

FOTOFOSZFORILÁCIÓ ÉS IONTRANSPORT

CSEH EDIT

ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest

N ó m e n k l a t ú r a

Amikor egy élénken kutatott terület eredményeit át akarjuk tekinteni, akkor nemcsak a kísérleti eredmények ellentmondásos értelmezésével kell megküzdenünk, hanem a nomenklatúra kellemetlen zavarosságával is.

Az irodalom adatai alapján jelenleg két fotoszintézisre képes struktúrát ismerünk: a kromatofórát és a kloroplasztiszt. A fotoszintézisre képes baktériumoknak nincs kloroplasztiszuk. A fotoszintézisben közvetlenül résztvevő molekulák a sejtmembránban lokalizálódnak, ami betüremkedhet a plazmába és speciális mezoszómát képez. Ultrahangos kezelés után a klorofill tartalmú membrán fragmentumok izolálhatók, amelyek újrarendeződve vezikulumos vagy lamelláris struktúrát képeznek. Ezt nevezik kromatofórának.

A kloroplasztiszok membránnal körülvett organellek. Dezoxiribonukleinsavat tartalmaznak, amely a sejtmag nukleinsav anyagától különbözik. Átmérőjük 1–10 μ között változik. Alakjuk, különösen az algákban nagyon változatos. A kloroplasztisz kitöltheti az egész sejtet, mint pl. a Chlorelában. A Spirogyrában ugyancsak egy plasztisz van, amely szalagszerűen helyezkedik el a sejtben. Magasabbrendűeknél a plasztiszok többnyire diszkoszalakúak, számuk változatos, egy-egy sejtben lehet 2–3 darab, de számuk elérheti sejtenként a 40-et is. In vivo energiaigényes mozgásra képesek, vagy passzívan sodródnak a plazmaárammal.

Két szerző próbál rendet teremteni a plasztisz nomenklatúra területén: HALL 1972-ben megjelent dolgozata és WEIER et al. 1965, 1966-ban megjelent dolgozatai.

HALL az izolálás során nyert kloroplasztisz típusokat, illetve fragmentumokat rendszerezi és közli, hogy ki, mikor és minek nevezte a növényi sejtből nyert színes anyagot. Hatféle „állapotot” különböztet meg:

1. A-típus (complete chloroplasts): gyors preparálás után, izo-, vagy hipertóniás oldattal, egy centrifugálással nyert, intakt határfelülettel rendelkező, ép plasztiszok, amelyek ozmotikusan aktívak. Jellemző rájuk a gyors CO₂ fixálás és O₂ fejlesztés. Transzlokációs rendszerük ép, vagyis nem vesznek

fel NADP-t és $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-}$ -t; ATP-t, ADP-t és anorganikus pirofoszfátot csak nagyon lassan. Ortofoszfát, cukorfoszfátok, malát, aszpartát gyorsan felvevődik.

2. B-típus (unbroken chloroplasts): a preparálás izo-, vagy hipertóniás oldatban történik, gyorsan, de több centrifugálással. A plasztisz külső membránja ép, de ozmotikusan inaktív. A CO_2 fixálás jóval gyengébb, mint az A-típusnál, NADP, $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-}$, ADP bejut a plasztiszba. A NADP redukciójához extra ferredoxinra nincs szükség.

3. C-típus (broken chloroplasts): a külső membrán széttörik és elvész a preparálás alatt. Sztróma alig van. A lamelláris szerkezet intakt, de a thylakoidok kissé duzzadtak. CO_2 fixálást nem, vagy alig lehet kimutatni. A NADP redukciójához extra ferredoxinra van szükség.

4. D-típus (free-lamellar chloroplasts): az A-típusú intakt kloroplasztiszból ozmotikus sokkal nyúrik, majd azonnal izotóniás oldatba helyezik. A külső határfelület és a sztróma eltűnik a plasztiszból, de a közegben megmarad, mivel a mosás nem távolíthatja el úgy, mint a C-típusnál. Bizonyos körülmények között CO_2 fixálásra képes. Különösen azokhoz a vizsgálatokhoz használják, ahol a külső határfelület szerepét kívánják tanulmányozni.

5. E-típus (chloroplasts fragments): ezt a típust a plasztiszok hipotóniás oldatban történő többszöri reszuszpenziójával nyerik. A thylakoidok szabálytalanul rendeződnek és megduzzadnak. Külső membrán és sztróma nincs, a fragment CO_2 fixálásra sem képes.

6. F-típus (sub-chloroplasts particles): ultrahanggal, digitoninnal, triton kezeléssel nyerhető. Különböző méretű thylakoid membránokat tartalmaz, amit centrifugálással szét lehet választani. CO_2 fixálásra nem képes. ATP-képzés kisméretű vagy hiányzik és a ciklikus fotofoszfóriláción keresztül történhet. A ferricianid és a DPIP redukció megtörténik, a NADP-t redukálja a fotoszisztém I-en keresztül, ha redukált DIPH₂-t adnak a rendszerhez.

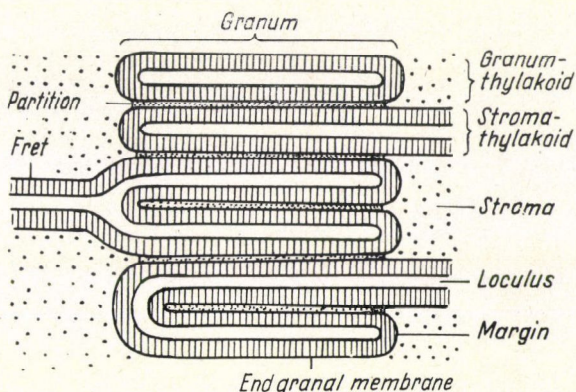
Csak a C- és F-típus esetében lehet azzal számolni, hogy az előállított preparátum viszonylag homogén, a többi tisztasága, egységessége nagyon változó. Az A-típusból a 60–80%-os termelés már nagyon jó eredmény. A különböző szerzők a felsorolt plasztisz típusokat általában elég következtetlenségül több mint húsz névvel illetik.

A kloroplasztisz felépítése

Fénymikroszkóppal a kloroplasztisz struktúra mentesnek látszik. Színtelen sztrómából és a benne levő zöld korongokból áll. Ezt az utóbbit gránának nevezték el és úgy gondolták, hogy egyedül ez tartalmazza a klorofillt. Az elektronmikroszkópos képek azonban azt mutatják, hogy a grána egymásra halmozott lamellákból áll. MENKE 1961-ben a lamelláris egységeket thylakoidoknak nevezte el. Formájuk és eloszlásuk nagymértékben különbözhet még

egy plasztiszon belül is. Néhány csak a gránum területére korlátozódik, némelyik pedig áthalad az egész sztrómán. Az előbbi gránum-thylakoidnak, az utóbbit sztróma-thylakoidnak nevezték el. Közbevetőleg hangsúlyoznom kell egy fontos kísérleti eredményt: régebben feltételezték, hogy a klorofill csak a gránum-thylakoidokban található meg. Azonban LINTHILAC és PARK 1966-ban kimutatták, hogy a színyanyagok a sztróma-thylakoidokban is megtalálhatók, sőt az egész lamelláris rendszer azonos koncentrációban tartalmazza a pigmenteket.

WEIER és munkatársai (1965, 1966) az egyes kloroplasztisz alkotórészek elnevezésére terminológiát dolgoztak ki (1. ábra).



1. ábra. Grána- és sztrómathylakoidok vázlatos rajza és alkotórészeik elnevezése (MÜHLETHALER 1971)

A gránum a thylakoidok egymásra rendezett rétegeiből áll. Köztük grána-, ill. sztróma-thylakoidok találhatóak. A két, egymással szorosan érintkező thylakoid közötti rész: partition. A thylakoidok sztrómával érintkező része: a margin. Ha a thylakoid a gránumok közötti részt keresztezi, akkor membránja fret-nek nevezendő. A thylakoid belső részét loculusnak hívják. A gránum legszélső thylakoidjának membránja az end granal membrán.

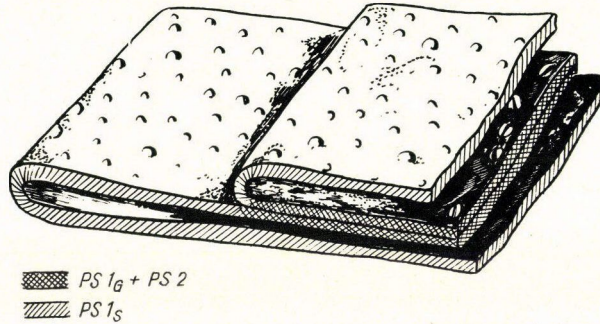
A fenti nevezéktanból az irodalomban a következő fogalmak maradtak meg: sztróma, grána, sztróma-, grána-thylakoid, fret, loculus, envelope (a kloroplasztiszt borító hártya). Sajnálatos azonban az, hogy még a „thylakoid” fogalmat sem használják általánosan.

