

Seneszenz bei Pflanzen und ihre Bedeutung für den Stickstoff-Haushalt**

Philippe Matile*

Senescence is a vitally important process accompanying the development of plants. Degradative processes occurring in senescent leaves represent a basis for the reutilization of nutrients in other parts of the plant. This is particularly important regarding nitrogen which is continuously displaced from senescent into growing organs until it is finally accumulated in the reserve proteins of storage tissues, e.g. of seeds. The breakdown of protein in living senescent cells is an unsolved problem of subcellular organization of metabolism. Another unsolved problem is the conspicuous breakdown of chlorophyll in the yellowing senescent leaves. Although it is unknown at the moment whether the four nitrogen atoms of the chlorophyll molecule are reutilized, the recent discovery of non-green catabolites of chlorophyll may eventually help to elucidate the enigmatic disappearance of chlorophyll in senescent leaves.

1. Einleitung

Bei vielen einjährigen Pflanzen beginnt mit der Blüte die Alterung im ganzen Pflanzenkörper, am Ende der Samenreife stirbt der vegetative Teil der Pflanze ab. Der Fortbestand der Art ist aber gesichert: Die mit Reservestoffen wohlversehenen Samen sind die Grundlage für eine neue Population von Pflanzen in der nächsten Vegetationsperiode.

Ähnliche Fälle von programmiertem Tod kommen ausnahmsweise auch in der Tierwelt vor; so stirbt beim pazifischen Lachs die gesamte fortpflanzungsfähige Generation nach Eiablage und Besamung^[1]. Derartige Fälle sind freilich nur bedingt vergleichbar mit dem kollektiven Tod ganzer Populationen von einjährigen Pflanzen. Beim Lachs stehen Seneszenz und Tod in keinem notwendigen Zusammenhang mit erfolgreicher Fortpflanzung und Erhaltung der Art, wohl aber bei einjährigen Pflanzen wie Weizen, Soja, Raps.

Wesentlich ist bei den Pflanzen nicht der Tod, sondern der ihm vorangehende Entwicklungsprozess, die Seneszenz.

2. Seneszenz und Umweltverteilung des Stickstoffs

Seneszenz ist bei Pflanzen alles andere als blosse Ermattung der Lebenstätigkeit, vielmehr die abschliessende Entwicklungsphase von Organen, in welcher wertvolle Teile des Stoffbestandes abgebaut, mobilisiert und zur Wiederverwertung in die Pflanze zurückgezogen werden. Mit einigen chemischen Elementen gehen die Pflanzen erstaunlich haushälterisch um, insbesondere mit Stickstoff, der an vielen Standorten als ein das Wachstum limitierendes Nährelement fungiert.

Aus alternden Blättern werden ein erheblicher Teil des in Protein und Nucleinsäuren investierten Stickstoffs, aber auch andere Elemente wie Phosphor, Schwefel, Kalium und Magnesium zurückgewonnen.

Bei einsetzender Seneszenz verwandeln sich Blätter in Quellen organischen Stickstoffs, nachdem sie in der grünen Phase der Entwicklung Quellen des photosynthetisch produzierten organischen Kohlenstoffs gewesen waren, und versorgen die sich entwickelnden Fruchtstände. Äusserlich sichtbares Zeichen ist die Vergilbung, der



Philippe Matile: Geboren 1932 in St. Gallen. Studium der Naturwissenschaften an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich; 1956 Dr. sc. nat. mit Promotionsarbeit in Allgemeiner Botanik. 1956–1959 Lehrer an der Auslandschweizerschule Florenz. 1959–1962 Assistent am Institut für Allgemeine Botanik der ETH Zürich; Habilitation 1962. Stipendiat des Schweizerischen Nationalfonds am Rockefeller Institute in New York 1962–1963. 1964 Assistenzprofessor für Pflanzenphysiologie an der ETH Zürich; 1970–1985 ordentlicher Professor. Seit 1985 Ordinarius für Pflanzenbiologie an der Universität Zürich. – Forschungsgebiete: Kompartimentierung des Stoffwechsels in der Pflanzenzelle, insbesondere Lokalisation und Funktion von Hydrolyasen, Biochemie und Funktion der Vakuole, Kompartimentierung von Sekundärstoffen, Physiologie der Seneszenz, Abbau des Chlorophylls.

allmähliche Abbau des Chlorophylls, unsichtbar sind die mengenmässig bedeutenderen Gewinne von Stickstoff aus dem Abbau des Blattproteins. Jedenfalls geht aus der in Fig. 1 gezeigten Stickstoff-Bilanz einer Haferpflanze^[2] deutlich hervor, dass der Stickstoff in den Infloreszenzen, d. h.

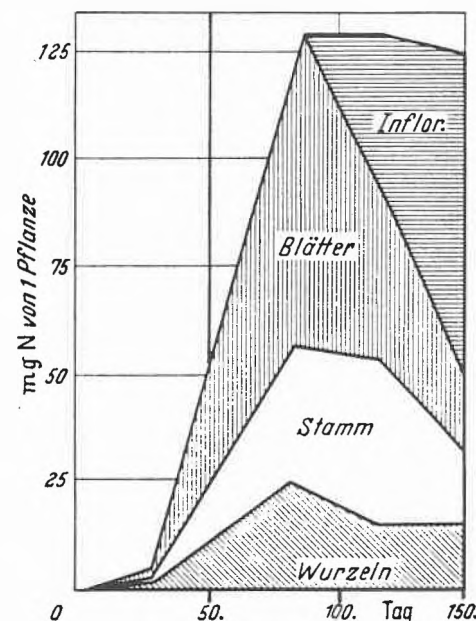


Fig. 1. Stickstoffgehalte einer Haferpflanze während der Entwicklung. Nach Ausbildung der Infloreszenz unterbleibt die weitere Zunahme von Gesamt-N. Die Infloreszenz vermehrt ihren Stickstoff auf Kosten der Blätter, der Achsen und selbst der Wurzeln (nach Williams, aus^[2]).

* Korrespondenz: Prof. Dr. P. Matile
Institut für Pflanzenbiologie
Universität Zürich
Zollikerstrasse 107
CH-8008 Zürich

** Nach einem Vortrag beim Jubiläumsfest 100 Jahre Schweizerische Gesellschaft für Analytische und Angewandte Chemie (SGAAC) am 23. Oktober 1987 in Basel.

