

## Chlorophyllfluoreszenz-Induktion an *Scenedesmus* bei Sauerstoffmangel

Chlorophyll Fluorescence Induction in *Scenedesmus*  
at Oxygen Deficiency

ULRICH SCHREIBER, ROBERT BAUER  
und ULRICH F. FRANCK

Institut für Physikalische Chemie der Rheinisch-Westfälischen  
Technischen Hochschule Aachen

(Z. Naturforsch. 26 b, 1195—1196 [1971]; eingegangen am 19. Juli 1971)

Sauerstoffentzug führt zu einer starken Veränderung der Merkmale in der Chlorophyllfluoreszenz-Induktion<sup>1-3</sup>. Der zu Beginn der Belichtung auftretende Fluoreszenzabfall wurde näher untersucht. Die hier vorgelegten Ergebnisse lassen erkennen, daß Sauerstoffentzug eine starke Hemmung in System II\* bewirkt, die durch System-I-Aktivität wieder aufgehoben wird.

Untersucht wurden die einzellige Grünalge *Scenedesmus obliquus* und deren von BISHOP<sup>4</sup> isolierte Photosynthesemutante Nr. 11 mit einem Defekt im System II. Die zur Messung benutzte Apparatur entspricht im Prinzip einer früher beschriebenen<sup>5</sup>.

Schon nach kurzer Begasung mit hochgereinigtem N<sub>2</sub> erscheint bei der Wildform ein ausgeprägter Fluoreszenzabfall (Abb. 1 a). Die Anfangsfluoreszenz ist stark erhöht und entspricht nach längerer intensiver N<sub>2</sub>-Begasung dem Betrag der maximalen Fluoreszenz. Ein Verschwinden des I. Fluoreszenzanstiegs wurde bisher nur bei hohen Temperaturen beobachtet<sup>3</sup>. Durch Umschalten von N<sub>2</sub> auf hochgereinigtes H<sub>2</sub> wird der Abfall anfangs leicht verzögert, dann jedoch wieder beschleunigt, so daß ein stufenförmiger Verlauf auftritt.

In Gegenwart von 5·10<sup>-5</sup> M DCMU\*\* ist die Wasserspaltung vollständig inhibiert<sup>6</sup>, was sich im Verschwinden des hierfür typischen Kautsky-Effektes widerspiegelt<sup>7</sup>. An einer DCMU-gehemmten Probe steigt die Fluoreszenz schnell auf einen hohen stationä-

