

BBA 47115

DES ACTIVITES PHOTOSYNTHETIQUES SANS LES COMPLEXES PIGMENTAIRES CP1 ET CP2

S. ACKER^a, A. PICAUD^b et J. DURANTON^c

^aService de Biophysique et ^cService de Biochimie, Département de Biologie, CEN Saclay, B. P. n° 2, 91190, et ^bLaboratoire de Photosynthèse, CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette (France)

(Reçu le 22 Janvier, 1976)

SUMMARY

Photosynthetic activity in the absence of the CP1 and CP2 pigmentary complexes

Various photochemical activities were tested on chloroplasts of *Zea mays* that received 4 s of light every 4 h during the culture period. Photosystem I and Photosystem II were functioning, as well as the photosynthetic electron transport. These chloroplasts exhibited upon sodium dodecyl sulphate gel electrophoresis neither Complex 1 (M_r 70 000) generally associated with Photosystem I nor Complex 2 (M_r 25 000) generally associated with Photosystem II. Chlorophyll is indeed attached to polypeptides of molecular weight 21 000 and 29 000.

These results lead us to question the functional role of chloroplast protein-pigment complexes observed by sodium dodecyl sulphate gel electrophoresis.

INTRODUCTION

Deux réactions photochimiques sont à l'origine de la photosynthèse. La première de ces photoréactions, celle du Photosystème II, opère efficacement dans le rouge ($\lambda < 700$ nm), la seconde dans l'infrarouge ($\lambda > 700$ nm). Ces deux réactions photochimiques se produisent vraisemblablement au sein de deux complexes pigmentaires différents. La fragmentation mécanique (presse de French) ou chimique (détergents), l'étude de mutants ou bien l'analyse de plastes en voie de verdissement ont permis de mettre en évidence l'existence de ces deux complexes pigmentaires, de les séparer et d'en entreprendre l'étude biochimique. La technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide appliquée aux membranes chloroplastiques solubilisées par un détergent anionique fort comme le sodium dodécyle sulfate (SDS) visualise deux complexes protéine-pigment principaux, lesquels n'ont plus aucune activité photochimique après un tel traitement.

Abréviations: DCCIP, 2,6 dichlorophénol indophénol; DCMU, 3,4-dichlorophényl diméthylurée; L1, plantules ayant reçu 4 s de lumière toutes les 4 h; V, plantules témoins ayant reçu un éclairage continu; CP1, Complexe pigmentaire 1 (M_r 70 000); CP2, Complexe pigmentaire 2 (M_r 25 000).

La conjonction de ces deux approches, fragmentation, étude de mutants et du verdissement d'une part, électrophorèse en polyacrylamide d'autre part, a permis d'associer sans ambiguïté au complexe de haute masse moléculaire (Complexe 1) l'activité du Photosystème I et à celui de plus petite masse moléculaire (Complexe 2) l'activité du Photosystème II. En effet, les particules enrichies en Photosystème I par fractionnement à la digitonine [1-3] ou au Triton X-100 [3-6] présentent en électrophorèse uniquement le complexe 1 (CP1). Ces particules photoréduisent le NADP en présence de DCIPH₂, elles sont enrichies en *P*-700, en β -carotène, et en cytochrome *f*, elles sont pauvres en chlorophylle *b*, xanthophylles, galactolipides et phosphatidylglycérol; leur spectre d'absorption est déplacé vers les grandes longueurs d'ondes et elles émettent principalement une fluorescence vers 730 nm à la température de l'azote liquide. De même, les particules enrichies en Photosystème II ne présentent pas en électrophorèse de Complexe 1, mais uniquement une bande verte au niveau du Complexe 2 (CP2). Ces fragments photoréduisent le DCPIP, ils ont très peu de *P*-700, ils sont enrichis en chlorophylle *b* et en cytochrome *b*₅₅₉; ils absorbent vers 670 nm, émettent principalement une fluorescence vers 685 nm à une température de l'azote liquide et présentent le plus souvent une fluorescence variable. L'étude de mutants photosynthétiques amène à la même conclusion. Ceux qui sont défailants en activité Photosystème I: le mutant *Scenedesmus* n°8 [7], les mutants de *Chlamydomonas Reinhardtii* [8, 9], le mutant d'*Antirrhinum majus* en: alba-1 [10] ne présentent qu'une bande en électrophorèse au niveau du CP2. Le CP1 manque. Ceux qui sont défailants en activité du Photosystème II: les mutants d'orge [11-14] ou de pois [12] ne présentent qu'une bande en électrophorèse au niveau de CP1. Le CP2 manque.

