

УДК 581.19:577.15

ДИНАМИКА КАРБОАНГИДРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ *CHLORELLA* И *SCENEDESNYS* ПРИ АДАПТАЦИИ КЛЕТОК К СВЕТУ ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ И К НИЗКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2

Н. А. ПРОНИНА, С. АВРАМОВА *, Д. ГЕОРГИЕВ *, В. Е. СЕМЕНЕНКО

Проведено сравнительное изучение адаптивных изменений активности карбоангидразы в различных клеточных фракциях *Chlorella* и *Scenedesmus* (растворимые белки, фракция нерастворимых клеточных компонентов, суммарный бесклеточный гомогенат, интактные клетки). Показано, что при адаптации к высокой интенсивности света возрастание карбоангидразной активности у *Chlorella* определяется увеличением активности мембранно-связанной формы фермента, у *Scenedesmus* — растворимой. При недостатке CO_2 адаптивное повышение активности карбоангидразы, напротив, у *Chlorella* обусловлено ростом активности растворимой, а у *Scenedesmus* мембранно-связанной формы, локализованной в клеточной оболочке или плазмалемме. Светозависимые изменения карбоангидразной активности у *Scenedesmus* опосредованы изменением внутриклеточной концентрации CO_2 , в то время как у *Chlorella* определяются прямым действием света.

Обсуждается участие форм карбоангидразы в транспорте и ассимиляции углекислоты. Приводится схема возможных механизмов действия различных форм карбоангидразы в фотосинтезирующей клетке.

Карбоангидраза — углекислота — свет — адаптация — фотосинтез.

Карбоангидраза (карбонатгидролиза, К.Ф.Ч., 2.1.1), катализируя обратимую реакцию гидратации CO_2 по уравнению: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$, значительно увеличивает скорость установления равновесия между CO_2 и HCO_3^- в клетке, которое определяется внутриклеточными факторами и, в первую очередь, значением рН в отдельных компартментах. При физиологических значениях рН неорганический углерод в клетке присутствует в виде CO_2 и HCO_3^- , при этом концентрация HCO_3^- увеличивается от 4% при рН 5 до 98% при рН 8. Таким образом, карбоангидраза (КА) в зависимости от локализации в клеточных компартментах, имеющих различное значение рН, изменяя концентрацию CO_2 или HCO_3^- и H^+ в клетке, может играть большую и многообразную роль в регуляции фотосинтетического и дыхательного метаболизма.

Относительно локализации КА в клетке в литературе накоплено достаточное количество данных, свидетельствующих о разнообразии внутриклеточного распределения фермента. Так, имеются указания, что у C_3 -растений КА главным образом локализована в хлоропласте, а у C_4 -растений в цитоплазме [1]. Другие авторы находят, что у этих групп растений фермент содержится как в хлоропластах, так и в цитоплазме [2—4]. Однако такие данные могут быть ошибочными и возникать вследствие трудностей препаративного разделения клеточных фракций и оргanelл. Показано наличие изоферментов КА у высших растений, наиболее активная форма которой находится в хлоропласте [4—6]. Многие авторы считают, что КА легкорастворимый фермент, не связанный с мембранами клетки у всех изученных растений, в том числе и у *Chlorella* [7—10]. Ранее нами было показано [11], что при выращивании водорослей в условиях высокой (2%) концентрации CO_2 в клетках *Chlorella* вся КА

находится в мембранносвязанном состоянии, тогда как у *Scenedesmus* — представлена растворимой формой фермента. Как видно, вопрос о локализации КА является достаточно сложным, дискуссионным, но, очевидно, от решения этого вопроса зависит выяснение функций фермента в растительных клетках.

В хлоропласте, где при освещении в результате движения H^+ -иона внутрь тилакоидного пространства, рН в строме может достигать высоких значений, функциональная роль КА может заключаться в образовании протонов при гидратации CO_2 и в создании пула бикарбоната, который выполняет роль источника CO_2 , участвует в регуляции функциональной активности компонентов электронтранспортной цепи и фиксации углекислоты [7, 9, 10, 12—16]. Возможность выполнения КА функции, связанной с действием H^+ и HCO_3^- на световые реакции хлоропласта, доказывается в некоторой степени световой зависимостью карбоангидразной активности (КА-активности) клеток *Chlorella* и *Scenedesmus* и ее корреляцией с ходом световых кривых фотосинтеза, что было установлено нами ранее [17]. Однако светоиндуцированные изменения КА-активности могут определяться как прямым, так и косвенным действием света на синтез или активацию фермента. Последнее может быть обусловлено изменением внутриклеточной концентрации CO_2 в условиях более интенсивного фотосинтеза при высоких освещенностях.