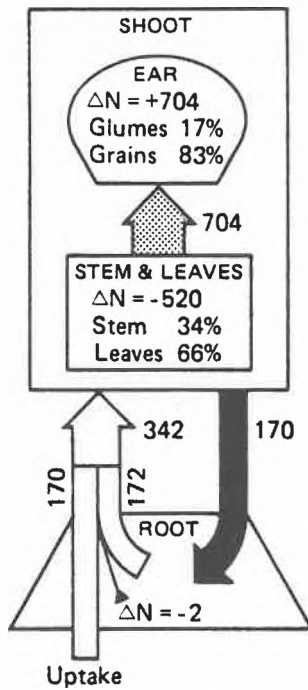


Fig. 2. Modell zur Verlagerung des Stickstoffs in einer Weizenpflanze (cv Condor) am 7. Tag nach Blühbeginn. Schwarzer Pfeil: Transport von N (μg pro Tag und Pflanze) im Phloem; weisser Pfeil: Transport im Xylem; punktierter Pfeil: Verlagerung in die Spelzen und Körner. ΔN : Änderungen der Stickstoffgehalte in den drei Organbereichen (aus^[4]).

zuletzt im Reservee weiss der Samen, aus Blättern, Stengel und teilweise sogar aus den Wurzeln stammt.

Die Geschichte der Umlagerung von Stickstoff im Verlauf der Entwicklung einjähriger Pflanzen ist indessen viel verwickelter als es die einfache Bilanz vortäuscht. Bei Gerstenpflanzen beginnt die Seneszenz im ersten Blatt bereits 8–10 Tage nach der Keimung; das Blattprotein wird allmählich abgebaut und der Stickstoff in die Folgeblätter verlagert. Die Seneszenz setzt also bereits in der jungen Pflanze ein. Bei vielen einjährigen Gräsern hört die Nährstoffaufnahme durch die Wurzeln nach der Blüte allmählich auf, und die ganze weitere Entwicklung der Pflanze, insbesondere die Füllung der Körner mit Speicherprotein, geschieht fast ausschliesslich durch Umverteilung, d. h. basiert letztlich auf Seneszenz und den damit einhergehenden Abbauprozessen.

Wie wirkungsvoll Seneszenz und Wachstum zusammenspielen, zeigt eine Untersuchung von Mei und Thimann^[3] an Haferpflanzen unter extremem Stickstoffmangel. Ohne jegliche Zufuhr von Stickstoff entwickelten sich in 42 Tagen Kümmerpflanzen mit je einem einzigen Samen. Durch Umverteilung des anfänglichen Vorrats gelingt offenbar selbst unter derartigen Hungerbedingungen ein vollständiger Entwicklungszyklus und somit die Sicherung des Fortbestandes der Art.

Moderne Methoden zur Analyse und Modellierung der Stoff-Flüsse in Pflanzen verhelfen zu einer Vorstellung (Fig. 2) von der Rezirkulation des Stickstoffs, welche die ganze Entwicklung der Pflanzen begleitet^[4]. Detailliertere Modelle zeigen, wie auch innerhalb der Organbereiche dauernd Umverteilungen stattfinden, etwa von den älteren in die jüngeren Blätter, oder, in der Blütenregion, von den Spelzen in die Körner. Bemerkenswert ist dabei eine Besonderheit des pflanzlichen Stofftransports. Sie besteht darin, dass sich die zwei Transportsysteme der Leitbündel, das Phloem und das Xylem, in die Aufgabe der Umverteilung des Stickstoffs teilen. Als Folge davon gelangen die mit dem Transpirationswasser im Xylem transportierten Stoffe nicht unmittelbar in die auf Stoffimport angewiesenen Pflanzenteile und müssen laufend von einem Transportgewebe zum anderen umgeladen werden. Während der ganzen Entwicklung findet eine unaufhörliche komplizierte Zirkulation in den Stoffleitungsbahnen statt (Fig. 3)^[5].

Zahlreiche Pflanzenarten haben kurzlebige Blüten, deren Petalen oft wenige Stunden nach dem Aufblühen bereits zu altern beginnen. Auch hier bedeutet Seneszenz unter anderem Mobilisation des Proteins und Rücktransport von Wertstoffen in andere Pflanzenteile^[6]. Bei der Prunkwinde *Ipomoea purpurea* kann eine einzelne Pflanze im Laufe der Vegetationszeit hun-