A kloroplasztisz-membránok szerkezete

A sejteket és a sejt alkotórészeit membránok határolják. A membrán lehet egyrétegű, mint pl. a növényi sejteket kívülről határoló plazmalemma és a vakuolát határoló tonoplaszt, vagy kétrétegű, mint a kloroplasztisz, mito-

kondrium, sejtmag membránja. Joggal fel lehet tenni azt a kérdést, hogy a partikulumokhoz tartozik-e mind a két membrán, vagy pedig a belső membrán a partikulumot, a külső membrán a plazmát határolja? PACKER (1972) hivatkozás nélkül írja le azt a véleményt, hogy a mitokondrium külső membránja az eukariota sejt membránjából származik, míg a mitokondrium belső membránja egy prokariota korai infekciójának az eredménye.

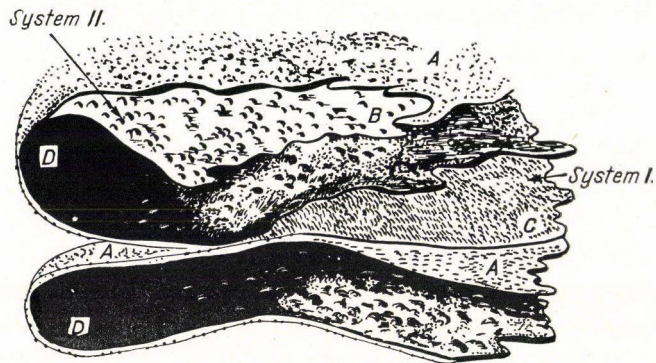
A membrán modellek három fő típusát különböztetjük meg, amelyek jellegükben eltérők. 1. A klasszikus unit membránt, amelyet LPL vagy PLP típusúnak tételeztek fel. 2. GREEN et al. (1967) által főként a mitokondriális membrán krisztái alapján elképzelt subunit egységekből felépülő membránt,



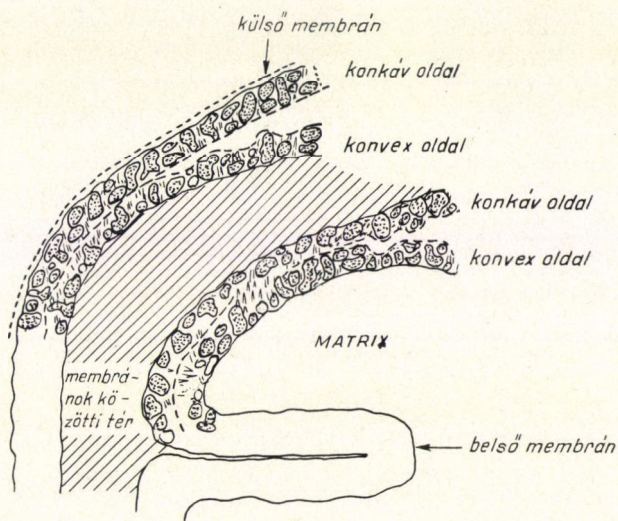
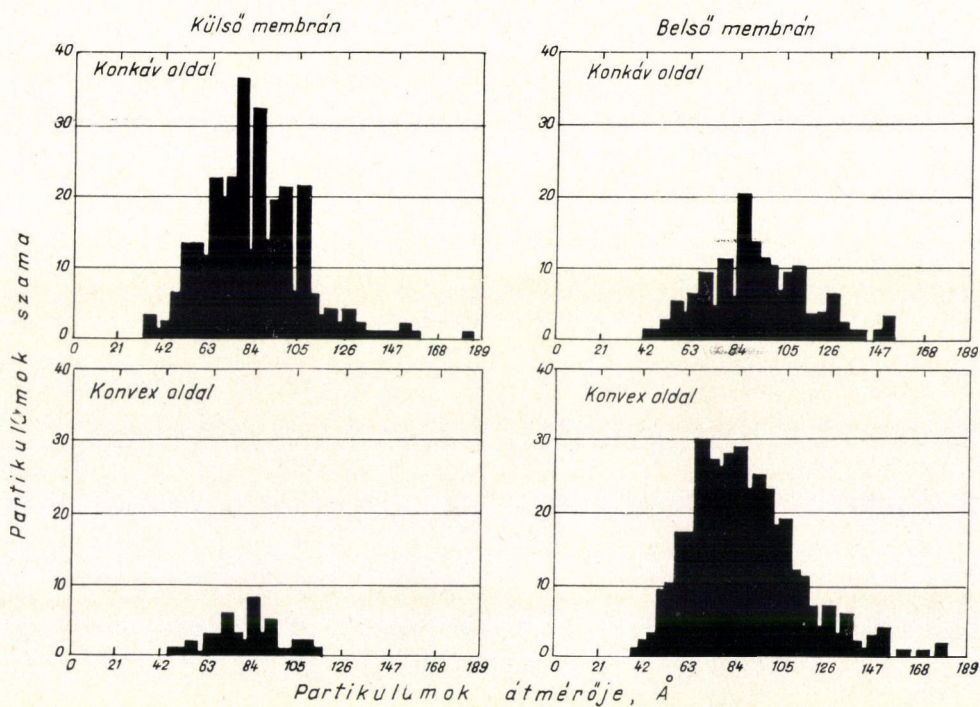
2. ábra. A thylakoid-membrán szerkezete. A $PS1_G$ régió csak kisméretű partikulumokat tartalmaz. A $PS1_G + PS2$ régió kis- és nagyméretű partikulumokat is tartalmaz (PARK és SANE 1971)

és a 3. modellt, amelynek alapja a freeze etching technikával nyert elektronmikroszkópos kép és a detergenssekkal nyert partikulumok analízise. Kimutatták, hogy a fagyasztva-metszésnél mind a mitokondrium, mind pedig a thylakoid membrán a hidrofób kötéseik mentén hasad. Az így nyert membránok elektronmikroszkópos képén tehát négy felület tanulmányozható (2–5. ábra).

A membránok külső felületén általában különböző nagyságú és a felületre jellemző sűrűségben kiemelkedő partikulumok találhatóak: a külső felü-



3. ábra. A kloroplaszt thylakoid kettős membránjának szerkezete (CRANE et al. 1971)



4. ábra. A mitokondrium külső és belső membránjának szerkezete; a partikulumok száma és nagysága (PACKER 1972)

letek sokkal simábbak. Mindkét membránban, feltételezhetően bizonyos területeken, a lipoidok kétrétegű struktúrában rendeződnek, amibe a fehérjemolekulák, különösen, ha nagyok mint az ATPáz, mélyen beágyazódnak. Az 5. ábrán szemléletes képét látjuk az elektron-transzportláncban szereplő fehérjék elrendeződésének.

Bizonyítható, hogy a légzési elektrontranszport rendszer egyes részei elkülönülten találhatók a membrán egyik, illetve másik részében. Detergenssekkel a két réteget szét lehet választani. A mátrix felé eső rész inkább a dehidrogénázokat (vörös frakció), a sejt felé eső rész inkább az oxidázokat tartalmazza (zöld frakció), CRANE et al. 1971.

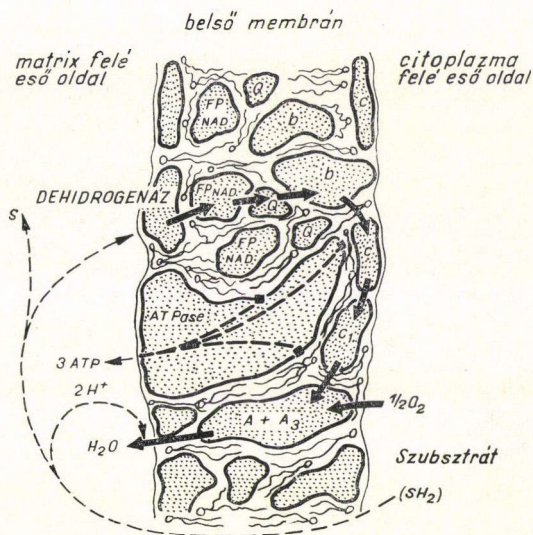
A mitokondrium belső membrán frakciójának partikulum eloszlását a membrán víztartalma jelentősen befolyásolja (PACKER 1972). Az izotóniásnál magasabb cukor koncentráció gátolja az elektron- és az energiatranszportot. A reakció ugyanúgy megfordítható, mint a fagyasztva-metszéssel kimutatható strukturális módosulás.

A thylakoid-membrán eredetére nézve a mitokondrium krisztáival analóg, mivel a thylakoidok a plasztiszt borító belső membránnak a betűrődései. A thylakoidok azonban elválnak a belső membrántól és így külön lumennel és membránnal rendelkeznek. A kloroplasztisznál a külső borító membrán (envelope), ami önmagában is kettős rétegű, egy elkülönült belső lamelláris rendszert vesz körül. Amint a 2., 3. ábrán láttuk, a thylakoid membrán ugyancsak kétrétegű és elektrontranszport rendszerei, a hozzátartozó pigmentekkel együtt, detergenssekkel szétválaszthatók.

