

RELATIONS ENTRE L'ASSIMILATION PHOTOSYNTHÉTIQUE DU CO₂ ET LA PHOTOPHOSPHORYLATION DES CHLOROPLASTES ISOLÉS

II. L'UTILISATION DE L'ATP DANS L'ASSIMILATION PHOTOSYNTHÉTIQUE DU CO₂

M. MIGINIAC-MASLOW* ET M. L. CHAMPIGNY

*Laboratoire de Physiologie Cellulaire Végétale, Associé au C.N.R.S., Faculté des Sciences d'Orsay,
91-Orsay (France)*

(Reçu le 23 décembre, 1970)

SUMMARY

Relations between photosynthetic assimilation of CO₂ and phosphorylation of isolated chloroplasts. II. Utilization of ATP in photosynthetic assimilation of CO₂

1. Whole spinach chloroplasts incorporated ³²P into organic compounds in the light in the presence of ribose 5-phosphate, without added ADP or bicarbonate. This incorporation was inhibited by antimycin A.

2. The simultaneous addition of ADP and ribose 5-phosphate resulted in a higher ³²P incorporation than with either compound added alone, providing that residual bicarbonate was present to allow some carboxylation to occur: photophosphorylation seems to be stimulated under carboxylating conditions.

3. The CO₂-fixation activities in the presence of ribose 5-phosphate were identical whether antimycin was present or not, when the phosphate concentration was low. Under these conditions, a relative accumulation of phosphoglyceric acid was observed in all cases, but in the presence of antimycin, this accumulation appeared sooner. In the presence of high phosphate concentration chloroplasts accumulated only triose phosphates: the phosphoglyceric acid accumulation seems to be related to a lack of ATP. This observation allows the assumption that antimycin inhibits photophosphorylation even under conditions where the CO₂ fixation activity is enhanced or unaffected.

4. A working hypothesis is proposed to account for the stimulation of carboxylation linked to the inhibition of photophosphorylation: bicarbonate would be absorbed by chloroplasts at the expense of a high-energy intermediate.

Abréviations: Rib-5-P, ribose 5-phosphate; Ribul-5-P, ribulose 5-phosphate; Ribul-1,5-P₂, ribulose 1,5-diphosphate.

* Cet article constitue l'article principal d'une thèse de Doctorat d'Etat (Sci. Nat.) présentée par M. MIGINIAC-MASLOW le 10 juin, 1970, à la Faculté des Sciences d'Orsay et enregistrée sous le No. A.O. 4509 au Centre National de la Recherche Scientifique.

INTRODUCTION

Le problème de la participation de la phosphorylation cyclique à l'assimilation photosynthétique du CO₂¹, a été soulevé à la suite d'études de stoechiométrie de la phosphorylation non cyclique (*cf.* réf. 2) et d'expériences de fixation photosynthétique du CO₂ en présence d'inhibiteurs. Ces dernières ont montré que certains inhibiteurs, auxquels la phosphorylation cyclique semble particulièrement sensible (désaspidine, antimycine A) n'inhibent pas la fixation du CO₂ à des concentrations où cette phosphorylation est nettement diminuée^{3, 4}.

L'antimycine A, employée à faible concentration, peut même stimuler la fixation du CO₂ et l'incorporation de phosphate concomitante effectuée par des chloroplastes intacts⁵⁻⁷. Cependant, la spécificité d'action de l'antimycine sur la phosphorylation cyclique a été mise en doute^{8, 2}. D'autre part, des inhibiteurs de transfert d'énergie tels que la phloridzine⁹⁻¹² ou le Dio-9¹³ semblent avoir un effet semblable à celui de l'antimycine sur la fixation de CO₂. Dès lors, c'est sur l'utilisation de l'ATP lui-même dans les réactions du cycle de Calvin que se transpose le problème. Pour tenter d'y répondre, VOSE ET SPENCER^{9, 11} ont proposé que la phosphorylation du Ribul-5-P se ferait aux dépens non de l'ATP, mais d'un précurseur phosphorylé riche en énergie. Cette hypothèse, formulée à la suite d'études faites en présence de phloridzine pourrait à *priori* convenir pour l'antimycine, dans la mesure où celle-ci peut être considérée comme un inhibiteur du transfert d'énergie^{8, 2}.

