

УДК 581.19:577.15

ЗАВИСИМОСТЬ КАРБОАНГИДРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ
КЛЕТОК *CHLORELLA* ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2

Н. А. ПРОНИНА, З. М. РАМАЗАНОВ, В. Е. СЕМЕНЕНКО

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева
Академии наук СССР, Москва

Показано существование двух форм карбоангидразы (КА) в клетках *Chlorella*: мембранносвязанной (конститутивной), которая обнаруживается при различных условиях культивирования водорослей, и растворимой (адаптивной), индукцию которой вызывают низкие концентрации CO_2 в среде. Эти две формы фермента различаются внутриклеточным распределением и различной ролью в адаптивных реакциях. В адаптации ферментных систем к свету принимает участие мембранносвязанная форма КА *Chlorella*, тогда как растворимая форма фермента появляется только при снижении концентрации CO_2 . Индуцированный недостатком CO_2 синтез растворимой КА полностью подавляется циклогексимидом, но не хлорамфениколом. Изучена углекислотная зависимость КА-активности растворимой и мембранносвязанной КА. Исследована корреляция их с углекислотными кривыми фотосинтеза. Обсуждается физиологическая роль и участие различных форм КА в адаптивных реакциях фотосинтезирующих клеток.

Карбоангидраза — две формы — свет — углекислота — адаптация — фотосинтез.

В настоящее время имеется достаточно оснований считать, что молекула двуокиси углерода в фотосинтезе выполняет не только субстратную, но и регуляторную функцию. Об этом свидетельствуют, например, данные о зависимости кинетических характеристик углекислотных кривых фотосинтеза, углекислотного компенсационного пункта (УКП), а также активности карбоангидразы (карбонатгидролаза КФ 4.2.1.1) от условий CO_2 -питания [1—8]. Показано, что полунасыщающая фотосинтез концентрация CO_2 (K_m) и УКП значительно ниже для водорослей, выращенных при низких содержаниях углекислоты в среде, по сравнению с клетками, выращенными при высоких, насыщающих концентрациях CO_2 . Водоросли, адаптированные к низкой концентрации CO_2 , характеризуются также более высокой скоростью фотосинтеза в условиях углекислотного лимитирования процесса. Считается, что высокая скорость фотосинтеза, низкое значение K_m и УКП при CO_2 -лимитирующих условиях являются результатом облегченного транспорта неорганического углерода в клетку, а также действия внутриклеточных CO_2 -концентрирующих механизмов [4—6]. При этом допускают, что КА может участвовать в обеспечении эффективного поглощения CO_2 при недостатке углекислоты [1, 4, 7, 8]. Об этом свидетельствуют данные, полученные многими авторами на разных объектах (как высших, так и низших растениях), показывающие, что КА-активность значительно выше у растений, выращенных при низких концентрациях CO_2 в атмосфере [7—10]. При переходе от высокой (2—5%) концентрации углекислоты к 0,03% CO_2 в воздухе КА-активность водорослей и C_3 -растений увеличивается. При этом фотосинтез в начальный период после снижения концентрации CO_2 падает и затем увеличивается по мере адаптации водорослей, кото-

рая сопровождается возрастанием активности фермента [1, 7, 8, 11]. Такой лаг-фазы в изменении фотосинтеза не наблюдается, когда клетки, выращенные при естественной концентрации CO_2 воздуха, переводят на высокую концентрацию CO_2 . Эти данные, очевидно, свидетельствуют о регуляторной роли CO_2 в фотосинтезирующих клетках, а также о необходимости КА в утилизации углекислоты, особенно в условиях углекислотного лимитирования фотосинтеза.

Различие кинетических характеристик фотосинтеза адаптированных и не адаптированных к низкой концентрации CO_2 клеток водорослей (K_m , максимальной скорости процесса, УКП) показано при изучении углекислотных кривых фотосинтеза. В настоящей работе исследованы световые кривые фотосинтеза клеток *Chlorella*, адаптированных к низкой концентрации CO_2 (0,03%) и выращенных в условиях, насыщающей фотосинтез концентрации CO_2 (2%).

