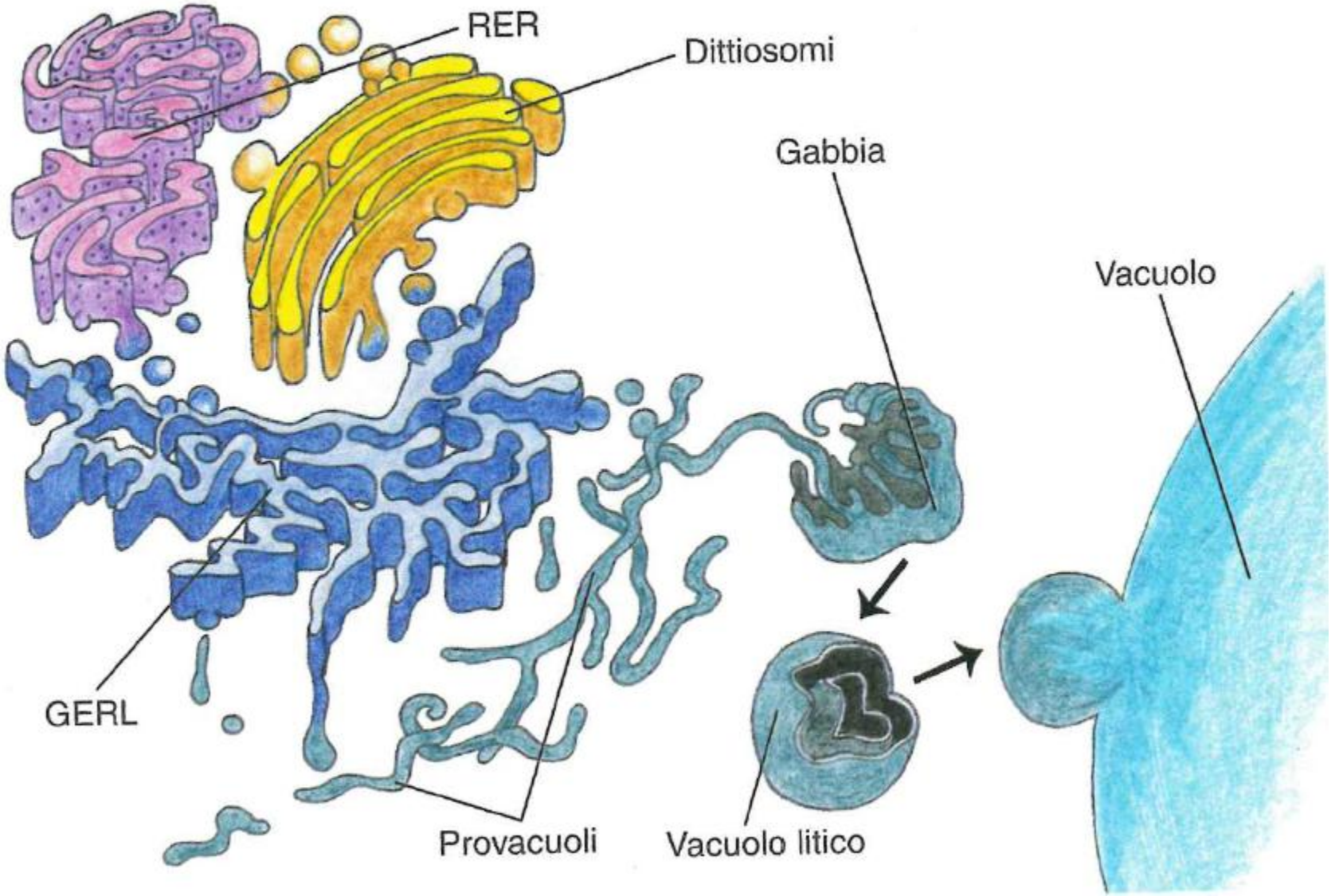


Il processo inizia da una serie di vescicolette dette **PROVACUOLI** originatesi dal corpo del Golgi.

Ipotesi GERL (1978)

Golgi -> RE -> lisosoma -> vacuoli

Golgi -> RE -> lisosoma -> vacuoli



I provacuoli possono evolvere in vacuoli con la confluenza di ulteriori vescicole, oppure fondersi con un vacuolo preesistente, modificandone il contenuto e le proprietà.

I vacuoli neoformati possono quindi fondersi tra loro producendo uno o pochi grossi vacuoli.

I vacuoli sono molto fragili, e studiarne il contenuto è stato molto difficile. In tempi relativamente recenti è stato possibile dimostrare che essi sono coinvolti in importanti aspetti del metabolismo cellulare, e che cellule di tessuti diversi possono avere vacuoli specializzati.

Il grande vacuolo centrale (=**VACUOLO VEGETATIVO**) risulta delimitato dalla membrana detta **TONOPLASTO**, che deriva dalla somma delle membrane di vescicolette che si sono progressivamente fuse fra di loro.

Il **vacuolo vegetativo** può diventare la sede di:

1) accumulo di ioni e metaboliti

2) confinamento di prodotti di riserva in tessuti speciali;
   - Carboidrati [glucosio, fruttosio (monosaccaridi) , saccarosio (disaccaride), **inulina** (polisaccaride)
   - Aminoacidi (arginina, leucina, tirosina, istidina, glutammina e asparagina), proteine (anche in forma enzimatica) -> durante maturazione dei semi -> **granuli di aleurone**
   - Lipidi

3) Inclusi solidi (sabbia cristallina, rafidi, druse, stiloidi);

4) accumulo di potenziali composti di difesa o di reazione a stress biotici e abiotici -> processi di detossificazione (es. da metalli pesanti),

5) accumulo di pigmenti polari idrosolubili.

Vacuolo + parete cellulare + membrana cellulare → TURGORE cellulare ← → crescita e mantenimento della forma degli organi in struttura primaria di una pianta

Contenuto di ioni e metaboliti nel succo vacuolare

- K^+ è prevalente
- elevate concentrazioni di elementi presenti a basse o bassissime concentrazioni nel citoplasma, e.g. Ca e Na.
- molto abbondanti ed in elevate concentrazioni anioni inorganici (es. Cl^-, PO_4^{3-}, NO_3^-, SO_4^{2-}, ecc.), acidi organici (soprattutto ac. malico), mono-, bi-, triglucidi solubili (es. saccarosio), ed aminoacidi.

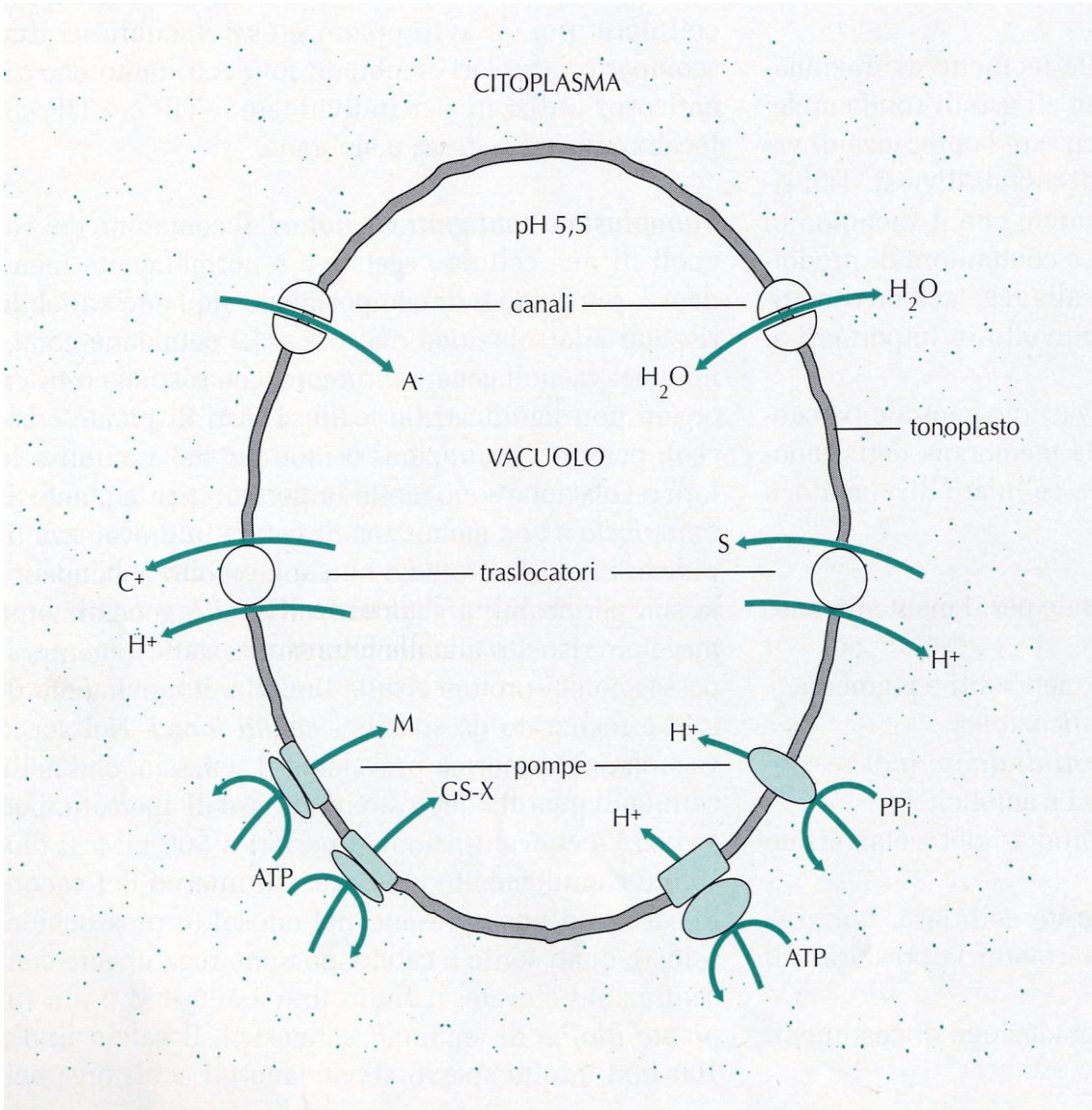
Vacuolo = "trappola" acida, **pH compreso tra 5 e 6**, ma che diventa molto acido in alcuni gruppi di piante, che hanno un metabolismo di assimilazione della CO_2 particolare (piante "CAM"), con **pH=2**.

Basso (=acido!) pH anche nel vacuolo di tessuti particolari, e.g. polpa di alcuni frutti (es. agrumi).

