

Photosynthese, Aminosäuregehalt und Feinstruktur des Blattparenchyms bei der Weinrebe

von

M. MILOSAVLJEVIĆ und D. NIKOLIĆ

Photosynthesis, amino-acid content, and ultrastructure of the leaf parenchyma in grape-vines

S u m m a r y . — Investigations were carried out on the intensity of photosynthesis, the amino-acid content and the ultrastructure of the most important organelles in the mesophyll cells of vine leaves. It can be concluded that the photosynthesis is direct correlated to other synthetic processes and to the structure of the leaf parenchyma. In the period of intensive leaf-growth, the amino-acid synthesis and the development of the structure of lamellae in the chloroplasts are very intensive and simultaneously photosynthesis is retarded.

At the beginning of the vegetative period, the amino-acid content is higher in the rather small vine leaves than at a later stage when number and size of the leaves have increased. The structure of lamellae of the chloroplasts differentiates more slowly and more entirely in the leaves of the proximal part of the shoot, accompanied by a long lasting high intensity of photosynthesis. The apical leaves attain very quickly a high intensity of photosynthesis, the duration of which, however, is comparatively short in correspondence with the incomplete ultrastructure of the chloroplasts.

Einleitung

Die Abhängigkeit der Photosynthese-Intensität von Blattentwicklung und Blattalter wird von mehreren Autoren beschrieben (RICHARDSON 1957, HALE und WEAVER 1962, STOEV *et al.* 1966, RIBÉREAU-GAYON 1968). Bei der Sorte Sultanina haben KRIEDEMANN (1968) sowie KRIEDEMANN *et al.* (1970) festgestellt, daß junge Blätter (30—40 Tage alt) einen niedrigen Gehalt an Chlorophyll aufweisen. Wenn das Blatt voll entwickelt ist, ist seine Photosynthese am intensivsten. Danach erfolgt ein Abfall der Photosynthese, deren Intensität dann nicht mehr ausschließlich vom Chlorophyllgehalt abhängt.

Auch die Synthese der Aminosäuren ist in den einzelnen Entwicklungsphasen der Rebe unterschiedlich hoch, und zwar ist sie in der Blütenphase beträchtlich höher als während der Traubenreife (KHACHIDZE *et al.* 1967).

Anatomische Veränderungen, die in der Wachstums- und Alterungsperiode erfolgen, sind bis jetzt wenig erforscht worden. KRIEDEMANN *et al.* (1970) führen an, daß das Mesophyll, besonders im Palisadenparenchym junger Blätter, kompakter ist und weniger Interzellularen enthält als bei älteren Blättern. Die Feinstruktur der Rebenblätter ist selten bearbeitet worden (BUTTROSE und HALE 1971).

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse von Untersuchungen über die Intensität der CO₂-Fixierung sowie über den Gehalt der gesamten Aminosäuren und die Ultrastruktur der Blattmesophyllzellen mitgeteilt.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden mit 9jährigen Reben der *Vitis-vinifera*-Sorte Gamay noir im Weinberg unter normalen meteorologischen und agrotechnischen Be-

Tabelle 1

Photosyntheseintensität der einzelnen Rebblätter während der intensivsten Wachstumsphase

Intensity of photosynthesis in the several vine leaves during the period of the most intensive growth

Blatt Nr. ¹⁾	Dpm/mg Blatttrockenmasse				
	30. Mai	12. Juni	24. Juni	6. Juli	18. Juli
5.	1.974	3.441	5.208	9.609	6.400
10.	709	4.496	4.547	13.166	8.680
15.	—	820	1.600	9.587	11.918
20.	—	—	778	6.265	14.415
25.	—	—	—	3.467	10.389

¹⁾ Zählung von basal.

dingungen ausgeführt. Zu Beginn der Vegetationsperiode wurden 5 gleich starke Rebstöcke ausgewählt und an ihnen eine bestimmte Anzahl von Trieben belassen. Etwas später wurden alle Infloreszenzen der Triebe entfernt, die während der ganzen Versuchszeit durch Anbinden an Bambusstöcke aufrecht gezogen wurden.

In der Zeit vom 30. Mai, d. h. sobald das 5. Blatt (von basal gezählt) voll entwickelt war, bis zum 18. Juli 1972, d. h. bei Abschluß des intensiven Rebenwachstums (BRANAS *et al.* 1946) wurden alle 12 Tage Proben entnommen und untersucht. Im einzelnen wurden diese Proben wie folgt entnommen: Am 30. Mai jeweils das 5. (voll entwickelte) Blatt, am 12. Juni das 5. und 10., am 24. Juni das 5., 10. und 15., am 6. Juli das 5., 10., 15., 20. und am 18. Juli das 5., 10., 15., 20. und 25. Für die Bestimmung der Photosynthese wurde zusätzlich das um 5 Nodi höher inserierende, noch nicht voll entwickelte Blatt herangezogen (vgl. Tabelle 1).

