

Wirkung von Silatranen auf Wachstum, Sauerstoffentwicklung und Dunkelatmung von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae)

The Effect of Silatranes on Growth, Photosynthetic Oxygen Evolution and Dark Respiration of *Cyclotella cryptica* (Diatomeae)

Richard Roth***, Viktor P. Baryshok*, Devard I. Stom**, Dietrich Werner*** und Michail G. Voronkov*

* Institut für Organische Chemie der Akademie der Wissenschaften der Sowjetunion – Sibirische Abteilung –, 664033 Irkutsk, UdSSR

** Biologisches Forschungsinstitut der Shdanow-Universität, 664003 Irkutsk, UdSSR

*** Botanisches Institut der Philipps-Universität Marburg, Lahnberge, D-3550 Marburg/Lahn

Z. Naturforsch. 38 c, 39–43 (1983); received September 3, 1982

Cyclotella cryptica, Silatranes, Inhibition of Photosynthesis, Inhibition of Dark Respiration

The effect of 5 silatranes $\text{RSi}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3\text{N}$, where $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$; C_6H_5 ; ClCH_2 and $\text{RSi}[\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2]_3\text{N}$, where $\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5$, ClCH_2 and tetraethoxysilane were studied on the growth, photosynthetic oxygen evolution and dark respiration of the marine centric diatom *Cyclotella cryptica*. Both silica-free and $\text{Si}(\text{OH})_4$ supplemented media were used. Only 1-ethoxy-silatrane was hydrolyzed by the diatom, giving sufficient quantities of $\text{Si}(\text{OH})_4$ to maintain growth without exogenous $\text{Si}(\text{OH})_4$. In this case the diatoms multiplied by a factor of 18 within 48 h. With silica in the medium, 1-phenylsilatrane, 1-phenyl-3,7,10-trimethylsilatrane, 1-chlormethylsilatrane and 1-chlormethyl-3,7,10-trimethylsilatrane exhibited only slightly inhibitory activity. In contrast, however, tetraethoxysilane ($5 \cdot 10^{-4}$ mol/l) inhibited growth almost completely. Respiration was unaffected by all the silatranes tested, but net photosynthetic oxygen evolution was reduced by approx. 50% by 1-chlormethylsilatrane and 1-chlormethyl-3,7,10-trimethylsilatrane and almost completely by 1-phenylsilatrane and 1-phenyl-3,7,10-trimethylsilatrane. In the absence of silica as nutrient in the medium, the silatranes hardly affected dark respiration within 24 h. Conversely, the same samples showed no photosynthetic oxygen evolution after 24 h, and 24 h later again a negative O_2 balance was produced in the light. Different silatranes produced significant differences in the final oxygen balance.

Einleitung

Silizium gehört zu den Elementen, die (in der Form von Kieselsäure) für das Wachstum von Diatomeen als essentiell nachgewiesen sind [1, 2]. Es wird angenommen, daß Diatomeen nichtionisierte Orthomonokieselsäure $\text{Si}(\text{OH})_4$ aufnehmen [3, 4]. In allen bisher bekanntgewordenen Untersuchungen mit synthetischen Nährmedien wurde Kieselsäure als Siliziumquelle verwendet [2].

Eine Gruppe siliziumorganischer Verbindungen, die Silatrane [5], sind bereits eingehend in ihrer biologischen Wirkung auf Höhere Pflanzen und ihre Gewebe (Baumwolle, Tomaten, Tabak, Kartoffeln, Sojabohnen, Lein, Weizen, Mais) untersucht worden [6]. Dabei ist vor allem bemerkenswert, daß Silatrane sowohl wachstumsstimulierende wie auch hemmende Wirkungen haben können [6, 7]. Für Kieselalgen stellten sich daher folgende Fragen:

Können diese obligat silikatabhängigen Zellen über mehrere Generationen kultiviert werden, wenn siliziumorganische Verbindungen wie Silatrane oder Tetraalkoxysilane als einzige Siliziumquelle im Medium vorhanden sind? Wie wirken diese Substanzen auf das Wachstum von Diatomeen, wenn sie – neben Kieselsäure – in einer vergleichsweise zehnfach geringeren Konzentration dem Medium zugesetzt werden?