Ранее нами было показано, что в клетках *Chlorella* существуют две формы КА: конститутивная, которая обнаруживается при всех условиях культивирования, и индуцибельная, появление которой наблюдается при низких концентрациях CO_2 в среде [12, 13]. Причем конститутивная форма КА достаточно прочно связана с мембранной системой клетки, тогда как индуцибельная является растворимым белком.

Учитывая, что описанные в литературе [7—10] исследования по зависимости активности фермента от углекислотного обеспечения растений проведены на неочищенных гомогенатах (или только с растворимой фракцией белка) и в условиях крайних значений концентраций CO_2 (воздух и насыщающие фотосинтез), целью настоящей работы было исследование изменений активности и локализации КА в клетках *Chlorella* в широком диапазоне изменений концентрации CO_2 . В работе получены углекислотные кривые изменения КА-активности во фракции растворимых белков и нерастворимых клеточных компонентов и исследована их корреляция с углекислотными кривыми фотосинтеза.

МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использовали культуру *Chlorella sp. K*. Водоросли культивировали в стерильных условиях на среде Тамия при оптимальной температуре и постоянном барботировании смесью воздуха с 2% CO_2 или воздухом с естественной концентрацией CO_2 (0,03%) при различных освещенностях.

Динамику КА-активности клеток *Chlorella* при сопряженном действии изменений интенсивности света и концентрации CO_2 исследовали при последовательной адаптации водорослей, выращенных в условиях 2% CO_2 и 40 Вт·м⁻², сначала к свету высокой интенсивности (100 Вт·м⁻²) при сохранении насыщающей фотосинтез концентрации CO_2 и затем к снижению концентрации углекислоты до 0,03% на фоне высокой освещенности клеток.

Световые кривые фотосинтеза измеряли амперметрическим методом по выделению кислорода при 2 и 0,03% CO_2 у водорослей, выращенных в оптимальных условиях роста при 2% CO_2 , а также у водорослей, адаптированных к низкой концентрации CO_2 (0,03%) [14].

Для исследования зависимости интенсивности фотосинтеза и КА-активности от концентрации CO_2 водоросли выращивали в установке для высокоинтенсивного, проточного культивирования со стабилизированной плотностью суспензии на уровне 400·10⁶ клеток/мл при одностороннем освещении 400 Вт·м⁻² и температуре 36°. Концентрацию в газовой смеси изменяли ступенчато (5; 2; 1,2; 0,6; 0,3 и 0,03%), начиная с максимальной, с выдерживанием водорослей при каждом значении в течение 5 ч. Интенсивность фотосинтеза определяли непрерывно в течение роста водорослей по CO_2 - и O_2 -газообмену. Газообмен культуры

определяли с помощью датчика парциального давления растворенного кислорода и инфракрасным оптико-акустическим газоанализатором ОА-2209 по изменению разницы концентраций CO_2 на входе и выходе культиватора [14, 15]. Газоанализатор автоматически регистрировал, таким образом, и исходную концентрацию CO_2 в подаваемой газовой смеси [15].

Активность КА в общем гомогенате и его фракциях после 5-часовой адаптации клеток определяли электрометрическим способом, как описано ранее [16, 17], и рассчитывали в единицах активности Вильбура-Андерсена по формуле $U=10(T_0/T-1)$, где T_0 — время в с изменения рН неэнзиматической реакции, T — время в с изменения рН энзиматической реакции. КА-активность также рассчитывали в мкмоль CO_2 в мин на мг сухой массы или мг белка на основании калибровочной кривой, полученной титрованием буфера стандартным раствором 0,01 н. HCl .

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлена динамика КА-активности в различных клеточных фракциях *Chlorella* при увеличении освещенности клеток и снижении концентрации CO_2 . Как видно, действие обоих факторов вызывает увеличение активности КА в гомогенате (кривая 1). Но при адаптации

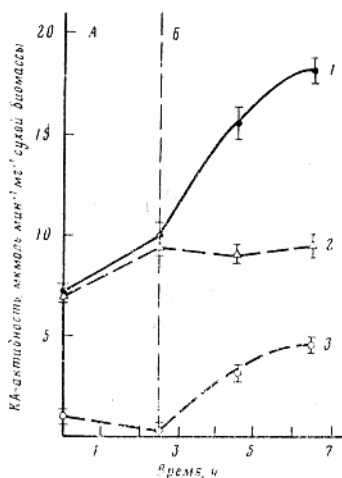


Рис. 1

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

Активность карбоангидразы: А — при переходе от 40 к 100 $\text{Вт}\cdot\text{м}^{-2}$, Б — при переходе от 2% концентрации CO_2 к 0,03% при 100 $\text{Вт}\cdot\text{м}^{-2}$; 1 — гомогенат, 2 — мембраносвязанная карбоангидраза, 3 — растворимая карбоангидраза

