

Buchbesprechung

Hans E. Laux: Geschützte und bedrohte Pflanzen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. Stuttgart, 1988, 132 Seiten mit 190 vierfarbigen Abbildungen, Preis DM 28.–.

Der Verfasser, Hans E. Laux, schreibt in seinem Vorwort, dass wir als Konsumenten eines ins Masslose gewachsenen Wohlstandes uns immer mehr an der einst reizvollen Naturlandschaft vergreifen und auf dem besten Wege sind, sie in eine menschenfeindliche Kultursteppe zu verwandeln. Er ruft uns zur Verpflichtung auf, Natur und Umwelt wieder bewusster zu sehen. Jeder von uns sei selbst Natur und deshalb aufgerufen, sich zu deren Schutz zu engagieren.

Eine wichtige Voraussetzung für diese edle Aufgabe ist beispielsweise die Kenntnis der wichtigsten geschützten und bedrohten Farn- und Blütenpflanzen, die im Hauptteil dieses reich und kompetent illustrierten Bandes in geeigneter Weise gefördert wird. Was dieses Werk von zahlreichen ähnlichen Publikationen abhebt, ist die am Anfang des Buches eingefügte Einleitung. In prägnanter und eindrucksvoller Kurzfassung werden die verhängnisvollen Folgen unserer zivilisatorischen Tätigkeit in unser Bewusstsein eingehämmert, nämlich:

- die Verarmung der vielfältigen Flora in Feld und Wald infolge Rationalisierungszwängen in deren Bewirtschaftung – mehr als ein Drittel der ursprünglichen Pflanzenarten sind bereits ausgerottet und durch Aussterben bedroht;
- die verheerenden Auswirkungen des Massentourismus in der Alpenwelt;

- die teilweise sinnlose Entwässerung von Feuchtgebieten und Kanalisierung von Gewässern und schliesslich Versiegelung der Landschaft durch masslose Ausdehnung der Siedlungsräume und daraus resultierender Verkehrslagen.

Dem Hauptteil vorangestellt ist eine für den interessierten Laien unerlässliche Erläuterung der wichtigsten botanischen Fachausdrücke. Prächtige, leider wegen des beschränkten Volumens des Werkes teilweise kleinformatige Fotos begleiten die Charakterisierung der Vertreter von 41 Pflanzenfamilien durch ihre Merkmale und Verbreitung. In fettgedruckten Fussnoten werden Hinweise auf den Grad der Gefährdung und die Schutzwürdigkeit vermittelt.

Im letzten Teil wird schliesslich auf die gesetzlichen Grundlagen eingegangen, die den Schutz wildlebender Pflanzen und Tiere ermöglichen. Die am Schlusse vor dem Register angeführte Rote Liste der Farn- und Blütenpflanzen in der Fassung von 1982 bildet eine wertvolle Ergänzung des Bildteiles und für die für Naturschutzfragen und Umweltpolitik verantwortlichen Behörden und Organe einen unentbehrlichen Leitfaden für ihre Tätigkeit.

Die Publikation von Hans E. Laux richtet sich zwar in erster Linie an die Leser in der Bundesrepublik. Da jedoch den von ihr aufgelisteten Pflanzenarten und den darin aufgeworfenen Problemen grenzüberschreitende Bedeutung zukommt, werden auch die Benutzer helvetischer Provenienz von der Fülle wertvoller Informationen profitieren. Die Anschaffung dieses Buches kann deshalb bestens empfohlen werden.

Alfred Lichti

Die lichtabhängige Kontrolle der Chloroplastenentwicklung bei höheren Pflanzen

Klaus Apel, ETH-Zürich

Bei Abwesenheit von Licht bilden höhere Pflanzen einen etiolierten Keimling, dessen Plastiden noch kein Chlorophyll besitzen. Der Chlorophyllbiosyntheseweg führt in den sogenannten Etioplasten zur Bildung der unmittelbaren Chlorophyllvorstufe, dem Protochlorophyllid. Erst mit Beginn der Belichtung wird das Protochlorophyllid zum Chlorophyllid reduziert. Gleichzeitig mit der dann einsetzenden Chlorophyllakkumulation erfolgt im Licht der Aufbau des Photosyntheseapparates. Die Umgestaltung des Membransystems beim lichtinduzierten Übergang des Etioplasten zum Chloroplasten wird von mindestens zwei verschiedenen genetischen Systemen kontrolliert, die im Kern bzw. im Plastiden lokalisiert sind. Nur ein verhältnismässig kleiner Teil der Plastidenproteine wird von der Plastiden DNA aus kodiert und an den plastideneigenen Ribosomen in den Organellen synthetisiert. Der grössere Teil der Plastidenproteine wird von der Kern-DNA aus kodiert und erst nach der Synthese an den cytosolischen Ribosomen als höhermolekulare Vorstufe in das Organell transportiert und dort prozessiert. Das Wechselspiel beider genetischer Systeme wird zusätzlich noch durch den Aussenfaktor Licht beeinflusst. Die Lichtwirkung wird dabei über mindestens zwei verschiedene Photorezeptoren vermittelt. Die Synthese von mehreren kernkodierten Plastidenproteinen, deren Erscheinen im Plastiden durch Licht kontrolliert wird, wird auf dem Transkriptionsniveau über den Photorezeptor Phytochrom gesteuert. Daneben ist als zweiter Photorezeptor die Protochlorophyllid-Reduktase in den Plastiden an der Steuerung der lichtabhängigen Chloroplastenentwicklung beteiligt. Das Zusammenwirken beider Photorezeptoren wird am Beispiel von Mutanten analysiert, bei denen die Wirkung jeweils eines der beiden Photorezeptoren ausgeschaltet worden ist.