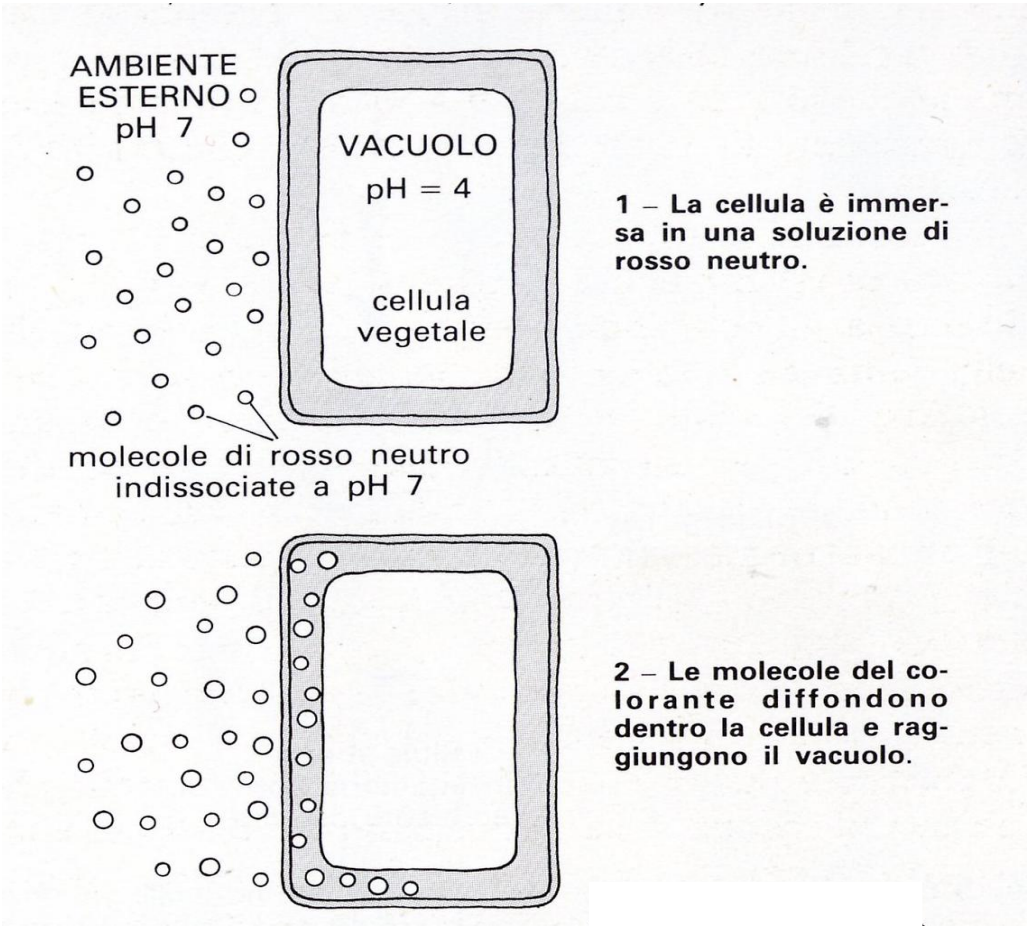
Acidificazione ← → differenza di elettropotenziale ← → attività di due tipi di pompe protoniche, che consumano energia (sono ATP- e PPi-dipendenti)

Accumulo di protoni all'interno del tonoplasto → eccesso di cariche positive → richiamo automatico di anioni carichi negativamente.

I protoni poi vengono usati da sistemi traslocatori per importare altre molecole, mentre altri traslocatori energia-dipendenti possono importare all'interno del vacuolo sostanze molto diverse, tra le quali zuccheri, peptidi, alcaloidi.



L’elevata acidità vacuolare può determinare l’intrappolamento di molecole che, non cariche a livello citoplasmatico, diffondono attraverso il tonoplasto, acquisendo una carica positiva (perché dissociate) che ne impedisce il viaggio a ritroso...





3 – Al pH del vacuolo le molecole del colorante si dissociano e assumono una carica positiva. Le molecole cariche positivamente non possono più riattraversare la membrana che circonda il vacuolo.

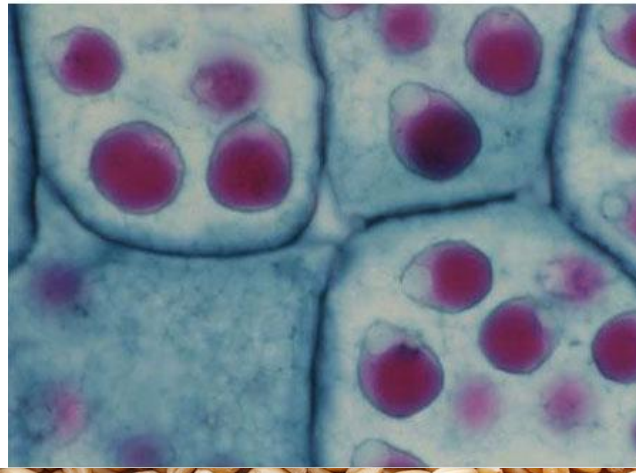
Talvolta l'accumulo di un soluto in una cellula o in un suo compartimento può essere dovuto al fatto che le sue molecole passano facilmente attraverso le membrane nella forma indissociata mentre passano difficilmente nella forma dissociata. Una volta entrate nella cellula le molecole si dissociano e vi restano prigioniere. Questo accade per esempio quando si immergono delle cellule vegetali in una soluzione di rosso neutro (un «colorante vitale», non tossico).

Vacuolo: funzione di riserva di amminoacidi

Nei semi e frutti: (leguminose, cereali) accumulo proteine di riserva → maturazione → progressiva disidratazione → proteine meno solubili → **granuli di aleurone**