Die Fixierungsintensität von CO₂ wurde in einer Apparatur eigener Konstruktion mittels NaH¹⁴CO₃ bei einer Lichtintensität von 12.000 Lux und einer Expositionsdauer von 5 Minuten durchgeführt. Die Radioaktivität wurde mit einem Scintillationszähler nach der Methode von KALBERER und RUTSCHMANN (1960) gemessen. Die Bestimmung der Gesamtaminosäuren erfolgte mit einem Aminosäureanalysator. Die Feinstruktur der Parenchymzellen wurde elektronenmikroskopisch (Siemens-Elmiskop) nach Vorfixierung des Materials in 3%iger Glutaraldehyd-Lösung und Postfixation in 1%iger OsO₄-Lösung aufgenommen.

Ergebnisse

a) Intensität der Photosynthese in den Blättern

Die jungen Blätter der Weinrebe haben unabhängig von ihrer Insertionshöhe am Trieb und vom Entfaltungszeitpunkt nur eine schwache Photosynthese (Tabelle 1). Diese steigt im basalen Teil des Triebes etwas langsamer an, wobei sie jedoch im Vergleich zu anderen Blättern länger auf einem relativ hohen Niveau stehen bleibt. In der 5. Insertion wird sie allmählich größer und erreicht erst Anfang bis Mitte Juli ihr Maximum. Dagegen ist das Blatt der 15. Insertion sehr schnell auf dem Höhepunkt seiner Photosynthese-Aktivität angelangt; diese beginnt danach relativ schnell wieder abzufallen. Dieselbe Dynamik zeigen auch die Blätter der 20. bzw. 25. Insertion. Bezogen auf die Trockenmasse haben die basalen Blätter während der ersten Hälfte des Rebenwachstums eine intensivere Photosynthese als die Blätter

Tabelle 2
Gesamtaminosäuregehalt in Reblättern — mg^o/_o (Bezugsbasis: Trockengewicht)
Total amino-acid content in vine leaves — mg^o/_o (dry weight basis)

Amino- säure	30. Mai	12. Juni		24. Juni			6. Juli				18. Juli				
	Blatt Nr. ¹⁾	Blatt Nr.		Blatt Nr.			Blatt Nr.				Blatt Nr.				
	5	5	10	5	10	15	5	10	15	20	5	10	15	20	25
Met	0,386	0,356	0,275	0,292	0,273	0,400	0,204	0,267	0,252	0,223	0,233	0,247	0,269	0,291	0,359
His	0,477	0,465	0,372	0,375	0,418	0,487	0,311	0,388	0,367	0,336	0,335	0,335	0,347	0,327	0,461
Ileu	0,549	0,498	0,423	0,412	0,434	0,519	0,368	0,421	0,368	0,360	0,387	0,445	0,392	0,385	0,603
Tyr	0,704	0,688	0,600	0,547	0,545	0,667	0,439	0,533	0,439	0,434	0,527	0,572	0,543	0,525	0,668
Thr	0,851	0,837	0,706	0,658	0,739	0,831	0,561	0,686	0,598	0,593	0,630	0,668	0,635	0,630	0,847
Ser	0,912	0,911	0,737	0,709	0,768	0,929	0,640	0,720	0,715	0,632	0,718	0,790	0,730	0,720	0,892
Pro	0,950	0,932	0,768	0,782	0,846	0,907	0,634	0,752	0,739	0,608	0,779	0,800	0,747	0,734	0,972
Phe	0,954	0,933	0,762	0,781	0,840	0,913	0,641	0,762	0,713	0,633	0,790	0,805	0,770	0,728	0,966
Gly	1,060	1,058	0,844	0,833	0,911	1,044	0,746	0,855	0,823	0,721	0,838	0,862	0,831	0,830	1,020
Val	1,145	1,059	0,861	0,860	0,939	1,051	0,738	0,907	0,820	0,727	0,840	0,900	0,830	0,850	1,070
Arg	1,242	1,152	0,978	0,917	0,989	1,175	0,745	0,941	0,891	0,822	0,884	0,949	0,838	0,883	1,167
Lys	1,246	1,184	0,952	0,955	1,046	1,256	0,802	0,950	0,915	0,881	0,950	0,984	0,878	0,920	1,184
Ala	1,308	1,208	0,989	0,944	1,092	1,266	0,805	0,980	0,952	0,883	0,983	1,013	0,931	0,981	1,200
Leu	1,641	1,591	1,278	1,270	1,347	1,637	1,129	1,301	1,293	1,114	1,238	1,338	1,225	1,224	1,648
Asp	1,858	1,832	1,487	1,411	1,539	1,840	1,289	1,495	1,376	1,304	1,401	1,495	1,407	1,280	1,786
Glu	2,254	2,131	1,778	1,678	1,713	2,096	1,492	1,609	1,528	1,447	1,563	1,607	1,675	1,440	2,148
Gesamt	17,537	16,835	13,810	13,424	14,439	17,018	11,544	13,567	12,789	11,718	13,096	13,810	13,048	12,748	16,991

