

## CERCETAREA HISTOCHEMICĂ A DISTRIBUȚIEI CARBOANHIDRAZEI LA UNELE PLANTE DE TIP $C_3$ ȘI $C_4$

GH. ACATRINEI

Histochemical investigation shows that in the plants of  $C_3$  type, there is a big localisation of the *carboanhidrază* (carbonate dehydratase) at the level of the chloroplastic membranes. There is also a distribution of the carboanhidrază at the level of the *chloroplaste* membranes in the plants of  $C_4$  type.

These data suggest the intervention of the carbonanhidrază in the transport of  $CO_2$  towards the interior of the *chloroplast*.

Carboanhidraza în respirația animalelor facilitează eliminarea  $CO_2$  spre mediul extern. La plante, enzima participând la respirație în celulele radiculare și în cele tulpinale profunde, iar în frunze intervine în fotosinteză [2]. Așadar, în porțiunile verzi ale plantelor, carboanhidraza ia parte la acumulare  $CO_2$  în frunze, participând la fotosinteză. Referitor la localizarea carboanhidrazei în celule, datele sînt contradictorii; unii autori susțin că la plantele  $C_3$  enzima este localizată în cantitate mare în cloroplaste, iar la indivizii  $C_4$ , în citoplasmă [4, 8]; alții arată că enzima este în cloroplastele plantelor  $C_3$  de la 38–80%, iar în cele  $C_4$  de 10,7% [10]. Noi am remarcat cantități mari de carboanhidrază la nivelul membranei cloroplastului plantelor  $C_3$  și mult mai mici la cele  $C_4$  [1–3]. La plantele  $C_3$  activitatea enzimei este de zeci de ori mai mare față de tipul  $C_4$  [11]. Frunzele plantelor etiolate au o concentrație foarte mică de enzimă, sau ea lipsește. Lumina și scăderea concentrației de  $CO_2$  stimulează activitatea ei [5]. Astfel, concentrații mari de  $CO_2$  din mediul ambiant al plantelor determină scăderea enzimei de zeci de ori, iar mediile sărace în  $CO_2$  stimulează creșterea concentrației de enzime de o mie de ori [7]. Dar și inhibitorii enzimei frînează fotosinteza. Carboanhidraza stimulează transportul  $CO_2$  prin membranele cloroplastului, interacționînd cu  $CO_2$  și  $HCO_3^-$  intensificînd fotosinteza [4]. În cloroplastele unor leguminoase s-au evidențiat două tipuri de carboanhidrază dependente de lumină, una solvită în stromă și alta legată de membrane. La cea solvită, reglarea activității se corelează cu ribulozodifosfat-carboxilaza, cu reacțiile de lumină a fotosintezei și mai ales cu lanțul transportorilor de electroni [5]. De asemenea, sistemul carboanhidrazei în celulele funcționale ale plantelor  $C_3$  realizează primul proces de asimilare a  $CO_2$ , și mai ales intervine în reacțiile fotosintezei din cloroplaste. Carboanhidrazele reglează interacțiuni strînse între compartimente separate ale celulelor fotosintetice, care întăresc concepția biunitară a procesului fotosintetic și a fotorespirației [9]. Se presupune că micșorarea

carboanhidrazei în cloroplastele  $C_3$  (în deficit de zinc) duce la creșterea intensității fotorespirației [8].

### Materialul și metoda de lucru

Ca material de experiență s-au folosit, de la plantele  $C_3$ , frunze de : *Panicum plicatum* Lam., *Saccharum officinarum*, *Arundo donax* L., *Carex praecox* Schreb. și frunze de la plantele de tip  $C_4$  : *Festuca arundinaceae* Schreb. și *Nicotiana glauca*. Materialul a fost fixat în formol neutru 4% și alcool 70%. O parte din el s-a secționat la microtomul de tip Minot. Pe secțiune s-a evidențiat histochimic distribuția carboanhidrazei, folosindu-se metoda Meyer și Bloom, 1966 [6]. Secțiunile au fost incluse în glicerogelatină, sirop Apathy și balsam de Canada. Pe secțiuni s-a cercetat distribuția carboanhidrazei în celulele foliare ale plantelor de tip  $C_3$  și  $C_4$ , analizându-se cu atenție localizarea ei în zona membranelor cloroplastice.

