

Der Einfluß von Cycloheximid und Chloramphenicol auf die Biosynthese der Photosynthese-Pigmente in *Cyanophora paradoxa* Korsch

I. Photosynthetische Sauerstoffproduktion

The Influence of Cycloheximide and Chloramphenicol on the Biosynthesis of the Photosynthetic Pigments in *Cyanophora paradoxa*

I. Photosynthetic Oxygen Evolution

Hainfried E. A. Schenk und Margarete Neu-Müller

Universität Tübingen, Institut für Biologie I, Auf der Morgenstelle 1, D-7400 Tübingen

Z. Naturforsch. 38c, 978–983 (1983); received July 19, 1983

Cyanophora paradoxa, Photosynthetic Activity, Oxygen Evolution, Chlorophyll, Phycocyanin

It is not clear whether an endocytobiont is able to develop during a long evolution time only to an organelle like cell structure (defect mutant) with a high degree of metabolic dependency or also to a perfect cell organelle with genetical dependency to the host nucleus (intercompartmental translocation of proteins and/or gene transfer) in the sense of the Serial Endocytobiosis Hypothesis (SEH). *Cyanocyta korschikoffiana*, the endocyanelle of *C. paradoxa*, seems to be a very suitable object to answer this question. Therefore we have studied the influence of the translation inhibitors cycloheximide (CHI) and chloramphenicol (CA) on the biosynthetic behaviour of this cyanobacterial endocytobiont regarding the photosynthetic oxygen during 20 h developing and incubation time. After dilution with fresh culture medium the oxygen evolution of the control culture remains nearly constant, if it is related to the phycocyanin content, whereas it increases slowly to a constant level relating to the chlorophyll content (nearly 140–150% of the starting activity). CHI and CA show a rapid effect on the oxygen evolution. At the first 8–10 h the oxygen evolution of cultures treated with CA are hardly diminished and remain more or less constant with regard to the starting activity, but that of cultures treated with CHI decreases strongly. After 24 h the CHI treated flagellate is photosynthetically inactive and far-reaching destroyed (microscopic observations), indicating that CHI has beside the inhibition effects on protein synthesis also secondary effects on the stability of membranes of *C. paradoxa*.

Der apochlorotische Flagellat *Cyanophora paradoxa* [1] – unbekannter systematischer Stellung [2] – fand als endocytobiontisches Konsortium in den letzten zwei Jahrzehnten zunehmend Interesse. Dies nicht zuletzt auch deshalb, weil einige Autoren seinen Endocytobionten, die Endocyanelle *Cyanocyta korschikoffiana* [3] eher in die Nähe der Chloroplasten [4–6], denn in die von Cyanobakterien [2, 3, 7, 8] zu rücken versuchen. Man erwartet, daß dieses Konsortium Möglichkeiten für anagenetische Schlußfolgerungen [7] bezüglich der Plastenevolution eröffnet, die als Argument entweder für eine autogene [9] Zellevolution („Plasmid-Theorie“ [10, 11], „Episomen-Hypothese“ [12],

„Transformations-Hypothesen“ [7]) oder für eine exogene [9] Zellentstehung (SET = „Serielle Endosymbiose-Theorie“ [13], bzw. SEH = „Serielle Endocytobionten-Hypothese“) verwendbar sein werden. Da die „SEH“ davon ausgeht, daß die Plasten jeweils von einem sich adaptiv mutierenden Endocytobionten ableitbar sind, soll hier kurz verdeutlicht werden, daß wenigstens zwei verschiedene Adaptationsvorgänge zu annähernd „homolog“ erscheinenden, in Wirklichkeit jedoch konvergenten oder analogen Genotypen von Endocytobionten und Plasten führen können: a) Adaptation durch Deletion und Mutation läßt obligat-metabolische Dependenz (Mangelmutanten) entstehen, und b) Adaptation durch Deletion, Mutation und/oder Gentransfer führt zur genetischen Semidependenz (Semiautonomie).