¹⁾ Zählung von basal.

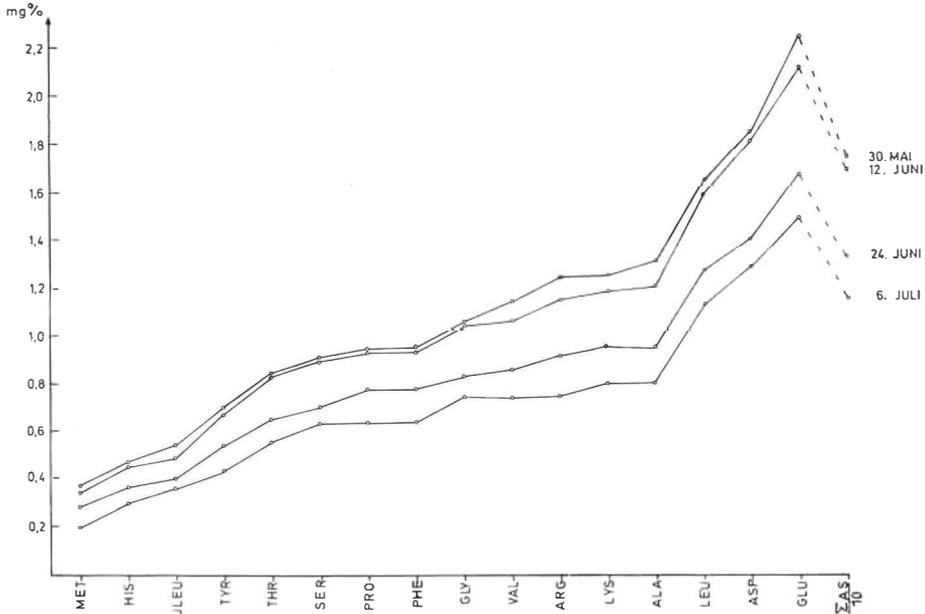


Abb. 1: Die altersbedingte Veränderung des Aminosäuregehaltes im 5. Blatt des Triebes. Changes in the amino-acid contents in the 5th leaf of the shoot dependent on age.

im apikalen Teil des Triebes; am Ende dieser Periode ist es umgekehrt. Absolut gesehen ist die Fixierungsintensität von CO₂ gegen Ende der Wachstumsperiode am größten, und zwar bei denjenigen Blättern, die erst dann ihre volle Entwicklung erreichen.

Die ausgeprägte Steigerungstendenz der Photosynthese-Intensität parallel zum Wachstum der Blätter und der Abfall dieser Intensität parallel zu ihrem Altern kann als eine allgemeine Erscheinung angesehen werden. Die jeweilige Intensität

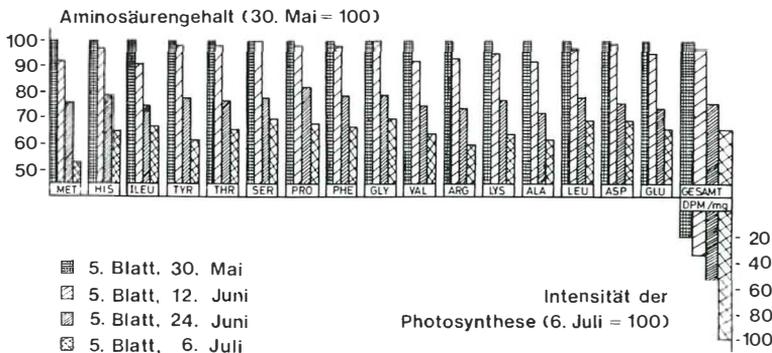


Abb. 2: Die Veränderung des Aminosäuregehaltes (30. Mai = 100) und der Photosyntheseintensität (6. Juli = 100) sowie deren gegenseitige Abhängigkeit im 5. Blatt des Triebes.

