

Effects of Actinic Light Intensity on Photosynthetic Characteristics of *Arabidopsis thaliana* with Knockout of Alpha-Carbonic Anhydrase 2 Gene

E.M. Zhurikova*, N.N. Rudenko, L.K. Ignatova, D.V. Vetoshkina,
N.S. Novichkova, B.N. Ivanov

*Institute of Basic Biological Problems of the Russian Academy of Sciences Federal Research Center
«Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences»,
Pushchino, 142290 Russia*

*E-Mail: zhurikova-alena@yandex.ru

Received December 26, 2018

In the *Arabidopsis thaliana* plants with knock-out of alpha-carbonic anhydrase 2 gene grown under 80 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ the ratio of chlorophyll *a* to chlorophyll *b* and the non-photochemical quenching of chlorophyll *a* fluorescence were higher, while the effective quantum yield and the amount of starch in leaves were lower as compared with wild type plants. After transfer of both plants to increased light intensity, 400 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 14 days the first characteristics increased in much lesser extent in mutant plants than in wild type plants, and became less than in wild type plants. There against, under these conditions the effective quantum yield and the amount of starch became higher in the mutant plants. The data are discussed as the result of the alpha-CA2 involvement into a control of proton concentration in the thylakoid lumen.

Key words: *Arabidopsis thaliana, carbonic anhydrase, photosynthesis, light intensity*

Карбоангидраза (КА, карбонатгидролиаза НФ 4.2.1.1.) – фермент, осуществляющий обратимую гидратацию углекислого газа: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Фермент встречается во всех живых организмах: от прокариот до млекопитающих. К настоящему времени все КА классифицированы по нуклеотидным последовательностям, кодирующим аминокислоты, входящие в состав активного центра на семь генных семейств (Hewett-Emmett, Tashian, 1996, DiMario *et al.*, 2017). В высших растениях встречаются представители трех семейств (альфа, бета и гамма) (Moroney *et al.*, 2001). Секвенирование геномов позволило установить, что в клетках высших растений содержится значительное количество генов, относящихся к самому молодому семейству КА – альфа-семейству (DiMario *et al.*, 2017). В растениях *Arabidopsis thaliana* найдено восемь генов этого семейства, но установлено местонахождение только двух кодируемых ими белков (альфа-КА1 и альфа-КА4), и оба эти белка находятся в хлоропластах (используется номенклатура КА *A. thaliana*, предложенная Fabre *et al.*, 2007). Альфа-КА1 обнаружена в строме хлоропластов (Villarejo *et al.*, 2005) и, по-видимому, именно она связана с фотосинтезом (Buren, 2010), поскольку её отсутствие влияло на показатели фотосинтеза, в то время как снижение до 1-2% содержания другой стромальной КА бета семейства не приводило к снижению показателей фотосинтеза (Price *et al.*, 1994). Альфа-КА4 найдена среди белков тилакоидных мембран (Friso *et al.*, 2004) и, по нашим данным, находится вблизи ФС2, на люменальной стороне тилакоидной мембраны (Ignatova *et al.*, 2019).

Ранее было установлено, что уменьшение размера светособирающей антенны ФС2 при адаптации растений к высокой интенсивности света происходит за счет уменьшения биосинтеза соответствующих белков на транскрипционном или пост-транскрипционном этапе (Borisova-Mubarakshina *et al.*, 2014). Более того, было установлено, что сигналом для адаптационного уменьшения размера антенны ФС2 при увеличении интенсивности света является пероксид водорода, образованный при участии компонентов пула