En relation avec ces problèmes, le présent travail concerne l'utilisation de l'ATP au cours des premières étapes de l'assimilation photosynthétique du CO₂.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les chloroplastes sont isolés de feuilles d'épinard (*Spinacia oleracea* L., var. America) provenant de plantes cultivées en conditions contrôlées¹⁴. La technique d'isolement, inspirée de celle de JENSEN ET BASSHAM¹⁵, a déjà été décrite¹⁴.

Le culot de chloroplastes entiers est mis en suspension dans un tampon tris-(hydroxyméthyl)méthylglycine ("Tricine") 50 mM, pH 8.1; sorbitol 330 mM, NaNO₃ 2 mM; MnCl₂ 1 mM; MgCl₂ 1 mM; EDTA 2 mM; K₂HPO₄ 0.15 mM. Ce même tampon constitue le milieu de base du mélange réactionnel dont les autres constituants sont indiqués dans les légendes des tableaux.

Le dosage de chlorophylle est fait selon ARNON¹⁶.

L'incubation se fait à 16° sous éclairement saturant.

L'incorporation de ³²P dans les composés organiques est déterminée par la méthode d'AVRON¹⁷.

Le ¹⁴CO₂ fixé est déterminé par comptage après élimination du ¹⁴CO₂ non fixé par addition d'acide formique⁷.

L'analyse des produits formés par incorporation de ³²P ou de ¹⁴C est faite par chromatographie unidimensionnelle sur papier Whatman No. 1 avec le solvant GW₃ de Wood¹⁸.

Les produits séparés sont localisés par autoradiographie. Leur radioactivité est déterminée par comptage au compteur à scintillation.

RÉSULTATS

L'antimycine inhibe l'incorporation de ^{32}P en présence de Rib-5-P

L'Exp. 1 du Tableau I montre que l'incorporation de ^{32}P par les chloroplastes à la lumière, en présence de Rib-5-P est inhibée par les fortes concentrations d'antimycine (20 et 30 μM). Ce fait ne serait pas en faveur de l'hypothèse de VOSE ET SPENCER, mais, curieusement, les faibles concentrations d'antimycine (5 et 10 μM) la stimulent au contraire, alors que l'incorporation en présence d'ADP est toujours inhibée. (Les concentrations désignées ici comme faibles le sont moins que précédemment¹⁴, car pour cette série de chloroplastes, la stimulation optimum de la carboxylation était obtenue à 5 et 10 μM .)

TABLEAU I

EFFET DE L'ANTIMYCINE SUR L'INCORPORATION DE ^{32}P EN PRÉSENCE DE Rib-5-P OU D'ADP

Le milieu réactionnel contient, par ml, outre le tampon de suspension des chloroplastes: 2 μmoles de phosphate marqué au ^{32}P , des chloroplastes correspondant à 50 μg de chlorophylle, et les additions indiquées dans le tableau. Durée de l'incubation en présence d'une lumière saturante: 20 min. L'Exp. 1 est faite sous circulation d'azote, la lumière étant allumée 10 min après le début du passage de l'azote. Dans l'Exp. 2, le milieu réactionnel est soumis à 1 h de barbotage d'azote. Les chloroplastes sont alors ajoutés sans interruption du barbotage. L'illumination débute 10 min après l'addition des chloroplastes.

Exp. No.	Substrat ajouté (2 $\mu\text{moles}/\text{ml}$)	Concn. en antimycine (μM)	^{32}P incorporé ($\mu\text{atoms}/\text{mg chloro-}$ phylle par h)
1 (circulation N ₂)	Rib-5-P	0	0.05*
		0	3.35
		5	4.70
		10	4.70
		30	0
	ADP	0	7.20
		5	4.00
	2 (barbotage prolongé N ₂)	Rib-5-P	0
			22.0
			15.0
		20	5.0
		ADP	0
		0	35.0
		10	20.0

* Cette valeur ne représente pas une vitesse, car l'incorporation endogène de ^{32}P atteint un plateau en 45 sec.

L'examen chromatographique des produits marqués formés (Tableau II A) montre qu'en présence de Rib-5-P, il y a non seulement du Ribul-1,5-P₂ marqué, mais aussi des produits de fixation du CO₂. En présence d'ADP, le seul produit marqué est l'ATP. Cependant en présence de phosphate 0.15 mM (Tableau II B), on observe dans tous les cas des produits de carboxylation. Il semble donc qu'il reste des traces non négligeables de bicarbonate dans la solution malgré la circulation d'azote. L'absence de fixation du CO₂ en présence d'ADP et de phosphate 2 mM est due, de toute évidence, à l'effet inhibiteur du P_i sur la carboxylation^{19, 20, 14}. L'addition de Rib-5-P stimule la fixation du CO₂²¹ et lève l'inhibition de celle-ci par le P_i²², d'où l'apparition de produits de carboxylation en absence de bicarbonate exogène.

