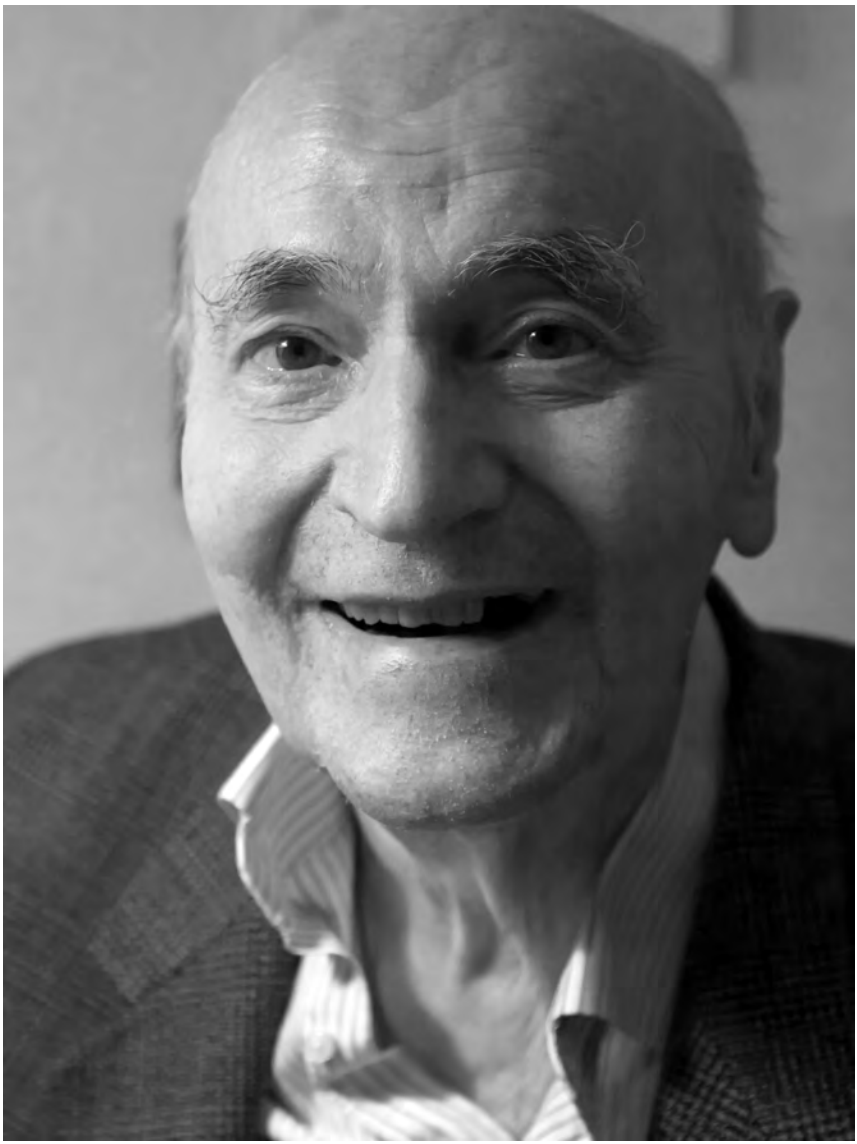
Louis Nico Marie Duysens
15 maart 1921 – 8 september 2015



Levensbericht door R. van Grondelle

Louis Nico Marie (Lou) Duysens werd op 15 maart 1921 te Heerlen, Limburg geboren. Hij was het eerste kind van Louis Win Duijsens, gemeenteambtenaar, en Marie Eickenboom. Na hem volgden nog een broer Frans en een zusje Ria. Vanaf zijn eerste levensjaren toonde Lou grote belangstelling voor de natuurwetenschappen en op de middelbare school deed hij chemische experimenten. Na zijn eindexamen verliet Lou Heerlen om wis- en natuurkunde te studeren in Utrecht, waar hij in 1947 zijn doctoraaldiploma behaalde. Rond deze tijd veranderde hij de spelling van zijn familienaam van Duijsens in Duysens, de naam waaronder hij wetenschappelijk bekend werd. In 1946 werd Lou aangesteld als staflid van de Biofysicagroep van de Universiteit van Utrecht en de Technische Hogeschool van Delft. Volgens zijn eigen memoires werd hij geacht een project rond de constante van Planck uit te voeren. Hij stond er echter op voltijds te werken aan een onderwerp uit de fotosynthese en werd daarmee de eerste natuurkundige in die groep die zich met dat onderwerp bezig hield. Wassink suggereerde hem fluorescentieinductie te bestuderen, maar Lou koos als onderwerp excitatie-energieoverdracht, mogelijk het meest fysische onderdeel van de fotosynthese, waarbij mogelijke biologische complicaties vermeden konden worden. Lou Duysens trok zich duidelijk weinig aan van het advies van zijn superieuren en deed waar hij zin in had. Hij publiceerde zijn proefschrift in 1952 met de titel *Transfer of Excitation Energy in Photosynthesis*.