Material und Methoden

Die zentrische Diatomee *Cyclotella cryptica* wurde in Durchlüftungskulturen in einem Lichtthermostaten bei der optimalen Wachstumstemperatur von 27,5 °C und einer Bestrahlung von 12000 lx in einem synthetischen Nährmedium kultiviert [8].

Kieselsäure wurde mit Hilfe der Molybdänblau-Reaktion [9] bestimmt, die Sauerstoffmessung erfolgte polarographisch mit einer Micro-Clark-Elektrode für 2 min bei kontinuierlicher Registrierung [10].

Reprint requests to Prof. Voronkov or Dr. Roth.
0341-0382/83/0100-0039 \$01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Die folgenden siliziumorganischen Verbindungen wurden verwendet:

1. Tetraethoxysilan (**I**) mit der Formel $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ und Silatrane mit der Allgemeinformel



R = $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ (a), C_6H_5 (b) und ClCH_2 (c)

2. 1-Ethoxy-Silatan (**II a**)
3. 1-Phenyl-Silatan (**II b**)
4. 1-Chlormethyl-Silatan (**II c**)



R = C_6H_5 (a) und ClCH_2 (b)

5. 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl-Silatan (**III a**)
6. 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatan (**III b**).

Alle untersuchten Verbindungen waren chromatographisch rein. Ihre Synthesen und die physikalischen Konstanten wurden früher beschrieben [5].

Ergebnisse

Die in diesen Untersuchungen verwendeten Silatrane (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) hydrolysieren mit ganz verschiedener Geschwindigkeit, wenn sie in dem synthetischen, silikatfreien Nährmedium [8] bei pH 7–7,4 gelöst werden (Tab. I). 1-Phenyl-Silatan (**II b**) und 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl-Silatan (**III a**) bilden innerhalb von 48 Stunden keine molybdataktiven Zwischenprodukte, 1-Chlormethyl- (**II c**) und 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatan (**III b**) hydrolysieren in diesem Zeitraum etwa 1% des Siliziums als Kieselsäure (Orthokieselsäure); unter gleichen Bedingungen Tetraethoxysilan (**I**) 13% und 1-Ethoxy-Silatan (**II a**) 76%.

Kultiviert man *Cyclotella cryptica* in silikatfreien Nährmedien [8] mit verschiedenen Silatranen (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) als einziger Siliziumquelle in der Konzentration 5×10^{-4} mol/l, so kann man anhand der Zellzahl beobachten, daß die Kieselalgen das angebotene organisch-gebundene Silizium nicht verwerten können (Tab. II). Ähnlich wie in der silikatfreien Kontrolle, kommt es innerhalb der ersten 48 Stunden nach Versuchsbeginn nur noch zu einer weiteren Zellteilung. Nur die Kulturen mit 1-Ethoxy-Silatan (**II a**) zeigen ein normales Wachstum mit etwas mehr als 4 Teilungen. Die durch Hydrolyse freigesetzte Kieselsäure reicht für ein kontinuierliches Wachstum aus. Tetraethoxysilan (**I**) wird zwar zu 13% hydrolysiert, die dabei

Tab. I. Hydrolysewerte von verschiedenen Silatranen (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (Ausgangskonzentration: 5 mmol/l) nach 48 Stunden im silikatfreien Kulturmedium unter Versuchsbedingungen (Begasung mit Gasmisch: 1,75 Vol.% CO_2 in Luft; 27,5 °C; 12000 lx Beleuchtungsstärke, pH 7–7,4).

| Silatan/Silan | nachgewiesene Kieselsäure [mmol/l $\text{Si}(\text{OH})_4$] |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Tetraethoxysilan (I) | 0,67 |
| 1-Ethoxy-Silatan (II a) | 3,8 |
| 1-Phenyl-Silatan (II b) | 0 |
| 1-Chlormethyl-Silatan (II c) | 0,035 |
| 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl-Silatan (III a) | 0 |
| 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl- Silatan (III b) | 0,085 |

Tab. II. Einfluß verschiedener Silatrane (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die Zunahme der Zellzahl von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im silikatfreien Medium nach 24 und 48 Stunden.