В отличие от всех исследованных ферментов цикла Кальвина КА-активность существенным образом зависит от концентрации CO_2 [9, 10]. Показано, что при снижении концентрации CO_2 в среде для выращивания водорослей интенсивность фотосинтеза падает, и требуется индукционный период для восстановления фотосинтетической активности хлоропласта, в течение которого увеличивается КА-активность [10, 13, 16]. Такие данные указывают на возможность выполнения ферментом еще одной функции, связанной с утилизацией CO_2 при низких ее концентрациях. Очевидно в зависимости от локализации КА механизм этого процесса может различаться у разных организмов и заключаться в участии фермента как в транспорте CO_2 и снижении диффузионных сопротивлений, так и в поглощении HCO_3^- -иона [8—10, 16—19].

Для выяснения механизма светоиндуцированного изменения карбоангидразной активности в данной работе изучено сопряженное действие изменений интенсивности света и концентрации CO_2 на адаптивные перестройки активности и локализации КА в клетках *Chlorella* и *Scenedesmus*.

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили *Chlorella vulgaris* Beijer, var. *vulgaris*, штамм С-3 и *Scenedesmus acutus* Meуen, штамм 8 Tomaselli.

Водоросли культивировали в стеклянных сосудах с плоскопараллельными стенками на среде Тамия в условиях интенсивной накопительной культуры при освещении $60 \text{ тыс. эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, оптимальной температуре и непрерывном барботировании газовой смеси с 2% CO_2 . Далее суспензию водорослей длительное время адаптировали к более низкой освещенности — $15 \text{ тыс. эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ без изменения параметров культивирования.

Динамику КА-активности при адаптации водорослей к снижению концентрации углекислоты в условиях низкой освещенности ($15 \text{ тыс. эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) исследовали при переходе от 2% концентрации CO_2 в газовой фазе к 0,03%. При сопряженном изменении интенсивности света и концентрации CO_2 динамику КА-активности исследовали при последовательной адаптации водорослей, выращенных в условиях 2% CO_2 и $15 \text{ тыс. эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, сначала к свету более высокой интенсивности ($150 \text{ тыс. эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) при сохранении насыщающей фотосинтез кон-

центрации CO_2 , а затем к низкой концентрации CO_2 (0,03%) на фоне высокой освещенности клеток.

Дезинтеграцию клеток, фракционирование бесклеточного гомогената и измерение КА-активности в интактных (неразрушенных) клетках водорослей, в суммарном гомогенате, во фракции растворимых белков и во фракции нерастворимых клеточных компонентов проводили по методике, описанной ранее [11]. КА-активность рассчитывали на миллиграмм общего белка, количество которого определяли по методу Лоури.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 и 2 представлены данные, которые характеризуют адаптивные изменения КА-активности интактных клеток *Chlorella*, *Scenedesmus* и различных клеточных фракций этих водорослей при увеличении освещенности и уменьшении концентрации CO_2 . Как видно из кривой 1 на

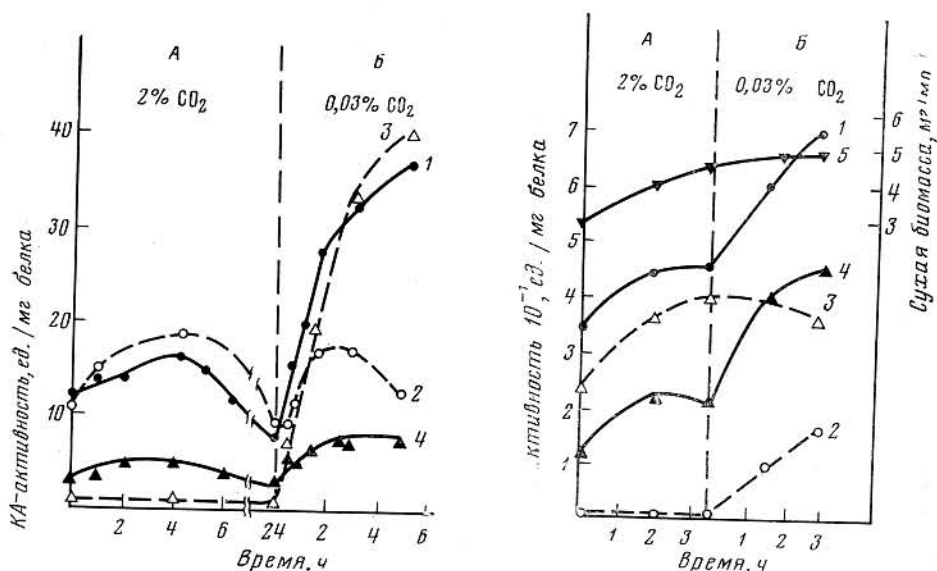


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Динамика изменения активности карбоангидразы *Chlorella* при последовательной адаптации клеток к свету высокой интенсивности и к низкой концентрации CO_2

