

- ⁵ S. Imre, A. Öztün u. N. Büyüktimkin, Veröffentlichung in Vorbereitung.
- ⁶ A. R. Burnett u. R. H. Thomson, *Phytochemistry* **7**, 1423 [1968].
- ⁷ S. Imre, R. Tulus u. I. Sengün, *Tetrahedron Letters* [London] **1971**, 4681.
- ⁸ T. Furuya u. H. Kojima, *Phytochemistry* **10**, 1607 [1971].
- ⁹ T. Furuya, H. Kojima u. T. Katsuta, *Phytochemistry* **11**, 1073 [[1972]].
- ¹⁰ A. G. Gonzales, R. Freire, J. Salazar u. E. Suarez, *An. Quim.* **68**, 53 [1972].

Der Verlauf der Lipochinon- und Pigmentsynthese bei einer experimentell induzierten Chloroplastendegeneration in grünen Keimlingen von *Hordeum vulgare* L.

Kinetic of Lipoquinone and Pigment Synthesis during an Experimentally Induced Chloroplast Degeneration in Green Seedlings of *Hordeum vulgare* L.

K. H. Grumbach und H. K. Lichtenthaler

Botanisches Institut, Universität Karlsruhe

(Z. Naturforsch. **28c**, 439–445 [1973]; eingegangen am 10. Mai 1973)

Chloroplast degeneration, prenyllipid synthesis

Within a dark period of 24 hours green *Hordeum* plants change their lipoquinone and carotenoid metabolism to that of etiolated plants. A longer darkness induces degeneration of chloroplasts with a concomitant destruction of pigments and lipoquinones which is similar to that of the natural chloroplast degeneration in leaves.

1. The chlorophyll and vitamin K₁ content is not augmented in the dark, but decreases. The concentration of the oxidized benzoquinones plastoquinone-9 and α -tocoquinone decreases rapidly whereas the level of plastoquinone-9 is augmented until 24 hours darkness. α -Tocopherol in turn is accumulated throughout the dark period.

2. Among the carotenoids β -carotene is considerably enriched only in the first 24 hours of the dark period. Xanthophylls are accumulated up to the 3 days. The successive increased appearance of single carotenoids during the dark period corresponds to their biogenetic sequence. During carotenoid breakdown (after the 3rd day) neoxanthin, as common oxidation product of all carotenoids appears as the main carotenoid component.

3. It is postulated that the accumulation of the reduced quinone forms (α -tocopherol, plastoquinone-9) in the dark, which has been shown here, also occurs in the dark phase during natural day-night growth of plants and thus gives rise to the continuous accumulation of α -tocopherol and plastoquinone-9 in chloroplasts, as described before ⁴.

Einleitung

Bringt man grüne, photosynthetisch aktive Pflanzen ins Dauerdunkel, so wird wegen fehlender Photosynthese die Stoffproduktion und damit die Entwicklung der Pflanze gestört. Da Licht über das Phytochromsystem auch die Photomorphogenese der Pflanze steuert ¹, reagiert die Pflanze unter Lichtausschluß mit speziellen formativen Veränderungen, die von im Dunkeln angezogenen Keimlingen als Erscheinungen des Etiolament gut bekannt sind. So findet man bei etiolierten Pflanzen allgemein eine Hemmung des Flächenwachstums der Blätter, während

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. K. Lichtenthaler, Botanisches Institut der Universität, II. Lehrstuhl, D-7500 Karlsruhe, Kaiserstr. 12.

das Streckungswachstum des Sprosses bzw. Hypokotyls (Dikotyledonen) oder das Längenwachstum des Primärblattes (Monokotyledonen) stark gefördert ist ². Licht stellt darüberhinaus den Stoffwechsel der Etioplasten von Dunkelkeimlingen in kurzer Zeit auf jenen des Chloroplasten um ³ und bewirkt unter anderem eine verstärkte Synthese von β -Carotin und Violaxanthin und bei den Lipochinonen eine erhöhte Bildung von Vitamin K₁ und Plastochinon-9.

Durch das Unterbinden der organischen Substratversorgung gehen die Pflanzen in ein Seneszenzstadium über, an das eine Degeneration der Blätter und Chloroplasten anschließt. Die Degeneration von Chloroplasten ist am Beispiel des herbstlichen Farbwechsels der Laubblätter gut untersucht ⁴. Die hier-



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.

bei auftretenden sukzessiven Änderungen im Lipochinon- und Pigmentstoffwechsel sind schwer zu fassen, da die Laubblätter zeitlich unterschiedlich degenerieren. Die in Gerstenkeimlingen durch Dauer- dunkel induzierte Degeneration betrifft hingegen das gesamte Blattmaterial.

