

Variabilität des "light-harvesting-systems" im Zellzyklus von *Chlorella fusca*

Variability of the Light-Harvesting-System during the Cell Cycle of *Chlorella fusca*

Peter Brandt, Helene Gleibs, Andrea Köhne und Wolfgang Wiessner

Abteilung für Experimentelle Phykologie des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen, Untere Karspüle 2, D-3400 Göttingen

Z. Naturforsch. **40c**, 115–121 (1985); received August 22, 1984

Thylakoid Differentiation, Chlorophyll-Protein Complexes, *Chlorella fusca*, Photosystem

The seven chlorophyll-protein complexes CPIa, CPI, LHCP_I, LHCP₂, CPa, LHCP_I and LHCP_{II} known in part also from the chloroplasts of higher plants were isolated from *Chlorella fusca*. They were characterized by their molecular weight, their absorption maxima and their ratio of chlorophyll *a*/chlorophyll *b*. The composition of the chlorophyll-protein complexes changes during the cell cycle of *Chlorella fusca*. The ratio of LHCP/CPI decreases at the beginning of the light period and the ratio LHCP/CPa after the 2nd hour of the light period. Both quotients increase at the 5th hour of the light period, have a maximum at the 8th hour of the light period and decrease afterwards during the second part of the cell cycle. These alterations are no reflections of chlorophyll-accumulation, but cause modifications in the organization of the thylakoids and influence the photosynthetic efficiency of *Chlorella fusca*. The size of the PSI- and PSII-units during the cell cycle was estimated by these changes of the LHCP/CPI- and LHCP/CPa-ratios. In addition evidence is given that the assembly of LHCP_I and LHCP₂ is no simple association of the monomeric forms of LHCP_I or LHCP_{II}.

Auf molekularer Ebene sind die meisten Komponenten des Photosyntheseapparates identifiziert und in den Thylakoiden lokalisiert worden [1]. Von diesen sind die für eine optimale Lichtabsorption notwendigen Chlorophyll-Protein Komplexe von besonderem Interesse. Funktionell bilden sie „photosynthetic units“, die jeweils als Reaktionszentrum ein (oder zwei) Chlorophyll *a*-Moleküle enthalten [2, 3]. Weniger als 1% der gesamten Chlorophyll-Protein Komplexe werden den Reaktionszentren zugerechnet. Der weitaus größere Teil der Chlorophyll-Protein Komplexe hat die Funktion, Lichtenergie zu absorbieren und den Reaktionszentren zuzuführen. Diese Rolle wird hauptsächlich von dem Light-Harvesting Chlorophyll *a/b*-Komplex (LHCP) [4, 5] übernommen, auf den in den Chloroplasten der Höheren Pflanzen 40–60% des gesamten Chlorophylls entfallen [6] und dem das Stacking der Thylakoide im Granabereich zugeschrieben wird [7]. Weitere Chlorophyll-Protein Komplexe sind CPIa, CPI, LHCP_I, LHCP₂ und CPa [8, 9]. Nach Untersuchungen an Mutanten [10] sowie aufgrund der Zusammensetzung isolierter PSI- bzw. PSII-

Partikel [11–16] werden dem PSI die Chlorophyll-Protein Komplexe CPIa und CPI und dem PSII CPa, LHCP_I, LHCP₂ und LHCP zugeordnet.

In den Chloroplasten Höherer Pflanzen ist der Gehalt der Thylakoide an den einzelnen Chlorophyll-Protein Komplexen flexibel und wird den jeweiligen physiologischen Bedingungen angepaßt [17, 18]. Wenig ist jedoch bislang darüber bekannt, wie und ob sich die Relationen zwischen den Chlorophyll-Protein Komplexen unabhängig von externen Faktoren im Lebenszyklus einer Alge verändern. Untersuchungen an Synchronkulturen von *Euglena gracilis* [19] und von *Cyanophora paradoxa* [20] sind nur bedingt mit den Verhältnissen in den Chloroplasten Höherer Pflanzen vergleichbar, da in diesen Organismen das LHCP keine Polymere LHCP_I und LHCP₂ bildet bzw. das LHCP vollständig fehlt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, aus den stadienspezifischen Veränderungen des Thylakoidaufbaus während des Zellzyklus von *Chlorella fusca*, die alle bekannten Chlorophyll Komplexe enthält, auf die stadienspezifischen Synthesezeiten von CPI, CPa und LHCP zu schließen, die Größe der „photosynthetic units“ abzuschätzen und in Beziehung zu setzen mit der photosynthetischen Effizienz.