А — при переходе от 15 к 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹, Б — при переходе от 2% концентрации CO_2 к 0,03% при 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹; 1 — гомогенат, 2 — мембранносвязанная карбоангидраза, 3 — растворимая карбоангидраза, 4 — интактные клетки

Рис. 2. Динамика изменения активности карбоангидразы *Scenedesmus* при последовательной адаптации клеток к свету высокой интенсивности и к низкой концентрации CO_2

А — при переходе от 15 к 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹, Б — при переходе от 2% концентрации CO_2 к 0,03% при 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹; 1 — гомогенат, 2 — мембранносвязанная карбоангидраза, 3 — растворимая карбоангидраза, 4 — интактные клетки, 5 — накопление сухого вещества

этих рисунках, суммарная КА-активность гомогената клеток *Chlorella* и *Scenedesmus* увеличивается при переходе от 15 к 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹ и достигает максимального значения к 3-му ч культивирования. Снижение концентрации CO_2 с 2 до 0,03% после завершения световой адаптации приводит (рис. 1, 2) к новому, еще более быстрому росту общей КА-активности в гомогенате. При адаптации клеток водорослей к низкой концентрации CO_2 на слабом свету суммарная КА-активность гомогената также увеличивается (см. рис. 3, 4).

Таким образом, можно отметить общий характер реакции клеток *Chlorella* и *Scenedesmus*, который заключается в увеличении суммарной КА-активности в ответ на увеличение интенсивности света и снижение

концентрации CO_2 в среде. При этом рост суммарной КА-активности сопровождается сложным изменением соотношения форм КА, что видно при рассмотрении внутриклеточного распределения фермента.

Как и было показано ранее [11], при выращивании водорослей в атмосфере с 2% CO_2 вся КА у *Chlorella* находится во фракции нерастворимых клеточных компонентов в мембранносвязанном состоянии. Увеличение КА-активности в гомогенате при переходе к высокой освещенности клеток, как видно из рис. 1 (кривая 2), связано с увеличением активно-

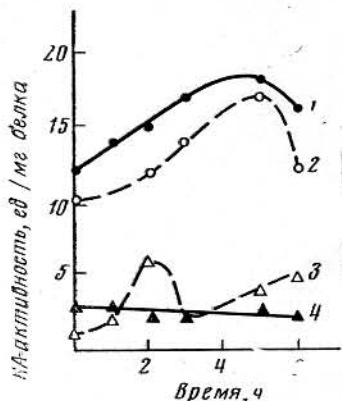


Рис. 3

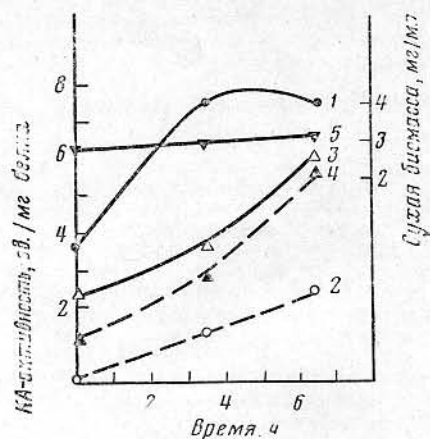


Рис. 4

Рис. 3. Динамика изменения активности карбоангидразы клеток *Chlorella* при снижении концентрации углекислоты с 2 до 0,03% в условиях слабой освещенности клеток (15 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹)

Обозначения как на рис. 1

Рис. 4. Динамика изменения активности карбоангидразы клеток

Обозначения как на рис. 2

сти именно этой мембранносвязанной формы КА, тогда как активность во фракции растворимых белков (кривая 3) практически равна нулю. В то же время при адаптации клеток *Chlorella* к низким концентрациям CO_2 появляется и быстро возрастает активность КА во фракции растворимых белков (кривая 3), чем и определяется рост суммарной активности КА в этих условиях. Увеличение активности растворимой формы КА в клетках *Chlorella*, очевидно, связано с появлением новой формы фермента при адаптации к недостатку углекислоты и не обусловлено солиubilизацией мембранносвязанной формы КА, так как активность последней сохраняется в этих условиях и даже несколько возрастает (рис. 1, кривая 2).

Такие же закономерности наблюдаются при изменении концентрации углекислоты в условиях низкой освещенности, что видно из рис. 3. Вместе с тем увеличение активности растворимой КА значительно больше при адаптации клеток *Chlorella* к недостатку CO_2 на сильном свете, чем на слабом. Это демонстрирует согласованность процессов биохимической адаптации клетки к недостатку CO_2 с энергетическими возможностями восстановления углекислоты.