In der vorliegenden Arbeit wird daher überprüft, 1. ob bei kurzzeitiger Dunkelheit die Syntheseleistungen der Chloroplasten bezüglich Carotinoide und Lipochinone jenen des Etiolament entsprechen, und 2. in welcher Reihenfolge die Synthese der einzelnen thylakoidären Prenyllipide bei anhaltender Dunkelheit eingestellt wird und ein Abbau erfolgt. Die Untersuchungen sollten auch zur Klärung der Frage beitragen, welche Veränderungen im Chloroplasten- stoffwechsel in der Dunkelphase bei natürlichem Licht-Dunkel-Wechsel auftreten.

Methodik

Alle Untersuchungen wurden an Keimlingen von *Hordeum vulgare* L. (Asse) durchgeführt. Die Anzucht erfolgte in einem Klimaraum bei einer Temperatur von 24 °C und einer relativen Luftfeuchtig-

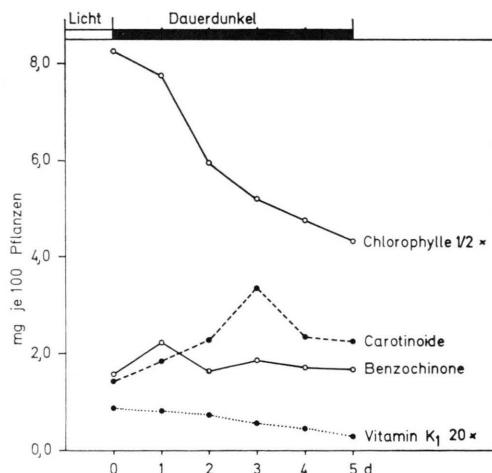


Abb. 1. Veränderungen im Pigment- und Lipochinonhaushalt 6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge.

Tab. I. Veränderung von Trockengewicht und Blattlänge und der Chlorophyll a/b-Verhältnisse von 6 Tage alten grünen *Hordeum*-Keimlingen bei kontinuierlicher Dunkelheit.

keit von 50%. Nach 6 Tagen Anzucht im Dauerlicht (1800 Lux, Osram-Fluora-Lampen 55 W) wurde die erste Analyse durchgeführt (Ausgangswert) und die Pflanzen anschließend ins Dauer dunkel gebracht. Da die hier untersuchten Prenyllipide quantitativ im Chloroplasten lokalisiert sind^{5,6}, wurden für die Analyse die Primärblätter (+ Koleoptile) direkt verwendet. Das Blattmaterial (je 200 Primärblätter/ Extrakt) wurde bei 5 °C in einem Aceton-Petrolbenzin-Gemisch mit dem Ultra-Turrax-Homogenisator zerkleinert und quantitativ extrahiert. Die Trennung der Chloroplastenpigmente und Plastidenchinone erfolgte dünnenschichtchromatographisch^{7,8}, die quantitative Bestimmung photometrisch nach bereits beschriebenen Methoden^{6,9}. Die Ergebnisse stellen Mittelwerte von mehreren Versuchsserien dar.

Ergebnisse

Bringt man grüne, 6 Tage alte Gerstenkeimlinge in Dauer dunkel, so zeigen die Pflanzen folgendes allgemeines Verhalten. Die Primärblätter werden mit zunehmender Dunkelheit immer länger (17 → 30 cm) (Tab. I), während bei den Kontrollpflanzen nach 5 Tagen eine Zunahme von höchstens 30% zu beobachten ist. Das Trockengewicht der Pflanzen stagniert im Dunkeln und sinkt schließlich ab (Tab. I), während es bei den Lichtkontrollen kontinuierlich ansteigt. Die Chlorophylle, deren Bildung lichtabhängig ist, werden im Dunkeln nicht mehr neu gebildet, sondern sukzessive abgebaut (Abb. 1). Während nach 12 Stdn. Dunkelheit noch keine signifikante Veränderung im Chlorophyll-Gehalt zu erkennen ist, beträgt der Chlorophyll-Abbau nach 24 Stdn. Dauer- dunkel bereits 10%. Nach 5 Tagen Dunkelheit sind etwa 44% des Chlorophylls abgebaut. Die Carotinoide werden hingegen in der Dunkelphase bis zum 3. Tag weiter synthetisiert und unterliegen erst danach einem Abbau. Wegen der anfänglichen starken Carotinoidsynthese im Dunkeln beträgt der Carotinoidgehalt nach 5 Tagen Dunkelheit das 1,7-fache des Ausgangswertes. Auch im Gesamtbenzochinongehalt ist bis 24 Stdn. Dunkelheit noch