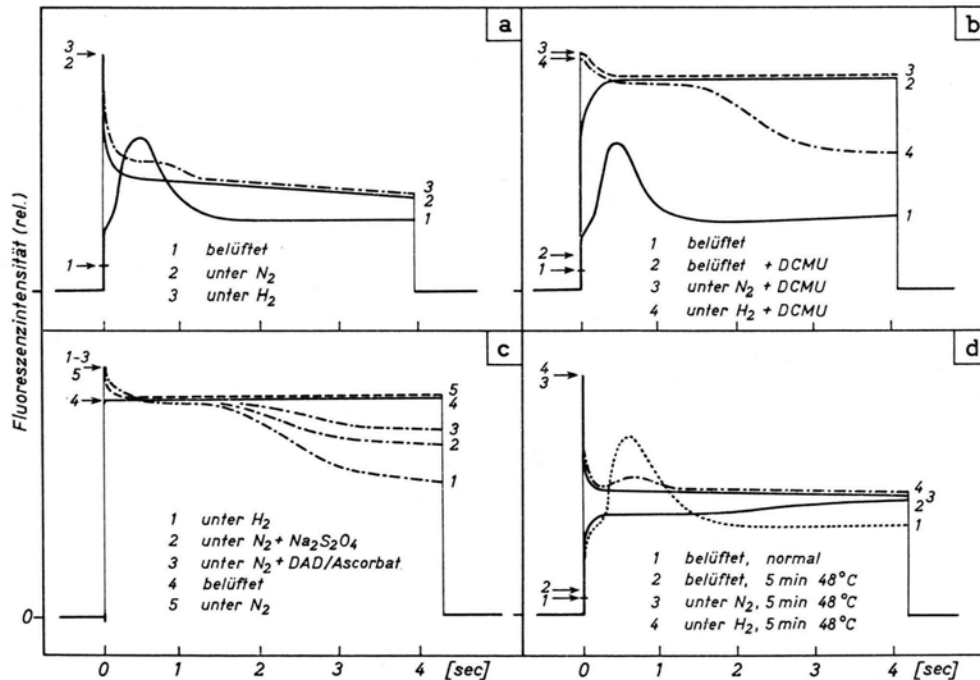


Abb. 1. Einfluß der Gasatmosphäre auf die Chlorophyllfluoreszenz-Induktion an *Scenedesmus obliquus*. Temperatur: 25 °C; Lichtintensität: 5·10<sup>15</sup> Quanten/sec·cm<sup>2</sup> (≈ 2,5·10<sup>4</sup> erg/sec·cm<sup>2</sup>). a) Wildform, b) Wildform bei Zusatz von 5·10<sup>-5</sup> M DCMU, c) Mutante Nr. 11, d) Wildform, hitzegeschädigt. Die Pfeile geben die Anfangsfluoreszenz an.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. U. F. FRANCK, Institut für Phys. Chemie der RWTH, D-5100 Aachen, Templergraben 59.

<sup>1</sup> H. KAUTSKY u. R. EBERLEIN, *Biochem. Z.* **302**, 137 [1939].

<sup>2</sup> H. KAUTSKY u. U. F. FRANCK, *Biochem. Z.* **315**, 139, 156, 176, 209 [1943].

<sup>3</sup> U. SCHREIBER, Diss. RWTH Aachen 1971.

\* System I = NADP reduzierendes Lichtsystem. System II = wasserspaltendes Lichtsystem.

<sup>4</sup> N. I. BISHOP, *Rec. chem. Prog.*, Detroit **25**, 181 [1964].

<sup>5</sup> U. F. FRANCK, N. HOFFMANN, H. ARENZ u. U. SCHREIBER, *Ber. Bunsenges. physik. Chemie* **73**, 871 [1969].

\*\* DCMU = Dichlorphenyldimethylharnstoff.

<sup>6</sup> N. I. BISHOP, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **27**, 205 [1958].

<sup>7</sup> G. ZWEIG, I. TAMÁS u. E. GREENBERG, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **66**, 196 [1963].

ren Wert. Nach längerer  $N_2$ -Begasung verschwindet der Fluoreszenzanstieg, wobei die Anfangsfluoreszenz noch über die stationäre Fluoreszenz hinaus erhöht wird (Abb. 1 b).

Bemerkenswert ist der Einfluß von  $H_2$ -Begasung bei Gegenwart von DCMU.  $H_2$  bewirkt einen Abfall auf eine relativ niedrige stationäre Fluoreszenz, vergleichbar mit derjenigen an der DCMU-freien Probe unter  $H_2$ . Die dargestellten Kurven sind je nach Wahl der Gasatmosphäre beliebig ineinander überführbar.

Die Mutante Nr. 11, bei der die Lichtreaktion II defekt ist, zeigt unter aeroben Bedingungen keine Induktionsmerkmale<sup>8</sup>. Unter anaeroben Bedingungen hingegen treten auch an dieser Mutante Induktionsmerkmale auf (Abb. 1 c). Unter  $N_2$  erscheint ein kleiner Fluoreszenzabfall, ausgehend von einer erhöhten Anfangsfluoreszenz. Ein ausgeprägter Abfall, vergleichbar mit demjenigen an der Wildform unter  $H_2$  und DCMU, wird durch Umschalten auf  $H_2$  bewirkt<sup>9</sup>. Es kann angenommen werden, daß  $H_2$  als Elektronendonator die durch die Mutation betroffene Wasserspaltung vertritt. Diese Vorstellung wird dadurch gestützt, daß Zugabe von Reduktionsmitteln wie Na-Dithionit bzw. DAD/Ascorbat\*\*\* den qualitativ gleichen Effekt wie Umschalten auf  $H_2$  bewirkt.