Récemment deux nouveaux complexes protéine-pigment ont été décrits [15, 16] dont les masses moléculaires estimées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS, sont 21 000 et 29 000. Ces complexes sont mineurs chez une plante qui a poussé dans des conditions normales d'éclairement; ils sont prépondérants dans les tout premiers temps de verdissement et dans des conditions particulières d'éclairement.

Le propos de cette étude est de déterminer le rôle fonctionnel de ces nouveaux complexes et de voir en particulier si des plantes ayant la chlorophylle liée uniquement à ces complexes possèdent diverses activités photochimiques associées aux Photosystèmes I et II.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons fait pousser à 24 °C du *Zea mays* L. variété Inra 260 sur vermiculite arrosée à l'eau distillée. Les témoins (V) ont reçu un éclairage continu de lumière blanche (10 000 lux); les plantules nommées ici L1 ont reçu pendant toute la durée de la croissance et de l'expérimentation un éclairage intermittent de 4 s de lumière blanche (18 000 lux) séparé de 4 h d'obscurité. Après 12 jours les plantules qui ont alors trois feuilles sont récoltées en les coupant au-dessus du coléoptile.

Etude électrophorétique des complexes protéines pigments

Le marquage de la chlorophylle au tritium par l'acide δ -[H³]aminolévulique, l'extraction des complexes protéines pigments et leur étude sur gel de polyacrylamide SDS sont réalisés comme cela a déjà été décrit [15].

Mesure des activités photosynthétiques

Préparation des plastes. Les plantules récoltées sont refroidies en chambre froide (4 °C) où se fait la suite de la préparation. Les feuilles sont broyées au mortier à l'aide de sable de Fontainebleau dans un tampon 0.6 M Sorbitol, 0.2 M Tricine, pH 7, auquel de la serum albumine bovine est ajoutée à raison de 1g/l. La haute osmolarité est indispensable à la bonne conservation des plastes qui, comme nous le verrons, contiennent peu de chlorophyll [17]. Nous avons adopté le même tampon d'extraction pour les plastes verts, car dans ce cas les activités photochimiques mesurées en osmolarité plus faible n'étaient pas significativement différentes de celles que nous présentons. L'homogénat résultant du broyage est filtré sur 8 couches de gaze au milieu desquelles est intercalée une épaisseur de papier Kleenex, puis centrifugé 2 min à $1000 \times g$. Le surnageant obtenu est centrifugé 20 min à $20\,000 \times g$. Le culot est remis en suspension dans le minimum de tampon possible.

Dosage de la chlorophylle. Nous avons utilisé la méthode de Mackinney [18]. Les spectres sont enregistrés sur le Spectronic 505 Bausch & Lomb.

Réaction de Mehler. Les réactions de Mehler sont suivies par mesure polarographique de la vitesse d'absorption de l'oxygène à la lumière. La source lumineuse utilisée (lampe de microscope à filament) donne un éclairage de 70 mW/cm^2 . Dans ces conditions la lumière est presque saturante.

Transport d'électrons de H_2O au méthylviologène: le mélange réactionnel dans le tampon d'extraction comprend: 0.1 mM de méthylviologène, 1 mM d'azide de sodium, $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ de NaCl; la concentration en chloroplastes correspond à $50 \mu\text{g}$ de chlorophylle dans les 4 ml de mélange réactionnel final.

Transport d'électron de DCPIP H_2 au méthylviologène: même composition du mélange réactionnel auquel on ajoute 0.25 mM de DCPIP et 10 mM d'ascorbate de sodium de façon à avoir tout le DCPIP sous forme réduite. La présence de DCMU ne change pas les résultats.

Réaction de Hill: réduction du DCPIP. La photoréduction du DCPIP par le Photosystème II avec l'eau comme donneur d'électrons a été mesurée spectrométriquement à 590 nm. Le coefficient d'extinction utilisé à pH 7 est $20 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. L'éclairage des plastes se fait par un guide de lumière placé en haut de la cuve de mesure. Cette lumière est filtrée par un filtre rouge Wratten n° 92. L'éclairage au milieu du mélange réactionnel (sans chloroplastes) est $30 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$. La lumière est ainsi presque saturante. Le mélange réactionnel dans le tampon d'extraction contient 0.25 mM de DCPIP et les chloroplastes, de façon à ce qu'il y ait $30 \mu\text{g}$ de chlorophylle dans les 2.5 ml du mélange.

