

# Verbreitung und relative Konzentration der lipophilen Plastidenchinone in grünen Pflanzen

H. K. LICHTENTHALER

Botanisches Institut der Universität Münster

Eingegangen am 18. März 1968

## *Distribution and Relative Concentrations of Lipophilic Plastid Quinones in Green Plants*

*Summary.* The distribution of lipophilic plastid quinones was investigated in green plants of different systematic position. The relative concentrations of plastid quinones, carotenoids and chlorophylls are presented.

1. The lipophilic plastid quinones (plastoquinone 45,  $\alpha$ -tocoquinone,  $\alpha$ -tocopherol and vitamin K<sub>1</sub>) have ubiquitous distribution in the photosynthetic apparatus of higher plants and of red, green, brown and bluegreen algae. The photoautotrophic bacteria and the fungi do not contain any of the plastid quinones.

2. The relative concentrations of lipophilic plastid quinones and carotenoids lie within certain standard concentration limits, which are similar for plants of different systematic position. Marked deviations from these concentrations are found in strongly sun-exposed leaves of trees and shrubs, in the older leaves of perennial plants and in the leaves of aurea-variegated plants.

3. Plastinoquinone 45 and  $\alpha$ -tocopherol are present in all plants in higher concentrations than  $\alpha$ -tocoquinone and the naphthoquinone vitamin K<sub>1</sub>. In most plants plastoquinone 45 occurs to 50—70% in the reduced form plastoquinol. The lipophilic redox system  $\alpha$ -tocoquinone/tocopherol is present in general to 80—90% in the reduced form ( $\alpha$ -tocopherol).

## Einleitung

Die Chloroplasten grüner Pflanzen enthalten neben den plasmochromen Chlorophyllen und Carotinoiden die Gruppe der nur schwach gefärbten lipophilen Plastidenchinone. Diese fettlöslichen Chinone gehören zusammen mit den lipophilen Ubichinonen der Mitochondrien zur großen Gruppe der biologisch wichtigen Lipochinone. Ihren Lipidcharakter erhalten die Lipochinone durch eine isoprenoide Seitenkette verschiedener Länge (20—50 C-Atome). Als potentielle Elektronenüberträger sind die Lipochinone wichtige biologische Redoxsysteme. Sie können den Elektronentransport der Photosynthese (ARNON und CRANE, 1965) und der Atmung (GREEN und BRIERLEY, 1965) kratalysieren. Mit ihren reduzierten Formen (Hydrochinone, Chromanole) stellen sie lipophile Redoxsysteme dar, denen eine wesentliche Rolle bei der Stabilisierung der funktionellen Membranstrukturen in Chloroplasten und Mitochondrien zukommt.

Die Chloroplasten höherer Pflanzen besitzen als Hauptkomponenten Plastochinone 45,  $\alpha$ -Tocochinon,  $\alpha$ -Tocopherol und das Naphthochinon Vitamin K<sub>1</sub> (ARNON und CRANE, 1965; HENNINGER und CRANE, 1964;

LICHTENTHALER und CALVIN, 1964). Über die Verbreitung der lipophilen Plastidenchinone bei Pflanzen verschiedener taxonomischer Stellung sind wir nur unzureichend unterrichtet. Es liegen Angaben über die einzelnen Plastidenchinone vor z. B. BUCKE et al. (1964), DILLEY und CRANE (1963), EGGER (1965), LESTER und CRANE (1959), LICHTENTHALER (1962, 1966). Nicht bekannt ist jedoch, ob diese Plastidenchinone immer gleichzeitig nebeneinander vorkommen oder ob einzelne auch fehlen können. Angaben über die jeweiligen relativen Konzentrationen der Plastidenchinone bei Pflanzen verschiedener systematischer Stellung fehlen.

In der vorliegenden Arbeit wird durch gleichzeitige Bestimmung der lipophilen Plastidenchinone, Carotinoide und Chlorophylle der Verbreitung und relative Konzentration dieser funktionellen Chloroplastenlipide bei Algen, Moosen, Farnen und Samenpflanzen untersucht. Bei den Pilzen und den photoautotrophen Bakterien wird das mögliche Vorkommen lipophiler Plastidenchinone überprüft.

### Material und Methoden

Extraktion und quantitative Bestimmung der Blattpigmente und Plastidenchinone erfolgte weitgehend nach bereits beschriebenen Methoden (LICHTENTHALER und SPREY, 1966). Die einzelligen Algen und photoautotrophen Bakterien wurden bei 20 kHz (60 sec) in einem MSE-Ultraschall-Desintegrator aufgeschlossen. Die Identität der isolierten Plastidenchinone wurde durch Vergleich mit Reinsubstanzen in verschiedenen chromatographischen Systemen getestet, wobei Adsorptions- und Verteilungschromatographie, sowie Verteilungschromatographie mit umgekehrter Phase Verwendung fanden (LICHTENTHALER, 1967).

Das reduzierte Plastochinon 45 wurde mit der für die Tocopherole entwickelten Methode von EMMERIE und ENGEL (1943) quantitativ erfaßt. Der entstehende rote Farbstoff wird bei 520 nm gemessen. Der Extinktionsfaktor  $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 225$ . Da alle Substanzen, die Eisen III-Ionen reduzieren mit dem Emmerie-Engel-Reagens erfaßt werden, muß die Identität der isolierten Tocopherole und Hydrochinone durch Messen der UV-Spektren (Maxima zwischen 285—300 nm) überprüft werden. Nach Oxidation mit Gold-III-chlorid oder  $\text{FeCl}_3$  werden die erhaltenen Chinone spektralphotometrisch untersucht. Bei Reduktion mit  $\text{KBH}_4$  verschwinden die Chinonmaxima bei 250—270 nm, es erscheinen die niedrigeren Hydrochinonmaxima bei 286—290 nm.

