Die unterschiedliche Synthese der lipophilen Plastidenchinone in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica* L.

The Unequal Synthesis of the Lipophilic Plastidquinones in Sun- and Shade Leaves
of *Fagus silvatica* L.

H. K. LICHTENTHALER

Botanisches Institut, II. Lehrstuhl (Pflanzenphysiologie), D-7500 Karlsruhe, Kaiserstraße 12

(Z. Naturforsch. 26 b, 832—842 [1971]; eingegangen am 19. Mai 1971)

The synthesis of plastidquinones was studied from leaf development until autumnal leaf degeneration in sun and shade leaves of *Fagus silvatica* and compared with chlorophyll and carotinoid synthesis.

1. The lipoquinone content of *Fagus* chloroplasts increases steadily with increasing age of leaf tissue. This lipoquinone accumulation takes place in sun and shade leaves, it is however much more expressed in sun leaves. On a chlorophyll or a leaf square (100 cm²) basis the latter possess a several times (3 to 9 x) higher lipoquinone content than shade leaves.

2. The augmentation of the plastidquinone level in both leaf types is mainly due to the synthesis of the reduced benzoquinone forms, plastoquinone 45 and the chromanol α -tocopherol. The larger part of the reduced lipoquinones represent excess amounts which are deposited extra-thylakoidal in the osmophilic plastoglobuli of the plastid stroma.

3. The oxidized benzoquinones, plastoquinone 45 and α -tocoquinone, as well as the naphthoquinone vitamin K₁ (phyloquinone) are present in much lower concentration. Their synthesis parallels that of chlorophylls and carotinoids. They are formed either not in excess (vitamin K₁) or in very low excess amounts (α -tocoquinone, plastoquinone). These oxidized quinone forms are in turn preferably located together with chlorophylls and carotinoids in the photochemically active thylakoids.

4. The production of excess plastidquinones (mainly reduced benzoquinones) starts very early during leaf development. The main synthesis phase begins after the end of chlorophyll and thylakoid synthesis and continues in senescent *Fagus* leaves during the breakdown of chlorophyll and thylakoids until the early yellow stage of sun and shade leaves. In senescent leaves the level of the oxidized benzoquinones, plastoquinone and α -tocoquinone, increases slowly by oxidation of plastoquinone and α -tocopherol, respectively.

5. The differences between sun and shade leaves in the total and relative amounts of the various lipid classes such as chlorophylls, carotinoids, benzoquinones and the naphthoquinone K₁ (100 cm² leaf square, dry weight or chlorophyll a as reference system) are not yet significant in May, several days after leaf unfolding, but get established thereafter.

6. By August the benzoquinone content of sun leaves reaches even that of chlorophyll a, whereas in shade leaves the lipophilic benzoquinones make up only 20 to 30% of the chlorophyll a content. Shade leaves exhibit a benzoquinone level which is little lower than that of carotinoids. Sun leaves, in contrast, contain a benzoquinone content which is by ca. 4 times higher than the carotinoid content. The ratio benzoquinones to vitamin K₁ amounts 60—70 in shade leaves and 100—120 in sun leaves. In addition the two lipophilic redox systems plastoquinone/plastoquinone 45 and α -tocoquinone/ α -tocopherol are present in sun leaves to a higher extent in the reduced state (84% and 96%) than in shade leaves (60% and 90% respectively).

7. From the results it is assumed, that the steady increase of the benzoquinone level with increasing age of plant tissue may be correlated with thylakoid turn-over. The possibility, that the enormous benzoquinone accumulation in sun leaves is mainly caused by higher light intensities in connection with a reduced protein synthesis is discussed.

Bei den einjährigen Blättern der einheimischen Laubbäume kann man zwei morphogenetisch voneinander verschiedene Blatttypen unterscheiden. Die äußeren sonnenexponierten Blätter (= Sonnenblätter) besitzen eine kleinere Spreite, stärkere Cuticula und größere Dicke (meist mehrschichtiges Pali-

sadenparenchym) als die im Innern der Laubhülle vorhandenen Schattenblätter, die nur Streulicht jedoch kein direktes Sonnenlicht erhalten. Zwischen beiden Blatttypen bestehen nicht nur morphologisch-anatomische Unterschiede¹, sondern auch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung. So ent-

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. K. LICHTENTHALER, Botan. Institut, II. Lehrstuhl, Pflanzenphysiologie, D-7500 Karlsruhe, Kaiserstraße 12.

¹ M. NORDHAUSEN, Ber. dtsch. bot. Ges. 21, 30 [1903]; 30, 483 [1912].

halten Sonnenblätter bezogen auf die Trockensubstanz einen höheren Anteil an Lipiden, Kutin, Stärke und Calcium, hingegen einen geringeren Gehalt an Kalium, Stickstoff und Rohprotein als Schattenblätter^{2, 3}.

SEYBOLD und Mitarb. haben die Beziehungen zwischen dem quantitativ und qualitativ verschiedenen Lichtgenuß beider Blattparten und dem unterschiedlichen Gehalt an plasmochromen Photosynthesepigmenten näher untersucht^{4, 5}. Die unterschiedliche Ausstattung des Photosyntheseapparates äußert sich z.B. in den höheren Chlorophyll *a/b*-Werten der Sonnenblätter und in der Feststellung, daß Schattenblätter bei Bezugnahme auf Chlorophyll *a* mehr Carotinoide enthalten als Sonnenblätter. Erste Analysen⁶⁻⁸ ergaben, daß auch hinsichtlich der Synthese der lipophilen Plastidenchinone wie Plastochinon 45, Plastohydrochinon 45, α -Tocochinon, α -Tocopherol und dem Naphthochinon Vitamin K₁ beachtliche Unterschiede zwischen beiden Blattparten vorliegen. So besitzen Sonnenblätter in der Regel einen mehrfach höheren Lipochinongehalt als Schattenblätter⁷. Hierbei handelt es sich ausschließlich um überschüssige Plastidenchinone, die extrathylakoidal in den osmiophilen Plastoglobuli abgelagert werden^{9, 10}.