Im Fall a) ist der Endocytobiont bezüglich eines bis vieler primärmetabolischer Reaktionsschritte abhängig vom Wirtscytoplasma, seine höhermole-

Abkürzungen: CA, Chloramphenicol; Chl, Chlorophyll a, CHI, Cycloheximid; LM, Lincomycin; PC, C-Phycocyanin.

Reprint requests to Prof. Dr. H. E. A. Schenk.

0341-0382/83/1100-0978 \$ 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.

kularen Strukturbausteine werden in Abhängigkeit vom Endocytobionten-Genom aufgebaut (genetische Autonomie verbunden mit mehr oder weniger stark ausgeprägter metabolischer Dependenz). Im Fall b) führte zusätzlich interkompartimentelle Protein-Translokation („GTP“ nach [14]) und Gentransfer, in welcher Richtung auch immer, zur genetischen Abhängigkeit des Endocytobionten (genetische Dependenz vom Wirtsgenom, sog. „Semiautonomie“), wie wir sie bei den Plasten (Chloroplasten und Mitochondrien) beobachten. Versuche mit Translationshemmstoffen, wie Cycloheximid (CHI) und Chloramphenicol (CA), erlauben eine Unterscheidung von pro- und eukaryotischer Translation und somit die Feststellung des Syntheseortes bestimmter Moleküle innerhalb eines aus Eu- und Prokaryot aufgebauten endocytobiontischen Konsortiums. Trench [15, 16], dessen Arbeiten wir hier folgen, berichtete über den Einfluß von Hemmstoffen der pro- und eukaryotischen Proteinbiosynthese auf den Wachstumsverlauf logarithmisch wachsender Kulturen von *C. paradoxa*. Er wies damit die Abhängigkeit des Wirtes von seiner Endocyanelle nach. Trench und andere Autoren [16–19] berichteten auch, daß das endocytobiontische Cyanobakterium ohne Wirt nicht lange überleben kann. Der Endocytobiont ist also seinerseits vom Nucleocytoplasma des Wirtes abhängig.

In den folgenden zwei Arbeiten werden die Auswirkungen der Translationshemmstoffe CHI, CA und LM auf die Pigmentkonzentration von *C. paradoxa* beschrieben. Da man aufgrund vielfältiger Untersuchungen annehmen kann [20], daß die Proteine in demselben Kompartiment codiert sind, in dem sie synthetisiert werden, kann man mit den eben erwähnten Hemmversuchen zumindest Hinweise auf den Codierungsort dieser Pigmente in *C. paradoxa* erwarten. Bei der *in vivo*-Anwendung dieser Antibiotika sind aber auch andere Wirkungen als die der Proteinsynthesehemmung zu erwarten [21, 22]. Eine einfache Möglichkeit, solche Sekundärwirkungen, durch die verschiedene metabolische Prozesse gehemmt werden können, abzuschätzen, ist die Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung der mit Hemmstoffen behandelten Kulturen im Vergleich zur Kontrollkultur. Es sollte nun festgestellt werden, wie lange die photosynthetische Aktivität der Kulturen unter Hemmstoff-Behandlung erhalten bleibt und in welchem Zeitraum der

Einsatz der Antibiotika demnach für die vorgenommenen Pigmentuntersuchungen sinnvoll erscheint.

Material und Methoden

Cyanophora paradoxa wurde wie zuvor beschrieben [23] kultiviert. Verdünnt man eine schon etwas an Phycocyanin verarmte *Cyanophora*-Kultur mit frischem Medium (C.-Kultur: Medium = 2:1), beginnt sie nach einer lag-Phase von ca. 10–12 Stunden mit dem Wachstum. Die Wirkstoffzugabe erfolgte deshalb 10–12 Stunden nach Verdünnen, d.h. mit Beginn des exponentiellen Anstieges der Pigmentkonzentration (s. auch 23). Der Chlorophyllgehalt der frisch verdünnten Kulturen betrug zwischen 1,5–2,5 µg/ml. Die zugegebenen Hemmstoffmengen waren folgende: a) CHI: 3 µg/ml Kultur (Stammlösung: 15 mg CHI/ml Ethanol), b) CA: 0,3 mg/ml Kultur (Stammlösung: 100 mg/ml Ethanol), c) LM: 25 µg/ml Kultur (Stammlösung: 2,5 mg/ml aq. dest.). Die mit Hemmstoffen versetzten Kulturen entstammten der Kontrollkultur und wurden parallel zu dieser und alle gleichzeitig, ohne zusätzliche Änderungen der Kulturbedingungen weiterkultiviert. Die Bestimmung der Pigmentkonzentration erfolgte mit Hilfe der *in vivo* VIS-Spektroskopie (s. 23).

