

Phytochromsystem und Lipochinonsynthese in den Plastiden etioliierter *Hordeum*-Keimlinge

Phytochrome System and Synthesis of Lipoquinones in the Plastids
of Etiolated *Hordeum* Seedlings

Hartmut K. Lichtenthaler und Hans K. Kleudgen

Botanisches Institut der Universität Karlsruhe

(Z. Naturforsch. **30 c**, 64–66 [1975]; eingegangen am 31. Oktober 1974)

Phytochrome, Plastoquinone-9, Lipoquinone Synthesis, Etioplast Metabolism

Short pulses of red light induce in etiolated barley seedlings an enhanced synthesis of plastidic benzoquinones and vitamin K_1 , which can be reverted by subsequent irradiation with short pulses of far-red. As compared to the dark there is more formation of plastoquinone-9 than α -tocopherol. The enhanced formation of vitamin K_1 is coupled with a concomitant decrease in the level of the second naphthoquinone vitamin "K". The data show that active phytochrome P_{fr} , also in its ground state, induces the light triggered lipoquinone synthesis which is connected to thylakoid formation. The red light induction of enhanced plastoquinone-9 synthesis cannot be fully reverted by subsequent far-red and seems to be a very fast phytochrome response.

Einleitung

Das Vorhandensein einer Phytochromwirkung auf die Synthese lipophiler Bestandteile der Plastiden wurde bisher bei den Chlorophyllen^{1,2}, Carotinoiden³ und Galactolipiden⁴ festgestellt. Als Kriterium wird dabei allgemein ein durch kurzzeitiges Hellrot-Licht induzierter Effekt angenommen, den unmittelbar folgendes kurzzeitiges Dunkelrot annulliert. Eine Phytochromwirksamkeit auf die Synthese der plastidären Lipochinone wird aus Untersuchungen im Dauerdunkelrot abgeleitet⁵. Man darf daraus entnehmen, daß aktives Phytochrom zumindest in einem angeregten Zustand (High Irradiance Response, HIR)⁶ die Biosynthese der isoprenoiden Plastidenchinone reguliert. In der vorliegenden Untersuchung soll geprüft werden, ob auch durch kurze Hellrotstöße eine verstärkte Synthese von Lipochinonen induziert werden kann bzw. ob diese durch Dunkelrotstöße wieder revertiert wird.

Methodik

Als Untersuchungsobjekte dienten Keimlinge von *Hordeum vulgare* L. Nach 7 Tagen Anzucht im Etiolement (22 °C, 80% r.F.) wurden diese, entsprechend Tab. I, 6-mal 5 min mit Hellrot (HR) bzw.

Tab. I. Bestrahlungsprogramm von 7 Tage alten etiolierten *Hordeum*-Keimlingen.

7 d Dunkel	Ausgangswert
7 d Dunkel + 36 h Dunkel (Dunkel-Kontrolle)	Dunkel-Kontrolle
7 d Dunkel + 6 x (5 min HR + 355 min Dunkel)	HR-Serie
7 d Dunkel + 6 x (5 min HR + 5 min DR + 350 min Dunkel)	HR/DR-Serie
7 d Dunkel + 6 x (5 min DR + 355 min Dunkel)	DR-Kontrolle

Dunkelrot (DR) in jeweils 6-stündigem Abstand bestrahlt. Die Ernte erfolgte 8½ Tage nach Aussaat. Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus vier Bestimmungen mit maximalen Abweichungen von $\pm 5\%$.

Der Aufbau der Hellrot-Anlage (λ_{\max} 660 nm) ist in einer vorangegangenen Arbeit beschrieben⁷. Die Dunkelrot-Anlage (λ_{\max} 730–740 nm) besteht aus Osram-Linestra-Röhren (120 W), gefiltert durch zwei Blaufilter (Plexiglas 627) und einem Rotfilter (Plexiglas 501) der Fa. Röhm, Darmstadt und einem Infrarotfilter KG 1 der Fa. Schott, Mainz. Die Lichtintensitäten betragen 1600 erg/cm²·sec im Hellrotfeld und 1000 erg/cm²·sec im Dunkelrotfeld. Die quantitative Bestimmung der Lipochinone erfolgte nach Lichtenthaler⁸.