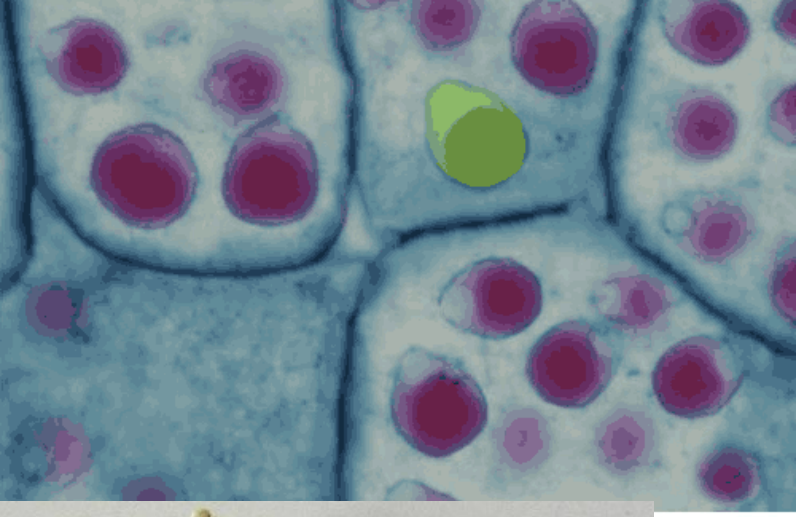








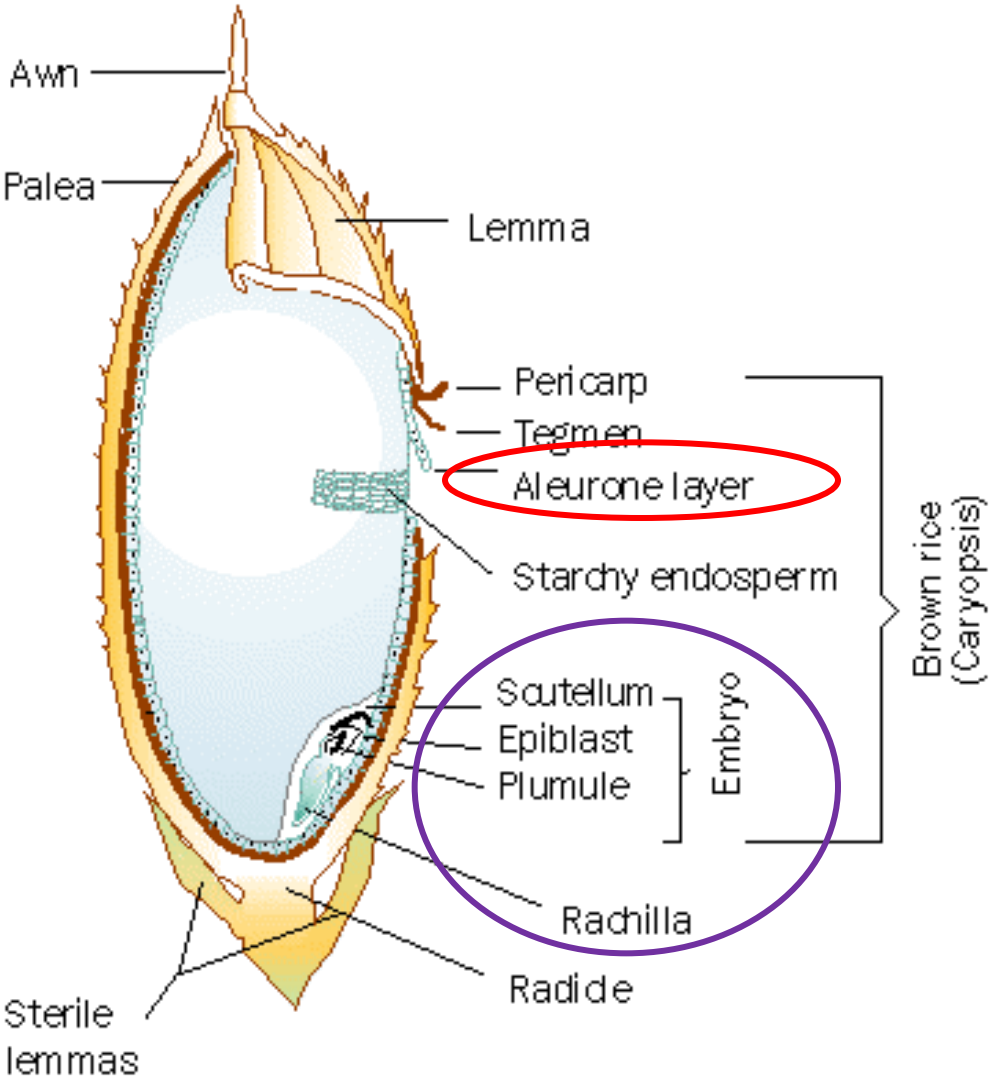


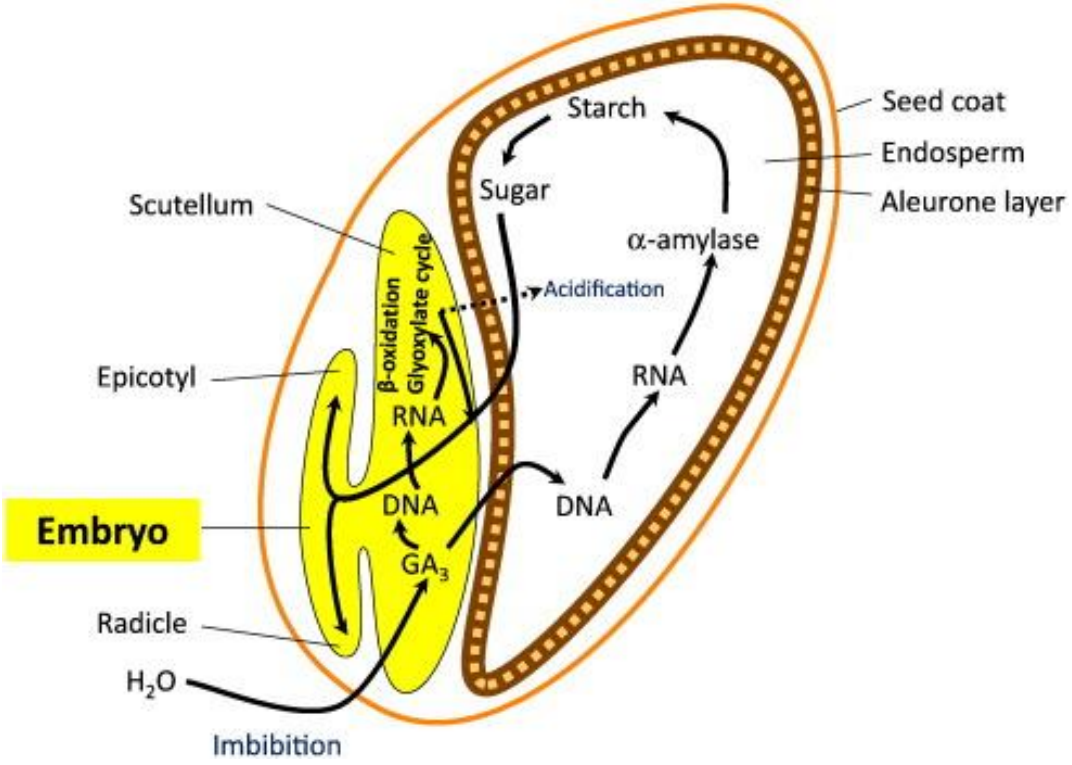




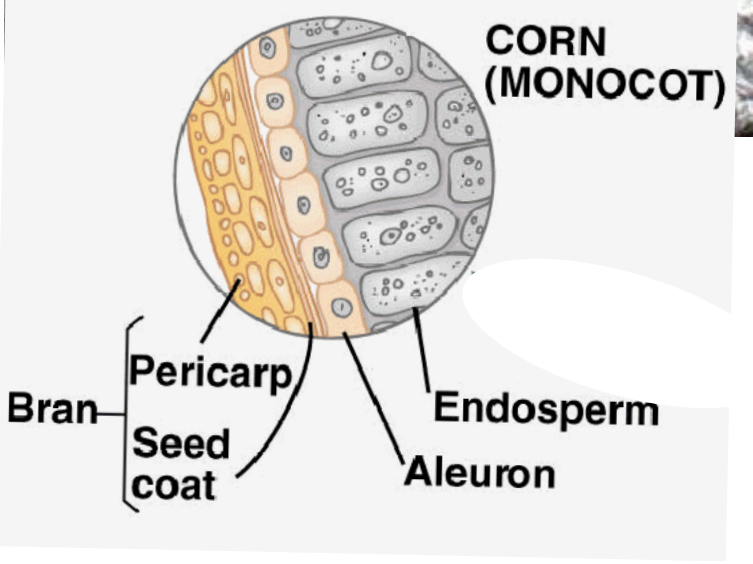


<u>Cariosside</u> di un cereale, ad es. il grano o l'orzo, il famoso «chicco» = **frutto secco monospermo indeiscente**









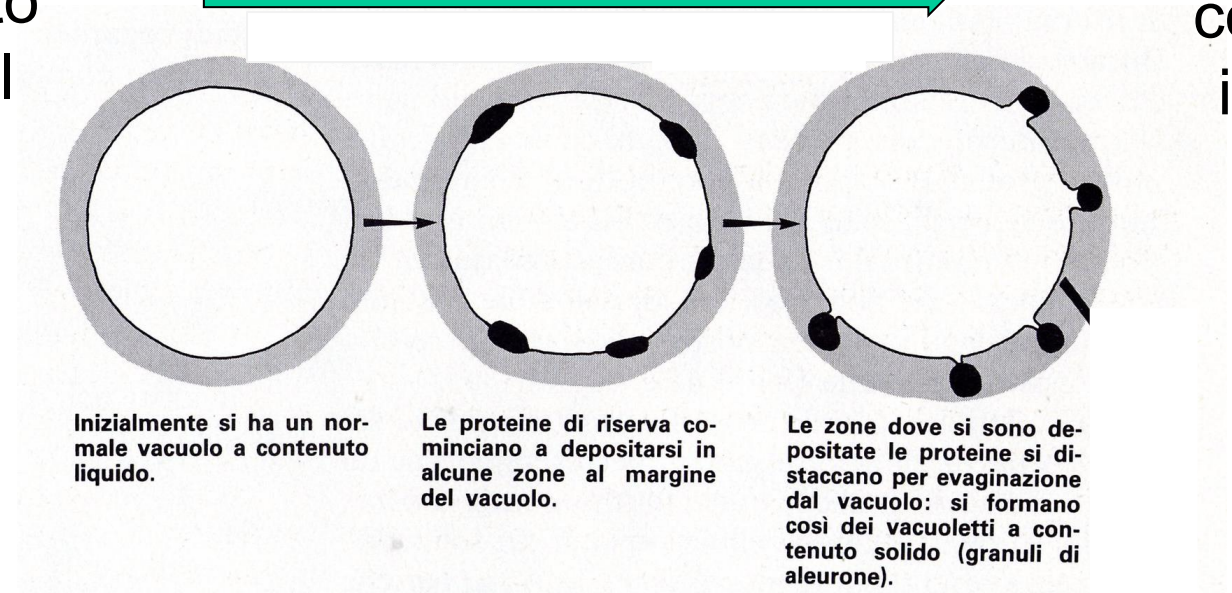
Strato aleuronico: tra il pericarpo esterno (tegumenti di protezione) e il tessuto di riserva amilaceo (endosperma); strato monocellulare, tessuto ad elevato valore nutrizionale elevata % proteine di tipo solubile (**albumine** e **globuline**), **lisina**, enzimi della degradazione dell'amido (**amilasi**), proteine di riserva (proteasi).

Vacuolo di riserva

Massimo contenuto idrico del tessuto

Seme in maturazione (Leguminose)

Minimo contenuto idrico del tessuto

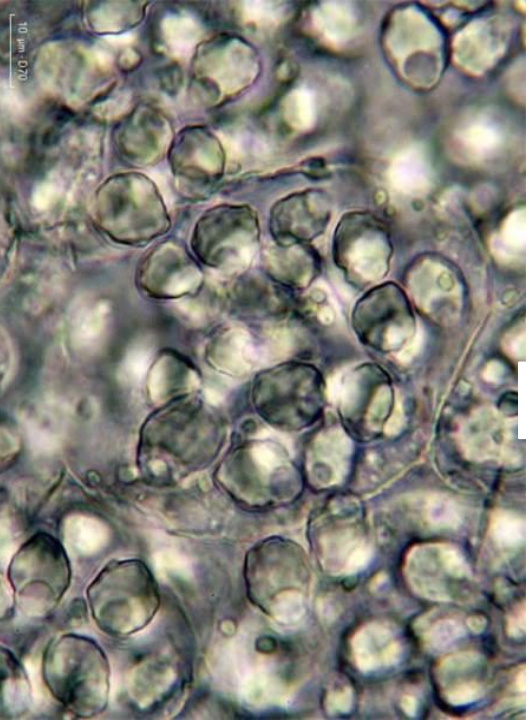


Inizialmente si ha un normale vacuolo a contenuto liquido.

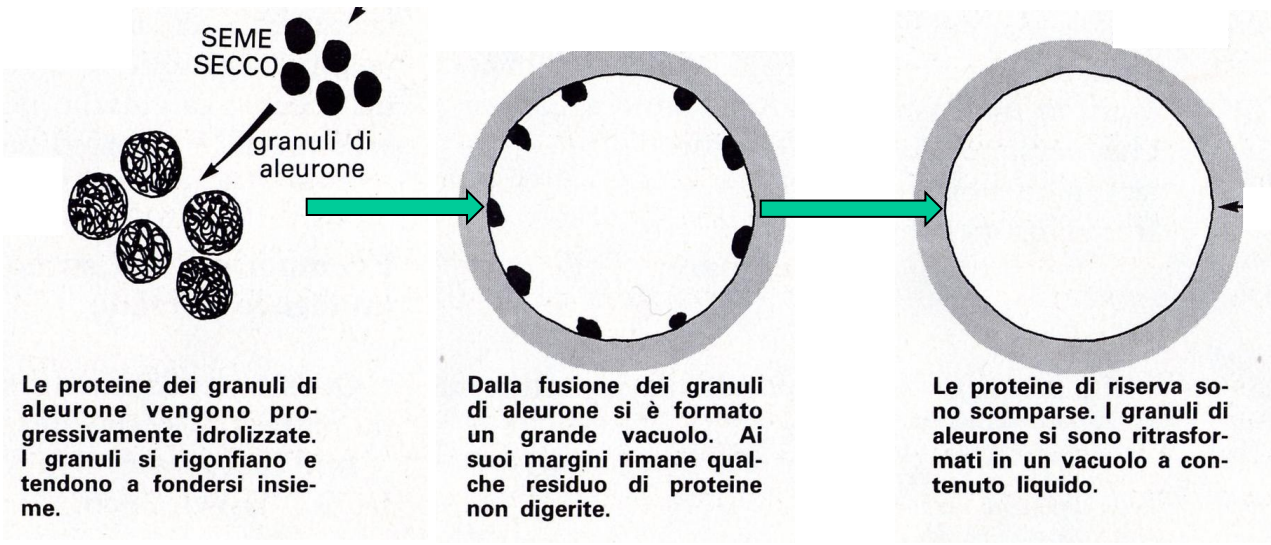
Le proteine di riserva cominciano a depositarsi in alcune zone al margine del vacuolo.

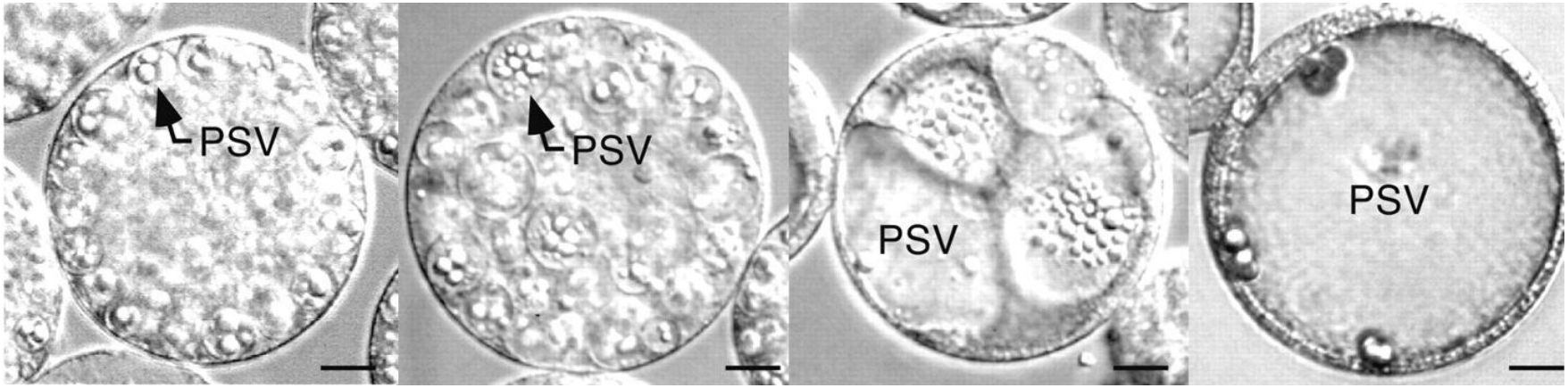
Le zone dove si sono depositate le proteine si distaccano per evaginazione dal vacuolo: si formano così dei vacuoletti a contenuto solido (granuli di aleurone).