	Licht	Dauer dunkel				
		+1 d	+2 d	+3 d	+4 d	+5 d
Trockengewicht [mg] (100 Pflanzen)	1,32	1,62	1,55	1,49	1,38	1,26
Länge der Primärblätter [cm]	17,0	20,0	23,3	25,0	27,2	30,0
Chlorophyll a/b	3,0	2,9	3,0	3,1	3,1	3,1

eine Zunahme zu erkennen. Danach werden auch die isoprenoiden Benzochinone abgebaut, allerdings mit geringerer Rate als die Chlorophylle. Das Naphthochinon Vitamin K₁, das im Gegensatz zu den plastidären Benzochinonen quantitativ in den Thylakoiden lokalisiert ist, wird im Dunkeln nicht mehr angereichert, sondern zeitlich parallel zum Chlorophyll abgebaut. Nach 5 Tagen beträgt der K₁-Gehalt nur noch 30% des Ausgangswertes. Die Ergebnisse zeigen somit, daß sich die verschiedenen isoprenoiden Lipidgruppen im Dauerdunkel unterschiedlich verhalten. Dies trifft auch für die Einzelkomponenten zu.

a. Chlorophylle

Chlorophyll a und b kommen in grünen Gerstenkeimlingen in einem Verhältnis von $3,0 \pm 0,1$ vor. Im Zuge der durch Dunkelheit induzierten Chloroplastendegeneration bleiben die ursprünglichen a/b-Werte erhalten. Dies zeigt, daß Chlorophyll a und b in gleichem Maße abgebaut werden. Dies steht im Gegensatz zu der Degeneration von Laubblättern, bei denen Chlorophyll a rascher als Chlorophyll b abgebaut wird und das a/b-Verhältnis in der Regel geringere Zahlenwerte annimmt⁴.

b. Carotinoide

Im Gegensatz zu den Chlorophyllen, deren Bildung an Licht gebunden ist, läuft die Carotinoidsynthese auch in etolierten Pflanzenkeimlingen ab⁹. Sie wird jedoch durch Licht wesentlich stimuliert, wie es auch beim Naphthochinon Vitamin K₁ und dem lipophilen Benzochinon Plastochinon-9 der Fall ist. Während im Etiolament die Xanthophylle mit Lutein als Hauptkomponente überwiegen, enthalten photosynthetisch aktive Chloroplasten einen hohen Anteil an β -Carotin.

Die Anreicherung von Carotinoiden in den Gerstenkeimlingen erfolgt im Dunkeln noch bis zum 3. Tag. Ein Blick auf die Einzelkomponenten zeigt, daß die β -Carotinsynthese nur bis zu einem Tag stark weiterläuft und der β -Carotingehalt danach bis zum 3. Tag nur geringfügig erhöht wird (Abb. 2). Mit der Drosselung der Erhöhung des β -Carotin gehalts erhöht sich die Konzentration an Xanthophylle in der Reihenfolge der Biogenese. Zunächst wird die Poolgröße von Zeaxanthin erhöht (2. Tag), die im Zuge der verstärkten Anreicherung von Violaxanthin (3. Tag), das aus Zeaxanthin hervorgeht, absinkt. Hierbei ist auch eine Erhöhung der Poolgröße von Antheraxanthin, das im Chloroplasten