Eine vergleichende Analyse über Beginn, zeitlichen Ablauf und Ausmaß der Synthese überschüssiger Lipochinone in Sonnen- und Schattenblättern lag bislang nicht vor. In der hier beschriebenen Arbeit wird daher die Plastidenchinonsynthese bei Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica* von der Blattentfaltung bis zum herbstlichen Farbwechsel der Blätter untersucht und mit der Bildung der Chlorophylle und Carotinoide verglichen. Es wird gezeigt, daß auch in Schattenblättern überschüssige Plastidenchinone gebildet werden und daß sich oxidierte und reduzierte Chinonformen sowie Benzochinon- und Naphthochinon-Derivate, in beiden Blattparten unterschiedlich anreichern.

Material und Methoden

Das untersuchte Blattmaterial stammt von älteren freistehenden Buchen (*Fagus silvatica* L.) aus dem Schloßgarten in Münster. Die Untersuchungen wurden vergleichend an 2 verschiedenen Bäumen über die Vegetationsperiode verfolgt. Die kleineren, ledrigen Sonnenblätter wurden auf der äußeren Südseite der Baumkrone (volles Sonnenlicht) entnommen und die großflächigeren, zarten Schattenblätter im Innern der Krone (kein direktes Sonnenlicht) jeweils etwa 1–2 m über dem Boden.

In früheren Untersuchungen wurde gezeigt, daß die im Rahmen dieser Untersuchungen erfaßten Lipochinone zusammen mit den Carotinoiden und Chlorophyllen quantitativ in den Chloroplasten lokalisiert sind^{6, 7}. Zur Bestimmung der unterschiedlich verlaufenden Synthese der Plastidenchinone in Sonnen- und Schattenblättern konnte daher auf eine Isolierung der Chloroplasten verzichtet werden.

Die Blätter wurden bei 0 °C mit Aceton in einem Waring Blendor zerkleinert und mit Aceton-Petrolbenzin vollständig extrahiert. Nach Übertreiben in Petroläther wurden die Plastidenchinone¹¹ und Pigmente¹² dünnstichtchromatographisch aufgetrennt. Die quantitative Bestimmung der eluierten Lipide erfolgte photometrisch nach bereits beschriebenen Methoden^{7, 13}. Um die Streuung innerhalb der einzelnen Blattparten auszugleichen, wurden die Extrakte aus jeweils 25–30 Sonnen- bzw. Schattenblättern hergestellt.

Ergebnisse

Die Sonnenblätter von *Fagus silvatica* besitzen ein höheres Trockengewicht als Schattenblätter (Tab. 1), jedoch eine geringere Fläche (Tab. 1) und einen geringeren Wassergehalt (Tab. 2). Die vorgenannten Unterschiede zwischen beiden Blattparten sind wenige Tage nach der Blattentfaltung noch gering, nach einigen Wochen allerdings stark ausgeprägt. Dies trifft auch für die Pigment- und Lipochinongehalte zu. Das Ausmaß der hierbei später auftretenden Unterschiede hängt allerdings von der Wahl des Bezugssystems ab.

Nimmt man je ein Sonnen- und Schattenblatt als Bezugseinheit, so zeigen sich 3 Tage nach der Blatt-

² W. KAUSCH u. W. HAAS, Naturwissenschaften **52**, 214 [1912].

³ W. HAAS, K. BARTH u. W. KAUSCH, Z. Pflanzenphysiol. **58**, 385 [1968].

⁴ A. SEYBOLD, Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 493 [1934].

⁵ A. SEYBOLD u. K. EGLE, Planta **26**, 491 [1937]; **28**, 87 [1938].

⁶ H. K. LICHTENTHALER, Ber. dtsch. bot. Ges. **79**, 111 [1966].

⁷ H. K. LICHTENTHALER, Planta **81**, 140 [1968].

⁸ K. EGGER, Planta **64**, 41 [1965].

⁹ H. K. LICHTENTHALER u. S. SPREY, Z. Naturforsch. **21 b**, 697 [1966].

¹⁰ H. K. LICHTENTHALER, Progress in Photosynthesis Research, Vol. **1**, 304, H. METZNER editor, H. Lampp jun., Tübingen 1969.

¹¹ H. K. LICHTENTHALER, Z. Pflanzenphysiol. **59**, 195 [1968].

¹² A. HAGER u. TH. BERTENRATH, Planta **69**, 564 [1962].

¹³ H. K. LICHTENTHALER u. M. TEVINI, Z. Naturforsch. **24 b**, 764 [1969].