### Ergebnisse

Plastochinon 45,  $\alpha$ -Tocopherol,  $\alpha$ -Tocochinon und Vitamin  $\text{K}_1$  waren in früheren Untersuchungen als Bestandteil der Chloroplasten erkannt worden. Um zu entscheiden, ob diese Plastidenchinone quantitativ in den Chloroplasten lokalisiert sind, wurden vergleichende Chinon-Pigment-Bestimmungen an verschiedenen Zellfraktionen durchgeführt. Eine bevorzugte Anreicherung eines der Plastidenchinone in einer der untersuchten Zellfraktionen war nicht festzustellen (Tabelle I und LICHTENTHALER, 1966 a). Die gefundenen geringen Abweichungen liegen innerhalb der Fehlergrenze der Methode. Die vorgenannten Plastidenchinone sind

somit plastideneigene Lipochinone. Bei den hier beschriebenen Untersuchungen wurde daher in der Regel auf eine Isolierung der Chloroplasten verzichtet und das frische Pflanzenmaterial direkt extrahiert.

Tabelle 1. *Vitamin K<sub>1</sub>-Gehalte in Blättern und verschiedenen Zellfraktionen, bezogen auf 100 µg Chlorophyll a*

| Spinacia oleracea                   | µg Vitamin K <sub>1</sub> |
|-------------------------------------|---------------------------|
| Grüne Blätter                       | 0,85                      |
| Chloroplasten                       | 0,91                      |
| Lamellare Fragmente + Mitochondrien | 0,76                      |
| Überstand                           | 0,87                      |

In den voll differenzierten Chloroplasten dunkelgrüner Spinatblätter wurden die in Tabelle 2 angegebenen relativen Konzentrationen für Pigmente und Plastidenchinone gefunden. Der jeweilige molare Anteil der Plastidenchinone und Carotinoide (40 Mol) ist nahezu gleich. Die Konzentration von Gesamtplastochinon (P<sub>Q45</sub> und P<sub>Q45</sub>·H<sub>2</sub>) entspricht etwa jener von Gesamtocopherol ( $\alpha$ -T +  $\alpha$ -TQ). Plastochinon 45 liegt zu etwa einem Drittel als Hydrochinon vor. Der Anteil der lipophilen Benzochinone (38 Mol) ist wesentlich höher als jener des Naphthochinons Vitamin K<sub>1</sub> (2 Mol).  $\alpha$ -Tocochinon und Vitamin K<sub>1</sub> kommen dagegen immer in ähnlicher Konzentration vor.

Die vergleichenden Untersuchungen bei Vertretern der Blau-, Rot-, Braun- und Grünalgen, der Moose, Farne und Samenpflanzen ergaben,

Tabelle 2. *Relative Konzentrationen der Plastidenchinone und Carotinoide in Blättern von Spinacia oleracea, bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a*

|                  |     |                        |    |
|------------------|-----|------------------------|----|
| Chlorophyll a    | 100 | Plastochinon 45        | 13 |
| Chlorophyll b    | 37  | Plastohydrochinon      | 6  |
| $\beta$ -Carotin | 14  | $\alpha$ -Tocopherol   | 17 |
| Lutein           | 20  | $\alpha$ -Tocochinon   | 2  |
| Violaxanthin     | 7   | Vitamin K <sub>1</sub> | 2  |
| Neoxanthin       | 3   |                        |    |
| Carotinoide      | 44  | Plastidenchinone       | 40 |

daß die Plastidenchinone ubiquitäre Verbreitung besitzen. Die 4 Plastidenchinone treten immer gleichzeitig nebeneinander auf. Die relativen Konzentrationen der einzelnen Lipide sind in Tabelle 3 und 4 wiedergegeben. Bei der Mehrzahl der Pflanzen kommen die zuvor für Spinat beschriebenen Lipochinon- und Pigmentkonzentrationen mit nur kleineren Abweichungen vor. Die jeweiligen Konzentrationen liegen innerhalb

Tabelle 3. Relative Konzentrationen von Pigmenten und Plastidenchinonen bei Pflanzen verschiedener taxonomischer Zugehörigkeit, bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a