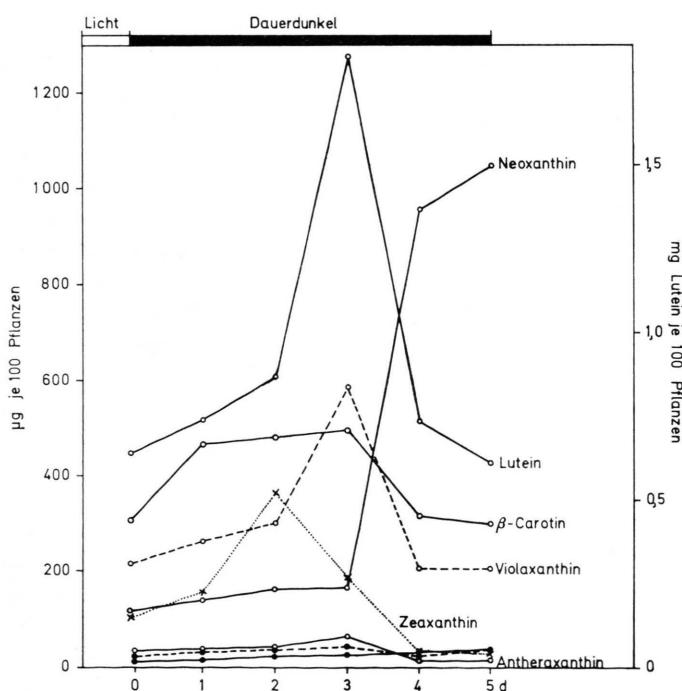


Abb. 2. Veränderungen im Carotinoidgehalt 6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge bei kontinuierlicher Dunkelanzucht. (●—● = Lutein-5,6-epoxid, ●—● = Neoxanthin A).

Tab. II. Veränderung der prozentualen Carotinoidzusammensetzung (Gewichts-%)
6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge bei kontinuierlicher Dunkelanzucht.

	Licht 6 d	+1 d	+2 d	Dauerdunkel +3 d	+4 d	+5 d
β -Carotin	21,0	25,2	21,0	14,6	13,6	13,2
Lutein	42,5	40,2	38,7	53,9	31,2	26,9
Violaxanthin	14,9	14,2	13,1	17,3	8,8	9,0
Luteinepoxid	0,5	0,7	0,9	0,7	1,1	1,4
Antheraxanthin	2,2	2,0	1,7	2,0	0,4	0,7
Neoxanthin A	1,4	1,7	1,6	1,2	0,9	1,3
Neoxanthin	7,7	7,5	6,9	4,8	42,7	46,2
Zeaxanthin	9,8	8,5	16,1	5,5	1,3	1,3
Carotinoide	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

allerdings nur in geringer Konzentration auftritt, zu beobachten. Auch die verstärkte Akkumulation von Lutein erfolgt erst dann, wenn die Bildung von β -Carotin stagniert. Entsprechend reichert sich das stark oxidierte Neoxanthin, das gemeinsame Abbauprodukt aller hier erwähnten Carotinoide, als Hauptcarotinoid an, wenn die Abbauvorgänge (nach dem 3. Tag) einsetzen.

Durch das Stagnieren der β -Carotinsynthese nach einem Tag Dunkelheit und die danach erfolgende enorme Anreicherung von Lutein und Violaxanthin verschiebt sich die prozentuale Zusammensetzung der Blattcarotinoide und zeigt am 3. Tag eine Zusammensetzung, wie sie ähnlich auch von etiolierten Gerstenkeimlingen bekannt ist. In beiden Fällen ist der Anteil von β -Carotin mit 14,6% (3 Tage Dunkelheit) und 5,9% (6 Tage Etiollement) sehr gering. Der Anteil von Lutein am Gesamtcarotinoidgehalt erhöht sich am 3. Tag entsprechend auf 53,9%. Der Anteil von Neoxanthin, der am 3. Tag nur 4,8% beträgt, steigt während der Abbauvorgänge am 4. und 5. Tag auf 42,7% bzw. 46,2% an. Diese Ergebnisse zeigen somit, daß der Carotinoidstoffwechsel der Chloroplasten bei Dauerdunkelheit wieder auf jenen der Etioplasten umgestellt wird. Diese Umstellung erfolgt allerdings erst nach 24 Std. Dunkelheit und hält bis zum 3. Tag an. Die danach auftretenden Veränderungen stellen Abbauvorgänge dar.

c. Plastidenchinone

Die Bildung der hier erfaßten Benzochinonderivate Plastochinon-9 (und Hydrochinon) und α -Tocopherol (+ α -Tocochinon) verläuft bei Dauerdunkelheit unterschiedlich. Der Gesamtplastochinongehalt erhöht sich noch bis zu 24 Std. Dauerdunkel, danach sinkt die Gesamtkonzentration ab (Abb. 3). Die Neusynthese von Plastochinon-9 bis zu einem Tag Dunkelheit betrifft allerdings nur das Plastohydro-

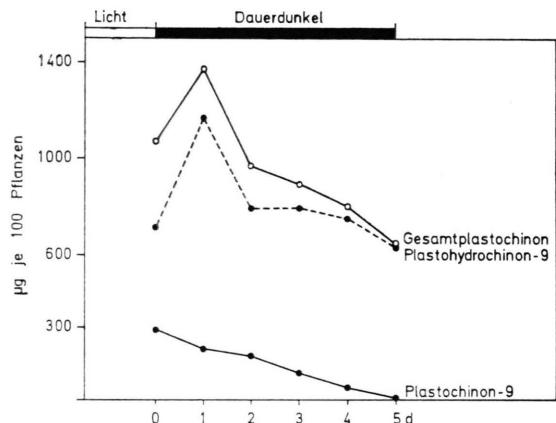


Abb. 3. Veränderungen im Plastochinongehalt 6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge bei kontinuierlicher Dunkelanzucht.