Следует обратить внимание, что интактные (неразрушенные) клетки *Chlorella* также обладают некоторой КА-активностью (около 20% общей активности, рис. 1, кривая 4). При адаптации к низкой концентрации CO_2 активность этой фракции увеличивается незначительно на сильном свете (рис. 1) и практически не изменяется на слабом (рис. 3).

Таким образом, светозависимая, мембранносвязанная форма КА клеток *Chlorella* обнаруживается при различных условиях культивирования

и является конститутивной формой фермента, тогда как растворимая форма КА относится, очевидно, к числу адаптивных ферментов и индуцируется в клетке только при низких концентрациях CO_2 .

Обращаясь к данным, характеризующим особенности КА-активности в клетках *Scenedesmus* в условиях различной освещенности и концентрации CO_2 (рис. 2, 4), следует отметить, что у этого организма так же, как и у *Chlorella*, обнаруживаются мембранносвязанная и растворимая формы КА. Однако в отличие от *Chlorella* в клетках *Scenedesmus* растворимая КА обнаруживается при всех условиях культивирования и световая индукция КА-активности связана с увеличением не мембранносвязанной, а растворимой КА.

Мембранносвязанная КА в клетках *Scenedesmus* в отличие от *Chlorella* обнаруживается только при углекислотном голодании (рис. 2, 4, кривая 2). Как видно из сравнения рис. 2 и рис. 4, увеличение суммарной КА-активности клеток *Scenedesmus* при адаптации к низкой концентрации CO_2 на различных освещенностях практически не зависит от интенсивности света, но определяется на сильном свете появлением и ростом активности не растворимой, как у *Chlorella*, а мембранносвязанной КА. На слабом свете изменение КА-активности в гомогенате в равной мере определяется ростом активностей мембранносвязанной и растворимой форм фермента (рис. 4).

Особый интерес представляет динамика изменения КА-активности интактных клеток *Scenedesmus* при углекислотном голодании. Как показано на рис. 2, при снижении концентрации CO_2 практически все увеличение активности КА, измеряемое в бесклеточном гомогенате, обусловлено увеличением активности фермента, регистрируемого на интактных клетках (рис. 2, кривая 4).

Таким образом, световая индукция КА-активности у *Chlorella* связана с увеличением активности мембранносвязанной КА, а у *Scenedesmus* растворимой формы фермента. Углекислотная индукция КА-активности в клетках *Chlorella* зависит от интенсивности света и связана с ростом активности растворимой КА. В клетках *Scenedesmus* индукция КА-активности при углекислотном голодании не зависит от интенсивности света, связана с появлением мембранносвязанной КА и проявляется в увеличении активности фермента интактных клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные результаты подтверждают полученные ранее нами данные [17] о световой зависимости КА-активности клеток *Chlorella* и *Scenedesmus*, свидетельствуют о зависимости активности этого фермента от концентрации CO_2 и указывают на адаптивную роль КА в реакциях приспособления водорослей к условиям углекислотного питания и освещения.

Исследования сопряженного действия света высокой интенсивности и низкой концентрации CO_2 на активность различных форм КА клеток *Chlorella* и *Scenedesmus*, а также сравнительный анализ динамики изменения КА-активности изученных клеточных фракций при снижении концентрации CO_2 в условиях высокой и низкой освещенности позволяют сделать соответствующий вывод относительно различий в механизмах световой индукции активности фермента у этих видов водорослей (таблица). Следует отметить, что увеличение КА-активности во всех исследуемых фракциях клеток *Scenedesmus*, адаптированных к 0,03% CO_2 при низкой интенсивности света, совпадает (в процентах от исходного значения) с ростом активности фермента при световой и углекислотной адаптации. Иначе, углекислотная индукция КА-активности в клетках *Scenedesmus* на слабом свете равна суммарному приросту КА-активности, вызванному сопряженным действием света высокой интенсивности

КА-активность клеток *Scenedesmus* и *Chlorella* при адаптации к 0,03% CO₂ на различной интенсивности света (время адаптации 3 ч)

Культура	Интенсивность света · 10 ³ , эрг · см ⁻² · с ⁻¹	КА-активность, % от исходной *			
		гомогенат	растворимая КА	мембранно-связанная КА	интактные клетки
<i>Scenedesmus</i>	150	194	154	750	345
	15	206	154	650	260
<i>Chlorella</i>	150	292	6615	170	217
	15	153	340	140	100

* За исходное значение принята активность фермента водорослей, выращенных в условиях 2% CO₂ 15 тыс. эрг · см⁻² · с⁻¹.