|                                     | a   | b  | c  | x    | PQ   | PQ·H <sub>2</sub> | α-T | α-TQ | K <sub>1</sub> | Chinone |
|-------------------------------------|-----|----|----|------|------|-------------------|-----|------|----------------|---------|
| <b>Angiospermae</b>                 |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| a) Keimpflanzen                     |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Allium cepa</i>                  | 100 | 35 | 21 | 37   | 4,2  | 3,5               | 7   | 2    | 1,5            | 18,2    |
| <i>Hordeum vulgare</i>              | 100 | 32 | 20 | 55,7 | 4,6  | 3,3               | 7,1 | 0,7  | 0,6            | 16,3    |
| <i>Phaseolus coccineus</i>          | 100 | 29 | 12 | 27,3 | 3    | 5                 | 2,3 | 0,4  | 0,4            | 11,1    |
| <i>Spinacia oleracea</i>            | 100 | 36 | 13 | 26   | 3,8  | 5                 | 7   | 0,7  | 0,8            | 17,3    |
| b) Grüne Blätter                    |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Tradescantia abbiflora</i>       | 100 | 34 | 15 | 38   | 3,5  | 4,5               | 7,4 | 1,1  | 0,9            | 20,4    |
| <i>Beta vulgaris</i>                | 100 | 35 | 13 | 24   | 6,1  | 23                | 6,3 | 0,5  | +              | 35,9    |
| <i>Primula obconica</i>             | 100 | 37 | 12 | 29   | 14,7 | 16                | 9,6 | 4,0  | +              | 44,3    |
| <i>Pelargonium zonale</i>           | 100 | 36 | 10 | 33   | 6,5  | 24                | 28  | 3,0  | +              | 61,5    |
| <i>Eucharis grandiflora</i> , jü.   | 100 | 31 | 15 | 31   | 9    | 15                | 13  | 2,9  | 1,1            | 41,0    |
| <i>Eucharis grandiflora</i> , ält.  | 100 | 34 | 13 | 33   | 12   | 20                | 23  | 2,8  | 1,2            | 59,0    |
| <i>Spinacia oleracea</i> , ält.     | 100 | 37 | 14 | 30   | 13,8 | 4                 | 17  | 1,8  | 2,0            | 38,6    |
| <i>Vitis coignetiae</i> , ält.      | 100 | 36 | 14 | 27   | 9    | 26                | 46  | 2,7  | 1,3            | 76,0    |
| <i>Billbergia forgetiana</i> , jü.  | 100 | 39 | 15 | 31   | 8    | 14                | 17  | 3,6  | 2,3            | 43,9    |
| <i>Billbergia forgetiana</i> , ält. | 100 | 38 | 12 | 34   | 25   | 27                | 24  | 4,3  | 2,7            | 79,0    |
| <i>Ficus elastica</i> , jü.         | 100 | 38 | 21 | 34   | 7,3  | 13                | 31  | 2,3  | 4,2            | 57,8    |
| <i>Ficus elastica</i> , ält.        | 100 | 32 | 15 | 28   | 12   | 50                | 100 | 2,4  | 2,8            | 167,2   |
| <i>Allium cepa</i> , grüne Teile    | 100 | 29 | 17 | 59   | 85   | 65                | 97  | 7,4  | 4,3            | 258,7   |
| <i>Davidia involucrata</i>          | 100 | 33 | 9  | 24   | 8,8  | 39                | 32  | 3,0  | +              | 82,8    |
| <i>Acer negundo</i>                 | 100 | 34 | 12 | 37   | 8,5  | 95                | 46  | 4,5  | 2,6            | 156,6   |
| c) Grüne Fruchtschalen              |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Solanum lycopersicum</i>         | 100 | 37 | 17 | 26   | 7    | 49                | 75  | 4,0  | +              | 135,0   |
| <i>Capsicum annuum</i>              | 100 | 38 | 15 | 45   | 6,4  | 31                | 63  | 3,5  | +              | 103,9   |
| <i>Capsicum annuum</i>              | 100 | 34 | 14 | 44   | 25   | 64                | 128 | 3,5  | +              | 220,5   |
| <b>Gymnospermae</b>                 |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Ginkgo biloba</i>                | 100 | 33 | 12 | 21   | 13   | 12                | 34  | 0,9  | 1,0            | 60,9    |
| <i>Pinus nigra</i>                  | 100 | 33 | 13 | 25   | 7    | 5                 | 12  | 0,6  | 1,2            | 25,8    |
| <b>Pteridophytae</b>                |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Asplenium nidus</i> a.           | 100 | 33 | 13 | 26   | 4    | 11                | 26  | 0,8  | 1,3            | 43,1    |
| <i>Asplenium nidus</i> b.           | 100 | 31 | 21 | 47   | 10   | 16                | 28  | 2,0  | 1,7            | 57,7    |
| <i>Phyllitis scolopendrium</i>      | 100 | 36 | 21 | 26   | 6    | 10                | 29  | 1,7  | 0,8            | 47,5    |
| <i>Dryopteris filix mas</i>         | 100 | 35 | 17 | 33   | 8    | 19                | 31  | 1,0  | 1,5            | 61,5    |
| <i>Platyterium alicorne</i>         | 100 | 32 | 13 | 29   | 10   | 9                 | 23  | 1,0  | 1,7            | 44,7    |
| <b>Bryophyta</b>                    |     |    |    |      |      |                   |     |      |                |         |
| <i>Atrichum undulatum</i>           | 100 | 36 | 29 | 44   | 4    | 9                 | 14  | 0,9  | 0,7            | 28,6    |
| <i>Mnium hornum</i>                 | 100 | 37 | 30 | 44   | 5    | 7                 | 12  | 1,4  | 2,2            | 27,6    |
| <i>Marchantia polymorpha</i>        | 100 | 30 | 13 | 20   | 7    | 19                | 13  | 1,3  | 1,8            | 34,1    |
| <i>Pellia epiphylla</i>             | 100 | 35 | 21 | 23   | 7    | 16                | 11  | 2,1  | 2,6            | 38,7    |

a und b = Chlorophyll a und b, c =  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin; x = Xanthophylle: Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin; PQ = Plastochinon 45; PQ·H<sub>2</sub> = Plastohydrochinon 45;  $\alpha$ -T =  $\alpha$ -Tocopherol;  $\alpha$ -TQ =  $\alpha$ -Tocochinon; K<sub>1</sub> = Vitamin K<sub>1</sub>; jü. = jüngere und ält. = ältere Blattgewebe.

Tabelle 4. *Relative Konzentrationen von Pigmenten und Plastidenchinonen bei Algen, bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a. (Abkürzungen wie in Tabelle 4; x = Xanthophylle verschiedener Art)*

|                                 | a   | b  | c  | x   | PQ  | PQ·H <sub>2</sub> | α-T  | α-TQ | K <sub>1</sub> | Chinone |
|---------------------------------|-----|----|----|-----|-----|-------------------|------|------|----------------|---------|
| <b>Cyanophyta</b>               |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Anacystis nidulans</i>       | 100 | —  | 52 | 260 | 8   | 17                | 14   | 3,2  | 2,8            | 49      |
| <i>Oscillatoria limosa</i>      | 100 | —  | 67 | 26  | 9   | 7,1               | 14   | 0,3  | 0,8            | 31,2    |
| <i>Oscillatoria splendida</i>   | 100 | —  | 24 | 18  | 4   | 3                 | 16   | 1,0  | 0,8            | 24,6    |
| <b>Euglenophyta</b>             |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Euglena gracilis</i>         | 100 | +  | 8  | 24  | 3   | 6                 | 8    | 1,8  | 0,7            | 19,5    |
| <b>Chlorophyta</b>              |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Cladophora spec.</i>         | 100 | 38 | 19 | 30  | 5,4 | 6                 | 8,3  | 1,7  | 6,0            | 28,0    |
| <i>Mougeotia spec.</i>          | 100 | 36 | 6  | 24  | 1,6 | 2,1               | 3,2  | 1,4  | 0,5            | 8,8     |
| <i>Oedogonium spec.</i>         | 100 | +  | 7  | 23  | 14  | 12                | 7,2  | 3,3  | 2,6            | 39,1    |
| <b>Charophyta</b>               |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Nitella flexilis</i>         | 100 | 39 | 20 | 57  | 5   | 4                 | 5,7  | 0,6  | 1,2            | 16,5    |
| <b>Phaeophyta</b>               |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Chordaria flagelliformis</i> | 100 | —  | 8  | 20  | 5   | 7                 | 6,0  | 0,5  | 1,3            | 20,7    |
| <i>Desmarestia aculeata</i>     | 100 | —  | 9  | 43  | 4   | 3                 | 15,0 | 0,7  | 1,4            | 25,1    |
| <i>Fucus platycarpus</i>        | 100 | —  | 11 | 16  | 7   | 13                | 19   | 1,2  | 1,7            | 41,9    |
| <i>Fucus serratus</i>           | 100 | —  | 10 | 28  | 4   | 6                 | 18   | 0,5  | 1,5            | 30,0    |
| <b>Rhodophyta</b>               |     |    |    |     |     |                   |      |      |                |         |
| <i>Bangia spec.</i>             | 100 | —  | 45 | 73  | 22  | 30                | 83   | 3,5  | 7,2            | 145,7   |
| <i>Chondrus crispus</i>         | 100 | —  | 32 | 31  | 19  | 8                 | 31   | 3,4  | 3,6            | 65,0    |
| <i>Membranoptera alata</i>      | 100 | —  | 24 | 29  | 6   | 4                 | 5    | 1,1  | 0,9            | 17,0    |
| <i>Porphyra spec.</i>           | 100 | —  | 17 | 34  | 14  | 2                 | 7    | 0,8  | 2,8            | 26,6    |