Changes in amino-acid contents (May 30 = 100) and photosynthesis intensity (July 6 = 100) showing their interrelationship in the 5th leaf of the shoot.

der Photosynthese eines Blattes ist durch den gesamten physiologischen Zustand seines Gewebes bestimmt und steht in keiner besonderen Abhängigkeit von der Insertionshöhe des Blattes am Trieb.

b) Gehalt der gesamten Aminosäuren in den Blättern

Unter den insgesamt 16 untersuchten Aminosäuren überwiegt in den Blättern der Weinrebe die Glutaminsäure, während Methionin in der geringsten Konzentration vorhanden ist (Tabelle 2). Das Verhältnis zwischen diesen zwei Aminosäuren ist 6 : 1. Außer Glutaminsäure enthalten die Rebenblätter auch relativ große Mengen von Asparaginsäure, Leucin und Alanin. Dies gilt sowohl für junge als auch für ältere Blätter (Abb. 1). Die Konzentrationshöhe der untersuchten Aminosäuren ändert sich im Laufe der Blattentwicklung: Junge Blätter haben einen höheren Aminosäuregehalt als alte. Während der ganzen Wachstumszeit des Blattes bleibt die Aminosäurenkonzentration auf einem hohen Niveau. Dies dauert bei den Blättern, die mehr zur Triebbasis hin inseriert sind, länger. Solange am Rebstock noch wenig Blätter vorhanden sind, ist ihr Aminosäuregehalt größer als später, wenn eine große Anzahl von Blättern ausgewachsen ist. Mit einer hohen Menge an Gesamtaminosäuren ist in den Blättern eine schwache Photosynthese-Intensität verbunden. Gleichlaufend mit dem Abfall aller Aminosäuren steigt die Photosynthese der Blätter an (Abb. 2). Dieses Verhältnis zwischen dem Aminosäuregehalt und der Höhe der Photosynthese ist bei basalen Blättern ausgeprägter als bei apikalen.

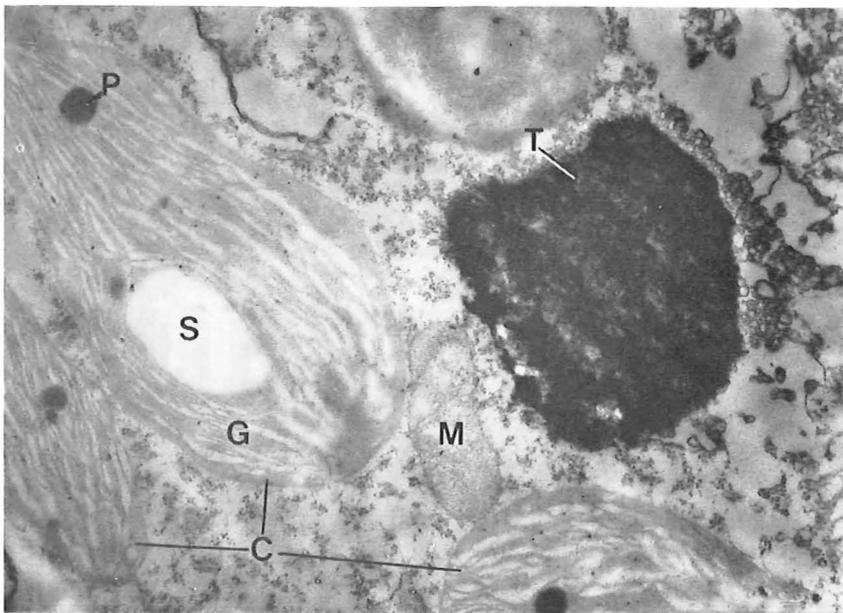


Abb. 3: Ausschnitt aus einer Mesophyllzelle des 10. Blattes (30. Mai): C — Chloroplast; G — Granum; M — Mitochondrium; P — Plastoglobulus; S — Stärkekorner; T — Gerbstoffe; Fixierung OsO_4 . El-optische Aufnahme. Vergrößerung 25 250 \times .

Section from a mesophyll cell of the 10th leaf (May 30): C — chloroplast; G — granum; M — mitochondrium; P — plastoglobulus; S — starch grain; T — tannins; OsO_4 fixation. Electron optical photograph. $\times 25\ 250$.