chinon-9, während die Konzentration an der oxidierten Form bereits abnimmt. Letzteres dürfte noch nicht auf Abbau, sondern auf eine Reduktion des Plastochinon-9 zum Hydrochinon zurückzuführen sein, wie sie auch bei anderen Pflanzen nach mehrstündiger Dunkelheit festzustellen ist. Bei dem danach einsetzenden Plastochinon-9-Abbau wird die oxidierte Form wesentlich rascher als das Hydrochinon abgebaut und ist nach 5 Tagen Dunkelheit kaum mehr nachzuweisen. — α -Tocochinon bildet zusammen mit seinem Chromanol α -Tocopherol, der zyklischen Form des reduzierten α -Tocochinons, ein weiteres lipophiles Redoxsystem der Chloroplasten. Die Konzentration von α -Tocochinon sinkt in der ersten Phase der Dunkelheit stark ab, wie das auch von anderen Pflanzen bekannt ist (Abb. 4, 1. Tag). Möglicherweise wird es in α -Tocopherol umgewandelt, dessen Konzentration bis zu 1 Tag Dunkelheit stark ansteigt. Danach nimmt die Konzentration an α -Tocochinon kontinuierlich ab, während seine reduzierte Form, das α -Tocopherol, noch bis zu 5 Tagen

Tab. III. Verschiebung der Lipochinonzusammensetzung (Gewichts-%) 6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge bei kontinuierlicher Dunkelanzucht.

	Licht 6 d	+1 d	+2 d	Dauerdunkel +3 d	+4 d	+5 d
Plastochinon-9	17,9	9,2	10,9	5,8	3,00	0,03
Plasto hydrochinon-9	44,0	51,3	47,7	41,2	43,33	37,40
α -Tocochinon	1,8	0,2	0,2	0,1	0,07	0,06
α -Tocopherol	33,6	37,5	39,0	51,4	52,50	61,70
Vitamin K ₁	2,7	1,8	2,2	1,5	1,30	0,81
Lipochinone	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. IV. Verlauf der Synthese von C₂₀-, C₄₀- und C₄₅-Prenylketten in 6 Tage alten grünen *Hordeum*-Keimlingen bei kontinuierlicher Dunkelheit (μ g pro 200 Pflanzen).

	Licht 6 d	+1 d	+2 d	Dauerdunkel +3 d	+4 d	+5 d
C ₂₀ -Ketten in Chlorophyllen	989,7	970,7	720,0	646,5	597,5	540,8
α -Tocopherol (+ Tocochinon)	745,4	1109,8	841,1	1274,6	1182,8	1364,2
Vitamin K ₁	55,1	50,6	45,9	35,2	27,3	17,4
Summe der C ₂₀ -Ketten	1790,2	2131,1	1607,0	1956,3	1807,6	1922,4
C ₄₀ -Ketten (Carotinoide)	2847	3691	4588	6776	4686	4543,0
C ₄₅ -Ketten Plastochinon-9 (+ Hydrochinon)	1654,1	2264,6	1596,4	1480,9	1320,8	1052,8
Summe der Prenylketten	6236,2	8036,1	7745,5	10178,0	7787,1	7500,8

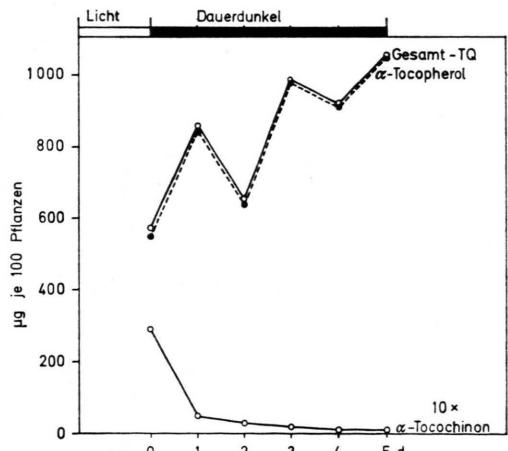


Abb. 4. Veränderungen im α -Tocochinongehalt 6 Tage alter grüner *Hordeum*-Keimlinge bei kontinuierlicher Dunkelanzucht.