bestimmter Grenzwerte, die als die Standardkonzentrationen der Plastidenchinone und Pigmente bei den sauerstoffproduzierenden Pflanzen anzusehen sind (Tabelle 5).

Tabelle 5. *Relative Konzentrationen der Pigmente und Plastidenchinone bei Pflanzen verschiedener taxonomischer Stellung*

|               |         |                        |         |
|---------------|---------|------------------------|---------|
| Chlorophyll a | 100     | Plastochinon 45        | 10 ± 5  |
| Chlorophyll b | 33 ± 5  | Plastohydrochinon      | 15 ± 10 |
| β-Carotin     | 15 ± 8  | α-Tocopherol           | 15 ± 7  |
| Lutein        | 25 ± 10 | α-Tocochinon           | 2,5 ± 2 |
| Violaxanthin  | 7 ± 3   | Vitamin K <sub>1</sub> | 2 ± 1,5 |
| Neoxanthin    | 3 ± 2   |                        |         |

Aus den Einzelwerten (Tabelle 3 und 4) und der Übersicht (Tabelle 5) ergeben sich folgende allgemeine Regeln:

1. Die Synthese der lipophilen Plastidenchinone vom Benzochinontyp ist bei den höheren Pflanzen und den Algen immer bedeutend höher als jene des Naphthochinons Vitamin  $K_1$ . Der Vitamin  $K_1$ -Anteil beträgt nur 1—5% des Gesamtchinongehaltes der Chloroplasten und Chromatophoren.

2. Gesamtplastochinon und Gesamttocopherol kommen in der Regel in ähnlicher Konzentration vor. Es kann sowohl Plastochinon 45 als auch  $\alpha$ -Tocopherol in höherer Konzentration vorhanden sein.

3. Der Anteil an reduziertem Plastochinon 45 kann von Pflanze zu Pflanze und innerhalb einer Art sehr stark variieren in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand und Alter der Blattgewebe. Im Normalfall liegen in grünen voll entwickelten Pflanzen 30—70% als Hydrochinon vor. Die Konzentration von Plastochinon 45 ist immer 5—20mal höher als jene von Vitamin  $K_1$ .

4. Bei dem Redoxsystem  $\alpha$ -Tocochinon/Tocopherol ist bei allen Pflanzen überwiegend die reduzierte Form ( $\alpha$ -Tocopherol) vorhanden. Der  $\alpha$ -Tocopherolanteil liegt meist zwischen 80—95% und in grünen stark belichteten Pflanzen oft darüber.

5. Vitamin  $K_1$  und  $\alpha$ -Tocochinon, die oxidierte Form des  $\alpha$ -Tocopherols, kommen in geringer jedoch ähnlicher Konzentration vor. Im einen Fall kann die  $\alpha$ -Tocochinon-Konzentration, im anderen jene von Vitamin  $K_1$  höher sein.

6. Bei den Phaeophyta, Rhodophyta Moosen, Farnen und Samenpflanzen kommen Carotinoide und Plastidenchinone meist in gleicher Konzentration vor. In jüngeren Blattgeweben (Keimlinge, Blattentfaltung) ist der Plastidenchinon-Gehalt bedeutend geringer, und in älteren Blättern bedeutend höher als der jeweilige Carotinoidgehalt. Bei den Cyanophyta, Euglenophyta und Chlorophyta ist die Carotinoidkonzentration immer 1,5—10mal höher als die Konzentration der Plastidenchinone.

Die höchsten Plastidenchinongehalte wurden bei den Samenpflanzen gefunden. Moose, Farne und die verschiedenen Algengruppen besitzen geringere Gehalte. Die Plastidenchinongehalte sind in älteren Geweben immer höher als in jüngeren, und in stark belichteten Pflanzen höher als in Pflanzen mit schwachem Lichtgenuß. Bei den Rotalgen sind immer alle 4 Lipochinone vorhanden und in ähnlichen Konzentrationen wie bei den meisten anderen Pflanzen. Die Konzentration von Plastochinon 45 ist bei den untersuchten Rotalgen um das 5—11fache höher als jene von Vitamin  $K_1$ . Die Befunde von EGGER (1965), daß Rotalgen zwar hohe  $K_1$ -Werte besitzen, Plastochinon 45 jedoch fehlt oder nur in geringer Konzentration auftritt, können bei den hier untersuchten Vertretern der Rotalgen nicht bestätigt werden. Die Blaualgen enthalten ebenfalls die 4 Plastidenchinone. Plastochinon 45,  $\alpha$ -Tocochinon und Vitamin  $K_1$

wurden auch von CARR und HALLAWAY (1965) bei den Cyanophyta nachgewiesen. Für *Anacystis nidulans* geben HENNINGER et al. (1965) ein Plastochinon an, das sich von Plastochinon 45 leicht unterscheiden soll, statt Vitamin K<sub>1</sub> wurde ein mit diesem ähnliches Naphthochinon entdeckt und  $\alpha$ -Tocochinon oder  $\alpha$ -Tocopherol nicht aufgefunden. In eigenen Untersuchungen bei *Anacystis* konnten alle 4 Plastidenchinone nachgewiesen werden. Das Hauptnaphthochinon unterschied sich in seinen chromatographischen Eigenschaften nicht von Vitamin K<sub>1</sub>. Somit dürfte sich auch *Anacystis* hinsichtlich seiner Lipochinonzusammensetzung an die übrigen Blaualgen anschließen.