The Light-Dependent Control of Chloroplast Development in Higher Plants

In the absence of light higher plants form etiolated seedlings whose plastids are devoid of chlorophyll. In these so-called etioplasts the biosynthesis of chlorophyll leads only to the formation of the immediate precursor of chlorophyll, to protochlorophyllide. The subsequent reduction of protochlorophyllide to chlorophyllide requires light. Upon illumination of etiolated higher plants chlorophyll accumulation starts and at the same time the photosynthetically active membrane system of chloroplasts develops. The light-induced transformation of etioplasts to chloroplasts is controlled by at least two different genetic systems. To a lesser part plastid proteins are encoded by the plastid DNA and the resulting mRNAs are translated at plastid-specific ribosomes. The majority of plastid proteins are encoded by nuclear genes and are synthesized in the cytosol as higher molecular weight precursor polypeptides that are transported into and processed within the plastid compartment. The interaction of the two genetic systems is under the control of light. The effect of light is mediated by at least two distinct photoreceptors. Phytochrome as one of these photoreceptors controls the transcription of nuclear genes that encode light-dependent plastid proteins. The second photoreceptor, the protochlorophyllide reductase, catalyzes the light-dependent reduction of protochlorophyllide to chlorophyllide within the plastid and affects also the light-dependent chloroplast development. The interaction of these photoreceptors has been studied in mutants in which the function of either one of the two photoreceptors has been abolished by mutations.

1 Einleitung

Die Entwicklung höherer Pflanzen wird auf vielfältige Art durch Licht beeinflusst. Bei Abwesenheit von Licht wird beim heranwachsenden Keimling das

Längenwachstum extrem gefördert. Die Blattanlagen werden sehr stark zurückgehalten, während die Sprossabschnitte zwischen den einzelnen Blattanlagenstellen sehr stark in die Länge ausgezogen werden. Mit dieser gewählten Entwicklungsstrategie, die als Etiolement bezeichnet wird, wächst die Wahrscheinlichkeit, dass ein im Dunkeln angezogener Keimling das lebensnotwendige Aussenlicht während seiner frühen Entwicklungsphase erreicht. Bei der im Licht angezogenen Keimlingspflanze fällt auf, dass hier die einzelnen Abschnitte zwischen den Blattansatzstellen in der Länge deutlich reduziert und gleichzeitig die Blattanlagen sehr grossflächig ausgebildet werden, insgesamt also eine Gestalt ausgeprägt wird, die es der Pflanze optimal ermöglicht, Licht für Photosynthese auszunutzen. Die im Licht ablaufende Entwicklung wird als Photomorphogenese bezeichnet. Etiolement und Photomorphogenese sind ein Kennzeichen der Angiospermenpflanzen.

2 Der Photorezeptor Phytochrom

Die Analyse der Lichtwirkung auf die pflanzliche Entwicklung konzentrierte sich in der Vergangenheit vor allem auf die Charakterisierung der Photorezeptoren, die das Lichtsignal in der Pflanze weitergeben. Die Steuerung der lichtabhängigen Entwicklung wird bei höheren Pflanzen vor allem vom Photorezeptor Phytochrom reguliert (E.M. Tobin u. J. Silverthorne, 1985). Phytochrom kommt in zwei verschiedenen Zuständen vor, im Dunkeln in einer inaktiven Form, die nach Belichtung, zum Beispiel mit Rotlicht, in die zweite physiologisch aktive Form umgewandelt wird. Ausgehend von der aktiven Phytochromform werden über angeschlossene Signalketten eine Reihe von Folgeprozessen ausgelöst, die in ihrer Gesamtheit zur Photomorphogenese führen. Inzwischen ist das Phytochromsystem sehr eingehend analysiert worden. So sind beispielsweise schon mehrere Gene, die für den Proteinanteil des Photorezeptors kodieren, isoliert und sequenziert worden. Ausgehend von den Gensequenzen liessen sich die entsprechenden Aminosäuresequenzen der Proteine ableiten. Dabei stellte sich heraus, dass es offensichtlich mehrere Phytochromformen gibt. In etiolierten höheren Pflanzen finden wir beispielsweise eine speziell hier auftretende Phytochromform, die im Dunkeln in relativ grossen Mengen auftritt und deren Konzentration bei Belichtung rasch abnimmt. Daneben tritt bei höheren Pflanzen mindestens eine weitere Phytochromform auf, die in wesentlich geringeren Konzentrationen sowohl im Dunkeln als auch im Licht in höheren Pflanzen nachgewiesen werden kann. Während die zuerst genannte Phytochromform anscheinend bei der Keimlingsentwicklung höherer Pflanzen den Übergang vom Etiolement zur Photomorphogenese steuert, vermutet man, dass die zweite Phytochromform vor allem das Wachstum lichtadaptierter Pflanzen steuert. Eine ähnliche Phytochromform scheint auch bei den niederen Pflanzen verbreitet zu sein. Über die endogenen Signale, die nach Aktivierung des Phytochromsystems in der Pflanze freigesetzt werden und den Ablauf der Photomorphoge-

nese steuern, ist bisher kaum etwas bekannt (F. Nagy et al., 1988). Am Ende dieser Signalkette steht dann die Aktivierung oder Inaktivierung bestimmter Kerngene, deren Transkription über das Phytochromsystem reguliert wird.