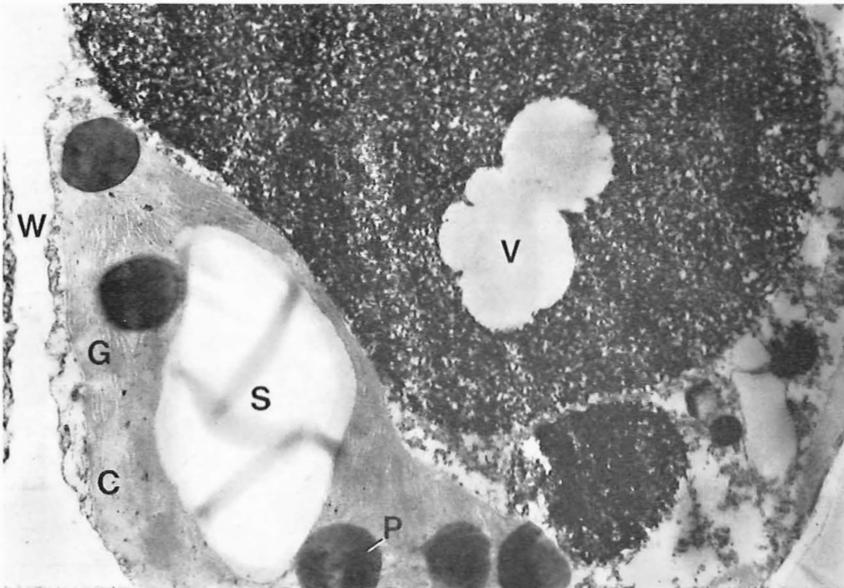
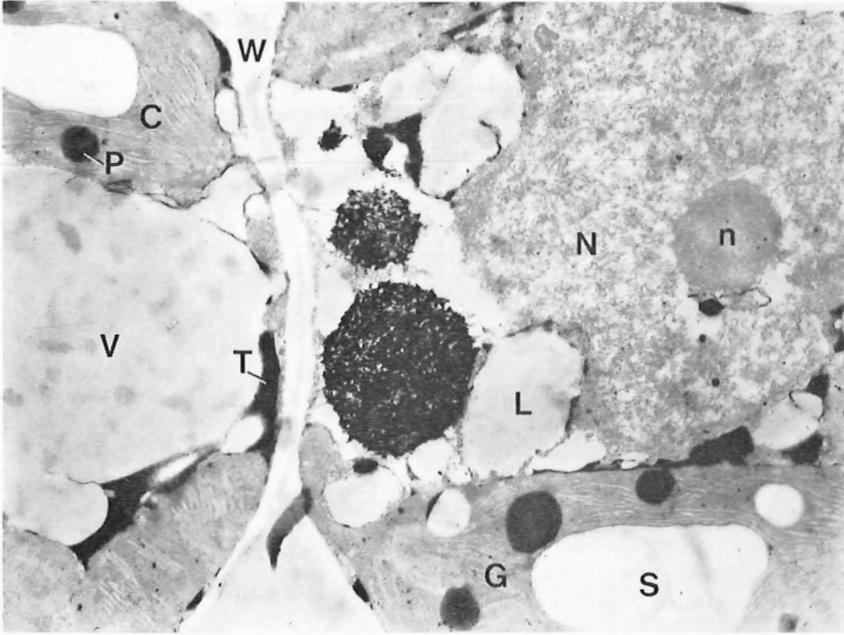
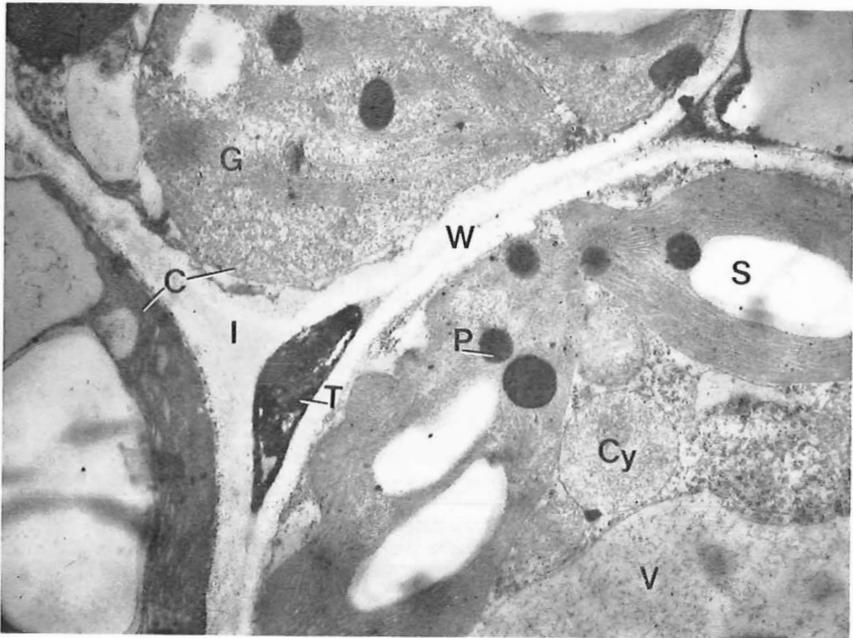
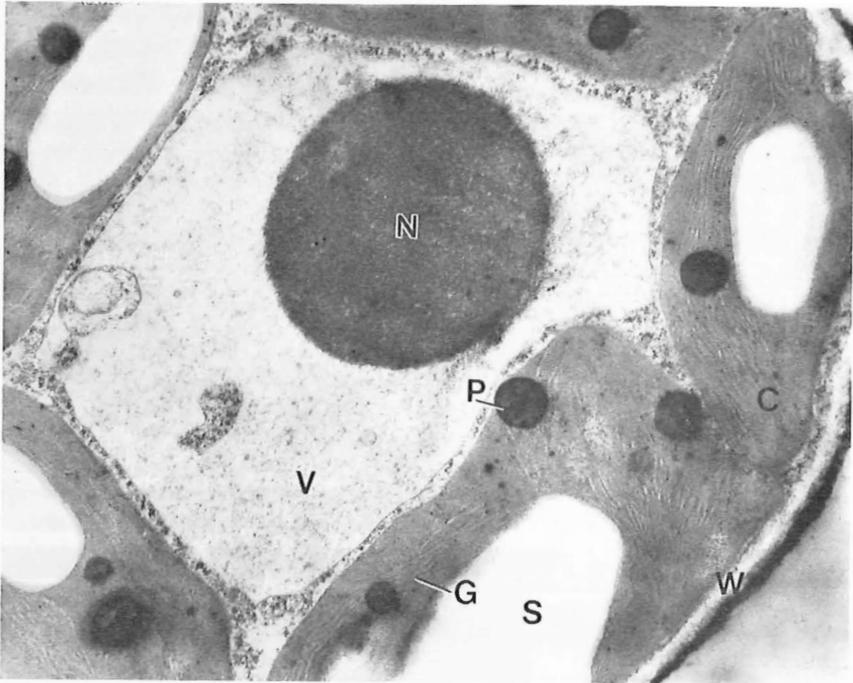