A legújabb irodalmi adatok szerint (KOENIG et al. 1972) három frakciót tudnak elkülöníteni. Az első frakció molekulásúlya 600 000. Az egyes partikulumok kb. 25 klorofill molekulát tartalmaznak. Ez a frakció csak fotoszisztém I (PS I) aktivitást mutat. A második frakció molekulásúlya 110 000. Az egyes partikulumok 1 klorofill molekulát tartalmaznak. A frakció mind a PS I, mind pedig a fotoszisztém II (PS II) aktivitást mutatja. Valószínűnek tartják, hogy a két fotoszisztém más-más partikulumhoz tartozik, mivel a két elektrontranszport között kapcsolatot nem tudtak kimutatni. A harmadik frakció molekulásúlya 80–100 000, partikulumonként 1 klorofill molekulát tartalmaz, csak PS II aktivitást mutat. Azt a kérdést, hogy az első és második frakció PS I aktivitása azonos partikulumhoz tartozik-e, nem döntötték meg el. Azt már sokan megállapították, hogy PS I aktivitást két különböző típusú partikulum is mutat. A későbbiek világosabbá tétele érdekében megjegyzem még, hogy a PS II frakciót 10 000 g-vel, a PS I frakciót 144 000 g-vel nyerték (CRANE et al. 1970). Elektronmikroszkópos képen a PS I frakciónak a 100 Å-ös globulusok, a PS II frakciónak a 175 Å-ös globulusok felelnek meg (2. ábra).

A plasztiszokat a sejt felé kettős membrán borítja, amely tehát ugyancsak négyfelé hasítható. Ha a mitokondrium membránokat a kloroplasztisz membránokhoz hasonlítjuk, akkor fel kell figyelniük arra, hogy a plasztisz membrán

rendszere sokkal bonyolultabb. Míg a mitokondrium betüremkedésekkel megnövelt belső membránjában helyezkednek el az elektron-transzportlánc komponensei, a fotoszintetikus elektron-transzportlánc a thylakoid membránokban található. A kloroplasztisznak tehát plusz egy membránja van a mitokondrium-



5. ábra. A fehérjekomponensek feltételezett elrendeződése a mitokondrium belső membránjában (PACKER 1972)

hoz képest: a borító membrán (envelope) belső membránja. A külső mitokondrium membrán alkotórészei sem ismertek még részletesen, a kloroplasztiszokat borító membránnál azonban sem a külső, sem a belső membrán rendeltetését nem ismerjük, az alkotó fehérjekomponensekről nem is beszélve. Az látszik csak bizonyosnak, hogy a CO_2 a külső borító membránon kontrolláltan halad át. A szerves molekulákba kötött szén pedig specifikus szállítókon keresztül jut ki a sejtbe. Ezek a szállítók a borító membrán belső membránjában lokalizálódnak.

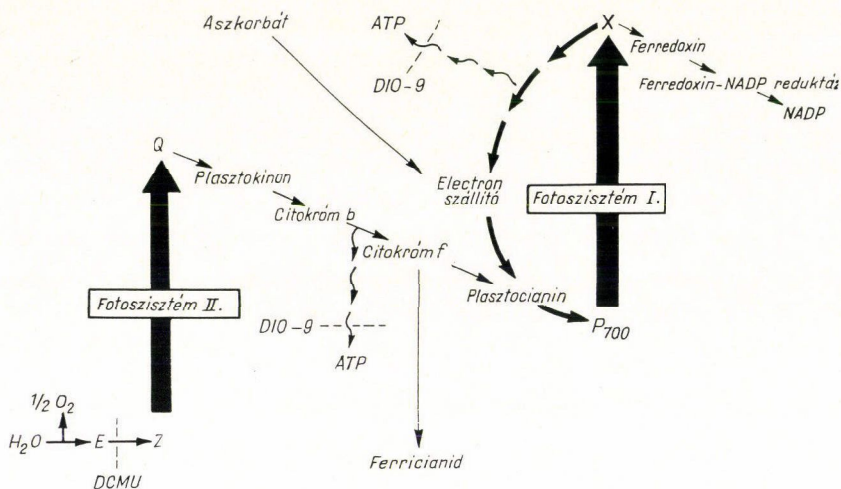
A fényindukált elektron-transzportlánc

1943-ban állapította meg kétséget kizáróan RUBENS, hogy a fényenergia ATP-be raktározódhat és 1943-ban állapította meg EMERSON és LEWIS, hogy a 680 nm-nél hosszabb hullámhosszú fény a fotoszintézisben ineffektív, holott

ebben a tartományban *in vivo* a klorofill még jelentős mennyiségű fényt abszorbeál. Ez a jelenség a red-drop. A fotoszintézis hatásfoka jelentősen emelkedik, ha a far red fény mellett rövidebb hullámhosszú fényt is adnak a rendszerhez. Ez az emelkedés nagyobb (természetesen azonos fényintenzitással számolva), mint a vörös fényben és a far red fényben külön-külön kapott értékek összege.

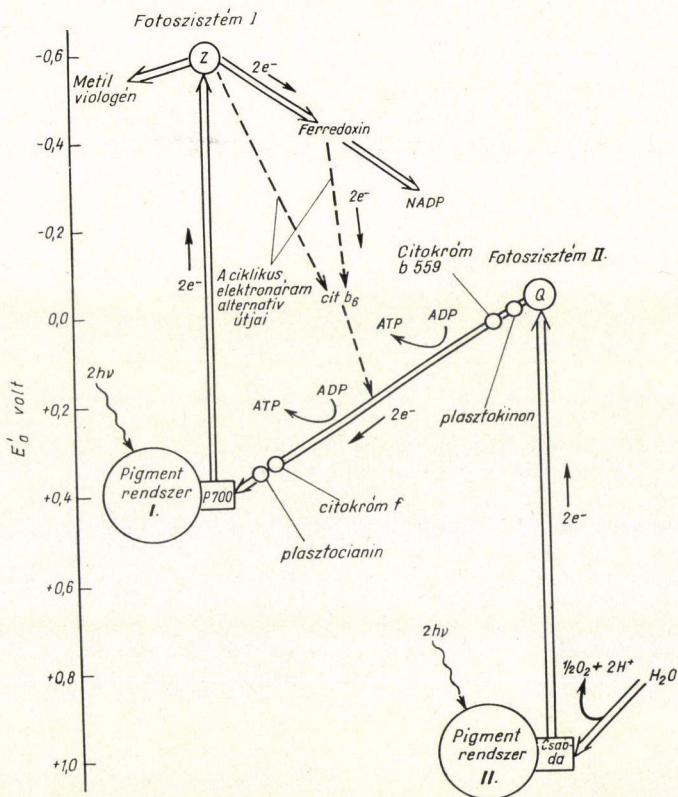
$$\text{Növekedés} = \frac{\text{rate}(\text{red} + \text{far red}) - \text{rate}(\text{red})}{\text{rate}(\text{far red})}$$

Ma már a fényindukált elektron-transzportlánc ismeretében ezeket a jelenségeket világosan meg tudjuk magyarázni. A P_{700} -nak nevezett a-klorofill csak a hosszú hullámhosszú fény abszorpciójára képes. Természetes körülmények között, ha a rendszert egyidejűleg 680 nm-nél rövidebb hullámhosszú fényvel is megvilágítják, akkor létrejön a fotoszintézis serkentésének jelensége. Ezt a hatást azok a pigmentek váltják ki, amelyek a vörös hullámhosszon abszorbeálják a fényt és biztosítják az elektron utánpótlást. A P_{700} -as oxidoredukciós rendszert fotoszisztém I-nek, a vörös fényben abszorbeáló rendszert fotoszisztém II-nek nevezték el.