пластохинона (Borisova-Mubarakshina *et al.*, 2015). Было найдено, что в условиях высокой интенсивности света мутантные растения с заблокированным синтезом альфа-КА4 имели меньший размер антенны и более низкие значения нефотохимического тушения флуоресценции (НФТ) хлорофилла *a* по сравнению с диким типом (Rudenko *et al.*, 2018). В растениях с нокаутом гена *At2g28210*, кодирующего альфа-КА2 с неизвестным местонахождением в клетке наблюдались изменения в тех же показателях фотосинтеза, что и при нокауте гена *At4g20990*, однако эти изменения были противоположны, наблюдаемым в нокаутах по альфа-КА4 (Журикова *и др.*, 2016). Скорость ассимиляции CO_2 и величина энергетического компонента НФТ хлорофилла *a* в листьях растений с нокаутом по альфа-КА4 были ниже, чем в ДТ, тогда как в листьях растений с нокаутом по альфа-КА2 выше, чем в ДТ (Журикова *и др.*, 2015; 2016). Изменения одних и тех же показателей фотосинтеза мутантов по альфа-КА2 и альфа-КА4 позволили предположить, что альфа-КА2, как и альфа-КА4, находится в тилакоидной мембране (Журикова *и др.*, 2016).

Для более полного понимания роли альфа-КА2 в растениях было исследовано влияние интенсивности освещения при выращивании растений на основные показатели фотосинтеза: синтез крахмала и растворимых сахаров, эффективный квантовый выход ФС2, содержание пигментов и НФТ хлорофилла *a* в нокаутных мутантах по альфа-КА2 в сравнении с растениями дикого типа (ДТ).

MATERIALS AND METHODS

Использовали растения *Arabidopsis thaliana* экотип Columbia (ДТ) и растения, нокаутированные по гену *At2g28210*, кодирующему альфа-КА2 (гомозиготная линия 9-11, полученная из линии SALK_120400). Семена растений любезно предоставлены Prof. J.V. Moroney, (Louisiana State University, USA). После образования четырех настоящих листьев через 21 день растения пикировали в горшки с почвой объемом 150 мл.

Растения выращивали в климатической камере при постоянной температуре 18-20°C, освещении 80 мкмоль квантов/м²с и концентрации CO₂ 450 ppm. Часть растений ДТ и мутанта по альфа-КА2 на 14 дней помещали в условия повышенной освещенности - 400 мкмоль квантов/м²с. Применение 8 часового светопериода позволило продлить вегетацию - предотвратить цветение растений и увеличить биомассу листьев. Для экспериментов использовали 50-60 дневные растения.

Содержание пигментов в листе измеряли после экстракции 96% этанолом (Lichtenthaler, 1987). Определение содержания крахмала проводили путем измерения оптической плотности при 620 нм водных экстрактов листьев после добавки KI (Karlan et al., 2012). Измерение флуоресценции хлорофилла а целого листа проводили с помощью флуориметра Mini-PAM (Walz, Германия). Перед измерением лист затемняли 30 минут. Интенсивность вспышки насыщающего света 8000 мкмоль квантов/м²с, длительностью 0,8 с, интенсивность действующего света соответствовала свету выращивания растений в климатической камере (80 или 400 мкмоль квантов/м²с). НФТ хлорофилла а оценивали, рассчитывая коэффициент qN после 10 минут освещения действующим светом. Энергозависимый компонент НФТ хлорофилла а, qE, оценивали, рассчитывая коэффициент qN3 по релаксации уровня флуоресценции после 3-х минут в темноте после выключения действующего света. Компонент НФТ хлорофилла а qN15, характеризующий релаксацию виолаксантинового цикла, оценивали по релаксации уровня флуоресценции с 3 по 15 минуту после выключения действующего света. Коэффициенты рассчитывали по формулам: $qN = (F_m - F_m') / (F_m - F_0')$; $qN3 = (F_{m3} - F_m') / (F_m - F_0')$; $qN15 = (F_{m15} - F_{m3}) / (F_m - F_0')$.