и низкой концентрации CO₂. Это может свидетельствовать о том, что световая индукция К%-активности в клетках *Scenedesmus* не связана с прямым действием света на синтез или активацию фермента и, возможно, опосредована падением внутриклеточной концентрации CO₂ в результате интенсивного связывания субстрата фотосинтеза при переходе к насыщающей фотосинтез интенсивности света. Кроме того, можно заключить, что свет не оказывает заметного влияния на индукцию КА-активности клеток *Scenedesmus* при углекислотном голодании (рис. 2, 4).

У *Chlorella* при адаптации к 0,03% CO₂ в отличие от *Scenedesmus* на сильном свете наблюдается большее увеличение КА-активности во всех исследованных фракциях, чем на слабом (таблица). Этот факт дает основание предполагать, во-первых, что свет оказывает влияние на уровень синтеза CO₂-индуцируемой растворимой формы КА в клетках *Chlorella*. Во-вторых, можно думать, что механизмы адаптации к свету высокой интенсивности у *Chlorella* отличаются от *Scenedesmus* и включают световую индукцию активности мембранно-связанной КА, непосредственную изменением внутриклеточной концентрации CO₂.

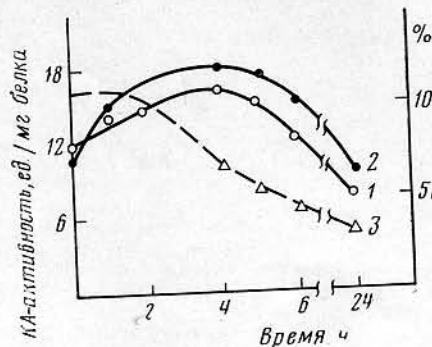
Как отмечалось ранее [17], светозависимость мембранно-связанной КА клеток *Chlorella* может быть обусловлена дополнительным синтезом фермента *de novo* под действием света, активацией молекулы фермента или являться результатом синхронизирующего действия света на культуру водорослей, что требует специального изучения. Некоторое снижение КА-активности при культивировании *Chlorella* на высокой интенсивности света, как показано на рис. 5, вероятно, связано с особенностями роста накопительной культуры, быстрым возрастанием оптической плотности и снижением средней облученности клеток в результате их затенения.

Увеличение КА-активности водорослей при снижении концентрации CO₂ показано рядом авторов у *Chlorella* [9, 10, 16] и *Scenedesmus* [8]. Считается, что индукция активности КА в клетках водорослей в условиях низкого содержания углекислоты свидетельствует об участии фермента в облегчении транспорта CO₂ к местам карбоксилирования в клетке, когда диффузионные сопротивления велики, и в фотосинтетической ассимиляции экзогенного бикарбоната [8—10, 16, 18]. Вследствие взаимобратимости CO₂/HCO₃⁻ возникает вопрос о форме неорганического углерода, которая ассимилируется водорослями в условиях низких концентраций CO₂ в среде. Известно, что *Scenedesmus* легче, чем *Chlorella*, адаптируется к бикарбонатному типу питания [20], хотя Финденег [21], изучая фотосинтетическое поглощение H¹⁴CO₃⁻ несколькими видами водорослей, делает заключение, что все виды, в том числе и *Chlorella*, способны поглощать HCO₃⁻, если они предварительно адаптированы к низкой концентрации CO₂. Однако механизм фотосинтетической ассимиляции HCO₃⁻ водорослями с участием КА остается неясным.

Такая функция КА должна предполагать, как считает Финденег, высокую доступность экзогенного субстрата к ферменту, что может определяться локализацией его в клеточной стенке [8]. Однако автор [8] после разрушения клеток *Sc. obliquus* находит КА-активность в супернатанте после центрифугирования при 150 000 g, но не во фракции клеточных стенок, и предполагает, что фермент может быть локализован в плазмалемме, имеющей высокую $\text{HCO}_3^-/\text{OH}^-$ ионнообменную способность. Это предположение получило экспериментальное доказательство [18]. Наши данные, полученные для *Sc. acutus*, показывают, что увеличе-

Рис. 5. Динамика изменения активности карбоангидразы и освещенности клеток *Chlorella* при увеличении интенсивности света от 15 до 150 тыс. эрг·см⁻²·с⁻¹

1 — активность карбоангидразы в гомогенате, 2 — активность мембранносвязанной карбоангидразы, 3 — средняя освещенность клеток в расчете на единицу сухого веса (в % к максимальной)



ние КА-активности в клетках этого вида водорослей, адаптированных к воздуху, связано с индукцией мембранносвязанной КА. Возможно, что мембранносвязанная КА клеток *Scenedesmus*, адаптированных к 0,03% CO_2 , локализована в клеточной стенке, что подтверждается быстрым ростом КА-активности интактных клеток (рис. 6), т. е. увеличением активности той части фермента, к которой может иметь доступ наружный субстрат. Увеличение активности растворимой КА при адаптации к низкой концентрации CO_2 , которое также проявляется через изменение активности интактных клеток *Scenedesmus* (рис. 6), очевидно, не исключает возможность локализации этой формы фермента в плазмалемме, обладающей высокой проницаемостью HCO_3^- -ионов, что хорошо согласуется с литературными данными [8, 18].