Polarographische Sauerstoffmessung zur Bestimmung der reellen Photosyntheserate von *C. paradoxa*

Für die Sauerstoffmessung wurde das Meßgerät OXY 39 (WTW, Weilheim) verwendet. Die Sauerstoffelektrode (Clark-Typ) war in eine auf 25 °C thermostasierte Küvette (3,6 ml Inhalt) eingebaut. Die Belichtung (Rotlicht, Kantenfilter Schott RG 630 nm, mittlere eingestrahlte Lichtintensität ca. 9,5 mW/cm²) erfolgte mit einer Kaltlichtquelle über Faseroptik. Für die Messung wurden den Kulturansätzen jeweils 3,5 ml entnommen und unverdünnt in der Küvette (unter Rühren) vermessen. Durch alternierenden Licht-Dunkel-Wechsel wurde der Sauerstoffpartialdruck während der Messung weitgehend konstant [17, 24] zwischen 6–7 mg O₂/l gehalten. Der Sauerstoffpartialdruck lag damit knapp unterhalb der Sauerstoffsättigung und war damit kein limitierender Faktor. Die Meßdauer des Licht-Dunkel-Zyklus (i.a. 3–5 Minuten pro Licht-Dunkel-Zyklus) ergab sich aus der metabolischen Aktivität der Kulturen. Zur Adaptation der Kul-

turen an die Versuchsbedingungen wurden 1–2 Zyklen benötigt, die darauf folgenden 3 Licht-Dunkel-Zyklen wurden ausgewertet. Für die Berechnung der reellen Photosyntheserate (Pr) wurde davon ausgegangen, daß sich die Respirationsrate während der Belichtung nicht von der Dunkelatmung (Rd) unterscheidet. Unter dieser Voraussetzung erhält man die reelle Photosyntheserate durch Addition des Absolutbetrages der Dunkelatmung zur apparenten Photosyntheserate (Pa):

$$Pr = Pa + Rd \quad (\mu\text{mol O}_2/\text{mg Chl} \times \text{h})$$

Zur Mittelung der verschiedenen Versuchsansätze wurde eine Klasseneinteilung der Werte im 2-Stunden-Abstand vorgenommen, da aus experimentellen Gründen nicht jede der verschiedenen Proben zur gleichen Zeit vermessen werden konnte. Innerhalb einer Probenreihe kam es jedoch nur zu einer geringen Abweichung von diesen 2-Stunden-Intervallen, eine graphische Mittelung ist daher erlaubt. Dazu wurden die in die Mittelung der 6 Versuchsansätze eingehenden Kurvenpunkte als Schnittpunkte des jeweiligen Graphs mit dem angelegten 2-Stunden-Raster abgelesen.

Ergebnisse

Nach Zugabe der Hemmstoffe (CHI, CA, LM) waren den behandelten und unbehandelten Versuchsansätzen in 2-Stunden-Intervallen Proben entnommen, ihre *in vivo* Spektren aufgenommen und ihre Photosyntheseaktivität vermessen worden. In den folgenden Abbildungen wird der gemittelte zeitliche Verlauf der Photosyntheseraten wachsenden Kulturen von *C. paradoxa* dargestellt.

Während die Photosyntheserate der Kontrolle bezogen auf Chl (Abb. 1) leicht ansteigt und nach 16–18 Stunden (d. h. 26–28 h nach Verdünnung der Kulturen) ein Plateau erreicht, zeigt sich bei den behandelten Kulturen eine sofortige Wirkung der Hemmstoffe: Die Photosyntheserate bleibt konstant (CA) bzw. vermindert sich (CHI) in für den jeweiligen Inhibitor charakteristischer Weise.