Для измерения содержания H₂O₂ листья растений брали из камеры выращивания после 3-х часов освещения, взвешивали и замораживали в жидком азоте. Затем растирали в 0,4 мл 2 М трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и гомогенат переносили в пробирки с 3 мл 0,05 М калий-

фосфатного буфера. В пробирки добавляли активированный уголь для удаления хлорофиллов, феофитина и каротиноидов. После 1 часа инкубации при 4°C гомогенат центрифугировали при 10000 × g в течение 10 мин. Супернатант титровали 2 М КОН до pH 7,0. Содержание пероксида водорода в 50 мкл супернатанта оценивали по регистрации с помощью прибора Lum-101 (Россия) величины люминесценции после добавления к супернатанту смеси 5 мкМ пероксидазы и 50 мМ люминола. При построении калибровочной кривой вместо супернатанта использовали 50 мкл H₂O₂ известной концентрации.

RESULTS

Для выяснения роли альфа-КА2 в адаптации растений к высокой интенсивности света были измерены характеристики фотосинтеза в мутантах по альфа-КА2 и в растениях ДТ, выращенных при низкой освещенности (80 мкмоль квантов/м²с) и затем адаптированных к высокой освещенности (400 мкмоль квантов/м²с). Содержание крахмала в листьях мутанта по альфа-КА2, выращенного при низкой интенсивности света, было ниже, чем в листьях растений ДТ. После адаптации к высокой интенсивности света содержание крахмала увеличивалось в листьях растений и ДТ, и мутанта по альфа-КА2, однако в мутанте это увеличение было более значительным, и в расчете на сырой вес становилось выше, чем в ДТ (табл. 1). Содержание растворимых сахаров у мутанта и ДТ при увеличении интенсивности света возросло на 20%, при этом у мутанта содержание оставалось несколько ниже, чем у ДТ (табл. 1), т.е. отличие мутанта от ДТ при изменении уровня освещенности проявилось именно в изменении содержания крахмала.

Известно, что при адаптации растений к увеличению освещенности происходит уменьшение размера антенны ФС2, а именно, светособирающего комплекса (ССК2) ФС2 (Bailey et al., 2001; Borisova-Mubarakshina et al., 2014). Один из простых и надежных методов оценки различий в размере антенны - измерение соотношения хлорофиллов а и b, поскольку антенные коровые субъединицы ФС2 и мажорные тримерные комплексы ФС2

характеризуются различным содержанием хлорофилла *a* (Хл *a*) и *b* (Хл *b*). Коровые субъединицы CP47 и CP43 связывают Хл *a*, в то время как минорные антенные белки, а также мажорные ССК2 комплексы связывают не только Хл *a*, но и также Хл *b*. В высших растениях уменьшение размера антенны ФС2 при долговременном увеличении интенсивности света происходит в основном за счет уменьшения количества ССК2 тримеров, что приводит к уменьшению в количестве Хл *b* (Lindahl *et al.*, 1995; Ballottari *et al.*, 2007; Frigerio *et al.*, 2007). Поэтому увеличение в отношении Хл *a*/Хл *b* отражает уменьшение размера антенны ФС2 (Lindahl *et al.*, 1995), и изменения в составе светособирающей антенны ФС2 могут отслеживаться по изменениям в отношении Хл *a*/Хл *b*. Как видно из табл. 2, и в ДТ, и в мутанте при увеличении освещенности растений происходит увеличение отношения Хл *a*/Хл *b*, что свидетельствует об уменьшении ССК2. Однако данное отношение в ДТ возрастает почти на 17%, что указывает на существенное уменьшение антенны, тогда как в мутанте оно возрастает всего на 6%, т.е. размер антенны уменьшается незначительно. Это различие показывает, что в мутанте нарушена регуляция размера антенны в ответ на увеличение интенсивности света. Ранее нами было показано, что сигналом к уменьшению размера антенны служат молекулы H₂O₂ (Borisova-Mubarakshina *et al.*, 2015). Однако, как видно из рис. 1, содержание H₂O₂ в листьях ДТ практически не изменилось при увеличении освещенности, что вероятно является следствием того, что растения адаптировали к высокой интенсивности света в течение 14 дней, в то время, как показано в работе (Borisova-Mubarakshina *et al.*, 2014), уже через 5 дней роста растений при повышенной освещенности, но при постоянном освещении характеристики фотосинтеза при высокой освещенности возвращаются к значениям, наблюдавшимся при низкой освещенности. Содержание H₂O₂ в листьях мутанта при увеличенной освещенности становилось ненамного больше, чем в листьях растений ДТ.