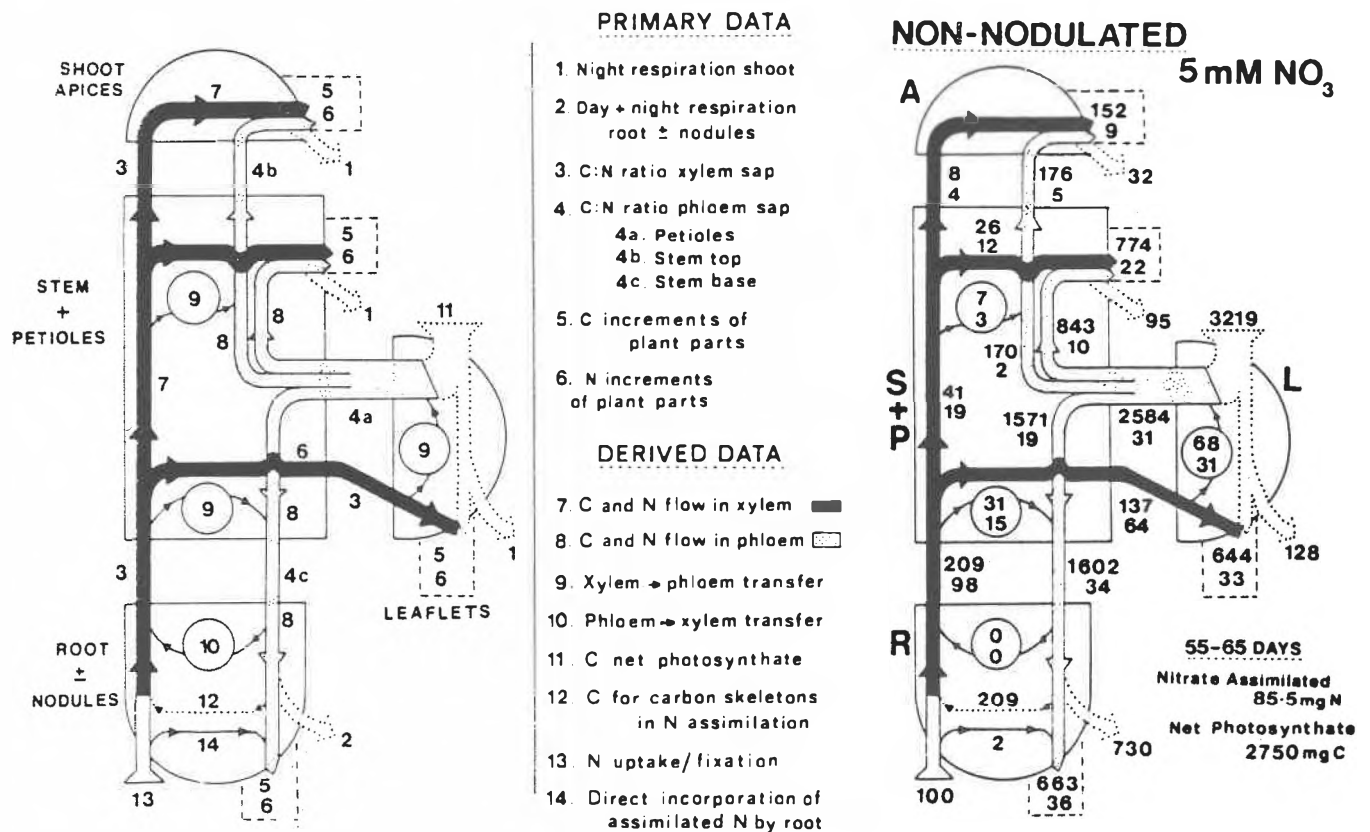


Fig. 3. Modellierung der Flüsse von Kohlenstoff und Stickstoff in einer nicht nodulierten, mit Nitrat ernährten Pflanze von *Lupinus albus* im Alter zwischen 55–65 Tagen. Der gleichzeitige Stofftransport im Xylem (schwarz) und Phloem (weiss) bedingt Umlagerungen von einer Transportbahn auf die andere (eingekreiste Zahlen). R: Wurzel; S + P: Stengel und Blattstiele; L: Blätter; A: wachsende Sprossspitze (aus^[5]).

derte von Blüten hervorbringen. Wieviel die Seneszenz der Blütenhülle zum Stoffhaushalt der Pflanze beiträgt, zeigte ein Experiment, bei dem die grossen trichterförmigen Korollen unmittelbar nach dem Aufblühen, also noch vor Seneszenz und Rücktransport, entfernt wurden. Unter diesen Bedingungen ging die Zahl der gebildeten Blüten im Vergleich mit den Kontrollpflanzen um rund ein Drittel zurück^[7].

Äusserlich sichtbares Zeichen der Blattseneszenz ist die Vergilbung; noch viel schneller als Chlorophyll verliert das alternde Blatt jedoch die photosynthetische Aktivität. Immer bezogen auf einjährige Pflanzen, zu denen sehr viele Kulturpflanzen gehören, ist zwar die Seneszenz unerlässlich für die Rezirkulation des Stickstoffs, gleichzeitig aber eine Einbusse hinsichtlich der CO₂-Fixierung. Was für einjährige Pflanzen gilt, trifft auch für die perennierenden zu. Laubwerfende Bäume bauen im Herbst nicht nur das Chlorophyll fast vollständig ab, sondern auch etwa 60% des Blattproteins und speichern den zurückgewonnenen Stickstoff bis zum Austrieb im folgenden Frühjahr in den Reservegeweben der Äste. In analoger Weise steht die Blattseneszenz bei Geophyten mit der Speicherung des Stickstoffs in Zwiebeln, Wurzelknollen und Rhizomen während der Ruheperiode in Verbindung.

Die Seneszenz spielt also bei Pflanzen stets eine wichtige und einleuchtende Rolle in der Gesamtentwicklung. Sie ist eine lebensnotwendige Schlussphase der Organentwicklung.

3. Seneszenz als regulierter Entwicklungsprozess

Es ist in Anbetracht dieser wichtigen Rolle der Seneszenz beinahe selbstverständlich, dass sie alles andere ist als ein unkontrolliert ablaufender allgemeiner Zusammenbruch des Bestehenden. Schon die Tatsache, dass bei einigen Pflanzenarten die Blattvergilbung reversibel ist – zumindest während den ersten Tagen der Seneszenz^[8] – zeigt, dass der Prozess völlig unter Kontrolle sein muss. Hält man sich ferner vor Augen, dass an den Proteinabbau sich die energieaufwendige Synthese von Glutamin und Asparagin, der bevorzugten Transportformen für den Stickstoffexport aus dem alternden Blatt, anschliesst, wird klar, dass die Blattzellen für die Bewältigung dieses Stoffwechsels intakt sein müssen. Beispielsweise sind funktionsfähige Mitochondrien für die Bereitstellung von ATP unerlässlich.

Wie alle anderen Entwicklungsprozesse ist auch die Seneszenz von Proteinsynthese abhängig. Zwar kennt man vorläufig noch keine Proteine oder an bestimmte Proteine gebundene Funktionen, die seneszenzspezifisch sind. Aber es sind Seneszenzgene bekannt, beispielsweise ein Gen^[9] des Wiesenschwiegels *Festuca pratensis*, dessen

Expression für den normalen Abbau des Chlorophylls mitverantwortlich ist: Pflanzen mit dem mutierten Gen «Sid» (Abkürzung für «senescence induced deficiency») unterscheiden sich dadurch vom Wildtyp, dass die alternden Blätter bei sonst normalen Abbauprozessen grün bleiben^[10]. Experimentell kann die Rolle der Proteinsynthese sehr einfach demonstriert werden. Blockiert man die cytoplasmatische Proteinsynthese mit geeigneten Hemmstoffen, wird die Abwicklung des ganzen Seneszenzprogramms verhindert oder stark verzögert^[11-13]. Das ist insofern bemerkenswert, als in den seneszierenden Blättern Proteinsynthese mit einer Phase schnellen Proteinabbaus zusammenfällt. Das Nebeneinander von Proteinsynthese und Proteinabbau in den einzelnen Blattzellen ist ein weiterer Beleg für Regulation und Kontrolle des Prozesses.