I granuli di aleurone contenenti le proteine di riserva del seme prendono origine da un vacuolo durante la maturazione e si trasformano nuovamente in un vacuolo durante la germinazione. Questa sequenza di eventi è tipica dei semi delle leguminose; nei semi di altre piante la formazione dei granuli di aleurone avviene in modo diverso.



Seme in germinazione





Malto

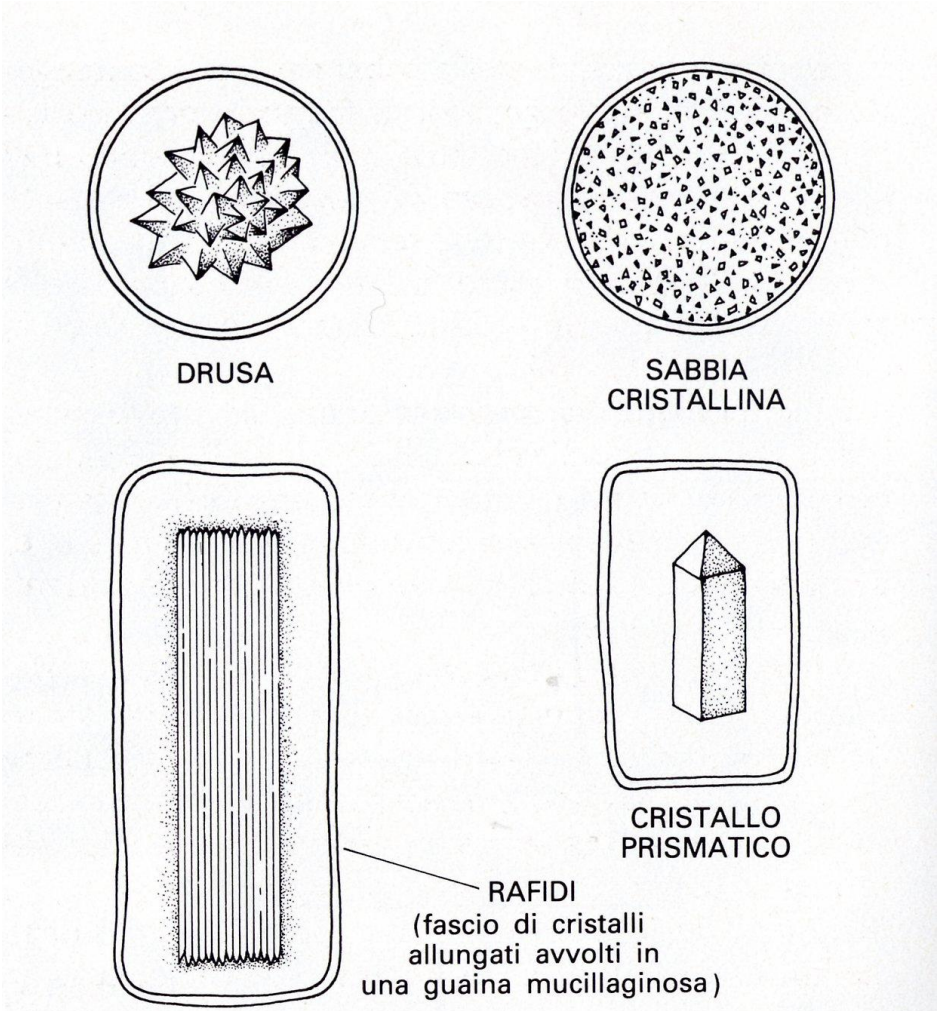


Cariossidi germinate -> mobilitazione degli amidi (amilasi) -> monosaccaridi -> germinazione interrotta per disidratazione

Malto usato per fermentazione alcolica da parte di lieviti !

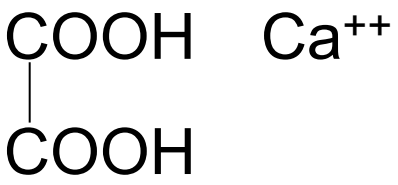


Inclusi solidi

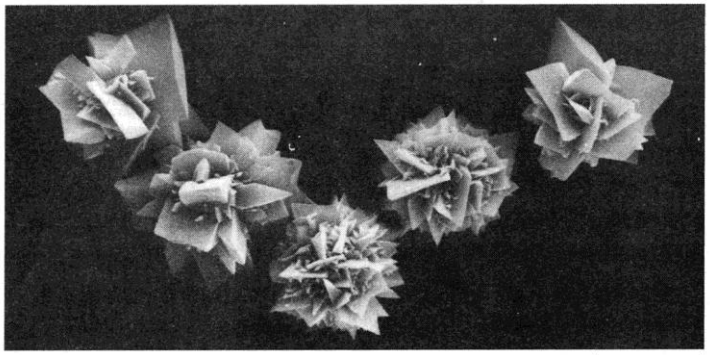


I cristalli di ossalato di calcio possono avere diverse forme. Questi cristalli possono servire da guida per identificare al microscopio droghe di origine vegetale: in tal modo si possono riconoscere le falsificazioni.

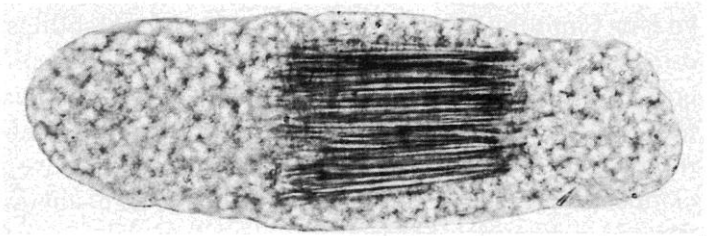
L'elevata concentrazione di calcio e di particolari acidi organici (es. acido ossalico) determina la precipitazione di cristalli, talvolta di forma spettacolare.





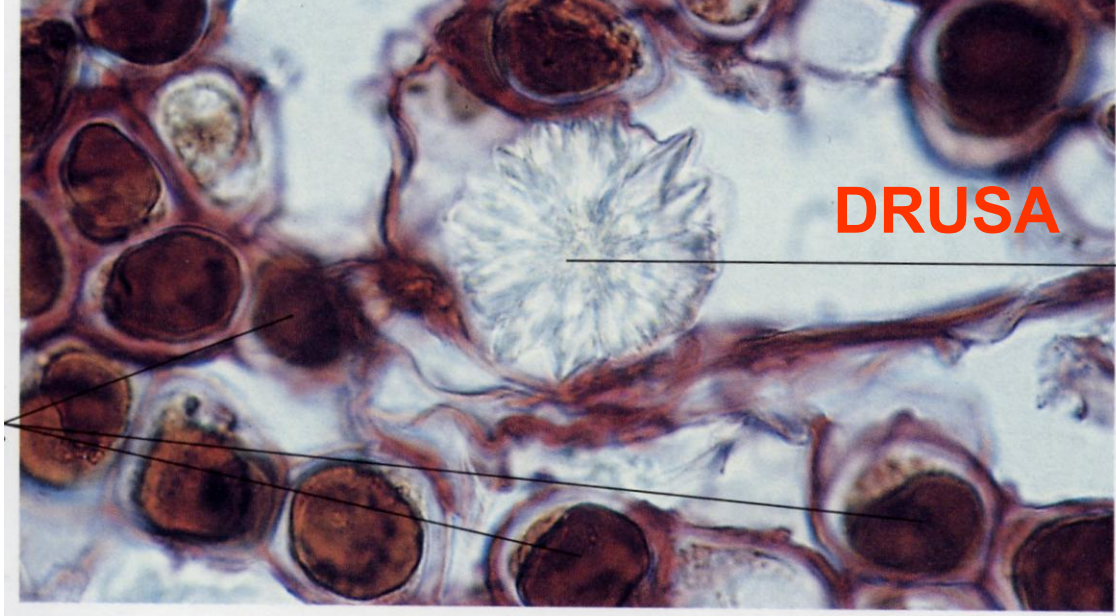


(a)



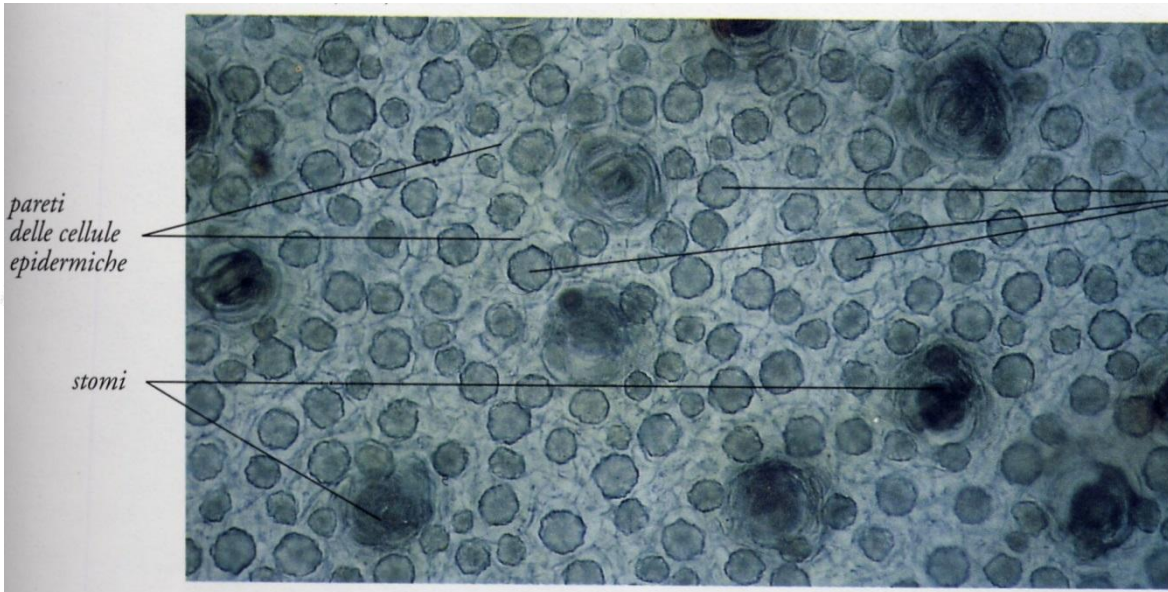
(b)

I vacuoli possono contenere differenti forme di cristalli di ossalato di calcio. (*a*) Druse, o aggregati di cristalli di ossalato di calcio, in cellule epidermiche di *Cercis canadensis*, osservate al microscopio elettronico a scansione. (*b*) Un fascio di rafidi, cristalli aghiformi di ossalato di calcio, nel vacuolo di una cellula di una foglia di *Sansevieria*. Non si distingue il tonoplasto; la sostanza granulare che circonda i cristalli è citoplasma.