Mesure du P-700. Le dosage du P-700 a été fait en suivant le changement de densité optique à 705 nm en utilisant un spectrophotomètre Aminco Chance double faisceau. Le filtre de la lumière excitatrice est un Corning bleu n° 5.59. Devant le photomultiplicateur sont placés un calflex BK1 et un filtre rouge Corning n° 2.64. Le coefficient d'extinction utilisé est $64 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Le dosage de la chlorophylle est fait dans l'acétone à 80 % selon Mackinney [18].

Mesure de la fluorescence variable. Les cinétiques de montée de fluorescence sont mesurées sur des suspensions de chloroplastes contenant $50 \mu\text{g}$ de chlorophylle/ml, 0.6 M en Sorbitol, 0.2 M en Tricine (pH 7) et éventuellement $10 \mu\text{M}$ en DCMU. L'excitation se fait dans le bleu ($430 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$). Les émissions de fluorescence de longueur d'onde supérieure à 645 nm sont analysées.

RESULTATS

Les plantules de maïs (L1) qui ont reçu pendant toute la durée de la culture 4 s de lumière espacées de 4 h d'obscurité, contiennent 30 μg de chlorophylle par de substance fraîche (les plantules témoins (V) en contiennent 1000 μg), leur rapport chlorophylle *a*/chlorophylle *b* est de 25 (il est de 3.4 pour les plantules témoins).

La chlorophylle marquée au tritium obtenue en faisant métaboliser de l'acide δ -[H³]aminolévulique aux plantules, est associée en électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS, uniquement aux chaînes peptidiques 21 000 et 29 000 pour les plantules (L1) ayant reçu l'éclairage intermittent. Pour les plantules témoins (V) elle est associée aux chaînes peptidiques 21 000, 29 000 et 25 000, 70 000, ces deux dernières étant prédominantes (Fig. 1).

Pour les plantes ayant reçu une lumière intermittente, dans le vert le spectre de différence lumière moins obscurité à 77 °K est de même nature que ceux décrits par Vermeglio et Mathis [20]: la quantité de cytochrome *b*₅₅₉ par chlorophylle est la même dans les deux lots de plantes. Il en est de même pour le C550. Ces deux composants participent aux toutes premières réactions du Photosystème II [20]. Cela donne une indication d'un comportement normal des centres réactionnels du Photosystème II dans les plastes ayant reçu une lumière intermittente.