Kontrolle zeigt sich auch hinsichtlich der Beteiligung von Wachstumsregulatoren. Besonders berühmt geworden sind die Cytokinine, Hormone, welche in den Wurzeln synthetisiert werden und unter anderem die Erhaltung eines jugendlichen Zustands in den Blättern bewirken^[2]. Die Behandlung isolierter Blätter mit Cytokinin bewirkt, dass sie selbst unter Bedingungen tagelang grün bleiben, z. B. im Dauerdunkel, unter welchen sonst eine rasche Vergilbung stattfindet. An abgefallenen Blättern von Laubbäumen sind oft grün gebliebene Inseln zu beobachten, die sich als Zentren von Pilzinfektionen erweisen. Gewisse Pilze produzieren cytokininartige Stoffe, mit denen sie in die Regulation der Blattseneszenz eingreifen und sich über den Blattfall hinaus eine gute Nährstoffquelle erhalten^[14]. Eine hervorsteckende Wirkung des Cytokinins ist die Verzögerung des Proteinabbaus bei gleichzeitig weiterlaufender Proteinsynthese. Die in den vergilbenden Blatt-Teilen durch Proteinabbau freigesetzten Aminosäuren werden dadurch teilweise in den grünen Inseln wieder in Protein eingebaut. Die Signalübermittlung

zwischen dem Hormon und der biochemischen Maschinerie der Zellen ist bisher nicht geklärt.

Ein anderer Wachstumsregulator, die Abscisinsäure, bewirkt das Gegenteil: er beschleunigt die Seneszenz. Man nimmt an, dass er als Hormon die Korrelation zwischen Samenbildung und Blattseneszenz vermittelt, aber die strengen Beweise stehen noch aus. Der seneszenzinduzierende Effekt ist jedoch an isolierten Blättern leicht demonstrierbar. Bei Soyabohnen verursacht das Wegschneiden der jungen Früchte eine starke Verzögerung der Blattseneszenz, ein Hinweis darauf, dass jedenfalls ein Signal von den Früchten ausgeht und in den Blättern die Proteinmobilisation und somit die Umverteilung des Stickstoffs induziert^[15].

Die Applikation von Wachstumsregulatoren und Beobachtung ihrer Wirkung auf die Blattseneszenz ist selbstverständlich viel einfacher als die Messung der endogenen Gehalte. Wenige Forscher haben sich der Mühe unterzogen, die Regulation der Seneszenz anhand der Hormongehalte zu untersuchen, fanden jedoch erwartungsgemäss, dass die Induktion der Seneszenz mit tiefen Gehalten von Cytokinin und hohen von Abscisinsäure einhergeht^[16]. Auch ist Alterung stets mit einer erhöhten Produktion von Ethylen, einem prominenten Beschleuniger der Seneszenz, verbunden. Ob auch der zuletzt entdeckte, sehr wirkungsvolle Promotor Methyljasmonat^[17] eine Rolle bei der natürlichen Blattseneszenz spielt, ist noch nicht bewiesen worden. Die Behandlung abgeschnittener Gerstenblätter mit Methyljasmonat in physiologisch relevanter Konzentration bewirkt den drastisch beschleunigten Abbau von Protein (Fig. 4) und Chlorophyll^[18].

Behandlungen von Blättern mit Wachstumsregulatoren bewirken stets eine gleichsinnige Entwicklung bei allen Seneszenzparametern. Die verschiedenen Teilprozesse lassen sich experimentell nicht voneinander trennen. Wenn ein Blatt ra-

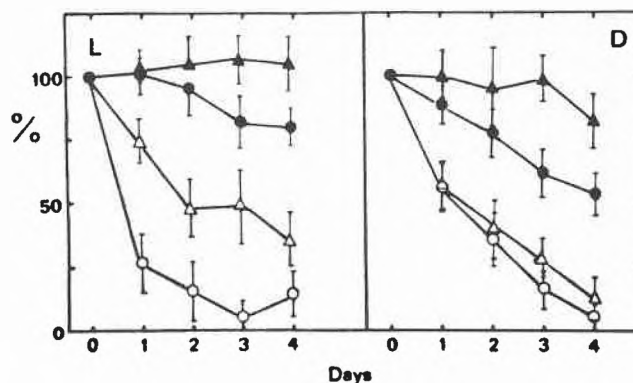


Fig. 4. Zeitverlauf der Aktivität von Ribulosebiphosphat-carboxylase in Blattsegmenten von Gerste unter dem Einfluss von Jasmonsäure-methylester. Die Blattsegmente schwammen auf Wasser (●), 45 μM Methyljasmonat (○), 45 μM Benzyladenin, einem synthetischen Cytokinin (▲), oder einer Lösung mit beiden Effektoren (△) im Licht (L) oder im Dauerdunkel (D) (aus^[18]).

scher vergilbt, baut es auch sein Protein rascher ab. Man spricht deshalb vom Seneszenzsyndrom und meint damit ein Entwicklungsprogramm, das sich in den verschiedensten Bereichen des Stoffwechsels manifestiert und vermutlich einer zentralen genetischen Steuerung unterliegt.

4. Seneszenz und Zellkompartimentierung

Seneszenz von Blattzellen bedeutet Auflösung bei lebendigem Leib. Damit der Prozess unter Kontrolle bleibt, müssen die Zellen intakt bleiben, obwohl ihr Inhalt weitgehend abgebaut wird. Tatsächlich kann man sich leicht davon überzeugen, dass die durch Membranen gewährleistete räumliche Organisation in den Zellen bis zum Ende der Seneszenz erhalten bleibt. Die für abgestorbene Blätter typische Verbräunung zeigt den Zusammenbruch der Kompartimentierung an. Für die Verbräunungsreaktion ist das in den Chloroplasten lokalisierte Enzym Polyphenoloxidase verantwortlich; es ist in den intakten Zellen durch die Chloroplastenhülle und die Vakuolenmembran von den Substraten, den Polyphenolen des Zellsafts, getrennt. Offenbar verlieren die Membranen erst am Ende der Seneszenz die Semipermeabilität, so dass es zum Kontakt zwischen Enzym und Substrat kommt.