Dunkelheit stark angereichert wird. Das kurzfristige Absinken des α -Tocopherolgehaltes am 2. Tag Dunkelheit liegt beachtlich außerhalb der Streubreite des Pflanzenmaterials und kann im Augenblick nicht erklärt werden. Entsprechende Verhältnisse treten auch bei etiolierten Pflanzen auf, bei denen ebenfalls mehr α -Tocopherol als Gesamt-Plastochinon-9 gebildet wird.

Entsprechend dem Abbau von Gesamtplastochinon-9, von α -Tocochinon und Vitamin K₁ sowie der Anreicherung von α -Tocopherol verändert sich der prozentuale Anteil der hier erfaßten Lipochinone am Gesamtchinongehalt der Chloroplasten. Bis zu einem Tag Dunkelheit steigt der Anteil von Plasto hydrochinon-9 und α -Tocopherol an. Danach sinkt der Anteil an Plasto hydrochinon-9 ständig ab, während der Anteil von α -Tocopherol kontinuierlich zunimmt und am 5. Tag 61,7% des Gesamtchinongehaltes beträgt.

Am 6. Tag beträgt der Anteil von Plastochinon-9 nur noch 0,03% und jener von α -Tocochinon nur 0,06%. Der Gehalt an Vitamin K₁ ist hingegen nur auf $\frac{1}{3}$ des Ausgangswertes abgesunken. Die prozentuale Zusammensetzung der Lipochinone weist nach 1 – 2 Tagen Dunkelheit Ähnlichkeiten mit jener etiolierter Pflanzen auf.

d. Prenylsynthese

Lipochinone und Chlorophylle mit ihren isoprenoiden Seitenketten gehören zusammen mit den Carotinoiden zur Gruppe isoprenoïder Plastidenlipide. Zu diesen Prenyllipiden zählen zwar ebenfalls die Phytosterine, diese kommen aber in Chloro-

plasten nur in Spuren vor¹⁰. Durch Bildung der Summe aus Carotinoiden und Prenylseitenketten erhält man daher annähernden Aufschluß über die Gesamtprenylsynthese in Chloroplasten. Allerdings ist hierbei zu beachten, daß nur die an Prenyllipide gebundenen Ketten erfaßt werden, nicht jedoch die freien Seitenketten, wie sie z. B. beim Chlorophyllabbau entstehen.

Der Gesamtprenylgehalt der Chloroplasten nimmt im Dunkeln bis zum 1. Tag noch parallel zur Bildung von Plasto-*hydrochinon-9* und α -Tocopherol zu (Tab. IV). Am 2. Tag ist der Prenylgehalt leicht abgesunken, die Prenylsynthese läuft jedoch weiter, wie der hohe Prenylgehalt am 3. Tag zeigt. Danach erfolgt ein Abbau, der alle Prenylketten betrifft. Der Gehalt an C_{20} -Ketten nimmt noch bis zu einem Tag Dunkelheit stark zu und am 2. Tag, bedingt durch den Chlorophyllabbau und die niedrige Konzentration an α -Tocopherol, jedoch ab. Zum 3. Tag hin erfolgt offensichtlich eine gewisse Neubildung im Zuge der verstärkten Bildung von α -Tocopherol. Diese Konzentration an C_{20} -Prenylketten bleibt bis zum 5. Tag in etwa erhalten, obwohl die Chlorophylle und Vitamin K_1 weiter abgebaut werden. Die Gesamtkonzentration an Prenylketten wird jedoch nicht höher als die ursprüngliche Konzentration nach einem Tag Dunkelheit, bevor der starke Abbau der Chlorophylle einsetzt. Hier ist denkbar, daß der beim Abbau der Chlorophylle anfallende Phytolrest direkt zur Biosynthese von α -Tocopherol benutzt wird. Daß darüber hinaus die Prenylsynthese, zumindest die Bildung von C_{20} -Körpern in der Dunkelheit, zunächst weiterläuft, ist an dem Anstieg des Gehaltes an Carotinoiden bis zum 3. Tag zu erkennen. Letztere entstehen durch Dimerisierung aus Geranyl-geranyl-pyrophosphat¹¹. Die Konzentration von C_{45} -Ketten sinkt entsprechend dem Gesamtplasto-*chinon*-gehalt in der Dunkelphase ständig ab.