В табл. 2 также показано, что имеются существенные различия в содержании фотосинтетических пигментов в растениях ДТ и мутантов, а также в их изменении при изменении освещенности растений. Содержание суммы хлорофиллов *a* и *b* при низкой интенсивности света в мутанте было меньше, чем у ДТ. Интересно что; при высокой интенсивности у ДТ произошло значительное снижение их содержания, тогда как в мутанте такого снижения не наблюдалось, и количество хлорофилла оказалось даже выше, чем в ДТ. Содержание каротиноидов показало практически ту же тенденцию, за исключением того, что при увеличении освещенности их содержание в мутанте также, как и в ДТ, снизилось, но существенно меньше и поэтому стало выше, чем в ДТ.

Параметры флуоресценции измеряли при интенсивности действующего света, соответствующей интенсивности света при выращивании. Для оценки влияния отсутствия альфа-КА2 на функционирование фотосинтетической электрон-транспортной цепи на основании параметров флуоресценции хлорофилла *a* листьев были рассчитаны эффективный квантовый выход ФС2 Y(II) и коэффициенты: qN, характеризующий общее НФТ флуоресценции хлорофилла *a*, qN3, компонент НФТ флуоресценции хлорофилла *a*, характеризующий быстро релаксирующий компонент НФТ флуоресценции хлорофилла *a*, обусловленный активацией PsbS белка, и qN15 - средний по времени релаксации компонент НФТ флуоресценции хлорофилла *a*, обусловленный активацией виолаксантинового цикла. В мутантных растениях при низкой интенсивности света Y(II) был несколько ниже, чем в ДТ, а qN, qN3 и qN15 были выше, чем в ДТ (табл. 3). В мутантных растениях, адаптированных к высокой интенсивности света, коэффициент qN15 становился близким к этому коэффициенту в ДТ, а величины qN и qN3 становились несколько ниже, чем в ДТ. Эффективный квантовый выход ФС2 Y(II) при адаптации к увеличенной освещенности уменьшался и в ДТ, и в мутанте, но в мутанте это уменьшение было менее значительным и Y(II) становился больше, чем в ДТ.

Table-1. Содержание крахмала и растворимых сахаров в листьях *Arabidopsis thaliana* дикого типа (ДТ) и растений, нокаутированных по гену, кодирующему альфа-КА2, выращенных при атмосферной концентрации CO₂ в условиях 8 ч день/16 ч ночь при 80 мкмоль квантов/м²с или при 400 мкмоль квантов/м²с. Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Освещенность, мкмоль квантов/м ² с	Вариант	Содержание (мг/г сыр веса)	
		Крахмал	Раств. сахара
80	ДТ	2.05 $\pm$ 0.15	11.8 $\pm$ 1.1
	Мутант по альфа-КА2	1.80 $\pm$ 0.01	9.9 $\pm$ 1.8
400	ДТ	4.53 $\pm$ 0.01	14.4 $\pm$ 2.1
	Мутант по альфа-КА2	5.57 $\pm$ 0.11	11.8 $\pm$ 1.9

Table-2. Содержание хлорофиллов и каротиноидов, отношение концентрации хлорофилла *a/b* в листьях *Arabidopsis thaliana* дикого типа (ДТ) и растений, нокаутированных по гену, кодирующему альфа-КА2, выращенных при атмосферной концентрации CO₂ в условиях 8 ч день/16 ч ночь при 80 мкмоль квантов/м²с или при 400 мкмоль квантов/м²с. Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Освещенность, мкмоль квантов/м ² с	Растения	Содержание (мг/г сыр веса)				
		Хл <i>a+b</i>	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a</i> /хл <i>b</i>	Каротиноиды
80	ДТ	1.61 $\pm$ 0.11	1.11 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.05	2.19	0.19 $\pm$ 0.01
	Мутант по альфа-КА2	1.31 $\pm$ 0.01	0.91 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.01	2.32	0.17 $\pm$ 0.01
400	ДТ	1.12 $\pm$ 0.07	0.81 $\pm$ 0.05	0.32 $\pm$ 0.03	2.55	0.14 $\pm$ 0.01
	Мутант по альфа-КА2	1.35 $\pm$ 0.02	0.96 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.01	2.47	0.15 $\pm$ 0.01