Lou Duysens werd zeer geïnspireerd door de eerste theoretische formulering van het proces van energieoverdracht door Theodor Förster (1947, 1948). Förster liet zien dat twee chlorofylmoleculen op voldoende korte afstand van elkaar en met de goede onderlinge oriëntatie, een elektronische excitatie konden uitwisselen met een snelheid die slechts afhing van de 6e macht van de onderlinge afstand R, R^{-6}, een factor bepaald door de relatieve oriëntatie van donor en acceptor en de overlap van de donoremissie and acceptorabsorptie $\varepsilon_A(\tilde{\nu})$. Het opmerkelijke aan de Förstervergelijking is dat er slechts parameters in voorkomen die experimenteel toegankelijk zijn. In dit model voltooit de excitatie een dronkemanswandeling (*random walk*) totdat een

val, het reactiecentrum, bereikt wordt waar de elektronische excitatie wordt omgezet in de energie van een gescheiden paar ladingen.

Reactiecentra in fotosynthetische purperbacteriën

Met zijn experimentele werk gedurende zijn promotie, waarbij hij met name fluorescentie excitatie spectroscopie gebruikte, had Duysens overtuigend aangetoond dat in de fotosynthese excitatie-energieoverdracht optreedt tussen hoog- en laag-energetische pigmenten en dat voor een aantal fotosynthetische organismen: energieoverdracht van caroteen naar bacteriochlorofyl in fotosynthetische purperbacteriën, van caroteen en chlorofyl b naar chlorofyl a in groene algen, van phycobilinen naar chlorofyl a in cyanobacterien (Duysens 1951, 1952). Vanwege deze waarnemingen was hij volledig overtuigd geraakt van de 'energie-overdrachtreactiecentrum'-hypothese en hij ondernam een serieuze poging dit experimenteel te bewijzen. Aannemende dat er een reactiecentrum bestond waar excitaties ingevangen worden, dan zou volgens Förster de absorptie gedeeltelijk moeten samenvallen met de fluorescentie van het meest lang-golvige (bacterio-)chlorofyl, waar de excitaties in de antenne zeer efficiënt naar toe getransporteerd worden. Hij veronderstelde verder in geval het reactiecentrumpigment, dat hij P noemde, een fotochemische reactie zou ondergaan dat de absorptie van P zou verdwijnen. Hij verkoos de purperbacterie *Rhodospirillum rubrum* te gebruiken voor zijn proeven omdat Wassink en medewerkers eerder hadden aangetoond dat de fluorescentie sterk toenam bij langdurige belichting (Wassink et al., 1942), een waarneming die consistent was met het idee dat P als excitatietrap was verdwenen. Voor *Rhodospirillum rubrum* was Duysens schatting dat P aanwezig zou zijn in een verhouding van 1:100 ten opzichte van antennepigmenten, gebaseerd op Försters theorie.