Material und Methoden

Chlorella fusca (Stamm 211-8b, Sammlung von Algenkulturen, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Göttingen) wurde autotroph mit einem Licht-Dunkel-Wechsel von 14 Std. Licht und 10 Std. Dunkel und Verdünnung der Kulturen am Ende der Dunkelheit synchronisiert [21].

Die photosynthetische Sauerstoffproduktion der Chlorellen wurde polarographisch mit Hilfe einer Clark-Elektrode bestimmt. Zur Analyse der Thylakoidproteine wurden die Chlorellen in „Aufbruchmedium“ (1% Ficoll, 12 µM Polyvinylsulfat, 150 mM Saccharose, 150 mM Sorbit, 15 mM NaCl, 5 mM β-Mercaptoöthanol, 5 mM HEPES-NaOH, pH = 6,8) suspendiert, mit genügend Glaskugeln (0,45–0,50 mm Ø) vermischt und 20 min in der Vibrogen-Zellmühle Vi 2 (Bühler) aufgebrochen. Aus dem Zellhomogenat wurden die Thylakoide isoliert und durch Behandlung mit Natriumdesoxycholat in drei Membranfraktionen zerlegt [22]. Die Proteine des gesamten Thylakoidsystems bzw. der drei Membranfraktionen wurden gelelektrophoretisch aufgetrennt [22]. Die Absorptionsspektren der Chlorophyll-Protein Komplexe wurden ohne Herauslösen aus dem Polyacrylamidgel mit einem Shimadzu UV Vis Zweistrahl-Spektrophotometer Modell UV-200 aufgenommen.

Zur Isolierung und Anreicherung der monomeren Form des LHCP wurde die Hydroxylapatit-Chromatographie nach Bennet [23] angewandt. Der Chlorophyll-Gehalt wurde nach der Methode von McKinney [24] bestimmt.

Ergebnisse

Abb. 1 zeigt das typische Verteilungsmuster der Chlorophyll-Protein Komplexe von *Chlorella fusca* nach der SDS-PAGE bei 4 °C. Die sieben Chlorophyll-Protein Komplexe mit unterschiedlichen apparenten Molekulargewichten (Tab. I) sind nach [8] benannt, wobei im Gegensatz zu Höheren Pflanzen [8, 25] die monomere Form des LHCP in zwei Komponenten LHCP_I und LHCP_{II} aufspaltet. Während CPI und CPa nur Chlorophyll *a* enthalten, weisen LHCP_I, LHCP₂, LHCP₁, LHCP_{II} und CPIa zusätzlich unterschiedliche Anteile an Chlorophyll *b* auf (Tab. I). Im Gegensatz zum identischen Absorptionsmaximum von 676 nm von LHCP_I und LHCP₂ liegt das Maximum von LHCP₁ bei 670 nm und das

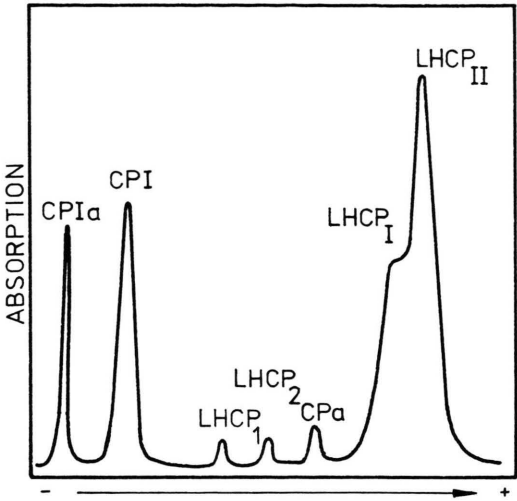


Abb. 1. Generelles Verteilungsmuster der Chlorophyll-Protein Komplexe von *Chlorella fusca* nach SDS-PAGE.

Tab. I. Apparentes Molekulargewicht und Chlorophyllzusammensetzung der aus Thylakoiden von *Chlorella fusca* durch SDS-PAGE isolierten Chlorophyll-Protein Komplexe.