Table-3. Влияние интенсивности света на эффективный квантовый выход ФС2 (Y(II)), коэффициент нефотохимического тушения (qN), измеренные после 7 минут освещения светом 80 мкмоль квантов/м²с или 400 мкмоль квантов/м²с, коэффициенты нефотохимического тушения qN3 и qN15 измеренные через 3 и 15 минут после выключения действующего света, растений дикого типа (ДТ) и мутанта по альфа-КА2. Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Освещенность, мкмоль квантов/м ² с	Растения	Y(II)	qN	qN3	qN15
80	ДТ	0.62 $\pm$ 0.02	0.28 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01
	Мутант по альфа-КА2	0.57 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.06	0.15 $\pm$ 0.01
400	ДТ	0.51 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.01
	Мутант по альфа-КА2	0.53 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01

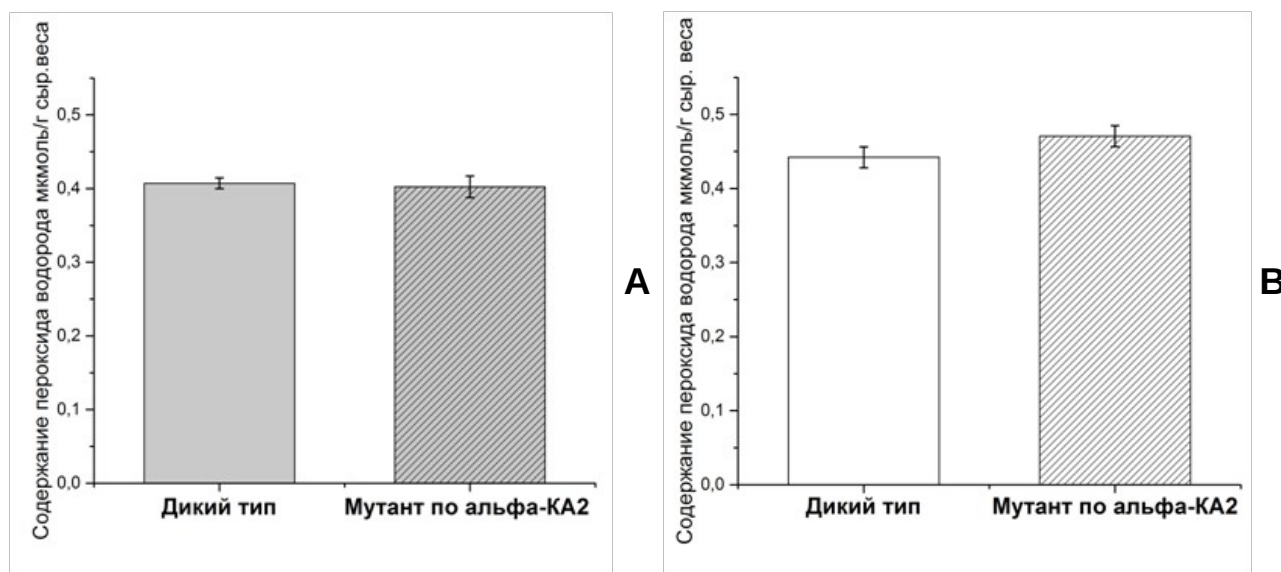


Figure-1. Содержание H_2O_2 в листьях растений дикого типа (незаштрихованный столбик) и мутанта по альфа-КА2 (заштрихованный столбик), выращенных при интенсивности света 80 мкмоль квантов/ m^2c (А) или при 400 мкмоль квантов/ m^2c (В). Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