Abb. 4: Ausschnitt aus einer Mesophyllzelle des 10. Blattes (12. Juni): C — Chloroplast; G — Granum; L — Lipidtropfen; N — Kern; n — Nucleolus; P — Plastoglobulus; S — Stärkekorn; T — Gerbstoffe; V — Vacuole; W — Zellwand; Fixierung OsO_4 . El-optische Aufnahme. Vergrößerung 16 400 \times .

Abb. 5: Ausschnitt aus einer Mesophyllzelle des 5. Blattes (6. Juli): Weitere Erläuterung s. Abb. 4. Fixierung OsO_4 . El-optische Aufnahme. Vergrößerung 17 050 \times .

Fig. 4: Section from a mesophyll cell of the 10th leaf (June 12): C — chloroplast; G — granum; L — lipid drop; N — nucleus; n — nucleolus; P — plastoglobulus; S — starch grain; T — tannins; V — vacuole; W — cell wall; OsO_4 fixation. Electron optical photograph. $\times 16\,400$.
Fig. 5: Section of a cell of the 5th leaf (July 6): Further explanations see Fig. 4. $\times 17\,050$.



c) Feinstruktur der Blattmesophyllzellen

Während des intensiven Wachstums der Blätter sind viele Organellen (Chloroplasten, Mitochondrien, Sphaerosome u. a.) im Cytoplasma des Blattmesophylls vorhanden. Das Membransystem der Chloroplasten ist noch nicht vollständig ausdifferenziert und in fest gepackte Grana gestapelt. In noch nicht ganz ausdifferenzierten Chloroplasten befinden sich kleinere Mengen von Stärkekörnern und Plastoglobuli. Das Cytoplasma und besonders der Kern dieser Zellen sind sehr dicht strukturiert. In den Vakuolen ist Tannin anwesend (Abb. 3). Im Laufe der folgenden 12 Tage kommt es in der Feinstruktur dieser Zellen zu merklichen Veränderungen, wobei die Chloroplasten ein wohlentwickeltes Membransystem ausbilden. In den Vakuolen wird mehr Tannin eingelagert, die Chloroplasten werden zur Zellwand gedrückt (Abb. 4). Die Stärkekörner und die Plastoglobuli sind in den Chloroplasten noch immer in geringer Zahl vorhanden. Mit dem Älterwerden der Blätter erfolgen neue Veränderungen in der Feinstruktur der Zellen und ihrer Organellen. Nach 36—40 Tagen, wenn das Blatt seine volle Entwicklung erreicht hat, ist die Membranstruktur der Chloroplasten immer noch in Grana organisiert, aber man erkennt bereits die Anwesenheit der großen Stärkekörner und die groben, zahlreichen Plastoglobuli. In dieser Entwicklungsphase sind die Zellvakuolen fast ganz mit Tannin gefüllt (Abb. 5). Die Feinstruktur jener Blätter, die sich an apikalen Triebteilen bilden, differenziert sich in etwas abgeänderter Weise. In den Zellen dieser Blätter bilden sich parallel mit zahlreichen Chloroplasten, die einen hochentwickelten Bau mit vielen Grana haben (Abb. 6), auch zahlreiche Chloroplasten von einfacher Beschaffenheit und verbreiteten Thylakoiden, die nicht in Grana gruppiert sind (Abb. 7). Im Inneren dieser Chloroplasten befinden sich große Stärkekörner und kleine Plastoglobuli. Im Cytoplasma der Zellen sind viele Sphaerosome, der Kern ist groß und sehr osmophil. Die Vakuolen enthalten weniger Tannin, das in kleineren Mengen auch in den Intercellularen des Mesophylls vorhanden ist.