Ob auch das Nebeneinander von Proteinsynthese und Proteinabbau durch Verteilung der Prozesse auf verschiedene Zellkompartimente erklärt werden kann, ist noch eine offene Frage. Jedenfalls wurden die verschiedensten Verdauungsenzyme, unter anderem Proteasen, die für den Abbau des Blattproteins in Frage kommen, in einem besonderen Zellraum, der Vakuole, lokalisiert^[19, 20]. Dieses grösste membranumschlossene Kompartiment der Pflanzenzellen hat somit den Charakter eines Lysosoms. Allerdings ist bisher völlig ungeklärt, auf welche Weise die potentiellen Substrate, die cytoplasmatischen Proteine oder gar die Proteine der Chloroplasten, im Laufe der Seneszenz den Weg in die Vakuolen finden könnten. Die Chloroplasten verdienen besondere Beachtung, weil sie sehr proteinreich sind. Auch geht der Proteinverlust in grünen Blättern während der ersten Phase der Seneszenz auf das Konto der löslichen Chloroplastenproteine. Quantitativ ist ein einziges Protein, die Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/oxygenase (Rubisco), hauptsächlich für den Proteinschwund verantwortlich. Rubisco ist mit Abstand das häufigste Protein in der Natur; nicht weniger als die Hälfte des gesamten löslichen Blattproteins besteht aus diesem Schlüsselenzym der photosynthetischen CO₂-Fixierung.

Man könnte sich vorstellen, dass ganze Chloroplasten im Laufe der Seneszenz in die Vakuolen eingeschleust und dort ver-

daut werden. Ein derartiges Prinzip der intrazellulären Verdauung wäre einleuchtend, weil die räumliche Trennung durch Membranen das Nebeneinander von Proteinhydrolyse in der Vakuole und Proteinsynthese im Cytoplasma in ein und derselben Zelle ermöglichen würde. Tatsächlich schien in den Zellen alternder Weizenblätter die Zahl der Chloroplasten etwa im selben Mass abzunehmen wie der Gehalt an Rubiscoprotein und Chlorophyll^[21], aber Wiederholungen der Messungen ergaben, dass dies nicht zutrifft. Heute steht fest, dass mit der Blattseneszenz lediglich eine tiefgreifende Verwandlung der Chloroplasten einhergeht, die Organellen aber als sogenannte Gerontoplasten erhalten bleiben^[22, 23]. Wie in Fig. 5 gezeigt wird, verändert sich die Zahl der Plastiden pro einzelne Blattzelle nur unwesentlich während des fast völligen Verschwindens von Rubiscoprotein und Chlorophyll. Die Abbauvorgänge könnten daher in den Chloroplasten selbst stattfinden – eine Vorstellung, die das Verständnis der Seneszenzkontrolle nicht gerade erleichtert. Zwar sind proteolytische Aktivitäten in Chloroplasten nachgewiesen worden; weder ihre Beteiligung am Proteinabbau im Laufe der Seneszenz, noch die Regulation und Kontrolle ihrer Aktivität sind jedoch bisher nachgewiesen und aufgeklärt worden. So ist denn zur Zeit der für die Pflanzenentwicklung so bedeutungsvolle Proteinabbau ein ungelöstes Rätsel – nicht das einzige übrigens, wie die folgenden Bemerkungen zum Chlorophyllabbau darlegen.

5. Rätsel des Chlorophyllabbaus

Wenn von der Zirkulation des Stickstoffs die Rede ist, stellt sich unweigerlich die Frage nach dem Schicksal der vier N-Atome, die beim Abbau des Porphyrinrings der Chlorophylle (Fig. 6) «frei» werden. Zwar enthält das Blattprotein 20–30mal mehr Stickstoff als das Chlorophyll, aber es kann doch in Anbetracht des häuslicheren Umgangs der Pflanzen mit Stickstoff erwartet werden, dass auch der Porphyrin-Stickstoff zurückgewonnen wird.

Erstaunlicherweise ist fast nichts bekannt über die Biochemie des Chlorophyllabbaus in alternden Blättern. Das Chlorophyll verschwindet in den vergilbenden Blättern scheinbar ohne Hinterlassung von Spuren. Es ist geschätzt worden, dass weltweit etwa 10⁹ t Chlorophyll jährlich verschwinden. Das herbstliche Vergilben der Bäume ist ein derart eindrückliches Naturphänomen, dass die Wissenslücke hinsichtlich des biochemischen Hintergrunds bemerkenswert ist. Die Lücke hat mehrere Ursachen. Eine der wichtigsten kann darin gesehen werden, dass es bis heute nicht gelungen ist, den Porphyrinteil des Chlorophylls mit Isotopen spezifisch zu markieren; es fehlt somit eine wesentliche Voraussetzung für das Auffinden von Zwischen- und Endprodukten, d. h. für die Beschreibung des Abbauwegs.

Verschiedentlich wurden in seneszenten Blättern Derivate von Chlorophyll a in Spuren nachgewiesen: Phaeophytin, Phaeophorbid, Pyropheophorbid und