TABLEAU II

ANALYSE DES PRODUITS FORMÉS PAR INCORPORATION DE ^{32}P EN PRÉSENCE DE Rib-5-P OU d'ADP, ET D'ANTIMYCINE ET DE DEUX CONCENTRATIONS EN PHOSPHATE DIFFÉRENTES

Milieu réactionnel: tampon de suspension. Phosphate en concentration indiquée. Chloroplastes correspondant à 50 mg de chlorophylle par ml. Additions, s'il y a lieu: ADP, Rib-5-P 2 mM; NaHCO₃ 10 mM; antimycine A 5 μ M. Circulation d'azote. 20 min d'incubation à la lumière.

Produits formés	^{32}P incorporé (nuatomes/mg chlorophylle par h)					
	(A) Phosphate 2 mM			(B) Phosphate 0.15 mM		
	+ ADP	+ Rib-5-P	+ ADP + HCO ₃ ⁻	+ Rib-5-P + antimycine	+ Endogène	+ Rib-5-P + Rib-5-P + antimycine
ATP	3.60	—	4.60	—	—	—
Ribul-1,5-P ₂	—	0.35	—	0.04	0.11	0.12
Hexoses-P	—	0.11	—	0.03	0.08	0.10
Trioses-P	—	1.68	Traces	2.15	0.43	0.53
Acide 3-P-glycéritique	—	0.19	—	0.38	0.24	0.48
Total	3.60	2.33	4.60	3.12	0.74	1.20

TABLEAU III

INCORPORATION DE ^{32}P EN PRÉSENCE D'ATMOSPHÈRES DIFFÉRENTES

Conditions expérimentales: cf. Tableau II. Phosphate 2 mM.

Produits formés	^{32}P incorporé (nuatomes/mg chlorophylle par h)					
	N ₂ (circulation)			Air		
	+ ADP	+ Rib-5-P	+ ADP + Rib-5-P	+ ADP	+ Rib-5-P	+ ADP + Rib-5-P
ATP	2.2	—	3.88	1.65	0.97	5.27
Ribul-1,5-P ₂	—	0.42	1.78	0.41	2.07	0.44
Hexoses-P	—	0.07	0.10	—	0.02	—
Trioses-P	—	1.23	1.46	—	0.48	—
Acide 3-P-glycéritique	—	0.34	0.35	—	0.04	—
Total	2.2	2.06	7.57	1.65	0.46	5.27

L'effet stimulant de faibles concentrations d'antimycine sur l'incorporation de ^{32}P en présence de Rib-5-*P* peut donc être assimilé à son effet stimulant sur l'assimilation du CO_2 .

Effectivement, si l'on soumet le milieu réactionnel à un barbotage d'azote prolongé (1 h) avant l'expérience, la formation de produits de carboxylation devient très faible (Tableau III) et l'antimycine ne stimule plus, mais inhibe l'incorporation de ^{32}P en présence de Rib-5-*P*.

La solution de l'effet de l'antimycine ne semble donc pas résider dans son absence d'action sur la phosphorylation du Ribul-5-*P*: soit qu'elle inhibe la formation de l'intermédiaire phosphorylé riche en énergie présumé, soit que la phosphorylation du Ribul-5-*P* ne se fasse que par l'ATP. Cette dernière possibilité paraît plus vraisemblable, car la phloridzine, dont le site d'action semble être incontestablement au niveau de l'estérification de l'ADP en ATP²³, inhibe également l'incorporation de ^{32}P à la lumière en présence de Rib-5-*P* (observation faite avec des chloroplastes entiers de fève, dont l'activité de carboxylation est très faible²⁴).