Chlorophyll-Protein Komplex	Apparentes Molekulargewicht (kDa)	Verhältnis von Chlorophyll <i>a</i> zu Chlorophyll <i>b</i>
CPIa	150	9.0
CPI	110	nur Chlorophyll <i>a</i>
LHCP ₁	60	1.4
LHCP ₂	48	1.7
CPa	34	nur Chlorophyll <i>a</i>
LHCP _I	30	1.0
LHCP _{II}	27	1.2

Tab. II. Verteilung der Chlorophyll-Protein Komplexe von *Chlorella fusca* auf die durch Behandlung mit 0,1% bzw. 0,75% Natriumdesoxycholat aus isolierten Thylakoiden gewonnene 1., 2. und 3. Membranfraktion [22]. – = nicht vorhanden, + = vorhanden.

Chlorophyll-Protein Komplex	Membran-Fraktion		
	1.	2.	3.
CPIa	–	+	++
CPI	–	+	++
LHCP ₁	–	+	+
LHCP ₂	–	+	+
CPa	–	+	+
LHCP _I	–	++	+++
LHCP _{II}	–	++	+++

von LHCP_{II} bei 682 nm (Abb. 2). Außerdem zeigen LHCP_I und LHCP₂ im Bereich zwischen 500 und 450 nm ein gänzlich anderes Absorptionsverhalten als LHCP_I und LHCP_{II}.

Die aufeinanderfolgende Behandlung der Thylakoide von *Chlorella fusca* mit 0,1% bzw. 0,75% Natriumdesoxycholat [22] erbringt für alle sieben Chlorophyll-Protein Komplexe den auch an *Euglena* [22] und *Chlamydomonas* [26] nachgewiesenen „intrinsic“-Charakter [27] dieser Membranproteine (Tab. II). Da die 1. Membranfraktion, die nach Behandlung der Thylakoide mit 0,1-prozentigem Natriumdesoxycholat als Supernatant vorliegt, keinerlei Chlorophyll-Protein Komplexe enthält, wurde in den weiteren Untersuchungen nur noch von der 2. und 3. Membranfraktion ausgegangen. Durch diese vorherige Ablösung von nicht-pigmentierten „extrinsic“-Proteinen aus dem Thylakoidsystem wurde außerdem bei der anschließenden gelelektrophoretischen Auftrennung die mögliche Überlagerung der Chlorophyll-Protein Komplexe durch nicht zum Komplex gehörende Proteine vermieden.

Das quantitative Verteilungsmuster der Chlorophyll-Protein Komplexe von *Chlorella fusca* erfährt während des Zellzyklus große Veränderungen. Dies trifft insbesondere für die Verhältnisse LHCP/CPI und LHCP/CPa zu (Abb. 3). Der Quotient LHCP/CPI sinkt mit Beginn der Lichtperiode und der Quotient LHCP/CPa nach der 2. Stunde der Lichtperiode ab. Beide Quotienten weisen einen steilen Anstieg zur 6. Stunde und ein Maximum zur 8. Stunde der Lichtperiode auf. Danach sinken sie mehr oder weniger kontinuierlich während der restlichen Lichtperiode und der gesamten Dunkelperiode ab. Wird in Betracht gezogen, daß die Chlorophyllsynthese in *Chlorella fusca* strikt lichtabhängig ist (Abb. 4), so kann aus der Veränderung der Quotienten LHCP/CPI und LHCP/CPa auf den Assemblierungsbeginn des CPI zu Lichtbeginn, des CPa zur 2. Stunde der Lichtperiode und des LHCP zur 5. Stunde der Lichtperiode geschlossen werden. Die Assemblierung von CPa und CPI muß bis ans Ende der Lichtperiode anhalten, da die Quotientenwerte nach der 8. Stunde weiterhin absinken. Demnach findet die Assemblierung des LHCP zwischen der 5. und 10. Stunde der Lichtperiode statt. Dagegen ist das weitere Absinken der Quotientenwerte während der Dunkelperiode auf eine höhere turnover-Rate des LHCP im Vergleich zu CPI oder CPa zurückzuführen. In der Dunkelzeit sind weitere