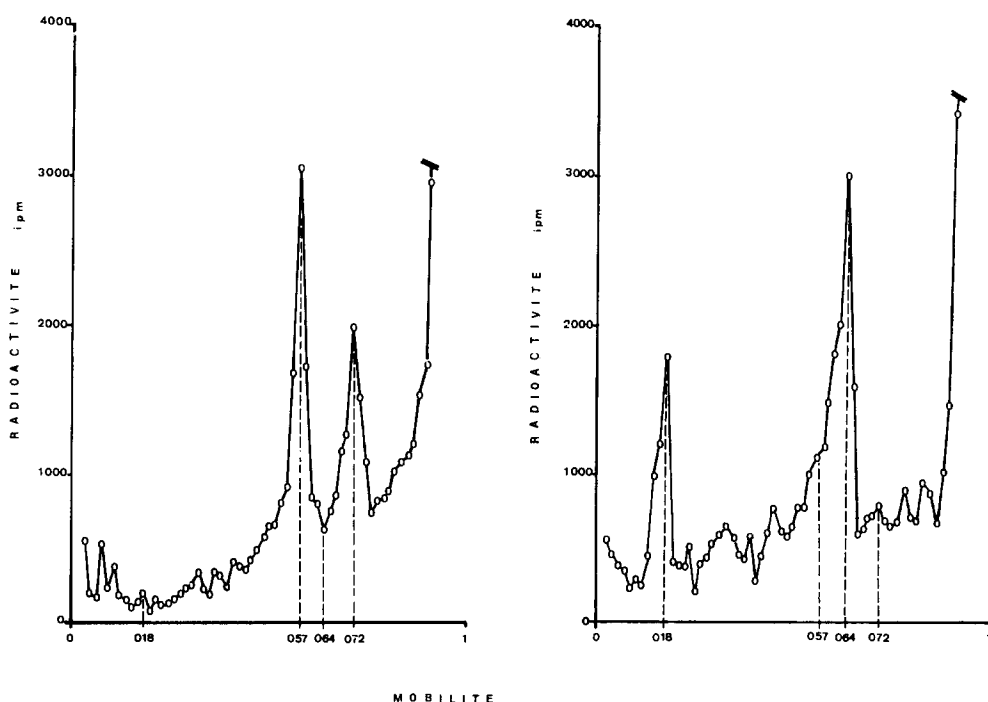


Fig. 1. Mise en évidence des holochromes chlorophylliens par électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS et marquage de la chlorophylle par l'acide δ -[H³]aminolévulique. L1: pour les plantes ayant reçu 4 s de lumière toutes les 4 h pendant toute la période de culture. V: pour les plantules témoins ayant reçu une lumière continue. Le pic à mobilité 0.18 est associé à la chaîne peptidique 70 000, (CP1), celui à 0.57 à la chaîne 29 000, celui à 0.64 à la chaîne 25 000 (CP2) et celui à 0.72 à la chaîne 21 000.

Le spectre d'émission de fluorescence de chloroplastes ayant reçu 4 s de lumière toutes les 4 h présente à la température de l'azote liquide un pic à 685 nm (fluorescence classiquement associée au Photosystème II) et un plus petit pic à 729 nm (classiquement associé au Photosystème I); l'épaule à 695 nm n'est pratiquement pas visible. Le pic à 685 nm est 4 fois plus grand que celui à 729 nm. Pour les témoins verts, le spectre d'émission de fluorescence à 77 °K est différent: il présente deux bandes d'importance égale à 685 et 695 nm qui sont plus faibles que la bande à 729 nm d'un tiers.

Le spectre d'absorption à 77 °K dans le rouge des plastes de plantules ayant reçu une lumière intermittente présente un maximum à 670 nm comme nous l'avons vu dans une précédente étude [16]. C'est à dire qu'il y a un déplacement de 6 nm vers les courtes longueurs d'onde par rapport aux plastes témoins.

Le tableau I présente les diverses activités photochimiques testées sur nos plantules. La réaction de Mehler: réduction du méthylviologène avec l'eau comme donneur d'électrons, mesurée à l'électrode d'oxygène, montre que pour des plantules (L1) ayant reçu l'éclairage intermittent, le transport d'électrons est complet d'un bout de la chaîne à l'autre. L'activité rapportée à la quantité de chlorophylle y est trois fois plus forte que pour les plantules témoins (V): 190 μ mol contre 59 μ mol d'oxygène absorbées par mg de chlorophylle et par h. L'activité trouvée pour les plantules témoins est de l'ordre de grandeur de celle qui est généralement mesurée chez les maïs. La réaction de Hill: réduction du DCPIP avec l'eau comme donneur d'électrons, réaction essentiellement Photosystème II, montre une différence similaire.

TABLEAU I

COMPOSITION PIGMENTAIRE ET ACTIVITES PHOTOSYNTHETIQUES DE PLASTES DE PLANTULES DE MAÏS AYANT REÇU UN ECLAIREMENT INTERMITTENT (L1) OU CONTINU (V)

Activité photochimique testée	L1	V
Teneur en chlorophylle (μ g chlorophylle/g de substance fraîche)	30	1000
Chlorophylle <i>a</i> /chlorophylle <i>b</i>	25	3.4
Maxima d'émission de fluorescence à 77 °K	685 et 729 nm*	685, 695 et 729 nm*
Maximum d'absorption à 77 °K	670 nm	676 nm
Réaction de Mehler (μ mol O ₂ absorbées/mg chlorophylle par h)		
(1) Transport d'électrons de l'H ₂ O au méthylviologène	190	59
(2) Transport d'électrons du DCPIPH ₂ au méthylviologène	990	52
Réaction de Hill (μ mol DCPIP réduit/mg chlorophylle par h)	75	57
Chlorophylle/ <i>P</i> -700	317	326
Aire entre la courbe de montée de fluorescence et la fluorescence maximale (unité arbitraire)	2	1

* Les nombres donnés en italiques représentent la longueur d'onde à laquelle un pic maximal a été obtenu.