6. ábra. A fotoindukált elektrontranszport vázlatja (AVRON 1971)

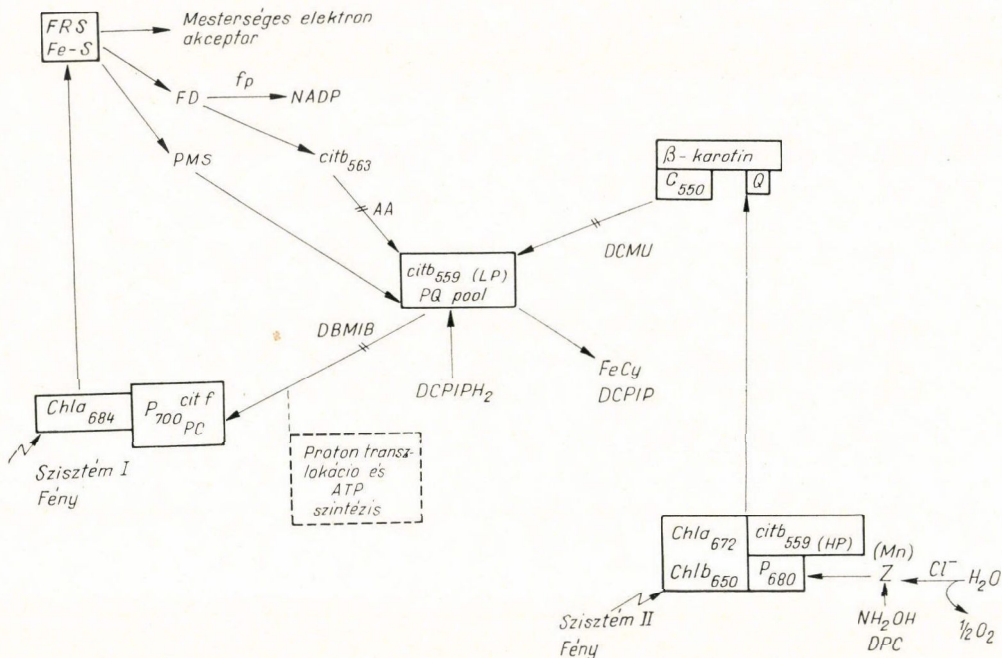
Az elektron-transzportlánc ún. Z-sémájának változatait, ami az elektron-donor vízmolekulától a végső elektronakceptor $NADP^+$ -ig vezet, a 6., 7., 8. ábrán látjuk. Ezt a transzportláncot nevezzük nem-ciklikus elektrontranszportnak. A nem-ciklikus elektronáramlás a fénykvantum abszorpciójával kezdődik, a kérdéses kvantum a reakció centrumban jutva megindítja a PS II-nek nevezett oxidációs-redukciós reakcióláncot, amely az első lépésben a Z anyag oxidációját és a Q anyag redukcióját eredményezi. A képződött oxidált Z



7. ábra. A fotoindukált elektrontranszport vázlatja (LEHNINGER 1971)

oxidálja a vizet ismeretlen intermedierek keresztül, ami szabad oxigént és hidrogén ionokat eredményez. A transzportlánc karrierjeinek egymásutániséga nincs még eldöntve. Feltételezik, hogy a Q-nak nevezett ismeretlen vegyület a II-es pigmentrendszer elektronakceptora. HALL és EVANS (1972) sémájában itt találjuk a C_{550} -et és a β -karotint is. Az alacsonyabb potenciálú cyt b_{559} és a plasztokinon készlet a membránban egy relatíve mobilis karrier csoportot alkotnak. A plasztocianin és a cyt. f olyan elektronszállítók, amelyeknek specifikus orientációja szükséges ahhoz, hogy vagy a nem-ciklikus, vagy a ciklikus elektrontranszportoz tartozzanak.

Bizonyítottak tekintik (AVRON 1967) a ferredoxin és a flavoprotein ferredoxin-NADP reduktáz részvételét a rendszerben. Ezeket az anyagokat tisztított enzimpreparátum formájában is előállították. Azonban a PS I primér elektronakceptora teljesen ismeretlen. Létezését indirekt módon bizonyították, kimutatták, hogy a megvilágított kloroplasztiszok olyan redukáló anyagot (anyagokat) tartalmaznak, amelyek redoxpotenciálja jóval alacsonyabb, mint a ferredoxiné. Spenót plasztiszból izoláltak is olyan anyagot, ami a ferredoxin



8. ábra. A fotoindukált elektrontranszport vázlata (HALL és EVANS 1972)

redukciójához kellett és ferredoxin redukáló anyagnak (FRS) nevezték el. Találtak egy Fe-t és S-t tartalmazó, membránhoz kötött fehérjét is (HALL és EVANS, 1972). Jelenleg még nem lehet eldönteni, hogy azonos vagy különböző anyagokról van szó.

Mesterséges elektrondonorokkal, illetve -akceptorokkal a nem-ciklikus elektron-transzportlánc részeire bontható. Az így kapott eredményekből következtetni lehet a karrierek valódi helyére a láncban. Az *in vivo* út a víztől a NADP⁺-ig vezet. A vizet helyettesíteni lehet difenilkarbaziddal (DPC) mint elektrondonorral. A PS II és PS I között mesterséges elektrondonorként először a diklorfenolindofenolt (DPIP) használták, ugyanezt a célt szolgálja az aszkorbát is. A PS II részvételével játszódik le a DPC → [Fe(CN)₆]³⁻ reakció. A NADP-t a Mehler reakcióban a metilviologén helyettesítheti és így a DPIP-ről vagy az aszkorbátról a PS I-en át jut az elektron az autooxidábilis metilviologénra.

Eddig az egyszerűsítés kedvéért csak a nem-ciklikus elektrontranszportról beszéltünk. Azonban már régen kimutatták, hogy a kloroplasztisz ciklikus elektrontranszportot is katalizál. A ciklikus elektrontranszportot nem lehet ugyanazokkal a módszerekkel követni, mint a nem-ciklikus elektronáramot. Létezését bizonyítja, hogy az izolált plasztisz ADP, P_i jelenlétében megvilágítás hatására ATP-t szintetizál anélkül, hogy elektrondonorról és -akceptorról

kellene gondoskodni. Ebből nyilvánvaló az a feltételezés, hogy az ADP foszforilálásához szükséges energiát a fény szolgáltatja és olyan elektrontransporthoz kapcsolódik, ahol az elektronok visszakerülnek ugyanabba a molekulába, ahonnan excitálódtak.

A lehetséges utak rövid ismertetése után kiemeljük a legfontosabb problémákat:

1. Nem ismerjük pontosan a nem-ciklikus elektrontransportban résztvevő karrierek helyét, anyagi minőségét és a részreakciók pontos mechanizmusát. Kirívó példa erre a víz fotolízise.

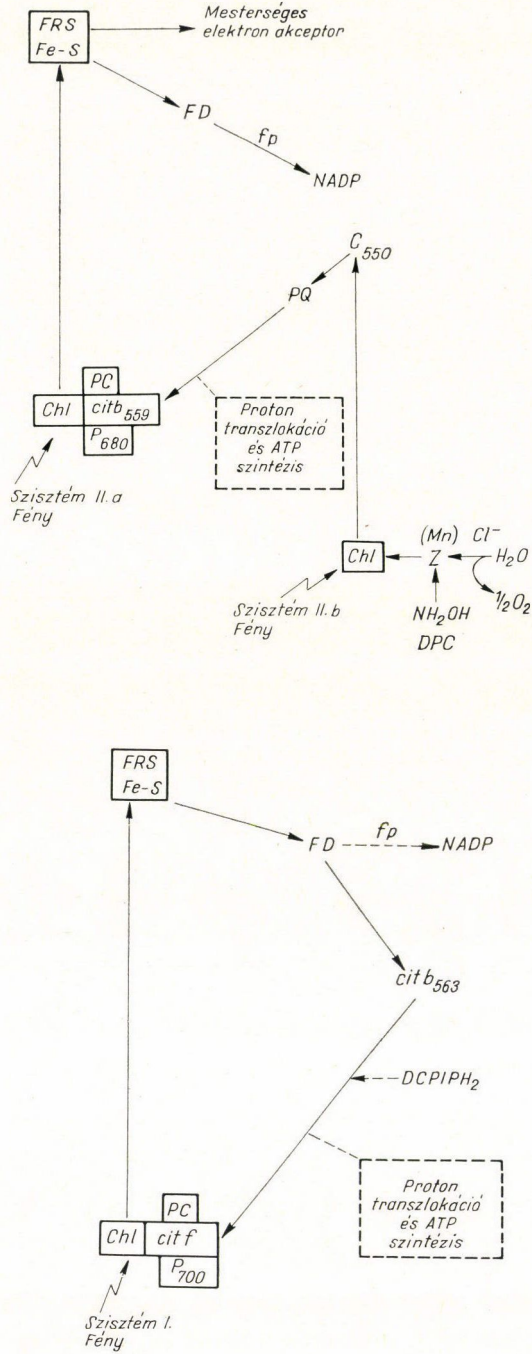
2. Ha összehasonlítjuk az elektrontransport sémákat, akkor látjuk, hogy legfeltűnőbbben a cyt. f helye változik. A vörös fényt abszorbeáló klorofilok elektron utánpótlását biztosító anyag(ok) (Z) és a PS II primér elektronakceptora (Q ?, C_{550} ?) ugyancsak bizonytalan.

3. A legizgalmasabb kérdés azonban az, hogy a PS I és a PS II hogyan viszonylik egymáshoz? A legvalószínűbbnek az látszott, hogy a két fotoszisztém egymást követve (in series) működik, vagyis a P_{700} elektron hiányát a PS II pótolja.