	Sonnenblätter [cm ²] TG		Schattenblätter [cm ²] TG	
2. 5.*	218	0,87	224	0,54
11. 5.	234	1,74	300	1,06
4. 6.	246	2,42	383	1,24
14. 6.	253	2,4	380	1,26
8. 7.	247	2,36	390	1,28
20. 7.	256	2,6	378	1,23
10. 8.	261	2,57	384	1,26
6. 9.	258	2,45	380	1,18

Tab. 1. cm²-Blattfläche und Trockengewicht (TG) von je 10 grünen Sonnenblättern (So) und Schattenblättern (Sch) von *Fagus silvatica* im Verlauf der Vegetationsperiode. (* ca. 3 Tage nach der Blattentfaltung.)

entfaltung im Chlorophyll- und Carotinoidgehalt kaum Unterschiede, während später die Sonnenblätter eindeutig höhere Absolutmengen an Carotinoiden (1,16·) und an Chlorophyllen (1,35·) enthalten (Tab. 3). Im Lipochinongehalt beider Blatttypen sind bereits zu Beginn der Vegetationsperiode signifikante Unterschiede vorhanden. Sowohl die lipophilen Benzochinone wie auch das Naphthochinon Vitamin K₁ sind bereits wenige Tage nach der Blattentfaltung (3. Mai) im Sonnenlicht in höherer Konzentration vorhanden als im Schattenblatt. Die Unterschiede im Benzochinongehalt vergrößern sich danach durch die erhöhte Benzochinonsynthese im Sonnenblatt. So steigt der Benzochinongehalt im

Schattenblatt von Mai bis August nur auf das 2,5-fache, im Sonnenblatt hingegen auf das 7,1-fache an. Das Sonnenblatt weist daher im August einen 4,4-fach höheren Gehalt als das Schattenblatt auf (Tab. 3). Das Naphthochinon K₁ wird hingegen nur in dem Maße neu gebildet, wie auch Chlorophyll und Carotinoide synthetisiert werden. Der K₁-Unterschied bleibt daher von gleicher Höhe. Im August liegt K₁ im Sonnenblatt in 1,45-fach höherer Konzentration vor als im Schattenblatt (Tab. 3).

Nimmt man die *Blattfläche* (je 100 cm²) als Bezugsgröße, so treten die Unterschiede zwischen Sonnen- und Schattenblättern stärker hervor. Carotinoide, Chlorophylle und Vitamin K₁ sind in Sonnenblättern in 1,7–2-fach höheren Mengen als in Schattenblättern vorhanden, der Benzochinongehalt

	Sch	So
2. 5.	75,8	71,0
11. 5.	68,7	62,0
4. 6.	65,4	49,7
14. 6.	65,0	50,0
8. 7.	64,5	52,0
20. 7.	59,0	49,8
10. 8.	60,5	49,0
6. 9.	60,0	49,5

Tab. 2. Wassergehalt von Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica*.

	a / 2. Mai		b / 10. August		So/Sch
	Sch	So	Sch	So	
Blattfläche [cm ²]	22,4	21,8	38,4	26,1	
Trockengewicht [mg]	54	87	126	257	
Wassergehalt [%]	76	71	61	49	
Chlorophyll a	131	142	226	319	
Chlorophyll b	54	46	82	98	
Chlorophylle a + b	185	188	308	417	1,35
β-Carotin	18,4	14,2	27,3	31	
Lutein	29,1	17,5	33,4	42	
Violaxanthin	8,1	6,5	8,5	10,5	
Neoxanthin	3,8	3,3	6,1	4,2	
Carotinoide	59,4	41,5	75,3	87,7	1,16
Plastochinon 45	13,7	13,5	15,4	36	
Plastohydrochinon 45	1,6	8,7	17,3	184	
Gesamtplastochinon 45	15,3	22,2	32,7	220	
α-Tocochinon	5,2	8,7	3,1	5	
α-Tocopherol	7,9	14,2	36,5	95	
Gesamt-Tocochinon	13,1	22,9	39,6	100	
Benzochinone	28,4	45,1	72,3	320	4,42
Vitamin K ₁	1,5	1,9	2,6	3,7	1,45

Tab. 3. Pigment- und Lipochinongehalt (μg) von je 1 Sonnen- und Schattenblatt von *Fagus silvatica*: a) ca. 3 Tage nach der Blattentfaltung und b) gegen Ende der grünen Vegetationsperiode.

	μg in 1 Blatt			μg je 100 cm ² Blattfläche			μg in 0,1 g Trockengewicht			Mole per 100 Mole Chlorophyll a		
	Sch	So	So/Sch	Sch	So	So/Sch	Sch	So	So/Sch	Sch	So	So/Sch
Chlorophylle	308	417	1,35 ·	802	1590	1,98 ·	244	162	0,66 ·	—	—	—
Carotinoide	75,3	87,7	1,16 ·	196	336	1,71 ·	60	34,2	0,57 ·	52,8	43,9	0,83 ·
Benzochinone	72,3	320	4,42 ·	188	1209	6,43 ·	57,5	124,5	2,16 ·	53,2	145,1	2,73 ·
Vitamin K ₁	2,6	3,7	1,40 ·	6,8	14	2,06 ·	2,14	1,44	0,67 ·	2,3	2,4	1,04 ·

Tab. 4. Pigment- und Lipochinongehalt in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica* bei Benutzung verschiedener Bezugsgrößen (Werte vom 10. August). In allen Fällen ist der Gehalt an lipophilen Benzochinonderivaten in Sonnenblättern um das 2,1–6,4fache höher als in Schattenblättern.

ist allerdings um das 6,4-fache höher (Tab. 4). Auch bei Bezugnahme auf das *Trockengewicht* verhalten sich Carotinoide, Chlorophylle und Vitamin K₁ gleichsinnig, sind aber hier wegen des hohen Trockengewichtes der Sonnenblätter, in den letzteren in geringeren Mengen (0,57–0,67-fach) vorhanden als in Schattenblättern. Der Benzochinongehalt hingegen ist selbst bei Bezug auf das Trockengewicht in Sonnenblättern noch um das 2,16-fache höher als in Schattenblättern (Tab. 4).