3 Die lichtabhängige Umwandlung von Etioplasten in Chloroplasten

Bisher ist ein wichtiger Aspekt der Photomorphogenese noch nicht genannt worden. Während etioliierte Pflanzen farblos bzw. gelb gefärbt sind, erfolgt mit Beginn der Belichtung ein auffälliger Farbumschlag, der zum sichtbaren Ergrünen der Keimlinge führt. Parallel zur lichtinduzierten Ausprägung einer ans Licht angepassten Pflanzengestalt wird mit der gleichzeitig einsetzenden Chlorophyllakkumulation eine weitere wichtige Voraussetzung für die spätere Photosynthese erfüllt. Die Chlorophyllakkumulation ist dabei nur ein sichtbares Kennzeichen für eine ganze Reihe von Veränderungen, die im Verlaufe der lichtabhängigen Ergrünung in den Plastiden ablaufen. Im Dunkeln wird ein spezieller Plastidentyp in den höheren Pflanzen angelegt, der Etioplast. Etioplasten besitzen noch kein Chlorophyll, und es fehlt ihnen das ausgedehnte Thylakoidmembransystem, das beim Chloroplasten die verschiedenen Komponenten des lichtabhängigen Photosyntheseapparates enthält. Statt dessen wird in Etioplasten die semikristalline membranähnliche Struktur des Prolamellarkörpers ausgebildet. Die Biosynthese des Chlorophylls führt im Dunkeln nur bis zur Bildung der unmittelbaren Vorstufe des Chlorophylls, dem Protochlorophyllid. Erst bei Belichtung wird das Protochlorophyllid zum Chlorophyllid reduziert, und gleichzeitig zerfällt der Prolamellarkörper. Zusammen mit der einsetzenden massiven Chlorophyllakkumulation wird dann das Thylakoidmembransystem des Chloroplasten aufgebaut.

Am Beispiel dieser lichtabhängigen Chloroplastenentwicklung haben wir in unseren eigenen Arbeiten versucht, einzelne molekulare Aspekte der Wechselbeziehung zwischen Licht und Pflanzenentwicklung zu analysieren. Während der lichtabhängigen Ergrünung verändert sich die Zusammensetzung der verschiedenen Komponenten innerhalb der Plastidenmembran auffällig. Wenn man nach verschiedenen Belichtungszeiten die Plastidenmembranfraktion isoliert und zum Beispiel die Membranpolypeptide elektrophoretisch auftrennt und miteinander vergleicht, lassen sich insgesamt drei verschiedene Gruppen von Polypeptiden unterscheiden. Neben Membranproteinen, die beim Übergang vom Dunkel zum Licht in ihrer Konzentration sich kaum verändern, gibt es Polypeptide, die im Dunkeln entweder überhaupt nicht oder nur in Spuren in der Membranfraktion nachgewiesen werden können und erst nach Beginn der Belichtung in ihrer Konzentration drastisch ansteigen. Das auffälligste dieser durch Licht induzierten Membranproteine ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von etwa 25 000. Es tritt massiv erst nach einer Belichtungszeit von etwa 3–4 Stunden auf, nimmt dann sehr rasch in seiner Konzentration zu und ist im voll ausgebildeten Chloroplasten das mit Abstand häufigste Membranpro-

tein. Das Erscheinen dieses Proteins fällt zeitlich zusammen mit der massiv einsetzenden Chlorophyllakkumulation. Die ähnliche Kinetik beim Auftreten des Proteins und des Chlorophylls ist nicht zufällig, sondern deutet auf einen engen funktionellen Zusammenhang beider Membrankomponenten hin. Das Protein bindet den mit Abstand grössten Anteil des Chlorophylls an sich. Es wurde als «light-harvesting chlorophyll-ab-protein» (LHCP) beschrieben und stellt das mengenmässig auffälligste Antennenpigmentprotein dar, dessen Aufgabe im wesentlichen darin besteht zusätzlich Lichtenergie zu absorbieren und diese Lichtenergie auf die eigentlichen Reaktionszentren des Elektronentransportweges zu übertragen. Der durch Licht ausgelöste Ergrünungsvorgang kann somit als ein Versuch verstanden werden, über den Einbau von Antennenpigmentproteinkomplexen in die Membran die Effizienz der Lichtausbeute für Photosynthese zu optimieren. Neben den durch Licht induzierten Proteinen in der zweiten Gruppe finden sich schliesslich in der dritten Gruppe auch Polypeptide, die im Dunkeln in relativ hohen Konzentrationen auftreten und deren Konzentration dann mit Beginn der Belichtung drastisch abnimmt. Das auffälligste dieser Proteine hat ein apparentes Molekulargewicht von 36 000 und stellt das mit Abstand häufigste Membranprotein der Etioplasten dar. Es handelt sich um die NADPH-Protochlorophyllid Oxidoreduktase (Pchlid-Reduktase), ein Enzym, das die Umwandlung des Protochlorophyllids in das Chlorophyllid katalysiert. Auf den ersten Blick erscheint es paradox und schwer erklärlich, dass ein Enzym der Chlorophyllbiosynthese zum Zeitpunkt der massiven Chlorophyllakkumulation nur noch in geringen Spuren auftritt, während es im Dunkeln mit Abstand das häufigste Protein der Etioplasten darstellt. Wir werden am Ende dieses Artikels dieses Problem noch einmal diskutieren und dabei versuchen, eine Erklärung anzubieten.