Stimulation de la phosphorylation par la carboxylation

L'addition simultanée d'ADP + Rib-5-*P*, dans des conditions où, grâce au bicarbonate résiduel, la carboxylation peut avoir lieu, se traduit par une incorporation de ^{32}P nettement supérieure à la somme des incorporations obtenues avec chacun des composés offerts séparément (Tableau III). Cet effet synergique devient plus faible, ou même n'apparaît pas, lorsque la carboxylation est faible (barbotage d'azote prolongé ou aérobiose): simplement, la synthèse du Ribul-1,5-*P*₂ est alors bien plus importante en présence d'ADP + Rib-5-*P*, ce qui est en faveur de l'utilisation de l'ATP dans la phosphorylation du Ribul-5-*P*.

Le fonctionnement de la carboxylation semble donc entraîner une stimulation de la phosphorylation. Cette stimulation n'est probablement pas due uniquement à la consommation de l'ATP par les kinases du cycle de Calvin: en effet, en présence d'ADP + Rib-5-*P*, même la quantité d'ATP non consommé est plus élevée qu'en présence d'ADP seul. Cette remarque est très importante pour l'étude de l'effet d'inhibiteurs de la phosphorylation sur la carboxylation: si l'on veut préciser les caractéristiques de l'action de ces composés, il semble nécessaire de comparer des activités de carboxylation analogues.

Antimycine et accumulation d'acide 3-phosphoglycérique

Cette comparaison est possible pour l'antimycine en présence de Rib-5-*P* et de phosphate 0.15 mM, car l'activité de carboxylation avec ou sans antimycine est alors identique (*cf.* Tableau II, sans bicarbonate exogène, et Tableau IV, avec bicarbonate exogène). Après 20 min de réaction, l'analyse des produits formés révèle une accumulation d'acide 3-phosphoglycérique, que ce soit en présence d'antimycine seule, de Rib-5-*P* ou de Rib-5-*P* + antimycine. Le témoin (sans additions), dont l'activité de fixation du CO_2 est beaucoup plus faible, n'accumule que des trioses phosphates.

L'accumulation d'acide 3-phosphoglycérique n'apparaît pas lorsque Rib-5-*P* ou Rib-5-*P* + antimycine sont ajoutés en présence de phosphate 2 mM: elle semble liée à un déficit en phosphate, donc en ATP. On peut en conclure, en accord avec l'hypothèse de COCKBURN *et al.*¹⁹, que lorsque la synthèse d'ATP est limitante, la phosphorylation du Ribul-5-*P* semble prédominer sur celle de l'acide 3-phospho-

TABLEAU IV

EFFET COMPARÉ DE L'ANTIMYCINE ET DE Rib-5-P SUR LA CARBOXYLATION EN PRÉSENCE DE PHOSPHATE 0.15 mM ET DE BICARBONATE 10 mM, MARQUÉ AU ¹⁴C

Conditions expérimentales: cf. Tableau II, mais le phosphate 0.15 mM n'est pas marqué, et du NaH¹⁴CO₃ 10 mM (activité spécifique: 2 μ C/ μ mole) est ajouté au milieu. Une expérience parallèle (non montrée ici) faite avec le même lot de chloroplastes, mais en présence de phosphate 2 mM marqué au ³²P montre une nette accumulation de trioses (on obtient 8 fois plus de trioses que d'acide 3-phosphoglycérique, en 20 min de réaction) en présence de Rib-5-P seul ou de Rib-5-P + antimycine. Atmosphère: circulation d'azote.

Produits formés	¹⁴ C incorporé (μ atomes/mg chlorophylle)							
	Sans addition		+ Antimycine 5 μ M		+ Rib-5-P 2 mM		+ Rib-5-P 2 mM + antimycine 5 μ	
	10 min	20 min	10 min	20 min	10 min	20 min	10 min	20 min
Ribul-1,5-P ₂	—	—	0.06	0.10	0.18	0.29	0.07	0.10
Glucides divers	0.14	0.17	0.34	0.69	0.34	0.91	0.15	0.41
Trioses-P	0.32	0.62	1.52	2.39	1.18	1.24	0.54	1.50
Acide 3-P-glycérique	—	—	1.56	2.82	0.36	1.19	1.52	1.76
Total	0.46	0.79	3.48	6.00	2.06	3.63	2.28	3.77

glycérique, liée à la réduction de ce dernier. (Sans que le déficit de synthèse de l'ATP soit obligatoirement la cause primaire de ce phénomène.)