Met behulp van wat onderdelen van een fluorescentie spectrofotometer bouwde Duysens een absorptieverschilspectrofotometer, die voldoende gevoelig was dat hij veranderingen in absorptie van deze grootte kon waarnemen. Het bleek relatief 'gemakkelijk' een lichtgeïnduceerde en reversibele bleking rond de 890 nm waar te nemen op basis waarvan Lou concludeerde dat 3% van de bacteriochlorofylpigmenten bleekte bij verzadigende lichtintensiteit (zie de oorspronkelijke figuur in zijn proefschrift). Een vergelijkbare waarneming werd gedaan in een membraanpreparaat van een andere

purperbacterie *Chromatium vinosum*. Duysens concludeerde uit deze waarnemingen dat een kleine fractie van het bacteriochlorofyl als een reactiecentrum functioneert waar de elektronische excitatie wordt omgezet in een fotochemisch product dat uiteindelijk door de cel gebruikt kan worden om in zijn energiebehoefte te voorzien. Op basis van het effect van zuurstof en de aan/afwezigheid van elektrondonoren concludeerde hij dat na belichting P geoxideerd en een acceptor, een ander molecuul, gereduceerd wordt. Het idee van een reactiecentrum dat excitaties invangt, geabsorbeerd door een omringende licht-oogstende antenne, en vervolgens na excitatie-energieoverdracht een ladingsscheiding uitvoert was geboren en is vandaag een absolute hoeksteen in ons begrip van de fotosynthese.

Een complicatie in de oorspronkelijke experimentele resultaten van Duysens, namelijk dat er naast de bleking van P rond de 890 nm ook een absorptiebandverschuiving rond de 800 nm te zien was, kon naderhand prachtig verklaard worden op basis van de kristalstructuur van het bacteriële reactiecentrum, in de jaren tachtig opgehelderd door Hartmut Michel en Johann Deisenhofer (Deisenhofer et al. 1984), die daarvoor de Nobelprijs voor de Scheikunde ontvingen. Het reactiecentrum blijkt meerdere pigmenten te bevatten, waaronder een bacteriochlorofyl B800 dat zich vlak bij P bevindt. De positieve lading op P verschuift de absorptie van B800 een paar nm naar het blauw, Stark-effect. In dezelfde structuur kon P geïdentificeerd worden als het (speciale) paar bacteriochlorofylmoleculen in het hart van het reactiecentrum.

Later werden door Duysens een veelheid aan licht-geïnduceerde absorptieverschilspectra waargenomen in andere fotosynthetische bacteriën, algen en cyanobacteriën, die verdere ondersteuning leverden aan het idee van het reactiecentrum. Door in andere spectrale gebieden te kijken kon Duysens talloze signalen waarnemen, gerelateerd aan de primaire processen van de fotosynthese, zoals de oxidatie van een cytochroom in de purperbacterie *Rhodospirillum runbrum*, het '515nm'-signaal in *Chlorella* (Duysens 1954b) gerelateerd aan de vorming van een membraanpotentiaal en de oxidatie-reductie van een cytochroom in *Porphyridium cruentum* (Duysens 1955). De laatste waarneming was een voorbode van de latere ontdekking van de twee fotosystemen.

Lous proefschrift markeert daarom een belangrijk moment in het fotosynthese en dus het biofysische onderzoek. Hij toonde onomstotelijk de kracht aan van de toepassing van natuurkundige concepten en methoden waarmee biologische processen bestudeerd en kwantitatief begrepen kunnen worden. Zijn 'klassieke' proefschrift bevatte vele ontdekkingen en nieuwe inzichten in het verloop van de eerste processen in de fotosynthese: (1) de ontdekking van 'reactie centra' waar de energie van licht efficiënt wordt omgezet in een ladingsscheiding; (2) het concept van een licht-oogstende antenne (pakweg 200 chlorofyl moleculen per P) die de reactiecentra van elektronische excitaties voorziet middels zeer efficiënte energieoverdracht; (3) het bestaan van twee types chlorofyl a, de eerste sterk fluorescent zodra ze wordt geëxciteerd via phycobilinen in rode algen en de tweede slechts zwak fluorescerend na directe excitatie. Nu weten we dat het hier om de twee in serie opererende fotosystemen gaat: fotosysteem 2 en fotosysteem 1; (4) systematisch en heldere kennis omtrent de efficiëntie en het mechanisme van de overdracht van elektronische excitatie-energie tussen fotosynthetische pigmenten zoals van phycobiline, fucoxanthol en chlorofyl b naar chlorofyl a (in algen) en van caroteen naar bacteriochlorofyl in fotosynthetische bacteriën. Als voorbeeld, chlorofyl b draagt zijn excitatie-energie over aan chlorofyl a met een efficiëntie van bijna 100%; een proces waarvan de fysische details meer dan zestig jaar later nog steeds worden bestudeerd!