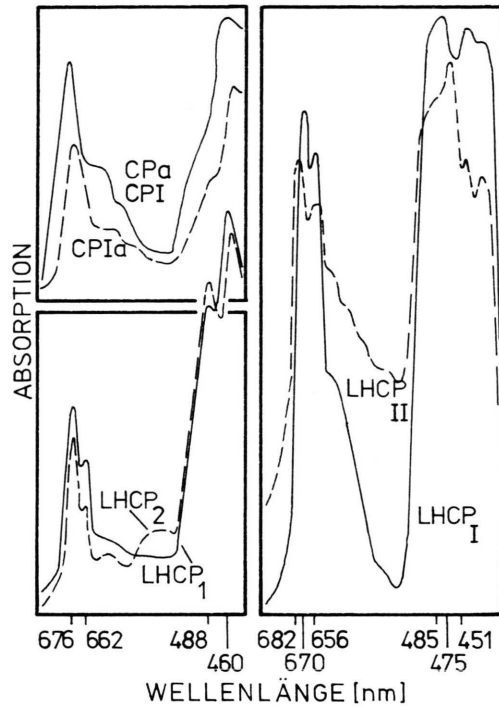


Abb. 2. Absorptionsspektren der durch SDS-PAGE isolierten Chlorophyll-Protein Komplexe aus den Thylakoiden von *Chlorella fusca*.

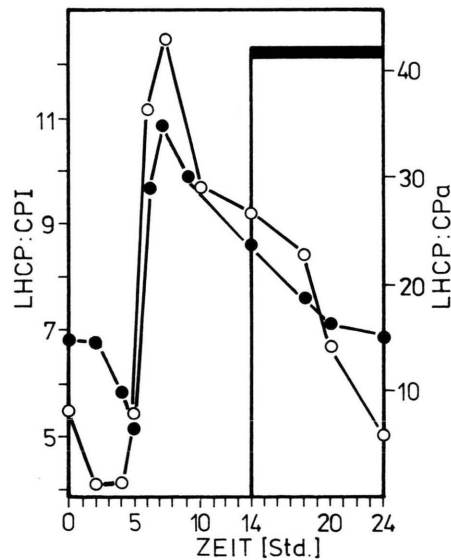


Abb. 3. Änderung der Verhältnisse LHCP/CPI (—○—○—) und LHCP/CPa (—●—●—) einer Synchronkultur von *Chlorella fusca* während des Zellzyklus.

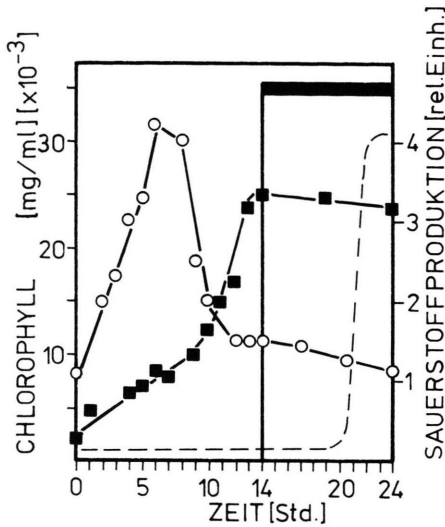


Abb. 4. Änderung von Chlorophyllgehalt/ml (■—■), photosynthetischer Sauerstoffproduktion (—○—○) und Zellzahl/ml (---) einer Synchronkultur von *Chlorella fusca* während der Zellzyklus.

Assemblierungsvorgänge von Chlorophyll-Protein Komplexen wegen der fehlenden Chlorophyllsynthese (Abb. 4) auszuschließen. Die während der Lichtperiode zeitlich gestaffelt einsetzenden Assemblierungsvorgänge haben notwendigerweise auch eine Umorganisation des Thylakoidsystems in den *Chlorella*-Chloroplasten zur Folge. Diese drückt sich in der Änderung der photosynthetischen Effizienz, gemessen als photosynthetische Sauerstoffproduktion (Abb. 4), aus.