Bei Bezugnahme auf *Chlorophyll a*, das sich besonders im Hinblick auf die Zusammensetzung des Photosyntheseapparates als Bezugsgröße anbietet, finden sich in beiden Blatttypen etwa die gleichen Mengen an Vitamin K₁, während der Benzochinongehalt in Sonnenblättern um das 2,7-fache höher liegt. In Schattenblättern kommen Carotinoide und Benzochinone in etwa gleicher Konzentration vor, in Sonnenblättern übertrifft die Benzochinonkonzentration jene der Carotinoide um das 3,3-fache. Aus Tab. 4 geht ebenfalls hervor, daß Sonnenblätter bei Bezug auf Chlorophyll a eine höhere Carotinoidkonzentration als Sonnenblätter besitzen, eine Beobachtung auf die bereits von SEYBOLD und EGGLE⁵ hingewiesen wurde.

Für die vergleichenden Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf und das Ausmaß der Lipochinon- und Pigmentsynthese in Sonnen- und Schattenblättern wurde die Blattfläche als Bezugssystem gewählt, da hier der unterschiedliche Verlauf der Lipidsynthese deutlich zu erkennen ist. Auch aus physiologischer Sicht, es sei hier an den unterschiedlichen Lichtgenuß beider Blatttypen erinnert, ist die Blattfläche die günstigste Bezugseinheit.

a) Chlorophylle

Mit der Blattentfaltung (ca. 30. 4. – 1. 5.) werden die plasmochromen Photosynthesepigmente und die Lipochinone mit hoher Syntheserate gebildet.

Der Chlorophyllgehalt steigt im Verlauf der nächsten 5–6 Wochen stark an und erreicht Anfang Juni mit oder kurz vor dem Abschluß des Flächenwachstums der Blätter den höchsten Wert (Abb. 1). Danach bleibt der Chlorophyllgehalt von fast gleicher Höhe, verringert sich allerdings geringfügig und fortwährend bis Anfang September. Gegen Ende September setzt dann mit dem auch analytisch deutlich erfaßbaren Beginn der herbstlichen Blattverfärbung ein markanter Chlorophyllabbau ein, der bis Mitte bzw. Ende Oktober abgeschlossen ist. Diese Beobachtung trifft sowohl für Sonnen- als auch für Schattenblätter zu. Sonnenblätter haben allerdings immer einen höheren Gehalt an Chlorophyll a und b und weisen auch höhere Zahlenwerte (3,1–3,4) für das Verhältnis *a/b* auf als Schattenblätter (2,7–2,8; s. Tab. 5).

b) Carotinoide

Der Gesamtcarotinoidgehalt steigt bei beiden Blatttypen etwa parallel zum Chlorophyllgehalt an und erreicht mit diesem bzw. dem Abschluß des Flächenwachstums einen Endwert (Abb. 1). In Schattenblättern sinkt der Carotinoidgehalt bis Anfang September allerdings deutlich ab, während er in Sonnenblättern relativ konstant bleibt. In allen Fällen enthalten die Sonnenblätter ca. 1,5 bis 1,8-fach höhere Carotinoidgehalte als Schattenblätter. Dies trifft auch für die einzelnen Carotinoide β -Carotin, Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin zu (Abb. 2). Zu beachten ist jedoch, daß Schattenblätter bei Bezug auf Chlorophyll a immer höhere Carotinoidmengen aufweisen als Sonnenblätter. Entsprechend besitzen Schattenblätter im Verlauf der grünen Vegetationsperiode auch niedrigere Zahlenwerte für das molare Verhältnis Chlorophyll/Carotinoide ($a + b/x + c = 2,3–2,6$) als Sonnenblätter (2,7–3,0). Die molaren Quotienten für Xanthophylle/ β -Carotin (x/c) sind mit Werten zwischen

Abb. 1. Gehalt an Chlorophyll, Carotinoiden, lipophilen Benzochinonen und Vitamin K_1 in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus sylvatica* im Verlauf der Blattentwicklung bis zur Blattverfärbung.

	a/b So	Sch	a/K_1 So	Sch	a/PQ_{45} So	Sch	$a/\alpha\text{-TQ}$ So	Sch
2. 5.	3,1	2,5	38,5	47,6	8,8	8,1	8,1	12,8
11. 5.	3,1	2,5	45,4	62,5	13,7	10,9	19,6	21,7
4. 6.	3,4	2,7	47,6	55,5	15,1	15,8	29,4	17,9
14. 6.	3,2	2,65	47,6	50,0	15,4	13,7	37,0	23,8
8. 7.	3,4	2,75	41,7	45,8	8,2	15,0	38,4	25,0
20. 7.	3,4	2,85	43,4	38,4	7,5	14,0	41,6	20,4
10. 8.	3,35	2,80	50,0	43,5	7,7	12,3	35,7	26,3
6. 9.	3,35	2,85	45,4	40,6	7,1	9,9	27,8	40,0

Tab. 5. Molverhältnisse von Chlorophyll a/Chlorophyll b und von Chlorophyll a zu Plastidenchinonen in verschieden alten Sonnen (So)- und Schattenblättern (Sch) von *Fagus sylvatica*.