На основании представленных результатов можно предложить следующую схему, которая отражает функциональную роль КА, локализованной в разных компартментах фотосинтезирующих клеток (рис. 7). Адаптационные перестройки в клетках *Scenedesmus* при снижении концентрации CO_2 , направленные главным образом на увеличение КА-активности интактных клеток, указывают, очевидно, на участие КА в ассимиляции HCO_3^- (рис. 7), что и обуславливает возможность роста этой культуры в сильнощелочных растворах.

Незначительное увеличение КА-активности в интактных клетках *Chlorella* позволяет предположить, что принцип адаптации к низкому содержанию углекислоты у *Chlorella* не связан с увеличением сродства к бикарбонату, как это имеет место у *Scenedesmus*, и носит иной характер. Возможно, что утилизация низких концентраций углекислоты в фотосинтезе клетками *Chlorella* связана с участием КА в обеспечении транспорта CO_2 и снижении диффузионных сопротивлений (рис. 7).

Мы думаем, что такую функцию у *Chlorella* может выполнять индуцируемая низким содержанием углекислоты растворимая форма карбоангидразы, активность которой быстро возрастает на сильном свете (рис. 1). При слабом освещении естественная концентрация CO_2 в воздухе не является лимитирующей, ограничивающей фотосинтез и в данном случае нагрузка на транспорт углекислоты с помощью КА невелика и соответственно не возникает необходимость в значительной индукции растворимой КА в данных условиях (рис. 3).

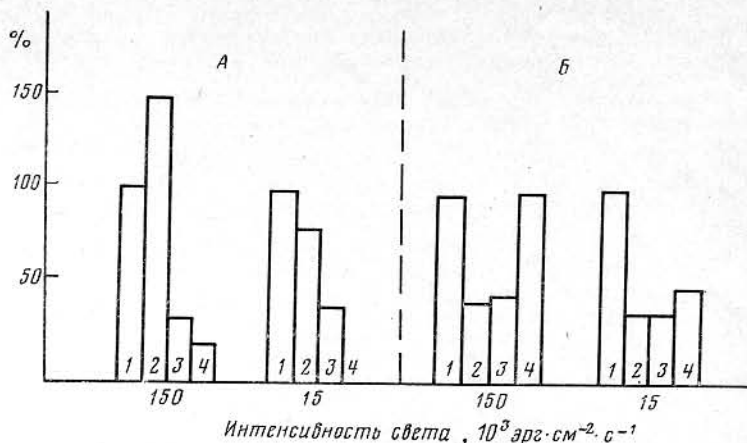


Рис. 6. Увеличение активности карбоангидразы при адаптации водорослей к недостатку CO_2 . Время адаптации 3 ч

А — *Chlorella*, Б — *Scenedesmus*. Активность карбоангидразы: 1 — гомогенат, 2 — растворимая фракция, 3 — мембранно связанная фракция, 4 — интактные клетки. Данные приведены в % от исходного значения активности фермента водорослей, выращенных в условиях 2% CO_2 и 15 тыс. $\text{эрг}\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$

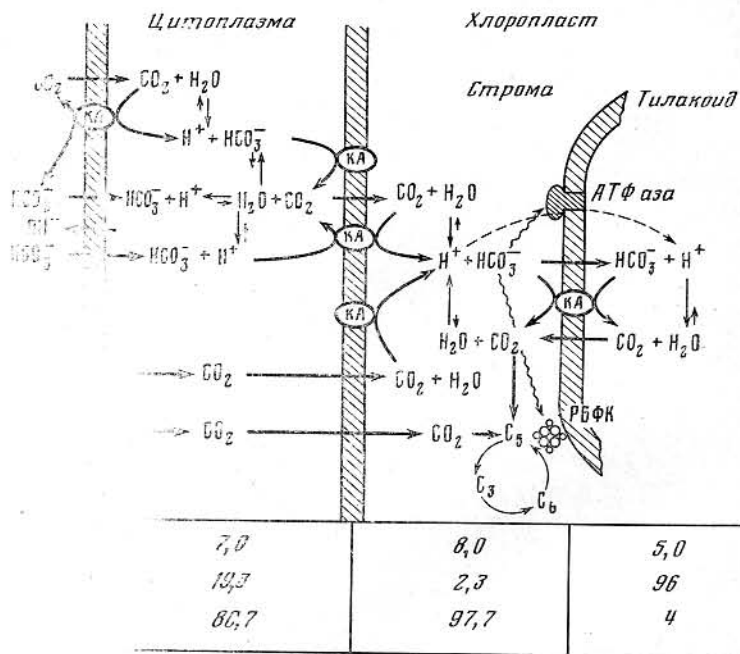


Рис. 7. Возможные механизмы действия различных форм карбоангидразы — мембранно связанной и растворимой — в фотосинтезирующих клетках