Ergebnisse und Diskussion

Die Etioplasten von 7 d alten Gerstenkeimlingen enthalten alle lipophilen Plastidenchinone, die auch von Chloroplasten bekannt sind. Dies sind bei den Benzochinonen das Plastochinon-9 (+ Hydrochi-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. K. Lichtenthaler, Botanisches Institut der Universität, D-7500 Karlsruhe 1, Kaiserstr. 12, F.R.G.



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.

non), das α -Tocopherol und seine oxidierte Form, das α -Tocochinon. Als Naphthochinonderivat kommt Vitamin K₁ (2-Methyl-, 3-Phytyl-, 1,4-Naphthochinon) vor. Daneben tritt in Etioplasten noch ein zweites lipophiles Naphthochinon auf, das sich chromatographisch wie Desmethylvitamin K₁ verhält und hier als Vitamin „K“ bezeichnet wird. In früheren Arbeiten war gezeigt worden, daß Weißlicht im Zusammenhang mit dem Aufbau funktionsfähiger Thylakoide die Lipochinonsynthese in Plastiden fördert⁸, wobei auch Dauerdunkelrot wirksam ist⁵. Dies betrifft alle Lipochinone mit Ausnahme von Vitamin „K“, dessen Konzentration bei Belichtung kontinuierlich absinkt. Dieses zweite lipophile Naphthochinon wird offenbar im Licht in Vitamin K₁ überführt und ist in Chloroplasten nicht mehr nachzuweisen.

Kurze Hellrot-Stöße (6-mal 5 min im Zeitraum von 36 h) bewirken, ähnlich wie Weißlicht oder Dauerdunkelrot, gegenüber der Dunkelkontrolle eine verstärkte Synthese von Plastochinon-9, α -Tocopherol, α -Tocochinon und Vitamin K₁. Die Konzentration von Vitamin „K“ nimmt erwartungsgemäß ab und liegt nach 6 Hellrot-Stößen unterhalb jener des Ausgangswertes (Tab. II). Diese Hellrot-Effekte

Tab. II. Lipochinongehalte ($\mu\text{g}/100$ Pflanzen) in 7 d alten etiolierten *Hordeum*-Keimlingen im Dauerdunkel und nach Hell- und Dunkelrot-Bestrahlung.

	Ausgangs- wert	Dunkel- Kon- trolle	6 x HR	6 x HR/ DR	6 x DR
Gesamt-Plasto- chinon-9	129	140	248	223	203
α -Tocopherol	130	146	173	154	150
α -Tocochinon	5,4	6,5	12,2	6,2	6,0
Summe der Benzochinone	264,4	292,5	433,2	383,2	359,0
Vitamin K ₁	12	15,2	19,5	16,9	17,2
Vitamin „K“	7	7,8	6,1	7,2	6,7
Chlorophyll	—	—	95	76	7

werden durch unmittelbar nach Hellrot gegebenes Dunkelrot stark reduziert. So entspricht die Syntheserate von α -Tocopherol, α -Tocochinon und Vitamin K₁ + „K“ im Induktions-Reversions-Experiment (6 x HR/DR) etwa jener der Dunkelrotkontrolle (6 x DR). Da Dunkelrot ebenfalls eine geringe Menge an aktivem Phytochrom (P_{fr}) induzieren kann^{9,10}, ist die Revertierung eines durch Hellrot ausgelösten Effektes durch anschließendes Dun-

kelrot auf den Wert der DR-Kontrolle zu erwarten. Jedenfalls können die Werte der Dunkelkontrolle im Dunkelrot nicht erreicht werden. Die angeführten Daten zeigen, daß für die untersuchten Lipochinone die Kriterien der Phytochromwirkung (Induktion und Reversion) erfüllt sind. Somit ist nachgewiesen, daß aktives Phytochrom (im Grundzustand)⁶ die lichtinduzierte Lipochinonsynthese während der Thylakoidsynthesephase steuert, worauf bereits aus Versuchen im kontinuierlichen Dunkelrot geschlossen wurde⁵.