Diskussion

Die Wachstumsgeschwindigkeit der Rebblätter hängt direkt von äußeren Bedingungen ab. Die dem Triebgrund näheren Blätter, die sich am Anfang der Vegetationsperiode entfalten, wenn die äußeren Bedingungen weniger günstig sind, wachsen langsamer als die später gebildeten Blätter. Was als Wachstumsgeschwindigkeit sichtbar wird, steht in bestimmter Korrelation zu strukturellen, physiologischen und chemischen Veränderungen im Blattgewebe.

Abb. 6: Ausschnitt aus einer Mesophyllzelle des 20. Blattes (6. Juli): C — Chloroplast; Cy — Microbody (Cytosom); G — Granum; I — Interzellularraum; N — Kern; P — Plastoglobulus; S — Stärkekorn; T — Gerbstoffe; V — Vakuole; W — Zellwand; Fixierung OsO_4 .
El-optische Aufnahme. Vergrößerung 18 900 \times .

Abb. 7: Ausschnitt von Mesophyllzellen des 20. Blattes (6. Juli): Weitere Erläuterung s. Abb. 6. Fixierung OsO_4 . Vergrößerung 18 950 \times .

Fig. 6: Section from a cell of the 20th leaf (July 6): C — chloroplast; Cy — microbody (cytosome); G — granum; I — intercellular space; N — nucleus; P — plastoglobulus; S — starch grain; T — tannins; V — vacuole; W — cell wall; OsO_4 fixation. Electron optical photograph. $\times 18\,900$.

Fig. 7: Section from mesophyll cells of the 20th leaf (July 6): Further explanation see Fig. 6. $\times 18\,950$.

Infolge ungenügender Photosynthese und geringen Chlorophyllgehaltes der jungen Blätter (KRIEDEMANN *et al.* 1970) ist der Ergrünungsprozeß verzögert und parallel dazu auch die Bildung der Thylakoide in den Grana der Chloroplasten (SITTE 1956). Wegen stark ausgeprägter Synthese vor allem der Aminosäuren und Proteine ist das Blattwachstum mit einem großen Energieverbrauch verbunden; der Kohlenhydratgehalt der jungen Blätter ist dementsprechend sehr niedrig. Die Chloroplasten der jungen Zellen haben kein in Grana organisiertes Membransystem; dagegen ist das Cytoplasma von Sphaerosomen und Mitochondrien erfüllt, mit Organellen also, die für die Proteinsynthese und Atmung verantwortlich sind (Abb. 3, 7). Die intensivste Photosynthese der Rebblätter tritt in der Zeit des vollen Wachstums in Erscheinung, während der sich in den Vakuolen der Zellen die Tannine anhäufen.

Dann werden alle Organellen zur Zellwand gedrängt, und wahrscheinlich fällt ihre Aktivität dadurch ab. Eine Ausnahme stellen die Chloroplasten dar, die, obwohl verdrängt, ihre Form und Struktur behalten (Abb. 5). Für diese Vermutung sprechen die Befunde, daß zur Zeit des Auftretens großer Tanninmengen in den Vakuolen der Aminosäuregehalt in den Blättern abfällt und die Photosynthese auf einem hohen Niveau bleibt. Diese Situation in den Zellen, die auch durch zunehmende Stärkemengen und osmophile Globuli in den Chloroplasten charakterisiert wird, könnte man als den Zeitpunkt bezeichnen, zu dem die Blätter der Weinrebe das höchste Niveau der Photosynthese erreichen.