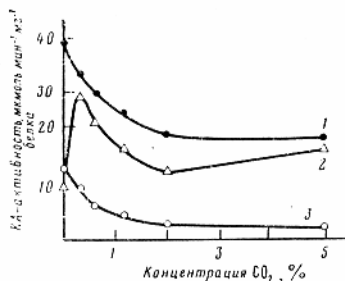


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость карбоангидразной активности *Chlorella sp. К.* от концентрации CO_2

1 — карбоангидразная активность гомогената, 2 — активность мембраносвязанной карбоангидразы, 3 — активность растворимой формы карбоангидразы

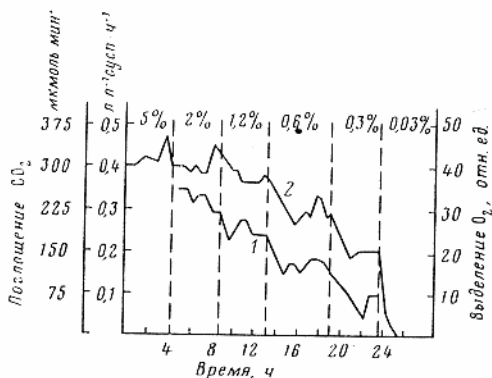
водорослей к высокой интенсивности света увеличивается активность мембраносвязанной формы фермента (кривая 2), а при недостатке CO_2 — растворимой формы КА (кривая 3). Такие изменения активности КА клеток *Chlorella sp. К.* при сопряженном действии света и концентрации CO_2 подтверждают результаты, полученные нами ранее для другого

штамма хлореллы — *Chlorella vulgaris* C-3 [12], свидетельствуя о световой и углекислотной зависимости КА-активности клеток *Chlorella* и сходстве адаптивных реакций у разных штаммов хлореллы к изменению этих наиболее важных параметров среды.

Световая зависимость КА-активности *Chlorella* изучена нами ранее достаточно полно в широком диапазоне освещенностей клеток [16]. На рис. 2 и 3 представлены данные, характеризующие углекислотную зависимость КА-активности и интенсивности фотосинтеза водорослей в достаточно широкой области изменений концентрации CO_2 . Выращивание

Рис. 3. Зависимость интенсивности фотосинтеза *Chlorella* sp. К от концентрации CO_2

Непрерывная запись в течение роста культуры. 1— CO_2 -газообмен, 2— O_2 -газообмен



водорослей в течение 5 ч на каждой из выбранных концентраций CO_2 вполне достаточно для полной адаптации клеток, что видно из результатов, представленных на рис. 1 и полученных ранее [12].

Анализируя углекислотные кривые КА-активности (рис. 2), можно отметить, что при насыщающих фотосинтез концентрациях CO_2 от 5 до 2% в газовой смеси (см. рис. 3) активность фермента не изменяется как в суммарном гомогенате (рис. 2, 1), так и его фракциях (кривые 2, 3). В этих условиях выращивания водорослей КА-активность обнаруживается только в мембранных белках (кривая 2), тогда как во фракции растворимых белков имеет очень низкие значения (кривая 3), что также согласуется с результатами, полученными нами ранее [17].

Таким образом, в пределах насыщающих фотосинтез концентраций углекислоты КА-активность в клетках *Chlorella* не изменяется и фермент представлен только мембранносвязанной формой.

При снижении концентрации углекислоты в газовой смеси ниже 2%, когда CO_2 начинает лимитировать фотосинтез (рис. 3), суммарная активность КА в гомогенате водорослей увеличивается (рис. 2, 1). Это увеличение общей КА-активности связано с появлением и ростом активности фермента во фракции растворимых белков (кривая 3). Изменение активности мембранносвязанной формы фермента в клетках *Chlorella* при уменьшении концентрации CO_2 ниже насыщающей фотосинтез носит более сложный характер (кривая 2) и описывается зависимостью с максимумом около 0,3% CO_2 в воздушной смеси.