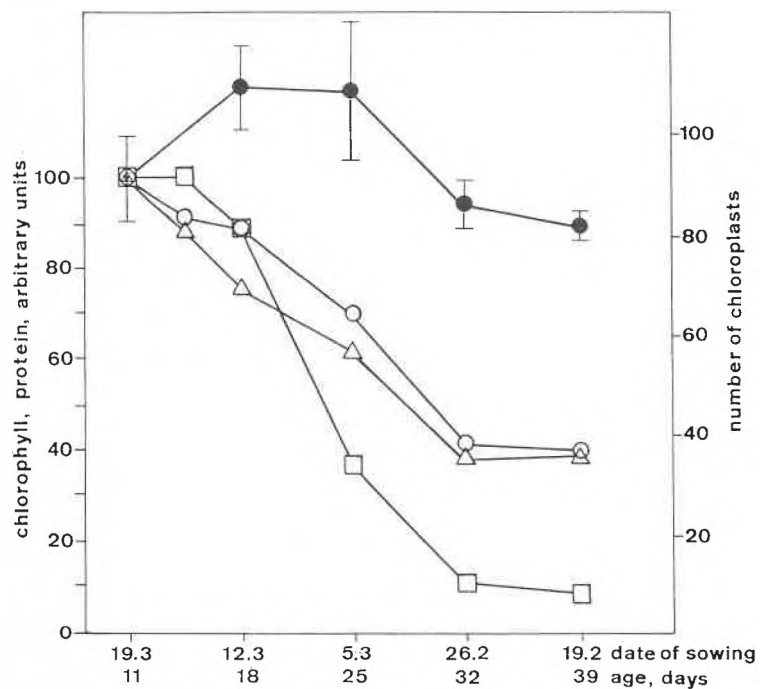


Fig. 5. Änderungen von Chloroplastenzahl, Chlorophyll und Protein in Protoplasten, isoliert aus dem Mesophyll von natürlich alternden Primärblättern von Gerste. Chloroplasten pro Protoplast (●); Chlorophyll (○), Protein (△), Rubisco-protein (□) pro Chloroplast (aus^[23]).

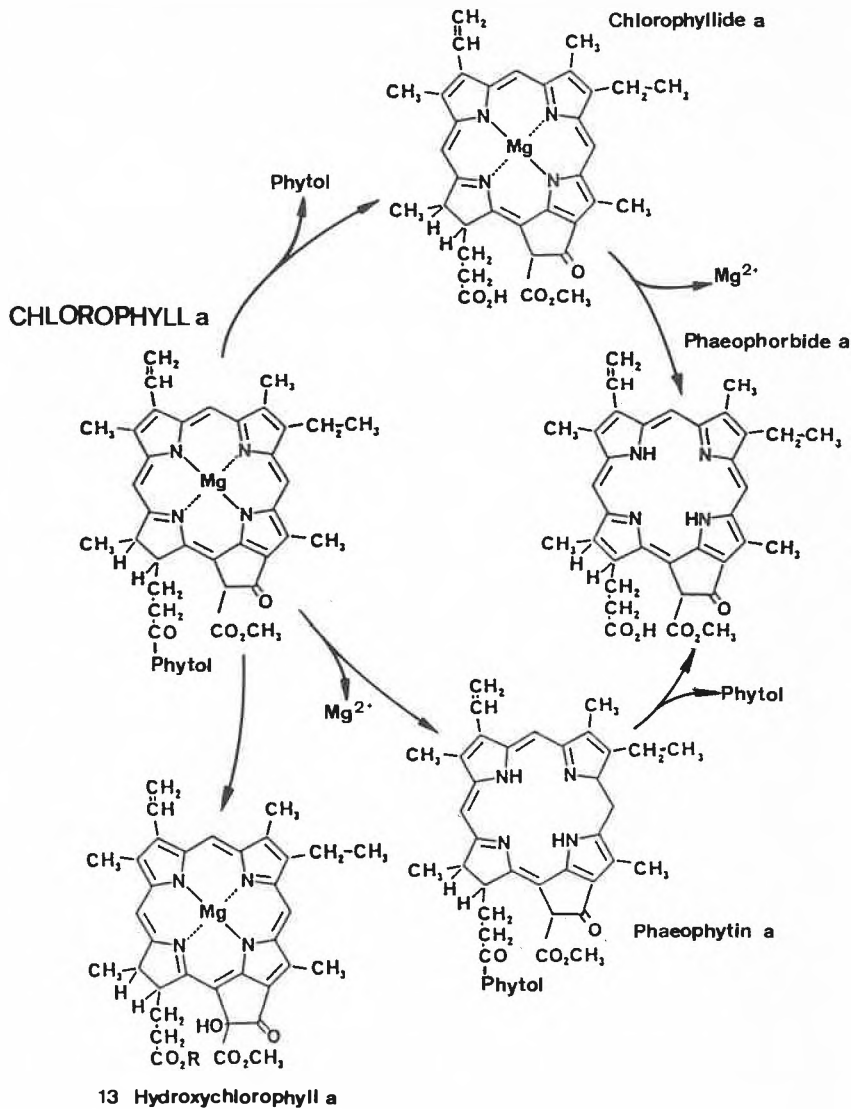


Fig. 6. Struktur von Chlorophyll a und Derivaten mit intaktem Porphyrinring.

Chlorophyllid^[24-26], also durchwegs Produkte mit intaktem Porphyrinring. Das Auftreten von Chlorophyllid (Fig. 6) zeigt an, dass Chlorophyllase, eine spezifische, in Chloroplasten lokalisierte Esterase, für die Abspaltung des Phytols und damit vielleicht für die Einleitung des Abbaus verantwortlich sein könnte. Auch die Protonierung des Porphyrins und Bildung der Mg-freien Phaeoverbindungen könnten enzymatisch geschehen; zumindest für Algen gibt es Hinweise auf die Existenz einer Mg-Dechelatase. Entscheidend für den Katabolismus ist indessen zweifellos die Öffnung des Ringsystems. Die erwähnten Formen mit intakter Porphyrinstruktur sind alle grün; das gilt auch für das kürzlich in seneszenten Blättern^[27] und als Produkt einer in-vitro-Reaktion^[28, 29] nachgewiesene hydroxylierte Chlorophyll a, das Chlorophyll a-l. Der entscheidende Schritt beim Abbau des Chlorophyll-Chromophors müsste mit einer drastischen Änderung des typischen Absorptionsspektrums verbunden sein.

Im Fall des tierischen Gegenstücks zum Chlorophyll, des Häms, ist ein Enzym, die

Hämoxygenase für das Aufbrechen des Porphyrinrings verantwortlich. Die Reaktion bewirkt die oxidative Entfernung der Methinbrücke zwischen den Pyrrolen I und II und Bildung der offenkettigen Tetrapyrrole Biliverdin bzw. Bilirubin. Der Kohlenstoff der Methingruppe geht dabei als Kohlenmonoxid weg. Eigene Versuche von rasch vergilbenden Gerstenblättern blieben ohne Erfolg. Der Chlorophyllabbau scheint daher anders zu verlaufen als der mit Produktion und Ausscheidung von Gallenfarbstoffen verbundene Abbau von Häm beim Tier. Jedenfalls waren Gallenpigment-analoge Derivate von Chlorophyll bisher in seneszenten Blättern nie beobachtet worden.