Nach DÖRING et al.<sup>10</sup> wird durch 5 min Erhitzen auf 48 °C die Wasserspaltung irreversibel geschädigt. Diese Schädigung führt unter aeroben Bedingungen zum Verschwinden des Fluoreszenzmaximums in der Normalkurve<sup>3</sup>. Von dieser Schädigung sind jedoch nicht die typischen Fluoreszenzabfälle unter  $N_2$  bzw. unter  $H_2$  betroffen. Abb. 1 d zeigt, daß die diskutierten Fluoreszenzabfälle unabhängig vom Funktionieren der Wasserspaltung sind. Die zeitliche Lage des unter  $H_2$  auftretenden schwachen Maximums im Bereich des Maximums in der Normalkurve ist ein weiterer Hinweis dafür, daß  $H_2$  die Wasserspaltung in ihrer Funktion als Elektronendonator vertritt.

Mit der Wildform unter DCMU, der Mutante Nr. 11 und der bei 48 °C geschädigten Probe wurden drei Objekte untersucht, die erfahrungsgemäß einen Defekt in Lichtsystem II besitzen. Alle drei zeigen keinen norma-

len Kautsky-Effekt. Bei Abwesenheit von Luft-sauerstoff treten übereinstimmend Fluoreszenzabfälle auf, die an der DCMU-gehemmten Probe bzw. der Mutante gegenüber der Normalform verlangsamt sind. Es erscheint wesentlich, daß in diesen Fällen  $H_2$  als Elektronendonator einen weiteren Fluoreszenzabfall bewirkt.

*Diese Ergebnisse lassen erkennen:*

- a) durch Entzug von Luftsauerstoff wird System II stark gehemmt, so daß die System-II-bedingten Merkmale in der Chlorophyllfluoreszenz-Induktion (1. Anstieg und Maximum) verschwinden.
- b) Die parallel mit dem Verschwinden der Merkmale für System-II-Aktivität erscheinenden Fluoreszenzabfälle werden durch Lichtsystem I bewirkt, welches durch  $O_2$ -Entzug begünstigt wird.
- c) Die Phänomenologie der bei Sauerstoffmangel auftretenden Fluoreszenzabfälle deutet auf die System-I-bedingte Bildung eines Stoffes hin, der die Chlorophyllfluoreszenz in System II löscht, dessen Pigment nach allen experimentellen Erfahrungen der Sitz des Kautsky-Effektes ist<sup>11-13</sup>.

KAUTSKY und FRANCK<sup>2</sup> forderten bereits 1943 eine zweite Lichtreaktion, wobei sie den Fluoreszenzabfall bei Sauerstoffmangel als wichtigstes Argument anführten. Diese Lichtreaktion entspricht, wie oben ausgeführt wurde, der von DUYSSENS und SWEERS<sup>11</sup> als System I bezeichneten Lichtreaktion. Der oft diskutierte Fluoreszenz-Quencher Q<sup>11</sup>, von dem angenommen wird, daß er im oxydierten Zustand quencht, kann nach den vorliegenden Ergebnissen nicht zur Deutung der Fluoreszenzabfälle unter extrem reduzierenden Bedingungen herangezogen werden. Als Alternative zur Deutung dieser Art von Fluoreszenzlöschung kann eine direkte Energieübertragung von System II nach System I (spill-over) in Betracht gezogen werden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die finanzielle Unterstützung. Herrn Prof. N. I. BISHOP gilt unser Dank für die Überlassung der Photosynthesemutante.

<sup>8</sup> W. L. BUTLER u. N. I. BISHOP, in: Photosynthetic Mechanism of Green Plants, S. 91, Washington 1963.

<sup>9</sup> R. BAUER, Diplomarbeit RWTH Aachen 1970.

<sup>10</sup> G. DÖRING, G. RENGER, J. VATER u. H. T. WITT, Z. Naturforsch. **24 b**, 1139 [1969].

\*\*\* DAD = Diaminodurool.

<sup>11</sup> L. N. M. DUYSSENS u. H. E. SWEERS, in: Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria, Japan. oc. Plant Physiol., Tokyo Press 1963.

<sup>12</sup> W. J. VREDENBERG u. L. SLOOTEN, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **143**, 583 [1967].

<sup>13</sup> J. C. MUNDAY u. GOVINDJEE, Biophys. Journal **9**, 1 [1969].