4 Die Rolle von zwei verschiedenen genetischen Systemen während der Chloroplastenentwicklung

Am Beispiel des LHCP und der Protochlorophyllid-Reduktase wurde versucht einige der molekularen Regulationsmechanismen aufzuklären über die Licht die Entwicklung höherer Pflanzen beeinflussen kann. Die Analyse der Lichtwirkung auf das Erscheinen dieser beiden Proteine wird dadurch verkompliziert, dass die Synthese von Plastidenproteinen über mindestens zwei verschiedene genetische Systeme gesteuert werden kann. Chloroplasten besitzen eine eigene DNA, von der mRNA abgelesen werden kann, die über die plastideneigenen Ribosomen in Proteine umgesetzt werden. Vor wenigen Jahren ist es gelungen, in zwei höheren Pflanzenarten die Chloroplasten-DNA vollständig zu sequenzieren. Aus diesen Nukleinsäuresequenzen konnte abgeleitet werden, dass nur ein verhältnismässig kleiner Teil der Plastidenproteine von dieser organelleneigenen DNA kodiert wird. Der überwiegende Anteil der Plastidenproteine wird durch ein zweites genetisches System kodiert, das im Kern

lokalisiert ist. Die Entwicklung des Plastiden setzt deshalb eine sehr genaue Abstimmung dieser beiden verschiedenen genetischen Systeme voraus. Eine der Hauptfragen, die z.Z. untersucht wird, ist die Art und Weise, wie Licht regulierend in dieses Zusammenspiel der beiden genetischen Systeme einwirken kann. Im Falle des LHCP und der Protochlorophyllid-Reduktase konnte gezeigt werden, dass beide Proteine von der Kern-DNA aus kodiert werden. Die abgelesenen mRNAs werden im Zytosol an den dort liegenden zytoplasmatischen Ribosomen in lösliche Vorstufen-Polypeptide umgesetzt; diese Polypeptide werden anschliessend in den Plastiden hineintransportiert und dort zum reifen Protein prozessiert. Parallel zur lichtinduzierten Veränderung der Konzentration der beiden Plastidenproteine werden die Konzentrationen der entsprechenden mRNAs durch Licht ebenfalls verändert. Im Falle des LHCP treten im Dunkeln nur Spuren der entsprechenden mRNA auf. Erst mit Beginn der Belichtung nimmt die Menge dieser mRNA sehr rasch zu. Im Falle der Protochlorophyllid-Reduktase wird die Konzentration der mRNA genau umgekehrt reguliert. Hier treten im Dunkeln relativ hohe Konzentrationen der mRNA auf, die dann mit einsetzender Belichtung drastisch abnehmen. In beiden Fällen konnte gezeigt werden, dass der Lichteffect auf die mRNA-Konzentration über eine durch Licht gesteuerte Veränderung der DNA-Transkription reguliert wird. Im Falle des LHCP wird das Gen im Dunkeln kaum transkribiert. Die Transkriptionsrate steigt erst mit Beginn der Belichtung drastisch an. Im Falle der Protochlorophyllid-Reduktase wird das entsprechende Gen im Dunkeln in sehr grossem Umfang transkribiert, erst mit Beginn der Belichtung nimmt dann die Transkriptionsrate des Protochlorophyllid-Reduktase-Gens rasch ab. In beiden Fällen wird diese Veränderung der Transkriptionsrate über den gleichen Photorezeptor, das Phytochrom, gesteuert. Das Phytochromsystem kann offensichtlich auf inverse Art gleichzeitig die Transkription bestimmter Kerngene induzieren und die Transkription anderer Kerngene inhibieren.

5 Die Rolle von zwei verschiedenen Photorezeptoren während der Chloroplastenentwicklung

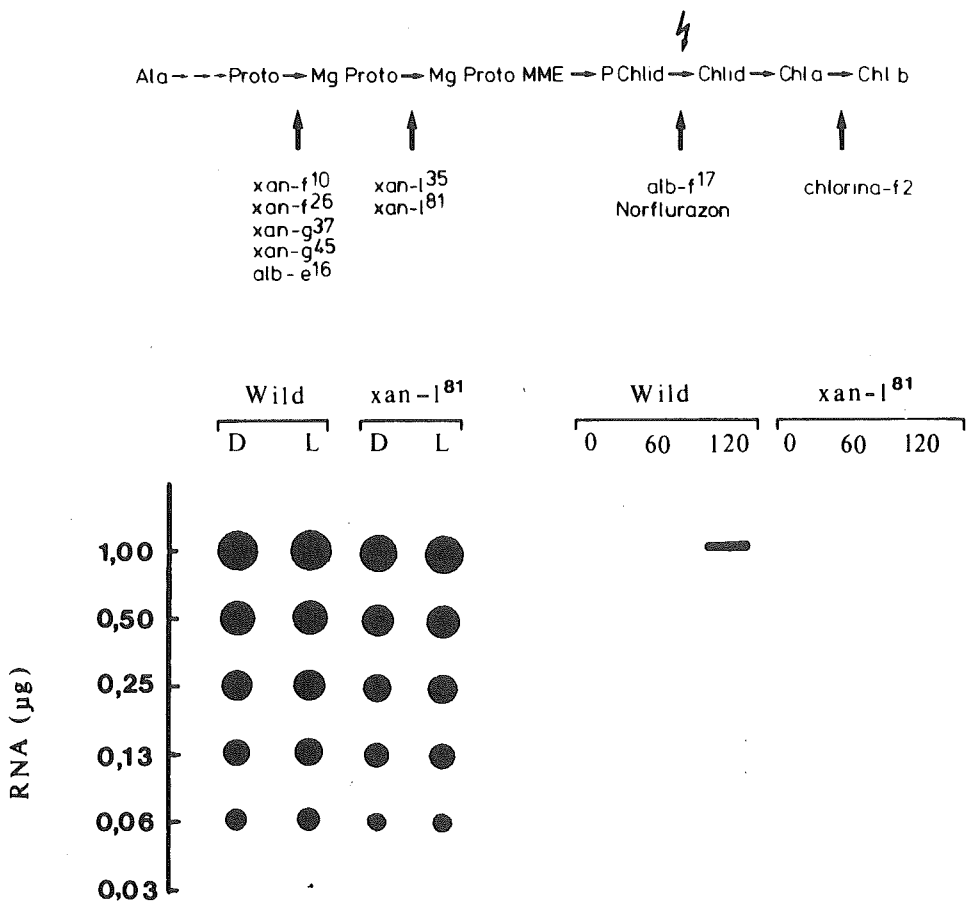
Die bisher beschriebenen Versuche haben gezeigt, dass Licht die Entwicklung des Chloroplasten dadurch beeinflussen kann, dass unter Beteiligung des Phytochroms selektiv die Transkription von Kerngenen verändert wird, die für Plastidenproteine kodieren. Unklar ist bislang, ob auch die von der Plastiden-DNA aus kodierten Proteine auf gleiche Weise durch Licht beeinflusst werden können und ob hierbei ebenfalls nur das Phytochromsystem oder möglicherweise ein weiterer Photorezeptor beteiligt ist. Bislang wurde in etiolierten Pflanzen das Phytochromsystem durch Rotlichtbehandlung aktiviert. Es ist bekannt, dass neben dem Phytochromsystem andere Pigmente in Pflanzen auftreten, die im gleichen Wellenlängenbereich absorbieren können. Um eine Beteiligung des Phytochromsystems eindeutig abklären zu können ist es deshalb notwendig, mit