Die kürzliche Entdeckung von nicht-grünen Derivaten von Chlorophyll, die man den Gallenfarbstoffen zur Seite stellen könnte, verdanke ich zufälligen Umständen, die mich Blätter unter Bedingungen extrahieren liessen, die im Umgang mit Chlorophyll nicht üblich sind. Beim Experimentieren mit Blättern der bereits erwähnten Mutante von *Festuca pratensis*,

welche für Chlorophyllabbau inkompetent ist, fielen auf Dünnschichtchromatogrammen rote und gelbe Stoffe auf, die nur in den seneszenten Blättern des Wildtyps, nicht aber in jenen der Mutante auftreten. Später liessen sich ähnliche Pigmente in vergilbenden Blättern von Gerste und zahlreicher weiterer Pflanzenarten, auch laubwerfender Bäume, nachweisen. Sie können unter sauren Bedingungen mit Chloroform leicht extrahiert, auf einfache Weise angereichert und durch HPLC getrennt und quantifiziert werden^[30]. Die Untersuchung konzentrierte sich zunächst auf eine Gruppe von roten, zweifellos chemisch nahe verwandten Pigmenten mit einem typischen Absorptionsmaximum bei $\lambda = 520 \text{ nm}$ (Fig. 7). Der Gehalt in Gerstenblättern erwies sich als positiv korreliert mit der Geschwindigkeit des Chlorophyllabbaus; im natürlichen Licht/Dunkel-Wechsel bleiben die abgeschnittenen Gerstenblätter viele Tage lang grün, und der Gehalt an roten Pigmenten ist kaum messbar; hingegen kommt im Dauerdunkel die Vergilbung sehr rasch in Gang, und es entstehen vorübergehend reichlich farbige Chlorophyllkataboliten (Fig. 8). Obwohl die chemischen Strukturen noch nicht bekannt sind, besteht kein Zweifel, dass es sich bei diesen roten Pigmenten um Intermediärstoffe des Chlorophyllabbaus handelt. Der schlüssigste Nachweis kann darin gesehen werden, dass beim oxidativen Abbau mit Chromsäure in $2N \text{ H}_2\text{SO}_4$

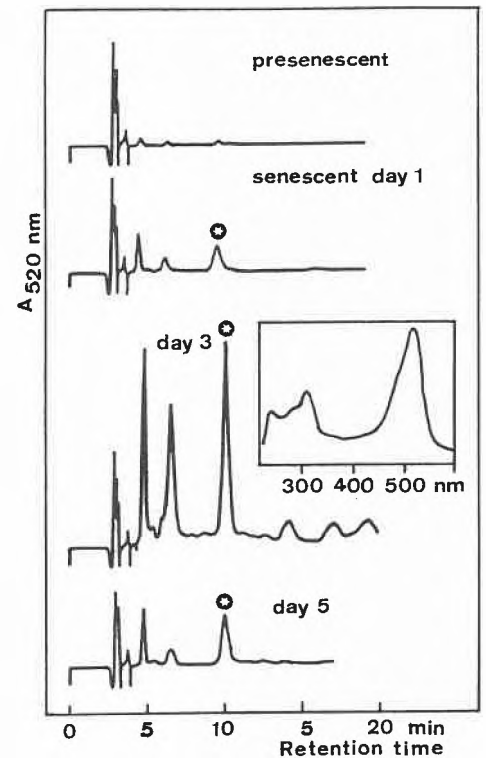


Fig. 7 Demonstration von roten Abbauprodukten von Chlorophyll mittels HPLC. Segmente von Primärblättern 10 Tage alter Gerstenpflanzen wurden im Dauerdunkel zur Vergilbung induziert.

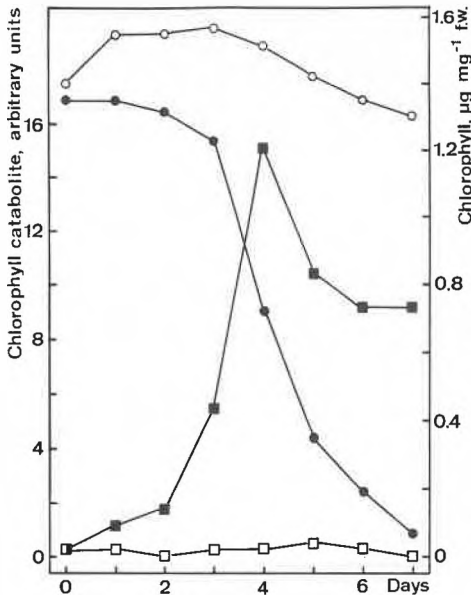


Fig. 8. Beziehung zwischen Chlorophyllabbau und dem Auftreten roter Chlorophyllkataboliten in Blattsegmenten von Gerste. Im Tageslicht ist der Chlorophyllabbau (○) stark verzögert, und Kataboliten (□) sind kaum messbar. Im Dauerdunkel geht mit dem raschen Chlorophyllabbau (●) die vorübergehende starke Zunahme des Gehalts an Kataboliten (■) einher.

die typischen Maleimide der Pyrrolringe I und IV des Porphyrins erhalten werden. Die Hauptkomponente aus der Serie von roten Pigmenten wurde rein isoliert: das Molekulargewicht beträgt 718 gegenüber 894 von Chlorophyll a; ein grösseres Fragment des Tetrapyrrolysystems scheint zu fehlen. Zur Herleitung der Struktur fehlt noch die unerlässliche Information über das Schicksal des Phytols, das in den roten Pigmenten durch einen anderen Alkohol ersetzt zu sein scheint. Vielleicht ist für Chlorophyllkataboliten gar der Begriff «Phytobilirubin» angebracht, hat es sich doch herausgestellt, dass die kolorimetrische Quantifizierung mit diazotiertem 4-Nitro-*o*-anisidin, wie sie für Gallenfarbstoffe im klinischen Labor verwendet wird, möglich ist^[30].