Das quantitative Verhältnis zwischen den monomeren und den polymeren Formen des LHCP ändert sich während des gesamten Zyklus nicht, d. h. die polymeren Formen werden ebenfalls in der Zeit von der 5. bis zur 10. Stunde der Lichtperiode gebildet. Funktionell wird den polymeren Formen des LHCP eine höhere photosynthetische Kapazität zugeschrieben [32], während ihre Entstehungsweise noch umstritten ist [25]. Ihre nähere Charakterisierung liefert einen Beitrag zu diesen speziellen Assemblierungsvorgängen. Gegenüber Triton X-100 zeigen die beiden Polymere LHCP₁ und LHCP₂ und die beiden Monomere LHCP_I und LHCP_{II} eine unterschiedliche Labilität (Abb. 5). LHCP_I zeigt die größte Resistenz und LHCP_I die größte Labilität gegenüber diesem Detergenz. Dies deutet auf eine unterschiedliche Komplexzusammensetzung hin. Zur Klärung dieser Frage wurden die beiden mono-

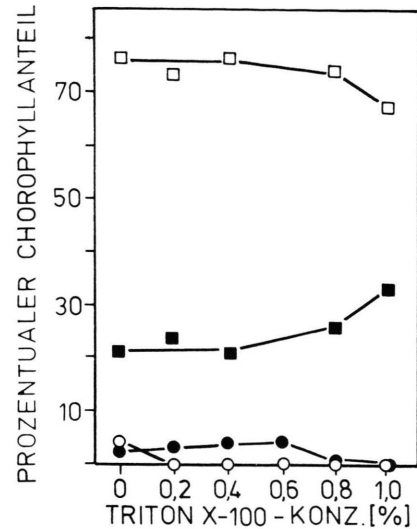


Abb. 5. Prozentuale Chlorophyllverteilung auf LHCP₁ (—○—○), LHCP₂ (—●—●), LHCP_I (—■—■) und LHCP_{II} (—□—□) nach Triton X-100-Zusatz verschiedener Konzentration während der SDS-PAGE.

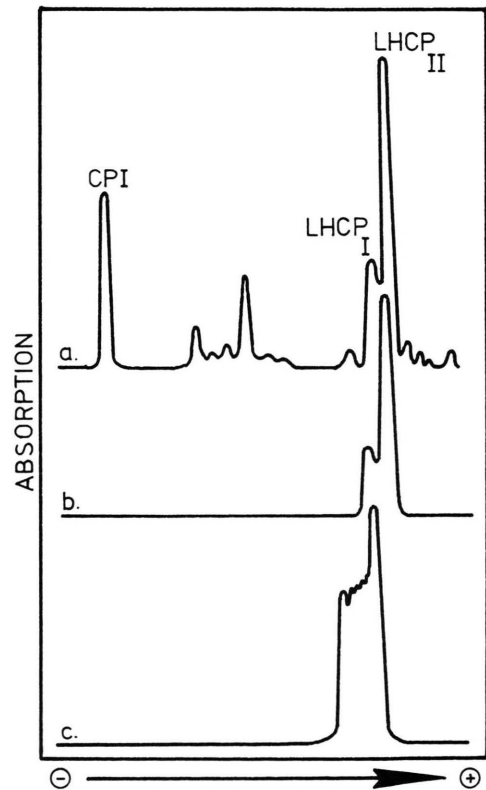


Abb. 6. Proteinspektren des Überstandes unter nativen Bedingungen (a) sowie des absorbierten LHCP unter nativen (b) bzw. unter denaturierenden Bedingungen (c), die nach Chromatographie an Hydroxylapatit [23] aus dem Zellhomogenat von *Chlorella fusca* gewonnen wurden.