| Si-Zugabe | Zellzahl ($\times 10^6$ Zellen pro ml Suspension) | | |
|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------|--------------|
| | Versuchs- beginn | nach 24 h | nach 48 h |
| Vollmedium [mit 5×10^{-3} mol/l $\text{Si}(\text{OH})_4$] | 1,1 | 5,1 | 21 |
| silikatfreies Medium ohne Zusatz | 1,1 | 2,1 | 2,2 |
| mit Tetraethoxysilan (I) | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| mit 1-Ethoxy-Silatan (II a) | 1,1 | 4,6 | 18,2 |
| mit 1-Phenyl-Silatan (II b) | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| mit 1-Chlormethyl-Silatan (II c) | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| mit 1-Phenyl-3.7.10-tri- methyl-Silatan (III a) | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| mit 1-Chlormethyl-3.7.10-tri- methyl-Silatan (III b) | 1,1 | 2,1 | 2,1 |

gebildete Menge an Kieselsäure reicht jedoch nicht aus, um die Zellzahl mehr als in der Kontrolle zu erhöhen.

In einem weiteren Wachstumsversuch wurde *Cyclotella cryptica* für 48 Stunden in einem Vollmedium ($5,3 \times 10^{-3}$ mol/l Kieselsäure) kultiviert, dem noch ein Silatan oder Tetraethoxysilan (5×10^{-4} mol/l) zugesetzt wurde (Tab. III). In Gegenwart von 1-Ethoxy-Silatan (**II a**) unterscheiden sich die Kulturen nicht von denen der Kontrollkultur mit ca. 4,2 Zellteilungen. Die anderen Silatrane hemmen jedoch das Wachstum der Diatomeen geringfügig (nur etwa 3,5 Zellteilungen). Deutlich gehemmt

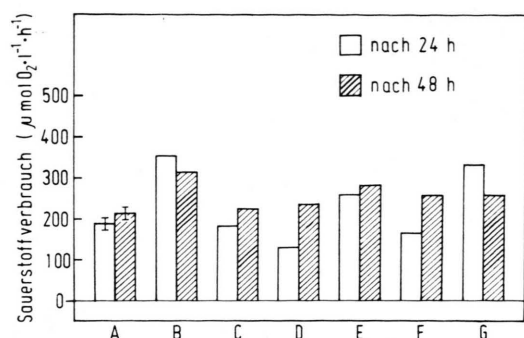


Abb. 1. Einfluß verschiedener Silatranderivate (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die Dunkelatmung von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im Vollmedium nach 24 und 48 Stunden Kultivierung. In der Säule A ist die einfache Standardabweichung angegeben. – A: Vollmedium = Kontrolle ohne Zusatz; Zugabe von: B: 1-Ethoxy-Silatrane (**IIa**); C: 1-Phenyl-Silatrane (**IIb**); D: 1-Phenyl-3,7,10-trimethyl-Silatrane (**IIIa**); E: 1-Chlormethyl-Silatrane (**IIc**); F: 1-Chlormethyl-3,7,10-trimethyl-Silatrane (**IIId**); G: Tetraethoxysilan (**I**).

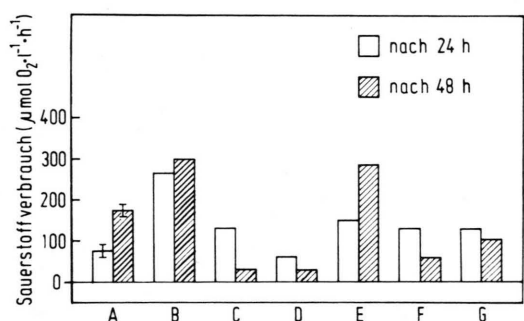


Abb. 2. Einfluß verschiedener Silatranderivate (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die Dunkelatmung von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im silikatfreien Medium nach 24 und 48 Stunden Kultivierung. – A: silikatfreies Medium = Kontrolle ohne Zusatz; B–G: s. Abb. 1.

wird das Wachstum durch die Zugabe von Tetraethoxysilan (**I**). Innerhalb von 48 Stunden beobachten wir nur noch eine weitere Zellteilung, ähnlich wie in den silikatfreien Kulturen (Tab. II).

