



## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ МЕМБРАННОЇ СИСТЕМИ ХЛОРОПЛАСТІВ ШПИНАТУ ПІД ДІЄЮ ІНГІБІТОРІВ КАРБОНАТГІДРАЗИ (АЦЕТАЗОЛАМІДА ТА ЕТОКСИЗОЛАМІДА)

МАРИНА В. ВОДКА \*, Н.О. БІЛЯВСЬКА, О.К. ЗОЛОТАРЬОВА

**Анотація.** Досліджували вплив інгібіторів карбонатгідрازی, а саме ацетозоламідів та етоксизоламідів на мембранну систему ізольованих хлоропластів шпинату. Під дією інгібітору АА товщина тилакоїдів гран достовірно збільшується у порівнянні з контролем на 36%, а розмір міжтилакоїдних проміжків – на 10%. Під дією ЕА виявлено збільшення товщини тилакоїдів гран на 31% і міжтилакоїдних проміжків на 8%. Отримані дані можуть вказувати на зниження активності тилакоїдної КА, інгібування електронного транспорту та процесу фотосинтезу в цілому в присутності інгібіторів карбонатгідрازی.

**Ключові слова:** *Spinacea oleracea*, шпинат, карбонатгідроза, неорганічний вуглець, інгібітори, ацетазоламід, етоксизоламід, хлоропласти, тилакоїди гран

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного, вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна; \* [marinavodka@yandex.ru](mailto:marinavodka@yandex.ru)

Фундаментальною проблемою сучасної біології рослин є організація первинних процесів асиміляції  $\text{CO}_2$ , до якої відноситься поглинання, трансмембранне переміщення та внутрішньоклітинне накопичення неорганічного вуглецю ( $\text{C}_n$ ), а також концентрування  $\text{CO}_2$  в зонах карбоксилування. Оскільки провідна роль в первинних процесах асиміляції  $\text{C}_n$  належить ензиматичним реакціям за участю карбонатгідраз, то названу проблему досліджують, вивчаючи саме цю групу ферментів.

Карбонатгідроза (КА, карбонатгідратаза, ЄС 4.2.1.1) – фермент, який здійснює обернену гідратацію  $\text{CO}_2$  ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ ); він широко розповсюджений в усіх живих організмах від прокариот до людини, присутній і у рослин. КА відіграє важливу роль в фотосинтетичній діяльності рослин, а також бере участь в полегшенні транспорту  $\text{CO}_2$  та зниженні дифузійного опору внутрішньоклітинному переносу  $\text{CO}_2$ . Найбільша активність КА вищих рослин тісно пов'язана з комплексом фотосистеми II (ФС II) (Ignatova et al. 2011), яка концентрується в гранах хлоропластів.

Для вивчення функцій карбонатгідрози

завичай використовують специфічні інгібітори КА сульфаніламідної природи – ацетазоламід (АА) та етоксизоламід (ЕА). Інгібітори утворюють комплекси у співвідношенні 1:1 з кожним реакційним центром ферменту. В молекулі КА центр зв'язування сульфонамідів містить іон цинку як однієї з координуючих груп (Алиев і Гулиев 1990).

На сьогоднішній день багато публікацій присвячено біохімічному вивченню карбонатгідрози, але залишається невизначеною її роль в підтриманні структури мембранної системи хлоропластів, тобто фотосинтетичного апарату рослин.

Тому метою нашої роботи було дослідження гранальної системи ізольованих хлоропластів шпинату та вплив на неї інгібіторів КА (АА і ЕА).

Хлоропласти класу «С» виділяли із листків 40-денних рослин шпинату (*Spinacea oleracea* L.) за Подорванов и др. (2005). Для пригнічення активності КА ізольовані хлоропласти інкубували протягом 2-ох годин у присутності 0,5 мМ ацетазоламідів або 0,5 мМ етоксизоламідів. Для вивчення структури гранальної системи хлоропластів та оцінки дії інгібіторів карбонатгідрози на

неї використовували метод трансмісійної електронної мікроскопії.