Après 10 min de réaction, en présence de phosphate 0.15 mM (Tableau IV), l'accumulation d'acide 3-phosphoglycérique est très importante en présence de Rib-5-P + antimycine, mais en présence de Rib-5-P seul, il y a encore une prédominance des trioses-phosphates, alors que les activités de fixation du CO₂ sont égales: l'antimycine semble induire un déficit précoce en ATP. On peut donc penser qu'elle exerce un effet inhibiteur sur la phosphorylation. Cette inhibition n'apparaît pas dans les valeurs d'incorporation globale du ³²P, car elle se manifeste au niveau de la transformation de l'acide 3-phosphoglycérique en trioses, réaction qui consomme l'ATP, sans donner lieu à une fixation de ³²P. Lorsqu'on se place dans des conditions où l'antimycine stimule la carboxylation, l'incorporation de ³²P est même augmentée, par suite de la stimulation de l'activité phosphorylante consécutive à la stimulation de la carboxylation.

La même interprétation, au moins en ce qui concerne l'absence apparente d'inhibition, semble pouvoir s'appliquer à l'action de la phloridzine qui, employée en concentration relativement élevée (2 mM), donne lieu à une accumulation d'acide 3-phosphoglycérique, même en présence de phosphate 2 mM, sans affecter cependant l'incorporation globale de ³²P.²⁴

Cette répartition des produits de la fixation du CO₂, ainsi que le faible taux global de la carboxylation, sont évidemment représentatifs de préparations sans addition d'ascorbate et de pyrophosphate, composés qui permettent d'obtenir des activités plus élevées, mais moins propices à l'étude de l'effet de l'antimycine.

DISCUSSION

Ces expériences montrent que l'action stimulante (ou l'absence d'action) d'inhibiteurs tels que l'antimycine ou la phloridzine, sur la fixation photosynthétique

du CO_2 , pourrait s'accompagner d'une action dépressive simultanée sur la phosphorylation, même lorsque les valeurs d'incorporation globale du ^{32}P sont inchangées ou augmentées. Or, la production d'ATP dans des conditions où la carboxylation a lieu, ne semble pas excessive, puisque l'addition de petites quantités d'ATP stimule la fixation du CO_2 ^{9,14}. D'autre part, l'hypothèse de l'utilisation d'un intermédiaire phosphorylé, riche en énergie, par la Ribul-5- P kinase, ne semble pas pouvoir être utilisée ici. La même hypothèse appliquée à l'acide 3-phosphoglycérique kinase serait peu vraisemblable, étant donnée l'accumulation d'acide 3-phosphoglycérique observée en présence d'antimycine.

Enfin, l'utilisation de polyphosphates, proposée par des auteurs travaillant avec des algues^{25,26} est difficile à appliquer aux plantes supérieures, qui n'en accumulent pas.

Actuellement, l'hypothèse qui nous semble la plus satisfaisante (mais qui n'est sans doute pas la seule valable) pour expliquer l'ensemble des effets de l'antimycine repose sur l'utilisation d'un intermédiaire ou état riche en énergie dans un mécanisme de concentration du bicarbonate par les chloroplastes.

En effet, bien que purement spéculative, cette hypothèse aurait l'avantage de rendre compte des observations suivantes:

(1) Les activités de fixation du CO_2 obtenues *in vivo* sont relativement élevées, alors que l'affinité de la Ribul-1,5- P_2 carboxylase pour le bicarbonate, mesurée *in vitro*, est faible²⁷. Cette comparaison avait amené GIBBS *et al.*²⁸ et LATZKO ET GIBBS²⁹ à considérer que les plantes peuvent concentrer le CO_2 au niveau de la membrane périphérique des chloroplastes. Dans le présent travail, l'apparition d'une quantité non négligeable de produits de carboxylation en absence d'addition de bicarbonate est également en accord avec la possibilité d'existence d'une "pompe" à CO_2 dans les chloroplastes.

(2) L'addition d'antimycine diminue le K_m apparent des chloroplastes intacts pour le bicarbonate⁷. De plus, il semble que la stimulation de la fixation du CO_2 et l'inhibition de la photophosphorylation puissent être concomitantes.

(3) L'antimycine¹⁴ et le pyrophosphate³⁰ lèvent l'inhibition de la carboxylation par le P_i . Or l'inhibition par le phosphate est levée compétitivement par le bicarbonate¹⁴. Quant au pyrophosphate, il pourrait être générateur d'un intermédiaire riche en énergie, au même titre que l'ATP³¹.