Es fällt auf, daß die Synthese von Plastochinon-9 durch P_{fr} in wesentlich stärkerem Maße gefördert wird als jene der übrigen Lipochinone. Gleichzeitig ist zu erkennen, daß die durch Hellrot-Stöße ausgelöste Bildung von Plastochinon-9 durch Dunkelrot nicht voll auf den Wert der Dunkelrotkontrolle reduziert werden kann. Auch bei höherer DR-Dosis ist keine vollständige Revertierung zu erreichen. Diese Beobachtung legt den Schluß nahe, daß die durch P_{fr} ausgelöste Förderung der Plastochinon-9-Bildung sehr rasch ausgelöst wird und daher nach 5 min Hellroteinwirkung durch anschließendes Dunkelrot nicht mehr voll revertierbar ist. Auch in einigen anderen Fällen ist eine sehr schnelle Induktion des Phytochromeffektes beobachtet worden¹¹.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß unter Phytochromeinwirkung nicht nur verstärkt Lipochinone gebildet werden, sondern daß auch im Gegensatz zum Dunkeln vermehrt Plastochinon-9 und weniger α -Tocopherol angereichert wird. Dies wie auch die Entleerung des Vitamin „K“ pools zeigt, daß Phytochrom den Lipochinonstoffwechsel der Etioplasten auf jenen der Chloroplasten umstellt.

Im Zusammenhang mit der Wirkung von Hellrot und Dunkelrot auf die Lipochinonsynthese wurde auch das gebildete Chlorophyll mit erfaßt. Die durch Hellrot-Stöße ausgelöste Photokonversion von Protochlorophyllid in Chlorophyllid a, das dann mit Phytol verestert wird, kann durch anschließendes Dunkelrot nicht revertiert werden. Daß der gefundene Chlorophyllgehalt nach 6 x HR dennoch höher ist als nach 6 x HR/DR (Tab. II), hängt mit der von vielen Autoren beschriebenen Förderung der Protochlorophyllid-Anreicherung durch P_{fr} zusammen¹². Dadurch steht bei der HR-Serie schließlich ein größerer Pool an Protochlorophyllid für die Photokonversion zur Verfügung als in der HR/DR-Serie. Die geringen Mengen an Chlorophyll in der DR-Kontrolle zeigen, daß in dem von uns benutz-

ten DR-Feld nur eine minimale Photoumwandlung von Photochlorophyllid möglich ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die gewährte Unterstützung.

- ¹ L. Price u. W. H. Klein, *Plant Physiol.* **36**, 733 [1961].
- ² H. Kasemir, U. Oberdorfer u. H. Mohr, *Photochem. Photobiol.* **18**, 481 [1973].
- ³ C. Schnarrenberger u. H. Mohr, *Planta* **94**, 296 [1970].
- ⁴ C. Unser u. H. Mohr, *Planta* **94**, 296 [1970].
- ⁵ H. K. Lichtenthaler u. K. Becker, *Proceedings of the IInd International Congress on Photosynthesis Research*, p. 2451, D. W. Junk N. V. Publishers, Den Haag 1972.
- ⁶ H. Mohr, *Lectures on Photomorphogenesis*, p. 37, Springer-Verlag, Berlin 1972.
- ⁷ H. K. Kleudgen u. H. K. Lichtenthaler, *Z. Naturforsch.* **29 c**, 142 [1974].
- ⁸ H. K. Lichtenthaler, *Biochim. Biophys. Acta* **184**, 164 [1969].
- ⁹ W. L. Butler, H. C. Lane u. H. W. Siegelman, *Plant Physiol.* **38**, 514 [1963].
- ¹⁰ H. Mohr, *Z. Pflanzenphysiol.* **54**, 63 [1966].
- ¹¹ H. Fredericq, *Plant Physiol.* **39**, 812 [1964].
- ¹² H. I. Virgin, *Phytochrome* (K. Mitrakos and W. Shropshire, ed.), p. 371, Academic Press, London 1972.