Abb. 2. Gehalt an Carotinoiden in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica* von der Blattentwicklung bis zum herbstlichen Chlorophyllabbau.

1,5–1,7 bei beiden Blattparten etwa gleich. Signifikante Unterschiede in den x/c -Quotienten wie sie bei anderen Pflanzen für Sonnen- und Schattenblätter beschrieben wurden⁵, wurden im Rahmen dieser Untersuchung nicht beobachtet. Es zeigte sich vielmehr, daß innerhalb der beiden Blattparten die x/c -Werte relativ stark streuen können. Bei der herbstlichen Blattverfärbung wird β -Carotin zunächst etwas rascher abgebaut als die Xanthophylle, so daß jedenfalls anfänglich für x/c höhere Zahlenwerte von 2–2,3 auftreten.

c) Plastidenchinone

Während der Chlorophyll- und Carotinoidgehalt nach Abschluß des Flächenwachstums nicht weiter ansteigt, hält die Synthese der lipophilen Plastiden-

chinone vom Benzochinontyp weiterhin an (Abb. 1). Mit dem Abschluß der Ergrünungsphase sind die Thylakoide der Chloroplasten mit Chlorophyllen, Carotinoiden und Plastidenchinonen voll besetzt. Die jetzt gebildeten überschüssigen Plastidenchinone werden wie bei anderen Pflanzen so auch bei *Fagus*, in den osmiophilen Plastoglobuli abgelagert, deren Größe permanent zunimmt¹⁰.

In Sonnenblättern setzt mit dem Abschluß der Chlorophyll- und Thylakoidbildung eine besonders starke Synthese der lipophilen Benzochinonderivate ein, die zu einer ständigen Erhöhung des Benzochinongehaltes der Chloroplasten führt. Die Konzentration der Benzochinone erreicht Mitte Juli bereits jene von Chlorophyll a. Im September kommen dann auf 100 Mole Chlorophyll a sogar 150–

Abb. 3. Gehalt an Plastoquinon (PQ 45) und Plastohydrochinon (PQ 45·H₂) in grünen Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus sylvatica* und bei Blattvergilbung.

170 Mole Benzochinone. Auch bei der Blattverfärbung, wenn Chlorophylle, Thylakoide und teilweise auch Carotinoide abgebaut werden, erhöht sich der Benzochinongehalt bis ins frühe gelbe Stadium. Danach sinkt allerdings auch der Gehalt an Benzochinonen ab (Abb. 1).

Schattenblätter zeigen zwar grundsätzlich die gleiche Tendenz zur Erhöhung des Benzochinongehaltes im Laufe der Vegetationsperiode wie Sonnenblätter. Das Ausmaß der Synthese überschüssiger Benzochinone ist jedoch bedeutend geringer. Entsprechend steigt der Benzochinongehalt der Schattenblätter vom Abschluß der Ergrünungsphase (Anfang Juli) bis zum September nur auf das 1,58-fache an, in Sonnenblättern hingegen auf das Dreifache. Schattenblätter enthalten im September auf

100 Mole Chlorophyll a daher nur 50–60 Mole Benzochinone.

Betrachtet man die einzelnen lipophilen Benzochinone, so fällt auf, daß beim Plastoquinon 45 in der Hauptsynthesephase der Chlorophylle und Thylakoide vorwiegend die oxidierte Form PQ 45 * gebildet wird. Gegen Abschluß der Ergrünungsphase erhöht sich bereits der Hydrochinongehalt. Bei der daran anschließend einsetzenden, verstärkten Benzochinonsynthese wird ausschließlich (Schattenblätter) bzw. nahezu vollständig (Sonnenblätter) das Hydrochinon PQ₄₅·H₂ gebildet (Abb. 3). Entsprechend erhöht sich fortlaufend der Anteil der reduzierten Form. Da in Sonnenblättern wesentlich mehr

* PQ 45 = Plastoquinon 45; PQ₄₅·H₂ = Plastohydrochinon 45.

Abb. 4. Gehalt an α -Tocochinon (α -TQ) und α -Tocopherol (α -T) in grünen Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus silvatica* und bei der herbstlichen Blattvergilbung.

$PQ_{45} \cdot H_2$ gebildet wird als in Schattenblättern, liegt bei ersteren Gesamtplastochinon in stärkerem Maße in der reduzierten Form (80–86%) vor als in Schattenblättern (54–60%; Tab. 6). Entsprechend der höheren Synthesekapazität für Plastochinon 45 enthalten Sonnenblätter bei Bezugnahme auf die Blattfläche gegen Ende der Vegetationsperiode einen 9-fach höheren Gesamtplastochinongehalt ($PQ_{45} + PQ_{45} \cdot H_2$) als Schattenblätter.

Bei der herbstlichen Blattverfärbung wird in Sonnenblättern während des Chlorophyllabbaues bis zum frühen gelbgrünen Stadium noch Plastochinon 45 gebildet. Jetzt tritt allerdings die oxidierte Form PQ_{45} , die unter den degenerativen Bedingungen durch Oxydation des Hydrochinons $PQ_{45} \cdot H_2$ entsteht, stärker hervor (Abb. 3, Tab. 6). In Schattenblättern erhöht sich ebenfalls der Anteil der oxidierten Form, eine weitere Plastochinon-Synthese beim Abbau der Thylakoide und Chlorophylle wurde hier nicht beobachtet.