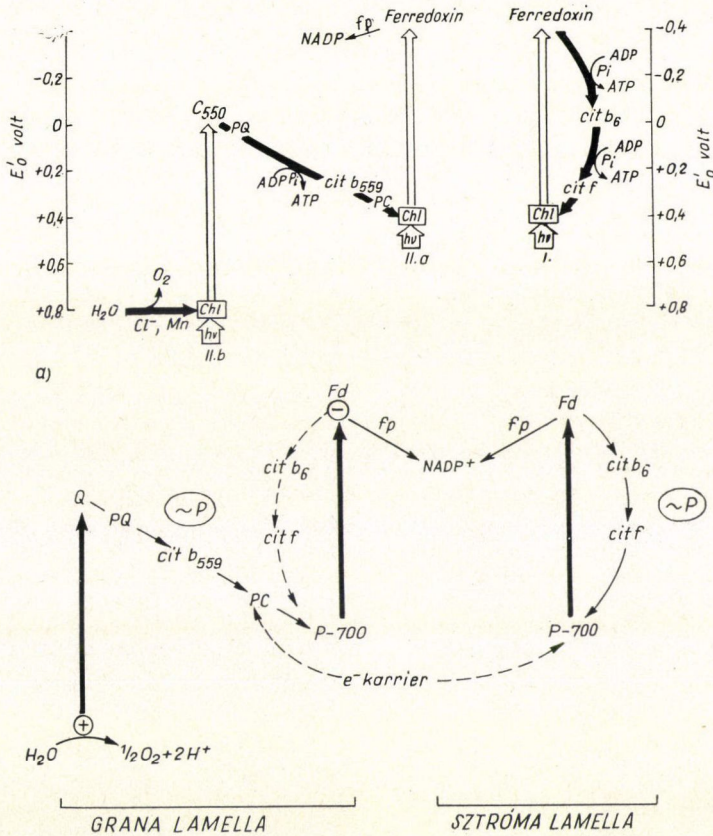
A detergentekkel történt partikulum szétválasztás világosan bizonyítja azt, hogy a PS I aktivitással rendelkező frakció (kisméretű, globuláris partikulumok) és a PS I + PS II aktivitású frakció létezik. Az utóbbiban különböző méretű partikulumok vannak (100 Å + 175 Å). Kérdéses azonban az, hogy a két PS I és partikulumai kvalitatíve különböznek-e egymástól, vagy azonosak. A fotorespiráció, a C_4 típusú növények felfedezése és az a megfigyelés, hogy ezeknél a növényeknél a levélereket körülvevő sejtekben csak sztrómalamellákkal rendelkező plasztiszok vannak és ezekben a lamellákban pedig csak a fotoszisztém I-nek megfelelő kis partikulumok, igazolni látszott a PS I teljesen önálló működését. Sajnos ez csak 1970-ben volt érvényes. 1972-ben többen kimutatták, hogy a sztrómalamellákkal rendelkező plasztiszoknak is lehet PS II aktivitásuk.

Újabban ARNON és munkatársai a Z-sémát teljesen megváltoztatták (9. ábra) és azt állítják, hogy a ciklikus és a nem-ciklikus rendszer egymás mellett működik és a ciklikus rendszer nem része a nem-ciklikus rendszernek. Legsúlyosabb érvük állításuk igazolására az, hogy a vízbontásra képes plasztisz frakcióban $NADP^+$ redukiót mértek, holott a rendszerben P_{700} nem volt (PARK és SANE 1971). Nem tudták kimutatni a $NADP^+$ redukió növekedését (enhancement) a rövid és hosszú hullámhosszú fény kombinációja esetén. A vita tart. Jelenleg ARNON ellentáborra van fölényben.

PARK és SANE (1971) a probléma megoldására feltételeznek egy elektronkariert a PS I és az elektron-transportlánc között (10. ábra). Ennek létezése nemcsak azt magyarázná meg szerintük, hogy a P_{700} a PS II-höz kapcsolódik, hanem azt is, hogy a $NADP^+$ redukiójának serkentését miért nem észlelik mindig. Feltételezhető, hogy ez a kapcsolat izolálás közben időnként elveszik.



9. ábra, Az elektrontranszportlánc Knaff és Arnon által módosított változata (HALL és EVANS 1972)

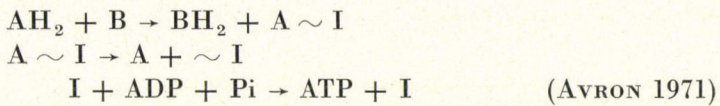


10. ábra. A felső modell KNAFF és ARNON feltételezésén alapuló vázlat; az alsó modell PARK és SANE (1971)

Fotofoszforiláció

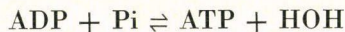
A fényindukált elektrontranszport ATP képződéssel jár. Ugyanúgy, mint az elektron-transzportlánc in vivo rendszere, az ATP képződés is az érdeklődés középpontjában áll, de közel sem tekinthető megoldottnak. Kérdéses az is, hogy hány foszforilációs lépés van és hol kapcsolódnak az elektron-transzportláncához. Szinte napjainkig két hipotézis verseng egymással: a kémiai és a kemiozmotikus hipotézis.

A kémiai hipotézis. Feltételezték, hogy a mitokondrium valamelyik komponense (I) kombinálódik az elektrontranszportlánc egy tagjával. A kapcsolódási helynél a redukált karrier (AH_2) oxidálódik és egy nagy energiatartalmú vegyület keletkezik. A reakciót a következő egyenletekkel írhatjuk le:



Az energiagazdag intermedier létét támogatták a különböző gátlókkal kapott eredmények és az a megfigyelés, hogy más energiaigényes reakciók (pl. ionfelvétel) és az ATP képződés egymással verseng. A kémiai hipotézis alapján tanulmányozták az elektrontranszport inhibitorok és az uncouplerek hatásmechanizmusát is. Az intenzív kutatás ellenére sem sikerült azonban az energiagazdag intermedier kimutatása.

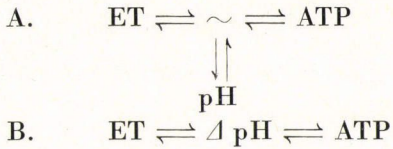
A kemiozmotikus hipotézist a hatvanas évek elején MITCHELL (1961) alakította ki. Erre a gondolatra részben az intermedier hiánya vezette, részben pedig az a kísérleti tény, hogy a mitokondrium membránnak lényegében intaktnak kell lennie, hogy a foszforiláció megtörténhessen. Feltételezte, hogy az intakt membrán impermeabilis a H^+ ionokra nézve. A membránban lokalizált elektrontranszport H^+ ion grádienszt hoz létre, úgy hogy a H^+ ionok az extramitokondriális térbe választódnak ki. Így a szabadenergia csökkenés energiagazdag H^+ iongrádiensbe konzerválódik. Azokban a reakciókban, ahol a légzési elektron-transzportláncban hidrogénionok továbbítódnak, olyan enzimek szerepelnek, amelyek úgy helyezkednek el a membránban, hogy a H^+ ionokat a kompartment belsejéből kifelé szállíthassák. Ez az energiagazdag H^+ grádiens használódik fel az ATP képződéshez.



MITCHELL feltételezte azt is, hogy az ATPáz (F_1 coupling factor) az az enzim, ami a membránban elfoglalt helyzeténél fogva képes úgy elvonni a vizet az ADP-ből és a foszfátból, H^+ és OH^- ionok formájában, hogy a H^+ és OH^- ionok irányítottan szállítódjanak (MITCHELL, 1972).

MITCHELL teóriáját a kételkedés időszakában két kísérleti tény jelentősen támogatta. NEUMAN és JAGENDORF 1964-ben kimutatták, hogy a nem pufferolt kloroplasztisz szuszpenzióban fényindukálta protonfelvétel történik, a közeg pH-ja emelkedik, a plasztiszé pedig csökken. Elektrontranszport inhibitorok és uncouplerek a folyamatot gátolják. A H^+ influxot kation leadás kíséri, a plasztiszból K^+ és Mg^{++} ionok adódnak le. Elsötétítve a rendszert a folyamat megfordul. Az elektrontranszportához kapcsolt H^+ ion vándorlást tehát mind a mitokondriumnál, mind pedig a kloroplasztisznál ki lehet mutatni. Azonban egy lényeges eltérés van a két folyamat között: míg a mitokondriumból H^+ ionok adódnak le a közegbe, addig a kloroplasztisz H^+ ionokat vesz fel. Ugyancsak JAGENDORF és munkatársai (1966) fedezték fel a pH grádiensstől függő ATP szintézist. A kloroplasztisz belső pH-ját mesterségesen savassá lehet tenni, ha organikus savakat tartalmazó pH 4-es pufferbe helyezik. Ezután ADP-t és anorganikus foszfátot tartalmazó lúgos (pH 8,5) oldatba vitték át a kloroplasztiszokat. Az így keletkező pH grádiens hatására jelentős mennyiségű ATP képződött. Az egész folyamat sötétben játszódott le.