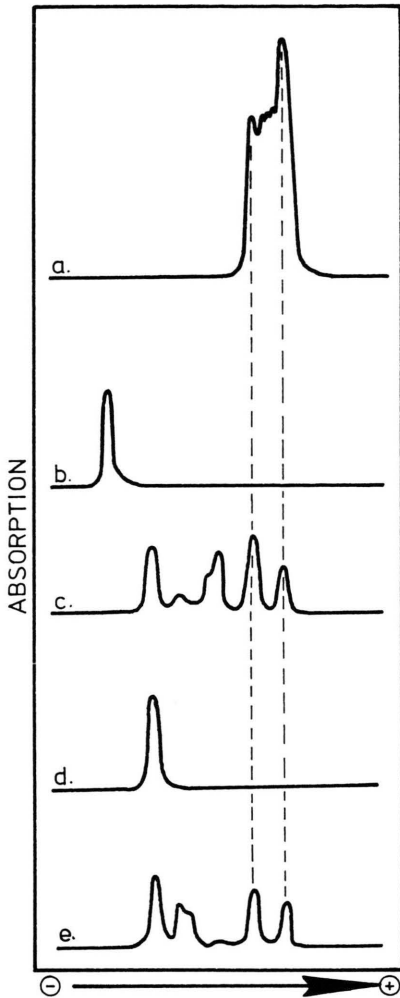


Abb. 7. Reelektrophorese von zuvor isoliertem und denaturiertem LHCP₁ (c) bzw. LHCP₂ (e) im Vergleich zum Muster der nativen Chlorophyll-Protein Komplexe LHCP₁ (b) und LHCP₂ (d) und der Proteine der nach Bennett [23] isolierten, denaturierten LHCP-Monomere (a) aus den Thylakoiden von *Chlorella fusca*.

meren Formen des LHCP chromatographisch durch Bindung an Hydroxylapatit [23] aus dem Zellhomogenat von *Chlorella* isoliert und angereichert. Im nativen Zustand ergab diese Fraktion nach SDS-PAGE die bekannte grüne Doppelbande von 30 bzw. 27 kDa der beiden LHCP-Monomeren.

Nach Denaturierung der isolierten LHCP-Monomere spalten die beiden Komplexe in zwei Hauptproteine und mehrere, dem Molekulargewicht nach zwischen ihnen liegenden Komponenten auf (Abb. 6). Die Gesamtheit dieser Proteine ist etwa um 5 kDa

gegenüber dem apparenten Molekulargewicht der nativen Komplexe in den höheren Molekulargewichtsbereich verschoben. Es treten jedoch nie weder unter nativen noch unter denaturierenden Bedingungen höhermolekulare Banden auf, die den LHCP-Polymeren LHCP₁ oder LHCP₂ entsprechen könnten. Es muß sich daher bei diesen um *in vivo*-Formen des LHCP handeln, die nicht durch einfache Polymerisation oder Addition der monomeren LHCP-Formen entstehen können.

Dies wird durch die Proteinspektren von isoliertem, angereichertem LHCP₁ bzw. LHCP₂ aus *Chlorella fusca* bestätigt (Abb. 7). Dazu wurden diese beiden Chlorophyll-Protein Komplexe ausgeschnitten, zur weiteren Reinigung einer Reelektrophorese unterworfen (Abb. 7b und 7d) und anschließend unter denaturierenden Bedingungen erneut elektrophoretisch aufgetrennt (Abb. 7c und 7e). In beiden Fällen lassen sich nur die zwei präsumptiven Apoproteine der LHCP-Monomere sowie mindestens vier höhermolekulare Proteine nachweisen. Es fehlen jedoch stets die weiteren vier bis fünf zu den LHCP-Monomer-Komplexen gehörenden Polypeptide (Abb. 7a).

Diskussion

Die Differenzierung des Photosyntheseapparates von *Chlorella fusca* ist in einen Prozeß stadienspezifisch aufeinanderfolgender Schritte gegliedert. Zu Beginn der Lichtzeit setzt die Assemblierung von CPI ein, an die sich die von CPa und LHCP anschließt. Offensichtlich dauert die CPI- und die CPa-Assemblierung bis zum Ende der Lichtzeit der Synchronkultur an. Die aus den Mengenrelationen der Chlorophyll-Protein Komplexe abgeleitete zeitliche Synthese- und Assemblierungsabfolge in *Chlorella*-Chloroplasten wird durch Einbauversuche mit Leucin [28] bestätigt, die ab der 3. Stunde nach Lichtbeginn eine CPI-Assemblierung und ab der 4. Stunde nach Lichtbeginn eine LHCP-Assemblierung nachweisen. Insgesamt entspricht die Differenzierungsabfolge in *Chlorella*-Chloroplasten den bekannten analogen Vorgängen im Zellzyklus von *Euglena gracilis* [19] und *Cyanophora paradoxa* [20] sowie dem Ergrünen Höherer Pflanzen, wie z. B. *Hordeum* [29, 30]. Möglicherweise handelt es sich daher um einen konservativen Regelmechanismus zwischen PSI- und PSII-Differenzierung.