DISCUSSION

Измерение характеристик фотосинтеза растений ДТ и мутантов с заблокированным синтезом альфа-КА2, выращенных при высокой освещенности, показало, что изменения в размере антенны ФС2 и величине НФТ флуоресценции хлорофилла а и у ДТ и у мутанта имели сходную тенденцию. Как видно из табл. 3, при низкой интенсивности света НФТ флуоресценции хлорофилла а в мутанте по альфа-КА2 заметно выше, чем в ДТ. Поскольку при увеличении освещенности растений величина НФТ флуоресценции хлорофилла а, как известно, возрастает, увеличенный уровень этого тушения может восприниматься соответствующими сигнальными системами растительной клетки как индикатор повышенной освещенности растения, когда требуется меньший размер антенны ФС2, чтобы избежать фотоингибирования. Возможно поэтому размер антенны в мутанте уже при низкой интенсивности света меньше, чем в ДТ (табл. 2). При повышении освещенности до 400 мкмоль квантов/ m^2c НФТ флуоресценции хлорофилла а возрастало и в мутанте, и в ДТ, но в мутанте по альфа-КА2 относительное возрастание q_N было существенно меньше, чем в ДТ (табл. 3). Аналогичным образом в

мутанте, по сравнению с ДТ, происходит изменение размера антенны ФС2 при увеличении интенсивности света (табл. 2), а именно, в мутанте относительное уменьшение этого размера было заметно меньше, чем в ДТ.

Что касается видимого отсутствия корреляции размера антенны с количеством H_2O_2 в листьях, то это, как уже отмечено выше в разделе Результаты, очевидно, следствие того, что растения адаптировались к высокой интенсивности света в течение 14 дней. Однако ранее нами было обнаружено, что освещение высоким светом (500 мкмоль квантов/ m^2c) после получасового затемнения растений приводило к меньшему накоплению H_2O_2 в листьях мутанта по альфа-КА2, чем в листьях растений ДТ (Журикова и др., 2016), т.е. в мутанте стимул к изменению антенны в начале переноса на высокий свет был обусловлен меньшим увеличением H_2O_2 , что, возможно, и привело к менее значительному уменьшению антенны. В стационарных условиях размер антенны, вероятно, контролируют сигналы, поступающие от процессов, обуславливающих НФТ флуоресценции хлорофилла а. Нельзя при этом исключить связь рассмотренной

корреляции изменения размера антенны ФС2 с изменением величины qN и продукцией H_2O_2 в начальный период действия высокой освещенности, учитывая роль редокс-состояния пула пластохинона в этой продукции (Vetoshkina et al., 2015).

Уровень НФТ флуоресценции хлорофилла *a* в мутанте по альфа-КА2 при низкой интенсивности света увеличен по сравнению с ДТ как за счет энергозависимого компонента, характеризующегося величиной коэффициента $qN3$, так и за счет компонента, зависящего от активности виолаксантиндеэпоксидазы (Sello et al., 2018), характеризующегося величиной коэффициента $qN15$. Увеличение обоих вышеуказанных компонентов НФТ флуоресценции хлорофилла *a* обусловлены, как известно, увеличением концентрации протонов в люмене тилакоидов. Недавно мы получили данные, подтверждающие предположение (см. Введение) о расположении альфа-КА2 на стромальной стороне тилакоидной мембраны (Журикова, 2016). С учетом этого обстоятельства, увеличение концентрации протонов в люмене в отсутствие альфа-КА2 при низкой интенсивности света, когда перенос электронов по цепи и, соответственно, протонов в люмен в значительной степени ограничен интенсивностью света, свидетельствует, что эта КА каким-то образом обеспечивает выход протонов из люмена. В ее отсутствие выход протонов через связанный с ней путь невозможен.