Mindezek ellenére még mindig megvan a lehetősége annak, hogy a H^+ ion grádiens közvetve (A) vagy közvetlenül (B) szerepeljen az ATP-szintézisben.



(TEFLER és EVANS 1972)

Kísérletileg a két lehetőség között a H^+/e^- arány dönthet. Amennyiben a H^+/e^- arány bármilyen körülmények között változatlanul egész szám, akkor a kemiozmotikus hipotézis érvényes, ha viszont ez az arány az ATP-szintézisben az energiagazdag vegyület viszonylagos részvételétől függ és a protontranszlokáció is változik, akkor a H^+/e^- arány változó érték lesz (TEFLER és EVANS 1972). Tehát ki kell mutatni a sztöchiometrikus arányt a H^+/e^- között (SCHWARTZ 1971), ha ez nem áll fenn, akkor valószínűtlen, hogy a H^+ ion vándorlás közvetlenül kapcsolódik a foszforilációhoz.

Ezt a kérdést plasztiszokkal sokkal könnyebb tanulmányozni, mint mitokondriumokkal, mivel nincs szükség légzési szubsztrát adagolására és a fény ki-bekapcsolása is sokkal jobban kontrollálható, mint az oxigén adagolás vagy elvonás. Az utóbbi években sok mérést végeztek a H^+/e^- arány megállapítására (összefoglalva: HALL és EVANS, 1972). Akik a kérdéshez értenek, azok ahhoz a végkövetkeztetéshez jutnak, hogy ez az arány egyenlő kettővel a kloroplasztiszban, a mitokondriumban és a kromatoforában is. Az a protongrádiens azonban, ami a plasztiszban felépül megvilágítás hatására, el kell érjen egy kritikus értéket ahhoz, hogy ATP szintetizálódjon. Amikor ez a kritikus érték kialakult, akkor 2 H^+ használdik fel 1 molekula ATP szintéziséhez, tehát a H^+/ATP arány ugyancsak kettő.

Transzmembrán elektrokémiai potenciál kérdése

McCARTY (1968, 1969) kimutatta a spenótból származó szubkloroplasztisz partikulumoknál, hogy NH_4Cl jelenlétében a fényindukált pH emelkedés megszűnik, de ennek alig vagy nincs hatása a foszforilációra. Ha azonban NH_4Cl -dal együtt valinomycin is jelen van a rendszerben, akkor a foszforiláció gátlódik. Valinomycin és nigericin együttes jelenléte ugyancsak szinergikus szétkapcsoló hatást mutat K^+ ionok jelenlétében. NELSON et al. (1970) szintén kimutatták, hogy a salátalevélből származó kloroplasztisz partikulumok, amelyeket digitoninos kezeléssel nyertek, foszforilációra képesek fényindukált pH változás nélkül.

SCHULDINER et al. (1972) sav-bázis típusnak megfelelő kísérleteket végeztek KCl grádiens létrehozásával kloroplasztiszokkal olyan körülmények között, amikor a pH szuboptimális volt. A kialakult K^+ grádiens jelentősen

növelte az ATP szintézist. Ezt a stimulációt meg lehet szüntetni, ha a K^+ grádienszt csökkentik azáltal, hogy a K^+ koncentrációt a belső térben K^+ preinkubációval növelik, vagyis a K^+_{ont}/K^+_{on} arány közvetlenül arányos az extra ATP képződéssel.

A fenti kísérleti adatok azt bizonyítják, hogy nemcsak a pH grádiens, hanem az ion-grádiens is ATP szintézishez vezet.

Fény hatása az ionfelvételle

A növényi sejt felépítése

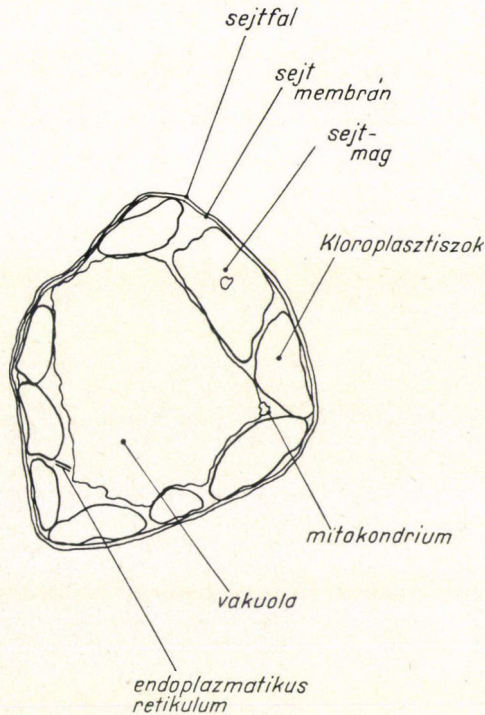
Valamennyi növényi sejtet poliszacharidákból felépült sejttal veszi körül. Az ionfelvételt tekintve a sejttal kation-kötő, ill. kation-cserélő csoportokkal rendelkezik. Passzívan ionok juthatnak be a sejttal víz-szabadterébe és a kation-kötő helyek miatt a Donnan-szabadtérbe.

A sejtplazmát a külvilág felé a plazmalemma határolja, amit unit membránnak tekintenek. Az érett sejtek általában nagy vakuolával rendelkeznek, amit több-kevesebb szerves anyagot tartalmazó „valódi oldat” tölt ki. A vakuolát a tonoplasztnak nevezett sejtthártya veszi körül. A tonoplaszt is unit membrán. A mezoplazmában foglalnak helyet a kettős membránnal rendelkező plasztiszok, mitokondriumok és a sejtmag (11. ábra).

A növényi sejtek ionfelvételét, különösen az egyvegyértékű anionokét és kationokét, aktív folyamatnak tekintjük. A felvétel koncentráció grádienssel szemben történik, az ionok között kompetíció figyelhető meg, anyagcsere gátlók gátolják, Q_{10} értéke nagyobb 2-nél. A koncentráció görbékre általános jellemző, hogy kettős telítődést mutatnak: az első az alacsony (10^{-6} – 10^{-3} M-ig), a másodikat a magas koncentráció területen (10^{-3} – $3 \cdot 10^{-2}$ M-ig).

Jelentős terjedelemben tárgyalja az irodalom a plazmalemmán és a tonoplaszton át történő felvétel mechanizmusának kérdését. A kutatók többsége a plazmalemmát szemipermeabilisnak tekinti a vizsgált koncentráció területen és ezért az ionok felvételét karrier közvetítettnek fogják fel. A tonoplaszton át történő transzport módja(i) rendkívül kérdéses. Semmi okunk sincs annak feltételezésére, hogy a vakuolum nem ozmotikus térfogatként működik. Az ionfelvétel jellemzői tekintetében az egy- vagy soksejtű algák, a magasabbrendűek gyökér és levél parenchimatikus sejtjei között alapvető eltérés nincs. A kloroplasztisszal nem rendelkező sejtek energiaszolgáltató rendszere a légzési elektron-, energiátranszport, vagyis az oxidatív foszforiláció. A fotoszintetizáló sejteknél ehhez járul a fotofoszforiláció mint energia szolgáltató rendszer.

Feltűnő jelenség a klorofillal rendelkező sejteknél az anyagfelvétel fényserkentése. A fényben és sötétben történő felvétel közötti különbség ugyan-



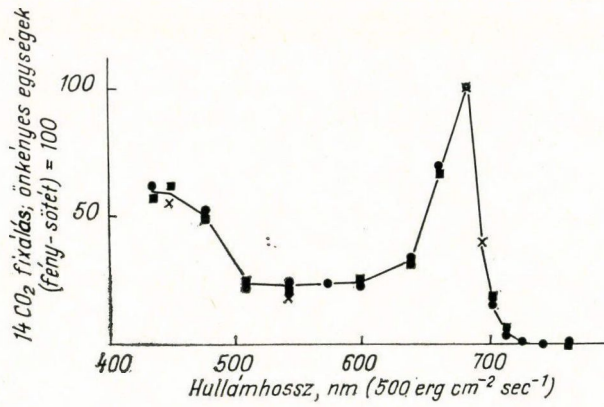
11. ábra. Levélparenchima sejt vázlatos rajza (LEHNINGER 1971)

annál a sejtnél meghaladhatja az egy nagyságrendet. A jelenség tehát feltétlenül megérdemli a figyelmet.