Diskussion

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, daß die Bildung der verschiedenen plastidären Prenyllipide bei Dauer-*dunkelheit* zu ganz unterschiedlichen Zeitpunkten eingestellt wird. Daß eine Akkumulation von Chlorophyll im Dunkeln nicht mehr erfolgt, ist verständlich, da für die photochemische Bildung von Chlorophyll a aus dem Protochlorophyllid bzw. Protochlorophyll Licht benötigt wird. In der Dunkelphase konnten wir auch keine stärkere

Anreicherung von Protochlorophyllid und Protochlorophyll feststellen. Dies zeigt, daß die Synthese von Chlorophyll und auch die seiner Vorstufen unter Lichtausschluß sofort blockiert wird. Auf Grund von ^{14}C -Markierungsversuchen bei verschiedenen Pflanzen kommt Shlyk zu der Feststellung, daß in der Regel 5 bis maximal 10% des Blattchlorophylls pro Tag abgebaut bzw. neu gebildet werden¹². Aus der von uns bei *Hordeum* gefundenen Abnahme des Chlorophyllgehaltes von 10% nach 24 Std. bzw. 44% nach 5 Tagen ergibt sich ein durchschnittlicher täglicher Chlorophyll-Abbau in derselben Größenordnung. Aus dem geringen, aber rasch einsetzenden Abbau von Chlorophyllen ist zu schließen, daß die für den Abbau von Chlorophyllen notwendigen Enzyme auch bei *Hordeum* immer vorhanden sind. In der normalen Dunkelphase bei Anzucht im Licht-Dunkel-Wechsel ist ein Chlorophyllabbau von weniger als 5% jedoch schlecht zu fassen, einerseits wegen der Streuungsbreite des Analysenmaterials. Andererseits wird ein Abbau von Chlorophyll in der Nacht durch Neusynthese im Licht ausgeglichen. Ähnlich sind auch die Daten von Ziegler und Egle über kurzfristige Schwankungen im Chlorophyllgehalt im Verlauf eines Tages zu deuten¹³.

Die Veränderungen im Stoffwechsel der hier erfaßten Prenyllipide, die mit Ausnahme der lipophilen Benzochinone quantitativ in den Thylakoiden lokalisiert sind, zeigen, daß der Stoffwechsel der Lipochinone und Carotinoide schon nach 24 Std. Dunkelheit auf jenen der Etioplasten umgestellt wird. Dies zeigt, daß eine Bildung von Thylakoiden, wie auch jene von Chlorophyllen und Vitamin K_1 im Dunkeln, nicht mehr stattfindet. Dafür spricht auch der rasch einsetzende Abbau von Chlorophyllen und Vitamin K_1 . Wenn Thylakoide nicht mehr neu gebildet, sondern abgebaut werden, ist die Frage zu stellen, wo die im Dunkeln synthetisierten Lipide abgelagert werden. Hier bieten sich die Plastoglobuli des Plastidenstromas an, deren Anzahl und Größe sich bei den Abbauvorgängen der natürlichen Chloroplastendegeneration erhöhen¹⁵. Dies muß auch für die hier experimentell induzierte Chloroplastendegeneration angenommen werden.

Die Umstellung des Lipochinonstoffwechsels der Chloroplasten auf jenen der Etioplasten erfolgt bei Dunkelheit sehr rasch. Der Anteil der oxidierten Plastidenchinone (Plasto-*chinon-9* und α -Tocochinon) sinkt rapide ab, während die reduzierten Formen (Plasto-*hydrochinon* und α -Tocopherol) in starkem

Maße angereichert werden. Nach 24 Std. Dunkelheit ist die Plastochinon-9-Synthese blockiert, während jene von α -Tocopherol, wie bei der natürlichen Chloroplastendegeneration^{4,14,15}, während des Chlorophyll- und Thylakoidabbaus noch weiter läuft. Dadurch erhöht sich der Anteil an reduzierten Benzoquinonen am Gesamtlipochinongehalt, insbesondere jener von α -Tocopherol, sehr stark, wie dies von etiolierten Pflanzengeweben bekannt ist¹⁶.

Die starke Neubildung der reduzierten Lipochinone Plastohydrochinon-9 und α -Tocopherol, die vorwiegend in den osmophilen Plastoglobuli des Plastidenstromas abgelagert werden, gibt einen Hinweis auf die bisher nicht geklärte Frage, weshalb in grünen Pflanzengeweben mit zunehmendem Alter Plastohydrochinon-9 und α -Tocopherol kontinuierlich angereichert und in den Plastoglobuli deponiert werden⁴. So darf man annehmen, daß auch bei Anzucht der Pflanzen im natürlichen Licht-Dunkel-Wechsel in der Dunkelphase die Synthese von Plastohydrochinon-9 und α -Tocopherol in Chloroplasten weiterläuft und daher zu einer kontinuierlichen Erhöhung des Gehaltes an reduzierten Lipochinonen führt.