Zusammenfassend kann man die Chinon-Pigment-Zusammensetzung des Photosyntheseapparates folgendermaßen charakterisieren: In Moosen, Farnen, Samenpflanzen und Grünalgen kommen Chlorophyll a und b vor. Es sind immer die Xanthophylle Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin sowie das  $\beta$ -Carotin vorhanden. Bei den Phaeophyta, Rhodophyta und Cyanophyta sind von diesen Blattpigmenten nur Chlorophyll a und  $\beta$ -Carotin als regelmäßiger Bestandteil vorhanden. Die lipophilen Plastidenchinone kommen dagegen bei allen untersuchten Pflanzen verschiedener systematischer Stellung immer gleichzeitig nebeneinander vor.

*Sonnen- und Schattenblätter.* Eine Ausnahme von den zuvor genannten relativen Konzentrationen der Plastidenchinone, wie man sie bei den meisten Pflanzen als Normalfall findet (Tabelle 5), machen die Sonnenblätter der Bäume und Sträucher und die sonnenexponierten Blätter krautiger Pflanzen (Tabelle 6). Im Frühjahr bei der Blattentfaltung bestehen zwischen Sonnen- und Schattenblätter kaum Unterschiede im Lipochinongehalt. Nach Abschluß des Ergrünungsvorganges, wenn der Chlorophyllgehalt ein Maximum erreicht hat, läuft die Synthese der lipophilen Plastidenchinonen stetig weiter. Dadurch kommt es zu einer starken Anreicherung von Plastochinon 45,  $\alpha$ -Tocopherol und  $\alpha$ -Tocochinon in den Chloroplasten der Sonnenblätter. Durch die fortwährende Erhöhung des Plastidenchinongehaltes, steigt die Konzentration der Plastidenchinone über jene der Carotinoide. Halbschattenblätter liegen mit ihren Lipochinongehalten zwischen Sonnen- und Schattenblätter (Tabelle 6, *Tilia*). Sie enthalten Carotinoide und Plastidenchinone in gleicher Konzentration. In Schattenblättern ist die Konzentration der Plastidenchinone nur halb so hoch, in Sonnenblättern dagegen doppelt so hoch wie jene der Carotinoide. Der Lichtgenuß der Blätter und die damit verbundene geringere oder höhere Photosyntheseleistung ist entscheidend für die Höhe des Lipochinonspiegels der Chloroplasten. Die Höhe des Carotinoidspiegels wird durch veränderten Lichtgenuß der Blätter nur wenig beeinflußt.

Auch in den Schattenblättern findet nach Abschluß der Pigmentsynthese eine Erhöhung des Lipochinongehaltes statt. Diese ist jedoch

Tabelle 6. Relative Konzentrationen von Pigmenten und Plastidenchinonen in Sonnen- (So) und Schattenblättern (Sch), bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a

|                                     | a   | b  | c  | x  | PQ  | PQ·H <sub>2</sub> | α-T  | α-TQ | K <sub>1</sub> | Chinone |
|-------------------------------------|-----|----|----|----|-----|-------------------|------|------|----------------|---------|
| <i>Aesculus hippocastanum</i> , So  | 100 | 32 | 12 | 28 | 6,5 | 18                | 33   | 3,8  | 2,1            | 63,4    |
| <i>Aesculus hippocastanum</i> , Sch | 100 | 36 | 13 | 30 | 4,9 | 3                 | 18   | 2,4  | 1,9            | 30,2    |
| <i>Fagus sylvatica</i> , So 10. 6.  | 100 | 32 | 19 | 31 | 7,2 | 45                | 53   | 1,8  | 2,0            | 109,0   |
| <i>Fagus sylvatica</i> , Sch 10. 6. | 100 | 38 | 26 | 41 | 8,1 | 6,7               | 19   | 5,1  | 2,7            | 31,6    |
| <i>Fagus sylvatica</i> , So 8. 9.   | 100 | 32 | 13 | 29 | 14  | 73                | 66,5 | 2,9  | 1,4            | 157,8   |
| <i>Fagus sylvatica</i> , Sch 8. 9.  | 100 | 36 | 16 | 27 | 16  | 21                | 37   | 3,1  | 1,2            | 78,3    |
| <i>Tilia cordata</i> , So           | 100 | 32 | 16 | 33 | 15  | 31                | 72   | 7,0  | 2,1            | 127,1   |
| <i>Tilia cordata</i> , Halb-Sch     | 100 | 36 | 21 | 34 | 12  | 22                | 16   | 4,5  | 2,0            | 46,5    |
| <i>Tilia cordata</i> , Sch          | 100 | 36 | 18 | 34 | 6   | 9                 | 6,2  | 1,3  | 1,7            | 24,2    |

geringer als bei Sonnenblättern und entspricht der Lipochinonzunahme, wie sie in älteren Blättern krautiger Pflanzen auftritt. Die Lipochinon-synthese führt wie in Sonnenblättern vorzugsweise zu den reduzierten Chinonformen, Plastohydrochinon und α-Tocopherol. Der jeweilige reduzierte Anteil beider Redoxsysteme ist in den Schattenblättern geringer als in Sonnenblättern.

Die bei Sonnenblättern gefundenen, vom Normaltyp stark abweichenden Plastidenchinonkonzentrationen treten in ähnlicher Art auch bei den perennierenden Blättern mehrjähriger Pflanzen auf (Tabelle 3, *Billbergia*, *Ficus*). Jüngere Blätter dieser Pflanzen entsprechen dagegen den relativen Standardkonzentrationen der Tabelle 5. Auch die grünen Fruchtschalen und die grünen Teile der sonst weißen Zwiebeln weisen in der Regel höhere Lipochinonkonzentrationen als die grünen Blattgewebe auf (Tabelle 3).