einer anderen Wellenlänge zu arbeiten, bei der dann eine Aktivierung anderer pflanzeigener Pigmentsysteme ausgeschaltet werden kann. Solche Bedingungen liegen vor, wenn Pflanzen im Dauerdunkelrot bestrahlt werden. In diesem Fall wird ausschliesslich nur das Phytochromsystem aktiviert, andere Pigmentsysteme der Pflanzen sind nicht mehr in der Lage in diesem langwelligen Dunkelrotbereich das angebotene Licht zu absorbieren. Wenn man ein solches Bestrahlungsexperiment mit etiolierten Keimlingen durchführt, erhält man ein überraschendes Ergebnis. Im Weiss- und Rotlicht wächst ein lichtangepasster Keimling aus, bei dem das Längenwachstum im Vergleich zu etiolierten Keimlingen sehr stark reduziert wird und gleichzeitig die Keimblätter grossflächig angelegt werden. Der Keimling besitzt Chlorophyll und ist im Licht photosynthetisch aktiv. Bei Dauerdunkelrotbehandlung wird ein ähnlich aussehender Keimling ausgebildet, bei dem ebenfalls eine lichtangepasste Gestalt mit reduziertem Längenwachstum und grossflächigen Keimblättern entwickelt wird. Die Ausbildung der an das Licht angepassten Gestalt des Keimlings wird offensichtlich allein über das Phytochromsystem gesteuert. Im Gegensatz zu den im Weiss- oder Rotlicht angezogenen Keimlingen akkumuliert aber der im Dauerdunkelrot gewachsene Keimling kein Chlorophyll und besitzt weiterhin Etioplasten ähnlich dem im Dunkeln angezogenen Keimling. Die Chlorophyllakkumulation als wichtiger Teil der Chloroplastenentwicklung steht deshalb nicht unter direkter Kontrolle des Phytochroms, sondern wird über einen weiteren Photorezeptor reguliert, der nicht im Dunkelrot-, wohl aber im Rot- oder Weisslicht absorbiert. Der im Dauerdunkelrot angezogene Keimling ist gleichsam in die Irre geführt worden. Über das Phytochrom wird die Anwesenheit von Licht signalisiert. Dieses führt zur Ausbildung der lichtangepassten Gestalt des Keimlings. Über einen weiteren Photorezeptor wird dagegen «Dunkelheit» angezeigt, so dass die Ausbildung des Chloroplasten unterbleibt. Unter natürlichen Bedingungen werden beide Photorezeptoren gleichzeitig aktiviert, die dann zu einer normalen Entwicklung des photosynthetisch kompetenten Keimlings führen. Der zweite Photorezeptor konnte als die Protochlorophyllid-Reduktase identifiziert werden. Licht wird vom Protochlorophyllid selbst absorbiert. Nach Anregung des Pigments erfolgt die Reduktion zum Chlorophyllid (M. Harpster u. K. Apel, 1985).

6 Die Funktion der Protochlorophyllid-Reduktase

Es stellt sich die Frage, ob die lichtabhängige Umwandlung des Protochlorophyllid zum Chlorophyllid einen direkten Einfluss auf die Expression der chloroplasteneigenen Gene hat und wenn ja, an welcher Stufe innerhalb der Proteinbiosynthese diese mögliche Wirkung einsetzt. Um diese Frage zu analysieren, wurde ein weiteres plastidenspezifisches Protein ausgesucht, von dem bekannt ist, dass es von der plastideneigenen DNA aus kodiert wird und erst im Verlauf der lichtabhängigen Ergrünung neu in das Membransystem einge-