α -Tocochinon und sein Chromanol- α -Tocopherol stellen ein weiteres lipophiles Redoxsystem der Chloroplasten dar. Es kommt allerdings fast ausschließlich in der reduzierten Form als α -T** vor (Abb. 4). Der Anteil der oxidierten Form α -TQ** beträgt kurz nach der Blattenfaltung bei beiden Blatttypen noch 37–39 Prozent. In der Folge, insbesondere nach Abschluß der Chlorophyll-Synthese, wird sein Anteil jedoch rasch geringer und beträgt gegen Ende der Vegetationsperiode (September) nur noch 4–5% (Sonnenblätter) bzw. 7–10% in Schattenblättern (Tab. 6). Die nach Abschluß der Ergrünungsphase verstärkter einsetzende Benzochinonsynthese liefert bei beiden Blatttypen praktisch kein α -TQ, sondern ausschließlich die reduzierte Form α -Tocopherol. Bei Bezugnahme auf die Blattfläche ist gegen Ende der Vegetationsperiode der Gesamt-Tocochinongehalt (α -TQ + α -T) in Sonnen-

** α -TQ = α -Tocochinon, α -T = α -Tocopherol.

	PQ ₄₅ · H ₂ [%]		α-T [%]	
	Sch	So	Sch	So
<i>grüne Vegetationsperiode</i>				
2. 5.	10,2	39,2	61,4	62,5
11. 5.	20,0	56,5	68,7	79,5
4. 6.	42,5	64,5	64,2	89,5
14. 6.	46,4	86,0	80,5	95,0
8. 7.	54,3	80,0	83,2	96,0
20. 7.	56,5	81,0	82,0	96,5
10. 8.	53,0	84,0	90,0	95,5
6. 9.	58,3	83,5	93,3	95,0
<i>Beginn des herbstlichen Farbwechsels</i>				
26. 9.	61,0	77,6	92,8	94,5
10. 10.	43,6	—	85,0	—
15. 10.	24,0	—	77,0	—
20. 10.	—	36,8	—	93,0
26. 10.	—	19,3	—	87,3
27. 10.	—	11,3	—	82,5
28. 10.	—	6,1	—	83,0
29. 10.	—	11,0	—	67,0

Tab. 6. Prozentanteil der reduzierten Benzochinonformen Plastohydrochinon 45 und α-Tocopherol am Gesamtplastochinon- (PQ₄₅ + PQ₄₅H₂) und Gesamttochinchinon- (α-TQ + α-T) in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus sylvatica*. Der Anteil der reduzierten Form erhöht sich nach Abschluß der Ergrünungsphase ständig, verringert sich jedoch deutlich während der Chloroplastendegeneration.

blättern um das 5-fache höher als in Schattenblättern (Abb. 4). Beim Abbau der Chlorophylle wird in Sonnenblättern bis ins gelbgrüne Übergangsstadium noch α-T gebildet. Während der Chloroplastendegeneration erhöht sich bei beiden Blatttypen durch Oxidation von α-T der Anteil von α-TQ.

Bei der Bildung der überschüssigen Plastidenchinone werden in beiden Blatttypen nahezu ausschließlich die reduzierten Benzochinonformen Plastohydrochinon 45 und α-Tocopherol synthetisiert und extrathylakoidal in den Plastoglobuli gespeichert¹⁴. In Schattenblättern werden von den beiden reduzierten Chinonformen allerdings vorzugsweise α-Tocopherol gebildet; entsprechend kommen Anfang September in Schattenblättern auf 100 Mole Chlorophyll a nur 24 Mole Gesamtplastochinon (PQ₄₅ + PQ₄₅H₂), jedoch 30 Mole Gesamt-Tocopherol (α-TQ + α-T). In Sonnenblättern hingegen wird etwas mehr PQ₄₅H₂ als α-T synthetisiert. Per 100 Mole Chlorophyll a findet man daher zum gleichen Zeitpunkt ca. 85 Mole Gesamt-Plastochinon und nur 72 Mole Gesamt-Tocopherol.

Es fällt auf, daß die oxidierten Benzochinone α-TQ und PQ 45 nicht oder nur in geringem Über-

schuß vorliegen. Die Zahlenwerte für die molaren Relationen Chlorophyll a/PQ₄₅ sind in Sonnen- und Schattenblättern im Verlauf der Vegetationsperiode mit 13–15 relativ konstant (Tab. 5). Erst mit der verstärkten Synthese von Benzochinonen fällt in Sonnenblättern der Wert auf ca. 7 ab. Auch die Chlorophyll a/α-TQ-Werte sind in Sonnen- und Schattenblättern relativ einheitlich und fallen mit der nach dem Abschluß der Ergrünungsphase einsetzenden verstärkten Benzochinonsynthese nicht ab.

Das Naphthochinon Vitamin K₁ hingegen nimmt an dem steilen Anstieg des Benzochinongehaltes nach Abschluß der Chlorophyll- und Thylakoidsynthese nicht teil. Seine Synthese ist vielmehr eng korreliert mit der Bildung der Chlorophylle und Carotinoide. Es kommt offenbar nicht oder nur in geringem Überschuß vor und ist auch in isolierten Plastoglobuli von *Fagus* nur in Spuren vorhanden^{10, 14}. Auch zu Beginn der herbstlichen Blattverfärbung wird Vitamin K₁ im Gegensatz zu den Benzochinonen nicht mehr neu synthetisiert, sondern schrittweise abgebaut. Das molare Verhältnis Benzochinone/K₁ steigt daher im Laufe der Vegetationsperiode von ca. 15 auf über 30 an. Sonnenblätter haben bei Bezugnahme auf die Blattfläche etwa den doppelten Gehalt an Vitamin K₁ als Schattenblätter. Die Molverhältnisse Chlorophyll a/K₁ sind allerdings mit Zahlenwerten von 40–50 in beiden Blatttypen praktisch gleich und über die ganze Vegetationsperiode hinweg relativ konstant (Tab. 5).