Die photosynthetische Sauerstoffentwicklung der mit CA behandelten Kulturen nimmt über die gesamte Meßdauer nur wenig ab; gegen Ende der Meßdauer (nach 20 Stunden) beträgt sie noch 82% des Anfangswertes (Abb. 1). Die mikroskopische Beobachtung (Phasenkontrast, 500-fache Vergrößerung) zeigt sehr bewegliche, verglichen mit der

Kontrollkultur völlig normal aussehende Cyanophora-Zellen. Allerdings sind die Zellen etwas kleiner als die der Kontrollkultur. Die Beeinflussung der Photosyntheserate durch LM (das wie CA hemmend auf die prokaryotische Proteimbiosynthese wirkt) erscheint nahezu identisch zu der des CA (Abb. 1). Während der ersten 10 Stunden nach Antibiotika-Zugabe unterscheiden sich die Photosyntheseraten der CA- und LM-Kulturen nur wenig; gegen Ende der Meßdauer nimmt die Photosyntheseaktivität der mit CA behandelten Kultur etwas stärker ab, während die der LM-Kultur über den gesamten Meßzeitraum beim Anfangswert verharrt.

Bei den CHI behandelten Kulturen ist schon nach 8–10 Stunden Inkubation ein Abfall auf 60–70% der Anfangsaktivität zu beobachten. Nach 20 Stunden ist die Sauerstoffproduktion auf ca. 20% des Anfangswertes gesunken. Zu diesem Zeitpunkt besitzt der Flagellat nur noch eine stark eingeschränkte Beweglichkeit; seine äußere Form (die Zellen erscheinen „aufgequollen“) läßt auf gewisse Schädigungen am Plasmalemma schließen. Gegen Ende der Meßdauer sind auch vermehrt lysierte Zellen zu beobachten.

Der zeitliche Verlauf der reellen Photosyntheserate läßt sich anstatt auf Chl, auch auf den Phycocyaningehalt beziehen (Abb. 2). Es fällt auf, daß dann die Sauerstoffproduktion der Kontrollkultur während der 20-stündigen Meßzeit nahezu konstant bleibt. Die übrigen Kurven verhalten sich analog zu Abb. 1. Die zeitliche Abhängigkeit der photosynthetischen Aktivität einer frisch verdünnten Kultur hängt also vom Bezugssystem (Chlorophyll oder Phycocyanin) ab. Für diese Beobachtung bietet sich folgende Erklärung an:

Bei wachsenden Cyanophora-Kulturen wird die Energieleitung mit zunehmender Thylakoiddifferenzierung effizienter, wie Brandt *et al.* [25] mit Hilfe von Fluoreszenzspektren nachweisen konnten. Die genannten Autoren erklären ihre Beobachtung mit einer Zunahme der Anzahl an Phycobilisomen im Vergleich zu den Chlorophyll-Proteinkomplexen, wodurch der Energietransfer zwischen den Komponenten des Photosyntheseapparates wirkungsvoller würde. Gleichermaßen trifft auf die hier untersuchten Cyanophora-Kulturen zu. Ein Vergleich von Abb. 3 der vorhergehenden Arbeit [23] mit den Abb. 1 und 4 der folgenden Arbeit [26] zeigt den gegenüber dem Chl prozentual schnelleren Anstieg der PC-Konzentration. Das in die Phycobilisomen eingebaute PC

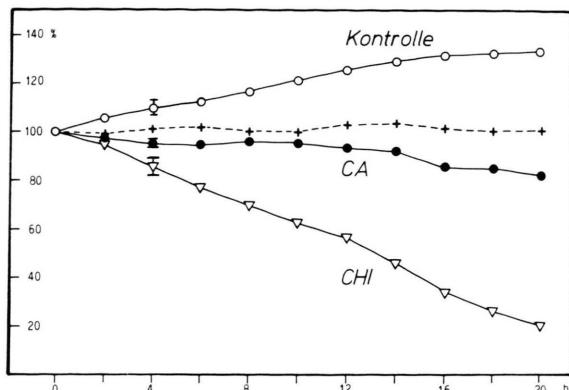


Abb. 1. Bezug Chlorophyll a (100% = 251,5 $\mu\text{mol O}_2/\text{mg Chl} \times \text{h}$).