Эта ситуация должна сохраняться в мутанте и при увеличенной интенсивности света, но величины qN и $qN3$ становятся в мутанте ниже, чем в ДТ. Известно, что для открытия канала АТФ-синтазы требуется определенный уровень протонного градиента, и что количество активных АТФ-синтаз возрастает с увеличением этого уровня (Hangarter and Ort, 1986; Leong and Anderson, 1984). Возможно, что такая ситуация возникает в мутанте при высокой интенсивности света из-за закрытия канала выхода протонов с участием альфа-КА2. Возрастание числа открытых каналов АТФ-синтаз в мутанте увеличивает выход протонов из люмена, что приводит к более низкому значению коэффициентов qN и $qN3$ при высокой интенсивности света.

Описанная ситуация должна приводить к увеличенной продукции АТФ в хлоропластах мутантов. Индикатором увеличенной продукции АТФ в наших экспериментах оказался биосинтез крахмала, который требует повышенной продукции АТФ: в мутанте наблюдали увеличение синтеза крахмала при высокой интенсивности света на 300%, тогда как в ДТ – только на 200%.

Если в мутанте при повышении интенсивности света увеличивается продукция АТФ, то дополнительное количество АТФ должно способствовать более высокой скорости функционирования цикла Кальвина, и в мутанте должен увеличиваться поток электронов на основной акцептор электронов НАДФ⁺. Именно это может быть причиной большего эффективного квантового выхода ФС2 в мутанте по сравнению с ДТ при высокой интенсивности света (табл. 3).

Таким образом, полученные в данной работе результаты находятся в соответствии с выдвинутым ранее предположением (Журикова, 2016) о том, что альфа-КА2 участвует в контроле выхода протонов из люмена тилакоидов, и, соответственно, в регуляции НФТ флуоресценции хлорофилла *a*. Поскольку ранее было показано (Журикова и др., 2015; 2016), что альфа-КА4 противоположным образом, по сравнению с альфа-КА2, влияет на НФТ флуоресценции хлорофилла *a*, вероятно, эти две карбоангидразы, расположенные в тилакоидной мембране, функционируют как единая система, обеспечивающая быструю настройку величины НФТ флуоресценции хлорофилла *a* в изменяющихся условиях внешней среды.

ACKNOWLEDGEMENTS

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00978 мол_а. Часть работы проведена по Гос. заданию № AAAA-A17-117030110135-1.

REFERENCES

- Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Семенова Г.А., Руденко Н.Н., Мудрик В.А., Иванов Б.Н. (2015) Влияние нокаута гена α -карбоангидразы 4 на