Представленные выше данные свидетельствуют о важной роли растворимой КА для утилизации CO_2 при низких ее концентрациях. Ранее нами было установлено [13], что увеличение активности этой формы фермента в клетках *Chlorella* при углекислотном голодании связано с синтезом фермента *de novo* на 80S рибосомах (см. таблицу). Индуцированный недостатком CO_2 синтез растворимой КА полностью подавляется циклогексимидом, но не ингибируется хлорамфениколом в отличие от мембранносвязанной формы фермента, активность которой не подавляется этими антибиотиками в сопоставимых условиях.

С необходимостью синтеза фермента при переводе водорослей на низкие концентрации CO_2 связывают, как было уже отмечено, наличие индукционного лаг-периода в изменении фотосинтеза [1, 7, 8, 11]. На рис. 3 представлена непрерывная запись фотосинтеза по CO_2 - и O_2 -газообмену в течение роста культуры в условиях различных концентраций CO_2 в газовой смеси. CO_2 -газообмен (кривая 1) регистрировали начиная с 2%-ной концентрации, что определялось пределом измерений газоанализатора. Как видно, при уменьшении концентрации CO_2 ниже насыщающих фотосинтез значений интенсивность фотосинтетической

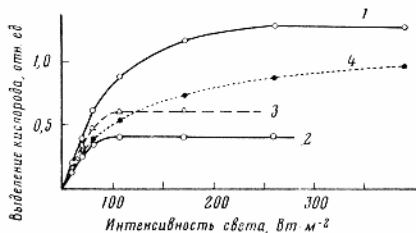


Рис. 4

Рис. 4. Световые кривые фотосинтеза *Chlorella sp. K.*, адаптированной к различным условиям углекислотного питания

1, 2 — культура выращена при 2% CO_2 , световые кривые измерены при 2% (*1*), при 0,03% CO_2 (*2*), 3, 4 — культура адаптирована к 0,03% CO_2 , световые кривые измерены при 0,03% CO_2 через 45 мин (*3*), через 4,5 ч адаптации (*4*)

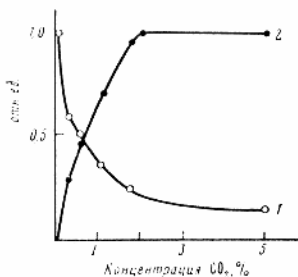


Рис. 5

Рис. 5. Зависимость активности растворимой формы карбоангидразы и интенсивности фотосинтеза *Chlorella sp. K.* от концентрации CO_2

1 — активность растворимой карбоангидразы, 2 — интенсивность фотосинтеза

ассимиляции углекислоты сначала падает ниже нового стационарного уровня, а затем в течение 1—2 ч повышается до него. Индукционный период в изменении фотосинтеза при снижении CO_2 наблюдается при измерении как скорости поглощения CO_2 (кривая 1), так и выделения O_2 (кривая 2). Именно в течение этого периода адаптации, как видно из рис. 1, увеличивается активность КА в клетках водорослей вследствие индуцированного синтеза растворимой формы фермента.

Существенным обстоятельством является то, что в результате такой биохимической адаптации клетки водорослей приобретают новое физиологическое свойство, а именно: способность эффективно ассимилировать CO_2 при низких ее концентрациях. Это видно из рис. 4, на котором представлены световые кривые фотосинтеза клеток *Chlorella*, адаптированных различного времени к естественной (0,03%) концентрации CO_2 в воздухе и водорослей, выращенных в условиях 2% CO_2 в воздухе (неадаптированные клетки). Неадаптированные клетки при измерении их фотосинтеза в условиях 0,03% CO_2 (кривая 2) имеют низкое световое плато насыщения по сравнению со световой кривой фотосинтеза при 2% CO_2 (кривая 1). Вместе с тем после адаптации клеток к низкой концентрации CO_2 скорость фотосинтеза значительно повышается (кривые 3, 4), так что клетки, адаптированные 4, 5 ч к 0,03% CO_2 , имеют плато световой кривой фотосинтеза (кривая 4) в 2 раза выше по сравнению с неадаптированной культурой (кривая 2) при измерении фотосинтеза этих водорослей в одинаковых условиях при 0,03% CO_2 .