*Aureablätter.* Aureaformen sind im Vergleich zu den normalgrünen Pflanzen zwar chlorophyllarm, jedoch mit einem funktionstüchtigen Photosyntheseapparat ausgerüstet (WILLSTÄTTER und STOLL, 1918; SEYBOLD und EGGLE, 1938). Bei Bezugnahme auf die Blattfläche enthalten die hier untersuchten Aureablätter 18—40% des Chlorophyllgehaltes, 50—70% des Carotinoidgehaltes und 70—90% des Plastidenchinongehaltes grüner Blätter. Bei den Carotinoiden sind nicht nur



Gehalte an  $\beta$ -Carotin reduziert (BAUER, 1965), sondern auch jene der Xanthophylle. Die Vitamin K<sub>1</sub>-Gehalte sind dagegen in grünen und in Aureablättern von gleicher Höhe (vgl. EGGER, 1965; LICHTENTHALER, 1962).

Bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a besitzen Aureablätter deutlich höhere Konzentrationen an Carotinoiden und Plastidenchinonen als die Blätter der Normalformen (Tabelle 7). Die Schattenblätter der Aureaformen stellen Übergangsbildungen dar, deren relative Lipidkonzentrationen sich nur wenig von jener normalgrüner Blätter unterscheiden (Tabelle 7, *Acer*).

Tabelle 7. *Relative Konzentrationen von Pigmenten und Plastidenchinonen in Blättern von Aurea- (Au) und normalgrünen Pflanzen (N), bezogen auf 100 Mol Chlorophyll a*

|                               | a   | b  | c  | x  | PQ | PQ·H <sub>2</sub> | $\alpha$ -T | $\alpha$ -TQ | K <sub>1</sub> | Chinone |
|-------------------------------|-----|----|----|----|----|-------------------|-------------|--------------|----------------|---------|
| <i>Buxus japonica</i> , Au    | 100 | 19 | 25 | 66 | 97 | 44                | 115         | 4            | 8              | 268,0   |
| <i>Buxus japonica</i> , N     | 100 | 35 | 14 | 27 | 18 | 10                | 33          | 2            | 1,4            | 64,4    |
| <i>Acer negundo</i> , Au.-So  | 100 | 22 | 31 | 74 | 10 | 29                | 62          | 6            | 6              | 113,0   |
| <i>Acer negundo</i> , Au.-Sch | 100 | 25 | 18 | 38 | 8  | 17                | 36          | 4            | 3,3            | 68,3    |
| <i>Acer negundo</i> , N       | 100 | 32 | 17 | 37 | 7  | 18                | 33          | 4            | 3,0            | 65,0    |

*Photoautotrophe Bakterien.* In den Lipidextrakten photosynthetisch tätiger Bakterien wurden die lipophilen Plastidenchinone nicht aufgefunden. Untersucht wurden *Rhodospirillum rubrum* Nr. 9960, *R. fulvum* Nr. 3060, *Rhodopseudomonas palustris* Nr. 1850 und *Chlorobium thiosulfatophilum* Nr. 6430<sup>1</sup>. Mit Ausnahme von *Chlorobium* wurden Ubichinone (Absorptionsmaxima bei 275 nm) nachgewiesen.

*Pilze.* In keinem Fall konnten Plastochinon 45, Vitamin K<sub>1</sub>,  $\alpha$ -Tocochinon oder  $\alpha$ -Tocopherol nachgewiesen werden. Gefunden wurden jeweils Vertreter der Ubichinone. Untersucht wurden *Saccharomyces cerevisiae*, *Psalliota campestris* und *Hypholoma candoll*. DIPLOCK et al. (1961) geben für *Saccharomyces* und *Psalliota*  $\alpha$ -Tocopherol an. In den eigenen Untersuchungen wurde es nicht aufgefunden. Dagegen tritt eine reduzierende Verbindung mit ähnlichen Eigenschaften wie  $\alpha$ -Tocopherol auf, diese läßt sich jedoch durch zweidimensionale Chromatographie von zugesetztem  $\alpha$ -Tocopherol abtrennen.

<sup>1</sup> Die Bakterien stammen aus der Sammlung von Prof. Dr. N. PFENNIG, Mikrobiologisches Institut der Universität Göttingen.

### Diskussion

Die Chloroplasten der höheren Pflanzen und die Chromatophoren der verschiedenen Algengruppen enthalten immer die 4 fettlöslichen Chinonverbindungen Plastochinon 45,  $\alpha$ -Tocochinon und sein Chromanol  $\alpha$ -Tocopherol sowie das Naphthochinon Vitamin K<sub>1</sub>. Die Hauptkomponenten sind Plastochinon 45 und  $\alpha$ -Tocopherol. Auffallend ist die fast immer ähnlich geringe Konzentration von Vitamin K<sub>1</sub> und  $\alpha$ -Tocochinon. Neben diesen Plastidenchinonen kommen in bedeutend geringerer Konzentration 2 weitere Plastochinone, sowie  $\beta$ - und  $\gamma$ -Tocopherol und die entsprechenden Tocochinone und ein zweites Naphthochinon vor (z. B. ARNON und CRANE, 1965). Der Anteil dieser Lipochinone ist gering und liegt bei jungen funktionstüchtigen Chloroplasten unter 10% des Gesamtchinongehaltes. Bei den meisten Pflanzen ist der Lipochinongehalt von ähnlicher Höhe wie der Carotinoidgehalt. In der Synthese dieser beiden isoprenoiden Stoffgruppen besteht also eine deutliche Parallelität. Allerdings unterliegen die Plastidenchinongehalte unter dem Einfluß modifizierender Umweltfaktoren stärkeren Schwankungen als die Carotinoide.

Plastochinon 45 ist bei allen untersuchten Pflanzen verschiedener systematischer Stellung immer teilweise in der reduzierten Form vorhanden. Der Hydrochinonanteil beträgt in der Regel 30—70% des Plastochinongehaltes. Wegen des meist nicht erfaßten Hydrochinonanteils, sind viele der bisher veröffentlichten Plastochinonwerte mit Vorsicht zu betrachten, da sie nicht repräsentativ für den Gesamtplastochinongehalt der Chloroplasten stehen. In einigen Pflanzen wurde Plastochromanol, die cyclische Form des reduzierten Plastochinon 45 nachgewiesen (DUNPHY et al., 1965; WHITTLE et al., 1965). Bei kurzer und schonender Lipochinonanalyse konnte in den eigenen Untersuchungen Plastochromanol nicht nachgewiesen werden. Die für Plastochromanol angegebenen Rf-Werte entsprechen jenen von Plastohydrochinon 45, aus dem es nach dessen Isolierung durch Ringschluß entstanden sein könnte.