- фотосинтетические характеристики *Arabidopsis thaliana* и накопление крахмала в листьях. *Физиология растений*, **62(4)**, 564-569.
- Журикова Е.М., Игнатова Л.К., Руденко Н.Н., Мудрик В.А., Ветошкина Д.В., Иванов Б.Н. (2016) Участие двух карбоангидраз альфа семейства в фотосинтетических реакциях *Arabidopsis thaliana*. *Биохимия*, **81(10)**, 1463-1470.
- Журикова Е.М. (2016) Исследование участия альфа-карбоангидразы 2 и альфа-карбоангидразы 4 в фотосинтетическом метаболизме *Arabidopsis thaliana*. Автореферат, Изд-во ТулГУ, Тула.
- Bailey S., Walters R. G., Jansson S. and Horton, P. (2001). Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the existence of separate low light and high light responses. *Planta*, **213(5)**, 794-801.
- Borisova-Mubarakshina M.M., Ivanov B.N., Vetoshkina D.V., Lubimov V.Y., Fedorchuk T.P., Naydov I.A., Kozuleva M.A., Rudenko N.N., Dall'Osto L., Cazzaniga S., Bassi R. (2015) Long-term acclimatory response to excess excitation energy: evidence for a role of hydrogen peroxide in the regulation of photosystem II antenna size. *J Exp Bot*, **66**, 7151–7164.
- Borisova-Mubarakshina M.M., Vetoshkina D.V., Rudenko N.N., Shirshikova G.N., Fedorchuk T.P., Naydov I.A., Ivanov B.N. (2014) The size of the light-harvesting antenna of higher plant photosystem II is regulated by illumination intensity through transcription of antenna protein genes. *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 520–523.
- Buren S. (2010) Targeting and function of CAH1-Characterisation of a novel protein pathway to the plant cell chloroplast. *PhD Thesis, Umea University, Sweden*.
- DiMario R.J., Clayton H., Mukherjee A., Ludwig M. and Moroney J.V. (2017) Plant Carbonic Anhydrases: Structures, Locations, Evolution, and Physiological Roles. *Mol. Plant.*, **1**, 30-46.
- Fabre N., Reiter I.M., Becuwe-Linka N., Genty B. and Rumeau D. (2007) Characterization and expression analysis of genes encoding alpha and beta carbonic anhydrases in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.*, **30**, 617-629.
- Friso G., Giacomelli L., Ytterberg A.J., Peltier J.B., Rudella A., Sun, Q. and van Wijk K.J. (2004) In-depth analysis of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts: new proteins, new functions, and a plastid proteome database. *Plant Cell*, **16**, 478-499.
- Hangarter R., and Ort D.R. (1986) The relationship between light-induced increases in the H⁺ conductivity of thylakoid membranes and activity of the coupling factor. *Eur. J. Biochem.*, **158(1)**, 7-12.
- Hewett-Emmett D. and Tashian R.E. (1996) Functional diversity, conservation, and convergence in the evolution of the α , β , and γ -carbonic anhydrase gene families. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **5**, 50-77.
- Ignatova L., Zhurikova E., Ivanov B. (2019) The presence of the low molecular mass carbonic anhydrase in photosystem II of C3 higher plants. *J. Plant Physiol.*, **232**, 94-99.
- Kaplan F., Zhao W., Richards J.T., Wheeler R.M., Guy C.L., Levine L.H. (2012) Transcriptional and metabolic insights into the differential physiological responses of *Arabidopsis* to optimal and supraoptimal atmospheric CO₂. *PLOS One*. **7**, e43583.
- Leong, T.Y. and Anderson, J.M. (1984) Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplasts to light intensities. II. Regulation of electron transport capacities, electron carriers, coupling factor (CF1) activity and rates of photosynthesis. *Photosynth Res.*, **5(2)**, 117-128.
- Lichtenthaller H.K. (1987) Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.*, **148**, 350-382.
- Moroney J.V., Bartlett S.J., and Samuelson G. (2001) Carbonic Anhydrases in Plants and Algae. *Plant, Cell Environ.*, **24**, 141–153.
- Price G.D., von Caemmerer S., Evans J.R., Yu J.W., Lloyd J., Oja V., Kell P., Harrison K., Gallagher A. and Badger M.R. (1994) Specific reduction of chloroplast carbonic anhydrase activity by anti-sense RNA in transgenic tobacco plants has a

- minor effect on photosynthetic CO₂ assimilation. *Planta*, **193**, 331-340.
- Rudenko N.N., Fedorchuk T.P., Vetoshkina D.V., Zhurikova E.M., Ignatova L.K., Ivanov B.N. (2018) Influence of knockout of *At4g20990* gene encoding α -CA4 on photosystem II light-harvesting antenna in plants grown under different light intensities and day lengths. *Protoplasma*, **255**(1), 69-78
- Sello S., Alboresi A., Baldan B., and Morosinotto, T. (2018) Exploration of plant biodiversity to investigate regulation of photosynthesis in natural environment. *BioRxiv*, 368852
- Vetoshkina D.V., Borisova-Mubarakshina M.M., Naydov I.A., Kozuleva M.A., Ivanov B. N. (2015) Impact of high light on reactive oxygen species production within photosynthetic biological membranes. *Journal of Biology and Life Science*, **6**(2), 50-60.
- Villarejo A., Buren S., Larsson S., Dejardin A., Monne M., Rudhe C., Karlsson J., Jansson S., Lerouge P., Rolland N., von Heijne G., Grebe M., Bako L. and Samuelsson G. (2005) Evidence for a protein transported through the secretory pathway *en route* to the higher plant chloroplast. *Nature Cell Biol.*, **7**, 1224-1231.