Das Muster der Chlorophyll-Protein Komplexe in *Chlorella*-Chloroplasten gleicht dem der Chloroplasten Höherer Pflanzen [8, 25, 31]. Interessanterweise bleibt die Relation zwischen den Monomeren und den Polymeren des LHCP in *Chlorella fusca* konstant. Dies Phänomen ist auf fast gleichbleibende effektive Lichtintensität trotz Substanzzuwachs der Synchronkultur während der Lichtzeit zurückzuführen. Die Abhängigkeit der Relation Monomere LHCP: Polymere LHCP von der Lichtintensität wurde für *Pisum*-Chloroplasten bereits nachgewiesen [17]. Darüber hinaus kann die Polymerbildung des LHCP in *Chlorella*-Chloroplasten keine einfache Assemblierung von Monomeren sein, wie dies für *Scenedesmus* gefordert wird [32], sondern setzt die gleichzeitige Synthese oder das Vorhandensein eines spezifischen Polypeptid-Ensembles voraus.

Die stadienspezifische Chloroplastendifferenzierung von *Chlorella fusca* spiegelt sich in der stadienspezifischen Veränderung der photosynthetischen Effizienz wider. Die Veränderung der photosynthetischen Sauerstoffproduktion in *Chlorella fusca* steht nicht in Zusammenhang mit der Chlorophyllanreicherung in den Chloroplasten während der Lichtzeit des Synchronzyklus, sondern ist offenbar Ausdruck der veränderten Organisationsform im Thylakoidsystem. In früheren Untersuchungen wurde bereits aufgrund des gegenläufigen Verhaltens des Quotienten PSI-/PSII-Aktivität und des Quotienten Fluoreszenz von PSI/Fluoreszenz von PSII auf teilweise photosynthetisch inaktives Chlorophyll zu bestimmten Entwicklungsstadien von *Chlorella fusca* geschlossen [33] und die Änderung der photosynthetischen Leistung hauptsächlich der sich ändernden PSI-Aktivität zugeschrieben [34].

Zum besseren Verständnis von Organisation und Funktion im Thylakoidsystem von *Chlorella fusca* trägt die Herleitung der Größe der „photosynthetic units“ aus der Veränderung der Mengenrelationen der Chlorophyll-Protein Komplexe und deren Korrelation mit der Änderung der photosynthetischen Effizienz bei. Der zu Lichtbeginn einsetzende und bis zum Ende der Lichtzeit andauernde Zuwachs an CPI korreliert mit der dazu parallel ablaufenden Größenzunahme der PSI-units [35], d. h. der Anteil an neu-assemblierten Reaktionszentren des PSI an der Gesamtheit von neu-assembliertem CPI sinkt mit fortschreitender Lichtzeit. Demzufolge besitzen die PSI-units zum Ende der Lichtzeit ihre maximale Größe. Damit korreliert die mittels Fluoreszenz-emissionsspektroskopie ermittelte maximale PSI-Aktivität zu Ende der Lichtzeit [33]. Die stadienspezifische Bildung der PSII-units, die zeitlich nach der der PSI-units einsetzt, gestaltet sich insgesamt anders. Der hohe Anstieg des Quotienten LHCP/CPa scheint zunächst eine ziemlich abrupte Größenzunahme der PSII-units anzuzeigen. Aufgrund von Fluoreszenzuntersuchungen [35] kann jedoch ein großer Teil des neu-assemblierten LHCP funktionell nicht mit den Reaktionszentren verknüpft sein. Erst in der zweiten Hälfte der Lichtzeit wird dieses freie LHCP den fortlaufend weiter neu-assemblierten CPa-Einheiten zu PSII-units assoziiert. Dafür spricht sowohl das Absinken des Quotienten F_v/F_0 [35] als auch das Absinken des Quotienten LHCP/CPa. Damit bleiben die PSII-units in ihrer Größe nahezu konstant und nehmen in ihrer Anzahl fortlaufend zu. Damit liegt ein unterschiedliches Differenzierungsmuster für die PSI- und die PSII-units in *Chlorella fusca* vor.