### Rezultate și discuții

*Panicum plicatum* Lam. (mei) este o plantă ombrofilă, cu cloroplastele mari și dispuse mai rar în celulele tecii fasciculare și ale mezofilului. Din cercetarea histochimică reiese că enzima carboanhidraza este localizată evident la nivelul membranelor cloroplastelor tecii fasciculare și ale mezofilului. Probabil datorită faptului că planta este ombrofilă, are cantități mai mari de carboanhidrază la nivelul membranelor cloroplastului față de alte plante de tip  $C_3$  (Fig. 1). Totuși, comparativ cu intensitatea culorii la nivelul membranelor cloroplastice la plantele  $C_3$ , cantitatea ei este mai mică [1, 2]. La *Saccharum officinarum* distribuția carboanhidrazei a fost relevată în alte lucrări științifice [1—3] totuși, ea a fost recercetată și s-a reconstatat că este localizată slab la nivelul membranelor cloroplastice din teaca fasciculară și din mezofil, dar în cantitate mai mică decât la *Panicum plicatum* Lam.). Structura frunzei la *Arundo donax* este de tip Kranz. În celulele tecii fasciculare sînt multe cloroplaste mari, cu membrane puternic colorate, asemănîndu-se ca intensitate de culoare cu membranele cloroplastice de la *Panicum plicatum*. Acest fapt arată o puternică localizare a carboanhidrazei la nivelul membranelor cloroplastice (Fig. 2). De asemenea, și la *Carex praecox* Schreb. frunzele au o structură de tip Kranz, observîndu-se în lungul ei canale aerifere (aerenchim). Cloroplastele tecii fasciculare au cantități mari de carboanhidrază dispuse la nivelul membranelor, care se colorează puternic în nuanțe închise. De asemenea, și membranele cloroplastelor mezofilului au cantități mari de enzimă (Fig. 3).

*Festuca arundinaceae* Schreb. are în celulele clorenchimului foliar puține cloroplaste, dispuse rar, iar la nivelul membranelor cloroplastului există cantități mici de carboanhidrază, cu toate că este o plantă de tip  $C_3$  (Fig. 4). În schimb, la *Nicotiana glauca* se remarcă după culoare o localizare mare a carboanhidrazei la nivelul membranelor cloroplastelor din țesutul palisadic și lacunar. Cantitatea mare de enzimă dispusă la nivelul membranei cloroplastelor depășește pe toate plantele cercetate (Fig. 5). Mulți cercetători susțin că la plantele  $C_3$  enzima este în cantitate mare în cloroplaste, iar la plantele  $C_4$  este localizată în citoplasmă [4, 8]. Alții, dimpotrivă, arată că la spanac 72—80% din activitatea carboanhidrazei este în cloroplaste, iar la cloroplastele de grâu și porumb 38% și respectiv 10,7%. Din cercetările noastre prezente și anterioare am constatat citochimic localizarea puternică a carbo-