Nadat Lou zijn proefschrift met cum laude in Utrecht verdedigd had ging hij op onderzoekstournee naar de Verenigd Staten, waarbij hij onder meer het laboratorium van Eugene I. Rabinowitch aan de Universiteit van Illinois in Urbana-Champaign heeft bezocht, om vervolgens door te reizen naar het Carnegie Institute of Science in Stanford, Californië. In Rabinowitchs lab heeft Lou een absorpieverschil spectrophotometer gebouwd, de voorloper van een instrument dat later een commercieel succes werd. Hier ontdekte Duysens (1954) de '515 nm'- absorptieverandering, karakteristiek voor de opbouw van de membraanpotentiaal in planten.

Het biofysicalaboratorium in Leiden

Na zijn terugkeer in Nederland werd Lou in 1956 als lector en later in 1962 als hoogleraar in de biofysica aangesteld in de afdeling Natuurkunde van de Rijksuniversiteit Leiden. Gedurende de dertig jaar tot zijn pensionering in

1986 slaagde hij er in een uniek onderzoekslaboratorium op te bouwen dat wereld leidend was op het gebied van de bestudering van de eerste reacties in de fotosynthese. Om uitbreiding van zijn groep mogelijk te maken werd een oude boterfabriek aan de Schelpenkade omgebouwd tot een laboratorium voor biofysica zoals Duysens zich dat voorstelde. Hij wilde liefst alles wat voor zijn onderzoek nodig was in eigen beheer produceren. Op een bij uitstek interdisciplinair werkterrein lijkt dat een absurde ambitie, maar bedenk dat hij in Leiden moeilijk aansluiting vond bij de natuurkunde, waar velen biofysica nog een beetje als *soft science* beschouwden, en bij de biologie, waar men zich toen juist niet op moleculair niveau, maar op populatie- en individu-niveau wilde profileren. En het is hem gelukt. Rond 1970 stond er een ware fabriek van fotosyntheseonderzoek. Er waren zeer professionele elektronische en fijnmechanische werkplaatsen bevolkt door zeer capabele technici om de meetopstellingen te bouwen. Er was microbiologische en biochemische ondersteuning om de fotosynthetische organismen te kweken en er de gewenste onderdelen uit te isoleren. En er kwam zelfs al een centrale computer – met staflid en programmeurs – om de meetresultaten te verwerken en, een paar jaar later, ook de metingen mee te besturen; misschien wel als eerste plek in Nederland. De onderzoekers waren promovendi van allerlei komaf: natuurkunde, scheikunde, biologie, en altijd wel een of meer belangrijke buitenlandse gasten op sabbatical.

De groep groeide ook daar uit zijn voegen, maar dat werd in 1975 opgelost met de bouw van het Huygens Laboratorium, waardoor bovendien de interactie met de rest van de faculteit sterk verbeterde. Als sluitstuk op zijn carrière wist Duysens daar een picoseconde-absorptieverschil-spectrofotometeropstelling te realiseren, waarmee zijn team in de laatste jaren voor zijn pensionering in 1986 de primaire reacties in allerlei fotosynthetische membraan- en reactiecentrumpreparaten op picosecondetijdschaal kon onderzoeken en veel van zijn concepten en voorspellingen fraai bevestigde. De faciliteiten in Leiden trokken vele gerenommeerde onderzoekers om met Duysens en andere aanwezige stafleden (Jan Amesz, Arnold Hoff, Hans van Gorkom) onderzoek te doen naar de eerste reacties in de fotosynthese, die ook allemaal zeiden dat ze nog nooit zo'n paradijs voor interdisciplinair onderzoek hadden gezien.