schleust wird. Bei diesem Protein handelt es sich um das chlorophyllbindende Reaktionszentrumprotein des Photosystems I (P700-Protein). Im Dunkeln tritt dieses Protein nicht in der Membranfraktion auf und wird erst im Verlaufe der Ergrünung massiv in die sich entwickelnden Thylakoidmembranen eingeschleust. Der mögliche Einfluss des Chlorophylls auf die Akkumulation dieses Proteins wurde auf folgende Art untersucht: In Wildtypgerstenpflanzen wurde die Gesamt-RNA aus den Etioplasten bzw. Chloroplasten isoliert. Gleiche Mengen dieser RNA wurden auf einem Trägermaterial aufgetragen und mit einer DNA-Probe, die spezifisch für das plastideneigene Gen des Reaktionszentrumproteins ist, inkubiert. Nur in den Fällen, bei denen das entsprechende Transkript für dieses Protein innerhalb der Gesamt-RNA vorliegt, sollte durch Hybridisierung die zugegebene radioaktiv markierte genspezifische Probe festgehalten werden und auf einem Röntgenfilm eine Schwärzung verursachen. Beim Vergleich der RNA-Proben aus Dunkel- und Lichtplastiden geht deutlich hervor, dass gleiche Mengen der mRNA für das P700-Protein vorliegen (Bild 1). Im Gegensatz zu der kernkodierte mRNA für das LHCP, deren Konzentration bei Belichtung drastisch erhöht wird, verändert sich im Falle des P700-Proteins des Photosystems I die Konzentration der mRNA unter Lichteinfluss nicht. Die nach Belichtung einsetzende Akkumulation des Reaktionszentrumproteins muss deshalb auf andere Art reguliert werden. Durch Zugabe von radioaktiv markierten Aminosäuren wurde die Synthese des Proteins im Keimling verfolgt. Im Dunkeln wird das Protein nicht sichtbar synthetisiert, erst nach Beginn der Belichtung kann das neu synthetisierte Protein durch Immunfällung mit spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden (Bild 1). Der mögliche Einfluss der Protochlorophyll-Chlorophyll-Transformation auf die Synthese dieses Proteins wurde über einen zweiten experimentellen Ansatz untersucht. In diesem Fall wurde eine Mutante benutzt, bei der der Schritt vom Magnesiumprotoporphyrin zum Magnesiumprotoporphyrinmonomethylester geblockt war (Bild 1). Diese Mutante ist nicht mehr in der Lage bei Belichtung zu ergrünen. Zuerst wurde die Konzentration der mRNA für das Reaktionszentrumprotein in etiolierten und belichteten Mutantepflanzen analysiert. Es stellte sich heraus, dass die gleiche Menge der mRNA wie in den Wildtyppflanzen nachgewiesen werden konnte. Auch in der Mutante tritt eine vergleichbare Konzentration der mRNA sowohl im Dunkeln als auch im Licht auf (Bild 1). Damit wäre die Mutante prinzipiell in der Lage, das Reaktionszentrumprotein zu synthetisieren. Bei dem zweiten Experiment zeigte sich allerdings, dass nach Inkubation der Mutantenblätter mit radioaktiv markierten Aminosäuren im Dunkeln bzw. im Licht keine neu synthetisierten Proteine über Immunfällung nachgewiesen werden konnten. Die Akkumulation des Proteins findet in der Mutante bei Belichtung nicht statt. Nachfolgende Untersuchungen konnten zeigen, dass die Translation der mRNA nur bei Vorliegen von Chlorophyll im Licht ablaufen kann. Damit haben wir eine zweite lichtabhängige Kontrollstelle gefunden, die zusätzlich neben dem Phytochrom die lichtabhängige Umwandlung des Etioplasten zum Chloroplasten steuern kann. Neben der phytochromabhängigen



Kontrolle von Kerngenen wird gleichzeitig über die lichtabhängige Protochlorophyllid-Chlorophyllid-Transformation in den Plastiden die Biogenese von Plastidenproteinen gesteuert.

7 Der «Plastidenfaktor»

Innerhalb dieses komplexen Zusammenspiels von zwei Photorezeptoren mit zwei verschiedenen genetischen Systemen konnte vor kurzem mit dem «Plastidenfaktor» noch ein weiteres Glied in der lichtabhängigen Kontrolle der Chloroplastenbildung bei höheren Pflanzen nachgewiesen werden (W.C. Taylor, 1989). Alle bisher geschilderten Versuche, bei denen die Interaktion vom Phytochrom und Protochlorophyllid-Reduktase während der Expression von Kern- und Plastidgenen gefunden wurde, sind mit Wildtyppflanzen durchge-

◀ Bild 1 Die lichtabhängigen Veränderungen in der Konzentration der mRNA und des frisch synthetisierten P700-Proteins des Photosystems I in Wildtyppflanzen und in der xantha-1⁸¹ Mutante der Gerste. Der obere Teil des Bildes zeigt den Schritt im Chlorophyllbiosyntheseweg, der in der xantha-1⁸¹ Mutante blockiert ist. Der untere linke Teil zeigt die relative Konzentration der mRNA für das P700-Protein in etiolierten (D) und belichteten (L) Wildtyp- und Mutantpflanzen nach «dot-blot»-Hybridisierung. Gleiche Mengen von plastideneigener Gesamt-RNA wurden in einer Verdünnungsreihe auf einem RNA-bindenden Filter aufgetragen und mit einer ³²Phosphor-markierten DNA-Probe inkubiert, die einen Teil des P700-Proteingens auf der Plastiden-DNA abdeckt. Unter den gewählten Inkubationsbedingungen sollte die zugegebene radioaktive DNA-Probe nur an den vorhandenen mRNA-Molekülen für das P700-Protein binden. Gleiche Schwärzung auf dem Autoradiogramm zeigt deshalb eine gleiche relative Konzentration dieser spezifischen mRNA innerhalb der Gesamt-RNA an.