52 **Drusa nel fusto di nocciolo** (*Corylus avellana* L., fam. Corylaceae). x 400 (*320*)

Questi inclusi cristallini da un lato rendono indisponibile il Ca, dall'altro hanno un effetto deterrente nei confronti degli animali erbivori.



Druse nel fusto di fico d'India (*Opuntia ficus-indica* Miller, fam. Cactaceae). Spellatura. x 200 (*170*)

Vacuolo come deposito di sostanze di protezione

Diversi gruppi di sostanze idrofile possono essere accumulati nel vacuolo con funzioni di repellenza e difesa:

1) alcuni alcaloidi;

2) glucosidi (ad esempio quelli cianogenici, “generatori di cianuri”);

3) flavonoidi;

4) tannini.

ALCALOIDI:

- descritti come composti a reattività **basica** (= **alcali**),
- contenenti **azoto** (gruppi ammminici),
- **farmacologicamente** attivi,
- molto eterogenei e diversificati caratteristici del mondo vegetale.





Le piante contenenti **alcaloidi** furono la prima “materia medica” del genere umano, ancora oggi sono usati come farmaci - estremamente potenti, oppure come modelli per ottenere moderni farmaci di sintesi.



caffeina
(caffè,tè,ecc.)

nicotina
(tabacco)





colchicina
(colchico)

!!!

morfina
(papavero da oppio)



mescalina
(alcuni cactus)

Formule
dell'estrema varietà di st
di molecole. Notate la
degli acidi nucleici; l'ar
NAD.

Mescalina: psichedelico contenuto principalmente nel peyote (*Lophophora williamsi)*





Trichocereus pachanoi /
Echinopsis pachanoi /
Echinopsis peruviana
San Pedro / cardòn

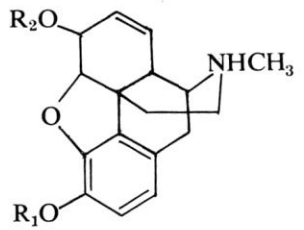
- Origine: Bolivia, Equador, Perù
- In Italia usato come pianta ornamentale
- Mescalina → psichedelico, allucinogeno, enteogeno → riti tribali, culture sciamaniche

L'uso è diventato patrimonio culturale del Perù dal 2022

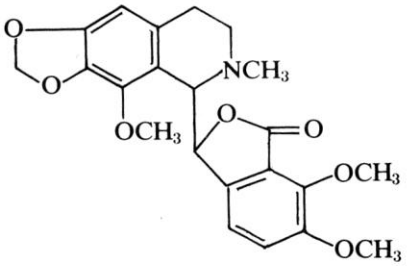
Non tutti gli alcaloidi vengono accumulati a livello vacuolare → secreti nel lattice.



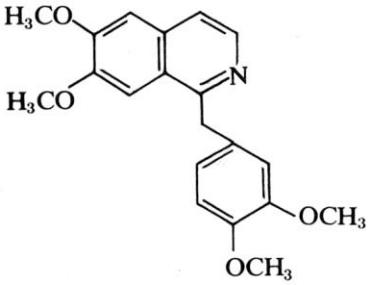




gruppo della morfina
morfina: R_1=H, R_2=H
codeina: R_1=CH_3, R_2=H
tebaina: R_1=CH_3, R_2=CH_3



narcotina

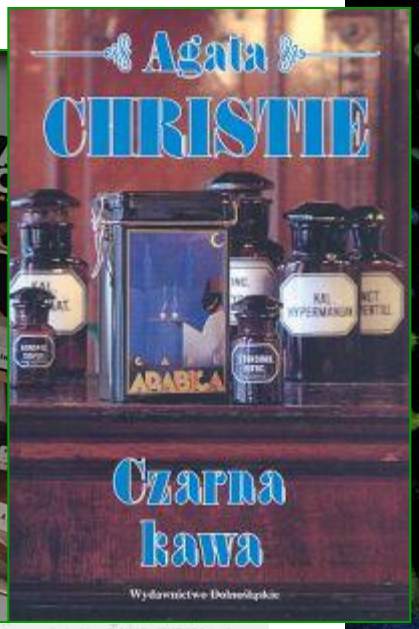


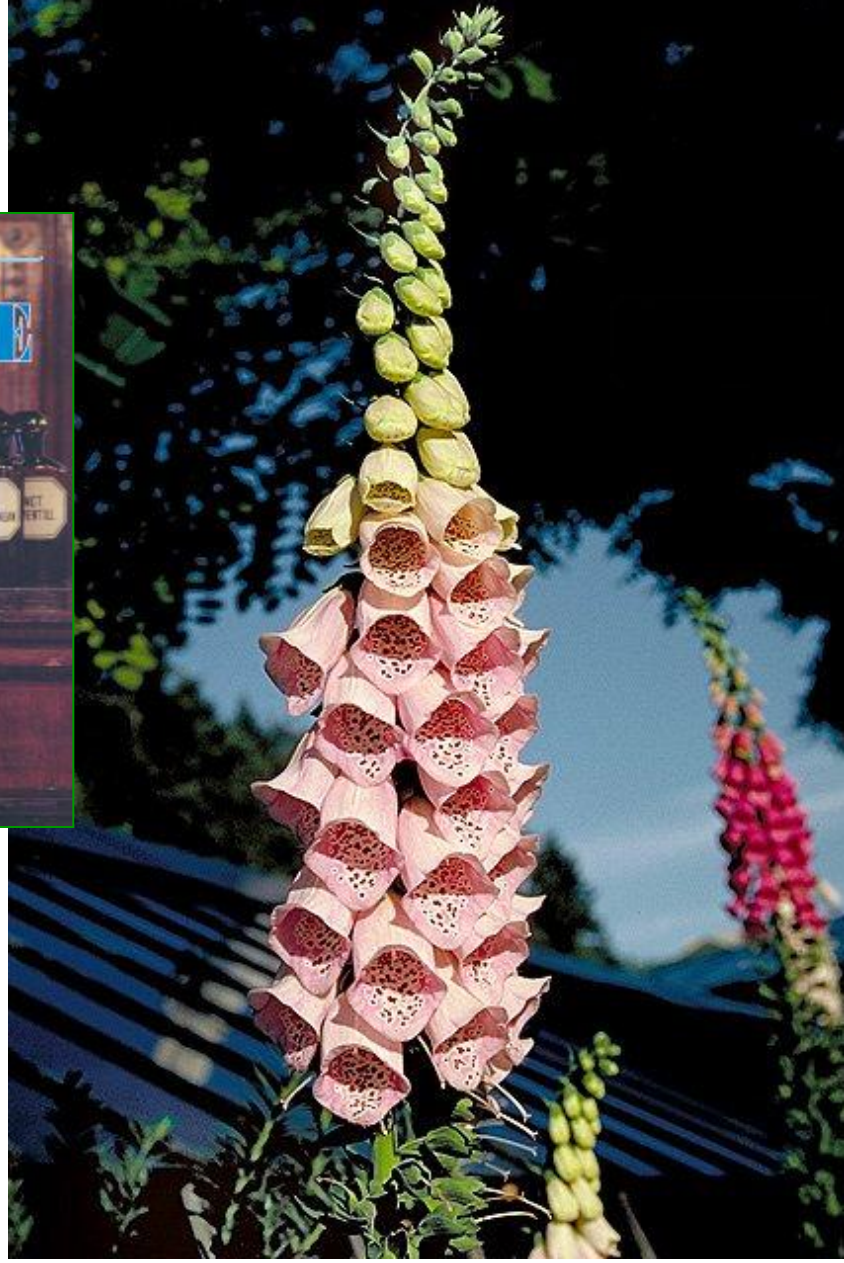
papaverina

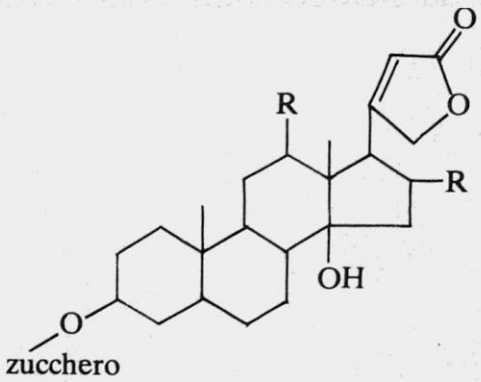
Una delle piante medicinali più famose: il papavero sonnifero detto anche papavero da oppio e alcuni suoi principi attivi. I frutti immaturi del papavero (nella foto) contengono un lattice che sgorga spontaneamente da un'incisione: il lattice rappreso costituisce l'oppio. Quest'ultimo contiene una trentina di alcaloidi di cui sono riportate alcune formule. I loro effetti sull'organismo umano sono estremamente diversi (per esempio la morfina agisce essenzialmente sul sistema nervoso centrale mentre la papaverina agisce sulla muscolatura liscia). Oltre agli alcaloidi l'oppio contiene moltissime altre sostanze: acidi organici, resine, cere, proteine, ecc.

GLUCOSIDI /Glicosidi







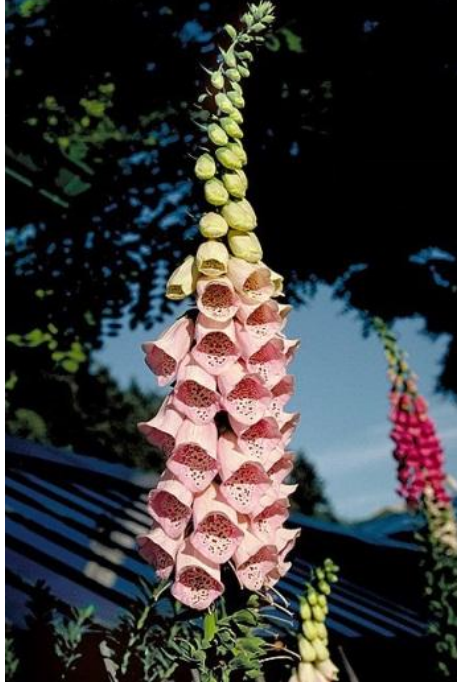


Una pianta medicinale molto famosa: la digitale (*Digitalis purpurea*) la quale contiene numerosi principi attivi che rinforzano le contrazioni del cuore. La figura ne mostra la formula generale. Notate la somiglianza tra queste molecole e gli steroli.

Digitalici:

- sono dei farmaci cardiocinetici con efficacia altissima ed elevata tossicità prolungata nel tempo;
- possiedono due principi attivi principali: **DIGOTOSSINA & DIGITOSSINA**.