Diskussion

Die vergleichenden Untersuchungen über die Pigment- und Lipochinonbildung in Sonnen- und Schattenblättern von *Fagus sylvatica* zeigen, daß die Synthese der Plastidenchinone vom Benzochinon-Typ auch dann noch weiter läuft, wenn die Chlorophyll- und Carotinoidsynthese und damit der Ergrünungsprozeß abgeschlossen ist. Die an der Biosynthese des Benzochinonringes und an der Bildung der isoprenoiden Seitenketten (Solanesyl-Rest, Phytyl-Rest) beteiligten Enzyme bleiben nach Abschluß der Chlorophyll- und Thylakoidsynthese weiterhin in Funktion. Das Naphthochinon Vitamin K₁ hingegen wird bei beiden Blatttypen nach Abschluß des Ergrünungsvorganges nicht mehr neu gebildet. Die Synthese des Naphthochinonringes unterliegt somit einer ähnlichen Regulation wie die Bildung des Porphyrinringes der Chlorophylle. Beide Prozesse sind,

¹⁴ H. K. LICHTENTHALER, VII. International Congress on Electron Microscopy, Vol. III, S. 205, Grenoble 1970.

wie auch die Synthese der Primärkarotinoide, an die Bildung von Thylakoiden gebunden.

Aus der engen Korrelation zwischen Chlorophyll- und Benzochinongehalt (oxidierte Anteil) ist zu schließen, daß die oxidierten Chinonformen Plastochinon 45 und α -Tocochinon zusammen mit den Chloroplasten und Carotinoiden weitgehend in den Thylakoiden lokalisiert sind. Die reduzierten Chinonformen Plastohydrochinon 45 und α -Tocopherol stellen den eigentlichen Lipochinonüberschuß dar, der extrathylakoidal gespeichert wird, wie die Analyse der aus *Fagus*-Chloroplasten isolierten Plastoglobuli zeigt^{10, 14}. Die Bildung überschüssiger Plastidenchinone beginnt bei beiden Blattyphen schon früh in der Blattentwicklung. Bereits 3 Tage nach der Blattentfaltung, noch bevor die Blätter ihren maximalen Chlorophyllgehalt und ihre volle Größe erreicht haben, ist der Benzochinongehalt bezogen auf Chlorophyll a bei beiden Blattyphen höher als bei vielen anderen grünen Pflanzen⁷. Offensichtlich ist der in Thylakoiden lokalisierte Lipochinonanteil immer wesentlich geringer als der Gesamtlipochinongehalt der Chloroplasten¹⁰. Welche Funktionen in den Plastoglobuli deponierten reduzierten Lipochinonen zukommt, ist noch offen. Erste Untersuchungen zu dieser Frage ergaben, daß der Reduktionspool der Plastoglobuli offenbar als zusätzlicher Protonen- bzw. Elektronendonator bei den photosynthetischen Lichtreaktionen fungieren kann¹⁵.

Welche Faktoren die permanente Erhöhung des Lipochinongehaltes der Chloroplasten bewirken, ist zunächst noch offen. Die scheinbar nicht regulierte ständige Neusynthese fettlöslicher Benzochinone könnte allerdings mit einem fortwährenden Umsatz der Chloroplastenlamellen, d. h. mit einem ständigen Abbau und Neubildung der photochemisch aktiven Thylakoide und ihrer Lipidkomponenten zusammenhängen. Man muß annehmen, daß die im Frühjahr gebildeten photochemisch aktiven Thylakoide nicht eine ganze Vegetationsperiode in Funktion sind, sondern wie andere Zellstrukturen einem turn-over unterliegen. Der Chlorophyllgehalt von Blättern ist bekanntlich nie konstant und unterliegt auch innerhalb eines Tages gewissen Schwankun-

gen¹⁶, die offensichtlich durch Abbau und Neusynthese von Chlorophyll verursacht werden. Dafür spricht auch der Austausch von Phytol mit dem Phytolrest der Chlorophylle¹⁷. Es ist denkbar, daß bei einem Teilabbau von Thylakoiden mit den Chlorophyllen auch die entsprechenden Carotinoide und Vitamin K₁ abgebaut werden, während die lipophilen Benzochinone, ähnlich wie beim Thylakoidabbau zu Beginn der Chloroplastendegeneration¹⁸ und Chromoplastenentwicklung¹⁹ erhalten bleiben. Die im Zusammenhang mit der Neubildung von Thylakoiden ablaufende permanente Neusynthese von Pigmenten (Chlorophyll und Carotinoide) und Lipochinonen (Benzochinone und Naphthochinone) müßte dann zwangsläufig zu einer ständigen Erhöhung des Benzochinongehaltes der Chloroplasten führen, der tatsächlich zu beobachten ist. Mit der Annahme eines ständigen Thylakoid-turnover wäre letztlich auch zu erklären, weshalb die an der Benzochinonsynthese beteiligten Enzyme, scheinbar unreguliert, die ganze Vegetationsperiode in Funktion sind.