Im rechten unteren Teil des Bildes wird die Synthese des P700-Proteins in Blättern von Wildtyp- bzw. Mutantenkeimlingen gemessen, die entweder für 4 Stunden im Dunkeln gehalten wurden (0) oder für die letzten 60 Minuten (60) bzw. 120 Minuten (120) belichtet wurden. Abgeschnittene Blätter wurden mit radioaktiv markiertem Methionin inkubiert, das P700-Protein mit einem spezifischen Antikörper aus dem Blattextrakt gefällt und anschliessend elektrophoretisch in einem Polyacrylamidgel aufgetrennt und über Autoradiographie sichtbar gemacht.

Fig. 1 Light-dependent changes in the amounts of mRNA and of freshly synthesized P700 chlorophyll-a protein of photosystem I in wild-type and the xantha-1⁸¹ mutant of barley. The upper part of the figure illustrates the step of chlorophyll biosynthesis which is blocked in the xantha-1⁸¹ mutant. In the lower left part levels for the P700 protein mRNA in the dark-grown (D) and illuminated (L) plants were determined by dot-blot hybridization. In the lower right part the synthesis of the P700 protein was determined by feeding radioactively labelled methionine for 4 h to dark-grown leaves of wild-type and mutant plants. During incubation, leaves were kept in the dark (0) or exposed for the last 60 (60) or 120 (120) minutes to continuous white light. The labelled P700 protein was immunoprecipitated from total leaf extracts, separated electrophoretically and visualized by autoradiography.

führt worden, bei denen sich die Chloroplasten im Licht normal entwickeln. Wenn man diese Versuche mit Pflanzen wiederholt, bei denen die Chloroplastenbildung aufgrund einer Mutation oder nach Behandlung mit bestimmten Herbiziden blockiert ist, stellt sich heraus, dass die in Wildtyppflanzen durch Licht ausgelöste Steigerung der Transkription von Kerngenen z.B. für das LHCP nicht mehr stattfindet. Aktives Phytochrom ist in diesen Pflanzen vorhanden und stimuliert weiterhin die Transkription von Kerngenen, die nicht für Plastidenproteine, sondern für andere lichtabhängige Proteine kodieren. Ausserdem läuft in diesen Pflanzen die normale phytochromgesteuerte Photomorphogenese ab. Lediglich die Transkription von Kerngenen, die für bestimmte Plastidenproteine kodieren, wird bei Blockade der Plastidenentwicklung selektiv gehemmt. Man muss vermuten, dass in belichteten Wildtyppflanzen vom sich entwickelnden Chloroplasten ein plastideneigener Faktor («Plastidenfaktor») freigesetzt wird, der in der Lage ist, zusammen mit aktivem Phytochrom

die Transkription dieser Kerngene zu stimulieren. Über die stoffliche Identität des Plastidenfaktors ist bisher nichts bekannt.

Wir haben versucht in unseren eigenen Arbeiten diesen zusätzlichen Regulationsfaktor zu identifizieren. Dabei gehen wir von der Arbeitshypothese aus, dass die Freisetzung des Plastidenfaktors eng mit der Aktivität der lichtabhängigen Protochlorophyllid-Reduktase zusammenhängt (A. Batschauer et al., 1986). Diese Vorstellung wird bisher durch folgende Ergebnisse unterstützt: 1. Die lichtabhängige Protochlorophyllid-Reduktase zeichnet sich durch eine Reihe von Eigenschaften aus, die zeigen, dass das Enzym nicht ausschliesslich nur einen von vielen Schritten im Chlorophyll-Biosyntheseweg katalysiert, sondern darüber hinaus auch an der lichtabhängigen Regulation der Chloroplastenentwicklung beteiligt ist. So gehört in Etioplasten die Protochlorophyllid-Reduktase mit zu den häufigsten Proteinen. Nach Belichtung nimmt sowohl die Enzymaktivität als auch die Menge des Enzymproteins sehr rasch ab. Zum Zeitpunkt der maximalen Chlorophyllakkumulation sind nur noch Spuren des Enzymproteins nachweisbar. Neben dem Protein nimmt auch die mRNA in ihrer Konzentration nach Belichtung ab. Eine ähnliche negative Lichtregulation findet sich auch bei der in höheren Pflanzen auftretenden Phytochromform I, deren hohe Konzentration in etiolierten Pflanzen nach Belichtung ebenfalls sehr rasch abnimmt. Diese erstaunliche Übereinstimmung zwischen beiden Systemen könnte damit zusammenhängen, dass durch die stark erhöhte Konzentration beider Photorezeptoren eine gesteigerte Lichtempfindlichkeit erreicht wird, durch die der etiolierte Keimling schon bei geringer Lichtbestrahlung sehr empfindlich mit der Ausbildung des Chloroplasten beginnen kann. 2. Die lichtabhängige Protochlorophyllid-Reduktase tritt bei den höheren Samenpflanzen (Angiospermen) auf, während bei den übrigen Pflanzen bis hin zu den Gymnospermen Chlorophyll schon im Dunkeln von einer lichtunabhängigen Protochlorophyllid-Reduktase synthetisiert wird. Kernkodierte Plastidenproteine, deren Synthese in Angiospermenpflanzen erst nach Belichtung induziert wird, werden bei den übrigen Pflanzengruppen schon im Dunkeln akkumuliert. Es scheint also ein enger Zusammenhang zu bestehen zwischen dem Auftreten einer lichtabhängigen Protochlorophyllid-Reduktase, der Freisetzung des Plastidenfaktors und der Fähigkeit, im Dunkeln Etioplasten auszubilden, die erst nach Belichtung dann in photosynthetisch aktive Chloroplasten umgewandelt werden. Wir versuchen, die vermutete Bedeutung der Protochlorophyllid-Reduktase bei der Freisetzung des Plastidenfaktors durch eine Kombination von klassisch genetischen Ansätzen mit Methoden der Molekularbiologie zu überprüfen. Dazu wurden bisher zwei verschiedene Gruppen von Mutanten bei der höheren Pflanze *Arabidopsis thaliana* isoliert. Bei der ersten Gruppe handelt es sich um Mutanten, die in verschiedenen Schritten der Chlorophyll-Biosynthese geblockt sind. Alle diese Mutanten sind bei Belichtung nicht in der Lage, einen normalen chlorophyllhaltigen Chloroplasten auszubilden. Besonders interessant ist dabei eine Mutante, die keine aktive lichtabhängige Protochlorophyllid-Reduktase besitzt. In der zweiten Gruppe von Mutanten steht die normalerweise