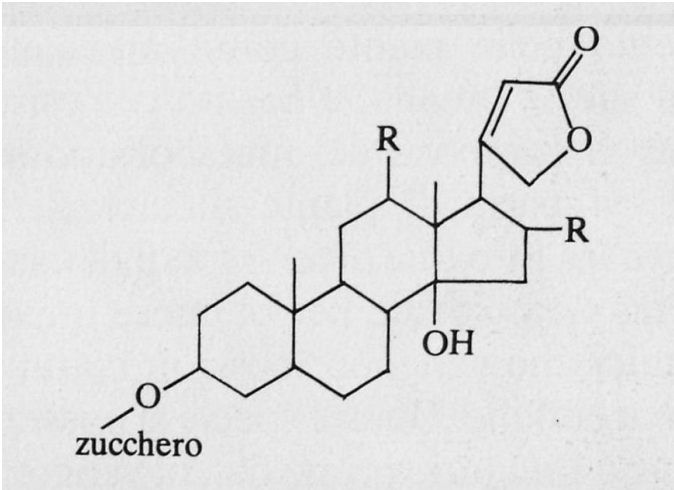
DIGITONINA: glicoside digitalico, non ha effetti sul cuore, viene sfruttato per il suo potere tensioattivo.



Digitalis purpurea

Digitossina:

- il più assorbito a livello intestinale
- usato nel trattamento dell' insufficienza cardiaca



Gli effetti dei digitalici sono di tipo inotropo positivo sulla contrazione (alterazione forza), di tipo batmotropo positivo (alterazione eccitabilità) sulla formazione dell'impulso, essendo invece negativi sulla conduzione (dromotropo negativi) e sulla frequenza (cronotropo negativi).

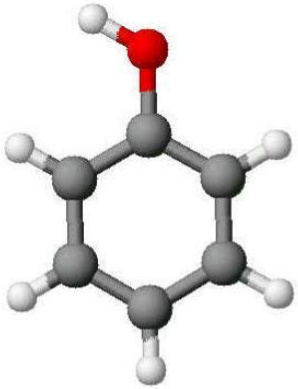
Il meccanismo d'azione è dovuto al legame relativamente stabile tra il nucleo steroideo e una frazione precisa della pompa sodio-potassio (Na^+/K^+ ATPasi) dei cardiomiociti.

Questo legame determina l'inibizione del 10-30% dell'ATPasi di membrana, determinando un aumento del sodio intracellulare, ma con una conservazione del rapporto Na^+/K^+.

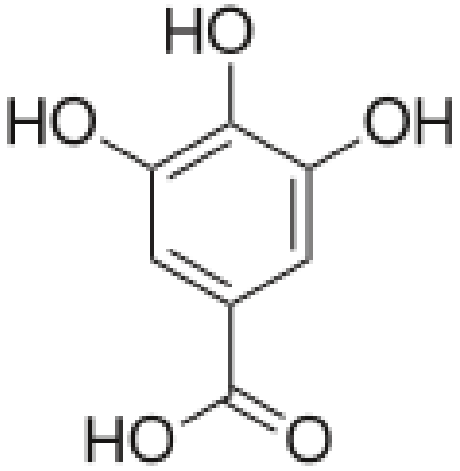
Stoccaggio a livello vacuolare di alcaloidi e glucosidi → compartimentazione di sostanze che sono dannose per il normale metabolismo cellulare → "*SALVAGUARDIA*" del metabolismo.

Fenoli: Composti con uno o piu gruppi **sostituenti ossidrilici –OH** legati ad **anello aromatico**

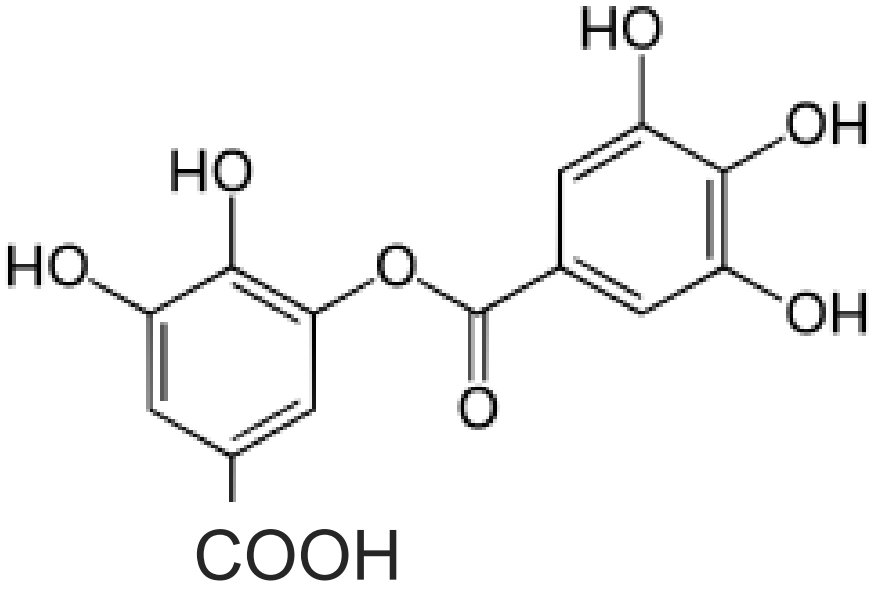
Flavonoidi → colore dei petali



FENOLO



Acido GALLICO



Acido DIGALLICO
(per esterificazione di due molecole di acido gallico)

FLAVONOIDI

Pigmenti lipofili o idrofili.

idrofili si accumulano nel **vacuolo**, conferiscono colori anche molto brillanti ai tessuti (es. epidermidi di molti fiori). **ANTOCIANI**, praticamente ubiquitari tra le piante → colore rosa, rosso, blu o violetto; **BETACIANI**, che caratterizzano alcune famiglie di piante (e.g. Chenopodiaceae, barbabietola).







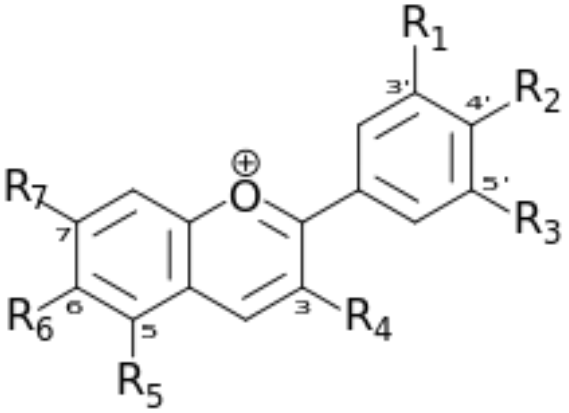
➢**Antociani:**

➢presenti <u>esclusivamente in piante superiori</u>, e non si riscontrano in animali, microorganismi o piante acquatiche;

➢composti poliaromatici poliossidrilati;

➢reagiscono con ossidanti quali ossigeno molecolare e radicali liberi → riduzione dei danni che queste molecole possono provocare alle cellule e ai tessuti.

➢attività antiossidante e antiradicalica → antociani impiegati in medicina.



*Il catione **FLAVILIO**, struttura base degli antociani.*







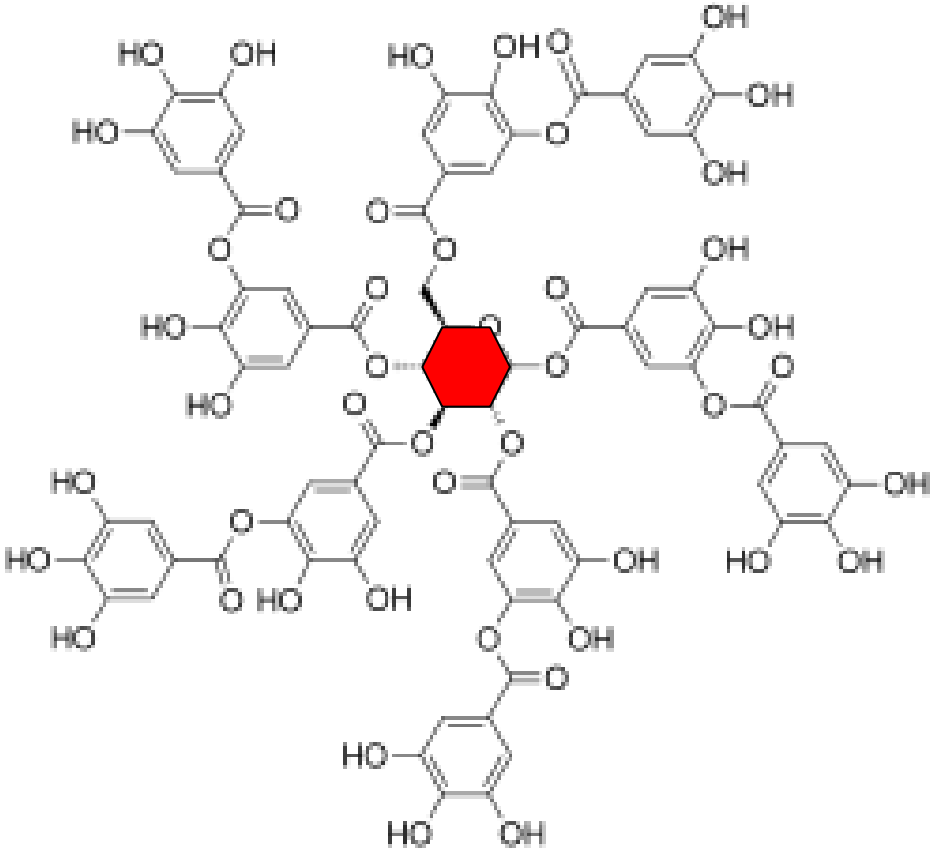
delfinidina, petunidina, cianidina, malvidina, peonidina e pelargonidina
… nomi derivano dalle piante che ne sono ricche!!!!

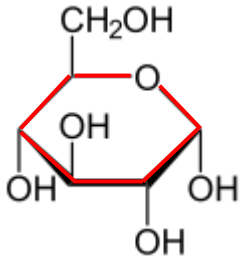
F(x) flavonoidi:

- richiamo verso gli animali,
- protezione: assorbimento efficiente della radiazione ultravioletta, dannosa soprattutto per i giovani tessuti → il vacuolo pigmentato abbatte una parte della radiazione che colpirebbe il DNA a livello nucleare (“ombrello” molecolare).





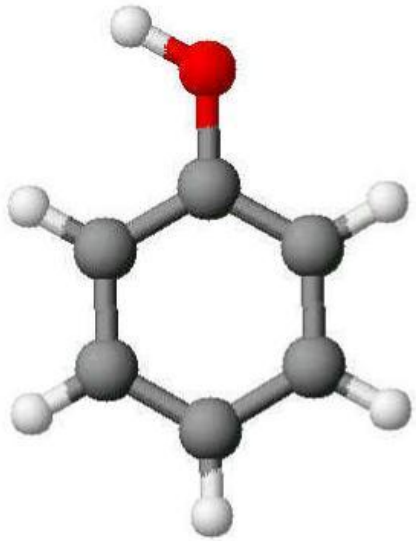




L'acido tannico è prodotto dalla condensazione di una molecola di glucosio e cinque molecole di acido digallico.