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о существовании двух форм КА в клетках хлореллы: конститутивной (мембранносвязанной) и индуцибельной (растворимой). Эти формы КА различаются внутриклеточным распределением и различным участием в адаптивных реакциях, связанных с изменением светового и углекислотного режима выращивания водорослей. В адаптации ферментных систем к свету принимает участие мембранносвязанная КА (рис. 1), а в условиях углекислотного лимитирования фотосинтеза — растворимая форма КА (рис. 1, 2).

Необходимо отметить, что лимитация фотосинтеза проявляется при значениях концентрации углекислоты в газовой смеси менее 2% (рис. 3). При этом расчетная величина растворенной CO_2 для воды составляет $47,6 \cdot 10^{-5}$ М [15]. Но при обычном для выращивания водорослей щелочном значении pH среды (8,2—8,3 в нашем эксперименте) концентрация растворенной CO_2 может быть в 20—30 раз ниже, что, по-видимому, и объясняет лимитирование фотосинтеза, несмотря на высокое процентное содержание CO_2 в газовой смеси.

Как видно из таблицы, индуцированный недостаток CO_2 синтез растворимой КА происходит только на свету и зависит от интенсивности света. Активность этой формы фермента клеток *Chlorella*, адаптированных к низкой концентрации CO_2 в условиях, насыщающих фотосинтез интенсивностью света, значительно превышает уровень активности фермента клеток, адаптированных к 0,03% CO_2 при низкой освещенности. Это указывает, с одной стороны, на удивительную согласованность предела накопления или скорости синтеза фермента с энергетическим обеспечением клетки. С другой стороны, эти факты могут свидетельствовать о том, что индуцирующим фактором в образовании растворимой формы КА является, по-видимому, не собственно недостаток CO_2 , а какие-то продукты лимитированного углекислотой фотосинтеза (например, изменения соотношения аденилатного пула, продукты оксигеназной реакции или др.). Вопрос о зависимости индукции и скорости синтеза фермента при адаптации клеток к низким концентрациям CO_2 от функционирования хлоропласта и интенсивности света представляет несомненный интерес для дальнейших исследований.

Как видно из рис. 5, при снижении концентрации CO_2 наблюдается строгая корреляция между изменениями интенсивности фотосинтеза и активности растворимой формы КА (кривые нормированы относительно единицы). С уменьшением скорости фотосинтетической ассимиляции углекислоты на линейном участке углекислотной кривой активность растворимой КА увеличивается, т. е. чем больше степень лимитирования фотосинтеза углекислотой, тем выше активность растворимой КА. Эти данные свидетельствуют о том, что физиологическая роль индукции син-

Активность растворимой карбоангидразы клеток *Chlorella* при различных условиях культивирования

Условия культивирования	Активность КА, ед. на мг белка		
	I эксперимент	II эксперимент	III эксперимент
Свет — 40 Вт·м ⁻² , CO_2 — 2%	1,15	1,4	3,3
Свет — 40 Вт·м ⁻² , CO_2 — 0,03%	8,36	7,92	12,51
Свет — 40 Вт·м ⁻² , CO_2 — 0,03%, циклогексимид — 3 мкг/мл	1,69	0,7	1,2
Свет — 40 Вт·м ⁻² , CO_2 — 0,03%, хлорамфеникол — 1 мг/мл	9,1	—	10,8
Свет — 100 Вт·м ⁻² , CO_2 — 2%	$0,64 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,23$
Свет — 100 Вт·м ⁻² , CO_2 — 0,03%	$18,89 \pm 2,5$	$20,0 \pm 3,0$	$22,1 \pm 2,7$
Темнота, CO_2 — 0,03%	1,1	1,1	5,0

теза растворимой КА состоит, по-видимому, в приобретении клеткой способности эффективно ассимилировать CO_2 в условиях углекислотного голодания. Об этом же свидетельствуют данные о повышении плато световых кривых фотосинтеза клеток, адаптированных к низкой концентрации CO_2 по сравнению с неадаптированной культурой (рис. 4), а также наличие лаг-фазы в изменении фотосинтеза при снижении концентрации углекислоты (рис. 3).