lichtgesteuerte Photomorphogenese nicht mehr unter Kontrolle des aktiven Phytochroms. Hier wird die lichtangepasste Gestalt des Keimlings schon im Dunkeln ausgebildet. Beide Mutantengruppen erlauben es, gezielt jeweils einen der beiden Photorezeptoren auszuschalten oder diese in modifizierter Form in transgenen Pflanzen zu exprimieren. Dazu wurde bisher das Gen für eine lichtunabhängige Protochlorophyllid-Reduktase aus Kiefern isoliert. Nach Übertragung in die Mutanten von *Arabidopsis thaliana* sollte die Expression dieses Gens schon im Dunkeln zu einer Chlorophyllsynthese führen. Die für uns wichtige Frage wird sein, wie in solch transgenen Pflanzen das Zusammenspiel zwischen Kern- und Plastidengen verändert wird, und ob unter diesen Bedingungen der Plastidfaktor im Dunkeln freigesetzt wird und ähnlich wie schon bei den niederen Pflanzen die Ausbildung des Photosyntheseapparates bei Abwesenheit von Licht ermöglicht. Durch diese Untersuchung sollte es möglich sein, das komplexe Zusammenspiel verschiedener Zellkompartimente während der lichtabhängigen Ausbildung des Photosyntheseapparates höherer Pflanzen weiter aufzuklären.

8 Literatur

- Batschauer, A., Möisinger, E., Kreuz, K., Dörr, I. u. Apel, K. (1986), The implication of a plastid-derived factor in the transcriptional control of nuclear genes encoding the light-harvesting chlorophyll a/b protein. *Eur. J. Biochem.* 154: 625–634.
- Härpster, M. und Apel, K. (1985), The light-dependent regulation of gene expression during plastid development in higher plants. *Physiol. Plant.* 64: 147–152.
- Nagy, F., Kay, S.A. u. Chua, N.H. (1988), Gene regulation by phytochrome. *Trends in Genetics* 4: 37–42.
- Taylor, W.C. (1989), Regulatory interactions between nuclear and plastid genomes. *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 40: 211–233
- Tobin, E.M. u. Silverthorne, J. (1985), Light regulation of gene expression in higher plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 36: 569–593.

Buchbesprechung

Otto Sonntag (Hrsg.): *The Correspondence between Albrecht von Haller and Horac-Bénédict de Saussure*. Hans Huber Publishers, Bern, Stuttgart, Toronto 1990. 507 Seiten, Preis Fr. 78.–.

Die Albrecht-von-Haller-Stiftung der Berggemeinde Bern legt in ihrer Reihe «*Studia Halleriana*» bereits den dritten Band vor: Während Band 2 «*Johannes Gessners Tagebuch 1727*» kommentiert und übersetzt, sind die Bände 1 und 3 der umfangreichen Korrespondenz Albrecht von Hallers gewidmet, einerseits mit dem Genfer Charles Bonnet (Band 1; siehe Rezension in Heft 1983/3 der NGZ), und im neuen, wiederum von Otto Sonntag edierten Band, mit Bonnets Neffen Horac-Bénédict de Saussure. – Der um eine Generation ältere Haller (1708–1777) gewinnt Interesse an dem jungen de Saussure (1740–1799), vor allem hinsichtlich dessen Bewunderung und Erforschung der Bergwelt, für die er in den «*Voyages dans les Alpes*» schriftliches Zeugnis ablegt. Weitere Briefthemen beziehen sich auf botanische Studien, auf die Medizin und nicht zuletzt auch auf politische Aspekte der Zeit. – Die innere Übereinstimmung und die gegenseitige Anteilnahme

der beiden Korrespondenten werden vom Herausgeber eindrücklich belegt und kommen in den Briefen von Mal zu Mal besser zum Ausdruck als eindrückliches Zeugnis einer besonderen Form von Schriftlichkeit.

Die Einführung in die Lebensumstände der beiden Briefschreiber, die Bemerkungen zu methodischen Arbeiten der Buchedition sowie die Kommentare zum Briefwechsel an sich sind lesenswerte Vorbereitungen für die eigentliche Brieflektüre. Und wenn die beiden von Otto Sonntag betreuten Bände Anlass sein könnten für Studien zur Briefkultur des 18. Jahrhunderts, dann wäre gleichzeitig noch ein weiteres Ziel erreicht. So könnten beispielsweise die lobende Feststellung Otto Sonntags: «It is a tribute to the rapidity and reliability of the Post of Bern that many letters reached their recipient . . . on the day after they were sent» einerseits und die Kritik Hans Georg Gadammers: «So ist es bezeichnend, dass die Verkürzung der Postzeiten durchaus nicht zu einer Intensivierung dieser Kommunikationsform geführt hat, sondern im Gegenteil zum Verfall der Kunst des Briefschreibens.» (in «*Wahrheit und Methode*», Band 1, Seite 375), durchaus Denkanstösse sein.

Hans Heinrich Bosshard