De twee fotosystemen

Aanwijzingen voor de aanwezigheid van twee in serie werkende fotosystemen kwamen in eerste instantie van chloropfyl fluorescentie-experimenten aan cyanobacteriën, waar werd aangetoond dat de fluorescentie geëxciteerd door phycobilinen een veel hogere opbrengst vertoonde dan fluorescentie geëxciteerd via directe chlorofylabsorptie. De hypothese was derhalve dat er twee fotosystemen bestonden, een die selectief geëxciteerd werd door phycobilinen en sterk fluorescerend; een tweede slechts direct via chlorofylabsorptie geëxciteerd en zwak fluorescent (Duysens 1951, 1952). Ongeveer tien jaar later met behulp van absorptieverschilspectroscopie kon door de excitatiegolflengte te variëren tussen phycobiline excitatie (waarbij met name de fluorescente groep van chlorofylpigmenten werd geëxciteerd) en rode excitatie >690 nm (waarbij vooral de zwak fluorescerende chlorofylmoleculen werden geëxciteerd) nam Duysens waar dat het laatste licht (Licht 1) het cytochroom oxideerde, terwijl belichting met het eerste licht (Licht 2) het cytochroom weer reduceerde. Op basis van deze proeven concludeerde Duysens dat de twee voorgestelde fotosystemen in serie opereren (Duysens et al. 1961). Voortbouwend op deze proeven kon bewezen worden dat in de fotosynthese van algen twee verschillende fotochemische oxidatie-reductiereacties optreden, die ieder aangedreven worden door een eigen licht-oogstende antenne. De twee systemen opereren in serie: Fotosysteem 1 reduceert NADP en oxideert het cytochroom, Fotosysteem 2 reduceert het cytochroom en produceert zuurstof door water te oxideren (Duysens et al. 1961; Duysens and Amesz 1962) Deze experimenten vormen de basis voor het beroemde Z-schema voor de fotosynthese, prominent aanwezig in vele tekstboeken.

Een additionele essentiële waarneming was dat de fluorescentieopbrengst van alle zuurstof ontwikkelende fotosynthetische systemen afhankelijk is van de redoxtoestand van een 'quencher Q' (Duysens en Sweers 1963), stiekem hopend dat Q een quinone zou zijn. Licht 2 reduceerde Q met een sterke fluorescentie stijging als gevolg, Licht 1 oxideerde Q met een daling van de fluorescentie tot haar oorspronkelijke niveau. Bij de latere biochemische en structurele karakterisering van type 2 reactie centra bleek dat Q het sterk gebonden quinone Q_A was, de eerste stabiele elektronenacceptor na ladingsscheiding.

Excitatie-energieoverdracht

Zoals hierboven vermeld vormde de ontdekking van efficiënte energieoverdracht in de fotosynthese de basis voor het succesvolle reactiecentrumconcept. In later werk ontwikkelde Lou Duysens het zogenaamde matrixmodel voor de beschrijving van fotosynthetische energieoverdracht, ook wel bekend als het Vredenberg-Duysensmodel (Vredenberg and Duysens 1963; Duysens 1978). De fundamentele waarneming was dat er een lineaire relatie bestaat tussen de reciproke fluorescentieopbrengst en de fractie gesloten (of inactieve) reactiecentra. Het eenvoudigste model dat deze waarneming kan verklaren is door aan te nemen dat er een grote antenne bestaat (veel groter dan de diffusielengte van een excitatie) gekoppeld aan veel reactiecentra. In het geval dat een reactiecentrum gesloten is, bestaat er een grote kans dat de excitatie alsnog ingevangen wordt door een naburig, nog actief reactiecentrum. In de limiet van ultrasnelle energieoverdracht kan de Vredenberg-Duysensrelatie precies worden afgeleid (Duysens 1978). Slechts met de ontwikkeling van ultrasnelle laserspectroscopie kon een precieze schatting worden gemaakt van de diffusiesnelheid van excitaties in een fotosynthetische antenne (Bakker et al. 1985). Aangetoond werd dat een excitatie honderden chlorofylmoleculen kan bezoeken, daarmee sterke steun verlenend aan het matrixmodel van Duysens.

Hoe het allemaal op zijn plaats viel

Gedurende de laatste jaren van zijn hoogleraarschap in Leiden werd Lou Duysens gezegend met een werkende en nauwkeurige picoseconde absorptiespectrofotometer. Het moet voor Lou een groot genoegen zijn geweest te zien hoe veel van zijn concepten en voorspellingen realiteit werden door middel van de prachtige resultaten halverwege de jaren tachtig door zijn team verzameld aan membranen en reactiecentra van fotosynthetische purperbacteriën (Nuijs et al. 1985b; Shuvalov and Duysens 1986; Shuvalov et al. 1986b), groene fotosynthetische bacteriën (Van Bochove et al., Fotosysteem 1 (Nuijs et al. 1986b; Shuvalov et al. 1986c), Fotosysteem 2 (Nuijs et al. 1986a) en heliobacteriën (Nuijs et al. 1985a.).