Les plastes des plantules ayant reçu une lumière intermittente (L1) réduisent 75 μmol de DCPIP par mg de chlorophylle et par h, alors que ceux des plantules témoins (V) en réduisent 57 μmol . Il est à noter que ces valeurs, pour les plastes témoins, sont estimées par défaut car les activités mesurées ainsi décroissent rapidement avec le temps qui sépare la mesure de l'extraction des plastes. Un changement d'osmolarité du tampon ou un changement de son pH (de 7 à 8), la présence ou non de polyclar pour éliminer les polyphénols ou d'ascorbate dans le tampon d'extraction ne modifient pas cet état de fait.

Cette activité normale du Photosystème II des plastes extraits des plantules ayant reçu la lumière intermittente est confirmée par la cinétique de montée de fluorescence. Pour une même quantité de chlorophylle, en présence de DCMU, le niveau de fluorescence fixe est identique pour les deux lots de maïs et la surface entre la courbe de montée de fluorescence et la fluorescence finale est le double pour les plantules ayant reçu un éclairage intermittent par rapport aux plantules témoins. Cette aire, produit de la vitesse de réaction photochimique par le temps, est proportionnelle à la concentration des centres photochimiques actifs du Photosystème II [19]. Cette relative constance dans le rapport entre la teneur en centres actifs et la teneur en chlorophylle est remarquable quand on considère que les plantules cultivées en lumière intermittente ont 30 fois moins de chlorophylle que les plantules témoins.

Le résultat le plus surprenant de ce tableau I concerne la deuxième réaction de Mehler utilisant le couple DCPIP-ascorbate comme donneur d'électrons: 990 μmol d'oxygène absorbées par mg de chlorophylle et par h contre 52 μmol pour les plastes témoins. L'activité de ces derniers décroît avec le temps, ce qui n'est pas le cas avec les plastes qui ont reçu un éclairage intermittent. Les préparations de chloroplastes des deux lots de plantules présentent, comme nous le voyons, de très fortes différences d'activité pour cette réaction de Mehler. Une telle différence est difficile à interpréter. Il est possible que pour les plastes ayant reçu une lumière intermittente une réaction catalysée par un produit du Photosystème I ait lieu, du type de celle décrite par Shneyour et Avron [21]. En effet, lorsque l'activité du Photosystème I est mesurée par photoréduction du bleu de tétrazolium en présence de DCPIP/mercaptoéthanol et de DCMU, une différence de six ordres de grandeur dans la vitesse subsiste entre les deux lots de plantules. Cette différence n'est pas due à une concentration plus grande en centres actifs du Photosystème I pour les plastes ayant reçu une lumière intermittente.

En effet, le dosage du *P*-700 montre que pour une quantité de chlorophylle donnée il y a sensiblement le même nombre de centres actifs Photosystème I dans les deux types de plantules. Ce résultat, ainsi que l'estimation du nombre de centres réactionnels Photosystème II que nous avons vu plus haut ont été confirmés par Haveman et Mathis (manuscript en préparation) en mesurant le *P*-700⁺ et le *P*-680⁺ selon la méthode qu'ils ont décrite. Par cette méthode on ne voit qu'un très léger enrichissement en centres réactionnels pour les plantes ayant reçu un éclairage intermittent. Ces plantes contiennent au maximum deux fois plus de centres réactionnels par chlorophylle que les plantes témoins. La précision de cette mesure est limitée par la forte diffusion inhérente aux plastes peu chlorophylliens. Ce résultat concorde assez bien avec ceux que nous avons obtenus par des méthodes plus conventionnelles. La faible variation du nombre de centres, malgré la grande différence dans la teneur en chlorophylle, est remarquable, car cela semble impliquer une régulation au niveau de la chlorophylle dans la synthèse des unités photosynthétiques.