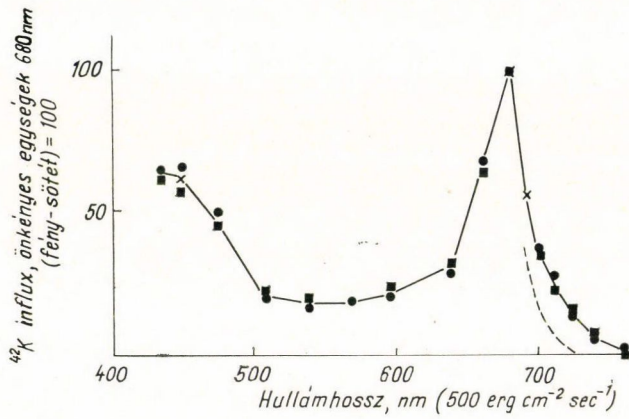
A következőkben felsorolom azokat a kísérleti tényeket, amelyeket általában bizonyítottak fogadnak el:

1. Már 1957-ben kimutatta Lookeren Campagne, hogy a *Vallisneria spiralis* fénystimulálta Cl^- influxának akcióspektruma azonos a fotoszintézis akcióspektrumával. Ezt az összefüggést később RAVEN (1969) és JESCHKE (1969) is igazolták, amit a következő ábrák világosan szemléltetnek (12, 13., 14. ábra). Valamennyi vizsgált esetben az iontranszport alacsonyabb fényintenzitásnál telítődött, mint a fotoszintézis.

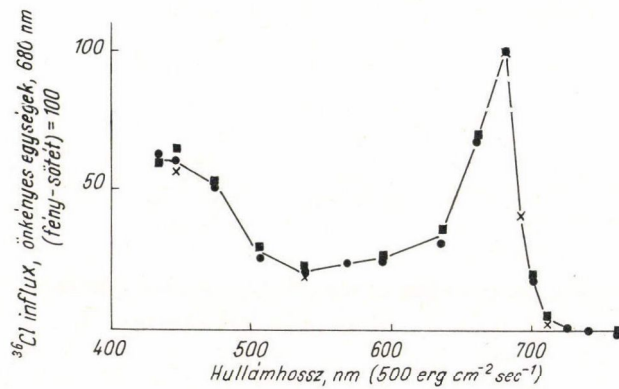
2. A sejt-kompartmentek analízise (a plazmalemmán át történő felvétel, a tonoplaszton át történő transzport, a plazma-, mitokondriumok-, kloroplasztiszok iontartalma) választ ad arra a kérdésre, hogy a fény elsődlegesen hol befolyásolja az iontranszportot. A fény a plazmalemmán keresztül jelentősen serkenti a K^+ , Na^+ és a Cl^- ionok influxát, de alig hat az ugyanitt történő effluxra. A tonoplaszton keresztül történő ionmozgásra a fény indirekt úton hat, legalábbis K^+ esetében (JESCHKE 1971). Meganalizálták a sejt-tartalom és a kloroplasztiszok ^{36}Cl tartalmát. Fény hatására mindkettőben növekedett a



12. ábra. ¹⁴CO₂ fixálás mértéke különböző hullámhosszú fényben (RAVEN 1969)



13. ábra. ⁴²K influx különböző hullámhosszú fényben (RAVEN 1969)



14. ábra. ³⁶Cl influx különböző hullámhosszú fényben (RAVEN 1969)

jelölt klorid mennyisége, de időben először a plazmáé és csak ezt követően a plasztiszoké, ami ugyancsak a plazmalemma szerepének elsődlegességére utal.

3. Különböző eredetű klorofill tartalmú sejteknél (*Atriplex spongiosa* — moha növényke —, *Chenopodium album* — kétszikű —) fény → sötét, vagy sötét → fény átmenetkor a sejtekben membránpotenciál változás figyelhető meg. Megvilágítás hatására a mért potenciál érték azonnal jelentősen negatívabb lesz, majd arra a szintre csökken, ahol a folyamatos megvilágítás ideje alatt lenni szokott. Ezt a jelenséget csak akkor lehet megfigyelni, ha a fény hullámhossza 705 nm-nél rövidebb (LÜTTGE és PALLAGHY 1969). Feltételezik, hogy a plazma H^+ ion koncentrációja csökken, mivel a plasztiszok felveszik a hidrogén ionokat és egyidejűleg kationokat adnak le.

Elodea densa esetében a vakuola potenciál ugyancsak jelentős hiperpolarizációt mutat megvilágítás hatására. A jelenség két komponensre bontható: van egy azonnali gyors és egy lassú szakasza. Fényen a vakuolapotenciál hosszú ideig megmaradt a hiperpolarizációs szinten. Elsötétítéskor depolarizáció figyelhető meg. Ugyancsak depolarizációt idéz elő a DCMU vagy CCCP jelenléte.

A megvilágított *Elodea* levél környezetében a pH jelentősen csökken (JESCHKE 1970). Elektrogén-pumpa létezését fel lehetne tételezni, a kation felvétel pedig az elektrokémiai potenciál grádiens mentén történhetne. A kísérleti tények azonban nem támogatják egyértelműen ezt a feltételezést. Híg KCl és NaCl oldatban megvilágítás hatására hiperpolarizáció jön létre, ha azonban a külső koncentráció eléri a 10 mM-t a jelenség már nem figyelhető meg, holott az ionfelvétel mérhetően nagyobb (RAVEN 1968).

4. MACROBBIE (1965) megfigyelése, hogy a far red tartomány a K^+ felvételt Nitellánál nem befolyásolja, tehát a fényserkentés megmarad, de a Cl^- felvétel gátlódik, megindított egy hosszú kísérletsorozatot annak eldöntésére, hogy a fotoszisztémák hogyan befolyásolják a fényserkentette ionfelvételt.

Objektumként a kísérletek többségében a *Hydrodictyon coenocyta* algát és a magasabbrendűekhez tartozó vízi növényt az *Elodea*-t használták. MACROBBIE (1965) és RAVEN (1968) algák esetében is aktív $K \rightleftharpoons Na$ transzportot tudtak kimutatni, ami ouabain szenzitív volt. Szerintük ennél a transzportnál a ciklikus foszforilációból származó ATP használódik fel, mivel far red tartományban, CO_2 mentes N_2 atmoszférában a K felvétel nem gátlódik. Ha csak a ciklikus fotofoszforiláció lehetséges, akkor a K influx érzékennyé válik DNP-re, antimycin A-ra és desaspidinre, amelyeket a ciklikus rendszer gátlóinak tekintenek (RAVEN 1970).

A fény indukálta Cl^- felvételt MACROBBIE és RAVEN is a PS II működéséhez kapcsolták, mivel a far red tartományban felvétele gátlódik. JESCHKE (1966) ezt a klorid gátlást (tehát, amikor csak a ciklikus fotofoszforiláció lehetséges) *Elodea*-nál kimutatta ugyan, de nem fogadja el azt a feltételezést, hogy

a PS II elektrontranszportjához kapcsolt. A klorid fénytől függő felvétele a fény intenzitásától, a DCMU és a CO_2 jelenlététől is függ. A CO_2 jelenléte a rendszerben befolyásolja a Cl^- felvétel fényintenzitástól függő telítődését és jelentősen gátolja a fénytől függő Cl^- felvételt, amikor a fény hullámhossza 683 nm-nél rövidebb és a fény a fotoszintézist limitáló tényező. Vagyis a CO_2 alacsony fényintenzitásnál erősen, nagy fényintenzitásnál kevésbé gátolja a Cl^- felvételt. Ha azonban nagy fényintenzitásnál DCMU-t is adnak a rendszerhez, akkor a klorid felvétel is gátlódik. JESCHKE nézete szerint a Cl^- felvétel energiaszolgáltató rendszere N_2 atmoszférában CO_2 jelenléte nélkül a ciklikus fotofoszfóriláció. CO_2 jelenlétében a Cl^- felvétel gátlását a nem ciklikus és a ciklikus elektrontranszport közötti kompetíció okozhatja. AVRON 1968-as sémája szerint a ciklikus elektrontranszport úgy jöhet létre, hogy az X elektronakceptorról nem a NADP^+ felé halad az elektron, hanem a ciklikus elektrontranszporton keresztül jut vissza a P_{700} -hoz. Az X anyagnál mint elektrontranszport elágazásnál tehát versengés jöhet létre az elektronokért, amikor mind a két út lehetséges. Ha NADP^+ van jelen, akkor az affinitása az elektronok iránt nagyobb, mint a ciklikus elektrontranszport uté, ezért *in vitro* az utóbbi nem jöhet létre. *In vivo* a ciklikus elektrontranszport CO_2 jelenlétében, alacsony fényintenzitásnál csökkenni fog, CO_2 hiányában azonban serkentődik. Magas fényintenzitásnál a CO_2 gátló hatása a ciklikus fotofoszfórilációra kisebb lesz. Ezért alacsony fényintenzitásnál a CO_2 gátló hatása a Cl^- felvételre jelentős, magas fényintenzitásnál gyengébb. Amikor a CO_2 a Cl^- felvételt nagy fényintenzitásnál gátolja DCMU jelenlétében, akkor is a ciklikus és a nem-ciklikus elektrontranszport regulációjáról van szó: az X anyag és a ferredoxin oxidált állapotban marad és a ciklikus elektrontranszport meggátlódik (JESCHKE és SIMONIS 1969).