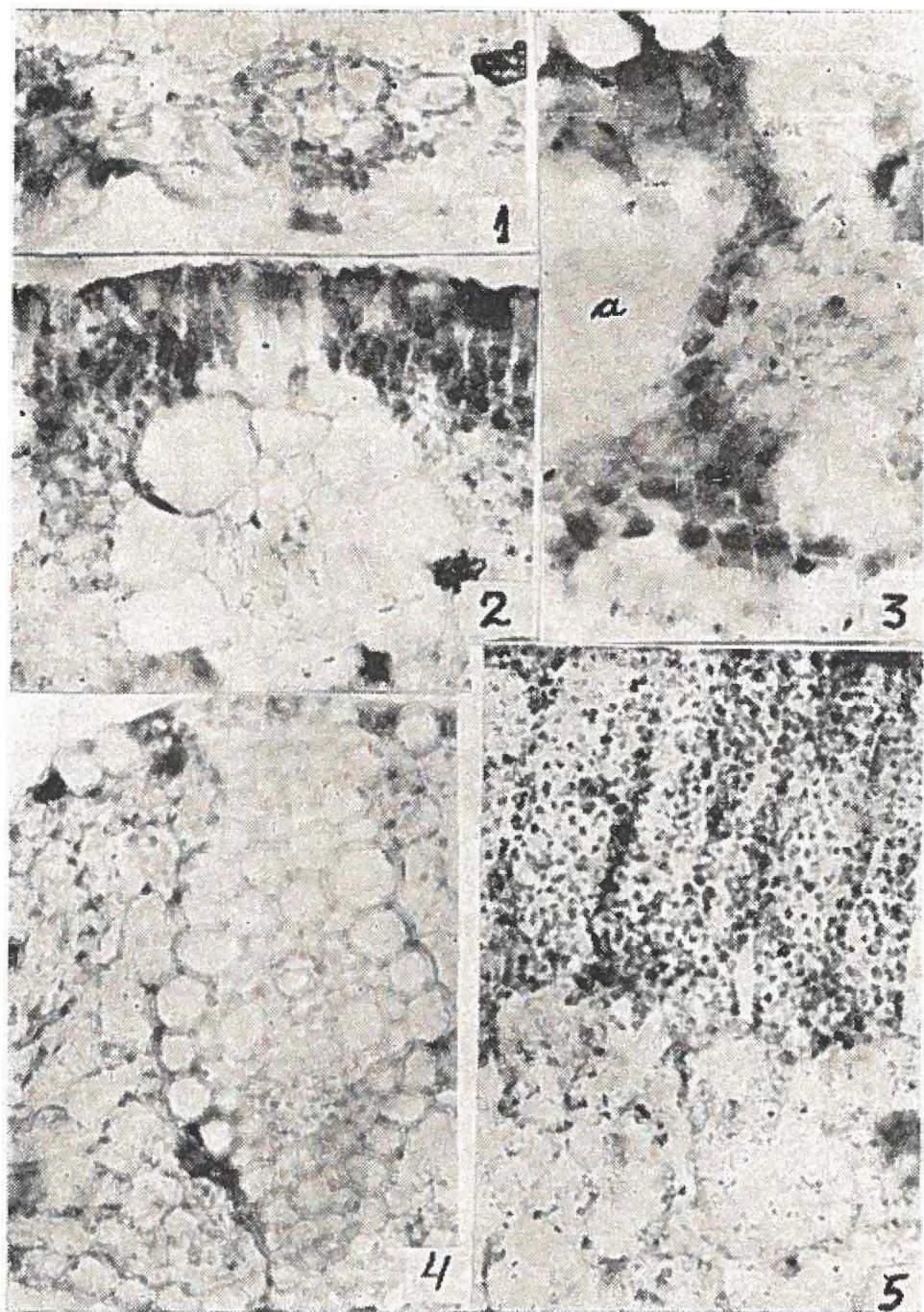


Fig. 1—4 Evidențierea histochimică a carboanhidrazei la nivelul membranei cloroplastice din teaca fasciculară la : *Panicum plicatum* (1), *Arundo donax* (2), *Carex praecox* (3) (a-aerenchium). Distribuția carboanhidrazei la nivelul membranelor cloroplastului de : *Festuca arundinaceae* (4), și *Nicotiana glauca* (5).

anhidrazei la nivelul membranelor cloroplastelor plantelor  $C_3$ , dar și o dispunere mai mică a ei la nivelul membranelor cloroplastelor plantelor  $C_4$ . Pe baza experiențelor noastre și ale altor autori, se pare că este o discordanță cu cercetările care susțin că, carboanhidraza la plantele  $C_3$  este localizată în cloroplaste, iar la plantele  $C_4$  în citoplasmă. Noi credem că ea este legată labil de membranele cloroplastului de tip  $C_4$  și facilitează transportul  $CO_2$  în cloroplast. Este posibil ca prin izolarea fracționată a cloroplastelor ea să se desprindă și să nu mai poată fi evidențiată biochimic. Pe cînd în reacțiile histochemice ea stă lipită de membrane și poate fi evidențiată. La plantele  $C_3$  există multă carboanhidrază la membrane și în stroma cloroplastului (ce se corelează cu fotorespirația și fotosinteza), iar prin cercetări histochemice aceasta nu poate fi înlăturată, și ca atare, se evidențiază.

### Concluzii

1. Carboanhidraza în frunzele plantelor  $C_3$  este localizată cu precădere la nivelul membranelor cloroplastului, dominînd la *Nicotiana glauca* și fiind foarte scăzută la *Festuca arundinaceae*.

2. La frunzele plantelor de tip Kranz ( $C_4$ ) se remarcă o dispunere a carboanhidrazei mai ales la nivelul membranelor cloroplastului tecii, dar și a mezofilului.

3. Dintre plantele  $C_4$ , o localizare mai accentuată a carboanhidrazei se observă la *Arundo donax* și *Carex praecox* față de *Saccharum officinarum*.

4. Considerăm că metoda biochimică trebuie corelată cu cea histochemică în problema localizării intracelulare a enzimelor.

### B I B L I O G R A F I E

1. ACATRINEI GH., 1986 — *Natura*, Anul XXXVII, 2, 50—57.
2. ACATRINEI GH., 1986 — *An. șt. Univ. Iași*, T. XXXII, S. II a, biologie, 85—88
3. ACATRINEI GH., 1987 — *An. șt. Univ. Iași*, T. XXXIII, S. II a biol., 42—44
4. EVERSON R. G., SLACK C. R., 1968 — *Phytochemistry* 7, 4, 581
5. KOMAROVA I., DOMAN N., VAKLINOVA S.G., 1986 — *Fiziol. rast.*, 12, 2, 32—39
6. MEJER A.S.F.H., BLOOM I. H., 1966 — *Acta histochem. (Jena)*, 5, 239—241
7. NELSON E. B., CENESDELBA A., TOLBERT N.E., 1969 — *Phytochemistry* 8, 12, 2305
8. SEETHIHAMBARAM Y., RAO A.N., DAS V.S.R., 1985 — *Biochem. und Physiol. P.lanz.*, 986, 2, 107—118
9. SEMENENCO V. E., e.a., 1985 — *Kinet., fotosintet. metabolizma ugleroda v  $C_3$  rast.* *Talin*, 66—77
10. SRIVASTAVA J. P., RATHORE V.S., 1985 — *Indian J. Plant Physiol.*, 28, 259—263
11. TSUZUKI M., MIYACHI S., WINTER K., EDWARDS G.E., — *Plant sci. Lett* 24, 2, 211—218.