Вместе с тем конкретные механизмы участия КА в фотосинтетической ассимиляции низких концентраций CO_2 остаются неясными. Предполагается, что КА может принимать участие в облегчении диффузии CO_2 через клеточные мембраны, в усвоении водородолями в процессе фотосинтеза экзогенного бикарбоната и в концентрировании CO_2 в зонах карбоксилирования из бикарбонатного пула в хлоропласте [7, 8, 10, 12, 18, 19]. Все эти механизмы, в свою очередь, приводят к значительному увеличению концентрации неорганического углерода в клетке по сравнению со средой [4, 5], следствием чего является снижение значений полунасыщающей фотосинтез концентрации CO_2 , УКП и увеличение скорости фотосинтеза [1—6].

Наши данные, указывающие на индукцию синтеза растворимой КА в цитоплазме (таблица), и ранее сделанное заключение об усвоении в условиях низких концентраций углекислоты свободной CO_2 , а не бикарбоната [12], указывают на участие КА *Chlorella* в облегчении транспорта CO_2 в клетке.

Остается неясным увеличение активности мембранносвязанной КА *Chlorella* в области от 2 до 0,3% CO_2 (рис. 2), хотя дальнейший ход активности этой формы фермента при снижении содержания CO_2 менее 0,3% указывает на прямую корреляцию изменений ее активности с фотосинтезом. Очевидно эта форма фермента более тесно связана с собственно фотосинтетическими реакциями хлоропласта и адаптивными реакциями этого компартамента клетки в ответ на изменение содержания субстрата фотосинтеза. Возможно, что мембранносвязанная КА клеток *Chlorella* локализована в хлоропласте, о чем может косвенно свидетельствовать установленная нами световая зависимость активности этой формы фермента [16], и ее функции связаны с концентрированием CO_2 в зоне реакций карбоксилирования или с созданием и поддержанием светоиндуцированного градиента протона на тилакоидных мембранах. Обе эти функции КА рассматриваются в литературе в виде гипотез для объяснения физиологической роли фермента в фотосинтезирующей клетке и получили некоторое экспериментальное подтверждение [7, 8].

Исследование локализации обнаруженной нами мембранносвязанной КА *Chlorella*, подтверждающее участие этой формы фермента в осуществлении фотосинтетических реакций хлоропласта, составит предмет следующего сообщения.

Таким образом, приведенные данные о различии хода углекислотных кривых активности мембранносвязанной и растворимой КА клеток *Chlorella* при низких содержаниях CO_2 в среде могут указывать на существование двух форм фермента в клетках этих водорослей, которые различаются не только по внутриклеточному распределению, но и функционально.

Во время подготовки к печати данной статьи в тезисах V Международного конгресса по фотосинтезу появились данные, подтверждающие наши результаты о том, что индуцируемое недостатком CO_2 увеличение активности КА связано с синтезом фермента на 80 S рибосомах [20]. При этом Миячи [21] предполагает, что синтезируемая в цитоплазме КА транспортируется в хлоропласт и участвует в увеличении концентрации CO_2 в хлоропласте путем «непрямого транспорта» углекислоты из бикарбонатного пула в дополнение к «прямому транспорту» в результате диффузии. Однако наши данные [12, 16, 17] показывают, что эту функцию