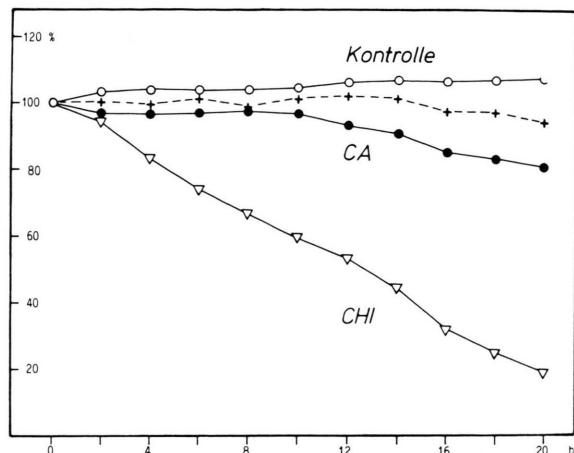


Abb. 2. Bezug C-Phycocyanin (100% = 35,6 $\mu\text{mol O}_2/\text{mg PC} \times \text{h}$).

Abb. 1 und Abb. 2. Einfluß von Translations-Inhibitoren auf die reelle Photosyntheserate von *Cyanophora paradoxa* (in % der Anfangsaktivität, Anfangskonzentration der Pigmente bei 100%; Chl = 1,98 $\mu\text{g/ml}$ und PC = 13,8 $\mu\text{g/ml}$; Fehlerbalken entsprechen der lokalen Standardabweichung, der mittlere Fehler über die gesamte Meßdauer beträgt für die Werte der Kontrolle: $\pm 8,2\%$, für die CA-behandelten Kulturen: $\pm 6,1\%$ und für die CHI-Kulturen: $\pm 4,8\%$).

erhöht nun die Sauerstoffausbeute pro Chlorophyllmolekül, was die anfängliche Steigerung der reellen Photosyntheserate (in $\mu\text{mol O}_2/\text{mg Chl} \times \text{h}$) erklärt. Auf die Photosyntheserate, die auf PC bezogen wird, hat dies keinen Einfluß: Die Sauerstoffproduktion steigt offensichtlich in den ersten 20–30 Stunden nach Verdünnung im gleichen Maße wie die PC-Konzentration, die Sauerstoffausbeute

bleibt somit in den Grenzen der untersuchten Chl- und PC-Konzentrationen pro PC-Molekül konstant, danach (unveröffentlichte Beobachtung von J. Hanf) macht sich der Speicherprotein-Effekt [23] bemerkbar, d. h. die Photosynthese-Effektivität nimmt (auf Phycocyanin bezogen) wieder ab.

Diskussion

Die Translationshemmstoffe CA und CHI bewirken bei den behandelten Kulturen eine gegenüber der Kontrollkultur unterschiedliche, in jedem Fall aber deutlich erkennbare Verminderung der Photosyntheseaktivität. Während der ersten 10 Stunden sinkt die Photosyntheseaktivität der mit CA (0,3 mg/ml) behandelten Kulturen nur unwesentlich. Das Energieleitungssystem der Thylakoide kann auf Grund mangelnder Protein- bzw. Pigment-Synthese aber auch nicht weiter differenziert und damit verbessert werden, wie dies bei exponentiell wachsenden Kulturen der Fall ist [25]. Die photosynthetische Sauerstoffentwicklung verharrt danach beim Anfangswert. Mit Zugabe von CA bleibt *Cyanophora* somit auf der zu diesem Zeitpunkt erreichten Entwicklungsstufe stehen. Die Kulturen scheinen außer der beeinträchtigten Pigmentsynthese keine Schädigung aufzuweisen, sie können sogar mindestens eine Woche überleben und wachsen nach Zugabe von frischem Nährmedium wieder normal. (Die Schädigung bzw. Hemmung durch CA ist allerdings doch ganz beträchtlich, wie ein Vergleich mit der Wirkung von geringeren CA-Konzentrationen (0,1–0,2 mg/ml Kultur) auf den dann noch abbaubaren Phycochromoproteid-Gehalt der Cyanellen zeigt [23]).