Das Fehlen der lipophilen Plastidenchinone bei Pilzen ist ein weiterer Nachweis für die Lokalisation der Plastidenchinone in Chloroplasten und Chromatophoren. Da die Pilze nur Vertreter aus der Ubichinongruppe enthalten, stellen sie hinsichtlich ihrer Lipochinonzusammensetzung eine ähnlich isolierte, ursprüngliche Gruppe dar, wie die photosynthetisch tätigen Bakterien. Die Synthese von Plastochinon 45, Vitamin K<sub>1</sub>,  $\alpha$ -Tocochinon und  $\alpha$ -Tocopherol erfolgte offensichtlich erst bei einem späteren Evolutionsschritt der Organismen. Die lipophilen Plastidenchinone treten während der Evolution als Bestandteil des Photosyntheseapparates gleichzeitig mit Chlorophyll a und  $\beta$ -Carotin auf, zu einem Zeitpunkt, wenn bei der Photosynthese Wasser photolytisch gespalten und Sauerstoff freigesetzt wird. Die relativen Konzentrationen der

Plastidenchinone sind bei allen untersuchten grünen Pflanzen von ähnlicher Höhe. Die Chloroplasten älterer Blattgewebe, besonders in sonnenexponierten Blättern, enthalten die lipophilen Benzochinone in hohem Überschuß. Diese überschüssigen Plastidenchinone werden nicht in den photochemisch aktiven Thylakoiden, sondern extrathylakoidal in den osmiophilen Plastoglobuligespeichert (LICHTENTHALER, 1966 b; LICHTENTHALER und SPREY, 1966).

Plastochinon 45 ist direkt mit der zweiten Lichtreaktion der Photosynthese verbunden, die zur Entwicklung von Sauerstoff führt und auch am cyclischen Elektronentransport der Photophosphorylierung beteiligt (ARNON und HORTON, 1963; ARNON und CRANE, 1965; WITT et al., 1965). Welche Funktion der anderen Lipochinone der Chloroplasten zukommt, ist noch unbekannt. Wahrscheinlich katalysieren sie als Elektronenüberträger ebenfalls photosynthetische Primärprozesse oder damit gekoppelte Sekundärreaktionen. Möglicherweise können sie unter besonderen Bedingungen andere Kofaktoren des photosynthetischen Elektronentransports z. B. das Ferredoxin ersetzen (vgl. ARNON und CRANE, 1965). In den Chloroplasten und Chromatophoren aller untersuchten Pflanzen ist die Synthese von Plastochinon 45 und  $\alpha$ -Tocopherol begünstigt. Vitamin  $K_1$  und  $\alpha$ -Tocochinon kommen dagegen in ähnlich geringer Konzentration vor wie z. B. die Cytochrome f und  $b_6$  (DAVENPORT und HILL, 1952; LUNDEGARDH, 1962), das  $P_{700}$  (WITT, 1965) und Mangan (PARK und PON, 1963; LICHTENTHALER und PARK, 1963). Dies spricht für eine Funktion dieser beiden Chinone im Photosynthesystem. Auch der am Elektronentransport beteiligte Anteil von Plastochinon 45 ist geringer als der Gesamtgehalt (AMESZ, 1964; WITT, 1965). Vitamin  $K_1$  kommt in thylakoidfreien Plastidenstadien und in den Plastoglobuli in noch geringerer Konzentration als in Chloroplasten vor (LICHTENTHALER, 1968; LICHTENTHALER und SPREY, 1966). Es ist daher fast ausschließlich in den Thylakoiden lokalisiert. Untersuchungen an Digitoninfraktionierten Chloroplasten lassen erkennen, daß Vitamin  $K_1$  mit den Partikeln der ersten Lichtreaktion der Photosynthese assoziiert ist (TEVINI und LICHTENTHALER, in Vorbereitung). Möglicherweise ist Vitamin  $K_1$  der in vivo-Katalysator der cyclischen Photophosphorylierung, die in vitro durch wasserlösliche Naphthochinone stimuliert wird (ARNON, 1961; TREBST, 1964).

### Zusammenfassung

Die Verbreitung und Konzentration der lipophilen Plastidenchinone wurde in Pflanzen verschiedener systematischer Stellung untersucht.

1. Die lipophilen Plastidenchinone (Plastochinon 45,  $\alpha$ -Tocochinon,  $\alpha$ -Tocopherol und Vitamin  $K_1$ ) besitzen ubiquitäre Verbreitung bei höheren Pflanzen, Rot-, Grün-, Braun- und Blaugrünen Algen. Die photoauto-

trophen Bakterien und die Pilze besitzen keine der vorgenannten Plastidenchinone.

2. Die relativen Konzentrationen der Plastidenchinone und Carotinoide liegen innerhalb bestimmter Grenzkonzentrationen, die für die Pflanzen verschiedener systematischer Stellung relativ ähnlich sind. Ausgenommen hiervon sind die sonnenexponierten Blätter der Bäume und Sträucher, die älteren Blätter perennierender Pflanzen und die Aureablätter. Carotinoide und Plastidenchinone liegen in der Regel in ähnlicher Konzentration vor.

3. Plastochinon 45 und  $\alpha$ -Tocopherol kommen bei allen Pflanzen in höherer Konzentration vor als  $\alpha$ -Tocochinon und das Naphtochinon Vitamin K<sub>1</sub>. Plastochinon 45 liegt bei den meisten Pflanzen zu 50—70 % als Hydrochinon vor. Das lipophile Redoxsystem  $\alpha$ -Tocochinon/Tocopherol ist zu 80—90 % in der reduzierten Form ( $\alpha$ -Tocopherol) vorhanden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für ihre Unterstützung. Dank gilt Herrn Dr. O. WISS (Hoffmann-La Roche, Basel) für die Überlassung von Lipochinonen, Herrn Prof. Dr. N. PFENNIG (Mikrobiologisches Institut, Göttingen) für die Bakterienstämme und Fräulein GERTRUD BRUNN für technische Mitarbeit.