Het experimentele werk aan excitatie-energieoverdracht en ladingsscheiding in de fotosynthese heeft gedurende de dertig jaar na de pensionering en voor het overlijden van Lou Duysens een enorme progressie laten zien. Echter, we

zouden nooit geweest zijn waar we nu zijn zonder zijn verbazingwekkende inzichten en experimentele vaardigheden. Ergens in het midden van de jaren negentig vond Lou een paar exemplaren van zijn proefschrift op de zolder van zijn woning en vroeg hij mij terloops wie daar mogelijk in geïnteresseerd zou zijn. Een exemplaar werd naar Graham Fleming in Berkeley gestuurd, een van de belangrijkste onderzoekers op dit gebied gedurende de laatste dertig jaar. Nadat Graham het had ontvangen, antwoordde hij: 'Sometimes I wonder why we are all doing this. It has been done!'

Bibliografie

Bakker, J.G.C., van Grondelle, R. and den Hollander, W.T.F. (1985) 'Trapping, loss and annihilation of excitations in a photosynthetic system. 2. Experiments with the purple bacteria *Rhodospirillum rubrum* and *Rhodopseudomonas capsulata*'. *Biochim Biophys Acta* 725: 508-518

Biochim Biophys Acta 64: 309-317

Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R. and Michel, H. (1984) 'X-ray structure-analysis of a membrane-protein complex- Electron density map at 3A resolution and a model of the chromophores of the photosynthetic reaction center of *Rhodopseudomonas viridis*'. *Journal of Molecular Biology*, 180(2), 385-398

Duysens, L.N.M. (1951) 'Transfer of light energy within the pigment systems present in photosynthesizing cells'. *Nature* 168: 548

Duysens, L.N.M. (1952) *Transfer of excitation energy in photosynthesis*. Doctoral thesis, State University Utrecht, The Netherlands

Duysens, L.N.M. (1954a) 'Reversible photo-oxidation of a cytochrome pigment in photosynthesising *Rhodospirillum rubrum*'. *Nature* 173: 692

Duysens, L.N.M. (1954b) 'Reversible changes in the absorption spectrum of *chlorella* upon irradiation'. *Science* 120: 353-354

Duysens, L.N.M. (1955) 'Role of cytochrome and pyridine nucleotide in algal photosynthesis'. *Science* 121: 210-211

Duysens, L.N.M. (1958) 'The path of light energy in photosynthesis'. In: *The photochemical Apparatus: its structure and Function*. *Brookhaven Symposia in Biology* 11: 10-25

Duysens, L.N.M. (1978) 'Chlorophyll organization and energy transfer in photosynthesis'. *CIBA Symposium* 61: 323-340. Elsevier/North-Holland, Amsterdam (new series)

Duysens, L.N.M. (1989a) 'The study of reaction centers and of the primary and associated reactions of photosynthesis by means of absorption difference spectrophotometry: a commentary'. *Biochim Biophys Acta* 1000: 395-400

Duysens, L.N.M. (1989b) 'The discovery of the two photosynthetic systems: a personal account'. *Photosynth Res* 21: 61-79

Duysens, L.N.M. and Amesz, J. (1962) 'Function and identification of two photochemical systems in photosynthesis'. *Biochim Biophys Acta* 64: 243-260

Duysens, L.N.M. and Sweers, H.E. (1963) 'Mechanism of two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence'. In: *Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria; special issue of Plant and Cell Physiol, ed. Jap Soc Plant Physiol*, pp 353-372, University of Tokyo Press, Tokyo

Duysens, L.N.M., Huiskamp, W.J., Vos, J.J., and van der Hart, J.M. (1956) 'Reversible changes in bacteriochlorophyll in purple bacteria upon illumination'. *Biochim Biophys Acta* 19: 188-190

Duysens, L.N.M., Amesz, J. and Kamp, B.M. (1961) 'Two photochemical systems in photosynthesis'. *Nature* 190: 510-511