- [1] D. von Wettstein, International Cell Biology (H. G. Schweiger, ed.), pp. 250–272, Springer-Verlag, Berlin 1980.
- [2] B. Velthys, Annu. Rev. Plant Physiol. **31**, 545–567 (1980).
- [3] R. Malkin, Annu. Rev. Plant Physiol. **33**, 455–479 (1982).
- [4] T. Ogawa, F. Obata u. K. Shibata, Biochim. Biophys. Acta **112**, 223–234 (1966).
- [5] J. P. Thornber, R. P. F. Gregory, C. A. Smith u. J. L. Bailey, Biochemistry **6**, 391–396 (1967).
- [6] F. H. Herrmann, T. Börner u. R. Hagemann, Chloroplasts (J. Reinert, ed.), pp. 147–177, Springer-Verlag, Berlin 1980.
- [7] L. A. Staehelin u. C. J. Arntzen, J. Cell Biol. **97**, 1327–1337 (1983).
- [8] J. M. Anderson, J. C. Waldron u. S. W. Thorne, FEBS Letters **92**, 227–233 (1978).
- [9] N. K. Boardman, J. M. Anderson u. D. J. Goodchild, Current Topics in Bioenergetics (D. R. Sanadi u. L. P. Vernon, eds.), Vol. **8**, pp. 36–109 (1978).
- [10] J. P. Thornber u. H. R. Highkin, Eur. J. Biochem. **41**, 109–116 (1974).
- [11] J. Maroc, D. Guyon u. J. Garnier, Plant Cell Physiol. **24**, 1217–1230 (1983).
- [12] N.-H. Chua u. P. Bennoun, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) **72**, 2175–2179 (1975).
- [13] B. A. Diner u. F. A. Wollman, Eur. J. Biochem. **110**, 521–526 (1980).
- [14] J. E. Mullet, J. J. Burke u. C. J. Arntzen, Plant Physiol. **65**, 814–822 (1980).

- [15] P. Brandt, E. Zufall u. W. Wießner, *Plant Physiol.* **71**, 128–131 (1983).
- [16] F. Schuler, P. Brandt u. W. Wiessner, *Z. Naturforsch.* **37c**, 256–259 (1982).
- [17] T. Leong u. J. M. Anderson, *Biochim. Biophys. Acta* **723**, 391–399 (1983).
- [18] G. Akoyunoglou u. J. H. Argyroudi-Akoyunoglou, *Chloroplast Development*, Elsevier/North-Holland, Amsterdam 1978.
- [19] P. Brandt u. B. von Kessel, *Plant Physiol.* **72**, 616–619 (1983).
- [20] S. Marten, P. Brandt u. G. Robinson, *Eur. J. Cell Biol.* **30**, 18–24 (1983).
- [21] H. Lorenzen, *Flora* **144**, 473–496 (1957).
- [22] P. Brandt, *Z. Pflanzenphysiol.* **100**, 95–105 (1980).
- [23] J. Bennett, *Eur. J. Biochem.* **99**, 133–137 (1979).
- [24] G. McKinney, *J. Biol. Chem.* **140**, 315–322 (1941).
- [25] R. Remy u. F. Ambard-Bretteville, *FEBS Lett.* **170**, 174–180 (1984).
- [26] P. Brandt, K. Kaiser-Jarry u. W. Wiessner, *Biochim. Biophys. Acta* **679**, 404–409 (1982).
- [27] G. Guidotti, in: *Membrane physiology*, T. E. Andreoli, J. F. Hoffman u. D. D. Fanestil (eds.), Plenum Med. Book Comp., New York, pp. 49–60 (1978).
- [28] K. Adler, *Plant Science Lett.* **6**, 261–266 (1976).
- [29] K. W. Henningsen u. N. K. Boardman, *Plant Physiol.* **51**, 1117–1126 (1973).
- [30] M. Plesnicar u. D. S. Bendall, *Biochem. J.* **136**, 803–812 (1973).
- [31] O. Machold, D. J. Simpson u. B. L. Møller, *Carlsberg. Res. Commun.* **44**, 235–254 (1979).
- [32] H. Senger, K. Krupinska u. G. Akoyunoglou, in: *Advances in Photosynthesis Research*, **Vol. II**, C. Sybesma (ed.), Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 53–56 (1984).
- [33] R. Nelle, R. Tischner, G. Harnischfeger u. H. Lorenzen, *Biochem. Physiol. Pflanzen* **167**, 463–472 (1975).
- [34] D. Mende, K. Heinze u. W. Wiessner, in: *Photosynthesis*, **Vol. V**, G. Akoyunoglou (ed.), Balaban International Science Services, Philadelphia, pp. 473–480 (1981).
- [35] D. Mende, P. Maroti u. W. Wiessner, *Physiol. Veg.* **21**, 469–474 (1983).