(4) Le bicarbonate stimule la réaction de Hill, en absence de système phosphorylant. (Cette constatation, faite avec des chloroplastes isolés par des méthodes classiques^{32,33}, a été confirmée par nous avec des chloroplastes intacts.) De plus, il inhibe la formation de l'intermédiaire riche en énergie X_E^{34} .

(5) Un transport d'anions a été mis en évidence dans les chloroplastes à la lumière³⁵ et un modèle de co-transport d'anions et de H^+ a été proposé³⁶. L'hypothèse qu'il existe, chez certaines algues, une pompe métabolique à HCO_3^- , liée au fonctionnement du transfert d'électrons photosynthétique, a été avancée par RAVEN³⁷. CUMMINS *et al.*³⁸ ont montré que le gradient d' H^+ induit par la lumière se manifeste dans le milieu d'incubation d'*Ulva* et qu'il requiert la présence de HCO_3^- .

La difficulté majeure d'admettre l'existence d'un transport actif de bicarbonate réside dans le fait que le bicarbonate n'exerce pas d'effet inhibiteur sur la photophosphorylation et que même, il peut la stimuler³⁹. Il faut donc supposer qu'en absence d'inhibiteurs, un système d'absorption active du bicarbonate ne pourrait fonc-

tionner que lorsque la photophosphorylation est limitée au niveau de son étape terminale (concentration limitante de phosphate, accumulation d'ATP). La concentration intrachloroplastique en ATP pourrait ainsi avoir un rôle régulateur d'une part sur l'absorption du bicarbonate, et d'autre part, sur la répartition des produits de la photosynthèse. En effet, nous avons vu qu'un déficit en ATP s'accompagne d'une accumulation d'acide 3-phosphoglycérique. Or l'acide 3-phosphoglycérique, lorsqu'il n'est pas réduit en trioses et engagé ainsi dans les synthèses glucidiques, peut donner lieu à la synthèse d'acides aminés, d'acides organiques ou de lipides.

RÉSUMÉ

1. En absence d'ADP ou de bicarbonate ajouté, les chloroplastes entiers d'épinard incorporent du ³²P à la lumière en présence de ribose-5-phosphate. Cette incorporation est inhibée par l'antimycine.

2. L'addition simultanée d'ADP + ribose-5-phosphate entraîne une incorporation de ³²P plus importante qu'en présence de chacun de ces composés ajouté séparément, à condition que la présence de bicarbonate résiduel permette une carboxylation non négligeable: le fonctionnement de la carboxylation semble entraîner une stimulation de la phosphorylation.

3. Les activités de fixation du CO₂ sont identiques en présence de ribose-5-phosphate ou de ribose-5-phosphate + antimycine, lorsque la concentration en phosphate est faible. Dans ces conditions, on observe toujours une accumulation relative d'acide phosphoglycérique, cette accumulation étant plus précoce en présence d'antimycine. En présence de concentrations en phosphate élevées, les chloroplastes n'accumulent que des trioses-phosphate: l'accumulation d'acide phosphoglycérique semble liée à un déficit en ATP. Cette observation permet de supposer que l'antimycine inhibe la photophosphorylation même lorsque l'activité de fixation du CO₂ est stimulée ou inchangée.

4. Pour rendre compte de la stimulation de la carboxylation liée à une inhibition de la phosphorylation, l'hypothèse d'une absorption de bicarbonate aux dépens d'un intermédiaire riche en énergie est proposée.

REMERCIEMENTS

Nous voudrions exprimer notre gratitude à Monsieur le Professeur A. Moyse pour l'attention constante qu'il a portée à ce travail. Ce travail a bénéficié de la collaboration technique dévouée de Mme A. Hoarau que nous voudrions remercier ici.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 D. I. ARNON, in W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Vol. V, Springer-Verlag, Berlin, 1960, p. 211.
- 2 M. MIGNIAC-MASLOW, *Biochim. Biophys. Acta*, 234 (1971) 335.
- 3 W. TANNER, L. DÄCHSEL ET O. KANDLER, *Plant Physiol.*, 40 (1965) 1951.
- 4 W. TANNER, M. LOFFLER ET O. KANDLER, *Plant Physiol.*, 44 (1969) 422.
- 5 P. ELLYARD, Ph.D. Thesis, 1968, Cornell University, U.S.A.
- 6 M. L. CHAMPIGNY ET M. GIBBS, 1969, in H. METZNER, *Progress in Photosynthesis Research*, Vol. 3, IUBS, Tübingen, 1969, p. 1534.
- 7 B. SHACTER, M. L. CHAMPIGNY ET M. GIBBS, *Plant Physiol.*, sous presse.