Die gegenüber Schattenblättern wesentlich stärkere Benzochinonakkumulation in Sonnenblättern ist mit der vorgenannten Hypothese allerdings nicht zu erklären, es sei denn, man nähme in Sonnenblättern, die bekanntlich einer bedeutend höheren Lichteinstrahlung ausgesetzt sind, einen rascheren turn-over der Thylakoide an als in Schattenblättern. Nahe liegender ist jedoch, daß für die erhöhte Benzochinonsynthese eine lichtinduzierte Stoffwechselumstellung^{2, 3} bzw. eine veränderte Metabolitenkonzentration verantwortlich ist. Die Benzochinonsynthese in Chloroplasten darf nicht isoliert gesehen werden, sondern muß im Zusammenhang mit metabolischen Aspekten betrachtet werden. Offensichtlich konkurrieren Proteinsynthese und Benzochinonsynthese um die aromatischen Aminosäuren und deren Vorstufen. Phenylalanin, Tyrosin und deren Vorstufen fungieren als Intermediate bei der Biosynthese des Benzochinonringes der Plastidenchinone²⁰. Die verstärkte Benzochinonsynthese in Chloroplasten kann somit erst dann einsetzen, wenn die Bildung der Thylakoide, die zu 50% aus Protein bestehen²¹, ab-

¹⁵ H. K. LICHTENTHALER u. H. GRUMBACH, in Vorbereitung.

¹⁶ R. ZIEGLER u. K. EGLE, Beitr. Biol. Pflanzen **41**, 39 [1965].

¹⁷ L. BIANCO, E. LAZZARINI, and I. ZAGER, Internat. J. appl. Radiation **15**, 385 [1964].

¹⁸ H. K. LICHTENTHALER, Z. Naturforsch. **24 b**, 1461 [1969].

¹⁹ H. K. LICHTENTHALER, Ber. dtsh. bot. Ges. **82**, 483 [1969].

²⁰ G. R. WHISTANCE, D. R. THREEFALL, and T. W. GOODWIN, Biochem. J. **105**, 145 [1967].

²¹ H. K. LICHTENTHALER u. R. B. PARK, Nature [London] **198**, 1070 [1963].

geschlossen ist und die Produkte des Shikimisäureweges weitgehend für die Benzochinonsynthese zur Verfügung stehen. Daß in der Regel eine Substratkompetition vorliegt, zeigt sich auch bei Fütterung von Phenylalanin und Tyrosin, die beide in grünen und etiolierten Pflanzen eine verstärkte Synthese der Plastidenchinone vom Benzochinontyp hervorrufen²².

Auch bei der Chloroplastendegeneration (herbstlicher Farbwechsel der Blätter), wenn aus dem Abbau der Thylakoide in verstärktem Maße aromatische Aminosäuren zur Verfügung stehen, werden parallel zum Abbau der Chlorophylle und Carotinoide die lipophilen Benzochinone noch synthetisiert, wie hier gezeigt wurde. Desgleichen bewirkt Stickstoffmangel nicht nur eine verstärkte Lipidsynthese, sondern gleichzeitig eine Förderung der plastidalen Benzochinonsynthese²³, die ebenfalls auf ein verstärktes Angebot von aromatischen Vorstufen zurückzuführen ist. Ähnliche Verhältnisse scheinen in Sonnenblättern vorzuherrschen, die einen geringeren Stickstoff- und Rohproteingehalt, jedoch einen höheren Lipidgehalt als Schattenblätter besitzen^{2, 3}.

Ein weiterer Faktor für die höhere Benzochinonsynthese liegt im erhöhten Lichtgenuß der Sonnen-

blätter und dem damit verbundenen erhöhten Angebot an Energie- und Reduktionsäquivalenten (ATP, NADP H₂), die hier für nicht-photosynthetische Stoffwechselprozesse in stärkerem Maße zur Verfügung stehen als in Schattenblättern. Die lichtinduzierte Umsteuerung des Stoffwechsels der Sonnenblätter (weniger Protein-, mehr Lipidsynthese)^{2, 3} dürfte, in Verbindung mit einem erhöhten Angebot an ATP und NADP H₂, ein wesentlicher Faktor für die erhöhte Benzochinonsynthese in den Chloroplasten der Sonnenblätter darstellen.

Auf welchem Wege die Stoffwechselumsteuerung erfolgt, ist bislang nicht bekannt, jedoch kommt dem Genuß unterschiedlicher Lichtqualitäten bei beiden Blattyphen^{4, 5} eine führende Rolle zu. Die blaulichtabhängige Atmungssteigerung²⁴, die lichtinduzierte Aktivitätssteigerung von Einzelenzymen²⁵, der Einfluß des Hellrot-Dunkelrot-sensitiven Phytochromsystems auf die Pigment- und Lipochinonsynthese²⁶ lassen jene multiple Lichtwirkungen erkennen, die letztlich die unterschiedliche Differenzierung und Stoffproduktion der Sonnen- und Schattenblätter auslösen.

²² H. K. LICHTENTHALER, in Vorbereitung.

²³ L. VERBEEK, Dissertation, Universität Münster 1971.

²⁴ L. N. BELL, N. P. SHUVALOVA, G. S. MIRONOVA u. A. A. NICHIPOROVICH, Dokl. Akad. Nauk. SSSR **182**, 1439 [1968].

²⁵ C. DASSION u. G. AKOYUNOGLU, Progress in Photosynthesis Research III, 1631 [1969]; R. ZIEGLER u. S. H. SCHANDLER, Progress in Photosynthesis II, 635 [1969].

²⁶ K. BECKER, Dissertation, Universität Münster 1971.