Um die physiologischen Wirkungen der siliziumorganischen Verbindungen genauer zu untersuchen, wurden 24 und 48 Stunden nach Versuchsbeginn die photosynthetische Sauerstoffentwicklung und die Dunkelatmung gemessen (Abbn. 1–4). In Gegenwart von Kieselsäure wird die Dunkelatmung der Zellen durch die zugefügten siliziumorganischen Substanzen nicht gehemmt, sondern geringfügig gesteigert. Die Kultur mit 1-Ethoxy-Silatrane (**IIa**)

Tab. III. Einfluß verschiedener Silatrane (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die Zunahme der Zellzahl von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im Vollmedium nach 24 und 48 Stunden.

| Si-Zusatz | Zellzahl ($\times 10^6$ Zellen pro ml Suspension) | | |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------|-----------|
| | Versuchsbeginn | nach 24 h | nach 48 h |
| Vollmedium ohne Zusatz | 1,1 | 5,1 | 21 |
| mit Tetraethoxysilan (I) | 1,1 | 2,1 | 2,3 |
| mit 1-Ethoxy-Silatrane (IIa) | 1,1 | 5 | 20 |
| mit 1-Phenyl-Silatrane (IIb) | 1,1 | 4,1 | 12,7 |
| mit 1-Chlormethyl-Silatrane (IIc) | 1,1 | 4,1 | 12,7 |
| mit 1-Phenyl-3,7,10-trimethyl-Silatrane (IIIa) | 1,1 | 4,1 | 12,7 |
| mit 1-Chlormethyl-3,7,10-trimethyl-Silatrane (IIId) | 1,1 | 4,1 | 12,7 |

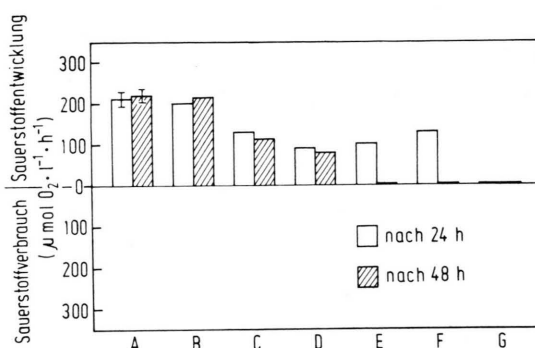


Abb. 3. Einfluß verschiedener Silatranderivate (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die photosynthetische Sauerstoffentwicklung von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im Vollmedium nach 24 und 48 Stunden Kultivierung. – A–G: s. Abb. 1.

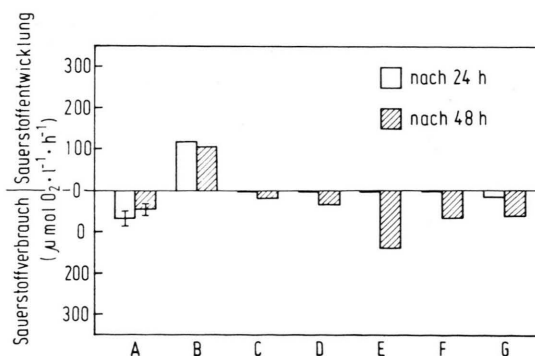


Abb. 4. Einfluß verschiedener Silatranderivate (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) (5×10^{-4} mol/l) auf die photosynthetische Sauerstoffentwicklung von *Cyclotella cryptica* (Diatomeae) im silikatfreien Medium nach 24 und 48 Stunden Kultivierung. – A: silikatfreies Medium = Kontrollkultur; B–G: s. Abb. 1.

zeigt sogar eine deutliche Steigerung der Atmungsaktivität (Abb. 1). Eine signifikante Hemmung der Dunkelatmung finden wir nach 48 Stunden in den Kulturen, in denen 1-Phenyl- (**II b**), 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl- (**III a**), 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatran (**III b**) oder Tetraethoxysilan (**I**) dem silikatfreien Medium zugesetzt wurden (Abb. 2). Die Zugabe von Ethoxy- (**II a**) und 1-Chlormethyl-Silatran (**II c**) bewirkt eine Steigerung der Dunkelatmung. Dieser Effekt könnte bei 1-Ethoxy-Silatran (**II a**) jedoch darauf beruhen, daß hier durch die Hydrolyse Kieselsäure in ausreichenden Konzentrationen freigesetzt wird und die Atmung steigert. Beim 1-Chlormethyl-Silatran (**II c**) kann der Effekt jedoch sicherlich nicht darauf zurückgeführt werden.