У контрольному зразку чітко виділяються фрагменти окремих хлоропластів з листків рослин шпинату, що містять грани, тилакоїди строми і пластоглобули. Відзначається щільна упаковка тилакоїдів гран і рівномірний їх розподіл в стопках.

Під дією інгібітору АА відбувається фрагментація гран та відзначається варіювання їх висоти, розпушення загальної структури гран, набухання тилакоїдів гран. Кількісно доведено, що товщина тилакоїдів гран достовірно збільшується у порівнянні з контролем на 36%, а розмір міжтилакоїдних проміжків – на 10%.

Під дією ЕА структура частини гран втрачає інтактність, розчленовуючись на невеликі фрагменти; на деяких ділянках тилакоїди гран відокремлюються від сусідніх, порушується їх зв'язок на термінальних ділянках гран. Виявлено збільшення товщини тилакоїдів гран на 31% і міжтилакоїдних проміжків на 8%.

Зазначені нами порушення гранальної системи хлоропластів, що були викликані дією інгібіторів КА, свідчать про суттєві перебудови в ультраструктурі і, очевидно, про зміни у функціонуванні фотосинтетичного апарату, які можуть бути пов'язані з інактивацією кисеньвиділяючого

центру ФС II і уповільненням електронного транспорту.

Таким чином, представлені нами експериментальні дані стосовно перебудов структури гран хлоропластів, індукованих інгібіторами КА, дозволяють висловити припущення про участь карбоангідрози в організації та збереження інтактності мембранної структури хлоропластів.

Аналіз впливу інгібіторів карбоангідрози на ультраструктуру тилакоїдів гран може представляти значний інтерес, оскільки він несе інформацію про стан гран та хлоропластів в цілому. Отримані дані можуть мати цінність для подальших поглиблених досліджень при вирішенні проблеми спрямованої регуляції фотосинтезу рослин.

### Використані джерела

- АЛИЕВ Д.А., ГУЛИЕВ Н.М. 1990. Карбоангидраза растений. Наука, Москва.
- ПОДОРВАНОВ В.В., ЧОРНОШТАН А.А., ЗОЛОТАРЕВА Е.К. 2005. Роль бикарбоната в светозависимом поглощении протонов изолированными хлоропластами. *Физиол. биохим. культ. раст.* 37: 326–332.
- IGNATOVA L. K., RUDENKO N. N. *et. al.* 2011. Carbonic anhydrase activity in Arabidopsis thaliana thylakoid membrane and fragments enriched with PSI or PSII. *Photosynth. Res.* 110: 89–98.

### ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE MEMBRANE SYSTEM OF ISOLATED CHLOROPLASTS OF SPINACH UNDER THE INFLUENCE OF CARBONIC ANHYDRASE INHIBITORS AA AND EA

MARINA V. VODKA \*, N.O. BILIAVS'KA, E.K. ZOLOTAREVA

**Abstract.** The effects of carbonic anhydrase inhibitors (AA and EA) on the membrane system of isolated chloroplasts of spinach were investigated. Under the influence of AA the considerable alterations in granal structure occurred, the thickness of the granal thylakoids increased by 36% and the interspace between thylakoids by 10% comparable with the control. As a result of EA treatment, the thickness of granal thylakoids enhanced by 31% and the interspace between thylakoids increased by 8% in comparison to the control. It was shown that structure of the granal system of the chloroplast was more sensitive to AA than EA. The data obtained can indicate a decrease in the activity of the thylakoid carbonic anhydrase, inhibition of electron transport and photosynthetic process as a whole in the presence of carbonic anhydrase inhibitors (AA and EA).

**Key words:** *Spinacea oleracea*, spinach, carbonic anhydrase, inhibitor, chloroplasts, granal thylakoids, electron transport