DISCUSSION

Nous avons obtenu des chloroplastes possédant les diverses activités des Photosystèmes I et II, bien que la chlorophylle ne soit associée en électrophorèse ni à la chaîne peptidique 70 000 ni à la chaîne 25 000. Cela amène à se poser la question du rôle exact des complexes protéine-pigment observés. En effet, il n'est pas possible de donner un rôle fonctionnel différent aux deux groupes de chaînes peptidiques porteuses de chlorophylle, 21 000 et 29 000 d'une part et 25 000 et 70 000 d'autre part. A part leur teneur en pigments, les chloroplastes ayant leur chlorophylle associée à 25 000 et 70 000 (V) et ceux pour lesquels elle est associée aux chaînes 21 000 et 29 000 (L1), n'ont pas un comportement photosynthétique très différent en ce qui concerne les activités observées; comme nous l'avons vu, même la dimension des antennes par rapport à celle des centres réactionnels diffère peu; ceci est vrai aussi bien pour le Photosystème I que pour le Photosystème II.

Ces résultats sont contradictoires avec ceux décrits par Alberte et coll. [23] qui montrent une coïncidence entre l'apparition du CP2 et de l'activité du Photosystème II.

Ils sont en accord, par contre, avec ceux de Hiller et coll. [22] qui, par une technique de lumière intermittente sensiblement différente de la nôtre, ont déjà observé l'absence de corrélation entre la présence du CP2 et l'activité du Photosystème II. Avec un éclairage de 2 min toutes les 2 h appliqué pendant une durée de 60 h à des plantules étiolées, les plastes qu'ils observent, s'ils ne présentent pas de CP2, présentent par contre un CP1 important. Les plantes que nous décrivons dans cet article, bien qu'elles aient poussé entièrement sous éclairage intermittent de 4 s de lumière toutes les 4 h, ont été éclairées au total 30 fois moins longtemps que celles décrites par Hiller et coll. Elles ne présentent pas de CP1. Nos résultats sont là encore en contradiction avec ceux de Alberte et coll. [23] qui décrivent une corrélation entre l'apparition du CP1 et la photooxydation du *P-700*.

Ce point précis est intéressant dans la mesure où un faisceau de corrélations convergent pour associer le CP1 et le *P-700* [22-24, 9]. Bengis et Nelson [24] ont même décrit la purification de ce complexe et le dosage du *P-700* sur la fraction isolée. Nous pouvons émettre deux hypothèses pour tenter d'expliquer l'apparente contradiction entre ces différentes expériences.

(1) Il est possible que le *P-700* ne soit pas exclusivement associé au CP1, mais aussi, par exemple, aux chaînes peptidiques 21 000 ou 29 000.

(2) Il est possible aussi que le CP1 soit moins stable en électrophorèse pour les plantes ayant poussé sous éclairage intermittent ou plus généralement pour des plantes peu chlorophylliennes. Suivant les conditions de culture, les forces de liaison à l'intérieur des complexes pourraient varier. A la limite même on peut imaginer que toutes les chaînes peptidiques des membranes chloroplastiques sont porteuses de chlorophylle *in vivo*; les forces de liaison entre les pigments et les chaînes peptidiques seraient plus fortes pour les complexes CP1 et CP2, ce qui permettrait de les voir après électrophorèse. En faveur de cette hypothèse on peut avancer trois arguments: (a) 60-80 % de la chlorophylle se trouve dans le front de migration. Il est possible d'imaginer que la chlorophylle dite "libre" ait été arrachée de ces chaînes peptidiques apparemment sans pigment, lors de l'extraction et de l'électrophorèse. (b) En effet, des bandes chlorophylliennes différentes du CP1 et du CP2 sont décrites dans la littérature [15,

25–27]. Elles sont plus ou moins stables suivant les espèces, les conditions de cultures ou les conditions d'extraction. (c) Enfin, récemment, Lagoutte et Duranton [28] ont décrit une série d'arguments en faveur de l'existence d'une sous-unité peptidique servant de motif de base dans l'édification des structures des membranes chloroplastiques. En poids, globalement, il y a une molécule de chlorophylle par sous-unité peptidique. Il est donc possible d'associer à chaque sous-unité une molécule de chlorophylle. On peut imaginer que les sous-unités soient plus ou moins associées les unes aux autres dans le thylakoïde entraînant des forces de liaison différentes entre la chlorophylle et la partie protéique selon les états d'association. Selon la nature de ces liaisons, celles-ci peuvent être plus ou moins facilement rompues par l'extraction (détergents) ou par l'électrophorèse.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Docteur J. Haveman pour les mesures des $P-700^+$ et $P-680^+$ qu'il a effectuées et pour les conseils qu'il a donnés concernant ce travail. Nous remercions également le C.N.R.S. pour le support financier qu'il accorde au laboratoire (RCP 282) et le Phytotron (Gif-sur-Yvette) qui a mis à notre disposition des chambres climatisées.