- 8 S. IZAWA, T. N. CONNOLLY, G. D. WINGET ET N. E. GOOD, *Brookhaven Symp. Biol.*, 19 (1967) 169.
- 9 J. R. VOSE ET M. SPENCER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 29 (1967) 532.
- 10 J. R. VOSE ET M. SPENCER, *Can. J. Biochem.*, 46 (1968) 1475.
- 11 J. R. VOSE ET M. SPENCER, *Can. J. Biochem.*, 47 (1969) 443.
- 12 J. A. RAVEN, *J. Exptl. Botany*, 19 (1968) 712.
- 13 J. A. RAVEN, E. A. C. McROBBIE ET J. NEUMANN, *J. Exptl. Botany*, 20 (1969) 221.
- 14 M. L. CHAMPIGNY ET M. MIGINIAC-MASLOW, *Biochim. Biophys. Acta*, 234 (1971) 359.
- 15 R. G. JENSEN ET J. A. BASSHAM, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 56 (1966) 1095.
- 16 D. I. ARNON, *Plant Physiol.*, 24 (1949) 1.
- 17 M. AVRON, *Biochim. Biophys. Acta*, 40 (1960) 257.
- 18 T. WOOD, *J. Chromatogr.*, 6 (1961) 142.
- 19 W. COCKBURN, C. W. BALDRY ET D. A. WALKER, *Biochim. Biophys. Acta*, 143 (1967) 614.
- 20 P. P. KALBERER, B. B. BUCHANAN ET D. I. ARNON, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 57 (1967) 1542.
- 21 C. BUCKE, D. A. WALKER ET C. W. BALDRY, *Biochem. J.*, 101 (1966) 636.
- 22 W. COCKBURN, D. A. WALKER ET C. W. BALDRY, *Biochem. J.*, 107 (1968) 89.
- 23 G. D. WINGET, S. IZAWA ET N. E. GOOD, *Biochemistry*, 8 (1969) 2067.
- 24 M. MIGINIAC-MASLOW, Thèse Doctorat ès Sciences (Etat), Orsay, 1970.
- 25 A. KYLIN ET J. E. TILLBERG, *Z. Pflanzenphysiol.*, 58 (1967) 165.
- 26 H. GIMMLER, W. SIMONIS ET W. URBACH, *Naturwissenschaften*, 56 (1969) 371.
- 27 J. M. PAULSEN ET M. D. LANE, *Biochemistry*, 5 (1966) 2350.
- 28 M. GIBBS, E. LATZKO, R. G. EVERSON ET W. COCKBURN, in A. SAN PIETRO, F. A. GREER ET J. T. ARMY, *Harvesting the Sun*, Academic Press, New York, 1967, p. 111.
- 29 E. LATZKO ET M. GIBBS, *Z. Pflanzenphysiol.*, 59 (1968) 184.
- 30 W. COCKBURN, in H. METZNER, *Progress in Photosynthesis Research*, Vol. 1, IUBS, Tübingen, 1969, p. 267.
- 31 R. BACHOFEN, H. LUTZ ET I. SPECHT-JÜRGENSEN, *FEBS Letters*, 1 (1968) 249.
- 32 N. E. GOOD, *Arch. Biochem. Biophys.*, 96 (1962) 653.
- 33 N. E. GOOD, *Plant Physiol.*, 38 (1963) 298.
- 34 P. P. BATRA ET A. T. JAGENDORF, *Plant Physiol.*, 40 (1965) 1074.
- 35 D. W. DEAMER ET L. PACKER, *Biochim. Biophys. Acta*, 172 (1969) 539.
- 36 J. D. KARLISH ET M. AVRON, *Biochim. Biophys. Acta*, 153 (1968) 878.
- 37 J. A. RAVEN, *J. Exptl. Botany*, 19 (1968) 193.
- 38 J. T. CUMMINS, J. A. STRAND ET B. E. VAUGHAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 173 (1969) 198.
- 39 T. PUNNETT ET R. V. IYER, *J. Biol. Chem.*, 239 (1964) 2335.

Biochim. Biophys. Acta, 234 (1971) 344-352