Ganz unterschiedlich dagegen ist die Wirkung von CHI: Die Photosyntheserate nimmt über den gesamten Meßzeitraum (20 h) kontinuierlich ab; nach 24 Stunden ist keine nennenswerte Sauerstoffentwicklung mehr feststellbar. Mikroskopische und physiologische Beobachtungen zeigen an, daß die mit CHI behandelten Kulturen nach 24 Stunden bereits abgestorben sind. Ohne Zweifel ist die cytoplasmatische Proteinsynthese von lebenswichtiger Bedeutung für die Endocyanelle, welche aufgrund der Genomgröße [5, 19, 27, 28] wohl nur einen Bruchteil der für sie lebensnotwendigen Proteine zu synthetisieren vermag. Sollte die Hemmung der Photosynthese nur durch Inhibition der eukaryotischen Proteinbiosynthese verursacht werden,

müßte *Cyanocysta* eine extreme Abhängigkeit vom Wirt entwickelt haben, die die Abhängigkeit der Chloroplasten von der cytoplasmatischen Proteinbiosynthese übertrifft, denn es lassen sich ohne weiteres „intakte“ Chloroplasten isolieren, die eine gute Photosyntheserate aufweisen und zur Kohlendioxidassimilation befähigt sind [20]. Bei isolierten Cyanellen wurden bisher aber noch keine nennenswerten CO_2 -Fixierungsrationen beobachtet [29, 30]. Außerhalb der Wirtszelle ist *Cyanocysta* also nur noch in geringem Maße zur Photosynthese befähigt – das „Wirtsmilieu“ ist Voraussetzung für funktionsfähige Cyanellen. Möglicherweise spielt die Bereitstellung niedermolekularer Metaboliten, die für den Energiehaushalt der Endocyanellen von Bedeutung sind, eine entscheidende Rolle. Wird der Metabolismus des Eukaryoten durch Hemmung seiner Proteinbiosynthese gestört, so muß sich dies zwangsläufig negativ auf den Endocytobionten auswirken. Dies würde für eine Adaptation durch Deletion, also für metabolische Dependenz des Endocytobionten vom Nucleocytoplasma des Wirtes sprechen. Trotzdem ist es erstaunlich, wie rasch eine Hemmung der cytoplasmatischen Proteinbiosynthese die Photosynthese zum Erliegen bringt. Der durch CHI verursachte rasche Abfall der photosynthetischen Aktivität könnte daher auch darauf hinweisen, daß die Inhibition der Proteinbiosynthese nicht die alleinige Ursache für den raschen Aktivitätsverlust ist. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang eine Beobachtung von Trench *et al.* [15] an *Cyanophora* nach 24-stündiger CHI-Einwirkung:

Elektronenmikroskopische Überprüfung der Cyanellen ergab, daß viele der Phycobilisomen von den Thylakoidmembranen abgelöst waren und die oft an die Thylakoidmembranen angehefteten Ribosomen sich von diesen abgelöst und im Stroma aggregiert hatten. Ob für diese Effekte eine direkte Wirkung des CHI auf die Thylakoidmembran oder die Hemmung der eukaryotischen Proteinsynthese verantwortlich ist, bleibt letzten Endes unerheblich. In jedem Fall wird die Endocyanelle empfindlich gestört: von der Thylakoidmembran abgelöste Phycobilisomen können keinen effektiven Energie-transfer unterstützen, aggregierte Cyanellenribosomen dürften eine verminderte Cyanellen-Protein-synthese zur Folge haben.

Die Wirkungen des CHI sind im Gegensatz zu denen des CA eher kritisch zu betrachten: Nebenwirkungen des CHI sind bei *Cyanophora* nicht auszuschließen. Da die photosynthetische Sauerstoff-entwicklung durch CHI schon nach den ersten 10 Stunden zu 50% gehemmt wird, hat dies vermutlich eine in gleicher Höhe verminderte CO_2 -Fixie- rungsrate und geringere Pigmentsynthesen zur Folge, was bei der Beurteilung von Translationshemmversuchen berücksichtigt werden muß.