TANNINI

- gruppo molto eterogeneo di molecole;
- derivano tutte da una molecola organica semplice = **FENOLO**, progressivamente modificata e condensata
- Capaci di legarsi a composti azotati
- Solubili in H_2O
- Sapore astringente

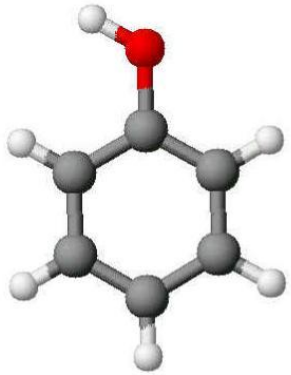












Inibiscono l'attività di molti enzimi → inibizione degli enzimi degli organismi potenzialmente patogeni, e.g. batteri e funghi.

- In vacuoli di cellule della corteccia

F(x) in legno e scorze degli alberi e arbusti → incrementare la capacità di conservazione del materiale rendendolo scarsamente attaccabile da parte di saprofiti → tappi di sughero!!!



F(x) dei tannini: protezione di frutti immaturi

accumulo di tannini → frutto immaturo immangiabile …"legano la lingua" («allappano») ← → astringenza causata dalla precipitazione di glicoproteine della saliva, in particolare la mucina → la saliva perde le sue proprietà lubrificanti.









Solo con il processo di maturazione i tannini verranno degradati e sostituiti da zuccheri semplici (come il fruttosio).



WHY ?



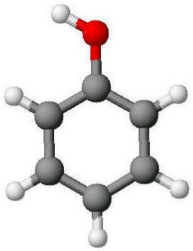


Maturazione dei semi

Il frutto se mangiato immaturo rappresenterebbe per la pianta una perdita secca

Il frutto viene mangiato con dispersione dei semi: l'investimento ha avuto successo!

- In vacuoli di cellule della corteccia







“Storicamente” utilizzati per la «concia delle pelli»: processo che permette di prevenire la putrefazione della pelle animale per opera di enzimi proteolitici, trasformandola in CUOIO.
Il termine **tannino** è stato introdotto nel 1796 per indicare una sostanza chimica presente negli estratti vegetali ottenuti dalla scorza dei nostri alberi.



Le fonti più ricche di tannini sono le cortecce di alberi dei generi *Quercus, Castanea, Picea, Fagus* e *Robinia*.

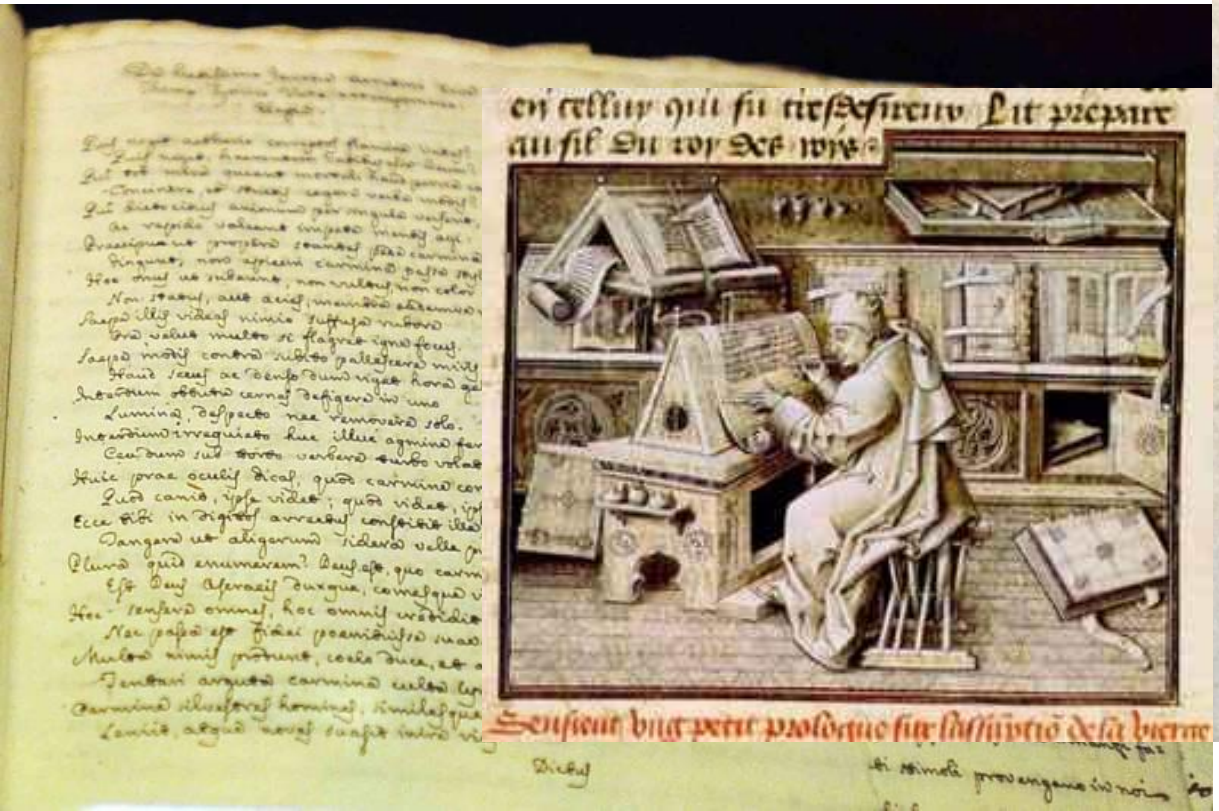
I tannini possono sprigionarsi anche da materiali lignei già stagionati. Erano quindi molto temuti dai pittori, perché potevano macchiare in maniera irreparabile i dipinti su tavola. Questo spiega perché i dipinti della grande produzione italiana del XIV-XVII secolo erano in genere eseguiti su legno di pioppo o cipresso (quasi privi di tannini), cmq la preparazione del substrato era particolarmente lunga e laboriosa.

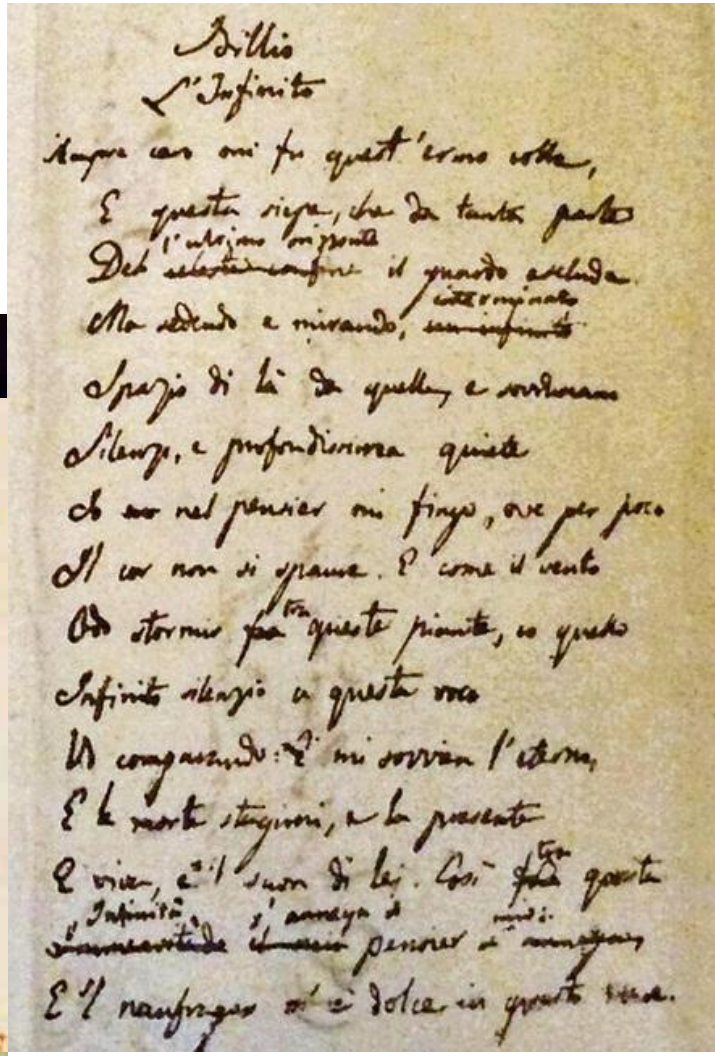




Michelangelo Buonarroti, Tondo Doni, Uffizi, 1506-1508. Dipinto su tavola, diametro: 120 cm.

La civiltà occidentale è fortemente debitrice ai tannini (e quindi, indirettamente, al vacuolo della cellula vegetale) per la trasmissione stessa del sapere in forma scritta.





Mescolando, in varie proporzioni, un infuso di GALLE, escrescenze ricche di tannini che si sviluppano su alcuni alberi (ad es. querce) in seguito all'ovodeposizione di piccoli insetti, **vetriolo verde** (solfato ferroso) e gomma arabica (come addensante), si ottiene il **gallato di ferro**, l'inchiostro nero a base acquosa usato per secoli. Penetra profondamente nelle fibre della carta, risultando praticamente indelebile.





Per la facilità di produzione e il suo costo ridotto il gallato di ferro è stato utilizzato sino all'inizio del XX secolo.
La diffusione di questo inchiostro nell'uso comune si ridusse fino a scomparire con l'introduzione di inchiostri di china che non danneggiavano i pennini e poi delle penne a sfera che impiegano un inchiostro grasso simile a quello tipografico.

Le proprietà acide dell'inchiostro ferrogallico possono portare al deterioramento del supporto cartaceo degradando la cellulosa, per cui sono necessarie delicate operazioni di RESTAURO.



La capacità di legarsi ai composti contenenti azoto (proteine ed alcaloidi) → qualità astringente di molti vini rossi, che ne contengono naturalmente o per maturazione su legno [«vino barricato», cioè fatto maturare in botte (nuova!) in genere di castagno o quercia], o modificato con aggiunta di tannini in polvere (!).