A változatlan sebességű K^+ influx anaerob körülmények között far red fényben, DCMU + CN, DCMU + N_2 jelenlétében ugyancsak azt látszik bizonyítani, hogy sem az oxidatív foszfóriláció, sem a nem-ciklikus fotofoszfóriláció, hanem csak a ciklikus fotofoszfóriláció az energia szolgáltató (RAVEN 1969).

A fent leírt kísérleti eredmények és a ráépült teóriák nagyon elegánsak, azonban két feltételezésből indultak ki: 1. a nem-ciklikus és a ciklikus fotofoszfóriláció *in series* működik, 2. az ATP képződést az energiagazdag intermedier képződése előzi meg (kémiai hipotézis), amelynek az energiája ionfelvételre is felhasználódhat. Ha mindez bizonyított lenne még akkor is nehéz a mitokondrium, ill. kloroplastisz membránjában lejátszódó folyamatokat és a plazmalemmán lejátszódó ionfelvétel kapcsolatát magyarázni. Azonban a H^+ ion grádiens, a K^+ ion grádiens és az ATP képződés MITCHELL által kidolgozott teóriája, a fotoszintetikus elektrontranszport utak bizonytalanságai az ionfelvétel fényserkentésének magyarázatait megfosztják az elméleti alapoktól.

Igaz, hogy vannak újabb próbálkozások (SMITH 1970, JESCHKE 1972),

amelyek MITCHELL elképzelését és a plazmalemmán történő felvételt kívánnák egyeztetni, de a jelenlegi valóság az, hogy a kísérleti tények magyarázata nagyon esetleges, nem általános érvényű. Ha a növényi sejt ionfelvételi mechanizmusát komplikáltságában meg akarjuk ismerni, sokkal többet kell tudnunk a növényi sejt membránjairól és a szorosan kapcsolódó anyagcsere folyamatokról is.

IRODALOM

- AVRON, M.: Mechanism of photoinduced electron transport in isolated chloroplasts. In: Ed. Sanadi, D. R.: *Current Topics in Bioenergetics*. Vol. 2, Academic Press, New York pp. 1—22 (1967).
- AVRON, M.—NEUMANN, J.: Photophosphorylation in chloroplasts. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **19**, 137—165 (1968).
- AVRON, M.: Biochemistry of photophosphorylation. In: Ed. Gibbs, M.: *Structure and Function of Chloroplasts*. Springer Verlag, Berlin pp. 149—167 (1971).
- CRANE, F. L.—ARNTZEN, C. J.—HALL, J. D.—RUZICKA, F. J.—DILLEY, R. A.: Binary membranes in mitochondria and chloroplasts. In: Ed. Boardman, N. K. et al.: *Autonomy and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts*. North-Holland, Amsterdam, p. 53 (1970).
- EMERSON, R.—LEWIS, C. M.: The dependence of quantum yield of *Chlorella* photosynthesis on wavelength of light. *Amer. J. Bot.* **30**, 165—178 (1943).
- HALL, D. O.: Nomenclature for isolated chloroplasts. *Nature* **235**, 125—126 (1972).
- HALL, D. O.—EVANS, M. C. W.: Photosynthetic phosphorylation in chloroplasts. *Sub-Cell. Biochem.* **1**, 197—206 (1972).
- JAGENDORF, A. T.—URIBE, E.: ATP formation caused by acid-base transition of spinach chloroplasts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **55**, 170—177 (1966).
- JESCHKE, W. D.: Über einige Zusammenhänge zwischen Photosynthese und Anionaufnahme bei *Elodea*. *Ber. Deut. Bot. Ges.* **79**, 121—123 (1966).
- JESCHKE, W. D.: Lichtabhängige Veränderungen des Membranpotentials bei Blattzellen von *Elodea densa*. *Z. Pflanzenphysiol.* **62**, 158—172 (1970).
- JESCHKE, W. D.: Energetic linkages of individual ion fluxes in leaf cells of *Elodea densa*. First European Biophysics Cong. Baden, pp. 111—117 (1971).
- JESCHKE, W. D.: Über die lichtforderten Influx von Ionen in Blättern von *Elodea densa*. Vergleich der Influxe von K^+ - und Cl^- -Ionen. *Planta* **103**, 164—180 (1972).
- JESCHKE, W. D.—SIMONIS, W.: Über die Wirkung von CO_2 auf die lichtabhängige Cl^- -Aufnahme bei *Elodea densa*: Regulation zwischen nichtcyclischer und cyclischer Photophosphorylierung. *Planta* **88**, 157—171 (1969).
- KOENIG, F.—MENKE, W.—CRAUBNER, H.—SCHMID, G. H.—RADUNZ, A.: Photochemically active chlorophyll-containing proteins from chloroplasts and their localization in the thylakoid membrane. *Z. Naturforsch.* **27b**, 1225—1238 (1972).
- LEHNINGER, A. L.: *Biochemistry*. Worth Publishers, Inc. New York pp. 455—480 (1971).
- LINTILHAC, P. M.—PARK, R. B.: Localization of chlorophyll in spinach chloroplast lamellae by fluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* **28**, 582—585 (1966).
- LÜTTGE, U.—PALLAGHY, C. K.: Light triggered transient changes of membrane potentials in green cells in relation to photosynthetic electron transport. *Z. Pflanzenphysiol.* **61**, 58—67 (1969).
- MACROBBIE, E. A. C.: The nature of the coupling between light energy and active ion transport in *Nitella translucens*. *Biochem. Biophys. Acta* **94**, 64—73 (1965).
- MCCARTY, R. E.: Relation of photophosphorylation to hydrogen ion transport. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **32**, 37—43 (1968).
- MCCARTY, R. E.: The uncoupling of photophosphorylation by valinomycin and ammonium chloride. *J. Biol. Chem.* **244**, 4292—4298 (1969).
- MENKE, W.: Über die Chloroplasten von *Anthoceros punctatus*. *Z. Naturforsch.* **16b**, 334—336 (1961).
- MITCHELL, P.: Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* **191**, 144—148 (1961).
- MITCHELL, P.: Chemiosmotic coupling in energy transduction: a logical development of biochemical knowledge. *Bioenergetics* **3**, 5—24 (1972).

- MÜHLETHALER, K.: The ultrastructure of plastids. In: Ed. Gibbs, M.: Structure and Function of Chloroplasts. Springer Verlag, Berlin pp. 7—34 (1971).
- NEUMANN, J.—JAGENDORF, A. T.: Light induced pH changes related to phosphorylation by chloroplasts. Arch. Biochem. Biophys. **107**, 109—119 (1964).
- PACKER, L.: Functional organization of intermembrane particles of mitochondrial inner membranes. Bioenergetics **3**, 115—127 (1972).
- PARK, R. B.—SANE, P. V.: Distribution of function and structure in chloroplast lamellae. Ann. Rev. Plant Physiol. **22**, 395—430 (1971).
- RAVEN, J. A.: The linkage of light-stimulated Cl influx to K and Na influxes in *Hydrodictyon africanum*. J. exp. Bot. **19**, 233—253 (1968).
- RAVEN, J. A.: Action spectra for photosynthesis and light-stimulated ion transport processes in *Hydrodictyon africanum*. New Phytol. **68**, 45—62 (1969).
- RAVEN, J. A.: Effects of inhibitors on photosynthesis and the active influxes of K and Cl in *Hydrodictyon africanum*. New Phytol. **68**, 1089—1113 (1969).
- RAVEN, J. A.: The role of cyclic and pseudocyclic photophosphorylation in photosynthetic $^{14}\text{CO}_2$ fixation in *Hydrodictyon africanum*. J. exp. Bot. **66**, 1—16 (1970).
- RUBENS, S.: Photosynthesis and phosphorylation. J. Amer. chem. Soc. **65**, 279—282 (1943).
- SCHULDINER, S.—ROTTENBERG, H.—AVRON, M.: Membrane potential as a driving force for ATP synthesis in chloroplasts. FEBS Letters **28**, 173—176 (1972).
- SCHWARZ, M.: The relation of ion transport to phosphorylation. Ann. Rev. Plant Physiol. **22**, 469—484 (1971).
- SMITH, F. A.: The mechanism of chloride transport in Characean cells. New Phytol. **69**, 903—917 (1970).
- TEFLER, A.—EVANS, M. C. W.: Evidence for chemiosmotic coupling of electron transport to ATP synthesis in spinach chloroplasts. Biochem. Biophys. Acta **256**, 625—637 (1972).
- WEIER, T. E.—BISALPUTRA, T.—HARRISON, A.: Subunits in the chloroplast membranes of *Scenedesmus quadricauda*. J. Ultrastr. Res. **15**, 38—56 (1966).
- WEIER, T. R.—STOCKING, C. R.—BRACKER, C. R.—RISLEY, E. B.: The structural relationships of the internal membrane system of in situ and isolated chloroplasts of *Hordeum vulgare*. Amer. J. Bot. **52**, 339—352 (1965).