Unter den sehr günstigen Bedingungen (Licht, Temperatur), bei denen sich die apikalen Blätter am Trieb bilden, verläuft die Ausbildung der Lamellarstruktur in den Chloroplasten der Rebenblätter sehr schnell. Dabei entsteht eine große Zahl von Chloroplasten, was eine schnelle Steigerung der Photosynthese ermöglicht; viele Chloroplasten haben jedoch eine unvollkommene Zusammensetzung mit verbreiteten Thylakoiden (Abb. 7), was wahrscheinlich ihren leichten Abbau und den relativ schnellen Abfall der Photosynthese bedingt. Die Blätter an den apikalen Triebteilen haben am Anfang eine größere Photosynthese-Intensität, deren Maximum in kurzer Zeit erreicht wird; sie altern aber schneller als die Blätter, die näher am Triebgrund wachsen.

Zusammenfassung

Aufgrund der durchgeführten Untersuchungen über die Intensität der Photosynthese, den Aminosäuregehalt und die Feinstruktur der wichtigsten Organellen in den Mesophyllzellen von Rebenblättern kann man folgern, daß die Photosynthese in unmittelbarer Korrelation zu anderen synthetischen Prozessen und zur Struktur des Blattparenchyms steht. Zur Zeit des intensiven Wachstums der Blätter sind die Aminosäuresynthese und die Bildung der Lamellarstruktur in den Chloroplasten sehr ausgeprägt, und die Intensitätssteigerung der Photosynthese ist verlangsamt.

Zu Beginn der Vegetationsperiode, solange die Masse der Rebenblätter noch kleiner ist, ist der Aminosäuregehalt in den Blättern relativ größer als später, wenn die Blattmasse vermehrt ist. In den Blättern, die näher am Triebgrund wachsen, differenziert sich die Lamellarstruktur der Chloroplasten langsamer und vollständiger, und das relativ hohe Niveau der Photosynthese dauert länger an. Die Blätter, die mehr apikal austreiben, erreichen rasch eine sehr hohe Intensität der Photosynthese, aber deren Dauer ist — in Übereinstimmung mit der unvollkommenen Feinstruktur der Chloroplasten — relativ kurz.

Literaturverzeichnis

- BRANAS, J., BERNON, G., et LEVADOUX, L., 1946: *Eléments de viticulture générale*. Ecole Natl. d'Agricult., Montpellier.
- BUTTROSE, M. S. and HALE, C. R., 1971: Effects of temperature on accumulation of starch or lipid in chloroplasts of grapevine. *Planta* 101, 166—170.
- HALE, C. R. and WEAVER, R. J., 1962: The effect of developmental stage on direction of translocation of photosynthate in *Vitis vinifera*. *Hilgardia* 33, 89—131.
- KALBERER, F. und RUTSCHMANN, J., 1961: Eine Schnellmethode zur Bestimmung von Tritium, Radiokohlenstoff und Radioschwefel in beliebigem organischem Probenmaterial mittels des Flüssigkeits-Scintillationszählers. *Helv. Chim. Acta* 44, 1956—1966.
- KHACHIDZE, O., TKHALIDZE, P. und MATIKASHVILI, I., 1967: Aminosäuresynthese in Rebblättern durch die Photosynthese. *Soobshch. Akad. Nauk Gruzinsk. SSR (Tbilisi)* 48, 85—90.
- KRIEDEMANN, P. E., 1968: Photosynthesis in vine leaves as a function of light intensity, temperature, and leaf age. *Vitis* 7, 213—220.
- —, KLEWER, W. M., and HARRIS, J. M., 1970: Leaf age and photosynthesis in *Vitis vinifera* L. *Vitis* 9, 97—104.
- RIBÉREAU-GAYON, G., 1968: Etude des mécanismes de synthèse et de transformation de l'acide malique, de l'acide tartrique et de l'acide citrique chez *Vitis vinifera* L. *Phytochemistry* 7, 1471—1482.
- RICHARDSON, S. D., 1957: The effect of leaf age on the rate of photosynthesis in detached leaves of tree seedlings. *Acta Bot. Neerl.* 6, 445—457.
- SITTE, P., 1965: *Bau und Feinbau der Pflanzenzelle*. — Plasten und Mikrosomen, 130—158, Stuttgart.
- STOEV, K., DOBREVA, S. S., and ZEYNALOV, Y., 1966: On the photosynthetic activity of vine leaves in different metameric positions. *Gradinar. Lozar. Nauka (Sofia)* 3, 501—513.

Eingegangen am 12. 7. 1973

Prof. Dr. M. MILOSAVLJEVIĆ
Poljoprivredni Fakultet
11080 Beograd-Zemun
Jugoslawien