В таблице указаны равновесные концентрации $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ в соответствующих компартментах клетки при температуре 25° и физиологических значениях pH

Растворимая форма КА клеток *Chlorella* синтезируется на 70S рибосомах, поскольку, как было показано нами ранее [22], индукция этого фермента в условиях низких концентраций CO_2 полностью подавляется циклогексимином. Не исключено, что растворимая КА *Chlorella*, так же как эта форма фермента клеток *Scenedesmus*, может быть локализована в плазмалемме (рис. 7).

Остается неясным, в каких клеточных компонентах локализована мембранно связанная КА *Chlorella*, которая, очевидно, не находится в

клеточной стенке, как это можно было предполагать для *Scenedesmus*, так как активность интактных клеток хлореллы практически не изменяется при адаптации к низкой концентрации углекислоты (рис. 6). В связи с этим представляет интерес выяснение ее функциональной значимости, которая, очевидно, не связана с увеличением сродства к наружному субстрату. Вероятно, что светозависимая, мембранно-связанная КА клеток *Chlorella* локализована в хлоропласте и ее функции следует рассматривать с учетом ее возможной топологии в этом компартменте, имеющем различное значение pH в строме и тилакоидах (рис. 7). КА, являясь одним из самых активных ферментов, обнаруженных в растительных тканях, может быстро увеличить концентрацию CO_2 в хлоропласте, дегидратируя бикарбонат в области кислых значений pH, где равновесие гидратации углекислоты сдвинуто в сторону образования CO_2 . Хогецу и Миячи, Вердан и Хелдт [10, 14] считают, что это достигается образованием комплекса КА и рибулозобисфосфаткарбоксилазы там, где возникает локальное подкисление стромы в результате карбоксилирования. Однако, можно допустить, что такую функцию, связанную с концентрированием CO_2 в зонах карбоксилирования, может выполнять КА, локализованная в тилакоидной мембране (рис. 7). Эта гипотеза является более вероятной, если учесть: 1) существование мембранно-связанной КА [11]; 2) светозависимость активности мембранно-связанной КА и корреляцию ее с ходом световых кривых фотосинтеза [17]; 3) активирующее действие HCO_3^- -иона на фотофосфорилирование, реакцию Хилла, активность АТФазы и рибулозобисфосфаткарбоксилазы (РБФК) [15, 23]; 4) физико-химическое равновесие системы $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ при собственном тилакоидам кислом значении pH.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Everson R. G., Slack C. R.* Distribution of carbonic anhydrase in relation to C-4, pathway of photosynthesis.— *Phytochemistry*, 7, 581, 1968.
2. *Triolo L., Bagnara D., Anselmi L., Bassanelli C.* Carbonic anhydrase activity and localization in some plant species.— *Physiol. plantarum*, 31, 86, 1974.
3. *Poincelot R. P.* The distribution of carbonic anhydrase and ribulose diphosphate carboxylase in marine leaves.— *Plant Physiol.*, 50, 336, 1972.
4. *Kachru R. B., Anderson L. E.* Chloroplast and cytoplasmic enzymes Pea leaf carbonic anhydrase.— *Planta*, 118, 235, 1974.
5. *Atkins C. A., Patterson B. D., Graham D.* Plant carbonic anhydrases. Distribution of types among species.— *Plant Physiol.*, 50, 214, 1972.
6. *Graham D., Perry G. L., Atkins C. A.* In search of a role for carbonic anhydrase in photosynthesis.— In: *R. Soc. New Zealand Bull.*, 12, 251, Wellington, 1974.
7. *Jacobson B. S., Franklin F., Heath L.* Carbonic anhydrase of spinach. Studies of its location, inhibition and physiological function.— *Plant Physiol.*, 55, 468, 1975.
8. *Findenegg G. R.* Correlation between accessibility of carbonic anhydrase for external substrate and regulation of photosynthetic use of CO_2 and HCO_3^- by *Scenedesmus obliquus*.— *Z. Pflanzenphysiol.*, 79, 428, 1976.
9. *Reed M. L., Graham D.* Carbon dioxide and the regulation of photosynthesis: activities of photosynthetic enzymes and carbonate dehydratase (carbonic anhydrase) in *Chlorella* after growth or adaptation in different carbon dioxide concentrations.— *Austral. J. Plant Physiol.*, 4, 87, 1977.
10. *Hogetsu D., Miyachi S.* Role of carbonic anhydrase in photosynthetic CO_2 fixation in *Chlorella*.— *Plant and Cell Physiol.*, 20, 747, 1979.
11. *Семененко В. Е., Аврамова С., Георгиев Д., Пронина Н. А.* Сравнительное изучение активности и локализации карбоангидразы в клетках *Chlorella* и *Scenedesmus*.— *Физиол. растений*, 24, 1055, 1977.
12. *Everson R. G.* Carbonic anhydrase in photosynthesis.— In: *Photosynthesis and photorespiration*, 275. London — New York — Sidney — Tokio, 1971.
13. *Graham D., Atkins C. A., Reed M. L., Patterson B. D., Smillie R. M.* Carbonic anhydrase, photosynthesis and light-induced pH changes.— In: *Photosynthesis and photorespiration*, 267. London — New York — Sydney — Tokio, 1971.
14. *Werdan K., Heldt H. W.* Accumulation of bicarbonate in intact chloroplasts following a pH gradient.— *Biochim. et biophys. acta*, 283, 430, 1972.
15. *Govindjee, Khanna R.* Bicarbonate: its role in photosystem II.— In: *Photosynthetic oxygen evolution*, 269. London — New York — San-Francisco, 1978.
16. *Graham D., Reed M. L.* Carbonic anhydrase and the regulation of photosynthesis.— *Nat. New Biol.*, 231, 81, 1971.