### Literatur

- AMESZ, J.: Spectrophotometric evidence for the participation of a quinone in photosynthesis of intact blue-green algae. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **79**, 257—265 (1964).
- ARNON, D.I.: Role of vitamin K and other quinones in photosynthesis. *Fed. Proc.* **20**, 1012—1022 (1961).
- , and F.L. CRANE: Role of quinones in photosynthetic reactions. In: *Biochemistry of Quinones* (R.A. MORTON, ed.), S. 433—455. London and New York: Academic Press 1965.
- , and A.A. HORTON: Site of action of plastoquinone in the electron transport chain of photosynthesis. *Acta chem. scand.* **17**, 135—139 (1963).
- BAUER, A.: Beiträge zur Pigmentphysiologie der Blätter von Aureavarietäten. *Beitr. Biol. Pflanzen* **32**, 403—426 (1956).
- BUCKE, C., M. HALLAWAY, and R.A. MORTON: Tocopherolquinone from holly leaves. *Biochem. J.* **90**, 41P (1964).
- CARR, N.G., and M. HALLAWAY: Quinones of some blue-green algae. In: *Biochemistry of chloroplasts I* (T.W. GOODWIN, ed.), S. 159—163. London and New York: Academic Press 1965.
- DAVENPORT, H.E., and L. HILL: Preparation of cytochrom f from parsley. *Proc. roy. Soc. B* **139**, 327—345 (1952).
- DILLEY, R.A., and F.L. CRANE: Subcellular distribution of  $\alpha$ -tocopherol in spinach and lilac leaf tissue. *Plant Physiol.* **38**, 452—456 (1963).
- DIPLOCK, A.T., J. GREEN, E.E. EDWIN, and J. BUNYAN: Tocopherol, ubiquinones and ubichromanols in yeast and mushrooms. *Nature* (Lond.) **189**, 749—750 (1961).
- DUNPHY, P.J., K.J. WHITTLE, and J.F. PENNOCK: Plastochromanol. In: *Biochemistry of chloroplasts I* (T.W. GOODWIN, Ed.), S. 164—171. London and New York: Academic Press 1965.
- EGGER, K.: Verbreitung von Vitamin K<sub>1</sub> und Plastochinon in Pflanzen. *Planta* (Berl.) **64**, 41—61 (1965).

- EMMERIE, A., and C. ENGEL: The tocopherol (vitamin E) content of foods and its chemical determination. *Z. Vitaminforsch.* **13**, 259—266 (1943).
- GREEN, D. E., and G. P. BRIERLEY: The role of coenzyme Q in electron transfer. In: *Biochemistry of quinones* (R. A. MORTON, Ed.), S. 405—431. London and New York: Academic Press 1965.
- HENNINGER, M.-D., H. N. BHAGAVAN, and F. L. CRANE: Comparative studies on plastoquinones I. Evidence for three quinones in the blue green alga *Anacystis nidulans*. *Arch. Biochem.* **110**, 69—74 (1965).
- , and F. L. CRANE: Isolation of plastoquinone C and D from spinach chloroplasts. *Plant Physiol.* **39**, 598—602 (1964).
- LESTER, R. L., and F. L. CRANE: The natural occurrence of coenzyme Q and related compounds. *J. biol. Chem.* **234**, 2169—2175 (1959).
- LICHTENTHALER, H. K.: Vergleichende Bestimmungen der Vitamin K<sub>1</sub>-Gehalte in Blättern. *Planta (Berl.)* **67**, 731—753 (1962).
- Verbreitung und Konzentration des  $\alpha$ -Tocopherols in Chloroplasten. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **79**, 111—117 (1966a).
- Plastoglobuli und Plastidenstruktur. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **79**, 82—88 (1966b).
- Untersuchungen über die Lipochinon- und Pigment-Zusammensetzung des Photosyntheseapparates. *Habil.-Schr. Münster* 1967.
- Verbreitung der lipophilen Plastidenchinone in nicht-grünen Pflanzengeweiben. *Z. Pflanzenphysiol.* (1968) (im Druck).
- , and M. CALVIN: Quinone and pigment composition of chloroplasts and quantasomes aggregates from *Spinacia oleracea*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **79**, 30—40 (1964).
- , and R. B. PARK: Chemical composition of chloroplast lamellae from spinach. *Nature (Lond.)* **198**, 1070—1072 (1963).
- , u. B. SPREY: Über die osmiophilen globulären Lipideinschlüsse der Chloroplasten. *Z. Naturforsch.* **21b**, 690—697 (1966).
- LUNDEGARDH, H.: Quantitative relations between chlorophyll and cytochromes in chloroplasts. *Physiol. Plant.* **15**, 390—398 (1962).
- PARK, R. B., and N. G. PON: Chemical composition and substructure of lamellae isolated from *Spinacia oleracea* chloroplasts. *J. molec. Biol.* **6**, 105—114 (1963).
- SEYBOLD, A., u. K. EGGLE: Lichtfeld und Blattfarbstoffe II. *Planta (Berl.)* **28**, 87—123 (1938).
- TREBST, A.: Neuere Vorstellungen über den Mechanismus der Photosynthese. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **75**, 123—142 (1964).
- WHITTLE, K. J., P. J. DUNPHY, and J. F. PENNOCK: Plastochromanol in the leaves of *Hevea brasiliensis*. *Biochem. J.* **96**, 17C—19C (1965).
- WILLSTÄTTER, R., u. A. STOLL: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin: Springer 1918.
- WITT, H. T., B. RUMBERG, P. SCHMITT-MENDE, U. BIGGEL, B. SHERRA, J. VATER u. J. WEIKARD: Über die Analyse der Photosynthese mit Blitzlicht. *Angew. Chem.* **77**, 821—842 (1965).

Priv.-Dozent Dr. H. K. LICHTENTHALER  
 Botanisches Institut der Universität  
 44 Münster, Schloßgarten 3