Vergleicht man die Netto-Photosyntheserate in den verschiedenen Ansätzen nach 24 Stunden, so findet man eine deutliche Hemmung um ca. 50% in den Kulturen, die 1-Phenyl- (**II b**), 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl- (**III a**), 1-Chlormethyl- (**II c**) und 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatran (**III b**) enthielten (Abb. 3). Nach weiteren 24 Stunden weisen die Kulturen mit 1-Chlormethyl- (**II c**) und 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatran (**III b**) sogar einen Wert von ± 0 auf, d. h. die Bilanz Atmung zu photosynthetischer Sauerstoffentwicklung ist ausgeglichen. Den stärksten Hemmstoff der Sauerstoffentwicklung stellt Tetraethoxysilan (**I**) dar, da in diesen Kulturen bereits nach 24 Stunden dieser Kompensationspunkt erreicht wird.

Sowohl in der silikatfreien Kontrollkultur als auch in allen Kulturen mit siliziumorganischen Verbindungen mit Ausnahme des 1-Ethoxy-Silatrans (**II a**) weist die Sauerstoffbilanz nach 48 Stunden einen negativen Wert auf, das bedeutet, daß die Atmung mehr Sauerstoff verbraucht als die inhibierte Photosynthese produziert (Abb. 4). Die Ausnahme des 1-Ethoxy-Silatrans (**II a**) läßt sich auch hier durch die rasche Freisetzung von Kieselsäure erklären, so daß hier keine Silikatmangelbedingungen vorliegen.

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen an *Cyclotella cryptica* zeigen, daß Silatrane (**II**, **III**) und Tetraethoxysilan (**I**) das Wachstum und einige für die Pflanze wichtige Stoffwechselvorgänge wie Photo-

synthese und Dunkelatmung sehr unterschiedlich beeinflussen können.

Wie mit Hilfe silikatfreier Medien gezeigt werden konnte, können hydrolysestabile Silatrane wie 1-Phenyl- (**II b**), 1-Phenyl-3.7.10-trimethyl- (**III a**), 1-Chlormethyl- (**II c**) und 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatran (**III b**) *Cyclotella cryptica* nicht als Silikatquelle dienen. Die Zellen sind offenbar nicht in der Lage, das in diesen Verbindungen organischgebundene Silizium aktiv in Form von Kieselsäure freizusetzen. Entgegen den Untersuchungen von Goltermann [11] mit *Navicula pelliculosa* kann *Cyclotella cryptica* unhydrolysiertes Tetraethoxysilan nicht als Siliziumquelle verwenden. In der vorliegenden Arbeit konnte darüber hinaus gezeigt werden, daß frisch mit Nährmedium vermisches Tetraethoxysilan (**I**) auf Diatomeen stark wachstumshemmend wirkt; diese vom Silikatstoffwechsel ganz unabhängige Wirkung wurde auch bei Grünalgen beobachtet [12]. Es ist unwahrscheinlich, daß sich die beiden Kieselalgen *Navicula pelliculosa* und *Cyclotella cryptica* prinzipiell verschieden verhalten. Wir erklären das Wachstum der Diatomeen in den Beobachtungen von Goltermann, bei denen die erste Wachstumsmessung erst nach 6 Tagen erfolgte, mit einer kontinuierlichen Hydrolyse von Tetraethoxysilan (**I**). Ungeklärt bleibt in der Arbeit [11], ob durch Autoklavieren die Toxizität der Verbindung entscheidend verändert wird. In Versuchen mit verschiedenen Pilzen und Bakterien wurde kein Effekt dieser Organismen auf die Hydrolyse von Tetraethoxysilan (**I**) gefunden [13].

Zahlreiche Untersuchungen über die Wirkung von Silatranen auf Höhere Pflanzen sind bekannt, in vielen Fällen haben sie einen stimulierenden Einfluß auf das Wachstum von Geweben [6, 7, 14]. Bei den zu den Niederen Pflanzen gehörenden Diatomeen (Bacillariophyceae, Chrysophyta) haben die verwendeten Silatrane (**II**, **III**) mit Ausnahme des 1-Ethoxy-Silatrans (**II a**) einen deutlich inhibierenden Effekt. Sie hemmen die Dunkelatmung jedoch nur, wenn keine Kieselsäure im Medium vorhanden ist. Die Sauerstoffentwicklung wird dagegen auch dann inhibiert, wenn Kieselsäure in zehnfach höherer Konzentration in der Nährlösung vorliegt. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß die Substanzen auch in Gegenwart von Kieselsäure in die Zellen aufgenommen werden, jedoch die intrazelluläre Wirkung beim Weitertransport in die Mitochondrien und Chloroplasten oder in der Wirkung in den