Viel mühsame aber lohnende Arbeit wird zu leisten sein, um aus den chemi-

schen Strukturen der roten und gelben Chlorophyllkataboliten den (höchst wahrscheinlich oxidativen) Abbauweg rekonstruieren und die möglicherweise beteiligten Enzyme identifizieren zu können. Noch sind die Endprodukte unbekannt, und die Frage, ob der Stickstoff zuletzt aus den Pyrrolringen freigesetzt und in den Pflanzen rezirkuliert wird, ist nach wie vor ungelöst.

Zum Schluss sei noch ein völlig unerwarteter Befund präsentiert. Für das Chlorophyll gilt wie für das Protein, dass im Verlauf der Seneszenz die Gehalte in den persistierenden Chloroplasten allmählich abnehmen (Fig. 5). Die Abbaureaktionen dürften daher in den Chloroplasten selbst stattfinden, und es schien beinahe selbstverständlich, die Chlorophyllkataboliten als intermediäre Abbauprodukte ebenfalls in diesen Organellen lokalisiert zu finden. Die Analyse der Kompartimentierung in Mesophyllzellen von gealterten Gerstenblättern ergab jedoch ein überraschendes Resultat: Die Chloroplasten enthielten nur geringe Mengen, und die Chlorophyllkataboliten befanden sich fast vollständig im Saft der Vakuolen. Es scheint daher, dass bei der subzellulären Organisation der Abbaupfade die Vakuolen eine vielleicht entscheidende Rolle spielen.

Die Chlorophyllmoleküle sind in den Thylakoiden der Chloroplasten an Apoproteine gebunden, analog zum Häm im Falle des Hämoglobins. Wie immer der Abbauweg des Chlorophylls aussehen mag, der entscheidende Schritt muss sich in den Chloroplasten vollziehen. Auf eine noch völlig unbekannt Weise müssen die Chlorophyll-Protein-Komplexe der photosynthetischen Membranen zum Zerfall gebracht und dadurch das Pigment dem Angriff von katabolischen Enzymen zugänglich gemacht werden. Die in einem einzigen Gen mutierte nicht-vergilbende Abart des Wiesenschwingers *Festuca* zeigt an, dass ein Protein – vermutlich ein Enzym – für den entscheidenden Schritt im Chlorophyllabbau verantwortlich ist. Die nicht-grünen Chlorophyllkataboliten werden uns hoffentlich zur Identifikation dieses Enzyms verhelfen und zur Aufklärung des hinter dem so augenfälligen Naturschauspiel der Blattvergilbung steckenden biochemischen Geschehens.

Eingegangen am 21. Oktober 1987 [FR 44]

- [1] A. C. Leopold, «Ageing and senescence in plant development», in K. V. Thimann (Ed.): *Senescence in Plants*, CRC Press, Boca Raton FL (1980), p. 2.
- [2] K. Mothes, «Über das Altern der Blätter und die Möglichkeit ihrer Wiederverjüngung», *Naturwissenschaften* 47 (1960) 337.
- [3] H. S. Mei, K. V. Thimann, *Physiol. Plant.* 62 (1984) 157.
- [4] M. E. Nicolas, R. J. Simpson, H. Lambers, M. J. Dalling, *Ann. Bot.* 55 (1985) 743.
- [5] J. S. Pate, «Transport and partitioning of nitrogenous solutes», *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31 (1980) 313.
- [6] P. Matile, «Entwicklung einer Blüte», *Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich* 122 (1978) Neujahrsblatt.
- [7] V. Wiemken-Gehrig, A. Wiemken, P. Matile, *Planta* 115 (1974) 297.
- [8] V. A. Wittenbach, *Plant Physiol.* 59 (1977) 1039.
- [9] H. Thomas, J. L. Stoddart, *Plant Physiol.* 56 (1975) 438.
- [10] H. Thomas, *Theor. Appl. Genet.* 73 (1987) 551.
- [11] R. O. Huffaker, L. W. Peterson, «Protein turnover in plants and possible means of its control», *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25 (1974) 363.
- [12] H. Thomas, *Plant Sci. Lett.* 6 (1976) 369.
- [13] J. Cuello, M. J. Quiles, B. Sabater, *Physiol. Plant.* 60 (1984) 133.
- [14] H. Kende, «The cytokinins», *Int. Rev. Cytol.* 31 (1971) 301.
- [15] V. A. Wittenbach, *Plant Physiol.* 70 (1982) 1544.
- [16] Z. Even-Chen, D. Atsmon, C. Itai, *Physiol. Plant.* 44 (1978) 377.
- [17] J. Ueda, J. Kato, *Z. Pflanzenphysiol.* 103 (1981) 357.
- [18] R. A. Weidhase, J. Lehmann, H. Kramell, G. Semdner, B. Parthier, *Physiol. Plant.* 69 (1987) 161.
- [19] P. Matile, «Biochemistry and function of vacuoles», *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29 (1978) 193.
- [20] T. Boller, A. Wiemken, «Dynamics of vacuolar compartmentation», *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37 (1986) 137.
- [21] V. A. Wittenbach, W. Lin, R. R. Hebert, *Plant Physiol.* 69 (1982) 98.
- [22] E. Martinoia, U. Heck, M. J. Dalling, P. Matile, *Biochem. Physiol. Pflanz.* 178 (1983) 147.
- [23] T. M. Wardley, P. L. Bhalla, M. J. Dalling, *Plant Physiol.* 75 (1984) 421.
- [24] S. Schoch, H. Scheer, J. A. Schiff, W. Rüdiger, H. W. Siegelman, *Z. Naturforsch. C* 36 (1981) 827.
- [25] S. Schoch, F. X. Vielwerth, *Z. Pflanzenphysiol.* 110 (1983) 309.
- [26] D. Amir-Shapira, E. E. Goldschmidt, A. Altman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 1901.
- [27] M. J. Maunders, S. B. Brown, H. W. Woolhouse, *Phytochemistry* 22 (1983) 2443.
- [28] S. Schoch, W. Rüdiger, B. Lüthy, P. Matile, *J. Plant Physiol.* 115 (1984) 85.
- [29] B. Lüthy, P. Matile, H. Thomas, *J. Plant Physiol.* 123 (1986) 169.
- [30] P. Matile, S. Ginsburg, M. Schellenberg, H. Thomas, *J. Plant Physiol.* 129 (1987) 219.