Die bis zum 3. Tag Dunkelheit beobachtete Carotinoidsynthese steht im Gegensatz zur natürlichen Chloroplastendegeneration, bei der β -Carotin und die einzelnen Xanthophylle gleichmäßig abgebaut werden. Dies läßt sich darauf zurückführen, daß grüne Gerstenkeimlinge, die in Dauer dunkelheit gesetzt werden, über das Endosperm zunächst noch organisches Material besitzen, so daß anfänglich noch Carotinoide gebildet werden können. Es fällt auf, daß β -Carotin, die biogenetische Vorstufe der Xanthophylle, nur bis zu 24 Std. Dunkelheit ange-

reichert wird, während sich die Gehalte an Xanthophylle erst danach stark erhöhen. Hierbei zeigt sich eine gewisse Sukzession in der Bildung von Einzelkomponenten in der Reihenfolge ihrer Biogenese. Die Untersuchungen zeigen, daß Licht einen ganz wesentlichen Einfluß auf die Bildung und Verwendung von β -Carotin besitzt. Im Licht bleibt die biogenetische Vorstufe aller Carotinoide in stärkerem Maße erhalten und wird in die Thylakoid eingebaut, im Dunkeln hingegen wird es stärker zur Bildung der O_2 -haltigen Xanthophylle benutzt. Licht bewirkt diese Umstellung des Carotinoidstoffwechsels über das Phytochromsystem¹⁶.

Die Anreicherung von Carotinoiden im kontinuierlichen Dauer dunkel zeigt, daß die Bildung von Geranyl-geranyl-pyrophosphat im Dauer dunkel noch mit Sicherheit erfolgt. Die Prenylsynthese liefert jedoch nur noch bis zu 24 Std. den Solanesylrest (C_{45}) für das Plastochinon-9, danach wird offensichtlich die Bildung der C_{45} -Kette eingestellt. Nicht zu entscheiden ist, ob der Phytylrest, der durch Reduktion von drei Doppelbindungen Geranyl-geranyl-pyrophosphat hervorgeht, nach 24 Std. Dunkelheit noch gebildet werden kann. Zwar reichert sich bis zum 5. Tag Dunkelheit α -Tocopherol, das ebenfalls den Phytylrest enthält, kontinuierlich an, jedoch werden in das α -Tocopherol etwas weniger Phytylreste eingebaut, als beim Abbau der Chlorophylle anfallen. Es wäre daher denkbar, daß zur Bildung von α -Tocopherol nur der aus dem Chlorophyllabbau stammende Phytylrest benutzt wird.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Untersuchungen und Frau U. Bol für technische Mitarbeit.

- ¹ H. Mohr, Z. Pflanzenphysiol. **54**, 63 [1966].
- ² K. Becker, Dissertation, Münster 1971.
- ³ H. K. Lichtenthaler, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **184**, 164 [1969].
- ⁴ H. K. Lichtenthaler, Z. Naturforsch. **26b**, 832 [1971].
- ⁵ H. K. Lichtenthaler, Ber. dtsch. bot. Ges. **79**, 111 [1966].
- ⁶ H. K. Lichtenthaler, Planta **81**, 140 [1968].
- ⁷ H. K. Lichtenthaler, Z. Pflanzenphysiol. **59**, 195 [1968].
- ⁸ A. Hager u. Th. Bertenrath, Planta **69**, 564 [1962].
- ⁹ H. K. Lichtenthaler, Z. Pflanzenphysiol. **56**, 273 [1967].
- ¹⁰ W. Eichenberger u. W. Menke, Z. Naturforsch. **21b**, 859 [1966].

- ¹¹ T. W. Goodwin, Proceedings of the IIInd International Congress on Photosynthesis Research, p. 2437, D. W. Junk, N. V. Publishers, Den Haag 1972.
- ¹² A. A. Shlyk, Chlorophyll metabolism in green plants, ed. T. N. Gednev, Jerusalem 1970.
- ¹³ R. Ziegler u. K. Egle, Beitr. Biol. Pflanzen **41**, 39 [1965].
- ¹⁴ H. K. Lichtenthaler, Z. Naturforsch. **24b**, 1461 [1969].
- ¹⁵ H. K. Lichtenthaler, Protoplasma **68**, 315 [1969].
- ¹⁶ H. K. Lichtenthaler and K. Becker, Proceedings of the IIInd International Congress on Photosynthesis Research, p. 2451, D. W. Junk, N. V. Publishers, Den Haag 1972.