Danksagung

Wir danken Herrn Dipl. Biol. J. Hanf für technische Hilfen bei der Sauerstoffmessung und für anregende Diskussion der Ergebnisse.

- [1] A. A. Korschikoff, Russ. Archiv Protistol. **3**, 57–74 (1924/1925).
- [2] L. Kies, in (W. Schwemmler u. H. E. A. Schenk, eds.) *Endocytobiology*, Vol. I, 7–20 (1980).
- [3] W. T. Hall u. G. Claus, J. Cell. Biol. **19**, 551–563 (1963).
- [4] E. Schnepf u. R. M. Brown, Jr. (J. Reinert u. H. Ur-sprung, eds.), *Origin and continuity of cell organelles*, pp. 229–322, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1971.
- [5] M. Herdman u. R. Y. Stanier, FEBS Lett. **1**, 7–12 (1977).
- [6] L. Floener u. H. Bothe, Planta **156**, 78–83 (1982).
- [7] H. E. A. Schenk, Arch. Protistenk. **119**, 274–300 (1977).
- [8] R. K. Trench in (Round u. Chapman, eds.), *Progress in Phycological Res.*, Vol. 1, 257–288 (1982).
- [9] F. J. R. Taylor, Taxon **23**, 229–258 (1974).
- [10] R. A. Raff u. H. R. Mahler, Soc. Exp. Biol. Symp. **29**, 41–92 (1975).
- [11] H. R. Mahler, in (W. Schwemmler u. H. E. A. Schenk, eds.) *Endocytobiology*, Vol. I, 869–892 (1980).
- [12] C.-G. Arnold, in (R. Siewing, ed.) *Evolution*, pp. 155–189, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, New York 1978.
- [13] F. J. R. Taylor, Int. Rev. Cytology, **Suppl. 14**, 1–28 (1983).
- [14] A. Harrington u. A. L. Thornley, J. Mol. Evol. **18**, 287–292 (1982).
- [15] R. K. Trench, R. R. Pool, Jr., M. Logan u. A. Engel-land, Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. (B), **202**, 423–443 (1978).
- [16] K. K. Trench u. H. C. Siebens, Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. (B), **202**, 473–482 (1978).

- [17] J. Hanf u. H. E. A. Schenk, in (W. Schwemmler, H. E. A. Schenk, eds.) *Endocytobiology*, **Vol. I**, 531–539 (1980).
- [18] A. Rostami-Rabet, Dissertation, Hamburg 1980.
- [19] S. Klein, J. M. Jaynes, S. S. Kent u. L. P. Vernon, *Plant Physiol.* **68**, 407–410 (1981).
- [20] R. J. Ellis, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **32**, 111–137 (1981).
- [21] D. McMahon, *Plant Physiol.* **55**, 815–821 (1975).
- [22] R. J. Ellis, *Biochim. Biophys. Acta* **463**, 185–215 (1977).
- [23] H. E. A. Schenk, J. Hanf u. M. Neu-Müller, *Z. Naturforsch.* **38c**, 972–977 (1983).
- [24] J. Hanf, Diplomarbeit, Tübingen 1978.
- [25] P. Brandt, S. Marten, B. Müller u. W. Wiessner, *Z. Naturforsch.* **37c**, 75–80 (1982).
- [26] M. Neu-Müller u. H. E. A. Schenk, *Z. Naturforsch.* **38c**, 990–995 (1983).
- [27] J. M. Jaynes, L. P. Vernon, S. M. Klein u. G. A. Strobel, *Plant Science Lett.* **21**, 345–356 (1981).
- [28] W. Löffelhardt u. H. Mucke, in (W. Schwemmler u. H. E. A. Schenk, eds.) *Endocytobiology*, **Vol. I**, 523–530 (1980).
- [29] H. E. A. Schenk u. I. Hofer, Proc. II. Intl. Congr. Photosynthesis Res. (G. Forti, M. Avron u. A. Melandri, eds.), 2095–2100 (1972).
- [30] L. Floener u. H. Bothe, *Planta* **156**, 78–83 (1982).