



Doctoral Thesis

## **Dynamik und intrazelluläre Lokalisation des Fructanstoffwechsels in Gerste(Hordeum vulgare L.cv Gerbel)**

**Author(s):**

Wagner, Walter

**Publication Date:**

1985

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000348587> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 7848

DYNAMIK UND INTRAZELLULÄRE  
LOKALISATION DES FRUCTANSTOFF-  
WECHSELS IN GERSTE  
(*HORDEUM VULGARE* L. CV GERBEL)

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

WALTER WAGNER

Dipl. Natw. ETH Zürich

geboren am 29. Juli 1958

von Buckten, BL

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. Ph. Matile, Referent  
Prof. Dr. A. Wiemken, Korreferent

1985

## 5. Z U S A M M E N F A S S U N G

=====

=====

Viele Gramineen bilden und speichern zu gewissen Zeiten grosse Mengen an Fructan, einer Polyfructosylsaccharose von variablem Polymerisationsgrad (DP). Die Untersuchung der intrazellulären Kompartimentierung der Metaboliten und Enzyme sowie der Regulation des Fructanstoffwechsels im Primärblatt der Gerste (Hordeum vulgare L. cv Gerbel) war das Thema dieser Arbeit.

Zunächst mussten Bedingungen gefunden werden, unter welchen in jungen Gerstenpflanzen die Synthese von Fructanen ausgelöst wird. Tiefe nächtliche Temperaturen von 5 Grad C lösten innerhalb weniger Wochen die Bildung und Speicherung von bedeutenden Fructanmengen in den Blättern aus. Die Verhinderung des Abtransportes der Photosyntheseprodukte durch die kühle Temperatur führte zu einer Anhäufung der Polysaccharide in den Mesophyllzellen. Leider konnten aus derart behandelten Pflanzen keine Protoplasten und Vakuolen für die Untersuchung der Kompartimentierung des Fructanstoffwechsels isoliert werden.

Zur Akkumulation von Fructan kam es jedoch auch in abgeschnittenen und in Wasser eingestellten Primärblättern. Die Trennung der Blätter vom Sink für die Photosyntheseprodukte hatte bei intensiver Belichtung die Bildung und Anhäufung von Fructanen in Mengen von bis zu 70% des Trockengewichtes

innerhalb 72 Stunden zur Folge. Auch ~~bestimmte~~, nicht von der Photosynthese stammende, sondern ~~exogen~~ durch den Transpirationsstrom ins Blatt gebrachte Zucker~~er~~ lösten die Fructansynthese aus. Aus derartigem Material liessen sich leicht Mesophyllprotoplasten und Vakuolen isolieren.

Abgeschnittene und eingestellte Primärblätter wä~~r~~en zudem fähig, die zuvor im Licht angehäuften Fructane im Dunkeln rasch wieder zu mobilisieren und zu verbrauchen.<sup>SW</sup> Synthese und Mobilisation der Fructanreserven liessen sich also an den gleichen Blättern innerhalb weniger Tage ~~ver~~folgen.

Parallel zur Zunahme der mit wässrigem Aethanol aus den Blättern extrahierbaren Fructane steigenden Molekulargewichtes wurde auch ein rapider Anstieg der Aktivität der Saccharose-Saccharose-Fructosyltransferase (SST) im entsalzten Blatthomogenat festgestellt. Invertase und Fructanhydrolase, zwei weitere am Fructanmetabolismus beteiligte Enzyme, zeigten während der Auslösung der Fructansynthese vergleichsweise geringe Aktivitätsveränderungen. Auch während der Umstellung zur Fructanmobilisation war der steile Abfall der SST-Aktivität die auffallendste Veränderung im Enzymbestand. Die Aktivität des Schlüsselenzyms SST scheint daher für die Regulation des Fructanmetabolismus hauptsächlich verantwortlich zu sein.

SST und Hydrolase unterscheiden sich in allen untersuchten Eigenschaften von der im Blatthomogenat vorhandenen Inverta-

se. Ihre Aktivitäten scheinen daher keine blossen Nebenreaktionen der Invertase darzustellen. Die SST zeigte ein ungewöhnlich tiefes Temperaturoptimum (28 Grad C) und eine Restaktivität von über 50% bei 10 Grad C. Diese Temperaturabhängigkeit ist bemerkenswert im Zusammenhang mit aktiver Fructansynthese in Gräsern unter kühlen Bedingungen. Die pH-Optima der SST und Hydrolase im sauren Bereich (5.7 bzw. 5.2) lassen eine Lokalisation beider Enzyme in einem sauren Kompartiment wahrscheinlich erscheinen.

Die aus dem Mesophyll fructanhaltiger Primärblätter isolierten und gereinigten Protoplasten und Vakuolen erlaubten die subzelluläre Kompartimentierung der Metaboliten und Enzyme des Fructanstoffwechsels. Aus dem Vergleich der Messungen der Zuckerkonzentrationen und Enzymaktivitäten pro -Mannosidase, dem verwendeten Vakuolenmarker, in Protoplasten- und Vakuolenproben ergab sich folgende Verteilung: Die in den Protoplasten gefundenen Fructane (DP>2) und die gesamte Aktivität der an der Fructansynthese und -hydrolyse beteiligten Enzyme (SST, Hydrolase) sind vollständig mit den Vakuolen assoziiert. Dieses Organell spielt demnach die zentrale Rolle im Fructanmetabolismus. Die Lokalisation der Fructane und seiner auf- und abbauenden Enzyme im gleichen Kompartiment setzt jedoch eine wirksame Regulation des Stoffwechsels voraus, vermutlich über die Modulation der SST.

6. S U M M A R Y

=====

at be

and 100?

Primary leaves of barley (Hordeum vulgare L. cv Gerbel) were induced to synthesize and accumulate fructan, a polyfructosylsucrose of varying molecular size, in amounts of up to 70% of dwt by impeding the export of photosynthates. Export was reduced or nullified by subjecting plants to cold temperatures (5° C at night) or by continuous illumination of excised leaf blades, respectively. Several exogenously applied sugars induced the accumulation of fructan as well.

Under these conditions the activity of sucrose-sucrose-fructosyltransferase (SST), probably the key-enzyme of fructan metabolism, may increase 10 fold within one day. SST shows a pH optimum at 5.7 and its activity at 10° C is still more than half of the activity at 28° C, the temperature optimum. This remarkably unusual dependence on temperature is interesting with regard to fructan accumulation in grasses during the cold season.

If fructan containing leaves are transferred into the dark, the polysaccharides are rapidly mobilized whereby SST is largely inactivated within 24 hours and the activity of a fructan exohydrolase increases. Both SST- and hydrolase-activity are not due to a transferase activity of invertase; this is suggested by distinct enzyme characteristics, induction/repression studies and enzyme purification.

Protoplasts obtained from fructan-enriched primary leaves of barley were used for the isolation of vacuoles. All the fructans (>trisaccharide) as well as the activities of SST and hydrolase were found to be associated exclusively with the vacuoles. The vacuoles therefore appear to play the central role in fructan metabolism and storage. They act as an efficient transitory store of surplus photosynthates in cereal leaves.