Förster, T. (1947) 'Ein Beitrag zur Theorie der Photosynthese'. *Naturforsch* 2b: 174-182

Förster, T. (1948) 'Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz'. *Ann Physik* 2: 55-75

Nuijs, A.M., van Dorssen, R.J., Duysens, L.N.M. and Amesz, J. (1985a) 'Excited states and primary photochemical reactions in the photosynthetic bacterium *Heliobacterium chlorum*'. *Proc Nat Acad Sci USA* 82: 6865-6868

Nuijs, A.M., van Grondelle R., Joppe, H.L.P., van Bochove, A.C., Duysens, L.N.M. (1985b) 'Singlet and triplet excited carotenoid and antenna bacteriochlorophyll of the photosynthetic purple bacterium *Rhodospirillum rubrum* as studied by picosecond absorbance difference spectroscopy'. *Biochim Biophys Acta* 810: 94-105

Nuijs, A.M., Vasmel, H., Joppe, H.L.P., Duysens, L.N.M. and Amesz, J. (1985c) 'Excited states and primary charge separation in the pigment system of the green photosynthetic bacterium *Prosthecochloris aestuarii* as studied by picosecond absorbance difference spectroscopy'. *Biochim Biophys Acta* 807: 24-34

Nuijs, A.M., Plijter, J.J., van Gorkom, H.J., Duysens, L.N.M. (1986a) 'Primary-charge separation and excitation of chlorophyll a in photosystem II particles from spinach as studied by picosecond absorbance-difference spectroscopy'. *Biochim Biophys Acta* 848: 167-175

Nuijs, A.M., Shuvalov, V.A., van Gorkom, H.J., Plijter, J.J. and Duysens, L.N.M. (1986b) 'Picosecond absorbance difference spectroscopy on the primary reactions and the antenna-excited states in Photosystem I particles'. *Biochim Biophys Acta* 850: 310-318

Nuijs, A.M., Vasmel, H., Duysens, L.N.M. and Amesz, J. (1986c) 'Antenna and reaction-center processes upon picosecond-flash excitation of membranes of the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*'. *Biochim Biophys Acta* 849: 316-324

Shuvalov, V.A. and Duysens, L.N.M. (1986) 'Primary electron transfer reactions in modified reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*'. *Proc Nat Acad Sci USA* 83: 1690-1694

Shuvalov, V.A., Amesz, J. and Duysens, L.N.M. (1986a) 'Picosecond spectroscopy of isolated membranes of the photosynthetic green sulfur bacterium *Prosthecochloris aestuarii* upon selective excitation of the primary electron donor'. *Biochim Biophys Acta* 851: 1-5

Shuvalov, V.A., Amesz, J. and Duysens, L.N.M. (1986b) 'Picosecond charge separation upon selective excitation of the primary electron donor in reaction centers of *Rhodopseudomonas viridis*'. *Biochim Biophys Acta* 851: 327-330

Shuvalov, V.A., Nuijs, A.M., van Gorkom, H.J., Plijter, J.J., Duysens, L.N.M. (1986c). 'Picosecond absorbance changes upon selective excitation of the primary electron donor P-700 in Photosystem I'. *Biochim Biophys Acta* 850: 319-323

Shuvalov, V.A., Vasmel, H., Amesz, J. and Duysens, L.N.M. (1986d) 'Picosecond spectroscopy of the charge separation in reaction centers of *Chloroflexus aurantiacus* with selective excitation of the primary electron donor'. *Biochim Biophys Acta* 851: 361-368

Van Bochove, A.C., Swarthoff, T., Kingma, H., Hof, R.M., van Grondelle, R., Duysens, L.N.M., Amesz, J. (1984) 'A study of the primary charge separation in green bacteria by means of flash spectroscopy'. *Biochim Biophys Acta* 764: 343-346

Vredenberg, W.J. and Duysens, L.N.M. (1963) 'Transfer of energy from bacteriochlorophyll to a reaction centre during bacterial photosynthesis'. *Nature* 197: 355-357

Wassink, E.C., Katz, E. and Dorrestein, R. (1942) 'On the photosynthesis and fluorescence of bacteriochlorophyll in Thiorhodaceae'. *Enzymologia* 10: 285-354