RESUME

Diverses activités photochimiques ont été testées sur des chloroplastes de maïs ayant reçu pendant toute la durée de la culture, 4 s de lumière toutes les 4 h. Les deux photosystèmes sont fonctionnels, ainsi que la chaîne de transport d'électrons. Ces chloroplastes ne présentent pas en électrophorèse sur gel de polyacrylamide sodium dodecyle sulfate, le Complexe 1 (M_r , 70 000) généralement associé au Photosystème I ni le Complexe 2 (M_r , 25 000) généralement associé au Photosystème II. La chlorophylle est associée aux chaînes peptidiques de masses moléculaires 21 000 et 29 000.

Ces résultats permettent de poser le problème du rôle fonctionnel que jouent réellement dans le chloroplaste les complexes protéine-pigment visualisés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide sodium dodecyle sulfate.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Boardman, N. K. and Anderson, J. M. (1964) *Nature* 203, 166–167
- 2 Thornber, J. P., Gregory, R. P. F., Smith, C. A. and Bailey, J. L. (1967) *Biochemistry* 6, 391–396
- 3 Adler, K. (1974) *Photosynthetica* 8, 360–367
- 4 Remy, R. (1971) *FEBS Lett.* 13, 313–317
- 5 Shiozawa, J. A., Alberte, R. S. and Thornber, J. P. (1974) *Arch. Biochem. Biophys.* 165, 388–397
- 6 Klein, S. M. and Vernon, L. P. (1974) *Photochem. Photobiol.* 19, 43–49
- 7 Gregory, R. P. F., Raps, S. and Bertsch, W. (1971) *Biochim. Biophys. Acta* 234, 330–334
- 8 Levine, R. P., Burton, W. G. and Duram, H. A. (1972) *Nature* 237, 176–177
- 9 Picaud, A. and Acker, S. (1975) *FEBS Lett.* 54, 13–17
- 10 Herrmann, F. (1971) *FEBS Lett.* 19, 267–269
- 11 Thornber, J. P. and Highkin, H. R. (1974) *Eur. J. Biochem.* 41, 109–116
- 12 Genge, S., Pilger, D. and Hiller, R. G. (1974) *Biochim. Biophys. Acta* 347, 22–30
- 13 Remy, R. (1974) *Photochem. Photobiol.* 18, 409–416
- 14 Anderson, J. M. and Levine, R. P. (1974) *Biochim. Biophys. Acta* 357, 118–126

- 15 Guignery, G., Luzzati, A. and Duranton, J. (1974) *Planta* 115, 227–243
- 16 Acker, S. and Duranton, J. (1975) *Biochim. Biophys. Acta* 387, 279–287
- 17 Guillot-Salomon, T. (1973) Thèse de Doctorat d'Etat, Paris n° CNRS AO 8615
- 18 MacKinney, G. (1941) *J. Biol. Chem.* 140, 315–322
- 19 Murata, M., Nishimura, M. and Takamiya, A. (1966) *Biochim. Biophys. Acta* 120, 23–33
- 20 Vermeglio, A. and Mathis, P. (1973) *Biochim. Biophys. Acta* 292, 763–771
- 21 Shneyour, A. and Avron, M. (1971) *Biochim. Biophys. Acta* 253, 412–420
- 22 Hiller, R. G., Pilger, D. and Genge, S. (1973) *Plant Sci. Lett.* 1, 81–88
- 23 Alberte, R. S., Thornber, J. P. and Naylor, A. W. (1972) *J. Exp. Bot.* 23, 1060–1069
- 24 Bengis, C. and Nelson, N. (1975) *J. Biol. Chem.* 250, 2783–2788
- 25 Hiller, R. G., Genge, S. and Pilger, D. (1974) *Plant Sci. Lett.* 2, 239–242
- 26 Herrmann, F. and Meister, A. (1972) *Photosynthetica* 6, 177–182
- 27 Brown, J. S., Alberte, R. S. and Thornber, J. P. (1974) *Proc. 3rd Int. Conf. Photosynth.* 1951–1962
- 28 Lagoutte, B. and Duranton, J. (1976) *Biochim. Biophys. Acta* 427, 141–152