I tannini (nell'esocarpo) somministrati sia per via topica che orale, hanno un effetto antibatterico e antifungino.
via orale → effetto antidiarroico; emorragie vaginali ed intestinali
via topica → effetto vasocostrittore; usati per curare alcune forme di dermatite

Punica granatum

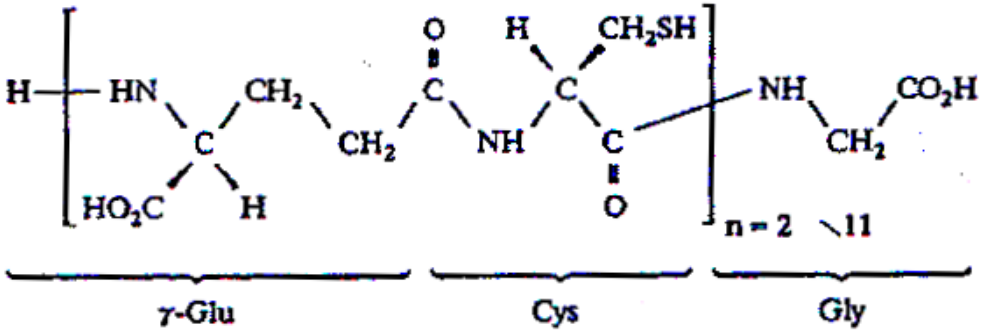


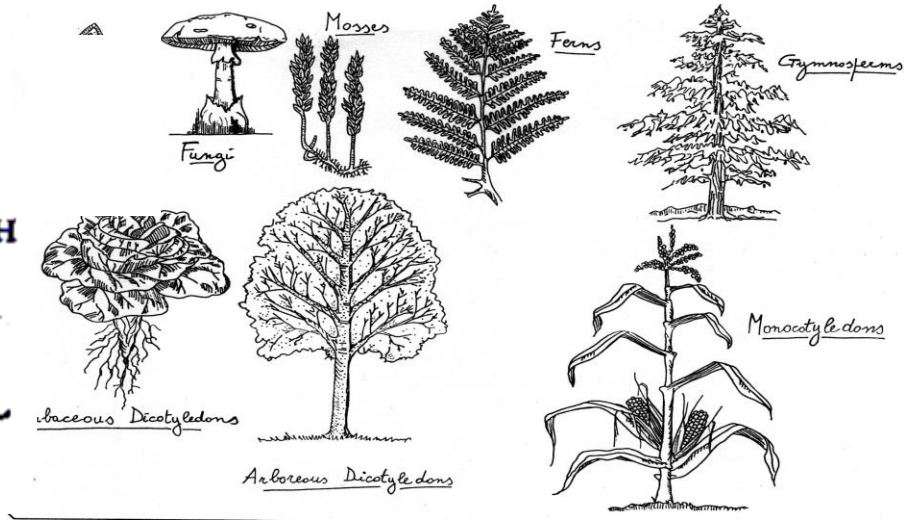
Da sempre la melagrana è simbolo di fecondità, spesso associato a divinità femminili come Astarte-Ishtar, Demetra e Persefone, meno spesso a Hera/Giunone e quindi alla Vergine.



FITOCHELATINE

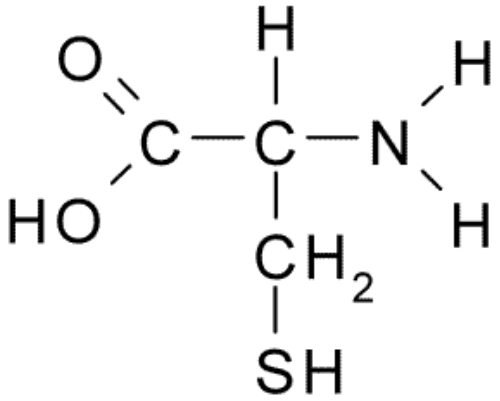
- sostanze detossificanti, **polipeptidi** ed oligopeptidi che complessano metalli pesanti.
- peptidi ricchi in **cisteina** (g-glutamil-cisteinil)$_n$-glicina, con n = 2-11 (spesso 2-5)
- presenti in alghe, muschi, pteridofite, angiosperme, funghi (licheni)



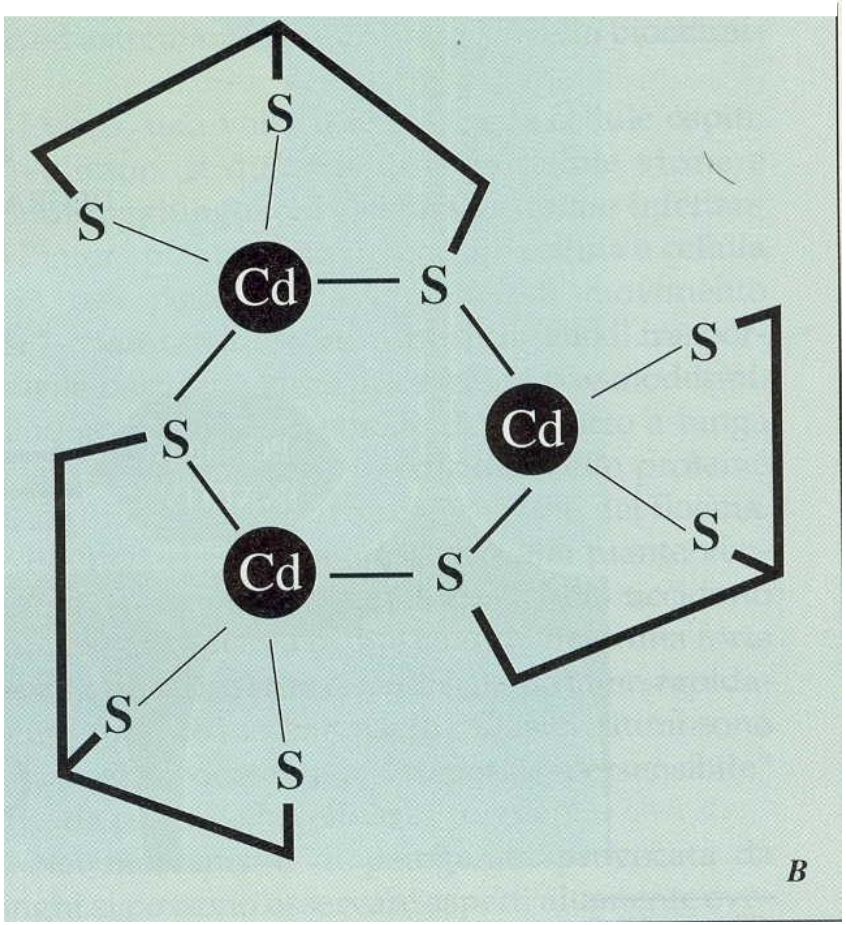


Gli effetti vennero scoperti nel 1973 da Paolo Pelosi e collaboratori dell'Università di Pisa osservando un aumento degli aminoacidi acido glutammico, cisteina e glicina in piante di tabacco esposte a concentrazioni elevate di mercurio metallico.

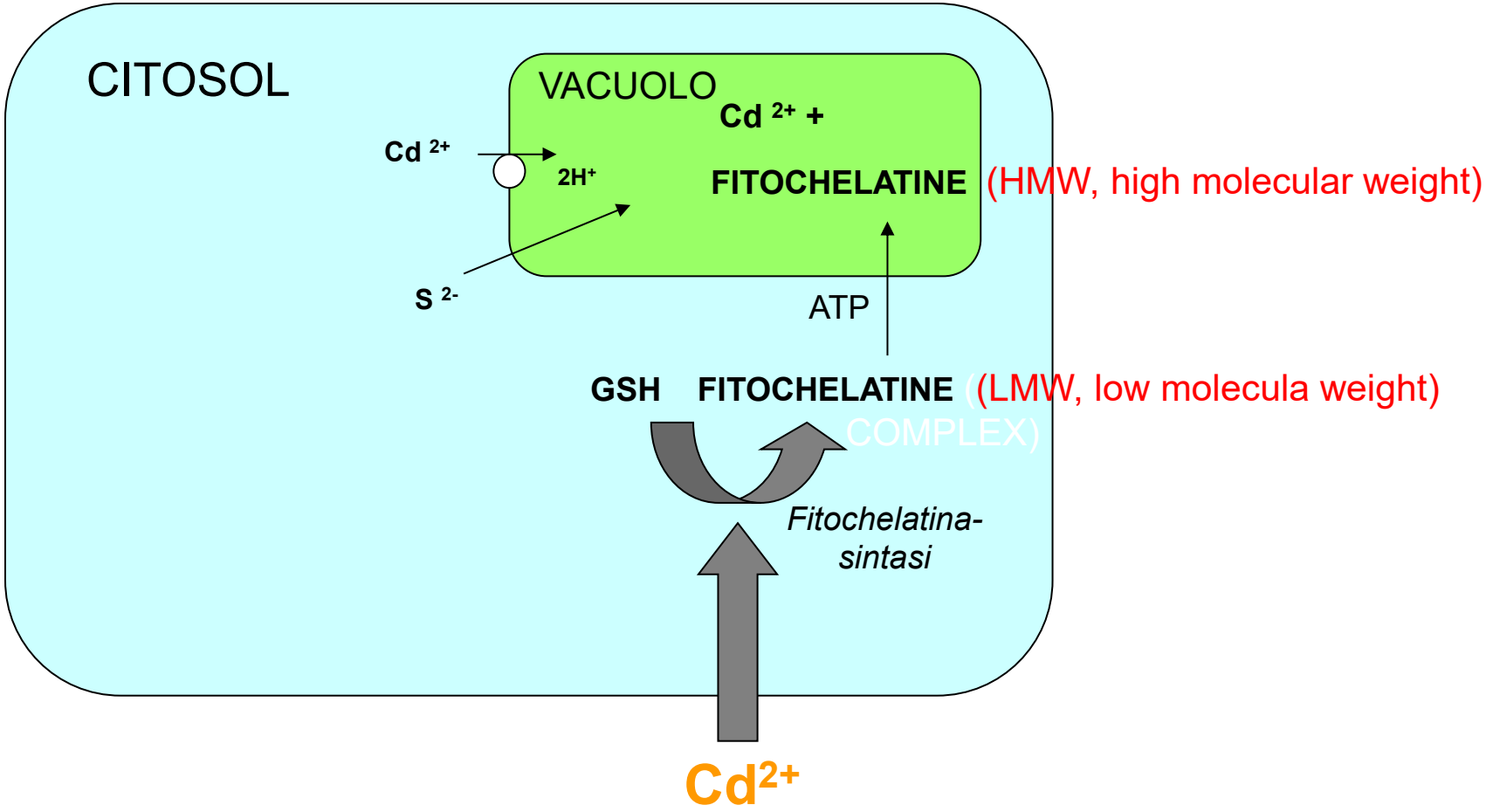
Fitochelatine



- Sintesi indotta dalla presenza di diversi metalli e metalloidi (Cd, Pb, As, V, Cu, Zn)
- prodotte a livello citoplasmatico
- si legano agli ioni metallici in eccesso (dannosi!!!), grazie ai **gruppi sulfidrilici** (-SH) della cisteina → chelazione.
- Traslocate a livello vacuolare, dove si accumulano, detossificando il citoplasma = prevenendo interazioni tra metalli pesanti e componenti molecolari cellulari.



Fitochelatine



Il **vacuolo vegetativo** può diventare la sede di:

1) accumulo di ioni e metaboliti
2) confinamento di prodotti di riserva in tessuti speciali (lipidi, carboidrati, aa, proteine).

3) accumulo di potenziali composti di difesa o di reazione a stress biotici e abiotici.
4) accumulo di pigmenti polari idrosolubili.
5) per processi di detossificazione (es. da metalli pesanti).

Vacuolo + parete cellulare + membrana cellulare → TURGORE cellulare ← → crescita e mantenimento della forma degli organi in struttura primaria di una pianta