может выполнять конститутивная (мембранносвязанная) КА, а синтезируемая в цитоплазме растворимая КА участвует в транспорте CO_2 через этот компартмент клетки [12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Hogetsu D., Miyachi S. Effect of CO_2 concentration during growth on subsequent photosynthetic CO_2 fixation in *Chlorella*.— Plant and Cell Physiol., 1977, v. 18, № 2, p. 347.
2. Berry J., Boynton J., Kaplan A., Badger M. Growth and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii* as a function of CO_2 concentration.— In: Carnegie Inst. Year Book, 1976, v. 75, p. 423.
3. Findenegg G. R., Fischer K. Apparent photorespiration of *Scenedesmus obliquus* decrease during adaptation to low CO_2 level.— Z. Pflanzenphysiol., 1978, v. 89, № 4, p. 363.
4. Badger M. R., Kaplan A., Berry J. A. The internal CO_2 pool of *Chlamydomonas reinhardtii*: response to external CO_2 .— In: Carnegie Inst. Year Book, 1977, v. 76, p. 362.
5. Kaplan A., Badger M. R., Berry J. A. Photosynthesis and the intracellular inorganic carbon pool in the bluegreen algae *Anabaena variabilis*: response to external CO_2 concentration.— Planta, 1980, v. 149, № 3, p. 219.
6. Tsuzuki M., Miyachi S. Effect of CO_2 concentration during growth and of ethoxzolamide on CO_2 compensation point in *Chlorella*.— FEBS Letters, 1979, v. 109, № 2, p. 221.
7. Hogetsu S. D., Miyachi S. Role of carbonic anhydrase in photosynthetic CO_2 fixation in *Chlorella*.— Plant and Cell Physiol., 1979, v. 20, № 4, p. 747.
8. Graham D., Reed M. Z. Carbonic anhydrase and the regulation of photosynthesis.— Nat. New Biol., 1971, v. 231, p. 81.
9. Cervigni Y. T., Teofani F., Bassanelli C. Effect of CO_2 on carbonic anhydrase in *Avena sativa* and *Zea mays*.— Phytochemistry, 1971, v. 10, № 12, p. 2991.
10. Findenegg G. 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., 1976, v. 79, № 5, p. 428.
11. Graham D., Wittingham C. P. The parth of carbon during photosynthesis in *Chlorella pyrenoidosa* at high and low carbon dioxide concentration.— Z. Pflanzenphysiol., 1968, B. 58, № 5, p. 418.
12. Пронина Н. А., Аврамова С., Георгиев Д., Семенов В. Е. Динамика карбоангидразной активности *Chlorella* и *Scenedesmus* при адаптации клеток к свету высокой интенсивности и к низкой концентрации CO_2 .— Физиол. растений, 1981, т. 28, № 1, с. 43.
13. Семенов В. Е., Пронина Н. А., Купцова Е. С. Две формы карбоангидразы в клетках *Chlorella* и действие 2-дезоксид-Д-глюкозы на их синтез.— Тезисы IV Всесоюзного биохимического съезда. М.: Наука, 1979, т. 1, с. 273.
14. Семенов В. Е., Синицкий И. Г., Цоглин Л. Н. Установка для изучения CO_2 , O_2 -газообмена микроводорослей.— В кн.: Материалы VII Всесоюзного рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов. Киев: Наукова думка, 1972, с. 26.
15. Семенов В. Е., Владимирова М. Г., Цоглин Л. Н., Попова М. А. Зависимость роста, продуктивности и интенсивности фотосинтеза хлореллы от концентрации CO_2 в газовой смеси и коэффициента вентиляции культуры.— В кн.: Управляемый биосинтез. М.: Наука, 1966, с. 128.
16. Семенов В. Е., Аврамова С., Георгиев Д., Пронина Н. А. О световой зависимости карбоангидразной активности клеток *Chlorella* и *Scenedesmus*.— Физиол. растений, 1979, т. 26, № 5, с. 1069.
17. Семенов В. Е., Аврамова С., Георгиев Д., Пронина Н. А. Сравнительное изучение активности и локализации карбоангидразы в клетках *Chlorella* и *Scenedesmus*.— Физиол. растений, 1977, т. 24, № 5, с. 1055.
18. Suchdeo S. R., Schultz J. S. Mass transfer of CO_2 across membranes facilitation in the presence of bicarbonate ion and the enzyme carbonic anhydrase.— Biochim. et biophys. acta, 1974, v. 352, № 3, p. 412.
19. Gutknecht J., Bisson M. A., Tostesson L. C. Diffusion of carbon dioxide through lipid bilayer membrane. Effect of carbonic anhydrase, bicarbonate and unstirred layers.— J. Gen. Physiol., 1977, v. 69, p. 779.
20. Shiraiwa Y., Fakler J., Miyachi S. Controlling factors of carbonic anhydrase activity in some microalgae.— In: Abstracts of Fifth International congress on photosynthesis, 1980. Greece, p. 527.
21. Miyachi S. Role of carbonic anhydrase in photosynthesis.— In: Abstracts of Fifth International congress on photosynthesis, 1980. Greece, p. 384.

Поступила в редакцию
9.IV.1980