17. Семенов В. Е., Аврамова С., Георгиев Д., Пронина Н. А. О световой зависимости карбоангидразной активности клеток *Chlorella* и *Scenedesmus*.— Физиол. растений, **26**, 1069, 1979.
18. Findenegg G. R. Inorganic carbon transport in microalgae. I. Location of carbonic anhydrase and $\text{HCO}_3^-/\text{OH}^-$ exchange.— Plant Sci. Letters, **17**, 101, 1979.
19. Raven J. A. Exogenous inorganic carbon sources in plant photosynthesis.— Biol. Rev., **45**, 167, 1970.
20. Felföldy L. S. M. Experiments on the carbonate assimilation of some unicellular algae by Ruttner's conductometric method. Acta biol. Acad. scient. hung., **11**, 67, 1960.
21. Findenegg G. R. Inorganic carbon transport in microalgae. II. Uptake of HCO_3^- ions during photosynthesis of five microalgae species.— Plant Sci. Letters, **18**, 289, 1980.
22. Семенов В. Е., Пронина Н. А., Купцова Е. С. Две формы карбоангидразы в клетках *Chlorella* и действие 2-дезоксид-Д-глюкозы на их синтез.— Тез. докл. IV Всес. биохим. съезда I, 273, 1979.
23. Laing W. A., Ogren W. L., Hogeman R. H. Bicarbonate stabilization of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase.— Biochemistry, **14**, 2269, 1975.

Институт физиологии растений
им. К. А. Тимирязева Академии
наук СССР, Москва
Научно-производственная
лаборатория альгологии
Болгарской Академии наук,
София

Поступила в редакцию
5.II.1980

A PATTERN OF CARBONIC ANHYDRASE ACTIVITY IN *CHLORELLA* AND *SCENEDESMUS* ON CELL ADAPTATION TO HIGH LIGHT INTENSITY AND LOW CO_2 CONCENTRATION

N. A. PRONINA, S. AVRAMOVA, D. GEORGIEV, V. E. SEMENENKO

K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow,

Industrial Research Laboratory of Algology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

A comparative study was performed on adaptive changes in carbonic anhydrase activity (CAA) in various cell fractions (soluble proteins, insoluble cell components, total cell-free extract, and intact cells) of *Chlorella* and *Scenedesmus*. In the course of adaptation to high light intensity, the enhancement of CAA was shown to be related in *Chlorella* to an increase in the activity of the membrane-bound enzyme form, whereas in *Scenedesmus* — to the soluble form of the enzyme. On the contrary, under low CO_2 the adaptive increase in CAA in *Chlorella* was due to the activity rise in the soluble form, whereas in *Scenedesmus* — to the membrane-bound form localized either in the cell wall or in plasmalemma. The light-dependent changes of CAA in *Scenedesmus* were mediated by changes in intracellular CO_2 concentration but in *Chlorella* they were determined by a direct light effect. An involvement of the carbonic anhydrase forms in CO_2 translocation and assimilation is discussed. A scheme of possible mechanisms of action of multiple carbonic anhydrase forms in the photosynthesizing cell is presented.