Zellorganellen sehr unterschiedlich durch die Anwesenheit von Kieselsäure beeinflusst wird. 1-Chlormethyl- (**II c**) und 1-Chlormethyl-3.7.10-trimethyl-Silatran (**III b**) zeigen hier eine signifikant stärkere Hemmung der Photosyntheserate als die beiden Phenylderivate (**II b**, **III a**). 1-Ethoxy-Silatran (**II a**) beeinflusst die beiden untersuchten Parameter nicht, da es schnell in Kieselsäure und Triethanolamin zerfällt. Letzteres ist nicht toxisch.

Die Silatrane können daher als neue Gruppe von Photosynthesehemmstoffen angesehen werden, deren Wirkungsmechanismus und -spezifität noch vollkommen unbekannt sind. Besonders naheliegend ist ein Vergleich mit einer größeren Zahl von organischen Photosynthese-Hemmstoffen (Herbiziden),

deren Angriffspunkt im Photosyntheseapparat bereits bekannt ist [15, 16].

Danksagung

Die vorliegenden Untersuchungen wurden unterstützt durch ein Stipendium des DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) an den Erstautor für einen Forschungsaufenthalt am Institut für Organische Chemie der Akademie der Wissenschaften der Sowjetunion – Sibirische Abteilung – (Direktor: Prof. Dr. M. G. Voronkov) und am Biologischen Forschungsinstitut der Shdanow-Universität (Direktor: Prof. Dr. O. M. Kozhova) in Irkutsk.

- [1] M. G. Voronkov, G. I. Zelchan und E. J. Lukevits, Silizium und Leben, Verlag Zinatne, Riga 1977 (in Russisch).
- [2] D. Werner, in: The Biology of Diatoms (D. Werner, ed.), Blackwell Scientific Publ., Oxford, London, Edinburgh, Melbourne 1977.
- [3] J. C. Lewin, in: The Physiology and Biochemistry of Algae (R. A. Lewin, ed.), Academic Press, New York 1962.
- [4] R. Roth, Dissertation Marburg/Lahn, 1980.
- [5] M. G. Voronkov und V. M. Dyakov, Silatrane, Verlag Nauka, Nowosibirsk 1978 (in Russisch).
- [6] M. G. Voronkov, in: Biochemistry of Silicon and Related Problems (G. Bendz and I. Lindqvist, eds.), Plenum Press, New York and London 1978.
- [7] M. G. Voronkov, R. N. Platonova, R. A. Svarinskaja, N. I. Karpova und V. M. Dyakov, Doklady Akademii Nauk SSSR **242**, 1407 (1978) (in Russisch).
- [8] R. Roth und D. Werner, Z. Pflanzenphysiol. **89**, 239 (1978).
- [9] W. Engel und L. Holzapfel, Beitr. Silikose-Forsch. **4**, 67 (1960).
- [10] D. C. Forck, in: Methods in Enzymology, **XXIV**, Photosynthesis and Nitrogen-Fixation, Part B (A. San Pietro, ed.), Academic Press, New York 1972.
- [11] H. L. Goltermann, Chemical Environment in the Aquatic Habitat, Proceedings of the IBP-Symposium, Amsterdam 1967.
- [12] N. S. Stroganov, W. G. Chobotjev, L. W. Kolosova und M. A. Kadina, Doklady Akademii Nauk SSSR **181**, 1257 (1968) (in Russisch).
- [13] C. C. Walters, L. Margulis, and E. S. Barghoorn, Precambrian Research **5**, 241 (1977).
- [14] L. W. Orgiljanova, K. S. Gamburg, N. W. Semenova, W. M. Dyakov und M. G. Voronkov, Doklady Akademii Nauk SSSR **227**, 1486 (1976) (in Russisch).
- [15] A. Trebst and W. Draber, in: Advances in Pesticide Science, Part 2 (H. Geissbühler, ed.), p. 223, Pergamon, Oxford 1979.
- [16] P. Böger, G. Sandmann und R. Miller, Photosynthesis Res. **2**, 61 (1981).